

การพัฒนาอุปกรณ์ถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลของไวรัส

นายปิ่นณวิชญ์ เปรมสัต์ยธรรม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกล ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล  
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2561  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

Development of Automated Platform for Image Capturing and Counting Algorithm for  
Viral Plaque

Mr. Pannawich Premsattham

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Engineering in Mechanical Engineering  
Department of Mechanical Engineering  
Faculty of Engineering  
Chulalongkorn University  
Academic Year 2018  
Copyright of Chulalongkorn University



ปณณวิษญ์ เปรรมสัถยัธรรม : การพัฒนาอุปกรณ์ถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการ  
นับพลาคของไวรัส. ( Development of Automated Platform for Image  
Capturing and Counting Algorithm for Viral Plaque) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร.  
กฤษฎา พนมเชิง

เครื่องมือวิเคราะห์แบบอัตโนมัติสำหรับการวิจัยทางการแพทย์ สำหรับประเมินจำนวน  
ไวรัส Dengue ใน 96-well plate แบบอัตโนมัติเป็นหนึ่งในหัวข้อที่สำคัญและน่าสนใจ เนื่องจาก  
เครื่องมือนี้สามารถช่วยลดภาระงานของนักวิจัยได้ ดังนั้นการถ่ายรูปและระเบียบวิธีการนับพลาค  
ของไวรัสแบบอัตโนมัติจึงถูกพัฒนาขึ้น โดยงานวิจัยนี้กำหนดให้การถ่ายรูปอัตโนมัติประกอบด้วย  
โครงสร้าง xy-table ซึ่งมีพื้นที่ทำงาน 220 x 220 ตารางมิลลิเมตร ความผันเที่ยงตรง (Accuracy)  
เท่ากับ 0.04 มิลลิเมตร และค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) เท่ากับ 0.03 มิลลิเมตร  
และมีแกน z สำหรับจับกล้องเพื่อปรับระยะโฟกัสภาพ เพื่อขยับถ่ายรูปหลุมแต่ละหลุมของ 96  
well plate ต่อมาเป็นการใช้กระบวนการต่างๆ เพื่อนับพลาคแบบอัตโนมัติ กระบวนการต่างๆ  
ดังกล่าวนี้ถูกพัฒนาด้วยโปรแกรม MVTec HALCON ซึ่งผลการทดลองของงานวิจัยนี้แสดงให้เห็น  
ว่าการนับพลาคด้วยกระบวนการดังกล่าวถูกต้อง 88% อีกทั้งระบบการทำงานนี้ไม่ต้องใช้สารทึบ  
แสงเพื่อเพิ่มความคมชัดของภาพในขั้นตอนการถ่ายภาพ ดังนั้นระบบการทำงานนี้ช่วยลดขั้นตอน  
การทำงานของนักวิจัยระหว่างเตรียมการวิเคราะห์หาปริมาณไวรัสโดยการนับจำนวนพลาคได้

สาขาวิชา วิศวกรรมเครื่องกล  
ปีการศึกษา 2561

ลายมือชื่อนิสิต .....  
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

# # 5970245121 : MAJOR MECHANICAL ENGINEERING

KEYWORD: Automatic counting, Dengue, Image segmentation, Image counting,  
Optical Inspection, Well plate, K-means clustering image, Viral  
plaque

Pannawich Premsattham : Development of Automated Platform for Image  
Capturing and Counting Algorithm for Viral Plaque. Advisor: Asst. Prof.  
Gridsada Phanomchoeng

Automatic analyzing tools are essential for biomedical research such as evaluating quantitation of virion. Counting dengue 96-well plaque assay with automated analysis system is one of the interesting and important applications since it can reduce researchers' burden and help researchers analyze the results quickly. Thus, automated platform for image capturing and counting algorithm for viral plaque have been developed. The automated platform for image capturing consists of xy-table, which have work space of 220 mm x 220 mm ,accuracy of 0.04 mm and repeatability of 0.03 mm, and vertical z-axis for image focusing. With the automated platform, each well of 96-well plate can be automatically captured with high resolution. Next, the counting algorithm is a program for counting and analyzing the images. The algorithm is developed from MVTec HALCON. The results show that the accuracy of the counting algorithm is 88%. Moreover, with this system, there is no additional process of nontransparent liquid to achieve contrast-enhanced image during image capturing. Thus, this system can reduce workload of researchers during assay preparation.

Field of Study: Mechanical Engineering

Student's Signature .....

Academic Year: 2018

Advisor's Signature .....



3874745264

CD :Thesis 5970245121 thesis / revv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กฤษฎา พนมเชิง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านให้การสนับสนุนด้านอุปกรณ์การทำวิจัยและเวลาอันมีค่าของท่านเพื่อมาดูแลงานวิจัยของข้าพเจ้า ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.แพทย์หญิงศิระพร บุญยทรัพย์กร นายธนยศ ศศิวิมลรัตนานางสาวปาริชาติ กัญญาบุญ ที่คอยจัดหา Plaque assay และให้คำแนะนำเกี่ยวกับไวรัสกับข้าพเจ้า ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิทยา วัฒนสุโกประสิทธิ์ ให้ความสนับสนุนในด้านสถานที่ ขอขอบคุณครอบครัวที่ทำให้ข้าพเจ้ามีโอกาสเข้าศึกษาในระดับปริญญาโทมหาบัณฑิตและให้กำลังใจข้าพเจ้าตลอดมา และขอขอบคุณเพื่อนๆ ของข้าพเจ้า นายนทีธร จันทร์ประเสริฐ นายศิวกร ตูจันดาและนายพีรเชษฐ์ชาติศิริวัฒนา ที่คอยช่วยเหลือ สนับสนุน ทั้งเรื่องงานวิจัยและเรื่องอื่นๆ

ปณณวิชญ์ เปรมสัจธรรม

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
สารบัญตาราง.....	ท
บทที่ 1 บทนำ .....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ .....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
1.5 ขั้นตอนการวิจัย .....	2
1.6 การหาจำนวนพลาควีรัส .....	3
1.7 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนับจำนวนด้วยกระบวนการวิเคราะห์ภาพ .....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องและการวิเคราะห์ .....	7
2.1 ทฤษฎีเกี่ยวกับโต๊ะที่เคลื่อนที่อัตโนมัติในแนวระนาบ.....	7
2.1.1 การส่งกำลัง .....	7
2.1.1.1 สายพาน.....	8
2.1.1.2 ลีตสกรู.....	8
2.1.2 มอเตอร์ไฟฟ้า .....	8
2.1.2.1 เซตีปเปอร์มอเตอร์ .....	9



3874745264

CD IThesis 5970245121 thesis / rev: 02082562 14:09:27 / seq: 26

2.1.2.2 เซอร์โวมอเตอร์ .....	9
2.2 การประมวลผลภาพ.....	11
2.2.1 การกำจัดสัญญาณรบกวน .....	11
2.2.1.1 Gaussian filtering.....	11
2.2.1.2 Median filtering .....	13
2.2.2 Gray level stretching.....	14
2.2.3 Image thresholding .....	15
2.2.3.1 Otsu thresholding.....	16
2.2.3.2 Adaptive thresholding .....	19
2.2.4 K-means clustering .....	21
2.2.5 การหาขอบของวัตถุในภาพ (Edge detection) .....	24
2.2.5.1 Laplacian filter mask.....	24
2.2.5.2 Sobel filters.....	25
2.2.5.3 Canny edge detector .....	26
2.2.6 Extended-Maxima Transform.....	27
2.2.7 Morphological processing.....	28
2.2.8 Watershed transformation .....	30
2.2.9 Distance transform.....	32
2.2.10 Hough transform .....	32
2.4 การออกแบบการทดลองเพื่อนับพลาของไวรัส .....	34
2.4.1 การแยกพื้นที่เซลล์กับพื้นที่พลาออกจากกัน .....	35
2.4.1.1 การนำภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการแยกส่วนของภาพโดยตรง .....	36
2.4.1.2 การนำภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการ Gaussian filtering แล้วจึงเข้า กระบวนการแยกส่วนของภาพ.....	40



2.4.1.3 การนำภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการ Median filtering แล้วจึงเข้ากระบวนการ  
แยกส่วนของภาพ..... 47

2.4.1.4 การนำภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการ Gray level stretching แล้วจึงเข้า  
กระบวนการแยกส่วนของภาพ..... 54

2.4.1.5 การวิเคราะห์ผลการแยกพื้นที่เซลล์กับพื้นที่พลาคออกจากกัน..... 58

2.4.2 การทำนายจำนวนพลาคมากกว่าหนึ่งพลาคที่เกยกัน ..... 61

2.4.2.1 การใช้กระบวนการ Hough transform..... 62

2.4.2.2 การใช้กระบวนการ Watershed transform ..... 63

2.4.2.3 การใช้กระบวนการ K-means clustering..... 65

บทที่ 3 การออกแบบสร้างเครื่องถ่ายภาพรูปแบบอัตโนมัติ และระเบียบวิธีการนับพลาคของไวรัส..... 69

3.1 การออกแบบและสร้างเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ..... 69

3.1.1 การออกแบบกลไก..... 69

3.1.2 ข้อกำหนดการออกแบบ..... 70

3.2 การถ่ายภาพและการวิเคราะห์ภาพ ..... 74

3.2.1 กล้องถ่ายภาพ..... 74

3.2.2 การเพิ่มความคมชัดในการถ่ายภาพ ..... 75

3.2.3 การวิเคราะห์ภาพเพื่อนับจำนวนพลาคของไวรัส..... 77

บทที่ 4 วิธีใช้งานเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับพลาคของไวรัส..... 87

บทที่ 5 การวิเคราะห์ระบบการวัดและการประเมินผล..... 90

5.1 ความผันแปรของระบบการวัดของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ..... 91

5.2 ความผันแปรของระบบการวัดของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบการนับพลาคของไวรัส  
..... 93

5.2.1 ความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบการนับ พลาคของ  
ไวรัส..... 93

5.2.2 ความแม่นยำ (Precision) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบการนับ พลาคของ  
ไวรัส..... 94

5.2.3 การแสดงความสัมพันธ์ของการนับโดยคนกับการนับโดยเครื่อง ..... 97

5.2.4 การประเมินผลของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบการนับพลาคของไวรัส ..... 98

การวิเคราะห์ผลการนับแต่ละช่วงของค่าอ้างอิง ..... 102

5.2.5 การตรวจสอบว่ามีพลาคหรือไม่ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับพลาค  
ของไวรัส ..... 106

5.2.6 ผลที่ไม่นำมาพิจารณา..... 108

บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย ..... 109

6.1 ปัญหาที่พบ ..... 109

6.2 แนวทางในการพัฒนาต่อ..... 110

บรรณานุกรม..... 111

ภาคผนวก..... 116

    ภาคผนวก ก..... 117

    ภาคผนวก ข..... 189

ประวัติผู้เขียน..... 204

## สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 1-1 ตัวอย่าง Plaque assay.....	3
รูปที่ 1-2 ตัวอย่างภาพถ่าย 1 หลุมของ 96-well plate.....	3
รูปที่ 1-3 ผลการนับจำนวนไวรัสของพลาจากากรูปที่ 1-2 เท่ากับ 7 .....	4
รูปที่ 2-1 ตัวอย่างการสร้างโต๊ะที่เคลื่อนที่ได้อัตโนมัติ (ก) การส่งกำลังด้วยสปีดสกรู [11] (ข) การส่งกำลังด้วยสายพาน [12].....	7
รูปที่ 2-2 Gaussian filter แบบ 2 มิติ [29] .....	12
รูปที่ 2-3 (ก) รูปต้นฉบับ (ข) รูปต้นฉบับที่เลือกเฉพาะพื้นที่วงกลมที่สนใจ .....	12
รูปที่ 2-4 ภาพหลังผ่าน Gaussian filter (ก) ตั้งค่า $\sigma$ เท่ากับ 6 (ข) ตั้งค่า $\sigma$ เท่ากับ 10 และ (ค) ตั้งค่า $\sigma$ เท่ากับ 16 .....	12
รูปที่ 2-5 การแสดงตัวอย่างการใช้ Median filtering .....	13
รูปที่ 2-6 ภาพหลังผ่านกระบวนการ Median filtering (ก) ตั้งค่า mask เท่ากับ 10 (ข) ตั้งค่า mask เท่ากับ 20 และ (ค) ตั้งค่า mask เท่ากับ 30 .....	13
รูปที่ 2-7 การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างภาพต้นฉบับกับภาพที่ผ่านการเสริมภาพเชิงเส้นแล้ว [5]..	14
รูปที่ 2-8 ภาพหลังผ่านกระบวนการ Gray level stretching.....	15
รูปที่ 2-9 ตัวอย่างการแปลงภาพระดับสีเทา (Gray image) ไปเป็นภาพขาวดำ (Binary image) [29] .....	16
รูปที่ 2-10 Histogram [29].....	17
รูปที่ 2- 11 การแสดงตัวอย่างการใช้ Otsu thresholding .....	18
รูปที่ 2-12 การแสดงพิกเซลรอบข้างขนาด 3x3 สำหรับ Local thresholding [30].....	20
รูปที่ 2-13 การแสดงตัวอย่างการใช้ Adaptive thresholding .....	20
รูปที่ 2-14 การแสดงตัวอย่างค่า a และค่า b นำมาพล็อตกราฟ.....	21
รูปที่ 2-15 การแสดงการสุ่มจุดศูนย์กลางในกราฟ ab.....	22
รูปที่ 2-16 การแสดงการขยับของจุดศูนย์กลางและการจัดกลุ่ม 4 รอบ .....	23

รูปที่ 2-17 ตัวอย่างการใช้กระบวนการ K-means clustering จากรูปที่ 2-3(ข)..... 23

รูปที่ 2-18 การแสดงการใช้ Laplacian filter mask (ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ภาพหลักจาก  
กระบวนการ Laplacian filter mask แล้ว [29]..... 25

รูปที่ 2-19 ตัวอย่างการใช้กระบวนการ Sobel filterจากรูปที่ 2-4(ข)..... 26

รูปที่ 2-20 ตัวอย่างการใช้กระบวนการ Canny filter จากรูปที่ 2-3(ข)..... 27

รูปที่ 2-21 การแสดงตัวอย่างค่าระดับสีเทา (Gray value) หรือค่าในแกน z [32]..... 27

รูปที่ 2-22 ตัวอย่างการใช้กระบวนการ Extended maxima transform จากรูปที่ 2-3(ข)..... 28

รูปที่ 2-23 ภาพตัวอย่างการใช้ Opening..... 29

รูปที่ 2-24 ภาพตัวอย่างการใช้ closing ..... 29

รูปที่ 2-25 การเปรียบเทียบการ Invert image จากรูปที่ 2-17 (ก) รูปต้นฉบับ และ (ข) รูป Invert  
image จากรูป 2-17 ..... 29

รูปที่ 2-26 การแสดงตัวอย่างการใช้กระบวนการ Morphological processing จากรูปที่ 2-17(ข) (ก)  
กร่อนขนาด 5 พิกเซล และ (ข) การขยายขนาด 5 พิกเซล..... 30

รูปที่ 2-27 (ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ภาพทางภูมิศาสตร์ [34]..... 30

รูปที่ 2-28 การแสดง Watershed line และ Catchment basins [34] ..... 31

รูปที่ 2-29 ภาพแสดงตัวอย่างการใช้ Watershed transformation โดยการนำรูปที่ 2-17 เข้า  
กระบวนการ Distance transform ก่อนแล้วจึงเข้ากระบวนการ Watershed transformation... 31

รูปที่ 2-30 ตัวอย่างการแปลงภาพไบนารีเป็นภาพระดับสีเทา ด้วยกระบวนการ Distance transform  
[35]..... 32

รูปที่ 2-31 การแสดงการหามุมของเส้นตรงจากระนาบ mc [29] ..... 33

รูปที่ 2-32 ภาพแสดงการใช้ Hough transform เพื่อหาวงกลม ..... 34

รูปที่ 2-33 แผนผังการทดลองการแยกพื้นที่เซลล์กับพื้นที่พลาคออกจากกัน ..... 36

รูปที่ 2-34 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ Otsu thresholding (ก) ภาพ  
ต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Otsu thresholding ..... 36

รูปที่ 2-35 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ Adaptive thresholding (ก)  
ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Adaptive thresholding ..... 37

รูปที่ 2-36 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ K-means clustering (ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ K-means clustering ..... 38

รูปที่ 2-37 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ Extended-maxima transform (ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Extended-maxima transform. 38

รูปที่ 2-38 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ Sobel filters (ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Sobel filters..... 39

รูปที่ 2-39 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ Canny edge detector (ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Canny edge detector ..... 39

รูปที่ 2-40 ผลลัพธ์ของกระบวนการ Gaussian filtering (ก) การกำหนดกรอบเท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบเท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบเท่ากับ 15x15..... 40

รูปที่ 2-41 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gaussian filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Otsu thresholding (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 15x15..... 41

รูปที่ 2-42 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gaussian filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Adaptive thresholding (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 15x15..... 42

รูปที่ 2-43 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gaussian filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ K-means clustering (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 15x15..... 43

รูปที่ 2-44 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gaussian filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Extended-maxima transform (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 15x15 ..... 44

รูปที่ 2-45 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gaussian filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Sobel filters (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 5x5

(ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 15x15 ..... 45

รูปที่ 2- 46 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gaussian filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Canny edge detector (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 15x15..... 46

รูปที่ 2-47 ผลลัพธ์ของกระบวนการ Median filtering (ก) การกำหนดกรอบเท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบเท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบเท่ากับ 15x15..... 47

รูปที่ 2-48 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Median filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Otsu thresholding (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 15x15..... 48

รูปที่ 2-49 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Median filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Adaptive thresholding (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 15x15..... 49

รูปที่ 2-50 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Median filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ K-means clustering (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 15x15..... 50

รูปที่ 2-51 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Median filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Extended-maxima transform (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 15x15..... 51

รูปที่ 2-52 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Median filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Sobel filters (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 5x5(ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 10x10 (ค)การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 15x15 ..... 52

รูปที่ 2-53 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Median filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจาก กระบวนการ Canny edge detector (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การ กำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 15x15.....	53
รูปที่ 2-54 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ Gray level stretching (ก ) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Gray level stretching .....	54
รูปที่ 2-55 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gray level stretching กับผลลัพธ์ต่อมาจาก กระบวนการ Otsu thresholding (ก) ภาพหลังผ่านกระบวนการ Gray level stretching และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Otsu thresholding.....	54
รูปที่ 2-56 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gray level stretching กับผลลัพธ์ต่อมาจาก กระบวนการ Adaptive thresholding (ก) ภาพหลังผ่านกระบวนการ Gray level stretching และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ.....	55
รูปที่ 2-57 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gray level stretching กับผลลัพธ์ต่อมาจาก กระบวนการ K-means clustering (ก) ภาพหลังผ่านกระบวนการ Gray level stretching และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ.....	56
รูปที่ 2-58 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gray level stretching กับผลลัพธ์ต่อมาจาก กระบวนการ Extended-maxima transform.....	56
รูปที่ 2-59 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gray level stretching กับผลลัพธ์ต่อมาจาก กระบวนการ Sobel filters.....	57
รูปที่ 2-60 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gray level stretching กับผลลัพธ์ต่อมาจาก กระบวนการ Canny edge detector .....	58
รูปที่ 2-61 การเปรียบเทียบผลหลังเข้ากระบวนการ K-means clustering โดยมีที่มาต่างกันคือ ภาพ ต้นฉบับ ภาพที่ผ่านกระบวนการ Gray level stretching ภาพที่ผ่านกระบวนการ Gaussian filtering และภาพที่ผ่านกระบวนการ Median filtering .....	60
รูปที่ 2-62 รูปต้นฉบับสำหรับการทดลองในการทำนายจำนวนพลาสมาที่มากกว่าหนึ่งพลาสมาที่เกยกัน (ก) รูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 1 และ (ข) รูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 2.....	61

รูปที่ 2-63 รูปต้นฉบับสำหรับการทดลองในการทำนายจำนวนพลาสมามากกว่าหนึ่งพลาสม่าที่เกยกันที่ผ่านกระบวนการ K-means clustering (ก) ผลจากรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 1 และ (ข) ผลจากรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 2..... 62

รูปที่ 2-64 การทดลองการทำนายจำนวนพลาสมามากกว่าหนึ่งพลาสม่าที่เกยกันด้วยกระบวนการ Hough transform (ก) รูปจากกระบวนการ K-means clustering ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 1 และ (ข) รูปจากกระบวนการ K-means clustering ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 2..... 62

รูปที่ 2-65 การเลือกพื้นที่ที่พบพลาสม่าของรูปที่ 2-63 นำพื้นที่ส่วนนั้นเข้ากระบวนการ Distance transform (ก) รูปจากกระบวนการ K-means clustering ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 1 และ (ข) รูปจากกระบวนการ K-means clustering ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 2..... 63

รูปที่ 2-66 ผลลัพธ์จากการเข้ากระบวนการ Watershed transform ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 1 (ก) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 10 (ข) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 20 (ค) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 30 (ง) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 30 ..... 64

รูปที่ 2-67 ผลลัพธ์จากการเข้ากระบวนการ Watershed transform ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 2 (ก) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 10 (ข) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 20 (ค) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 30 และ (ง) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 30 ..... 64

รูปที่ 2-68 ผลลัพธ์จากการตีกริดของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 1 (ก) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 15 (ข) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 25 (ค) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 35 และ (ง) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 45 ..... 65

รูปที่ 2-69 ผลลัพธ์จากการตีกริดของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 2 (ก) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 15 (ข) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 25 (ค) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 35 และ (ง) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 45..... 66

รูปที่ 2-70 ผลลัพธ์จากการแบ่งกลุ่มของ K-means clustering ควบคู่ไปกับการตัดสินใจจำนวนกลุ่มด้วยทฤษฎี Silhouette ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 1 (ก) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 15 (ข) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 25 (ค) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 35 และ (ง) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 45..... 67

รูปที่ 2-71 ผลลัพธ์จากการแบ่งกลุ่มของ K-means clustering ควบคู่ไปกับการตัดสินใจจำนวนกลุ่มด้วยทฤษฎี Silhouette ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 2 (ก) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 15 (ข)

3874745264  
 CD :Thesis 5970245121 thesis / revv: 02082562 14:09:27 / seq: 26



กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 25 (ค) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 35 และ (ง) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 45..... 67

รูปที่ 3-1 เครื่องวัดขนาดอัตโนมัติที่กล้องอยู่นิ่งๆแล้วขยับวัตถุเพื่อถ่ายรูป [36]..... 70

รูปที่ 3-2 เครื่องวัดขนาดอัตโนมัติที่วัตถุอยู่นิ่งๆแล้วกล้องขยับเพื่อถ่ายรูป [37]..... 70

รูปที่ 3-3 แสดงรายละเอียดขนาดของ 96-well plate..... 71

รูปที่ 3-4 แสดงรูปตัวอย่างที่ต้องการจากการถ่ายภาพ ..... 71

รูปที่ 3- 5 แสดงรูปเครื่องถ่ายรูปอัตโนมัติ ..... 72

รูปที่ 3- 6 กล้องคอนโทรลของเครื่องถ่ายรูปอัตโนมัติ..... 73

รูปที่ 3- 7 โตะจับ 96 well plate ของเครื่องถ่ายรูปอัตโนมัติ..... 73

รูปที่ 3-8 ตัวอย่าง Digital Microscope USB [38] ..... 75

รูปที่ 3-9 แสดงการใช้กระดาษกระจายแสง..... 75

รูปที่ 3-10 ตัวอย่างการใช้กระดาษกระจายแสง[39]..... 76

รูปที่ 3-11 รูปตัวอย่างผลการใช้กระดาษกระจายแสงที่พบตามโรงภาพยนตร์ ..... 76

รูปที่ 3-12 ภาพแสดงการใช้กระดาษกระจายแสงและแหล่งกำเนิดแสง ..... 76

รูปที่ 3-13 กระบวนการวิเคราะห์ภาพเพื่อนับจำนวนพลาซของไวรัส ..... 77

รูปที่ 3-14 (ก) รูปต้นฉบับ และ (ข) รูปพื้นที่เฉพาะในหลุม..... 78

รูปที่ 3-15 ภาพ RGB ซึ่งประกอบด้วย (ก) แดง (ข) เขียว และ (ค) ฟ้า ..... 79

รูปที่ 3-16 Lab ซึ่งประกอบด้วย (ก) ความสว่าง (ข) ระดับสีเขียวยังสีแดง และ (ค) ระดับสีน้ำฟ้าถึงสีเหลือง ..... 79

รูปที่ 3- 17 รูปแสดงการใช้ K-mean clustering ..... 79

รูปที่ 3-18 กระบวนการ Morphology (ก) การแสดงพื้นที่ที่พบพลาซ (พื้นที่สีแดง) และ (ข) พื้นที่พลาซหลังจากกระบวนการ Morphology แบบ Opening ..... 80

รูปที่ 3-19 ตัวอย่างการแสดงจุดศูนย์กลางสองจุดจากกราฟ ab ..... 81

รูปที่ 3- 20 ตัวอย่างรูปที่ไม่มีเซลล์เหลืออยู่เลยแต่เมื่อนำมาเข้ากระบวนการ K-means clustering ยังแบ่งพื้นที่ได้แต่ไม่ถูกต้อง (ก) ตัวอย่างรูปต้นฉบับที่ไม่มีเซลล์เลย และ (ข) ตัวอย่างรูปที่ไม่มีเซลล์ เลยนำมาเข้ากระบวนการ K-means clustering .....	81
รูปที่ 3-21 ตัวอย่างรูปที่มีพลาสมามากเกินไป (ก) ตัวอย่างรูปต้นฉบับที่พบพลาสมามากเกินไป และ (ข) พื้นที่ที่พบพลาสม (พื้นที่สีแดง) .....	82
รูปที่ 3-22 การเลือกพื้นที่ที่มีขนาดเป็น 1 พลาสมจากรูปที่ 3-25 .....	82
รูปที่ 3-23 เลือกพื้นที่ที่มีขนาดใหญ่กว่า 1 พลาสม .....	83
รูปที่ 3-24 การแสดงการตีกริด.....	83
รูปที่ 3-25 การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนการจัดกลุ่มและค่า s.....	85
รูปที่ 3-26 การแสดงตัวอย่างภาพที่นับแล้ว .....	85
รูปที่ 3-27 ตัวอย่างการแสดงผลการนับสรุปรวมของ 96-well plate โดยรูปซ้ายคือผลการนับ ส่วน รูปขวาคือการแสดงตำแหน่งของ 96-well plate [40].....	86
รูปที่ 4-1 ตัวอย่างการวาง 96-well plate โดยหงายกันขึ้นด้านบน .....	87
รูปที่ 4-2 การสั่งปิดแหล่งกำเนิดของกล้องไมโครสโคปด้วยโปรแกรม Dino Capture .....	87
รูปที่ 4-3 การกำหนดที่อยู่ภาพที่ถ่ายแล้วของโปรแกรม Halcon.....	88
รูปที่ 4-4 การเลือกที่อยู่ของภาพที่ต้องการให้เข้ากระบวนการนับพลาสมของไวรัสของโปรแกรม Halcon.....	88
รูปที่ 4-5 ตัวอย่างการเลือกที่อยู่ของผลลัพธ์การเข้ากระบวนการนับพลาสมของไวรัสแล้ว .....	88
รูปที่ 4-6 การกำหนดค่าตั้งต้นในการเข้ากระบวนการนับพลาสมของไวรัสซึ่งประกอบไปด้วยคือ (1) พื้นที่พ ลาสมใหญ่สุดที่ยังเข้ากระบวนการนับอยู่ (2) กำหนดพื้นที่พลาสมเล็กที่สุดที่เป็น 1 พลาสม (3) กำหนด พื้นที่พลาสมใหญ่สุดที่เป็น 1 พลาสม .....	89
รูปที่ 5-1 การแสดงรายละเอียดของความผันแปรจากระบบการวัด .....	90
รูปที่ 5-2 ผลการคำนวณค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ด้วยโปรแกรม Minitab ของเครื่องถ่ายภาพ อัตโนมัติ .....	91
รูปที่ 5-3 ผลการคำนวณค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) ด้วยโปรแกรม Minitab ของ เครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ .....	92

รูปที่ 5-4 ผลการคำนวณค่าคุณสมบัตินี้เชิงเส้นโดยโปรแกรม Minitab ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและ  
 ระเบียบวิธีการนับผลของไวรัส..... 93

รูปที่ 5-5 ผลการคำนวณค่าไบอัสของแต่ละค่าโดยโปรแกรม Minitab ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและ  
 ระเบียบวิธีการนับผลของไวรัส..... 94

รูปที่ 5- 6 ผลการคำนวณหาแผนภูมิและกราฟของค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability)  
 โดยโปรแกรม Minitab ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลของไวรัส ..... 95

รูปที่ 5-7 ผลการคำนวณหาความสามารถในการวัดซ้ำโดยโปรแกรม Minitab ของเครื่องถ่ายภาพ  
 อัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลของไวรัส..... 96

รูปที่ 5-8 การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการนับโดยคนหรือค่าอ้างอิงและการนับโดยเครื่อง ..... 98

รูปที่ 5-9 การแสดงจำนวนการนับถูกการนับผิดของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับ  
 ผลของไวรัสที่ค่าอ้างอิงต่างๆ หรือผลการนับโดยคน โดยสีเขียวคือจำนวนรูปที่เครื่องนับถูกต้องและสี  
 แดงคือจำนวนรูปที่เครื่องนับผิด..... 99

รูปที่ 5-10 การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าอ้างอิงที่นับโดยคนและผลต่างของการนับโดยคนกับโดย  
 เครื่องและการแสดงเส้นขอบเขตที่กำหนดการนับที่ถูกต้อง..... 100

รูปที่ 5-11 ตัวอย่างการนับผลที่ค่าอ้างอิงอยู่ในช่วง 0-1 (ก) ผลการนับถูกต้อง (ข) ผลการนับผิด  
 ..... 103

รูปที่ 5-12 ตัวอย่างการนับผลที่ค่าอ้างอิงอยู่ในช่วง 2-3 (ก) ผลการนับถูกต้อง (ข) ผลการนับผิด  
 ..... 103

รูปที่ 5-13 ตัวอย่างการนับผลที่ค่าอ้างอิงอยู่ในช่วง 4-8 (ก) ผลการนับถูกต้อง (ข) ผลการนับผิด  
 ..... 104

รูปที่ 5-14 ตัวอย่างการนับผลที่ค่าอ้างอิงอยู่ในช่วง 9-10 (ก) ผลการนับถูกต้อง (ข) ผลการนับผิด  
 ..... 104

รูปที่ 5-15 ตัวอย่างการนับผลที่ค่าอ้างอิงอยู่ในช่วง 11-15 (ก) ผลการนับถูกต้อง (ข) ผลการนับผิด  
 ..... 105

รูปที่ 5-16 ตัวอย่างการนับผลที่ค่าอ้างอิงมากกว่า 15 ขึ้นไป (ก) ผลการนับถูกต้อง และ (ข) ผล  
 การนับผิด..... 105

รูปที่ 5-17 ตัวอย่างเซลล์ที่ลอก ..... 108

รูปที่ ก-1 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพรูปอัตโนมัติครั้งที่ 1 ..... 117

รูปที่ ก-2 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพรูปอัตโนมัติครั้งที่ 2 ..... 118

รูปที่ ก-3 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพรูปอัตโนมัติครั้งที่ 3 ..... 118

รูปที่ ก-4 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพรูปอัตโนมัติครั้งที่ 4 ..... 119

รูปที่ ก-5 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพรูปอัตโนมัติครั้งที่ 5 ..... 119

รูปที่ ก-6 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพรูปอัตโนมัติครั้งที่ 6 ..... 120

รูปที่ ก-7 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพรูปอัตโนมัติครั้งที่ 7 ..... 120

รูปที่ ก-8 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพรูปอัตโนมัติครั้งที่ 8 ..... 121

รูปที่ ก-9 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพรูปอัตโนมัติครั้งที่ 9 ..... 121

รูปที่ ก-10 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพรูปอัตโนมัติครั้งที่ 10..... 122



3874745264

## สารบัญตาราง

ตารางที่ 2-1 เปรียบเทียบพารามิเตอร์ต่างๆ ระหว่างลีดสกรูและสายพาน..... 8

ตารางที่ 2-2 เปรียบเทียบคุณสมบัติของเซอร์โวมอเตอร์รุ่น CPM-SDSK-2310D กับสเต็ปเปอร์  
มอเตอร์รุ่น 42SO3 Bipolar Parallel..... 10

ตารางที่ 2-3 เปรียบเทียบพารามิเตอร์ต่างๆ ระหว่างสเต็ปเปอร์มอเตอร์และเซอร์โวมอเตอร์ ..... 10

ตารางที่ 2-4 ตารางสรุปผลการทดลองตามแผนผังรูปที่ 2-33 ..... 59

ตารางที่ 5-1 การแสดงรายละเอียดการนับลูกและการนับผิดของแต่ละค่าอ้างอิง ..... 101

ตารางที่ 5-2 การแสดงผลของจำนวนการนับโดยคนและเครื่องซึ่งพิจารณาว่ามีจำนวนพลาสมามากกว่า 0  
มีจำนวนเท่าไร..... 107

ตารางที่ ก-1 การแสดงข้อมูลที่ใช้หาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติโดยมี  
หน่วยเป็นมิลลิเมตร..... 123

ตารางที่ ก-2 การแสดงข้อมูลที่ใช้หาค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) ของเครื่องถ่ายภาพ  
อัตโนมัติโดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร..... 124

ตารางที่ ก-3 การแสดงข้อมูลที่ใช้เพื่อหาค่าความผันแปรของระบบการวัดต่างๆ ของเครื่องถ่ายภาพ  
อัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับพลาสมของไวรัส..... 125

ตารางที่ ก- 4 การแสดงข้อมูลค่าที่นับโดยคนหรือค่าอ้างอิงกับค่าที่นับโดยเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ  
และระเบียบวิธีการนับพลาสมของไวรัส ..... 127

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ที่มาและความสำคัญ

ไวรัสเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่ต้องอาศัยอยู่ในร่างกายของสัตว์หรือพืชเพื่อการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ [1] แต่การมีไวรัสอยู่ในร่างกายมักจะส่งผลให้สิ่งมีชีวิตนั้นๆ เกิดโรคและมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตนั้นได้ ไวรัสชนิดหนึ่งจะเหมาะกับสิ่งมีชีวิตชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับยีนของไวรัสกับเซลล์ที่ไวรัสไปอยู่ โดยกลไกการทำงานต้องสอดคล้องกัน ไม่เช่นนั้นแล้วไวรัสจะไม่สามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้ [1] เพื่อป้องกันและรักษาสิ่งมีชีวิตที่ติดเชื้อจากไวรัส จึงต้องทำการศึกษาไวรัส งานวิจัยนี้เป็นขั้นตอนหนึ่งของการหาปริมาณไวรัสแบบอัตโนมัติ

Plaque assay เป็นวิธีหนึ่งในการหาปริมาณไวรัส หลักการของ Plaque assay คือเมื่อไวรัสเพิ่มจำนวน เซลล์ที่มันอาศัยอยู่จะตายลง หลังจากนั้นให้ทำการย้อมสี โดยส่วนที่ย้อมสีติดคือส่วนของเซลล์ที่ยังไม่ถูกไวรัสกิน และส่วนที่ย้อมไม่ติดคือส่วนของไวรัส [2] ขั้นตอนแรกของการทำ Plaque assay จะต้องเจือจางไวรัสในหลายระดับก่อน แล้วนำไวรัสแต่ละระดับใส่ลงใน Cell culture และให้อาหารด้วย Semi-solid media เลี้ยงไว้ตามระยะเวลาและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม หลังจากนั้นนำไปย้อมสีแล้วจึงหาปริมาณไวรัสด้วยการนับวงที่สีย้อมไม่ติดหรือคือพลาคาของไวรัสนั่นเอง วัตถุประสงค์ของการทำ Plaque assay คือเพื่อประเมินปริมาณไวรัส แต่เดิมที่ทำกันมานั้นใช้วิธีการนับมือ ซึ่งต้องใช้ความพยายามเป็นอย่างมาก [3] งานวิจัยนี้จึงเสนอให้ขั้นตอนการนับด้วยคนแบบเดิมเปลี่ยนเป็นแบบอัตโนมัติ เพื่อลดภาระและแบ่งเบาการทำงานของนักวิจัยในด้านนี้

จากปัญหาดังกล่าวข้างต้น จึงเป็นที่มาของเครื่องนับจำนวนพลาคาของไวรัสแบบอัตโนมัติโดยการใช้กล้องไมโครสโคปที่สามารถเคลื่อนที่ได้เอง เพื่อถ่ายภาพตำแหน่งต่างๆ ที่ต้องการ แล้วนำภาพเหล่านั้นมาเข้ากระบวนการวิเคราะห์ภาพ (Image processing) เพื่อหาจำนวนพลาคาของไวรัส โดยไม่ต้องเพิ่มสารทึบแสงให้กับ Plaque assay



3874745264

CU-Thesis 5970245121 thesis / rev: 02082562 14:09:27 / seq: 26

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาวิธีการทำงานของโต๊ะที่เคลื่อนที่อัตโนมัติเพื่อประยุกต์เป็นเครื่องถ่ายภาพที่เคลื่อนที่ได้อัตโนมัติ และศึกษาวิธีการนับจำนวนพลาทของไวรัสโดยใช้การวิเคราะห์ภาพ สำหรับขั้นตอนทดสอบที่ใช้ในการศึกษาคือ 96 well plate และไวรัสที่ใช้คือ Dengue

## 1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 สร้างอุปกรณ์ต้นแบบอัตโนมัติสำหรับการถ่ายภาพทุกหลุมของ 96-well plate
- 1.2.2 พัฒนาระเบียบวิธีวิธีการประมวลผลภาพที่ถ่ายจากอุปกรณ์ต้นแบบเพื่อใช้ในการนับจำนวนพลาทของไวรัส

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 สร้างเครื่องมือการถ่ายภาพที่สามารถเคลื่อนที่ได้สามแกนแบบอัตโนมัติสำหรับ 96-well plate
- 1.3.2 พัฒนาเฉพาะระเบียบวิธีวิธีการประมวลผลภาพของการนับจำนวนพลาทของไวรัส Dengue

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

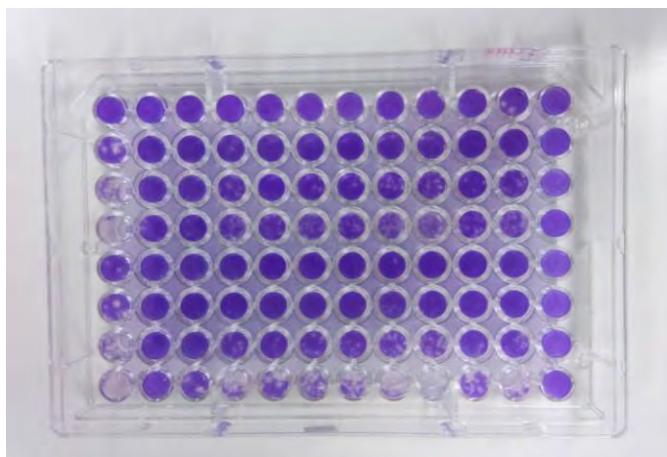
- 1.4.1 เครื่องถ่ายภาพที่สามารถเคลื่อนที่ได้สามแกนแบบอัตโนมัติสำหรับ 96-well plate
- 1.4.2 ระเบียบวิธีวิธีการนับจำนวนพลาทของไวรัส Dengue

## 1.5 ขั้นตอนการวิจัย

- 1.5.1 ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เพื่อเป็นประโยชน์ในการออกแบบเครื่องนับจำนวนพลาทของไวรัสแบบอัตโนมัติ
- 1.5.2 ศึกษาวิธีการทำงานของโต๊ะเคลื่อนที่อัตโนมัติในแนวราบ เพื่อถ่ายภาพตำแหน่งต่างๆ ที่ต้องการ
- 1.5.3 ศึกษาการวิเคราะห์ภาพ โดยเน้นไปที่การแยกวัตถุที่ติดกันออกจากกันเพื่อนับจำนวนพลาทไวรัส

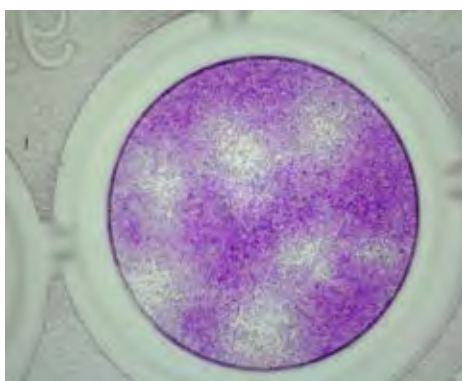
## 1.6 การหาจำนวนพลาควาไวรัส

หนึ่งในวิธีซึ่งเป็นที่ยอมรับกันในการหาจำนวนพลาควาของไวรัสคือ Plaque assay สำหรับงานวิจัยนี้เลือกใช้ 96-well plate แสดงดังรูปที่ 1-1



รูปที่ 1-1 ตัวอย่าง Plaque assay

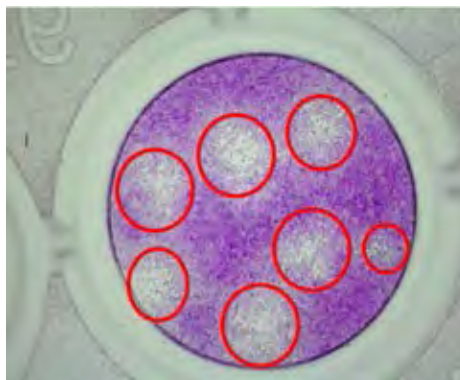
ในการนับจำนวนพลาควาจะพิจารณาเป็นหลุมๆ ไป แสดงตัวอย่างหลุมดังรูปที่ 1-2 หลักการนับคือนับจากพื้นที่ส่วนที่เป็นวงกลม เนื่องจากธรรมชาติของไวรัสนั้นจะกินเซลล์รอบข้างทุกทิศทุกทาง ซึ่งเมื่อเราเลี้ยงเซลล์ในแนวราบแล้ว เราจะเห็นไวรัสกินเซลล์เป็นพื้นที่วงกลมแสดงดังรูปที่ 1-2



รูปที่ 1-2 ตัวอย่างภาพถ่าย 1 หลุมของ 96-well plate

เมื่อพิจารณารูปที่ 1-2 สามารถนับจำนวนพลาควาของไวรัสได้จำนวนเท่ากับ 7 โดยตำแหน่งของพลาควานั้นแสดงดังรูปที่ 1-3





รูปที่ 1-3 ผลการนับจำนวนไวรัสของผลจากรูปที่ 1-2 เท่ากับ 7

### 1.7 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนับจำนวนด้วยกระบวนการวิเคราะห์ภาพ

การนับผลของไวรัสแบบอัตโนมัติเป็นเรื่องใหม่ เนื่องจากสืบค้นวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องตรงๆ ได้ค่อนข้างน้อย วรรณกรรมที่เกี่ยวข้องนี้จึงเป็นเรื่องการนับจำนวนวัตถุและการแก้ปัญหาเมื่อพบวัตถุติดกัน ในเบื้องต้นจึงศึกษาวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนับและการแยกวัตถุที่ติดกันเพื่อการนับที่ถูกต้อง ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

[4] งานวิจัยของคุณ Swati ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการระบุเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และปรีสตีบนฟิล์มเลือด โดยมีขั้นตอนดังนี้ (1) นำภาพสีถ่ายที่ได้แยกเป็นภาพระดับสีเทา ได้แก่ ภาพ R ภาพ G และ ภาพ B (2) นำแต่ละภาพเข้ากระบวนการ Median filter (3) นำภาพทั้งสามมารวมกันอีกครั้งและเข้ากระบวนการ Laplacian filter เพื่อให้เห็นความแตกต่างในภาพมากขึ้น (4) แปลงเป็น CIELAB color space ซึ่งจะได้ค่าความสว่าง ค่าระดับสีเขียวถึงค่าระดับสีแดง (a) และค่าระดับสีฟ้าถึงค่าระดับสีเหลือง (b) เพื่อนำ a กับ b ไปใช้ในกระบวนการ k-mean โดยให้ k=2 ต่อมานำส่วนที่พบไปแปลงเป็น HSV color space (5) เข้ากระบวนการ global threshold โดยใช้เฉพาะ S (Saturation) (6) เข้ากระบวนการ Sobel edge operator เพื่อหาขอบและจัดการกับส่วนที่เกยกัน (7) เข้ากระบวนการ Morphology process โดย Opening (8) ต่อมาเป็นการกำหนดพื้นที่โดยพื้นที่ได้น้อยกว่า 40 pixel พื้นที่นั้นจะถูกกำจัดออก และ (9) เข้ากระบวนการ Distance transform และ Watershed

[5] งานวิจัยของคุณ Man และคณะ ได้ทำการศึกษาการแยกเม็ดเลือดแดงกับเม็ดเลือดขาว โดยมีขั้นตอนดังนี้ (1) นำภาพถ่ายที่ได้มาเสริมให้เห็นความแตกต่างของภาพโดยเข้ากระบวนการ

Gray level stretching ของทั้งภาพ R ภาพ G และ ภาพ B (2) เข้ากระบวนการ Median filtering (3) แปลงภาพเป็น YCbCr color space (4) เข้ากระบวนการ k-mean clustering และ (5) เข้ากระบวนการ Morphology

[6] งานวิจัยของคุณ Silvio และคณะได้ทำการศึกษารับ Colony บน Petri dish โดยมีข้อสังเกตว่าถึงแม้จะเป็น Colony ชนิดเดียวกัน ยังสามารถมีรูปร่างที่แตกต่างกัน ซึ่งใช้ Global threshold ไม่ได้ ต้องใช้ Adaptive threshold แทน โดยมีขั้นตอนดังนี้ (1) แปลงภาพ RGB เป็นภาพขาวดำ (Binary image) (2) เข้ากระบวนการ Adaptive threshold (3) กำหนดสัญญาณรบกวนโดยใช้ภาพ G ไปลบออก (4) เข้ากระบวนการ Distance transformation (5) เข้ากระบวนการ Watershed ซึ่งในขั้นตอนนี้ยังพบว่า Colony ติดกันอยู่ ดังนั้นจึงเข้ากระบวนการ Bayes classifier

[7] งานวิจัยของคุณ Guozhen และคณะได้ทำการศึกษารับ colony บน agar plate โดยใช้ NICE (NIST's Integrated colony enumerator) ซึ่งเป็น Software ที่ใช้งานในโปรแกรม Matlab โดยมีขั้นตอนดังนี้ (1) ภาพถ่ายที่ใช้เป็นภาพขาวดำ (Binary image) (2) ต้องเลือกค่า Threshold เอง (3) เข้ากระบวนการ Label processing เพื่อหา Plate (4) กำหนดค่าพื้นที่ที่เล็กที่สุดที่น่าจะเป็น 1 colony และถ้าเล็กกว่านั้นถือเป็นสัญญาณรบกวน ส่วนพื้นที่ที่ใหญ่เกินไปจะเข้า Morphology processes แต่หากยังได้พื้นที่ที่ใหญ่เกินกว่านั้นไปอีกให้เข้ากระบวนการ Distance transform และตามด้วย Watershed

[3] งานวิจัยของคุณ Siwaporn และคณะได้ทำการศึกษารับหลอดของไวรัส โดยมีขั้นตอนดังนี้ (1) เครื่องสแกนเนอร์ทั่วไปที่ใช้กับกระดาษมาถ่ายรูป 96-well plate (2) แปลงเป็นภาพระดับเทา (3) เข้ากระบวนการ Gaussian filter (4) ใช้ Global thresholding หลายๆ ช่วงแล้วนำผลที่ได้มารวมกัน (union) และ (5) นับจำนวนหลอด

[8] งานวิจัยของคุณ Thanatip ได้ทำการศึกษารหัสส่วนประกอบของเซลล์มะเร็งปากมดลูกซึ่งต้องการหาสองส่วนคือ Cytoplasm และ Nucleus โดยมีขั้นตอนดังนี้ (1) แปลงภาพเป็นภาพระดับสีเทา (2) เข้ากระบวนการ Median filtering (3) เข้ากระบวนการ Fuzzy C-means clustering เพื่อแยกส่วนของ Cytoplasm, Nucleus และพื้นหลัง (4) แยก Cytoplasm กับ Nucleus ที่ติดกันโดยใช้ Morphology และ (5) ระบุให้ได้ว่าส่วนไหนเป็น Cytoplasm และส่วนไหน

เป็น Nucleus โดยใช้ 5 วิธีเปรียบเทียบกัน ประกอบด้วย 1. Bayesian classifier, 2. Linear Discriminant Analysis (LDA), 3. K-nearest neighbor (KNN), 4. Artificial neural networks (ANN), และ 5. Support vector machine (SVM)

จากวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องดังกล่าวข้างต้น สรุปได้ว่าการใช้กระบวนการวิเคราะห์ภาพเพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ต่างๆ นั้น จำเป็นต้องใช้หลายกรรมวิธี โดยเริ่มจากการกำจัดสัญญาณรบกวนออกก่อน ตามด้วยการแยกส่วนของพื้นที่ที่สนใจกับพื้นที่หลังออกจากกัน และสุดท้ายคือการระบุจำนวนที่แน่นอนจากพื้นที่ที่สนใจในอีกครั้ง



3874745264

## บทที่ 2

### ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องและการวิเคราะห์

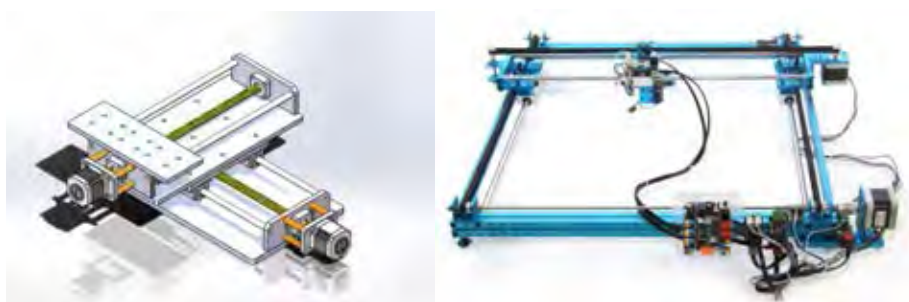
เนื่องจากการทำวิจัยนี้มีทั้งการถ่ายภาพหลุมทุกหลุมใน 96 well plate และนำภาพเหล่านั้นไปประมวลผลเพื่อหาจำนวนพลาซของไวรัส ดังนั้นในส่วนของทฤษฎีที่เกี่ยวข้องนี้จึงแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ทฤษฎีเกี่ยวกับโต๊ะที่เคลื่อนที่อัตโนมัติในแนวระนาบ และการประมวลผลภาพ

#### 2.1 ทฤษฎีเกี่ยวกับโต๊ะที่เคลื่อนที่อัตโนมัติในแนวระนาบ

ในการสร้างโต๊ะเคลื่อนที่อัตโนมัติในแนวระนาบมีส่วนประกอบสำคัญ 2 ส่วนคือการส่งกำลังและมอเตอร์ เพื่อเลือกส่วนประกอบ 2 ส่วนนี้ให้เหมาะสมกับงานวิจัยนี้ จึงรวบรวมข้อมูลและทำการเปรียบเทียบข้อดีข้อเสียกัน

##### 2.1.1 การส่งกำลัง

การส่งกำลังของโต๊ะเคลื่อนที่อัตโนมัติในแนวระนาบสามารถสร้างได้ 2 แบบคือการใช้ลีดสกรูหรือการใช้สายพาน [9] การใช้ลีดสกรู 1 ตัวหรือการใช้สายพาน 1 เส้นนั้นทำให้เกิดการเคลื่อนที่ได้ในแนวทางเดียว เพื่อให้เกิดการเคลื่อนที่ได้ในแนวระนาบจึงต้องมีการขับเคลื่อนและการส่งกำลัง 2 ชุด โดยนำมาวางทับกันเป็นเครื่องหมายบวก [9, 10] แสดงดังรูปที่ 2-1



รูปที่ 2-1 ตัวอย่างการสร้างโต๊ะที่เคลื่อนที่ได้อัตโนมัติ (ก) การส่งกำลังด้วยลีดสกรู [11] (ข) การส่งกำลังด้วยสายพาน [12]

### 2.1.1.1 สายพาน

สายพานมีคุณสมบัติอย่างหนึ่งคือความยืดหยุ่น คุณสมบัตินี้ทำให้มีทั้งข้อดีและข้อเสีย ความยืดหยุ่นนี้ทำให้สามารถทำความเร็วได้สูงและใช้กำลังขยับน้อย แต่ความยืดหยุ่นนี้ทำให้การส่งกำลังเกิดความคลาดเคลื่อนได้ [10] โดยเกิดจากการสั่นสะเทือนของตัวสายพานเอง [13] และระยะที่ผิดพลาดจากการยืดของสายพาน [14] ถ้าต้องการใช้งานภายใต้ค่าความคลาดเคลื่อนน้อยๆ ต้องหาค่าชดเชยจากการยืดของสายพานหรือการสร้างระบบควบคุมแบบป้อนกลับ ซึ่งมีความซับซ้อน [9, 14]

### 2.1.1.2 ลีตสกรู

ลีตสกรูโดดเด่นมากในเรื่องความน่าเชื่อถือ [9] เนื่องจากความแข็งของมัน ทำให้การส่งกำลังได้ระยะทางที่แน่นอน มีความแม่นยำสูง แต่ด้วยความแข็งดังกล่าวทำให้ต้องใช้กำลังในการส่งสูงและทำความเร็วได้จำกัด [9] อีกทั้งมีน้ำหนักมาก

เพื่อการตัดสินใจเลือกการส่งกำลังให้เหมาะสม งานวิจัยนี้จึงใช้เกณฑ์การกำหนดตามวัตถุประสงค์คือเน้นความแม่นยำ ความซับซ้อนต่ำและราคาถูก โดยทำการเปรียบเทียบพารามิเตอร์ต่างๆ ดังตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 เปรียบเทียบพารามิเตอร์ต่างๆ ระหว่างลีตสกรูและสายพาน

ลำดับที่	วัตถุประสงค์	ลีตสกรู	สายพาน
1	ความละเอียด	สูงกว่า [9]	ปานกลาง [9]
2	ความซับซ้อนในการสร้าง และซ่อมบำรุง	ต่ำกว่า [9]	สูงกว่า [13]
3	ราคา	ถูกกว่า [15]	แพงกว่า [15]

จากตารางที่ 2-1 จึงสรุปได้ว่าการส่งกำลังเลือกใช้ลีตสกรู เนื่องจากมีความแม่นยำสูงกว่าและราคาถูกกว่า

### 2.1.2 มอเตอร์ไฟฟ้า

ในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่ถูกขับเคลื่อนด้วยมอเตอร์ไฟฟ้า ซึ่งต้องการแรงบิดโดยอาศัยหลักการแปลงพลังงานทางไฟฟ้าเป็นพลังงานทางกล [16] จากการสำรวจวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับ

โตะที่เคลื่อนที่อัตโนมัติในแนวระนาบ พบมอเตอร์ไฟฟ้าที่ใช้กันมี 2 ชนิด คือ (1) สเต็ปเปอร์มอเตอร์ และ (2) เซอร์โวมอเตอร์

### 2.1.2.1 สเต็ปเปอร์มอเตอร์

สเต็ปเปอร์มอเตอร์สามารถใช้งานได้หลากหลายในอุตสาหกรรม [17] เนื่องจากสามารถกำหนดองศาได้แม่นยำ การทำงานของสเต็ปเปอร์มอเตอร์เป็นแบบไม่ต่อเนื่องโดยจะหมุนเป็นขั้น โดยแต่ละขั้นมีความละเอียดที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับโครงสร้างของมอเตอร์แต่ละตัว [18] สามารถเคลื่อนที่ได้ขั้นละ 1, 1.5, 1.8 หรือ 2 องศา [15] โดยการส่งความต่างศักย์ทางไฟฟ้าเป็นพัลส์ซึ่ง 1 พัลส์จะสั่งให้มอเตอร์หมุนไป 1 ขั้น เหมาะกับการรับโหลดไม่มาก [19] ถ้าใช้สเต็ปเปอร์มอเตอร์อย่างเหมาะสม จะให้คุณสมบัติที่พึงประสงค์ด้วยระบบควบคุมแบบไม่ป้อนกลับ [20] ข้อดีของสเต็ปเปอร์มอเตอร์คือ ควบคุมความเร็วได้แน่นอน [20] ปรับความเร็วได้ [20] ใช้กระแสเริ่มต้นต่ำ [20] มีความทนทาน ต้องการการบำรุงรักษาต่ำ [21, 22] ความละเอียดแน่นอน [19, 20] และราคาถูก [19-22] ส่วนข้อเสียคือทำความเร็วได้จำกัดเนื่องจากความเฉื่อยจากโรเตอร์ [20] ที่ความเร็วสูงมากๆ อาจทำให้เกิดค่าความผิดพลาดได้ อีกทั้งแรงบิดต่ำ [20] และมีเสียงดัง

### 2.1.2.2 เซอร์โวมอเตอร์

เซอร์โวมอเตอร์เป็นมอเตอร์ที่สามารถควบคุมความเร็ว ควบคุมแรงบิด และควบคุมตำแหน่งได้แม่นยำมาก [18, 23] ส่วนประกอบหลักคือ สเตเตอร์ โรเตอร์และชุดตรวจจับ (Encoder) [23] ความสามารถในการควบคุมที่กล่าวมานี้จะดีหรือไม่ดีขึ้นอยู่กับ การสร้างระบบควบคุมแบบป้อนกลับ โดยมีการอ่านค่าตำแหน่งจากชุดตรวจจับ (Encoder) ด้วย [23] ยิ่งระบบควบคุมแบบป้อนกลับที่ ออกแบบดีเท่าไร ยิ่งควบคุมเซอร์โวมอเตอร์ได้ดีเท่านั้น [9, 10, 24] องศาการเคลื่อนที่ของเซอร์โว มอเตอร์ไหลลื่น [25] ทำให้มีการสิ้นเปลืองน้อย ข้อดีของเซอร์โวมอเตอร์คือสามารถลดเฉยความ คลาดเคลื่อนจากอุปกรณ์ที่ใช้ได้ด้วยการออกแบบระบบควบคุมแบบป้อนกลับ ส่วนข้อเสียคือการ ออกแบบระบบควบคุมแบบป้อนกลับมีความซับซ้อน [26] ราคาแพง [19, 21, 22, 26] ต้องการการ บำรุงรักษาสูงเนื่องจากชุดตรวจจับ (Encoder) บอบบาง ใช้กำลังในการขับมาก [25] ขนาดใหญ่ [25]



ตัวอย่างที่นำมาเปรียบเทียบคือ เซอร์โวมอเตอร์รุ่น CPM-SDSK-2310D กับเสตีปเปอร์มอเตอร์รุ่น 42SO3 Bipolar Parallel ซึ่งมีแรงบิดใกล้เคียงกันดังตารางที่ 2-2

ตารางที่ 2-2 เปรียบเทียบคุณสมบัติของเซอร์โวมอเตอร์รุ่น CPM-SDSK-2310D กับเสตีปเปอร์มอเตอร์รุ่น 42SO3 Bipolar Parallel

ลำดับที่	คุณสมบัติ	CPM-SDSK-2310D	42SO3 Bipolar Parallel
1	แรงบิด	แรงบิดสูงสุด 0.5 Nm [27]	แรงบิดถือค้ำ 0.47 Nm [28]
2	ความแม่นยำ	ต่ำ-สูง	1.8 องศา [28]
3	ความยาว	84.84 มิลลิเมตร [27]	48 มิลลิเมตร [28]
4	ราคา	7,708.63 บาท [27]	1,600 บาท [28]

เพื่อการตัดสินใจเลือกมอเตอร์ที่เหมาะสมในงานวิจัยนี้ จึงกำหนดเกณฑ์ตามวัตถุประสงค์ซึ่งเน้นเรื่องความแม่นยำ ความซับซ้อนน้อย ราคาถูก และทนทาน โดยทำการเปรียบเทียบคุณสมบัติตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ ดังตารางที่ 2-3

ตารางที่ 2-3 เปรียบเทียบคุณสมบัติตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ ระหว่างเสตีปเปอร์มอเตอร์และเซอร์โวมอเตอร์

ลำดับที่	วัตถุประสงค์	เสตีปเปอร์มอเตอร์	เซอร์โวมอเตอร์
1	ความแม่นยำ	ปานกลาง [20]	ต่ำ-สูง [24]
2	ความซับซ้อนในการสร้างและซ่อมบำรุง	ต่ำกว่า [20]	สูงกว่า [20]
3	ราคา	ถูกกว่า [20]	แพงกว่า [21]
4	ความทนทาน	ทนทานมาก [20]	ทนทานปานกลาง

จากตารางที่ 2-3 จึงสรุปได้ว่ามอเตอร์ไฟฟ้าที่เลือกใช้คือเสตีปเปอร์มอเตอร์ เนื่องจากมีความซับซ้อนในการสร้างและซ่อมบำรุงต่ำกว่า ราคาถูกกว่า และมีความทนทานมากกว่า

## 2.2 การประมวลผลภาพ

การประมวลผลภาพ คือ การเปลี่ยนแปลงภาพต้นฉบับเดิมให้เห็นรายละเอียดชัดเจนมากขึ้น เพื่อให้ง่ายต่อการมองของคนและเพื่อให้เหมาะสมต่อการทำงานของคอมพิวเตอร์ [29] การจะเลือกใช้กรรมวิธีใดๆ ในการประมวลผลภาพขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ เช่น ต้องการเพิ่มความคมชัด ต้องการเน้นวัตถุในภาพ หรือลดเนื้อที่ในการเก็บข้อมูลภาพ

### 2.2.1 การกำจัดสัญญาณรบกวน

การกำจัดสัญญาณรบกวน คือ การกำจัดส่วนที่เป็นสัญญาณรบกวนของภาพที่อาจเกิดขึ้นตอนถ่ายภาพหรือตอนส่งข้อมูล โดยส่วนมากแล้วเมื่อได้รูปภาพแล้ว เราจะรู้ว่าสัญญาณรบกวนนั้นเกิดจากอะไร ดังนั้นเราจะสามารถเลือกวิธีที่เหมาะสมได้ [29]

#### 2.2.1.1 Gaussian filtering

Gaussian filtering คือการกรองสัญญาณรบกวน เมื่อนำมาใช้กับภาพซึ่งเป็นข้อมูลแบบ 2 มิติ จึงต้องใช้ Gaussian filtering แบบ 2 มิติ [29] ดังสมการ 2.1

$$f(x,y) = e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}} \quad (2.1)$$

โดย  $x$  = ค่าพิกเซลในแกน  $x$

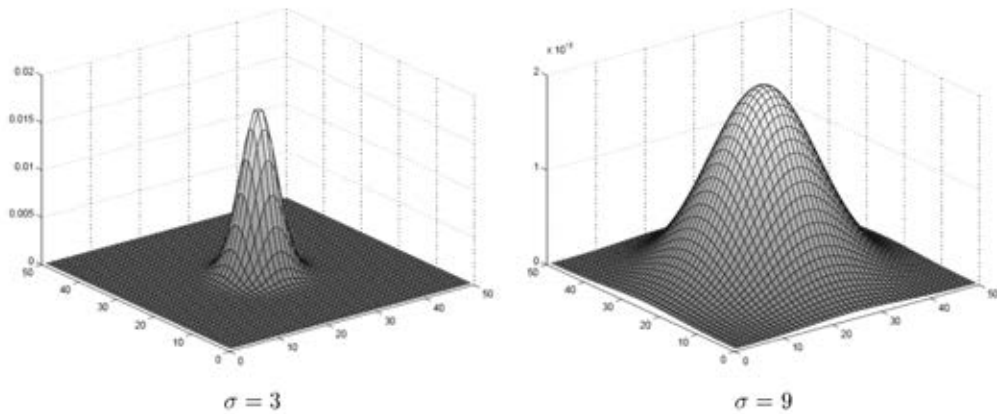
$Y$  = คือพิกเซลในแกน  $y$

$\sigma$  = ค่าส่วนเบี่ยงเบน

$f(x,y)$  = ค่าสีที่พิกัด  $xy$

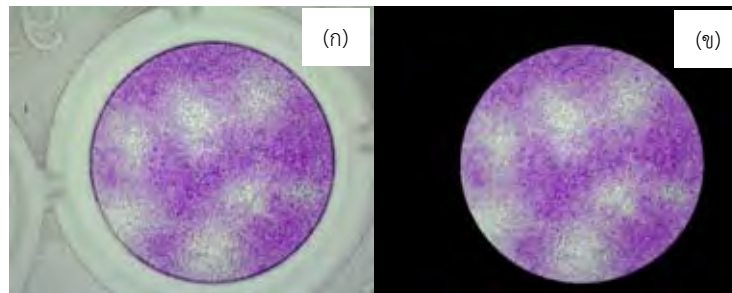
ขั้นตอนการคำนวณคือกำหนดกรอบ (Mask) เพื่อคำนวณ Gaussian filter แต่ละส่วนของภาพ เช่น จากรูปที่ 2-2 กรอบที่กำหนดคือ  $50 \times 50$  แบ่งคิดไปเรื่อยๆ จนครบทั้งรูป โดยยิ่งกรอบที่กำหนดมีค่ามาก ภาพที่ได้ออกมาจะเบลอมากเท่านั้น ส่วน  $\sigma$  เป็นค่าที่กำหนดลักษณะความโค้งของระฆังดังแสดงในรูปที่ 2-2 กล่าวคือ ถ้า  $\sigma$  มีค่าน้อยฐานระฆังจะแคบ แต่ถ้า  $\sigma$  มีค่ามากฐานระฆังจะกว้าง





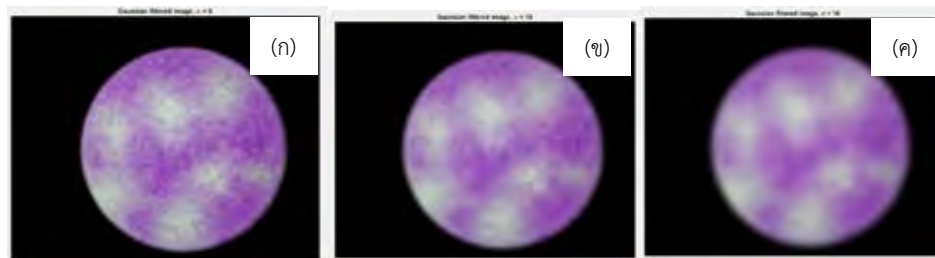
รูปที่ 2-2 Gaussian filter แบบ 2 มิติ [29]

การทดลองใช้ Gaussian filter กับภาพตัวอย่างดังรูป 2- 3 (ก) ซึ่งเลือกเฉพาะส่วนพื้นที่ วงกลมดังรูปที่ 2-3 (ข)



รูปที่ 2-3 (ก) รูปต้นฉบับ (ข) รูปต้นฉบับที่เลือกเฉพาะพื้นที่วงกลมที่สนใจ

ขั้นตอนการทดลองเริ่มจากนำรูปที่ 2-3 (ข) แบ่งภาพ RGB เป็น 3 ภาพคือ ภาพ R ภาพ G และภาพ B เพื่อให้ได้ภาพระบบสองมิติจากนั้นนำแต่ละภาพไปเข้ากระบวนการ Gaussian filter ต่อมานำภาพทั้งสามมารวมเป็นภาพ RGB เหมือนเดิมดังรูปที่ 2-4



รูปที่ 2-4 ภาพหลังผ่าน Gaussian filter (ก) ตั้งค่า  $\sigma$  เท่ากับ 6 (ข) ตั้งค่า  $\sigma$  เท่ากับ 10 และ (ค) ตั้งค่า  $\sigma$  เท่ากับ 16

จากการทดลองพบว่ายิ่ง  $\sigma$  มากทำให้ได้พื้นผิวเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้นแต่จะมีความคมชัดลดลง

### 2.2.1.2 Median filtering

Median filtering คือการกรองสัญญาณรบกวนโดยเลือกค่ากลางจากภายในกรอบที่กำหนด [29] กล่าวคือการกำหนดกรอบ (mask)  $n \times n$  ตัวอย่างเช่น กำหนดกรอบ (mask) เป็น  $3 \times 3$  ดังแสดงในรูปที่ 2-5 เมื่อนำค่าสีของแต่ละตำแหน่งมาเรียงไล่ลำดับจากน้อยไปมากจะได้ 50 52 57 58 60 61 63 65 และ 255 แล้วหาค่าตรงกลางจากการเรียง ซึ่งได้ค่า 60 ค่าในกรอบที่กำหนดจึงเป็น 60 ทั้งหมดดังแสดงในรูปที่ 2-6

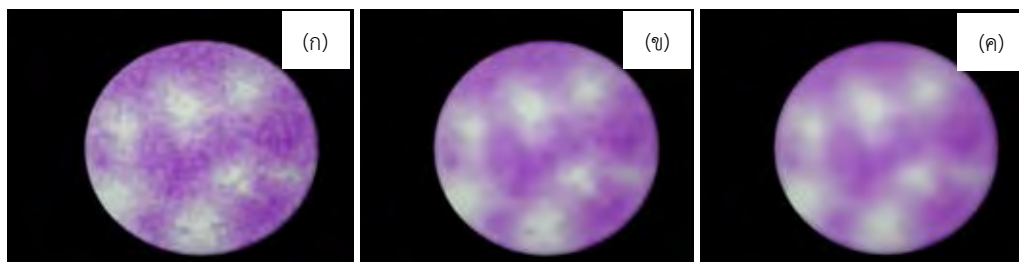
50	65	52
63	255	58
61	60	57

→

60	60	60
60	60	60
60	60	60

รูปที่ 2-5 การแสดงตัวอย่างการใช้ Median filtering

การทดลองโดยนำรูป 2-3 (ข) มาเข้ากระบวนการ Median filtering โดยเลือก mask เท่ากับ 10 20 และ 30 จะได้ดังรูป 2-6



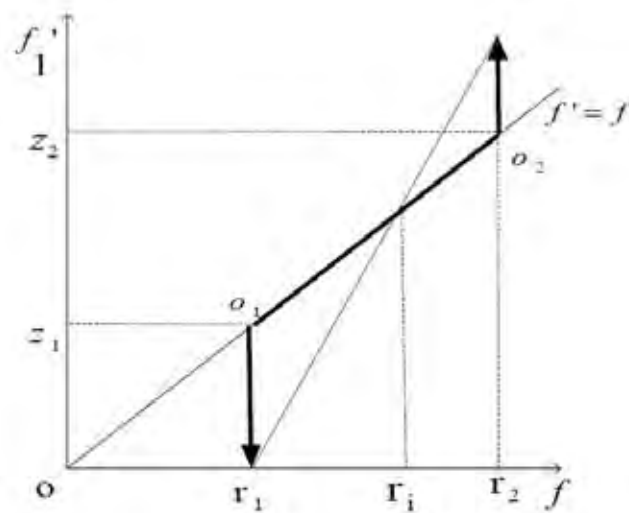
รูปที่ 2-6 ภาพหลังผ่านกระบวนการ Median filtering (ก) ตั้งค่า mask เท่ากับ 10 (ข) ตั้งค่า mask เท่ากับ 20 และ (ค) ตั้งค่า mask เท่ากับ 30

จากการทดลองพบว่ายิ่ง mask มาก ยิ่งทำให้ได้พื้นผิวเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น แต่มีความคมชัดลดลง

## 2.2.2 Gray level stretching

การปรับปรุงคุณภาพของภาพ สามารถทำได้ด้วยการปรับค่าระดับสีเทา (Gray value) ในภาพให้แตกต่างกันมากขึ้น แต่พบว่าจะไม่ใช่วิธีที่ดีที่สุด ซึ่งวิธีที่ดีกว่าคือ Gray level stretching [5]

Gray level stretching คือ การนำค่าระดับสีเทา (Gray value) ของแต่ละค่าสี (RGB) มาปรับช่วงค่าสีใหม่ แล้วรวมเป็นภาพ RGB เหมือนเดิม

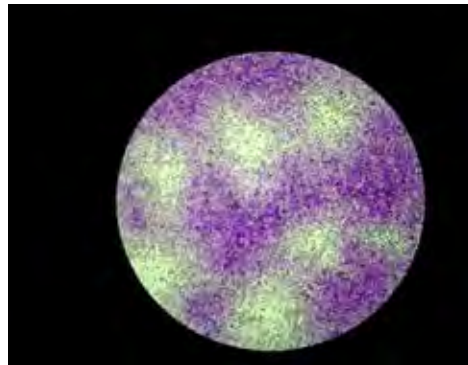


รูปที่ 2-7 การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างภาพต้นฉบับกับภาพที่ผ่านการเสริมภาพเชิงเส้นแล้ว [5]

จากรูปที่ 2-7 แสดงการแปลงค่าระดับสีเทา (Gray value) ช่วง  $[r_1, r_2]$  ของภาพต้นฉบับ ( $f$ ) ไปเป็นค่าระดับสีเทา (Gray value) ช่วง  $[z_1, z_2]$  ภาพที่ผ่านการเสริมภาพเชิงเส้นแล้วคือ ( $f'$ ) สมการที่ใช้คือสมการ 2.2 ภาพที่ได้หลังจากการแปลงจะเห็นความแตกต่างมากยิ่งขึ้น

$$f'(x, y) = \frac{z_1 - z_2}{r_1 - r_2} [f(x, y) - r_1] + z_1 \quad (2.2)$$

ขั้นตอนการทดลองเริ่มจากนำรูปที่ 2-3 (ข) แบ่งภาพ RGB เป็น 3 ภาพคือ ภาพ R ภาพ G และภาพ B เพื่อให้ได้ภาพระบบสองมิติจากนั้นนำแต่ละภาพไปเข้ากระบวนการ Gray level stretching ต่อมนำภาพทั้งสามมารวมเป็นภาพ RGB เหมือนเดิมดังรูปที่ 2-8



รูปที่ 2-8 ภาพหลังผ่านกระบวนการ Gray level stretching

จากการทดลอง Gray level stretching ทำให้ได้ภาพสดใสมากขึ้นและเห็นรายละเอียดได้ชัดเจนมากขึ้น

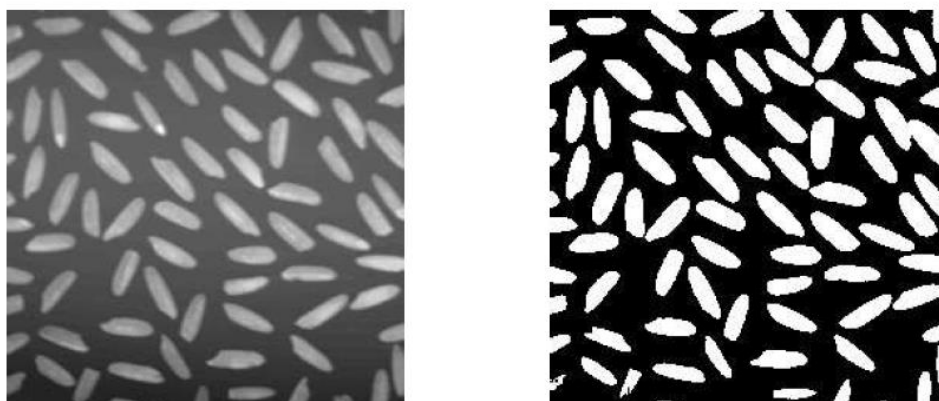
### 2.2.3 Image thresholding

Image thresholding คือการแปลงภาพระดับสีเทา (Gray image) ให้เป็นภาพขาวดำ (Binary image) สำหรับการตัดสินใจว่าแต่ละพิกเซลซึ่งมีค่าระดับสีเทา (Gray value) นั้นจะเป็นขาวหรือเป็นดำจะถูกตัดสินใจโดยค่า  $T$  ตามสมการ 2.3

$$g(x,y) = \begin{cases} 1 & \text{if } f(x,y) > T \\ 0 & \text{if } f(x,y) \leq T \end{cases} \quad (2.3)$$

โดยถ้าพิกเซลใดมีค่าระดับสีเทา (Gray value) มากกว่า  $T$  จะกลายเป็นสีขาว ส่วนถ้าพิกเซลใดมีค่าระดับสีเทา (Gray value) น้อยกว่าหรือเท่ากับ  $T$  จะกลายเป็นสีดำ

ถ้ามีการกำหนด  $T$  เป็นค่าคงที่ค่าเดียวในเงื่อนไขจะเรียกว่า Single Thresholding แต่ถ้ามีการกำหนดค่าคงที่ในเงื่อนไขสองค่า คือ มี  $T_1$  และ  $T_2$  จะเรียกว่า Double thresholding [29] และถ้าไม่มีการแบ่งพื้นที่ของภาพเพื่อคิดแยกแต่ละส่วนจะเรียกว่า Global thresholding

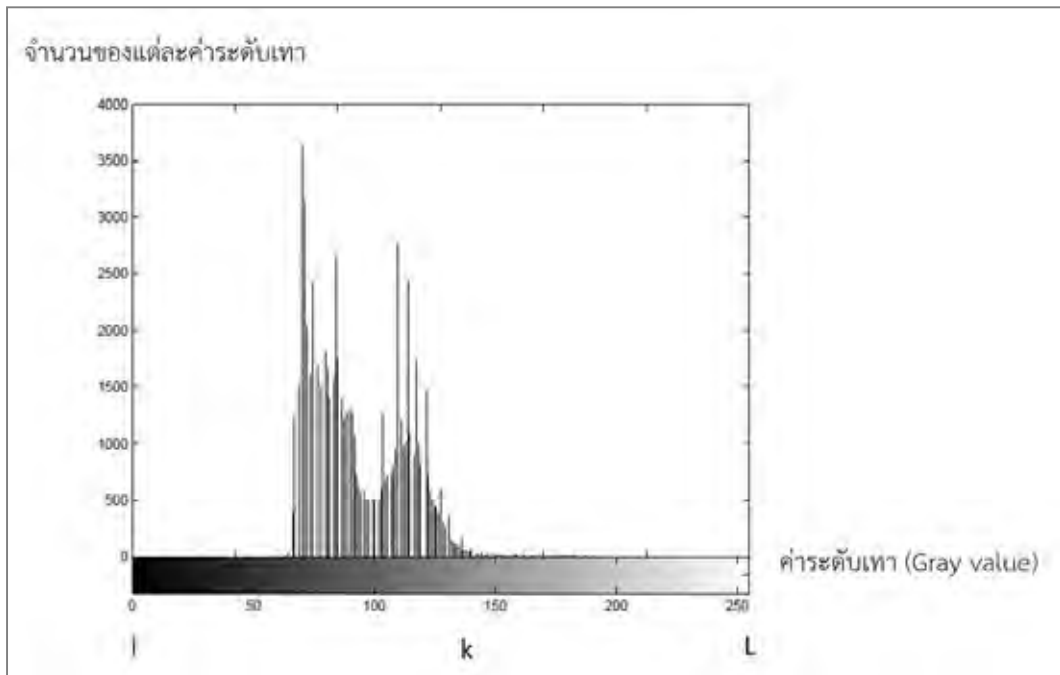


รูปที่ 2-9 ตัวอย่างการแปลงภาพระดับสีเทา (Gray image) ไปเป็นภาพขาวดำ (Binary image) [29]

กลยุทธ์ใน Image thresholding มีหลากหลายวิธี ในงานวิจัยนี้ขอกล่าวถึงเฉพาะที่พบในวรรณกรรมที่เลือกมาเท่านั้นซึ่งเกี่ยวข้องกับการนับพลาค

### 2.2.3.1 Otsu thresholding

Otsu thresholding เป็นการหาค่า  $k$  ที่เหมาะสมที่สุดในการตัดสินใจ ค่าระดับสีเทา (Gray value) ค่าใดในภาพควรเป็นขาวหรือเป็นดำแบบเปลี่ยนแปลงตามความเหมาะสมของภาพนั้นๆ หลักการหา คือ หาค่า  $k$  ที่ทำให้ได้ค่าแปรปรวนสูงสุด



รูปที่ 2-10 Histogram [29]

$$\sigma_B^2 = \omega_0 \omega_1 (\mu_0 - \mu_1)^2 \quad (2.4)$$

โดย  $\sigma_B^2$  คือ ค่าความแปรปรวน  
 $\omega_0$  คือ ค่าความน่าจะเป็นของกลุ่มที่ 1  
 $\omega_1$  คือ ค่าความน่าจะเป็นของกลุ่มที่ 2  
 $\mu_0$  คือ ค่าเฉลี่ยของกลุ่มที่ 1  
 $\mu_1$  คือ ค่าเฉลี่ยของกลุ่มที่ 2

$$\omega_0 = \sum_{i=1}^k P_i = \omega(k) \quad (2.5)$$

$$\omega_1 = \sum_{i=k+1}^L P_i \quad (2.6)$$

โดย  $P_i$  คือ การ Normalization ให้ได้ค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 1

$$P_i = n_i / N \quad (2.7)$$

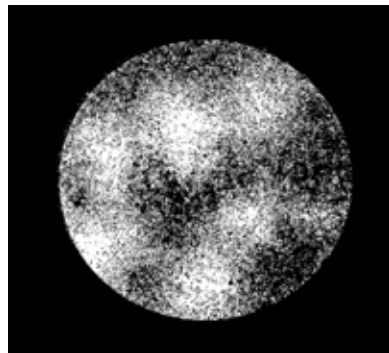
โดย  $n_i$  คือ จำนวนพิกเซล (pixel) ณ ตำแหน่ง  $i$   
 $N$  คือ ผลรวมของจำนวนพิกเซล (pixel) ทั้งหมด

$$\mu_0 = \mu^{(k)} / \omega_0 \quad (2.8)$$

$$\mu_1 = \sum_{i=k+1}^L i \cdot P_i / \omega_1 \quad (2.9)$$

โดย 
$$\mu^{(k)} = \sum_{i=1}^k i \cdot P_i \quad (2.10)$$

สุดท้ายเมื่อได้ค่า  $k$  มา ให้  $k=T$  ซึ่งเป็นค่าที่ใช้ตัดสินว่าพิกเซลใดเป็นขาวหรือพิกเซลใดเป็นดำ  
 ขั้นตอนการทดลองเริ่มจากนำรูปที่ 2-3 (ข) แปลงเป็นภาพระดับสีเทาแล้วจึงเข้ากระบวนการ Otsu  
 thresholding แสดงดังรูปที่ 2-11



รูปที่ 2- 11 การแสดงตัวอย่างการใช้ Otsu thresholding

จากการทดลองพบว่า Otsu thresholding สามารถแยกพื้นที่พลาแคได้แต่ยังไม่ชัดเจน  
 เนื่องจากลักษณะของพิกเซลที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ดังนั้นเพื่อให้ได้ภาพที่ชัดเจนมากขึ้นอาจต้องทำ  
 ร่วมกันกระบวนการกำจัดสัญญาณรบกวนด้วย

### 2.2.3.2 Adaptive thresholding

แม้ว่าการใช้ Global thresholding จะเร็วในการดำเนินการและมีประสิทธิภาพที่ดีกับภาพระดับสีเทา (Gray image) แต่มันให้ผลออกมาไม่ดีกับภาพระดับสีเทาที่มีสัญญาณรบกวน การใช้ Local thresholding หรือ Adaptive thresholding จึงเป็นความหวังที่จะแก้ปัญหานี้ [30]

การใช้ Adaptive thresholding จะมีค่า  $T$  หลายค่า เนื่องจากภาพระดับสีเทา (Gray image) ที่ทำด้วยวิธีนี้นั้นถูกแบ่งเป็นหลายส่วน ในแต่ละส่วนจะมีค่า  $T$  เป็นของตัวเอง โดยค่า  $T$  หาได้จากสมการ 2.10 ในที่นี้ขอยกตัวอย่างให้แต่ละส่วนมีขนาด  $3 \times 3$

$$T(i, j) = m(i, j) + k \cdot s(i, j) \quad (2.11)$$

โดย  $m(i, j)$  คือ ค่าเฉลี่ยของ  $n(i, j)$   
 $s(i, j)$  คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน  
 $k$  คือ ค่าคงที่อยู่ระหว่าง 0 ถึง 1

$$m(i, j) = \frac{\sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 n(i, j)}{3 \times 3} \quad (2.12)$$

$$s(i, j) = \sqrt{\left( \frac{\sum (n(i, j) - \bar{n})^2}{3 \times 3} \right)} \quad (2.13)$$

โดย  $n(i, j) = \frac{std(i, j)}{\max(std(i, j))} \quad (2.14)$

โดย  $std(i, j)$  คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของแต่ละส่วนที่แบ่งแล้วที่พิกเซลตรงกลางเป็น  $p(i, j)$

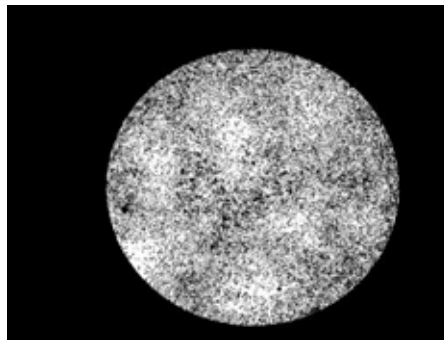
$p(i, j)$  คือ ค่าสีที่พิกัด  $ij$  ดังแสดงในรูป 2-12



$p(i-1, j-1)$	$p(i-1, j)$	$p(i-1, j+1)$
$p(i, j-1)$	$p(i, j)$	$p(i, j+1)$
$p(i+1, j-1)$	$p(i+1, j)$	$p(i+1, j+1)$

รูปที่ 2-12 การแสดงพิกเซลรอบข้างขนาด  $3 \times 3$  สำหรับ Local thresholding [30]

ขั้นตอนการทดลองเริ่มจากนำรูปที่ 2-3 (ข) แปลงเป็นภาพระดับสีเทาแล้วจึงเข้า Adaptive thresholding แสดงดังรูปที่ 2-13



รูปที่ 2-13 การแสดงตัวอย่างการใช้ Adaptive thresholding

จากการทดลองพบว่าการใช้ Adaptive thresholding ได้ภาพที่แสดงรายละเอียดได้น้อยลง เนื่องจากกระบวนการนี้เป็นการแยกภาพเป็นหลายส่วนแต่ละส่วนจะมีค่า Thresholding เป็นของตัวเอง ในการพิจารณาภาพหลายส่วนนี้อาจมีบางส่วนพบเฉพาะเซลล์อย่างเดียวหรือพบเฉพาะพลาคอย่างเดียว เมื่อเข้ากระบวนการ Adaptive thresholding จะหาค่า Threshold ที่เหมาะสมให้เห็นความแตกต่างกันในส่วนนั้นๆ ดังนั้นในส่วนที่พบเฉพาะเซลล์อย่างเดียว ภาพที่ได้จึงยังเห็นความแตกต่างของเซลล์ และในทำนองเดียวกันในส่วนที่พบเฉพาะพลาคอย่างเดียว ภาพที่ได้จะเห็นความแตกต่างของพลาค ดังนั้นหลักการของ Adaptive thresholding ที่แยกพิจารณาเป็นส่วนๆ จึงไม่เหมาะสมกับพื้นผิวที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกันดังตัวอย่างในรูปที่ 2-3(ข)

## 2.2.4 K-means clustering

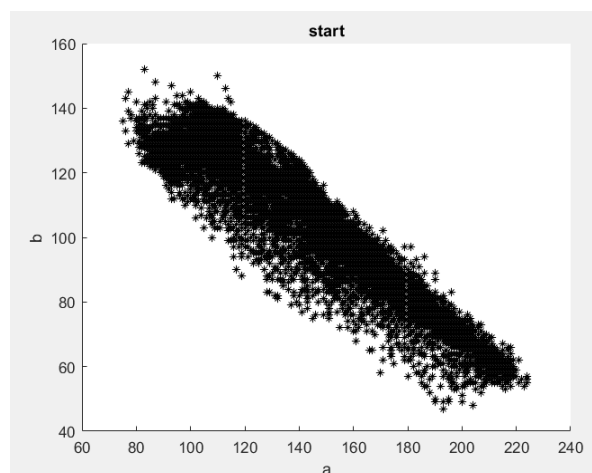
เป็นที่รู้จักกันว่า K-means algorithm คือวิธีการแยกส่วนของข้อมูลชุดหนึ่งให้เป็นกลุ่มๆ หลักการคือใช้ Euclidean distance [31] กล่าวคือเป็นการเปรียบเทียบระยะห่างของทุกข้อมูลกับจุดศูนย์กลางของแต่ละกลุ่ม โดยข้อมูลใดวัดระยะทางแล้วได้ค่าน้อยสุดกับกลุ่มใด จะอยู่กับกลุ่มนั้น เนื่องจากงานวิจัยนี้เลือกใช้วิธี K-means algorithm จึงขอกล่าวถึงอย่างละเอียด

การใช้ K-means clustering เพื่อแยกส่วนของภาพ (Image segmentation) จะใช้กับภาพ CIELAB color space หรือที่รู้จักในชื่อ CIE L\*a\*b\* [31] ซึ่งระบบภาพแบบนี้ประกอบด้วย L คือค่าความสว่าง a คือค่าแสดงสีจากสีเขียวไปสีแดง และ b คือค่าแสดงสีจากสีน้ำเงินไปสีเหลือง การจัดกลุ่มของ K-means clustering นี้จะใช้ข้อมูลจาก a และ b เท่านั้น รายละเอียดเป็นดังต่อไปนี้

1. ภาพที่ได้มาส่วนมากมักเป็นระบบสี RGB ซึ่งสามารถแปลงเป็นระบบสีแบบ CIE L\*a\*b\* ได้ ด้วยสมการ 2.14

$$\begin{bmatrix} L \\ a \\ b \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 16 \\ 128 \\ 128 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0.2568 & 0.5041 & 0.0979 \\ -0.1482 & -0.2910 & 0.4392 \\ 0.4392 & -0.3678 & -0.0714 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix} \quad (2.15)$$

2. เมื่อได้ภาพระบบสีแบบ CIE L\*a\*b\* มาแล้ว ค่าที่ต้องใช้มีเพียง a กับ b เท่านั้น

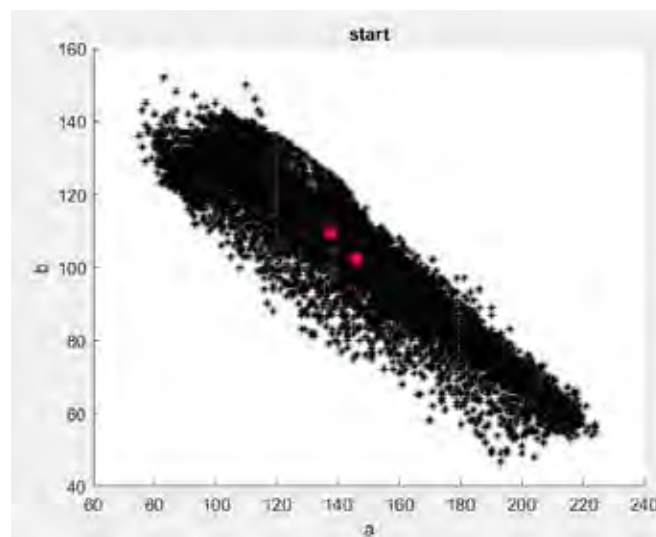


รูปที่ 2-14 การแสดงตัวอย่างค่า a และค่า b นำมาพล็อตกราฟ

3. การเข้ากรรมวิธีของ K-means clustering K คือกำหนดจำนวนกลุ่มที่ต้องการแบ่ง เริ่มโดยการสุ่มจุดศูนย์กลางตามจำนวน K (จุดสีแดง) ลงไปในรูปที่ 2-14 และจัดกลุ่มโดยใช้ Euclidean distance ตามสมการ 2.15 กล่าวคือทุกข้อมูลจะต้องถูกนำมาคิด Euclidean distance กับทุกจุดศูนย์กลางเพื่อหาค่าที่น้อยที่สุด เพื่อจัดกลุ่มของทุกข้อมูลกับจุดศูนย์กลาง หลังจากจัดกลุ่มเสร็จแล้ว ต้องหาจุดศูนย์กลางของกลุ่มใหม่และจัดกลุ่มใหม่ โดยทำวนซ้ำแบบนี้ไปเรื่อยๆ ซึ่งแสดงดังรูปที่ 2-16 จนกว่าจุดศูนย์กลางไม่เปลี่ยนแปลงอีก

$$d(a,b) = \sqrt{(a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2} \quad (2.16)$$

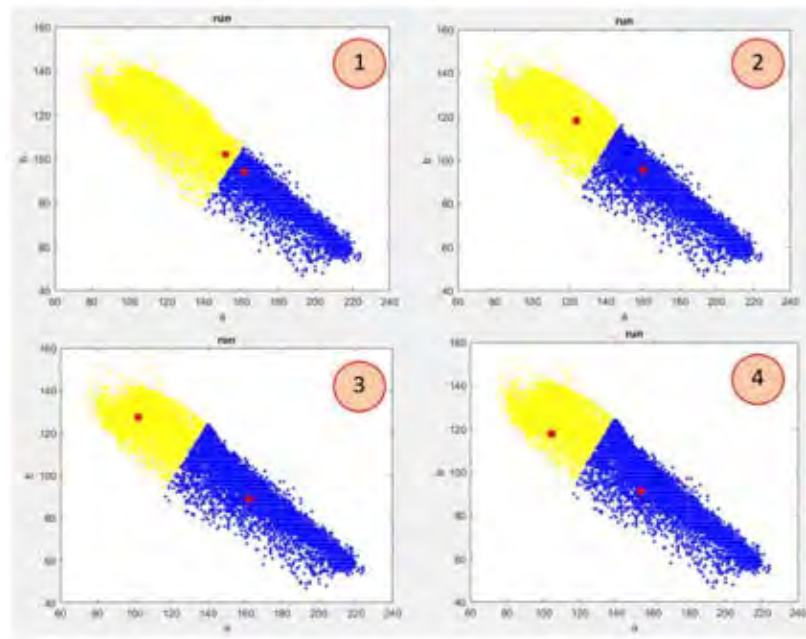
โดย	$a_1$	คือ	ค่าระดับสี a ที่พิจารณาที่ 1
	$a_2$	คือ	ค่าระดับสี a ที่พิจารณาที่ 2
	$b_1$	คือ	ค่าระดับสี b ที่พิจารณาที่ 1
	$b_2$	คือ	ค่าระดับสี b ที่พิจารณาที่ 2
	$d(a,b)$	คือ	ระยะระหว่างตำแหน่ง $(a_1, b_1)$ กับ $(a_2, b_2)$



รูปที่ 2-15 การแสดงการสุ่มจุดศูนย์กลางในกราฟ ab

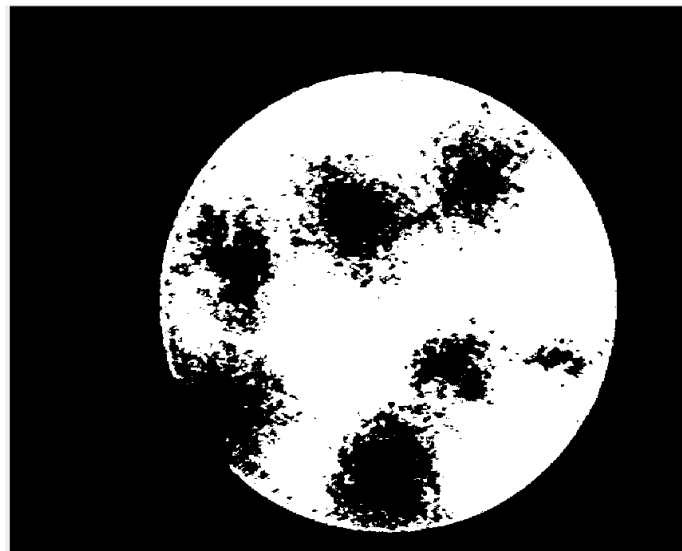


3874745264



รูปที่ 2-16 การแสดงการขยับของจุดศูนย์กลางถ่วงและการจัดกลุ่ม 4 รอบ

การทดลองดำเนินโดยนำรูปที่ 2-3(ข) เข้ากระบวนการ K-means clustering ได้ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-17



รูปที่ 2-17 ตัวอย่างการใช้กระบวนการ K-means clustering จากรูปที่ 2-3(ข)

จากการทดลองพบว่าผลลัพธ์ที่ได้หลังกระบวนการ K-means clustering ทำให้แยกส่วนของพื้นที่พลาแคได้อย่างชัดเจน

## 2.2.5 การหาขอบของวัตถุในภาพ (Edge detection)

การหาขอบของวัตถุในภาพ (Edge detection) เป็นการหาค่าช่วงที่มีความแตกต่างแล้วสกัดช่วงนั้นออกมา จะเห็นว่าความแตกต่างนั้นจะช่วยเสริมขอบของวัตถุในภาพให้ชัดเจนขึ้นและลดรายละเอียดอย่างอื่นลง [29] ซึ่งวิธีในการหาขอบของวัตถุในภาพนั้นมีหลายวิธี สำหรับงานวิจัยนี้ขอกล่าวถึง 2 กรรมวิธี ซึ่งพบในวรรณกรรมที่น่าจะมีประโยชน์กับการนับพลาค

### 2.2.5.1 Laplacian filter mask

Laplacian filter เป็นวิธีปรับความคมชัดของภาพ เน้นไปที่การหารายละเอียดในภาพ ลดความเบลอของภาพ หลักการคือหาขอบของวัตถุในภาพโดยใช้หลักการหาความแตกต่างของความแตกต่างอีกที หรือเรียกว่า ความแตกต่างอันดับสอง [29] หรือในภาษาคณิตศาสตร์เรียกว่าอนุพันธ์อันดับสอง สมการที่ใช้หา Laplacian คือสมการ 2.21 โดย  $f(x, y)$  คือค่าสีที่พิกัด  $xy$

$$\nabla^2 f = \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 f}{\partial y^2} \quad (2.21)$$

$$\text{โดย } \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} = f(x-1, y) + f(x+1, y) - 2f(x, y) \quad (2.22)$$

$$\frac{\partial^2 f}{\partial y^2} = f(x, y-1) + f(x, y+1) - 2f(x, y) \quad (2.23)$$

ดังนั้นจะได้

$$\nabla^2 f = f(x-1, y) + f(x+1, y) + f(x, y-1) + f(x, y+1) - 4f(x, y) \quad (2.24)$$

หรือทำเป็น Laplacian filter mask ได้เป็น

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

ผลจาก Laplacian filter ทำได้โดยนำภาพแบ่งเป็นส่วนๆ ให้ได้ขนาดตามกรอบของ Laplacian filter mask แล้วนำมา Convolution กับ Laplacian filter mask จะได้ดังรูปที่ 2-18 ซึ่ง Convolution คือ การคิดค่าสีใหม่ของแต่ละตำแหน่ง หาได้จากการนำผลคูณของแต่ละตำแหน่งที่ตรงกันระหว่าง  $f(x,y)$  ของภาพกับ Laplacian filter mask มาบวกกันแล้วคูณด้วยตำแหน่งของ  $f(x,y)$  ที่กำลังพิจารณา ทำจนครบทุกตำแหน่งของ  $f(x,y)$

50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
50	50	200	200	200	200	200	200	50	50
50	50	200	200	200	200	200	200	50	50
50	50	200	200	200	200	200	200	50	50
50	50	200	200	200	200	200	200	50	50
50	50	50	50	200	200	200	200	50	50
50	50	50	50	200	200	200	200	50	50
50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

-100	-50	-50	-50	-50	-50	-50	-50	-50	-100
-50	0	150	150	150	150	150	150	0	-50
-50	150	-300	-150	-150	-150	-150	-300	150	-50
-50	150	-150	0	0	0	0	-150	150	-50
-50	150	-150	0	0	0	0	-150	150	-50
-50	150	-300	-150	0	0	0	-150	150	-50
-50	0	150	300	-150	0	0	-150	150	-50
-50	0	0	150	-300	-150	-150	-300	150	-50
-50	0	0	0	150	150	150	150	0	-50
-100	-50	-50	-50	-50	-50	-50	-50	-50	-100

รูปที่ 2-18 การแสดงการใช้ Laplacian filter mask (ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ภาพหลังจากกระบวนการ Laplacian filter mask แล้ว [29]

### 2.2.5.2 Sobel filters

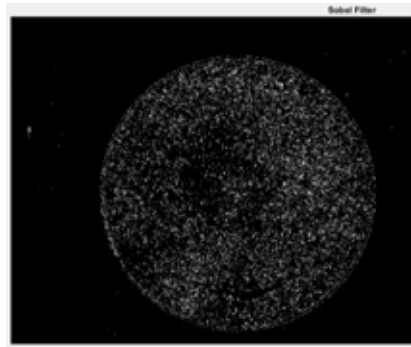
Sobel filters เป็นวิธีหาขอบของวัตถุในภาพ ด้วยการหาความแตกต่างในแนวตั้งและแนวนอนโดย

$$\text{Filter ในแนวตั้งคือ} \begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -2 & 0 & 2 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

$$\text{Filter ในแนวนอนคือ} \begin{bmatrix} -1 & -2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & 1 \end{bmatrix}$$

หลักการของกรรมวิธีนี้คือ นำภาพมา Zero crossing กับทั้ง Filter ในแนวตั้งและ Filter ในแนวนอนแล้วนำผลลัพธ์ทั้งสองที่ได้มารวมกัน

การทดลองเริ่มจากรูปที่ 2-3(ข) เข้ากระบวนการ Sobel filters ได้ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-19



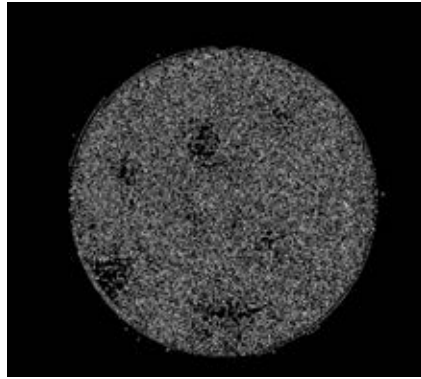
รูปที่ 2-19 ตัวอย่างการใช้กระบวนการ Sobel filter จากรูปที่ 2-4(ข)

### 2.2.5.3 Canny edge detector

ขั้นตอนการหาขอบของภาพโดยวิธีของ canny ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน

1. ปรับภาพให้เรียบก่อนด้วยการใช้ Gaussian เพื่อกำจัดสัญญาณรบกวน
2. คำนวณหาค่าขนาดและทิศทางของ Gradient
3. นำค่าที่ได้จาก 2. มาคำนวณหาค่าของ Non-maxima Suppression กับค่าขนาด Gradient เสร็จแล้วจะได้ขอบที่บางลง
4. ใช้ Thresholding แบบ Double Tresholding เพื่อแสดงค่าของพิกเซลที่เป็นขอบและเชื่อมต่อบอบให้ต่อกัน

การทดลองเริ่มจากรูปที่ 2-3(ข) เข้ากระบวนการ Canny edge detector ได้ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-20

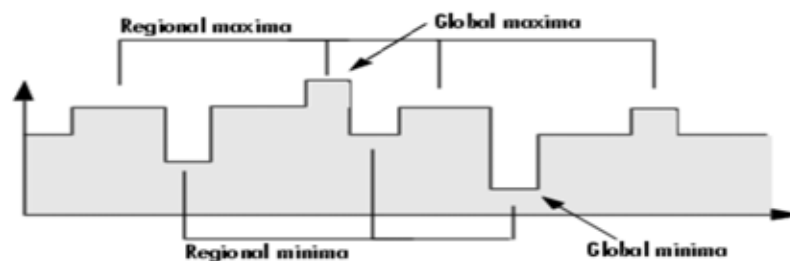


รูปที่ 2-20 ตัวอย่างการใช้กระบวนการ Canny filter จากรูปที่ 2-3(ข)

### 2.2.6 Extended-Maxima Transform

Extended-Maxima Transform มีหลักการคล้ายกับ Thresholding แต่มีรายละเอียดมากกว่า และเกี่ยวข้องกับ Regional minima และ Regional maxima ซึ่งทั้งสองคำนี้เป็นตัวกำหนดว่าค่าระดับเทาตัวไหนจะเป็นสีขาวหรือสีดำ ดังนั้นจึงขออธิบาย 2 คำนี้ก่อนเพื่อความเข้าใจ

ภาพระดับสีเทาสามารถมองเป็นข้อมูล 3 มิติได้ คือให้แกน  $x$  และแกน  $y$  เป็นแกนที่บอกพิกัดของภาพ และให้แกน  $z$  เป็นแกนที่บอกค่าระดับสีเทา (Gray value) ดังแสดงในรูปที่ 2-23 จากรูปเห็นว่า Regional maxima และ Regional minima มีหลายค่าแต่ Global maxima กับ Global minima มีเพียงค่าเดียว การใช้ Thresholding คือการใช้ Global maxima หรือ Global minima เป็นค่าคงที่ตัวเดียวแต่การใช้ Regional maxima หรือ Regional minima จะเรียกว่า Extended-Maxima หรือ Extended-Minima ตามลำดับ

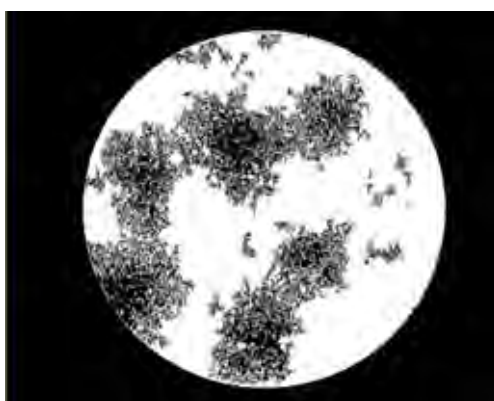


รูปที่ 2-21 การแสดงตัวอย่างค่าระดับสีเทา (Gray value) หรือค่าในแกน  $z$  [32]



ในบางครั้งการใช้ Extended-Maxima Transform ยังไม่ได้ผลตามต้องการจึงใช้ H-maxima Transformation โดยมีส่วนเพิ่มเติมคือเมื่อได้ค่า Regional max มาแล้ว ให้นำค่านั้นมาปรับได้โดยนำไปลบกับค่าคงที่ที่ตั้งไว้แล้วค่อยแสดงผล แต่ถ้าใช้วิธีนี้ภาพที่ได้จะเป็นภาพระดับสีเทา (Gray image)

การทดลองเริ่มจากนำรูปที่ 2-3 (ข) แปลงเป็นภาพระดับสีเทาแล้วเข้ากระบวนการ Extended-Maxima Transform ได้ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-22

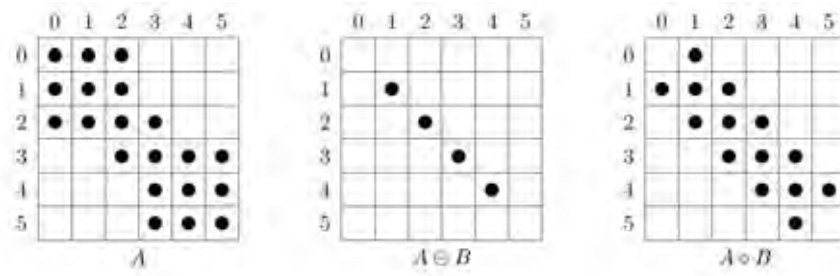


รูปที่ 2-22 ตัวอย่างการใช้กระบวนการ Extended maxima transform จากรูปที่ 2-3(ข)

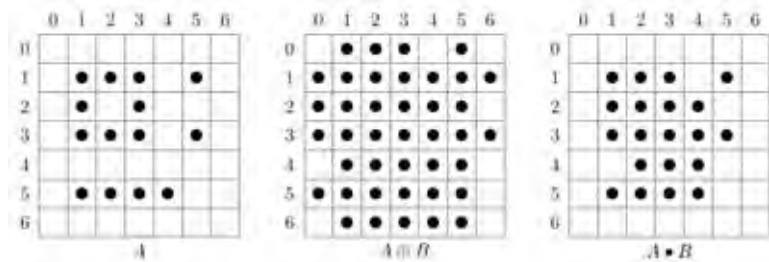
### 2.2.7 Morphological processing

Morphological processing คือแขนงหนึ่งของกระบวนการประมวลผลภาพ ซึ่งมีประโยชน์ในการวิเคราะห์รูปร่างของวัตถุในภาพ [29] แม้ว่ากระบวนการนี้สามารถใช้ได้กับภาพระดับสีเทาด้วย แต่ในงานวิจัยนี้ขอกกล่าวถึงเฉพาะกับภาพขาวดำ (Binary image) เท่านั้น

กระบวนการทำงานของ Morphological processing ดำเนินการโดยรวม 2 ขั้นตอนไว้ด้วยกันคือ การกร่อนขนาด (Erosion) และการขยายขนาด (Dilation) [29] ถ้าใช้การกร่อนขนาดก่อนแล้วตามด้วยการขยายขนาดเรียกว่า Opening แต่ถ้าใช้การขยายขนาดก่อนแล้วตามด้วยการกร่อนขนาดเรียกว่า Closing

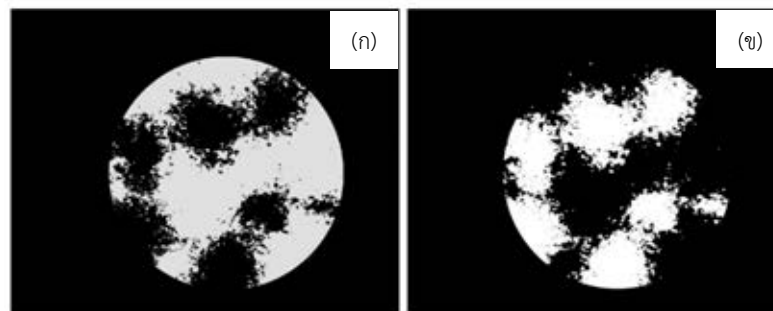


รูปที่ 2-23 ภาพตัวอย่างการใช้ Opening



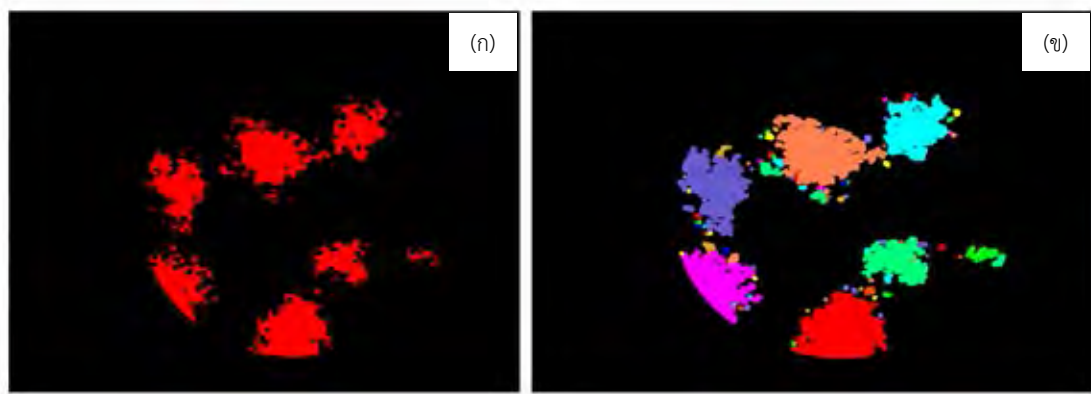
รูปที่ 2-24 ภาพตัวอย่างการใช้ closing

การทดลอง Morphological processing คือการเล่นกับพื้นที่เป็นส่วนๆ ดังนั้นก่อนเข้ากระบวนการนี้จึงต้องผ่านการบวนการที่ทำให้ได้พื้นที่เป็นส่วนๆ มาก่อนและต้องเป็นภาพขาวดำ (Binary image) ในที่นี้ใช้ เป็น K-means clustering ดังรูปที่ 2-25(ข) ต่อมาทำการ Invert image เพื่อให้ได้พื้นที่ที่สนใจดังแสดงในรูปที่ 2-25(ก)



รูปที่ 2-25 การเปรียบเทียบการ Invert image จากรูปที่ 2-17 (ก) รูปต้นฉบับ และ (ข) รูป Invert image จากรูป 2-17

และต่อมานำรูปที่ 2-25 (ข) เข้ากระบวนการ Morphological processing โดยใช้ Opening



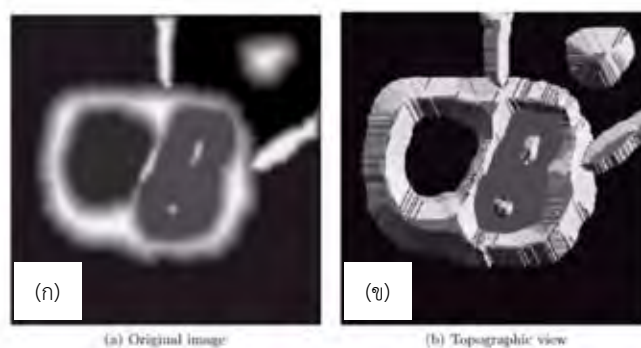
รูปที่ 2-26 การแสดงตัวอย่างการใช้กระบวนการ Morphological processing จากรูปที่ 2-17(ข)

(ก) กร่อนขนาด 5 พิกเซล และ (ข) การขยายขนาด 5 พิกเซล

การกร่อนขนาดโดยกร่อน 5 พิกเซลจากรูป 2-25(ข) ได้รูปที่ 2-26(ก) เพื่อแยกพื้นที่ที่ติดกันออกจากกัน เมื่อแยกพื้นที่ออกจากกันได้แล้วจึงขยายขนาด 5 พิกเซล ได้ดังรูปที่ 2-26(ข) เพื่อให้ได้ขอบเขตพื้นที่เท่าเดิม ผลที่ได้เพิ่มเติมอีกคือเป็นการกำจัดสัญญาณรบกวนได้ด้วย

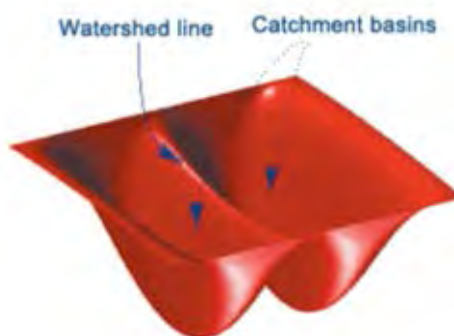
## 2.2.8 Watershed transformation

การทำงานของ Watershed transform อยู่บนพื้นฐานของลักษณะกายภาพทางภูมิศาสตร์ (Topographic) ของค่าระดับสีเทา (Gray values) ซึ่งภาพถูกตีความเหมือนช่วงของภูเขา โดยค่าต่ำๆ ให้เป็นหุบเขา ส่วนค่าสูงๆ ให้เป็นภูเขา [33]



รูปที่ 2-27 (ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ภาพทางภูมิศาสตร์ [34]

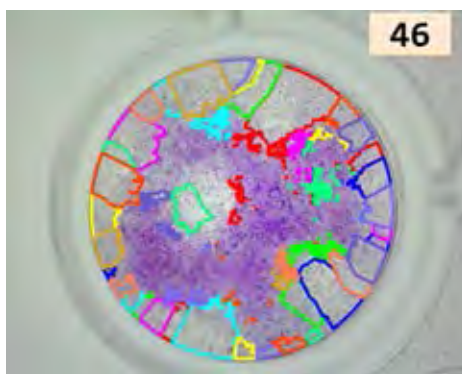
จากรูปที่ 2-27 Watershed line เปรียบเสมือนสันเขา และ Catchment basins เปรียบเสมือนหุบเขา



รูปที่ 2-28 การแสดง Watershed line และ Catchment basins [34]

หลักการคือหา Watershed line โดยจินตนาการว่ามีฝนตกลงมาเรื่อยๆ ระดับน้ำในหุบเขาจะสูงขึ้นเรื่อยๆ และเมื่อระดับน้ำสูงขึ้นจนน้ำจากหลายๆ หุบเขากำลังจะรวมกัน จะเห็นเส้นบางๆ แบ่งระหว่างน้ำที่กำลังล้น เส้นนั้นคือ Watershed lines [34]

Watershed transform มักใช้ควบคู่กับ Distance transform เพื่อให้ผลการแบ่งมีประสิทธิภาพสูงขึ้น [6] กล่าวคือก่อนใช้ Watershed transform ต้องผ่าน Distance transform ก่อน



รูปที่ 2-29 ภาพแสดงตัวอย่างการใช้ Watershed transformation โดยการนำรูปที่ 2-17 เข้ากระบวนการ Distance transform ก่อนแล้วจึงเข้ากระบวนการ Watershed transformation

### 2.2.9 Distance transform

Distance transform เป็นกระบวนการที่ใช้กับภาพไบนารีเท่านั้น ผลของการเข้ากระบวนการนี้ได้เป็นภาพระดับสีเทา จินตนาการว่ามีพื้นที่ราบผืนหนึ่งแล้วเปลี่ยนให้เป็นภูเขาสูงขึ้นมาเปรียบเทียบกับพื้นที่ของภาพไบนารีพื้นที่หนึ่งเปลี่ยนให้เป็นภาพระดับสีเทา โดยยอดภูเขาเปรียบได้กับค่าระดับสีเทาสูงสุดซึ่งอยู่ตรงกลางและไล่ระดับค่าสีเทาลงมาเรื่อยๆ จนถึงตีนเขา

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

⇒

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

รูปที่ 2-30 ตัวอย่างการแปลงภาพไบนารีเป็นภาพระดับสีเทา

ด้วยกระบวนการ Distance transform [35]

### 2.2.10 Hough transform

Hough Transform เป็นวิธีหาวัตถุรูปทรงเรขาคณิตโดยอาศัยสมการเส้นตรงและสมการวงกลม แต่ถึงแม้ว่าวัตถุที่ต้องการหาจะมีรูปร่างที่ไม่แน่นอนได้ โดยสามารถทำได้โดยวิธี Generalized Hough Transform และ Modified Generalized Hough Transform

#### การหาเส้นตรงและมุมของเส้นตรงโดย Straight Line Hough Transform

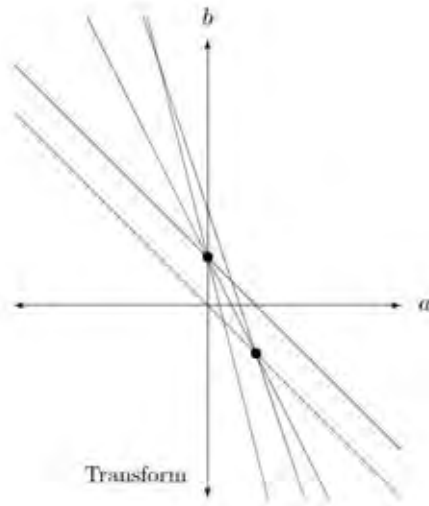
วัตถุที่มีรูปร่างทางเรขาคณิตที่แน่นอนซึ่งประกอบด้วยเส้นตรง สามารถสร้างสมการเส้นตรงเพื่อบอกรูปร่างของวัตถุนั้นได้ด้วยสมการเส้นตรง

$$y_i = mx_i + c \quad (2.25)$$

ต่อมาทำการสลับแทนค่า  $x_i$  และ  $y_i$  ที่พบแล้วแทนค่าในสมการ 2.25 เพื่อเก็บค่า  $m$  คือค่าแสดงความชัน และ  $c$  คือตำแหน่งที่เส้นตรงตัดกับแกน  $y$  โดยค่าที่ได้จะเก็บให้อยู่ใน Accumulator array (A) ทำแบบนี้เพื่อสร้างสมการ 2.26

$$c_i = y - m_i x \quad (2.26)$$

หามุมของเส้นตรงโดยนำสมการ 2.26 นำมาวาดเส้นตรงอนันต์บนระนาบ  $mc$  ดังรูปที่ 2-32 แล้วหาจุดตัด จุดตัดไหนมีมากที่สุดจุดนั้นคือตำแหน่งของมุมของเส้นตรง



รูปที่ 2-31 การแสดงการหามุมของเส้นตรงจากระนาบ  $mc$  [29]

ถ้าเส้นตรงหรือมุมของเส้นตรงที่ต้องการหาเป็นเส้นตั้งสามารถหาได้จากสมการ 2.27

$$r = x \cos \theta + y \sin \theta \quad (2.27)$$

โดย  $r$  คือ ระยะที่สั้นที่สุดจากจุดอ้างอิงไปจุดบนเส้น  $(x,y)$   
 $\theta$  คือ มุมของ  $r$  กับแกน  $x$

### การหาวงกลมด้วยวิธี Circular Hough Transform

หลักการเหมือนกันกับการหาเส้นตรงและมุมของเส้นตรงโดย Straight Line Hough Transform แต่เปลี่ยนจากสมการเส้นตรงเป็นสมการวงกลมดังสมการ 2.28 และให้ Accumulator array (A) เก็บค่า  $a, b$  ของรัศมีที่กำหนด ( $r$ )

$$(x-a)^2 + (y-b)^2 = r^2 \quad (2.28)$$



รูปที่ 2-32 ภาพแสดงการใช้ Hough transform เพื่อหาวงกลม

เนื่องจาก Hough transform คือการหาขอบเส้นจากภาพขาวดำ (Binary image) ในที่นี้จึงใช้ Hough transform ร่วมกับ k-means clustering โดยนำรูปที่ 2-17 มาเข้ากระบวนการ Hough transform โดยให้หาวงกลมที่รัศมีตั้งแต่ 5 – 60,000 พิกเซล ผลที่ได้แสดงดังรูป 2-32

#### 2.4 การออกแบบการทดลองเพื่อนับพลาคของไวรัส

การหาปริมาณไวรัสโดยใช้ Plaque assay ไม่สามารถนับจากตัวไวรัสได้โดยตรงแต่เป็นการทำนายร่องรอยของเซลล์ที่ถูกไวรัสกินไป ในแต่ละหลุมถ้าไวรัสกระจายตัวห่างกันมากพอในตอนเริ่มต้นเลี้ยง ผลที่ได้หลังจากการย้อมสีเซลล์จะพบว่าพื้นที่พลาคแยกตัวกันอย่างชัดเจน ทำให้นับจำนวนพลาคได้ง่าย แต่ในทางกลับกันถ้าตอนเริ่มต้นเลี้ยงไวรัสโดยมีไวรัสอยู่ใกล้กัน ผลที่ได้หลังการเลี้ยงจะพบพื้นที่พลาคเกยกัน ทำให้นับจำนวนพลาคได้ยาก

เพื่อนับจำนวนพลาคของไวรัสได้ถูกต้อง ต้องคำนึงถึงสองอย่างคือการพบพื้นที่พลาคทั้งหมด และทำนายจำนวนพลาคมากกว่าหนึ่งพลาคที่เกยกันได้ จึงแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วนคือ (1) การแยกพื้นที่เซลล์กับพื้นที่พลาคออกจากกัน และ (2) การทำนายจำนวนพลาคมากกว่าหนึ่งพลาคที่เกยกัน การทดลองทั้งหมดนี้ใช้โปรแกรม MATLAB ทดลองทั้งหมด

### 2.4.1 การแยกพื้นที่เซลล์กับพื้นที่พลาคออกจากกัน

ในส่วนนี้คือการแยกส่วนของภาพ จึงแบ่งการทดลองเป็น 4 การทดลองคือ

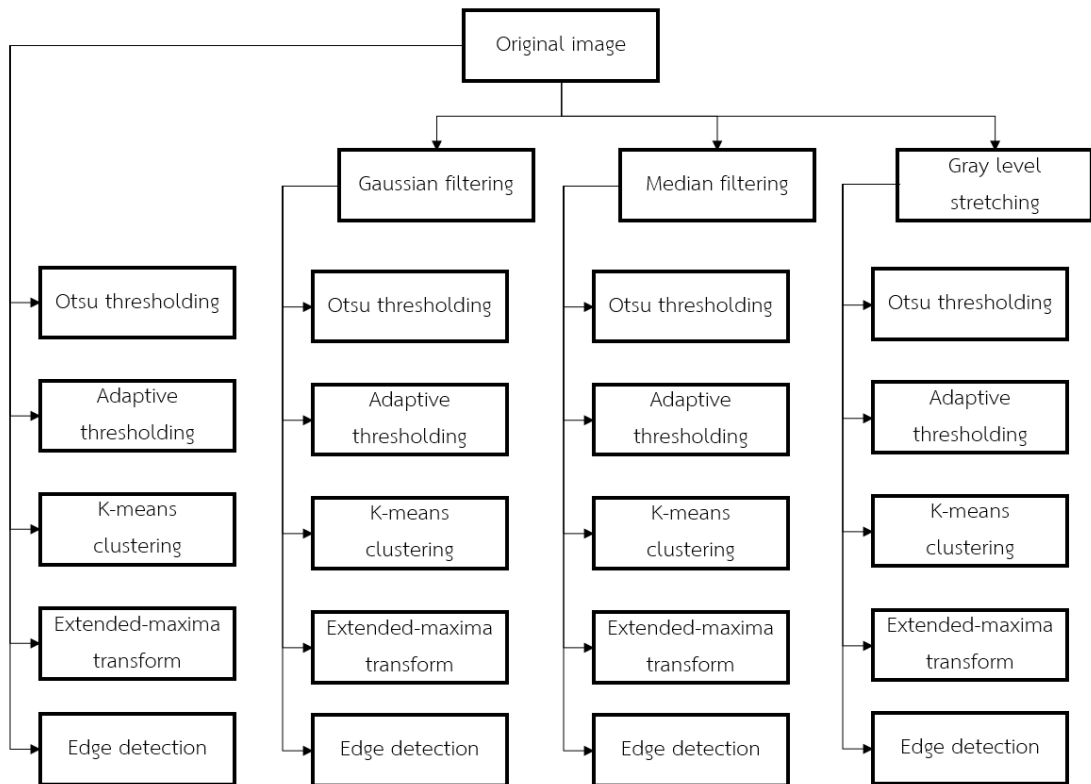
1. การนำภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการแยกส่วนของภาพโดยตรง
2. การนำภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการ Gaussian filtering แล้วจึงเข้ากระบวนการแยกส่วนของภาพ
3. การนำภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการ Median filtering แล้วจึงเข้ากระบวนการแยกส่วนของภาพ
4. การนำภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการ Gray level stretching แล้วจึงเข้ากระบวนการแยกส่วนของภาพ

การบวนการแยกส่วนของภาพในตอนนี้มี 5 ขั้นตอน คือ (1) Otsu thresholding (2) Adaptive thresholding (3) K-means clustering (4) Extended-maxima transform และ (5) Edge detection



3874745264



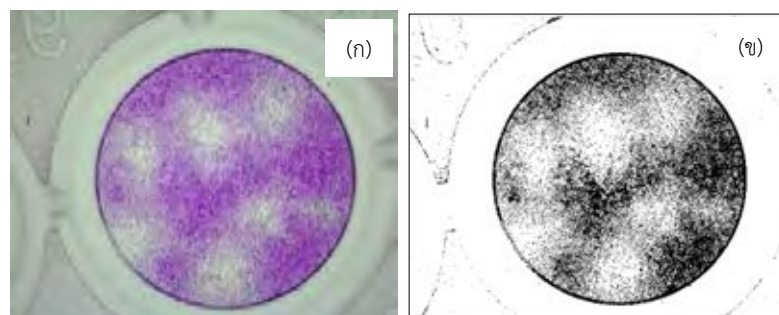


รูปที่ 2-33 แผนผังการทดลองการแยกพื้นที่เซลล์กับพื้นที่พลาสมาออกจากกัน

#### 2.4.1.1 การนำภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการแยกส่วนของภาพโดยตรง

##### 2.4.1.1.1 Otsu thresholding

การใช้ Otsu thresholding ต้องแปลงจากภาพ RGB เป็นภาพระดับสีเทาก่อน ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-34

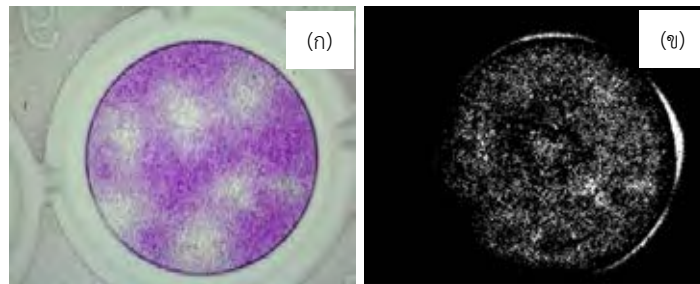


รูปที่ 2-34 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ Otsu thresholding

(ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Otsu thresholding

### 2.4.1.1.2 Adaptive thresholding

การใช้ Adaptive thresholding ต้องแปลงจากภาพ RGB เป็นภาพระดับสีเทาก่อน ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-34



รูปที่ 2-35 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ Adaptive thresholding

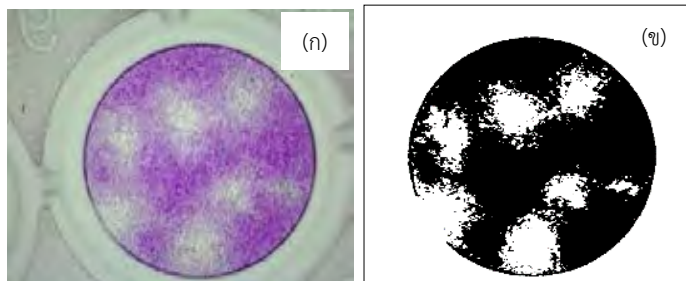
(ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Adaptive thresholding



3874745264

### 2.4.1.1.3 K-means clustering

นำรูปที่ 2-36(ก) ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-36

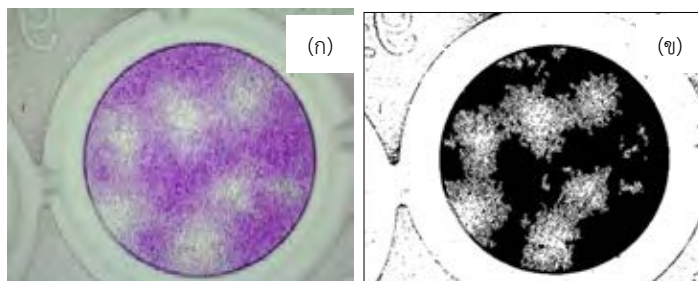


รูปที่ 2-36 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ K-means clustering

(ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ K-means clustering

### 2.4.1.1.4 Extended-maxima transform

การใช้ Extended-maxima transform ต้องแปลงจากภาพ RGB เป็นภาพระดับสีเทา ก่อน  
ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-36



รูปที่ 2-37 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ Extended-maxima transform (ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Extended-maxima transform

### 2.4.1.1.5 Edge detection

กระบวนการ Edge detection มีหลายกระบวนการ ในงานวิจัยนี้ทดลองใช้ 2 วิธีคือ (1) Sobel และ (2) Canny edge detector ก่อนเข้ากระบวนการทั้ง 2 นี้ต้องแปลงภาพจากภาพ RGB เป็นภาพระดับสีเทา ก่อน

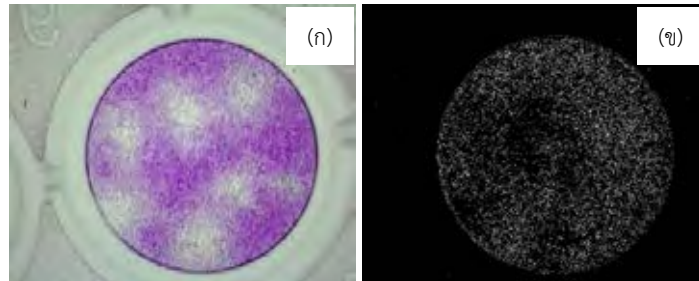


3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

#### 2.4.1.1.6 Sobel filters

ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-37

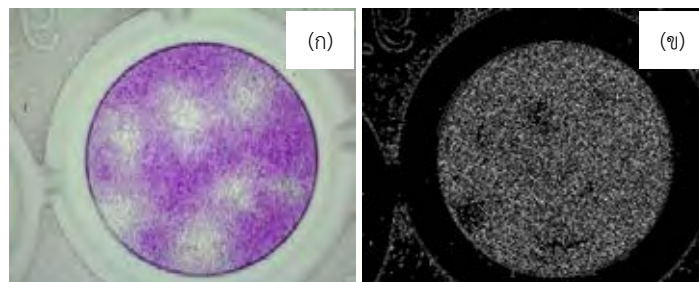


รูปที่ 2-38 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ Sobel filters

(ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Sobel filters

#### 2.4.1.1.7 Canny edge detector

ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-38



รูปที่ 2-39 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ Canny edge detector

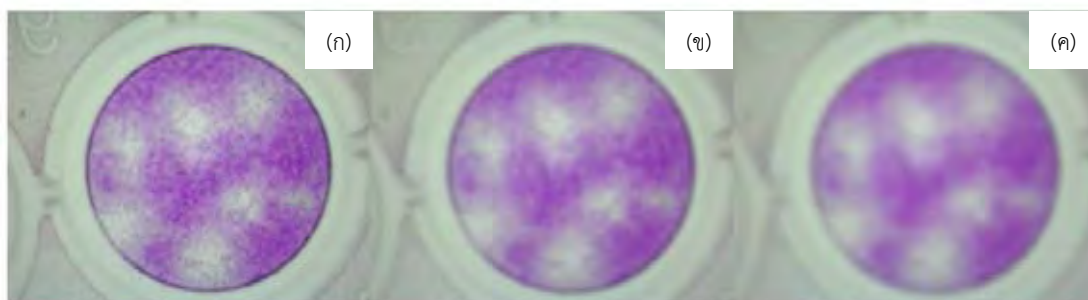
(ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Canny edge detector



3874745264

### 2.4.1.2 การนำภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการ Gaussian filtering แล้วจึงเข้ากระบวนการแยกส่วนของภาพ

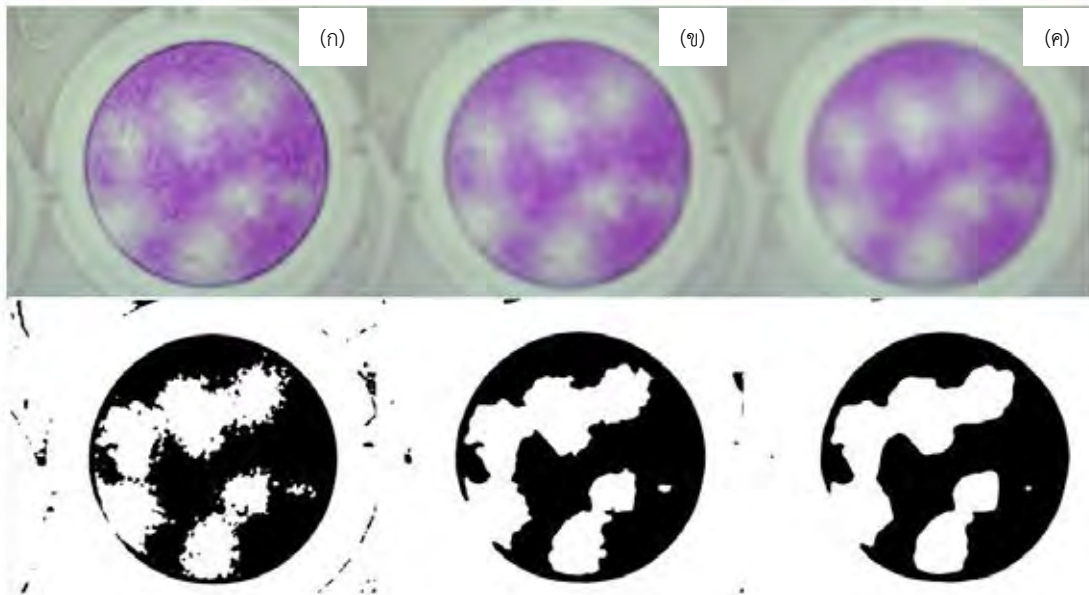
กระบวนการ Gaussian filtering มีตัวแปรที่ต้องกำหนดคือกรอบ (mask) ในการทดลองนี้ กำหนด 3 ค่า คือ  $5 \times 5$ ,  $10 \times 10$  และ  $15 \times 15$  เหตุผลที่เลือก 3 ค่านี้เนื่องจากถ้าค่ากรอบมีค่ามากกว่านี้ จะลดรายละเอียดของภาพมากเกินไป



รูปที่ 2-40 ผลลัพธ์ของกระบวนการ Gaussian filtering (ก) การกำหนดกรอบเท่ากับ  $5 \times 5$  (ข) การกำหนดกรอบเท่ากับ  $10 \times 10$  และ (ค) การกำหนดกรอบเท่ากับ  $15 \times 15$

### 2.4.1.2.1 กระบวนการ Otsu thresholding หลังจากเข้ากระบวนการ Gaussian filtering

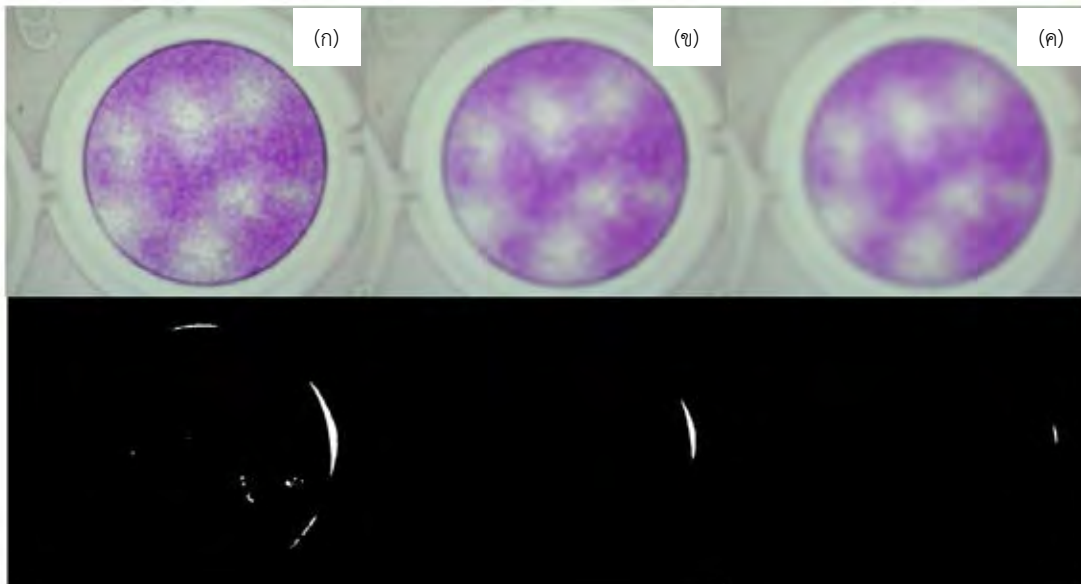
ผลลัพธ์จากกระบวนการ Otsu thresholding หลังจากเข้ากระบวนการ Gaussian filtering แสดงดังรูปที่ 2-41



รูปที่ 2-41 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gaussian filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจาก กระบวนการ Otsu thresholding (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การ กำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 15x15

#### 2.4.1.2.2 กระบวนการ Adaptive thresholding หลังจากเข้ากระบวนการ Gaussian filtering

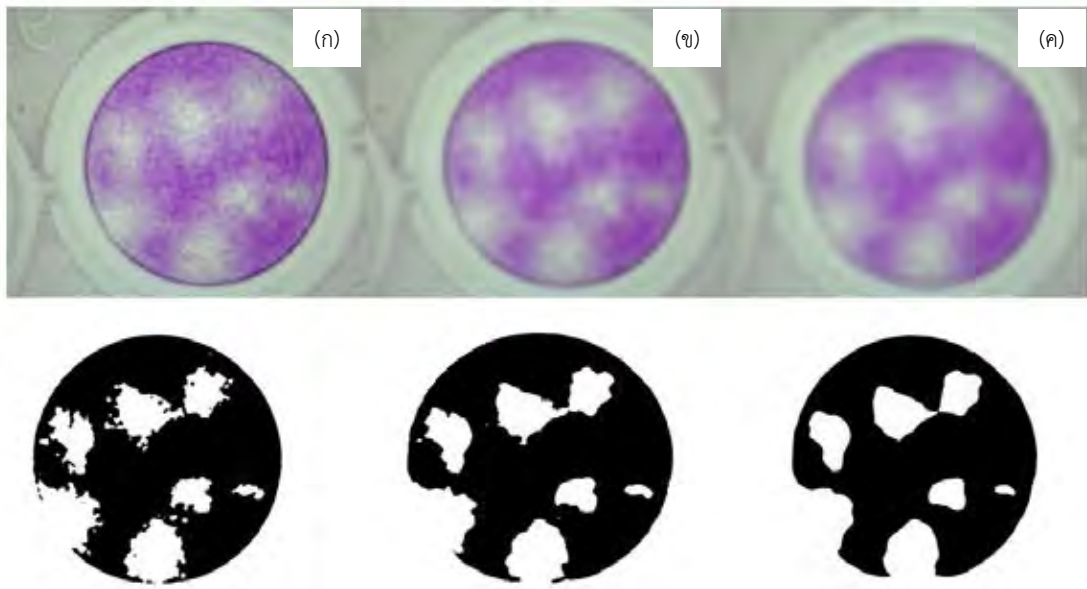
ผลลัพธ์จากกระบวนการ Adaptive thresholding หลังจากเข้ากระบวนการ Gaussian filtering แสดงดังรูปที่ 2-42



รูปที่ 2-42 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gaussian filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Adaptive thresholding (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 15x15

### 2.4.1.2.3 กระบวนการ K-means clustering หลังจากเข้ากระบวนการ Gaussian filtering

ผลลัพธ์จากกระบวนการ K-means clustering หลังจากเข้ากระบวนการ Gaussian filtering แสดงดังรูปที่ 2-43

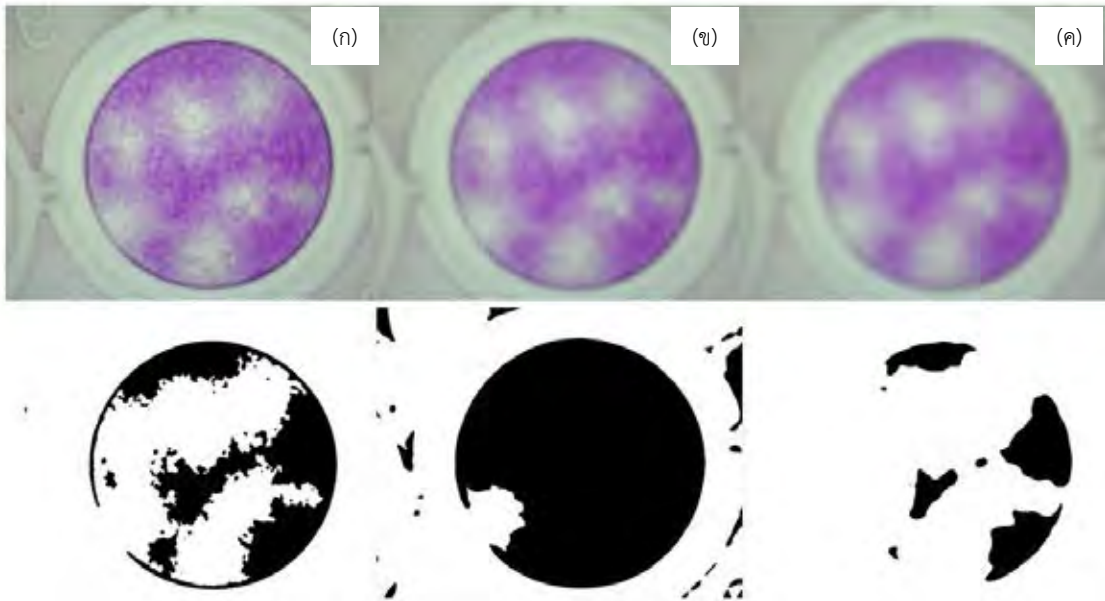


รูปที่ 2-43 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gaussian filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ K-means clustering (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 15x15



#### 2.4.1.2.4 กระบวนการ Extended-maxima transform หลังจากเข้ากระบวนการ Gaussian filtering

ผลลัพธ์จากกระบวนการ Extended-maxima transform หลังจากเข้ากระบวนการ Gaussian filtering แสดงดังรูปที่ 2-43



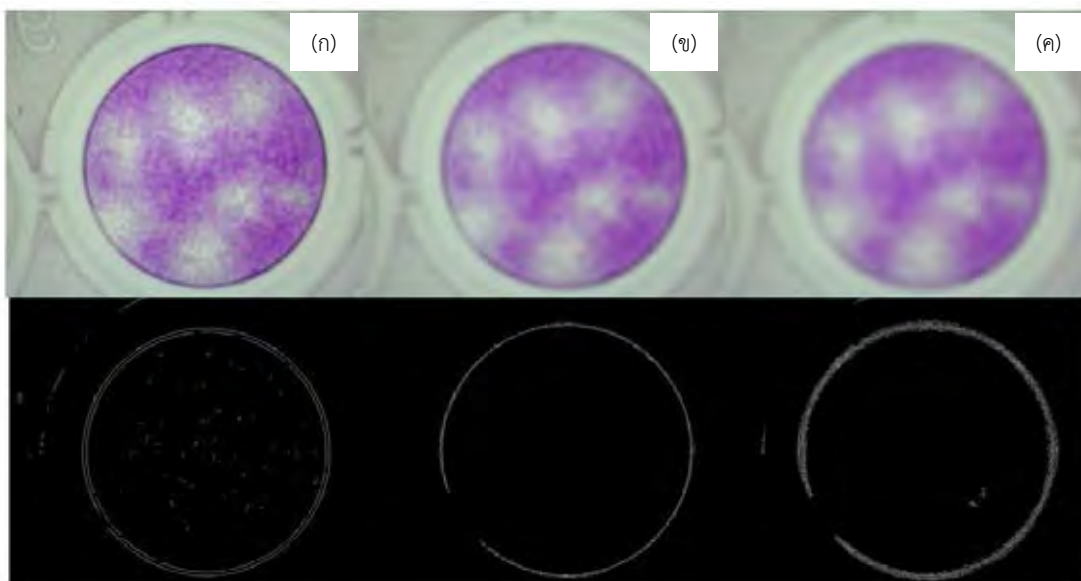
รูปที่ 2-44 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gaussian filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจาก กระบวนการ Extended-maxima transform (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 15x15

#### 2.4.1.2.5 Edge detection หลังจากเข้ากระบวนการ Gaussian filtering

กระบวนการ Edge detection มีหลายวิธีในงานวิจัยนี้ทดลอง 2 วิธีคือ (1) Sobel filters และ (2) Canny edge detector

##### 2.3.1.2.5.1 Sobel filters

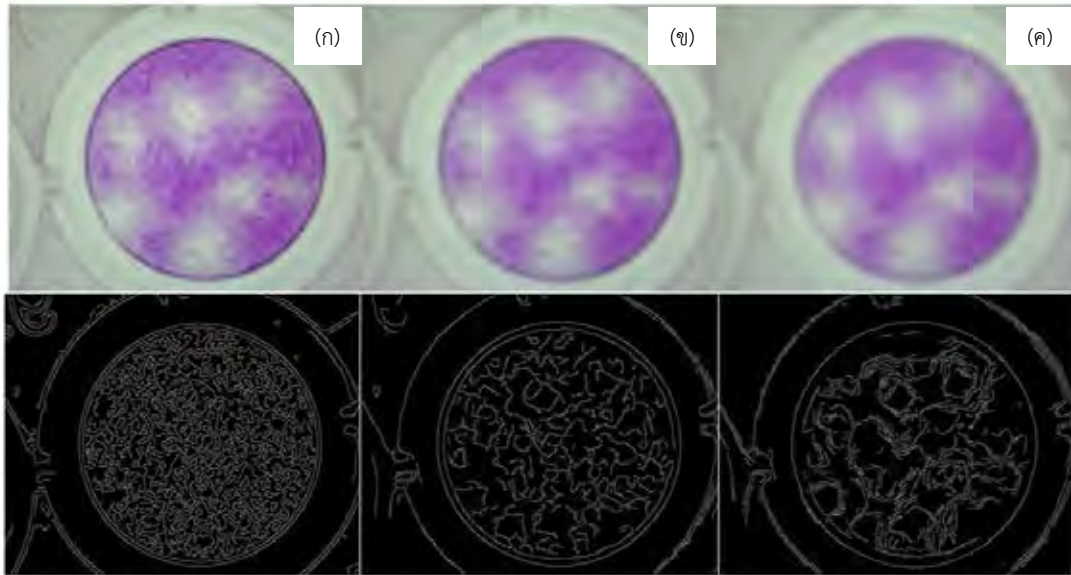
ผลลัพธ์จาก Sobel filters แสดงดังรูปที่ 2-44



รูปที่ 2-45 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gaussian filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Sobel filters (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 15x15

## 2.4.1.2.5.2 Canny edge detector

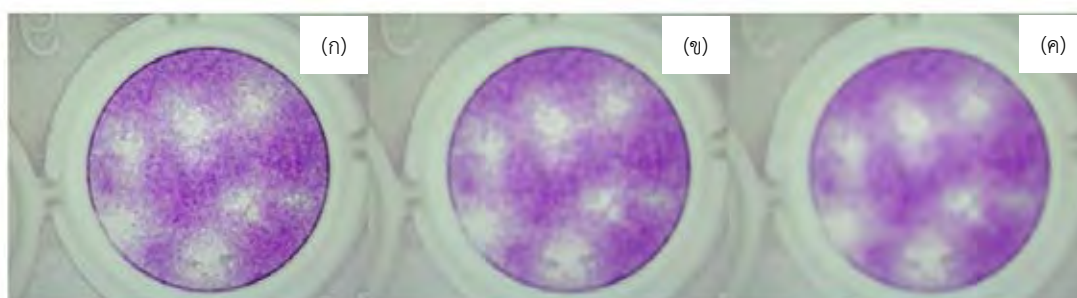
ผลลัพธ์จาก Canny edge detector แสดงดังรูปที่ 2-45



รูปที่ 2- 46 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gaussian filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Canny edge detector (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Gaussian filtering เท่ากับ 15x15

### 2.4.1.3 การนำภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการ Median filtering แล้วจึงเข้ากระบวนการแยกส่วนของภาพ

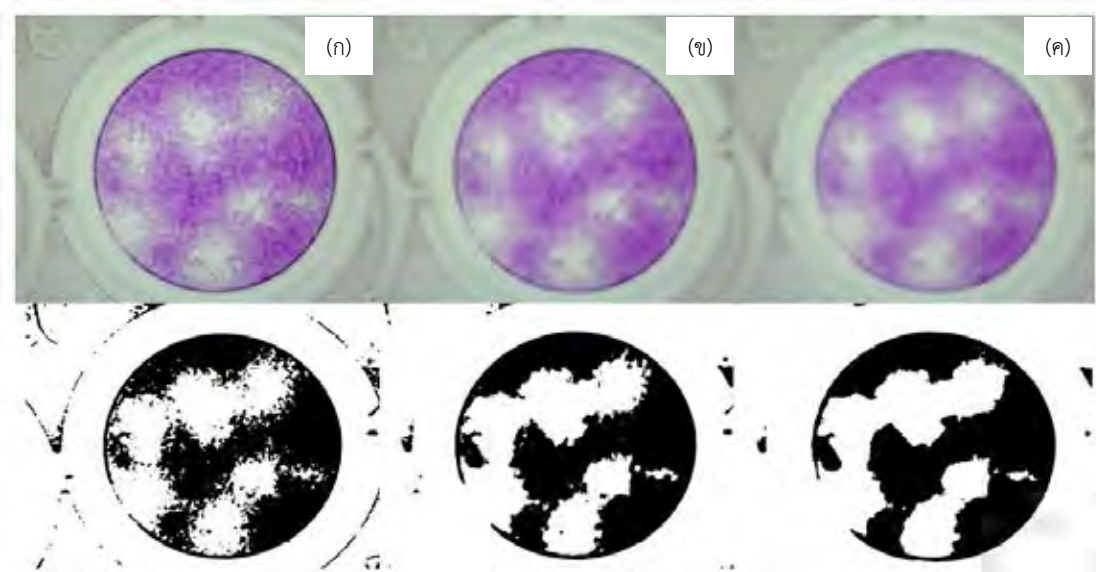
กระบวนการ Median filtering มีตัวแปรที่ต้องกำหนดคือกรอบ (mask) ในการทดลองนี้ กำหนด 3 ค่า คือ  $5 \times 5$ ,  $10 \times 10$  และ  $15 \times 15$  เหตุผลที่เลือก 3 ค่านี้เนื่องจากถ้าค่ากรอบมีค่ามากกว่านี้ จะลดรายละเอียดของภาพมากเกินไป ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-46



รูปที่ 2-47 ผลลัพธ์ของกระบวนการ Median filtering (ก) การกำหนดกรอบเท่ากับ  $5 \times 5$  (ข) การกำหนดกรอบเท่ากับ  $10 \times 10$  และ (ค) การกำหนดกรอบเท่ากับ  $15 \times 15$

### 2.4.2.3.1 กระบวนการ Otsu thresholding หลังจากเข้ากระบวนการ Median filtering

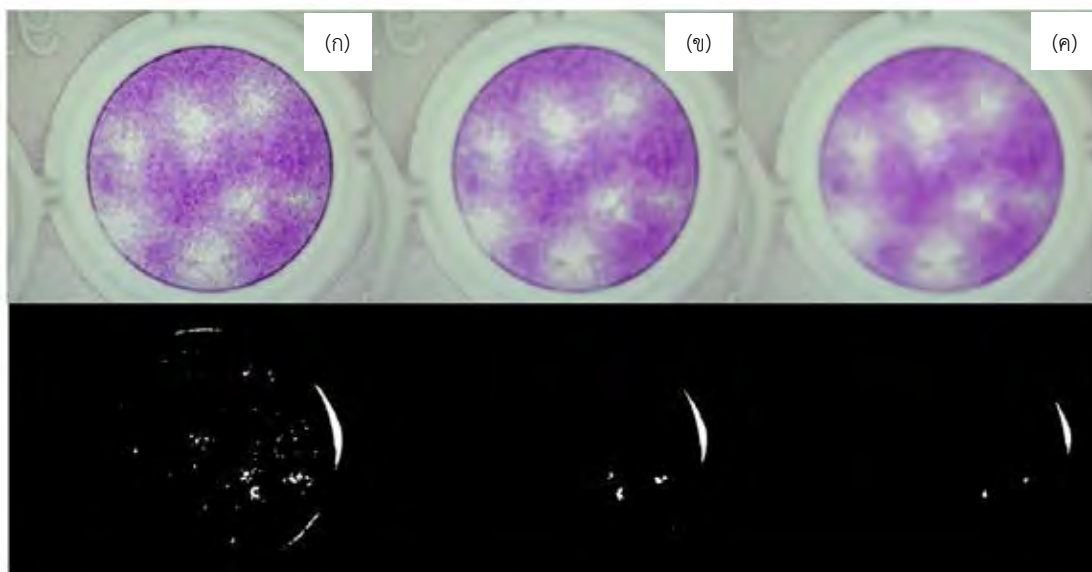
ผลลัพธ์จากกระบวนการ Otsu thresholding หลังจากเข้ากระบวนการ Median filtering แสดงดังรูปที่ 2-47



รูปที่ 2-48 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Median filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจาก กระบวนการ Otsu thresholding (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนด กรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 15x15

### 2.4.1.3.2 กระบวนการ Adaptive thresholding หลังจากเข้ากระบวนการ Median filtering

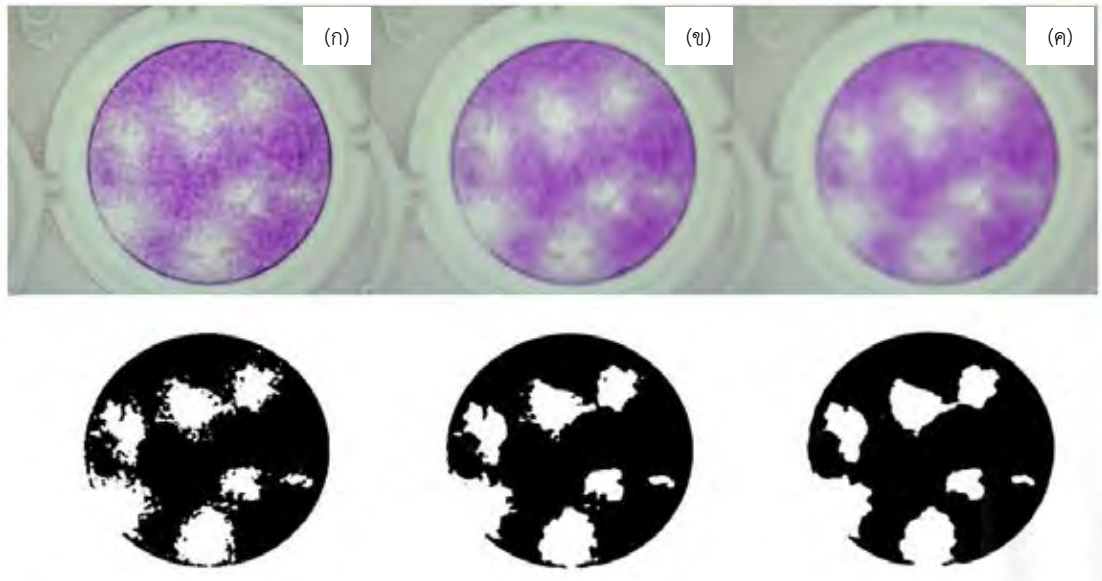
ผลลัพธ์จากกระบวนการ Adaptive thresholding หลังจากเข้ากระบวนการ Median filtering แสดงดังรูปที่ 2-48



รูปที่ 2-49 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Median filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Adaptive thresholding (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 15x15

### 2.4.1.3.3 กระบวนการ K-means clustering หลังจากเข้ากระบวนการ Median filtering

ผลลัพธ์จากกระบวนการ K-means clustering หลังจากเข้ากระบวนการ Median filtering แสดงดังรูปที่ 2-49

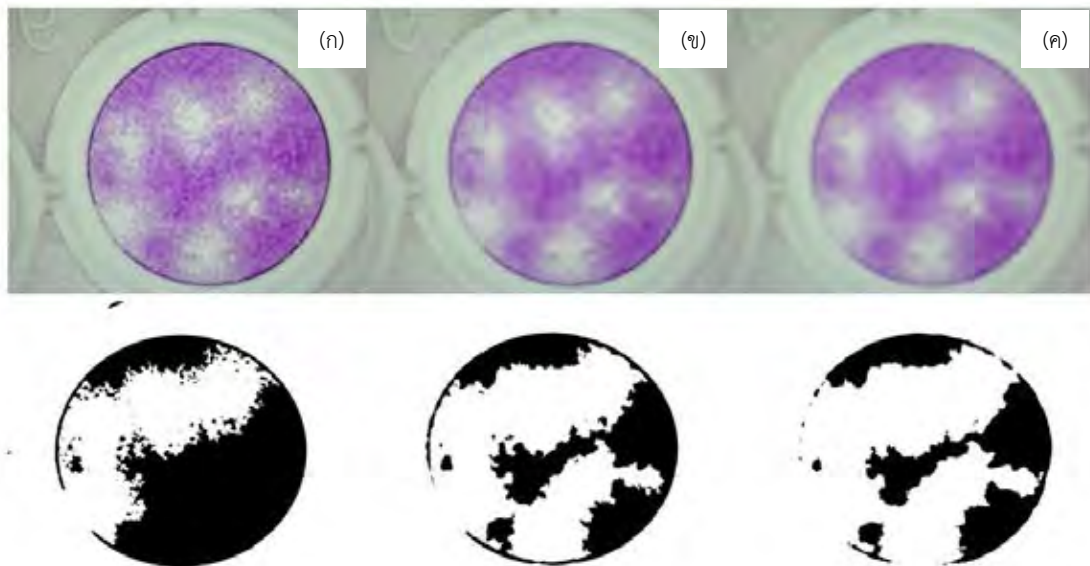


รูปที่ 2-50 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Median filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ K-means clustering (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 5x5 (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 10x10 และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 15x15



2.4.1.3.4 กระบวนการ *Extended-maxima transform* หลังจากเข้ากระบวนการ  
*Median filtering*

ผลลัพธ์จากกระบวนการ *Extended-maxima transform* หลังจากเข้ากระบวนการ  
*Median filtering* แสดงดังรูปที่ 2-50



รูปที่ 2-51 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ *Median filtering* กับผลลัพธ์ต่อมาจาก  
กระบวนการ *Extended-maxima transform* (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ *Median  
filtering* เท่ากับ  $5 \times 5$  (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ *Median filtering* เท่ากับ  $10 \times 10$  และ  
(ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ *Median filtering* เท่ากับ  $15 \times 15$

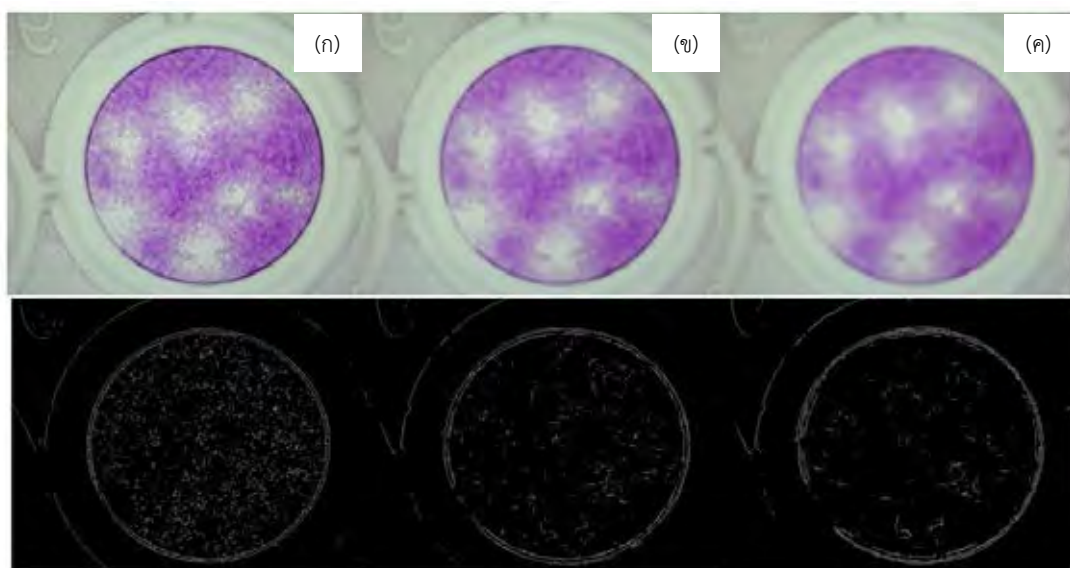


#### 2.4.1.3.5 กระบวนการ Edge detection หลังจากเข้ากระบวนการ Median filtering

กระบวนการ Edge detection มีหลายวิธีในงานวิจัยนี้ทดลอง 2 วิธีคือ (1) Sobel filters และ (2) Canny edge detector

##### 2.4.1.3.5.1 Sobel filters หลังจากเข้ากระบวนการ Median filtering

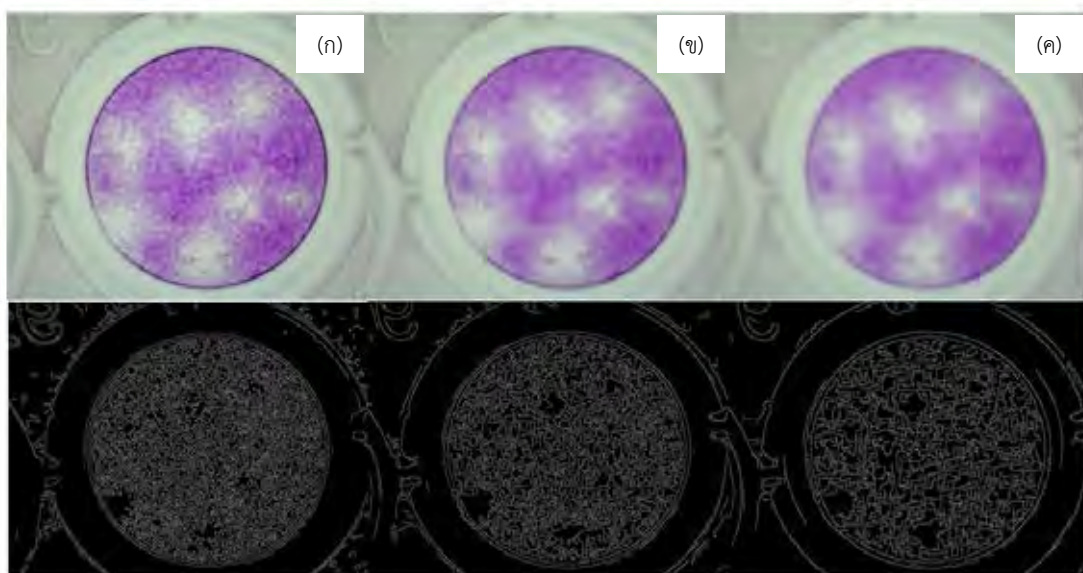
ผลลัพธ์จาก Sobel filters หลังจากเข้ากระบวนการ Median filtering แสดงดังรูปที่ 2-51



รูปที่ 2-52 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Median filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจาก กระบวนการ Sobel filters (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 5x5 (ข)การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ 10x10 (ค)การกำหนดกรอบของ กระบวนการ Median filtering เท่ากับ 15x15

#### 2.4.1.3.5.2 Canny edge detector หลังจากเข้ากระบวนการ Median filtering

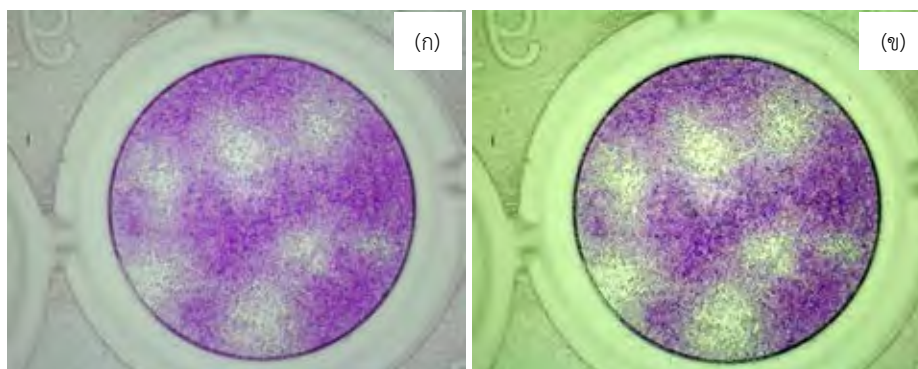
ผลลัพธ์จาก Canny edge detector หลังจากเข้ากระบวนการ Median filtering แสดงดังรูปที่ 2-52



รูปที่ 2-53 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Median filtering กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Canny edge detector (ก) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ  $5 \times 5$  (ข) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ  $10 \times 10$  และ (ค) การกำหนดกรอบของกระบวนการ Median filtering เท่ากับ  $15 \times 15$

#### 2.4.1.4 การนำภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการ *Gray level stretching* แล้วจึงเข้ากระบวนการแยกส่วนของภาพ

การใช้กระบวนการ *Gray level stretching* ภาพที่นำมาต้องเป็นภาพระดับสีเทา ในที่นี้ดำเนินการโดยนำภาพ RGB แยกเป็นภาพ R ภาพ G และภาพ B นำแต่ละภาพเข้ากระบวนการ *Gray level stretching* จากนั้นนำทั้ง 3 ภาพรวมเป็นภาพ RGB ดึงเดิมผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-53

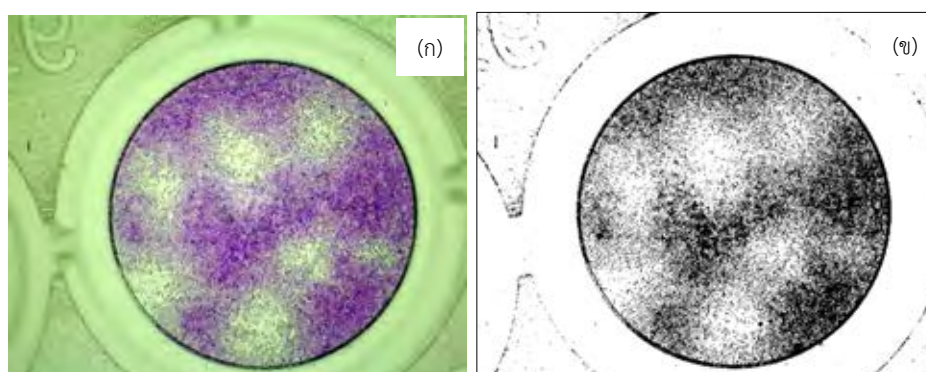


รูปที่ 2-54 การเปรียบเทียบภาพต้นฉบับกับผลลัพธ์จากกระบวนการ *Gray level stretching*

(ก) ภาพต้นฉบับ และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ *Gray level stretching*

#### 2.4.2.4.1 Otsu thresholding หลังจากเข้ากระบวนการ *Gray level stretching*

ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-54



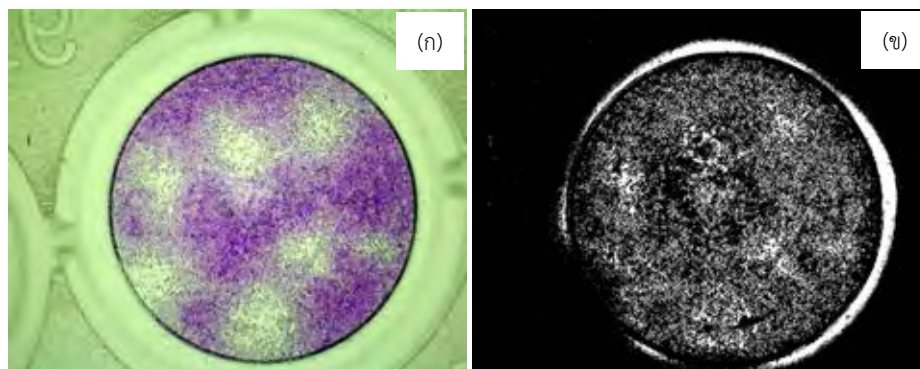
รูปที่ 2-55 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ *Gray level stretching* กับผลลัพธ์ต่อมาจาก

กระบวนการ *Otsu thresholding* (ก) ภาพหลังผ่านกระบวนการ *Gray level stretching*

และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ *Otsu thresholding*

#### 2.4.1.4.2 กระบวนการ Adaptive thresholding หลังจากเข้ากระบวนการ Gray level stretching

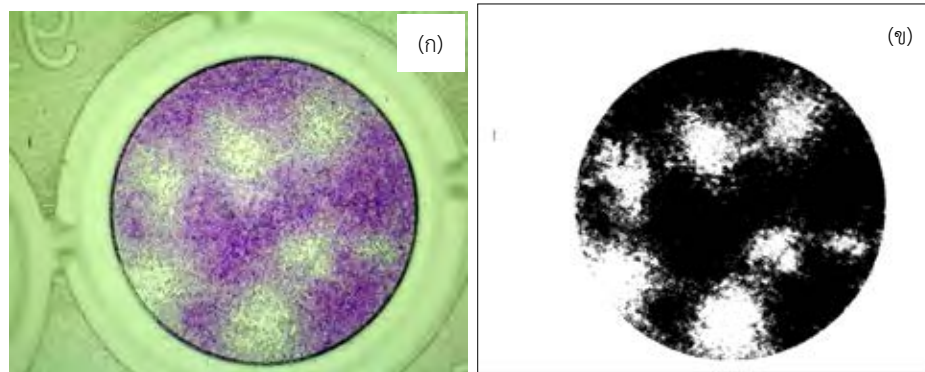
ผลลัพธ์จากกระบวนการ Adaptive thresholding หลังจากเข้ากระบวนการ Gray level stretching แสดงดังรูปที่ 2-55



รูปที่ 2 56 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gray level stretching กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Adaptive thresholding (ก) ภาพหลังผ่านกระบวนการ Gray level stretching และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ

#### 2.4.1.4.3 กระบวนการ K-means clustering หลังจากเข้ากระบวนการ Gray level stretching

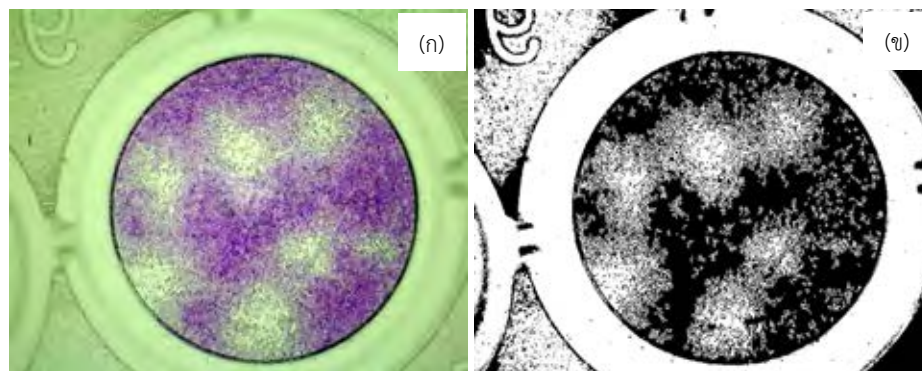
ผลลัพธ์จากกระบวนการ K-means clustering หลังจากเข้ากระบวนการ Gray level stretching แสดงดังรูปที่ 2-56



รูปที่ 2-57 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ *Gray level stretching* กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ *K-means clustering* (ก) ภาพหลังจากกระบวนการ *Gray level stretching* และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ

#### 2.4.1.4.4 กระบวนการ *Extended-maxima transform* หลังจากเข้ากระบวนการ *Gray level stretching*

ผลลัพธ์จากกระบวนการ *Extended-maxima transform* หลังจากเข้ากระบวนการ *Gray level stretching* แสดงดังรูปที่ 2-57



รูปที่ 2-58 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ *Gray level stretching* กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ *Extended-maxima transform* (ก) ภาพหลังจากกระบวนการ *Gray level stretching* และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ *Extended-maxima transform*

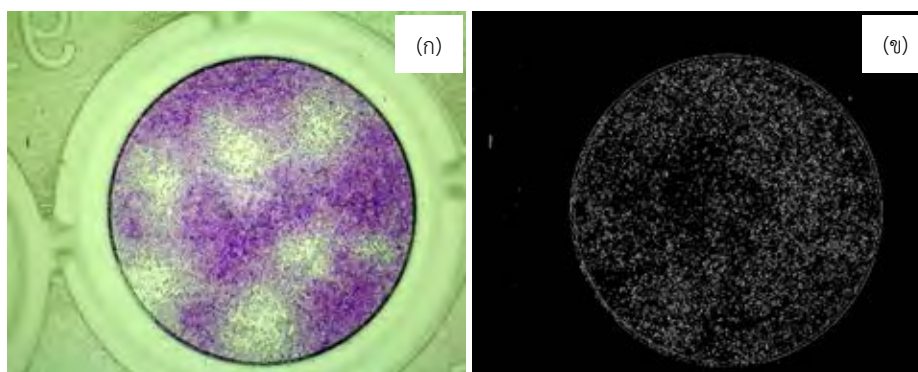


#### 2.4.1.4.5. กระบวนการ Edge detection หลังจากเข้ากระบวนการ Gray level stretching

กระบวนการ Edge detection มีหลายวิธีในงานวิจัยนี้ทดลอง 2 วิธีคือ (1) Sobel filters และ (2) Canny edge detector

##### 2.4.1.4.5.1 Sobel filters หลังจากเข้ากระบวนการ Gray level stretching

ผลลัพธ์จาก Sobel filters หลังจากเข้ากระบวนการ Gray level stretching แสดงดังรูปที่ 2-58

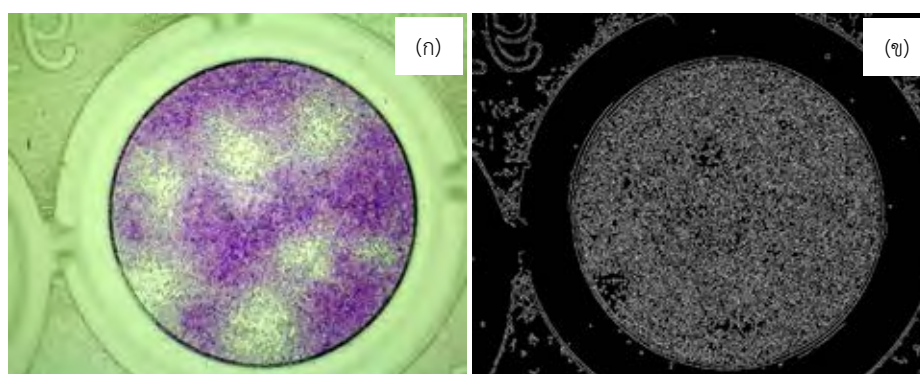


รูปที่ 2-59 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gray level stretching กับผลลัพธ์ต่อมาจาก กระบวนการ Sobel filters

(ก) ภาพหลังผ่านกระบวนการ Gray level stretching และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Sobel filters

#### 2.4.1.4.5.2 Canny edge detector หลังจากเข้ากระบวนการ Gray level stretching

ผลลัพธ์จาก Canny edge detector หลังจากเข้ากระบวนการ Gray level stretching แสดงดังรูปที่ 2-59



รูปที่ 2-60 การเปรียบเทียบภาพหลังจากกระบวนการ Gray level stretching กับผลลัพธ์ต่อมาจากกระบวนการ Canny edge detector

(ก) ภาพหลังผ่านกระบวนการ Gray level stretching และ (ข) ผลลัพธ์จากกระบวนการ Canny edge detector

#### 2.4.1.5 การวิเคราะห์ผลการแยกพื้นที่เซลล์กับพื้นที่พลาสมาออกจากกัน

จากการทดลองตามแผนผังดังรูปที่ 2-33 นำผลมาสรุปเปรียบเทียบได้ดังตารางที่ 2-3 โดยแบ่งวิเคราะห์ได้ 5 ข้อดังนี้

1. พบว่าการใช้ กระบวนการ Gaussian filtering และกระบวนการ Median filtering ทำให้ได้พื้นที่เป็นเนื้อเดียวกันแต่จะลดความละเอียดของภาพลง โดยค่า Mask แปรผันตรงกับความเป็นเนื้อเดียวกันและ ค่า Mask แปรผกผันกับความละเอียดของภาพ
2. การเปรียบเทียบกันระหว่างภาพที่ใช้ Gray level stretching กับภาพต้นฉบับพบว่าภาพที่ใช้ Gray level stretching ได้ภาพที่สดใสและให้รายละเอียดมากกว่า
3. ภาพที่เข้ากระบวนการ Adaptive thresholding และกระบวนการทั้งสองของ Edge detection ไม่สามารถแยกพื้นที่เซลล์กับพื้นที่พลาสมาออกจากกันได้

4. ภาพที่เข้ากระบวนการ Otsu thresholding และ Extended-maxima transform พบพื้นที่พลาสมาเกินไปกล่าวคือ ขอบเขตของพื้นที่พลาสมาที่พบกว้างมากจนเกือบกับพื้นที่พลาสมาใกล้เคียง การนับจำนวนจึงทำได้ยาก

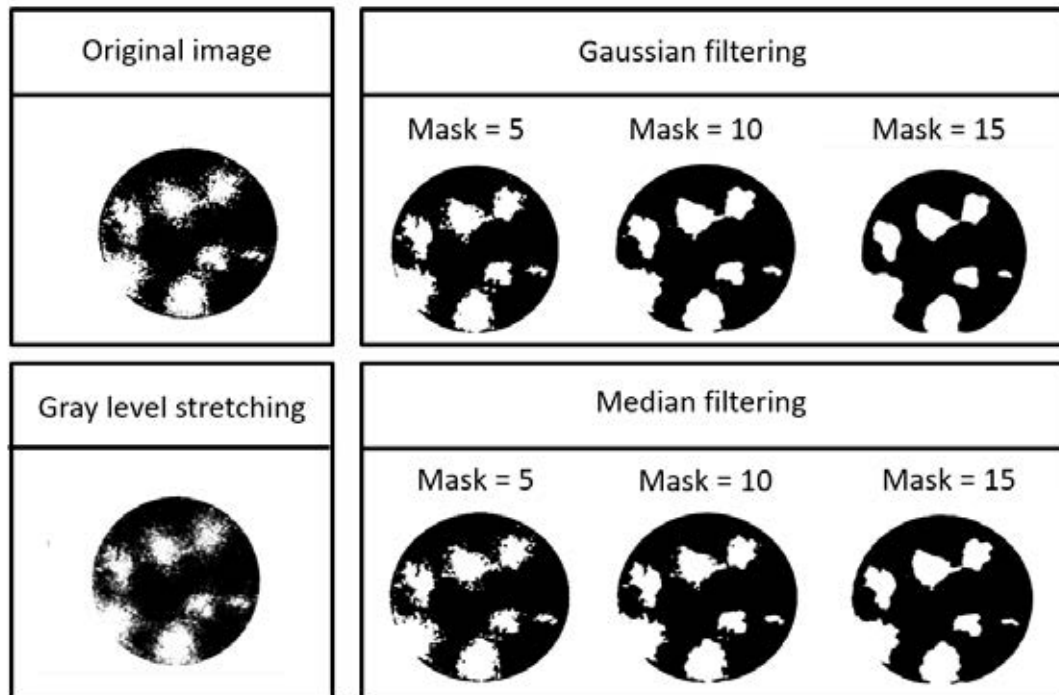
5. ภาพที่เข้ากระบวนการ K-means clustering แยกพื้นที่พลาสมาที่เซลล์ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการอื่นๆ โดยกำหนดให้พื้นที่พลาสมาต้องได้เป็นพื้นที่สีขาวและพื้นที่เซลล์ต้องได้เป็นพื้นที่สีดำ เกณฑ์กำหนดคือ (1) พื้นที่สีขาวที่ได้ต้องเป็นพื้นที่พลาสมาเท่านั้น และ (2) ขอบเขตของพื้นที่สีขาวที่ได้ต้องเหมาะสมเมื่อเทียบกับภาพต้นฉบับ จากรูปที่ 2-61 กระบวนการที่แยกพื้นที่พลาสมาที่เซลล์ได้ดี 2 อันดับแรกคือกระบวนการ Otsu thresholding และกระบวนการ K-means clustering เมื่อเปรียบเทียบกันพบว่ากระบวนการ Otsu thresholding พบขอบเขตของพื้นที่พลาสมาเกินไปจนได้พื้นที่สีขาว 1 พื้นที่ต่อพลาสมา 4 พลาสมา ส่วนกระบวนการ K-means clustering พบพื้นที่สีขาว 4 พื้นที่ต่อพลาสมา 4 พลาสมา

ตารางที่ 2-4 ตารางสรุปผลการทดลองตามแผนผังรูปที่ 2-33

Algorithm	Original image	Gaussian filtering			Median filtering			Gray level stretching
		mask=5	mask=10	mask=15	mask=5	mask=10	mask=15	
Otsu thresholding								
Adaptive thresholding								
K-means clustering								
Extended-maxima transform								
Sobel filter mask								
Canny edge detector								

จากการวิเคราะห์ข้างต้นพบว่ากระบวนการ K-means clustering แยกส่วนของพื้นที่เซลล์กับพื้นที่พลาสมาได้ดีที่สุด ต่อมาจึงพิจารณาเฉพาะผลที่ใช้กระบวนการ K-means clustering เท่านั้น





รูปที่ 2-61 การเปรียบเทียบผลหลังเข้ากระบวนการ K-means clustering โดยมีที่มาต่างกันคือ ภาพต้นฉบับ ภาพที่ผ่านกระบวนการ Gray level stretching ภาพที่ผ่านกระบวนการ Gaussian filtering และภาพที่ผ่านกระบวนการ Median filtering

จากรูปที่ 2-61 พบว่าการเข้ากระบวนการ K-means clustering ไม่ว่าจะผ่านกระบวนการอะไรมาก่อน ให้ผลใกล้เคียงกัน แต่เมื่อพิจารณาขอบเขตของพลาคที่พบพบว่าภาพที่ผ่านกระบวนการ Gaussian filtering และ Median filtering มีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นแปรผันตรงตาม Mask กล่าวคือยิ่ง Mask มากขึ้นขอบเขตจะยิ่งโค้งมนมากขึ้น ถ้าใช้สองกระบวนการนี้ในกรณีพลาคหลายพลาคใกล้กันอาจพบพื้นที่พลาคติดกันได้ ส่วนการใช้กระบวนการ Gray level stretching เมื่อเปรียบเทียบกับภาพต้นฉบับพบว่าภาพมีความเป็นเนื้อเดียวกันน้อยกว่าภาพต้นฉบับเป็นเพราะกันเข้ากระบวนการนี้เป็นเพิ่มความคมชัดให้ภาพ ทำให้เห็นรายละเอียดของส่วนที่เป็นเนื้อเดียวกันด้วย

#### สรุปการแยกพื้นที่เซลล์กับพื้นที่พลาคออกจากกัน

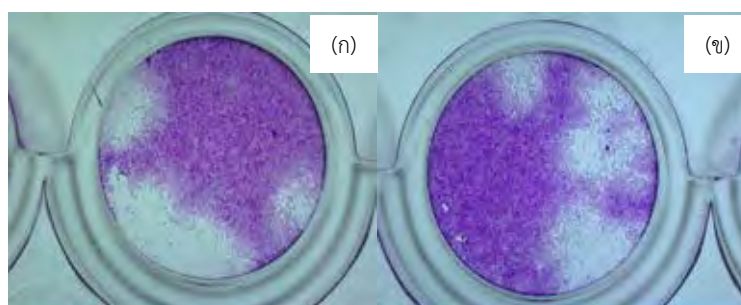
สรุปว่าการแยกพื้นที่เซลล์กับพื้นที่พลาคออกจากกันคือ ใช้ภาพต้นฉบับเข้ากระบวนการ K-means clustering

## 2.4.2 การทำนายจำนวนพลาสมามากกว่าหนึ่งพลาสมที่เกยกัน

โดยทั่วไปการนับจำนวนวัตถุในภาพของกระบวนการวิเคราะห์ภาพคือการนับจำนวนพื้นที่ที่แยกออกจากกัน ถ้ามีวัตถุหลายชิ้นแต่พื้นที่ที่พบติดกันจะนับได้แค่หนึ่งชิ้น ในงานวิจัยนี้คือการนับจำนวนพลาสมที่มีกรณีที่พลาสมติดกัน พบเป็นพื้นที่เดียวกัน ถ้านับจำนวนพื้นที่เป็นตัวแทนของจำนวนพลาสมย่อมนับไม่ถูกต้อง จึงต้องทำนายพื้นที่ที่ต้องสงสัยว่ามีจำนวนพลาสมมากกว่าหนึ่งอยู่ติดกัน ในงานวิจัยนี้ทดลองการทำนายจำนวนพลาสมมากกว่าหนึ่งพลาสมที่เกยกัน 3 วิธี

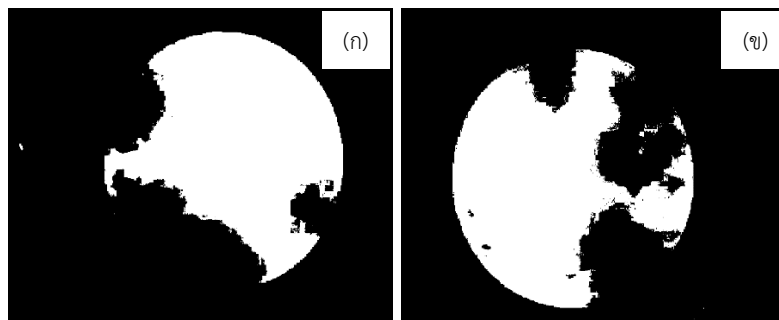
1. การใช้กระบวนการ Hough transform
2. การใช้กระบวนการ Watershed transform
3. การใช้กระบวนการ K-means clustering เพื่อแบ่งกลุ่มควบคู่ไปกับการใช้ Silhouette เพื่อหาจำนวนกลุ่มที่เหมาะสม

รูปตัวอย่างที่นำมาทดลองในการทำนายจำนวนพลาสมมากกว่าหนึ่งพลาสมที่เกยกันนี้มีสองรูปแสดงดังรูปที่ 2-61(ก) และ (ข) และแยกส่วนของพื้นที่ที่เซลล์กับพื้นที่พลาสมออกจากกันดังรูป 2-61 ด้วยกระบวนการ K-means clustering



รูปที่ 2-62 รูปต้นฉบับสำหรับการทดลองในการทำนายจำนวนพลาสมมากกว่าหนึ่งพลาสมที่เกยกัน (ก)

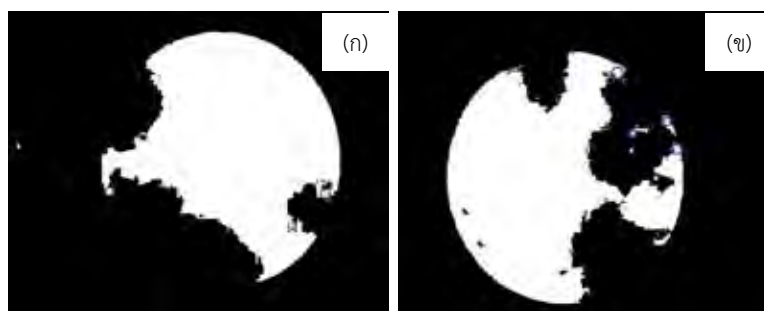
รูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 1 และ (ข) รูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 2



รูปที่ 2-63 รูปต้นฉบับสำหรับการทดลองในการทำนายจำนวนพลาสมามากกว่าหนึ่งพลาสม่าที่เกยกันที่ผ่านกระบวนการ K-means clustering (ก) ผลจากรูปต้นฉบับสำหรับการทดลองที่ 1 และ (ข) ผลจากรูปต้นฉบับสำหรับการทดลองที่ 2

#### 2.4.2.1 การใช้กระบวนการ Hough transform

กระบวนการ Hough transform ดำเนินการด้วยโปรแกรม Matlab โดยตั้งค่าให้หาวงกลมโดยมีรัศมีตั้งแต่ 5-60,000 พิกเซล ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-63



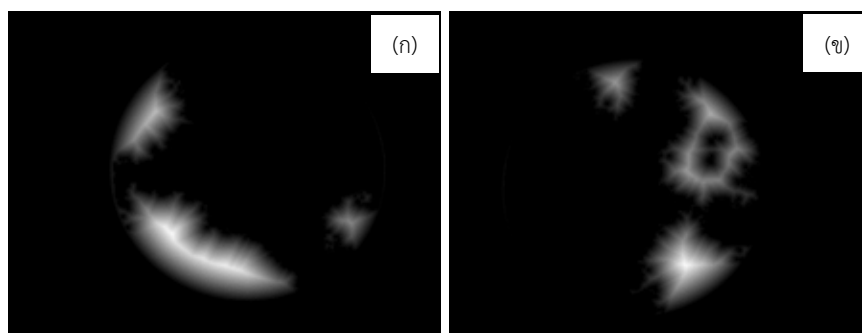
รูปที่ 2-64 การทดลองการทำนายจำนวนพลาสมามากกว่าหนึ่งพลาสม่าที่เกยกันด้วยกระบวนการ Hough transform (ก) รูปจากกระบวนการ K-means clustering ของรูปต้นฉบับสำหรับการทดลองที่ 1 และ (ข) รูปจากกระบวนการ K-means clustering ของรูปต้นฉบับสำหรับการทดลองที่ 2

จากการทดลองพบว่ากระบวนการ Hough transform ไม่สามารถหาวงกลมจากพลาสม่าได้เนื่องจากลักษณะของพลาสม่าเป็นกลมๆ ไม่ใช่วงกลมที่สมบูรณ์ ดังนั้นกระบวนการนี้จึงไม่เหมาะกับการหาพลาสม่า

### 2.4.2.2 การใช้กระบวนการ Watershed transform

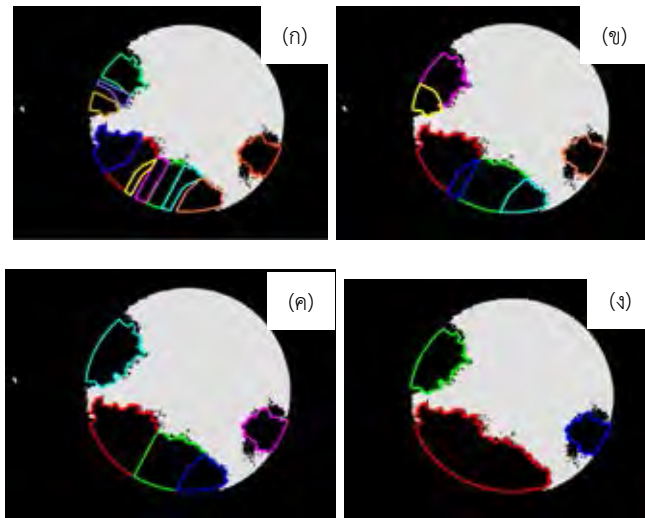
กระบวนการ Watershed transform ดำเนินการโปรแกรม Halcon โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. เลือกพื้นที่ที่พบพลาทของรูปที่ 2-62 นำพื้นที่ส่วนนั้นเข้ากระบวนการ Distance transform ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-64 โดยเลือกชนิดของ Matrix เป็นแบบ Octagonal เพื่อให้ได้ระดับสีเทาทุกทิศทางเพราะพลาทที่ต้องการทำนายมีลักษณะเป็นกลมๆ

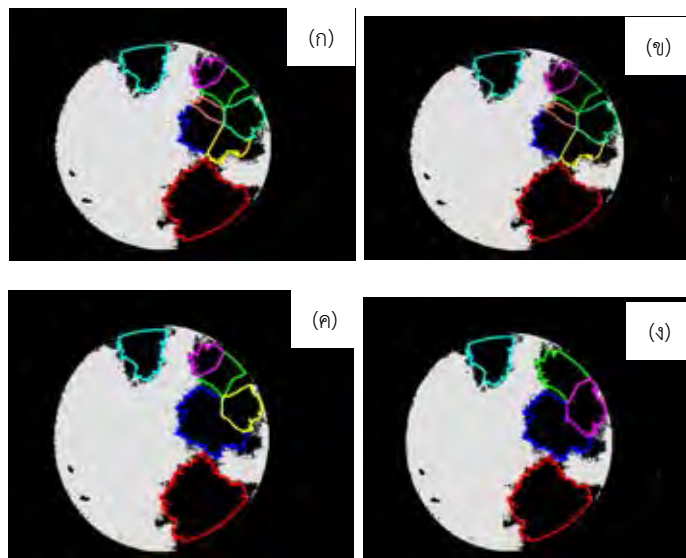


รูปที่ 2-65 การเลือกพื้นที่ที่พบพลาทของรูปที่ 2-63 นำพื้นที่ส่วนนั้นเข้ากระบวนการ Distance transform (ก) รูปจากกระบวนการ K-means clustering ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 1 และ (ข) รูปจากกระบวนการ K-means clustering ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 2

2. นำรูปที่ 2-66 เข้ากระบวนการ Watershed transform โดยทดลองกำหนดค่า Threshold เท่ากับ 10 20 30 และ 40 และเลือกพื้นที่ที่มากกว่า 4,000 พิกเซลตอนแสดงผล เนื่องจากผลจากกระบวนการ Watershed transform แยกพื้นที่ได้หลายส่วนซึ่งบางส่วนเล็กเกินไปกว่าจะเป็นพลาท ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-65



รูปที่ 2-66 ผลลัพธ์จากการเข้ากระบวนการ Watershed transform ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลอง  
ที่ 1 (ก) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 10 (ข) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 20 (ค) กำหนดค่า  
Threshold เท่ากับ 30 (ง) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 30



รูปที่ 2-67 ผลลัพธ์จากการเข้ากระบวนการ Watershed transform ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลอง  
ที่ 2 (ก) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 10 (ข) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 20 (ค) กำหนดค่า  
Threshold เท่ากับ 30 และ (ง) กำหนดค่า Threshold เท่ากับ 30

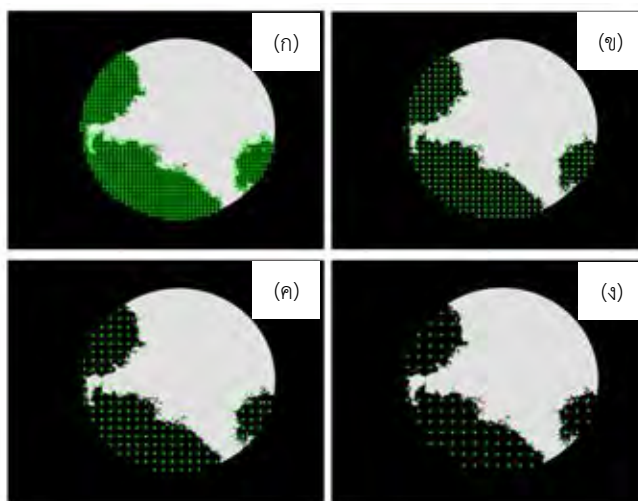


จากการทดลองเข้ากระบวนการ Watershed transform พบว่าการตั้งค่า Threshold ในกระบวนการนี้มีผลต่อการแบ่งพื้นที่ซึ่งภาพแรกค่า Threshold ที่เหมาะสมคือ 30 ส่วนภาพที่สองค่า Threshold ที่เหมาะสมคือ 40 ดังนั้นค่า Threshold ค่าหนึ่งไม่ได้เหมาะสมครอบคลุมกับทุกรูป

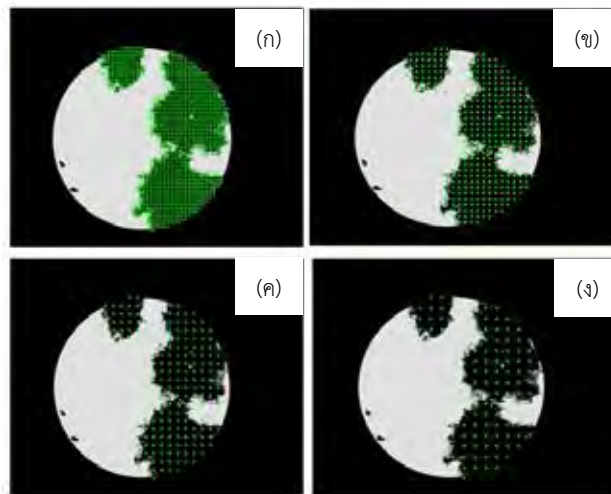
### 2.4.2.3 การใช้กระบวนการ K-means clustering

กระบวนการ K-means clustering ดำเนินการโปรแกรม Halcon โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. เลือกพื้นที่ที่พบพลาของรูปที่ 2-63 นำมาตีกริดที่ความถี่ที่ 15 25 35 45 ผลลัพธ์แสดงดังรูปที่ 2-68 และรูปที่ 2-69

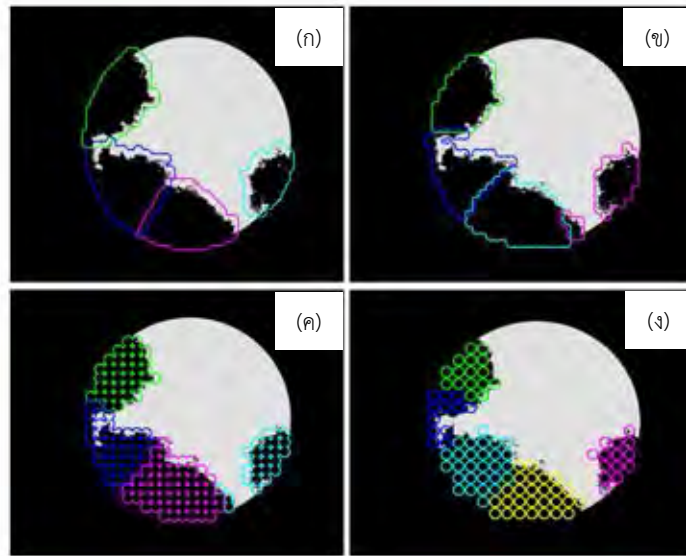


รูปที่ 2-68 ผลลัพธ์จากการตีกริดของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 1 (ก) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 15 (ข) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 25 (ค) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 35 และ (ง) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 45



รูปที่ 2-69 ผลลัพธ์จากการตีกริดของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 2 (ก) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 15 (ข) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 25 (ค) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 35 และ (ง) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 45

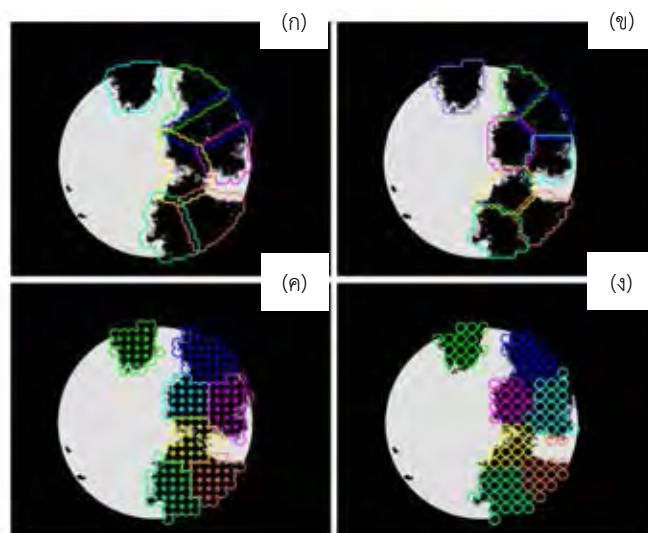
2. นำกริดที่ได้มาแบ่งกลุ่มโดย K-means clustering ควบคู่ไปกับการตัดสินใจจำนวนกลุ่มที่ต้องการแบ่งด้วยทฤษฎี Silhouette ผลลัพธ์ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 1 แสดงดังรูปที่ 2-70 และผลลัพธ์ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 2 แสดงดังรูปที่ 2-71



รูปที่ 2-70 ผลลัพธ์จากการแบ่งกลุ่มของ K-means clustering ควบคุมไปกับการตัดสินใจจำนวนกลุ่ม ด้วยทฤษฎี Silhouette ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 1 (ก) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 15 (ข)

กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 25 (ค) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 35

และ (ง) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 45



รูปที่ 2-71 ผลลัพธ์จากการแบ่งกลุ่มของ K-means clustering ควบคุมไปกับการตัดสินใจจำนวนกลุ่ม ด้วยทฤษฎี Silhouette ของรูปต้นฉบับสำหรับทดลองที่ 2 (ก) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 15 (ข)

กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 25 (ค) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 35

และ (ง) กำหนดความถี่ในการตีกริดคือ 45



จากการทดลองการแบ่งกลุ่มด้วย K-means clustering ควบคู่ไปกับการตัดสินใจจำนวนกลุ่มด้วยทฤษฎี Silhouette โดยมีการปรับความถี่ในการตีกิริต พบว่าความถี่ในการตีกิริตมีผลน้อยมากต่อการแบ่งจำนวนกลุ่มของกริด แต่มีผลต่อขอบเขตในการแบ่งกลุ่มโดยความถี่ที่ทำให้การแบ่งขอบเขตใกล้เคียงกับการแบ่งพลาตที่ถูกตั้งคือ 35

### สรุปการทำนายจำนวนพลาตมากกว่าหนึ่งพลาตที่เกยกัน

วิธีที่เหมาะสมสำหรับการทำนายจำนวนพลาตมากกว่าหนึ่งพลาตที่เกยกันคือการใช้ K-means clustering ควบคู่ไปกับการตัดสินใจด้วยทฤษฎี Silhouette โดยใช้ความถี่ในการตีกิริตเท่ากับ 35



3874745264

CU Thesais 5970245121 thesais / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

### บทที่ 3

## การออกแบบสร้างเครื่องถ่ายภาพรูปแบบอัตโนมัติ และระเบียบวิธีการนับผลของไวรัส

เพื่อความถูกต้องในการนับจำนวนผลต้องให้ความสำคัญทั้งภาพถ่ายที่คมชัดและกระบวนการวิเคราะห์ภาพที่เหมาะสม บทนี้กล่าวถึง 2 ส่วนหลักๆ คือ (1) การออกแบบสร้างเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติเพื่อถ่ายภาพหลุมทุกหลุมของ 96 well plate และ (2) กระบวนการวิเคราะห์ภาพเพื่อนับจำนวนผลของไวรัส

#### 3.1 การออกแบบและสร้างเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ

จากการหาข้อมูลโต๊ะที่เคลื่อนที่อัตโนมัติในแนวระนาบได้การสรุปการเลือกระบบส่งกำลังและมอเตอร์ไฟฟ้า ในบทที่ 2 สรุปว่าใช้ลิฟต์สกรูและสเต็ปเปอร์มอเตอร์ ต่อมาคือการสร้างเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ

##### 3.1.1 การออกแบบกลไก

เครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติมีหลักการทำงาน 2 แบบคือวัตถุอยู่นิ่งๆแล้วกล้องขยับเพื่อถ่ายภาพหรือกล้องอยู่นิ่งๆ แล้วขยับวัตถุเพื่อให้กล้องถ่ายรูป สำหรับการออกแบบสร้างเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติในงานวิจัยนี้เลือกให้กล้องอยู่นิ่งๆ แล้วให้ขยับวัตถุเพื่อถ่ายภาพ เนื่องจากวัตถุที่จะถูกถ่ายนั้นมีน้ำหนักเบาอีกทั้งยังเป็น การลดชิ้นส่วนในการออกแบบได้อีกด้วย ตัวอย่างของกล้องอยู่นิ่งๆ แล้วให้วัตถุขยับแสดงดังรูปที่ 3-1 และตัวอย่างของวัตถุอยู่นิ่งๆ แล้วให้กล้องขยับแสดงดังรูปที่ 3-2



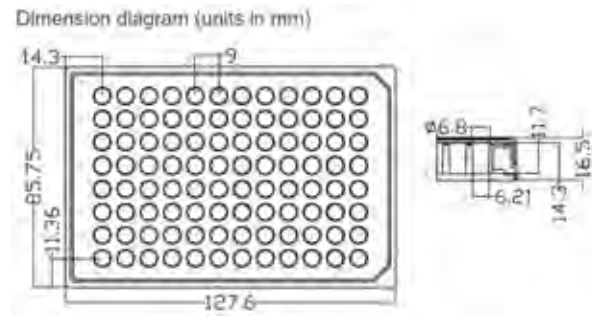
รูปที่ 3-1 เครื่องวัดขนาดอัตโนมัติที่กล้องอยู่หนึ่งๆแล้วขยับวัตถุเพื่อถ่ายรูป [36]



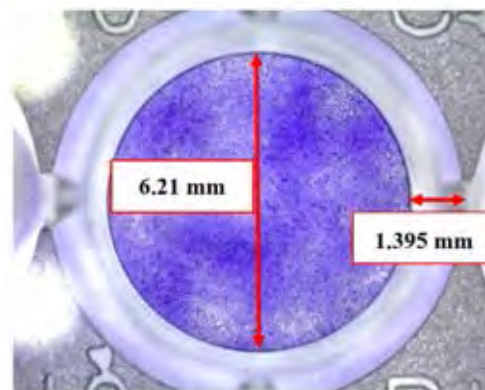
รูปที่ 3-2 เครื่องวัดขนาดอัตโนมัติที่วัตถุอยู่หนึ่ง ๆ แล้วกล้องขยับเพื่อถ่ายรูป [37]

### 3.1.2 ข้อกำหนดการออกแบบ

จากที่กล่าวไว้ในบทที่ 1 ที่กำหนดให้รับจำนวนพลาไคน์ 96 well plate ดังนั้นเครื่องถ่ายรูปอัตโนมัติในงานวิจัยนี้ต้องสามารถขยับวัตถุให้ได้อย่างน้อยเท่ากับขนาดของ 96 well plate และมีความแม่นยำพอให้รูปที่ถ่ายออกมาเห็นหลุมเต็มหลุม ดังแสดงในรูปที่ 3-4



รูปที่ 3-3 แสดงรายละเอียดขนาดของ 96-well plate



รูปที่ 3-4 แสดงรูปตัวอย่างที่ต้องการจากการถ่ายภาพ

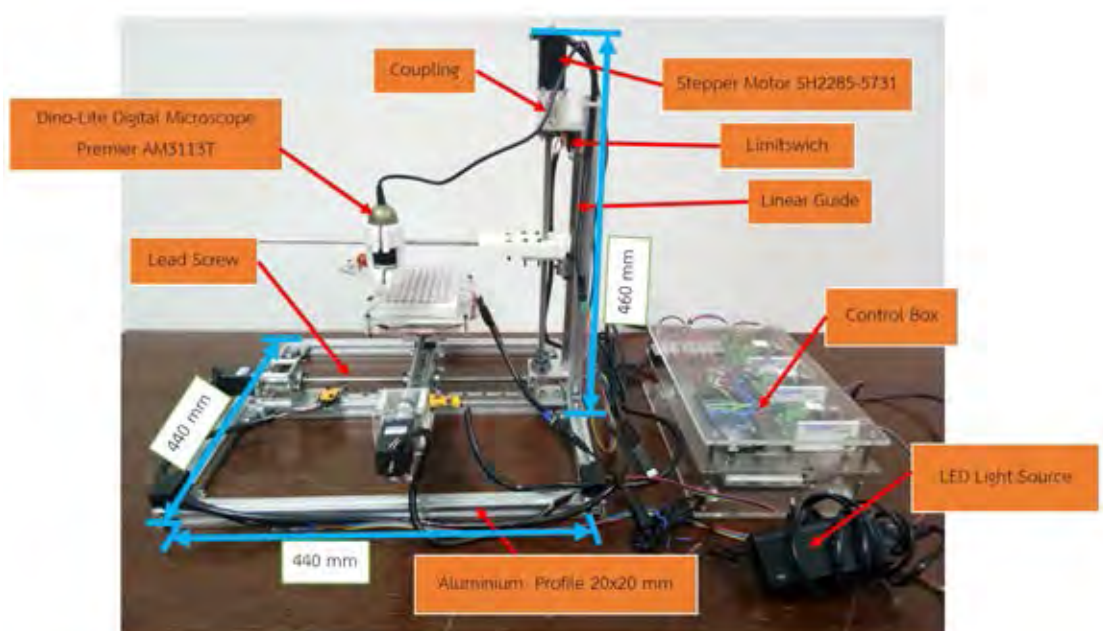
จากรูปที่ 3-3 ทำให้ทราบขนาดของ 96 well plate ดังนั้นจึงต้องออกแบบให้หุ่นยนต์สามารถหยิบวัตถุได้อย่างน้อยเท่ากับขนาดของ 96 well plate ซึ่งกว้าง 85.75 มิลลิเมตรและยาว 127.5 มิลลิเมตร และเพื่อให้ได้รูปถ่ายดังแสดงดังรูปที่ 3-4 โดยความคลาดเคลื่อนของการขยับต้องน้อยกว่าหรือเท่ากับ 1.395 มิลลิเมตร

#### อุปกรณ์ที่ใช้สร้างเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติดังนี้

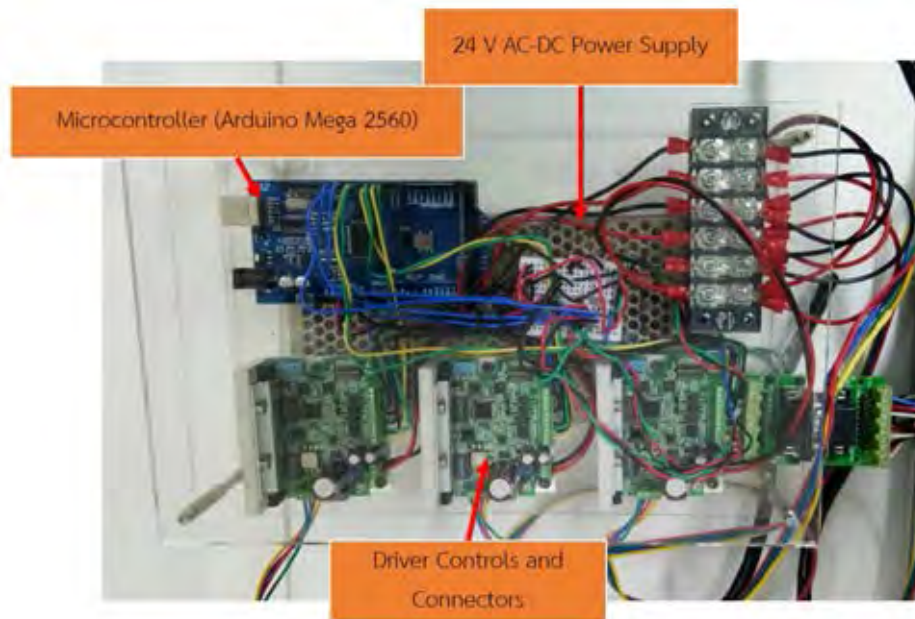
1. Stepper Motor SH2285-5731	3	ตัว
2. Linear Guide	3	อัน
3. Aluminium Profile 20x20 mm	7	อัน
4. Coupling	3	ตัว
5. Driver Controls and Connectors	3	ตัว
6. Microcontroller (Arduino Mega 2560)	1	อัน
7. Lead Screw	3	อัน

8. Dino-lite Digital Microscope Premier AM4113/AD4113	1	ตัว
9. Car Ceiling Lights	4	ตัว
10. สปริงสำหรับจับ 96-well plate	1	ตัว
11. Limitswitch	3	ตัว
12. 24 V AC-DC Power Supply	1	ตัว
13. 12 V AC-DC Power Supply	1	ตัว

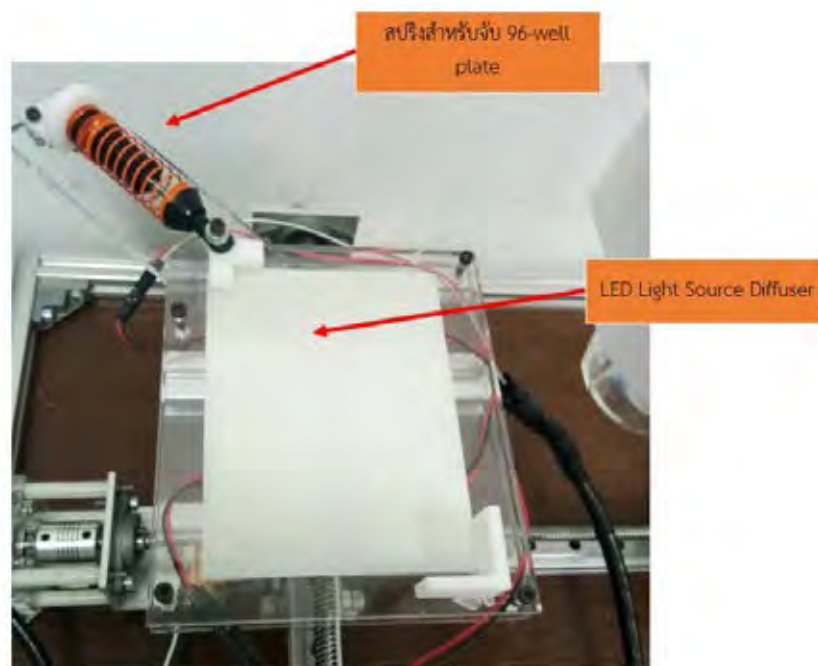
เครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติเมื่อประกอบแล้วแสดงดังรูปที่ 3-7 กล้องคอนโทลของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติแสดงดังรูปที่ 3-8 และส่วนประกอบของโต๊ะจับ 96 well plate ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติแสดงดังรูปที่ 3-9



รูปที่ 3- 5 แสดงรูปเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ



รูปที่ 3- 6 กล่องคอนโทรลของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ



รูปที่ 3- 7 โต้ะจับ 96 well plate ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ

## ความสัมพันธ์ระหว่างสเต็ปเปอร์มอเตอร์กับลิตสกรู

ต้นกำลังที่ใช้คือสเต็ปเปอร์มอเตอร์ SH2285-5731 ซึ่งมีความละเอียด 1.8 องศาต่อ 1 พัลส์ ต่อตรงกับลิตสกรูเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ระยะพิตช์ 2 มิลลิเมตร การคำนวณหาจำนวนพัลส์ เป็นดังนี้

$$\text{จำนวนพัลส์สำหรับการหมุน 1 รอบคือ } \frac{360}{1.8} = 200 \text{ พัลส์}$$

1 รอบการหมุนของลิตสกรูได้ระยะ 2 มิลลิเมตร

$$\text{ดังนั้น 1 พัลส์ของมอเตอร์สเต็ปจะได้ระยะเป็น } \frac{2}{200} = 0.01 \text{ มิลลิเมตร}$$

สมการ 3.1 อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างการเคลื่อนที่เชิงมุมกับการเคลื่อนที่เชิงเส้นของ เครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ

$$\begin{bmatrix} \theta_1 \\ \theta_2 \\ \theta_3 \end{bmatrix} = \frac{r}{p} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x \\ y \\ z \end{bmatrix} \quad (3.1)$$

โดย  $\theta_1, \theta_2, \theta_3$  คือ พัลส์ของสเต็ปเปอร์มอเตอร์ที่ติดกับแกน y แกน x และแกน z ตามลำดับ

$r$  คือ ความละเอียดของสเต็ปเปอร์มอเตอร์ใน 1 รอบ ซึ่งเท่ากับ 200

$p$  คือ ระยะพิตช์ของลิตสกรูซึ่งเท่ากับ 2 มิลลิเมตร

## 3.2 การถ่ายภาพและการวิเคราะห์ภาพ

### 3.2.1 กล้องถ่ายรูป

เพื่อให้เหมาะสมกับการวิจัยนี้ จึงเลือกใช้กล้อง Digital Microscope USB ดังแสดงในรูปที่ 3-10 ซึ่งมีขนาดเล็ก น้ำหนักเบาและมีความคมชัดมากพอ ปกติมักใช้กล้องแบบนี้สำหรับการถ่ายภาพระยะใกล้และหมุนปรับระยะโฟกัสเองด้วยมือ ตัวอย่างการใช้งานเช่น ถ่ายรูปหนังสือระยะ ถ่ายรูปผิวหนัง งานวิจัยนี้จึงใช้กล้องแบบนี้ถ่ายแบบอัตโนมัติ



รูปที่ 3-8 ตัวอย่าง Digital Microscope USB [38]

การจะวิเคราะห์ภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพนั้น ปัจจัยหลักที่มีผลอย่างมากคือ ความคมชัดของภาพที่ได้มา งานวิจัยนี้จะมีทั้งการเพิ่มความคมชัดของการถ่ายภาพและการวิเคราะห์ภาพเพื่อหาจำนวนและขนาดของไวรัส

### 3.2.2 การเพิ่มความคมชัดในการถ่ายภาพ

นอกจากความละเอียดของกล้องที่ใช้ถ่ายแล้ว ยังมีอีกเทคนิคหนึ่งซึ่งเป็นที่นิยมใช้กันคือ การนำกระดาษกระจายแสงมาอยู่ระหว่างแหล่งกำเนิดแสงและวัตถุ เพื่อเพิ่มความสดใสให้ภาพ หลักการคือ กระดาษกระจายแสงดังแสดงในรูปที่ 3-11 จะอยู่ระหว่างแหล่งกำเนิดแสงกับวัตถุดังแสดงในรูปที่ 3-12 เมื่อแหล่งกำเนิดแสงส่องแสงผ่านกระดาษกระจายแสงซึ่งอยู่ชิดกับวัตถุ จะทำให้เห็นวัตถุมีสีสดใสขึ้นดังแสดงในรูปที่ 3-13 สำหรับรูปที่ 3-14 แสดงการใช้กระดาษกระจายแสงและแหล่งกำเนิดแสงของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ

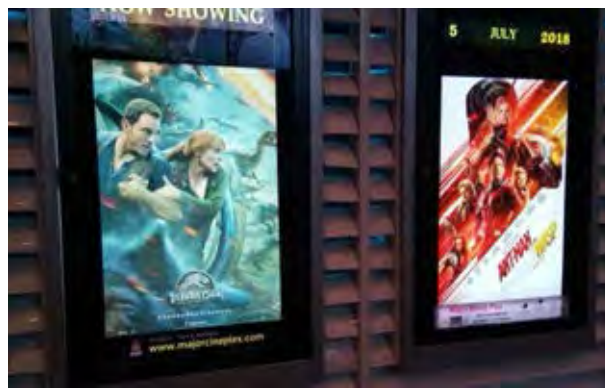


รูปที่ 3-9 แสดงการใช้กระดาษกระจายแสง

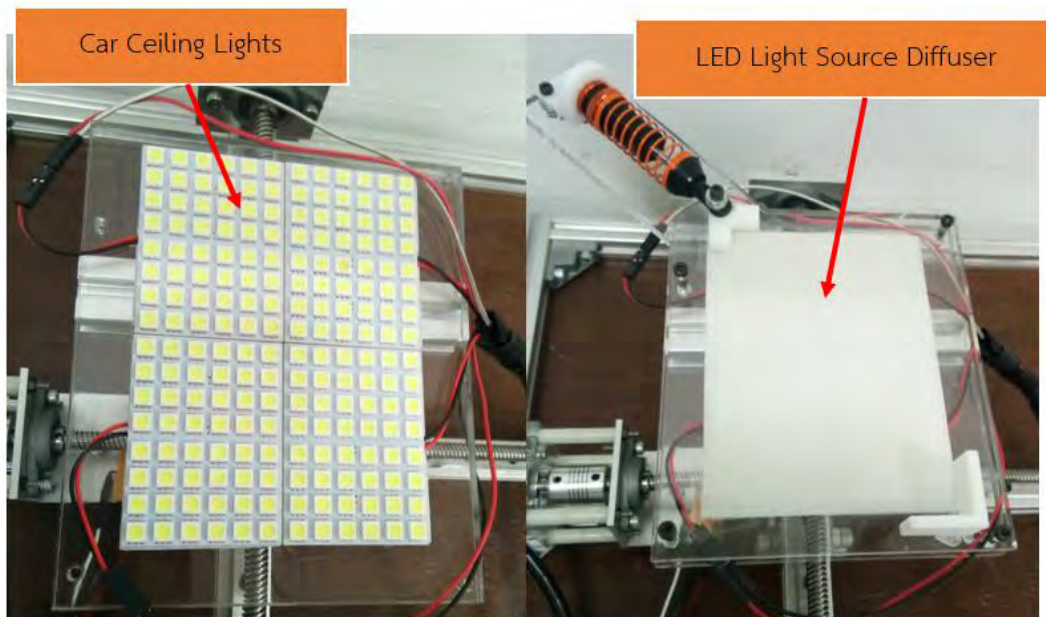




รูปที่ 3-10 ตัวอย่างการใช้กระดาษกระจายแสง[39]



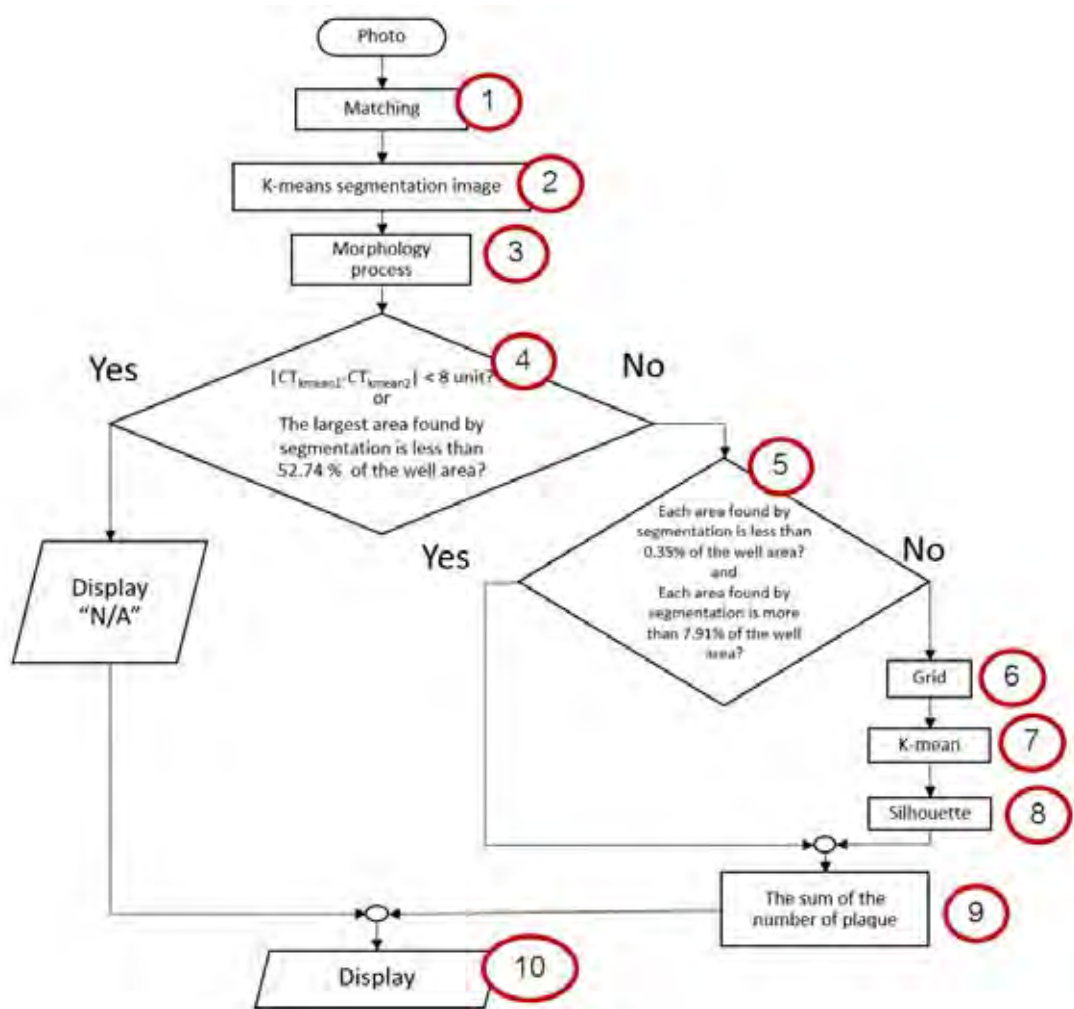
รูปที่ 3-11 รูปตัวอย่างผลการใช้กระดาษกระจายแสงที่พบตามโรงภาพยนตร์



รูปที่ 3-12 ภาพแสดงการใช้กระดาษกระจายแสงและแหล่งกำเนิดแสง

### 3.2.3 การวิเคราะห์ภาพเพื่อบันทึกจำนวนพลาของไวรัส

หลังจากเสร็จสิ้นการถ่ายภาพถ่ายทั้ง 96 ภาพ และทราบกระบวนการที่เหมาะสมที่สุด แล้ว ขั้นตอนต่อมาคืออธิบายการวิเคราะห์ภาพแต่ละภาพเพื่อบันทึกจำนวนพลาของไวรัส โปรแกรมที่ใช้วิเคราะห์ภาพคือ Halcon ซึ่งมีขั้นตอนการทำงานดังแสดงในดังรูปที่ 3-26



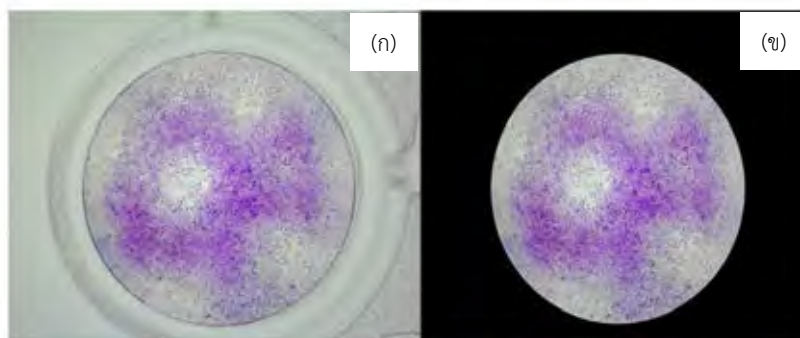
รูปที่ 3-13 กระบวนการวิเคราะห์ภาพเพื่อบันทึกจำนวนพลาของไวรัส

เนื่องจากโปรแกรม MVTec HALCON เป็นโปรแกรมสำเร็จรูปที่ใช้วิเคราะห์ภาพอยู่แล้ว ดังนั้นมันจะมีฟังก์ชันพื้นฐานเกี่ยวกับการวิเคราะห์ภาพให้สามารถใช้ได้เลย การดัดฟังก์ชันมาใช้ทำได้สะดวก กล่าวคือเมื่อใส่อินพุตต่างๆ ลงไป แล้วได้เอาพุตออกมา แต่ยังมีบางฟังก์ชันที่ไม่มีใน MVTec HALCON ยกตัวอย่างเช่น K-mean และ Silhouette ดังนั้นจึงต้องเขียนเอง

กระบวนการวิเคราะห์ภาพเพื่อนับจำนวนพลาซมของไวรัสตั้งรูปที่ 3-26 จะถูกอธิบายอย่างละเอียดในส่วนนี้

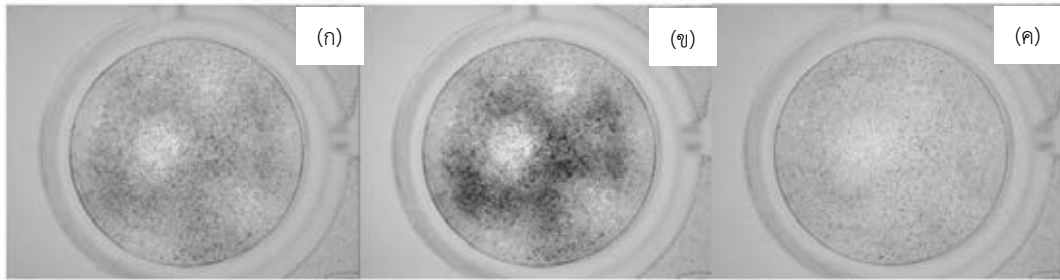
เพื่อให้ง่ายต่อการอธิบายแต่ละขั้นตอน จึงมีเลขกำกับบอกขั้นตอนต่างๆ ไว้ ดังรูปที่ 3-26

ขั้นตอนที่ 1 การหาพื้นที่เฉพาะในหลุม จากภาพถ่ายหลุมแต่ละรูปแสดงดังรูปที่ 3-27(ก) ให้ได้เป็นรูปที่ 3-27(ข) หลักการของขั้นตอนนี้คือต้องมีหลุมต้นแบบที่ต้องการ เพื่อใช้ในการหาหลุมของทุกรูป เมื่อหาหลุมพบแล้ว ให้ตัดส่วนที่ไม่เกี่ยวข้องออกจะได้ดังรูป 3-27(ข) โดยหลุมมีพื้นที่เท่ากับ 598,829 พิกเซล

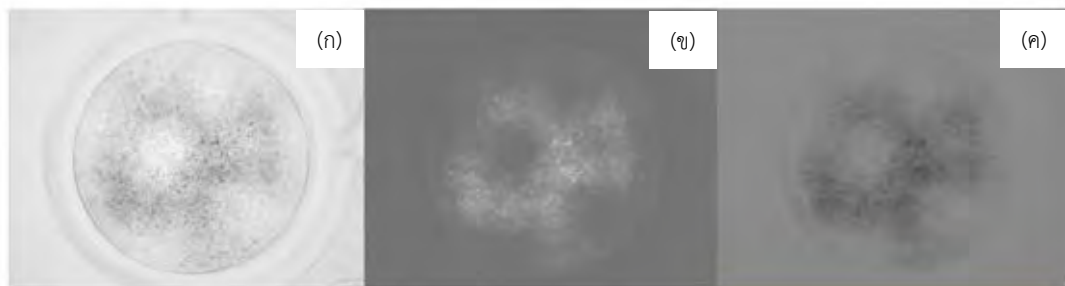


รูปที่ 3-14 (ก) รูปต้นฉบับ และ (ข) รูปพื้นที่เฉพาะในหลุม

ขั้นตอนที่ 2 การแบ่งข้อมูลภาพ (Image segmentation) เริ่มจากการแปลงจากภาพ RGB ซึ่งประกอบด้วยสีแดง สีเขียวและสีฟ้า ดังรูป 3-17 เป็นภาพ Lab ซึ่งประกอบด้วยความสว่าง (L) ค่าระดับสีเขียวถึงค่าระดับสีแดง (a) และค่าระดับสีน้ำฟ้าถึงค่าระดับสีเหลือง (b) ดังรูปที่ 3-18 แล้วนำข้อมูลเฉพาะค่าระดับสีเขียวถึงสีแดง (a) และค่าระดับสีน้ำฟ้าถึงสีเหลือง (b) มาคำนวณด้วยวิธี K-mean clustering โดยรายละเอียดการแปลงได้กล่าวไว้แล้วในบทที่ 2 ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 3-19



รูปที่ 3-15 ภาพ RGB ซึ่งประกอบด้วย (ก) แดง (ข) เขียว และ (ค) ฟ้า

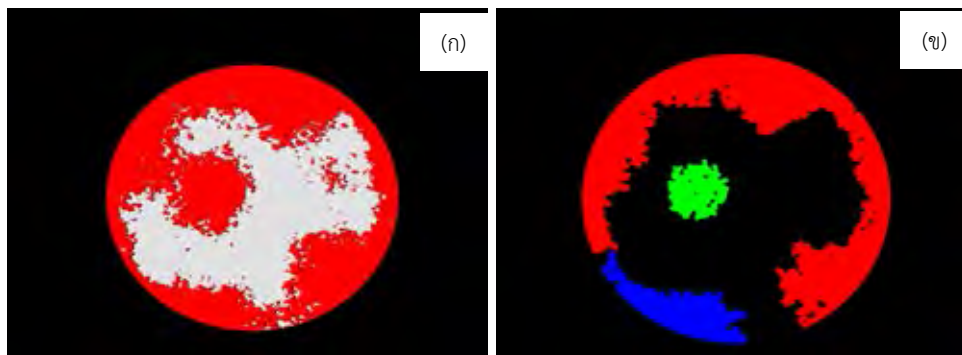


รูปที่ 3-16 Lab ซึ่งประกอบด้วย (ก) ความสว่าง (ข) ระดับสีเขียวยิ่งสีแดง และ (ค) ระดับสีน้ำฟ้าถึงสีเหลือง



รูปที่ 3-17 รูปแสดงการใช้ K-mean clustering

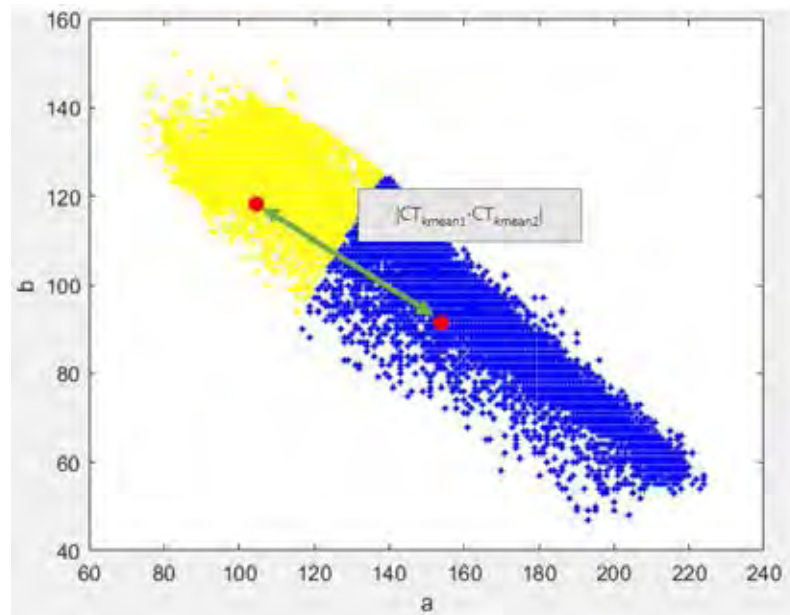
ขั้นตอนที่ 3 หลังจากได้พื้นที่ส่วนที่เป็นพลาสมาแล้วนำมาเข้ากระบวนการ Morphology โดยใช้ Opening เพื่อแยกพลาสมาที่ติดกันออกจากกัน โดยรายละเอียดได้กล่าวไว้แล้วในบทที่ 2 สำหรับการใส่ Erosion และ Dilation นั้นตั้งค่าไว้ที่ 5 pixel



รูปที่ 3-18 กระบวนการ Morphology (ก) การแสดงพื้นที่ที่พบพลาต (พื้นที่สีแดง) และ (ข) พื้นที่พลาตหลังจากกระบวนการ Morphology แบบ Opening

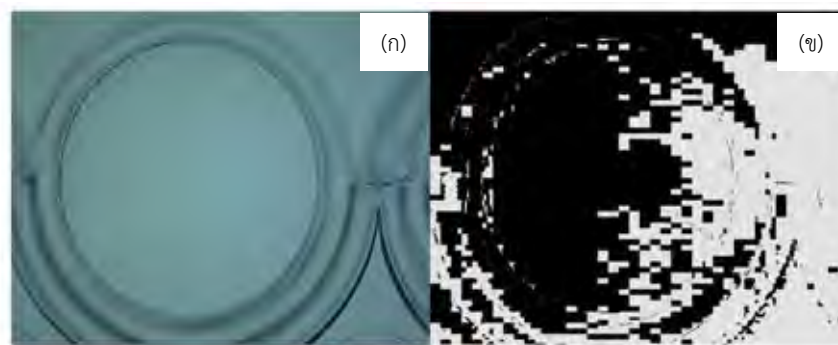
ขั้นตอนที่ 4 การกำหนดว่ากรณีไหนนับได้หรือนับไม่ได้ โดยการกำหนดเงื่อนไข 2 เงื่อนไข คือ

1. ระยะห่างของจุดศูนย์กลางสองจุดของกราฟ ab ดังรูปที่ 3-21 ถ้ามีค่าน้อยกว่า 8 หน่วย ( $|CT_{kmean1} - CT_{kmean2}| < 8 \text{ unit}$ ) ให้แสดงผลเป็นนับไม่ได้ โดย  $CT_{kmean1}$  คือ จุดศูนย์กลางจุดที่ 1 ของการแยกส่วนภาพด้วยกระบวนการ K-means clustering ในกราฟ ab  $CT_{kmean2}$  คือ จุดศูนย์กลางจุดที่ 2 ของการแยกส่วนภาพด้วยกระบวนการ K-means clustering ในกราฟ ab
2. พื้นที่ที่ใหญ่ที่สุดที่พบในขั้นตอนที่ 3 มากกว่า 300,000 พิกเซลหรือ 22.89% ของพื้นที่หลุม ให้แสดงผลเป็นนับไม่ได้



รูปที่ 3-19 ตัวอย่างการแสดงจุดศูนย์กลางถ่วงสองจุดจากกราฟ  $ab$

เหตุผลของเงื่อนไขที่ 1 เนื่องจากในบางครั้งรูปที่ได้ไม่มีเซลล์เหลืออยู่เลย เมื่อนำมาเข้ากระบวนการจัดกลุ่มด้วย K-means clustering ยังคงแบ่งกลุ่มได้อยู่ดังรูปที่ 3-22(ข) ซึ่งไม่ถูกต้อง

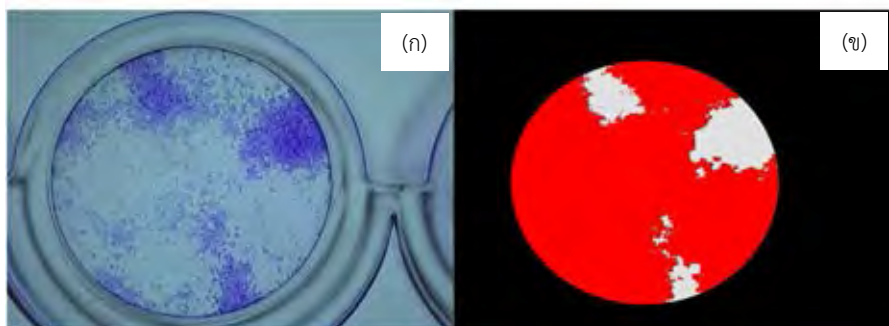


รูปที่ 3-20 ตัวอย่างรูปที่ไม่มีเซลล์เหลืออยู่เลยแต่เมื่อนำมาเข้ากระบวนการ K-means clustering ยังแบ่งพื้นที่ได้แต่ไม่ถูกต้อง (ก) ตัวอย่างรูปต้นฉบับที่ไม่มีเซลล์เลย และ (ข) ตัวอย่างรูปที่ไม่มีเซลล์เลยนำมาเข้ากระบวนการ K-means clustering

เพื่อป้องกันความผิดพลาดตรงนี้จึงกำหนดระยะห่างของจุดศูนย์กลางถ่วงในการแบ่งกลุ่มของ K-means clustering ต้องมีค่ามากกว่า 8 หน่วยถึงนำไปคำนวณต่อได้



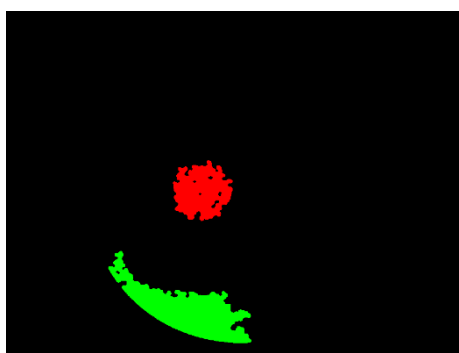
เหตุผลของเงื่อนไขที่ 2 เนื่องจากพื้นที่พลาสม่าที่พบมีมากเกินไปแสดงดังรูปที่ 3-23 (ก) ซึ่งพื้นที่ที่พบคือ 386,574 พิกเซลหรือ 67.96% ของพื้นที่หลุม แสดงดังรูปที่ 3-23 (ข) จึงกำหนดเงื่อนไขว่าพื้นที่ที่พบพลาสม่าต้องน้อยกว่า 300,000 พิกเซลหรือ 52.74% ของพื้นที่หลุมถึงนำไปคำนวณต่อได้



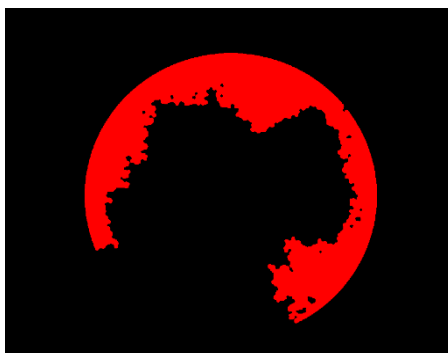
รูปที่ 3-21 ตัวอย่างรูปที่มีพลาสม่ามากเกินไป (ก) ตัวอย่างรูปต้นฉบับที่พบพลาสม่ามากเกินไป และ (ข) พื้นที่ที่พบพลาสม่า (พื้นที่สีแดง)

ขั้นตอนที่ 5 เลือกช่วงแต่ละพื้นที่ที่พบโดยการแยกส่วนภาพ โดยพื้นที่ขนาดเล็กที่สุดถึงขนาดใหญ่ที่สุดที่จะเป็นเป็น 1 พลาสม่า คือการเลือกพื้นที่ขนาด 2,000 ถึง 45,000 พิกเซลหรือ 0.35 ถึง 7.91 % ของพื้นที่หลุม จากรูปที่ 3-20 (ข) ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 3-24 แต่ถ้าพื้นที่ใหญ่กว่านั้นให้นำไปคำนวณต่อในขั้นตอนที่ 6

เหตุผลที่เลือกขนาด 2,000 – 45,000 พิกเซลหรือ 0.35 ถึง 7.91 % ของพื้นที่หลุม เพราะถ้าน้อยกว่านี้ถือเป็นสัญญาณรบกวนแต่ถ้ามากกว่านี้ถือเป็นพื้นที่ที่มีพลาสม่ามากกว่า 1 พลาสม่า

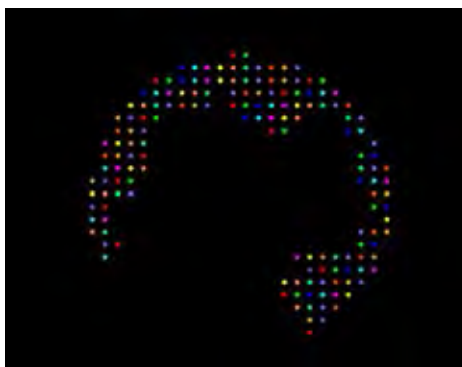


รูปที่ 3-22 การเลือกพื้นที่ที่มีขนาดเป็น 1 พลาสม่าจากรูปที่ 3-25



รูปที่ 3-23 เลือกพื้นที่ที่มีขนาดใหญ่กว่า 1 พลาต

ขั้นตอนที่ 6 ตีกริด คือการสร้างชุดลงในพื้นที่ที่เลือกโดยระยะห่างระหว่างจุดเท่ากันคือ 35 พิกเซล ดังแสดงในรูปที่ 3-26



รูปที่ 3-24 การแสดงการตีกริด

ขั้นตอนที่ 7 การแบ่งกลุ่มของกริดโดยใช้วิธี K-means clustering จากหลักการนับจำนวนพลาตข้างต้น อัลกอริทึมที่เหมาะสมจะต้องสามารถแบ่งพื้นที่ออกเป็นส่วนๆ ผลการแบ่งจะต้องเป็นรูปวงกลม ดังนั้นจึงใช้ K-mean ในการจัดกลุ่ม อย่างไรก็ตามผลของ K-mean ไม่สามารถบอกจำนวนการจัดกลุ่มที่ดีที่สุดได้ ทำได้เพียงจัดกลุ่มให้เหมาะสมเท่านั้น ในขั้นตอนนี้จะสั่งให้จัด 2 จนถึง 20 กลุ่ม และเก็บข้อมูลเอาไว้



### รายละเอียดของ k-mean อธิบายดังต่อไปนี้

1. เมื่อต้องการจัดกลุ่มเป็นจำนวน R กลุ่ม ให้สุ่มวางจุด  $C_R$  ทั้ง R ตัวลงในข้อมูลนั้น
2. จัดกลุ่มข้อมูลโดยการวัดระยะทาง ถ้าข้อมูลตัวไหนอยู่ใกล้  $C_R$  ไหนมากที่สุด ให้ข้อมูลนั้นอยู่กับ  $C_R$  ตัวนั้น
3. เมื่อทำข้อ 2 เสร็จแล้ว จะได้การแบ่งพื้นที่เป็นจำนวน R กลุ่ม แต่ละพื้นที่ทั้ง R กลุ่มนั้นต้องหาจุดศูนย์กลางใหม่หรือจุด  $C_R$  นั้นเอง
4. ทำขั้นตอนที่ 2 และ 3 วนซ้ำไปเรื่อยๆจนกว่าจุด  $C_R$  ไม่เปลี่ยนแปลง จะได้การจัดกลุ่มแบบ k-mean

ขั้นตอนที่ 8 Silhouette คือการหาจำนวนการจัดกลุ่มที่เหมาะสมที่สุด โดยข้อมูลการจัดกลุ่มนั้นจะต้องจัดมาแล้วโดย k-mean และนำข้อมูลจาก k-mean มาใช้ต่อกับสมการที่ 3.2 สมการการหา Silhouette คือ

$$s(i) = \frac{b(i) - a(i)}{\max\{a(i), b(i)\}} \quad (3.2)$$

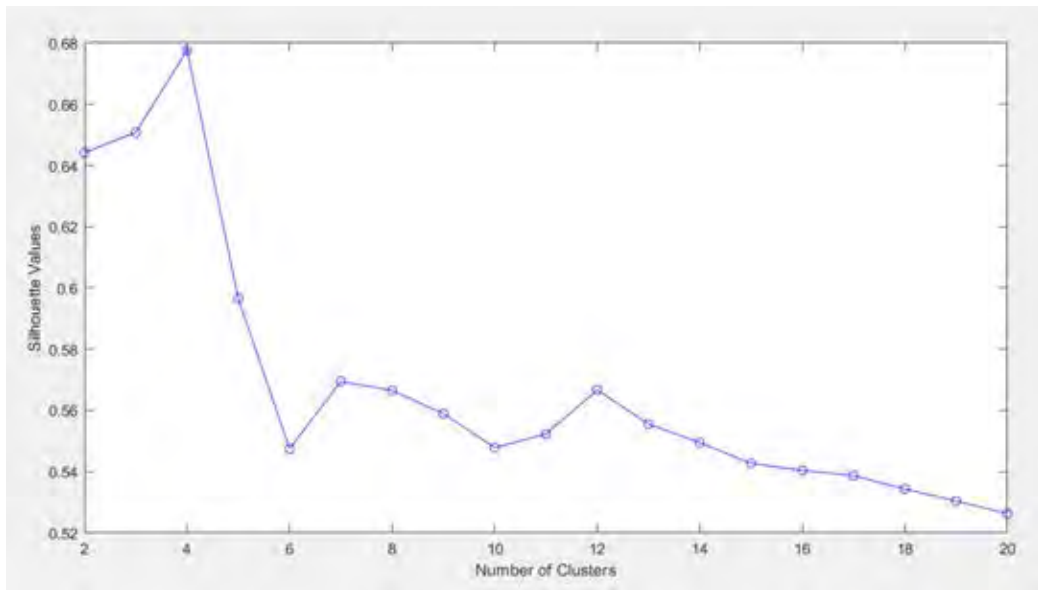
เมื่อ  $i$  คือ จำนวนกลุ่มที่จัดมาแล้วจาก k-mean

$b(i)$  คือ เวกเตอร์เฉลี่ยของทุกจุดในกลุ่มที่ใกล้ที่สุดกับจุด  $C_R$  ที่กำลังพิจารณา

$a(i)$  คือ เวกเตอร์เฉลี่ยของทุกจุดในกลุ่มกับจุด  $C_R$  ที่กำลังพิจารณา

เมื่อได้  $s$  ครบแล้ว จะเลือกค่า  $s(i)$  ที่มากที่สุด  $i$  ของ  $s$  ตัวนั้นคือจำนวนที่เหมาะสมที่สุด ค่า  $s$  ที่ได้แสดงดังรูปที่ 3-25

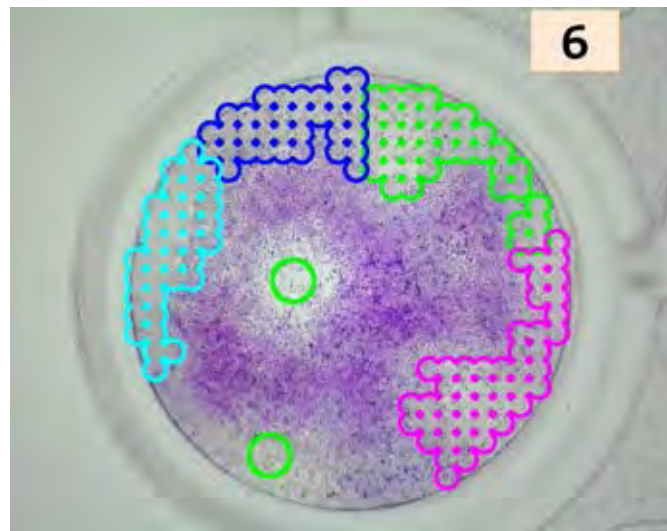
ข้อมูลการจัดกลุ่มนั้นจะต้องจัดมาแล้วโดย K-mean และนำข้อมูลจาก K-mean มาใช้ต่อสมการการหา Silhouette คือ 3.2 เมื่อได้  $s$  ครบแล้ว จะเลือกค่า  $s(i)$  ที่มีค่ามากที่สุด  $i$  ของ  $s$  ตัวนั้นคือจำนวนที่เหมาะสมที่สุด ในการแบ่งกลุ่ม ตัวอย่างค่า  $s$  ที่คำนวณได้ในการจัด 2 ถึง 20 กลุ่มแสดงดังรูปที่ 3-25 จะเห็นว่าค่าที่เหมาะสมที่สุดคือ 4 ( $i=4$ ) ดังนั้นการแบ่งจำนวนของพื้นที่พลาคนี้ได้ 4 พลาค



รูปที่ 3-25 การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนการจัดกลุ่มและค่า  $s$

ขั้นตอนที่ 9 คือการคำนวณจำนวนของพลาโค โดยการรวมกันของผลที่ได้จากขั้นตอนที่ 5 และขั้นตอนที่ 8

ขั้นตอนที่ 10 คือการแสดงผลดังแสดงในรูปที่ 3-28



รูปที่ 3-26 การแสดงตัวอย่างภาพที่นับแล้ว

### การแสดงผลการนับสรุปรวมของ 96-well plate

ปกติวิธีการของ Plaque assay ทำโดยการเจือจางไวรัสที่ระดับต่างๆ โดยไล่ระดับความเจือจางของไวรัสไปตามแถวหรือตามหลัก ขึ้นอยู่กับการออกแบบของผู้ทดลอง ดังนั้นเพื่อให้ง่ายในการเปรียบเทียบจึงทำเป็นตารางสรุปผลแสดงดังรูปที่ 3-27 ซึ่งจะเห็นว่าผลการนับมี 2 สี คือ สีดำและสีเขียว ในกรณีที่เป็นสีดำคือพบพื้นที่พลาควที่ใหญ่มากกว่า 1 พลาคว แล้วทำนายจำนวนพลาควจากพื้นที่นั้น และกรณีที่เป็นสีเขียวคือพบพลาควแยกกัน ไม่ต้องเข้ากระบวนการการทำนายจำนวนพลาคว ซึ่งกรณีที่พบพลาควแยกกันมีโอกาสนับถูกต้องมากกว่ากรณีที่ต้องทำนายจำนวนพลาควจากพื้นที่ใหญ่ๆ จึงทำเป็น 2 สีเพื่อแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างชัดเจน



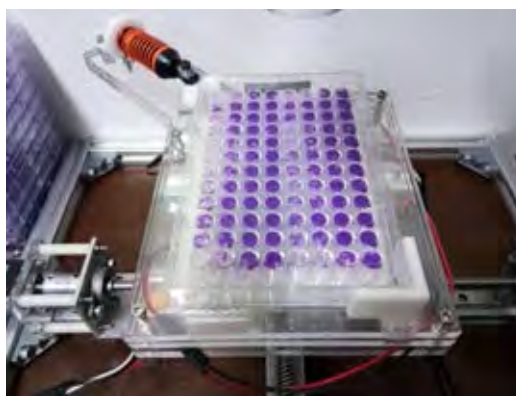
รูปที่ 3-27 ตัวอย่างการแสดงผลการนับสรุปรวมของ 96-well plate โดยรูปซ้ายคือผลการนับ ส่วนรูปขวาคือการแสดงตำแหน่งของ 96-well plate [40]

## บทที่ 4

### วิธีการใช้งานเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลของไวรัส

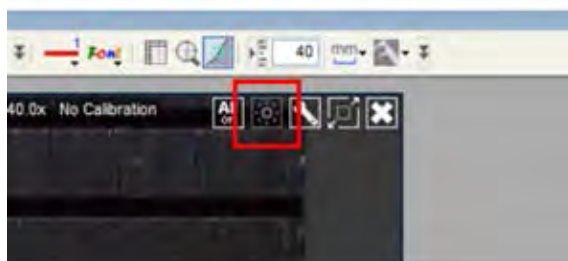
เพื่อให้ใช้งานเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลของไวรัสได้อย่างถูกต้องควรศึกษาและทำตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. นำ 96-well plate ที่ต้องการนับจำนวนผลของไวรัสมาวางบนโต๊ะของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติโดยวาง 96-well plate ให้อยู่ด้านบนดังรูปที่ 4-1



รูปที่ 4-1 ตัวอย่างการวาง 96-well plate โดยวางด้านบน

2. เนื่องจากเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติในงานวิจัยนี้ใช้แหล่งกำเนิดแสงจากด้านล่างของวัตถุ ดังนั้นจึงต้องปิดแหล่งกำเนิดแสงจากกล้องไมโครสโคปก่อน โดยการเปิดโปรแกรม Dino Capture เพื่อปิดแหล่งกำเนิดแสง และกดที่สัญลักษณ์ในกรอบสีแดงแสดงดังรูปที่ 4-2 ซึ่ง Dino Capture เป็นโปรแกรมของกล้องไมโครสโคปที่ใช้ในงานวิจัยนี้ เมื่อสั่งปิดแล้วต้องปิดโปรแกรม Dino Capture เพื่อให้กล้องไมโครสโคปเชื่อมต่อกับโปรแกรม Halcon ในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 4-2 การสั่งปิดแหล่งกำเนิดของกล้องไมโครสโคปด้วยโปรแกรม Dino Capture

3. เปิดโปรแกรม MVTEC HALCON ที่เขียนคำสั่งถ่ายรูปและคุยกับโปรแกรม Arduino IDE ไว้แล้ว ต่อมาเลือกว่าต้องการให้ภาพที่ถ่ายนี้อยู่ที่ไหนโดยกำหนดที่บรรทัดที่ 49 แสดงดังรูปที่ 4-3 จากนั้นสั่งให้ทำงานโดยกด F5

```

46
47
48     wait_seconds (0.1)
49     dump_window (WindowHandle, 'tiff', 'C:/Users/Pannawich/Desktop/testone/Image_' + done$.3d')
50     done := done +1
51     write_serial (SerialHandle, ords('camera is done\n\r'))
52     wait_seconds (0.2)
53*    write_serial (SerialHandle, ords('z\n\r'))

```

รูปที่ 4-3 การกำหนดที่อยู่ภาพที่ถ่ายแล้วของโปรแกรม MVTEC HALCON

4. การเลือกที่อยู่ของภาพที่ต้องการให้เข้าและผลลัพธ์หลังจากกระบวนการนับพลาของไวรัสเลือกที่อยู่ของภาพที่ต้องการให้เข้ากระบวนการนับพลาของไวรัส โดยกำหนดที่บรรทัดที่ 27 แสดงดังรูป 4-4

```

24 get_shape_model_contours (modelContours, modelID, 1)
25* stop()
26* Index:=7
27 list_image_files ('C:/Users/Pannawich/Desktop/new photo/C14', 'default', [], ImageFiles)
28 for Index := 0 to |ImageFiles|-1 by 1
29     dev_open_window (0, 0, Width, Height, 'black', WindowHandle1)
30*    read_image (Image9, 'C:/Users/Pannawich/Desktop/new photo/A1/A002 - 20181119_210854.tif)
31     read_image (Image9, ImageFiles[Index])
32

```

รูปที่ 4-4 การเลือกที่อยู่ของภาพที่ต้องการให้เข้ากระบวนการนับพลาของไวรัสของโปรแกรม MVTEC HALCON

เลือกที่อยู่ของผลลัพธ์การเข้ากระบวนการนับพลาของไวรัส โดยกำหนดที่บรรทัดที่ 342 447 458 1,205 1,217 1,241 1,266 และ 1,472 แสดงรูปตัวอย่างดังรูป 4-5

```

340 gen_image_const (image1_km, byte, sizeWidth, sizeHeight)
341 set_grayval (Image1_km, Rows_image, Columns_image, datatdxj_km*225)
342 dev_display (Image1_km)
343 dump_window (WindowHandle1, 'tiff', 'C:/Users/Pannawich/Desktop/my thesis/count_program/count_kmean/count_pre_kmean' + Index)
344
345 *find out of circle for invert image

```

รูปที่ 4-5 ตัวอย่างการเลือกที่อยู่ของผลลัพธ์การเข้ากระบวนการนับพลาของไวรัสแล้ว

5. ปรับค่าตั้งต้นตามต้องการโดยกำหนดที่บรรทัดที่ 8 9 และ 10 ซึ่งสามารถปรับค่าตั้งต้นได้ 3 ค่าคือ (1) พื้นที่พลาที่ใหญ่ที่สุดที่ยังเข้ากระบวนการนับอยู่ (2) กำหนดพื้นที่พลาที่เล็กที่สุดที่เป็น 1 พลา และ (3) กำหนดพื้นที่พลาที่ใหญ่ที่สุดที่เป็น 1 พลา แสดงดังรูปที่ 4-6 โดยหน่วยที่ใช้คือเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หลุม จากนั้นสั่งให้ทำงานโดยการกด F5

```

6 **** Default (% of well area) ****
7
8 The_largest_plaque_area_for_counting:=52.74
9 The_smallest_plaque_area_for_1_plaque:=0.35
10 The_largest_plaque_area_for_1_plaque:=7.91
11
12 read_image (Image, 'C:/Users/Pannawich/Desktop/new

```

รูปที่ 4-6 การกำหนดค่าตั้งต้นในการเข้ากระบวนการนับพลาควของไวรัสซึ่งประกอบไปด้วยคือ (1) พื้นที่พลาควใหญ่สุดที่ยังเข้ากระบวนการนับอยู่ (2) กำหนดพื้นที่พลาควเล็กที่สุดที่เป็น 1 พลาคว (3) กำหนดพื้นที่พลาควใหญ่สุดที่เป็น 1 พลาคว

หมายเหตุ: หลังใช้งานเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติเสร็จแล้วควรปิดสวิทซ์ไฟทุกครั้ง เนื่องจากสเต็ปเปอร์มอเตอร์จะมีแรงบิดถ้อยค้าง ถ้าเปิดสวิทซ์ไฟทิ้งไว้นานๆ จะทำให้มอเตอร์ร้อนได้

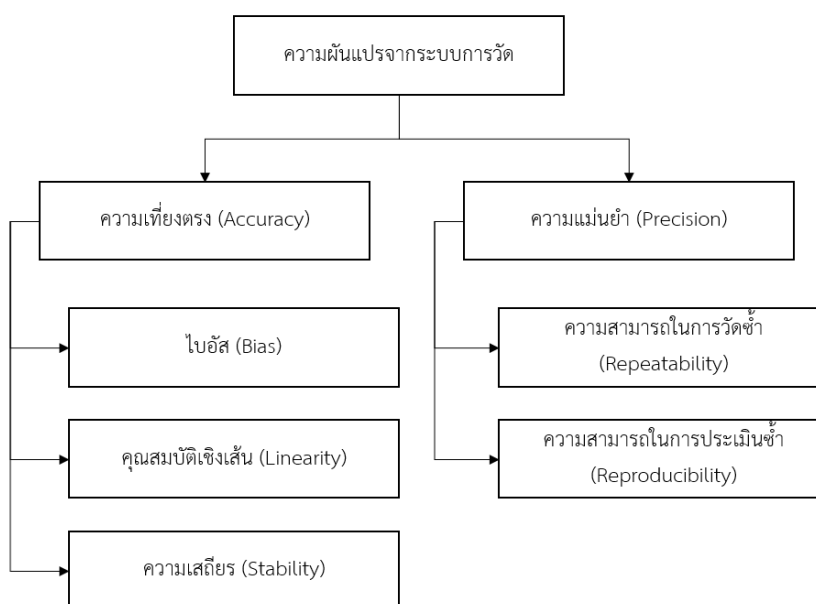


3874745264

## บทที่ 5

### การวิเคราะห์ระบบการวัดและการประเมินผล

ระบบการวัดเป็นเรื่องจำเป็นสำหรับทุกระบบการทำงานเพื่อประเมินผล ชิ้นงานทุกชิ้นที่ผลิตออกมาต้องมีขนาดที่แน่นอนเพียงค่าเดียว เพื่อให้ทราบค่าที่แน่นอนนั้นจึงจำเป็นต้องใช้ระบบการวัด ระบบการวัดที่ดี ค่าที่วัดได้ต้องมีค่าใกล้เคียงกับค่าจริงของชิ้นงาน สำหรับส่วนประกอบของระบบการวัดมี 4 ส่วนคือ (1) เครื่องมือที่ใช้วัด (2) สิ่งแวดล้อม (3) พนักงานวัด และ (4) วิธีการวัด ความถูกต้องในระบบการวัดขึ้นอยู่กับความผันแปรของระบบการวัด [41] โดยแสดงรายละเอียดดังรูปที่ 5-1



รูปที่ 5-1 การแสดงรายละเอียดของความผันแปรจากระบบการวัด

#### ความผันแปรของระบบการวัด

ความผันแปรของระบบการวัดแบ่งเป็น 2 ส่วนคือความเที่ยงตรง (Accuracy) และความแม่นยำ (Precision)

ความเที่ยงตรง (Accuracy) คือ การดูค่าเฉลี่ยในการวัดว่าได้ใกล้เคียงค่าอ้างอิงหรือไม่ ถ้าได้ใกล้เคียงหมายความว่าความผันแปรของตำแหน่งตำแหน่งหรือประเมินได้ว่าถูกต้อง

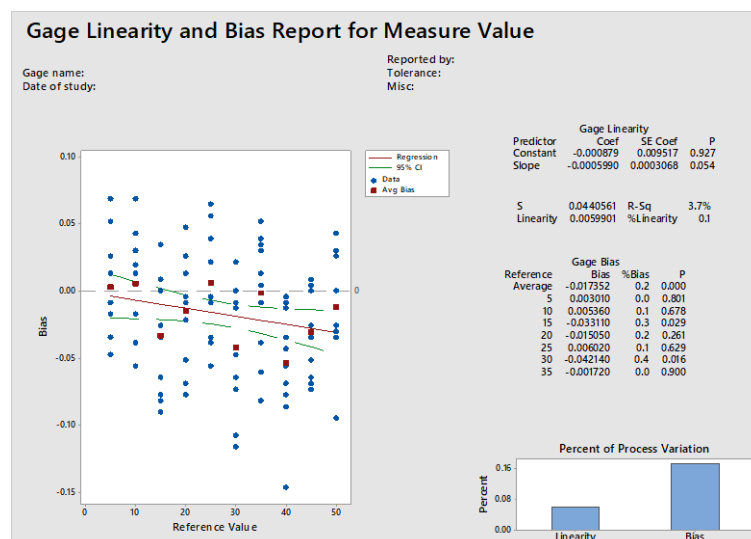
ความแม่นยำ (Precision) คือ การดูผลการวัดว่าเกาะกลุ่มกันหรือไม่ ถ้าเกาะกลุ่มกันหมายความว่าความผันแปรของความกว้างต่ำหรือประเมินได้ว่าแม่นยำ

ในงานวิจัยนี้ประเมินความผันแปรของระบบการวัด 2 ส่วน คือ (1) การประเมินความผันแปรของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ และ (2) การประเมินความผันแปรของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลของไวรัส

### 5.1 ความผันแปรของระบบการวัดของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ

เพื่อหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) และความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ ได้ทำการทดลองเพื่อเก็บผล 2 แบบดังนี้

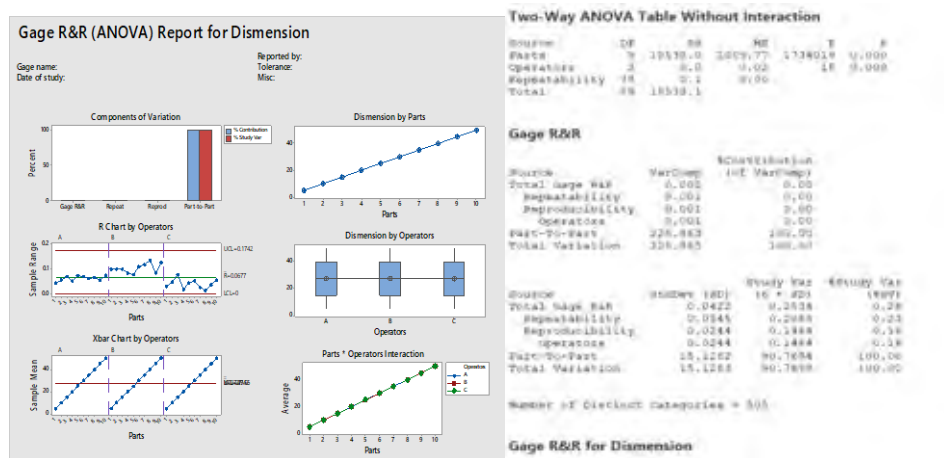
1. นำไม้บรรทัดมาวางบนโต๊ะที่เคลื่อนที่อัตโนมัติและสั่งให้โต๊ะเคลื่อนที่ 10 ครั้ง ครั้งละ 5 มิลลิเมตร ทุกครั้งที่มีการเคลื่อนที่จะสั่งให้กล้องถ่ายรูปไว้ เพื่อนำรูปที่ได้มาพิจารณาหาค่าคลาดเคลื่อน ทำซ้ำทั้งหมด 10 ครั้ง การหาค่าคลาดเคลื่อนนี้ทำโดยการหาความแตกต่างของระยะของตำแหน่งพิกเซลโดยเทียบกับรูปแรก จากนั้นแปลงพิกเซลเป็นระยะหน่วยมิลลิเมตร และสุดท้ายนำค่าระยะผิดพลาดที่ได้ไปหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ด้วยโปรแกรม Minitab แสดงดังรูปที่ 5-2



รูปที่ 5-2 ผลการคำนวณค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ด้วยโปรแกรม Minitab ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ



2. นำไม้บรรทัดมาวางบนโต๊ะที่เคลื่อนที่อัตโนมัติและการสั่งให้โต๊ะเคลื่อนที่ 10 ครั้ง ครั้งละ 5 มิลลิเมตร ทุกครั้งที่มีการเคลื่อนที่จะสั่งให้กล้องถ่ายรูปไว้ เพื่อนำรูปที่ได้มาพิจารณาหาความผิดพลาด ทำแบบนี้ด้วยคน 3 คน ทำคนละ 10 ครั้ง การหาค่าคลาดเคลื่อนนี้ทำโดยการหาความแตกต่างของระยะของตำแหน่งพิกเซลโดยเทียบกับรูปแรก จากนั้นแปลงพิกเซลเป็นระยะหน่วยมิลลิเมตร และสุดท้ายนำค่าระยะผิดพลาดนี้ไปหาความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) ด้วยโปรแกรม Minitab แสดงดังรูป 5-3



รูปที่ 5-3 ผลการคำนวณค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) ด้วยโปรแกรม Minitab ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ

สรุปได้ค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติเท่ากับ 0.042 มิลลิเมตร ซึ่งค่านี้นำมาจากค่าไบอัส (Bias) สูงสุด ค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติเท่ากับ 0.034 มิลลิเมตร และค่า Number of Distancet Categories เท่ากับ 505 ซึ่งมีค่ามากกว่า 5 หมายความว่าเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัตินี้มีความสามารถในการแยกความแตกต่างของชิ้นงานได้ [41]

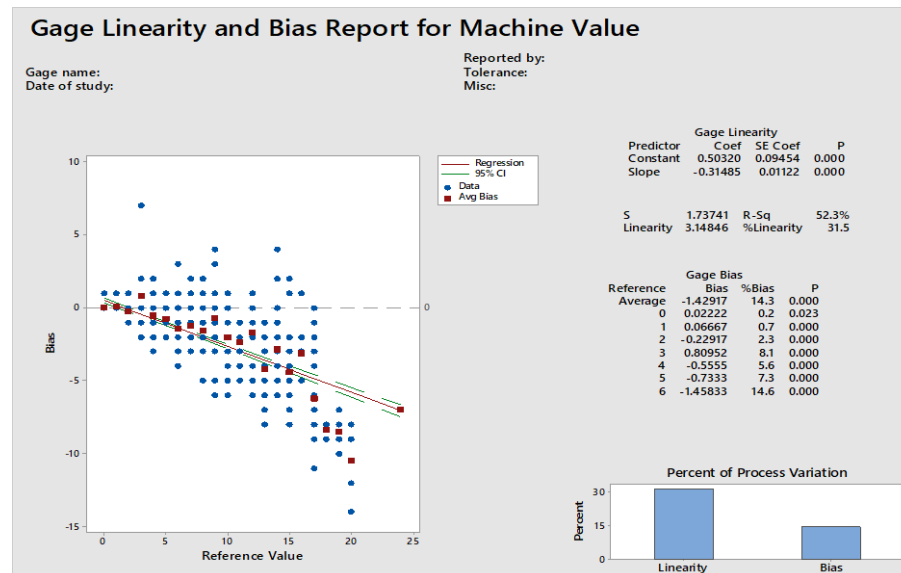
## 5.2 ความผันแปรของระบบการวัดของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบการนับผลาคของไวรัส

### 5.2.1 ความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบการนับผลาคของไวรัส

งานวิจัยนี้สนใจความเที่ยงตรง (Accuracy) ซึ่งประกอบด้วย (1) ไบอัส (Bias) (2) คุณสมบัติเชิงเส้น (Linearity) และ (3) ความเสถียร (Stability)

การวิเคราะห์ระบบการวัดและการประเมินผลเพื่อหาไบอัส (Bias) คุณสมบัติเชิงเส้น (Linearity) และความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) ดำเนินการด้วยโปรแกรม Minitab โดยขั้นตอน มีดังนี้

1. การเลือกรูปที่นับโดยคนหรือค่าอ้างอิง แล้วพบว่ามีความเท่ากับ 0, ช่วง 1-5, ช่วง 6-10, และมากกว่า 10 ขึ้นไป มาอย่างละ 60 รูป ให้เครื่องนับซ้ำรูปละสามครั้ง
2. ป้อนข้อมูลที่ได้ลงในโปรแกรม Minitab ผลแสดงดังรูปที่ 5-4 ถึงรูปที่ 5-7



รูปที่ 5-4 ผลการคำนวณค่าคุณสมบัติเชิงเส้นโดยโปรแกรม Minitab ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลาคของไวรัส

ผลการคำนวณด้วยโปรแกรม Minitab พบว่าค่าคุณสมบัติเชิงเส้นเท่ากับ 3.14846 และค่าไบอัสของแต่ละค่าแสดงดังรูปที่ 5-5

### Gage Linearity and Bias for Machine Value

#### Gage Bias

Reference	Bias	%Bias	P
Average	-1.4292	14.3	0.000
0	0.0222	0.2	0.023
1	0.0667	0.7	0.000
2	-0.2292	2.3	0.000
3	0.8095	8.1	0.000
4	-0.5556	5.6	0.000
5	-0.7333	7.3	0.000
6	-1.4583	14.6	0.000
7	-1.2333	12.3	0.000
8	-1.5897	15.9	0.000
9	-0.7083	7.1	0.003
10	-2.0000	20.0	0.000
11	-2.3704	23.7	0.000
12	-1.6667	16.7	0.000
13	-4.1818	41.8	0.000
14	-2.8333	28.3	0.000
15	-4.4286	44.3	0.000
16	-3.1111	31.1	0.000
17	-6.1905	61.9	0.000
18	-8.3333	83.3	0.000
19	-8.5000	85.0	0.000
20	-10.5000	105.0	0.000
24	-7.0000	70.0	*

รูปที่ 5-5 ผลการคำนวณค่าไบอัสของแต่ละค่าโดยโปรแกรม Minitab ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและ  
ระเบียบวิธีการนับผลาคของไวรัส

จากผลการคำนวณวิเคราะห์พบว่าค่าคุณสมบัติเชิงเส้น (Linearity) มีค่า 31.5% แสดงถึง  
เครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลาคของไวรัสนี้มีความสามารถในการวัดจำนวนผลาค  
ที่ย่านต่างๆ ได้ไม่ดี โดยที่ค่าอ้างอิงต่ำๆ ความผิดพลาดในการวัดต่ำ แต่เมื่อค่าอ้างอิงสูงขึ้นความ  
ผิดพลาดในการวัดยิ่งสูงมากขึ้น ส่วนค่าไบอัสเฉลี่ยคือ 14.3% โดยค่าไบอัสมีค่ามากขึ้นแปรผันตามค่า  
อ้างอิงที่วัด กล่าวคือยิ่งค่าอ้างอิงที่วัดมีค่าน้อย ส่งผลให้ค่าไบอัสน้อย แต่หากค่าอ้างอิงที่วัดมีค่ามาก  
จะส่งผลให้ค่าไบอัสมากตามด้วย

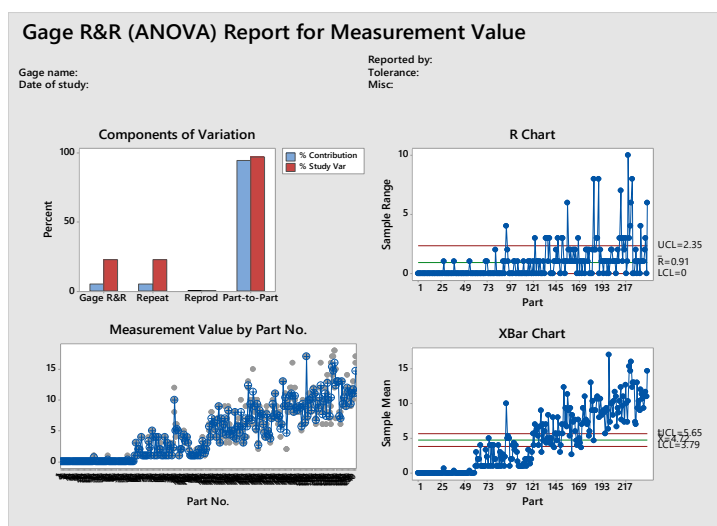
#### 5.2.2 ความแม่นยำ (Precision) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบการนับ ผลาคของไวรัส

ความแม่นยำ (Precision) สนใจเฉพาะความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) เท่านั้น  
เหตุผลที่ไม่คำนึงถึงความสามารถในการประเมินซ้ำ (Reproducibility) เนื่องจากความสามารถในการ  
ประเมินซ้ำ (Reproducibility) คือ ความผันแปรระหว่างเงื่อนไขของระบบการวัดซึ่งประกอบไปด้วย  
พนักงานวัดและเครื่องมือที่ใช้ในการวัด สำหรับเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลาค  
ของไวรัสนี้ เครื่องวัดมีเพียงเครื่องเดียว ส่วนพนักงานวัดควรใช้พนักงานคนเดียวเพื่อลดความ  
แปรปรวนในการวัด ในงานวิจัยนี้จึงไม่สนใจความสามารถในการประเมินซ้ำ (Reproducibility)



3874745264

ผลการคำนวณหาความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) โดยใช้การวิเคราะห์แบบ ANOVA ซึ่งเป็นการคิดที่ค่ากลางของกลุ่มข้อมูล และเลือกเป็นชิ้นงานที่มีความสามารถถูกวัดซ้ำ (Crossed) ได้ ดำเนินการด้วยโปรแกรม Minitab แสดงเป็นแผนภูมิและกราฟแสดงดังรูปที่ 5-6



รูปที่ 5- 6 ผลการคำนวณหาแผนภูมิและกราฟของค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) โดยโปรแกรม Minitab ของเครื่องถ่ายรูปลัดโน้มนัดและระเบียบวิธีการนับพลาสติกของไวรัส

แผนภูมิ Components of Variation คือการเปรียบเทียบความแปรปรวนของความหลากหลายของค่าอ้างอิงและความแปรปรวนจากค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) จากรูป 5-6 พบว่าความแปรปรวนจากความหลากหลายของค่าอ้างอิงมีมากกว่าความแปรปรวนจากค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) ซึ่งปกติค่าความแปรปรวนของค่าอ้างอิงควรมีมากกว่าค่าความสามารถในการวัดซ้ำ ดังนั้นคำนี้ถือว่าดี

กราฟ R Chart แสดงถึงความเสถียร หาได้ด้วยการนำค่ามากที่สุดลบค่าน้อยที่สุดของแต่ละค่าอ้างอิง แล้วนำมาพล็อต ผลที่ได้ควรอยู่ในเส้นควบคุมสีแดง [41] จากรูปที่ 5-6 พบว่ามีหลายค่าไม่อยู่ในเส้นควบคุมสีแดง แสดงว่ามีค่าความเสถียรต่ำ

กราฟ Measurement Value by Part No. แสดงถึงความแปรปรวนแต่ละค่าอ้างอิง โดยนำข้อมูลที่วัดได้มาพล็อตตามค่าอ้างอิง จุดที่พล็อตควรเกาะกลุ่มกันจึงถือว่าดี [41] จากรูป 5-6 พบว่าค่าที่พล็อตเกาะกลุ่มกันในช่วงแรก แต่ช่วงหลังพบว่าค่าที่พล็อตกระจายกันอยู่ หมายความว่าช่วงแรกๆ การวัดมีความแปรปรวนน้อย ช่วงหลังๆ การวัดมีความแปรปรวนมาก

กราฟ X bar Chart by Operator แสดงถึงการกระจายตัวของค่าอ้างอิง หาได้โดยขึ้นงาน 1 ขึ้นถูกวัดหลายครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย จากนั้นนำมาพล็อต กราฟที่ได้ควรอยู่นอกเส้นควบคุมสีแดงอย่างน้อย 50% จึงถือว่าการกระจายตัวของค่าอ้างอิงดี [41] จากรูปที่ 5-6 พบค่าที่อยู่นอกเส้นควบคุมมากกว่า 50% จึงถือว่าการกระจายตัวของค่าอ้างอิงนี้ดี

One-Way ANOVA Table					
Source	DF	SS	MS	F	P
Part No.	239	13196.9	55.2171	56.6329	0.000
Repeatability	480	468.0	0.9750		
Total	719	13664.9			

$\alpha$  to remove interaction term = 0,05

Gage R&R		
Source	VarComp	%Contribution (of VarComp)
Total Gage R&R	0.9750	5.12
Repeatability	0.9750	5.12
Part-To-Part	18.0807	94.88
Total Variation	19.0557	100.00

Source	StdDev (SD)	Study Var (6 * SD)	%Study Var (%SV)
Total Gage R&R	0.98742	5.9245	22.62
Repeatability	0.98742	5.9245	22.62
Part-To-Part	4.25214	25.5128	97.41
Total Variation	4.36528	26.1917	100.00

Number of Distinct Categories = 6

**Gage R&R for Measurement Value**

รูปที่ 5-7 ผลการคำนวณหาค่าความสามารถในการวัดซ้ำโดยโปรแกรม Minitab ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลาคของไวรัส

ค่า Total Gage R&R คือผลรวมของค่า Repeatability กับ Reproducibility ควรมีค่าไม่เกิน 7% [41] ในที่นี้ไม่มี Reproducibility ค่า Total Gage R&R จึงเท่ากับ Repeatability ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.12% หมายความว่าความแปรปรวนของค่า Total Gage R&R อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้

ค่า Total Variation เป็นการบอกภาพรวมว่าความแปรปรวนที่เกิดขึ้นเกิดจากอะไรบ้าง จากรูปที่ 5-7 พบว่าความแปรปรวนจาก Part-to-Part มีผลถึง 94.88% ของค่าความแปรปรวนรวมและอีก 5.12 % เกิดจากความแปรปรวนจากความสามารถในการวัดซ้ำ

ค่า Number of Distinct Categories คือความสามารถของเครื่องมือวัดในการแยกความแตกต่างของขึ้นงาน ควรมีค่ามากกว่า 5 จึงถือว่าเครื่องมือวัดสามารถแยกความแตกต่างของขึ้นงานได้

[41] จากรูปที่ 5-7 ได้ ค่า Number of Distinct Categories เท่ากับ 6 จึงหมายความว่าเครื่องมีวัตต์นี้สามารถแยกความแตกต่างของชิ้นงานได้

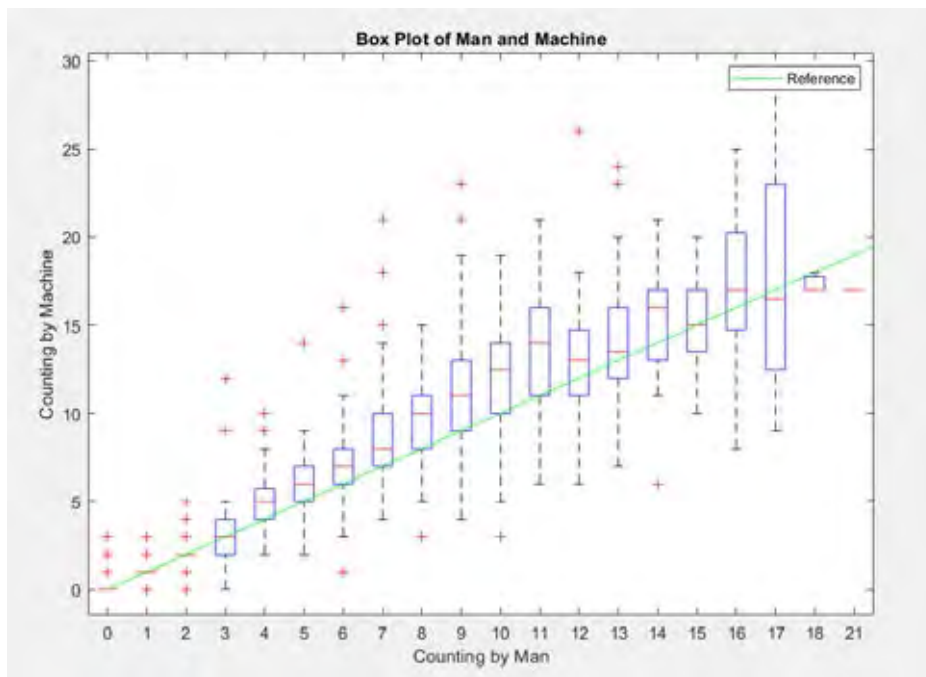
ค่า P ย่อมาจาก P value ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกความแตกต่างของค่ากลางระหว่างกลุ่มโดยถ้ามีค่ามากกว่า 0.05 หมายความว่าไม่มีความแตกต่างของค่ากลางระหว่างกลุ่มแต่ถ้ามีค่าน้อยกว่า 0.05 หมายความว่ามีความแตกต่างของค่ากลางระหว่างกลุ่ม [41] จากรูปที่ 5-7 ค่า P ของ Part No. มีค่าน้อยกว่า 0.05 แสดงว่ามีความแตกต่างของค่ากลางระหว่างกลุ่มซึ่งดีเพราะตัวอ้างอิงแต่ละกลุ่มควรมีความแปรปรวนมากๆ

### 5.2.3 การแสดงความสัมพันธ์ของการนับโดยคนกับการนับโดยเครื่อง

เพื่อดูแนวโน้มการนับถูกการนับผิดของเครื่องที่ย่านต่างๆ ของค่าอ้างอิงจึงพล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการนับโดยคนหรือค่าอ้างอิงและการนับโดยเครื่องด้วยการพล็อตกราฟ Box plot ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงความถี่ของข้อมูลโดยมีค่า Quartile ที่ 1 คือขอบล่างของกล่อง ค่า Quartile ที่ 2 คือตำแหน่งตรงกลางของกล่องหรือที่รู้จักกันในชื่อค่ามัธยฐาน และค่า Quartile ที่ 3 คือขอบบนของกล่อง ถ้าคนกับเครื่องนับพลาดของไวรัสได้เท่ากันของทุกย่านของค่าอ้างอิงจะมีแนวโน้มตามเส้นสีเขียวแสดงดังรูปที่ 5-8



3874745264



รูปที่ 5-8 การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการนับโดยคนหรือค่าอ้างอิงและการนับโดยเครื่อง

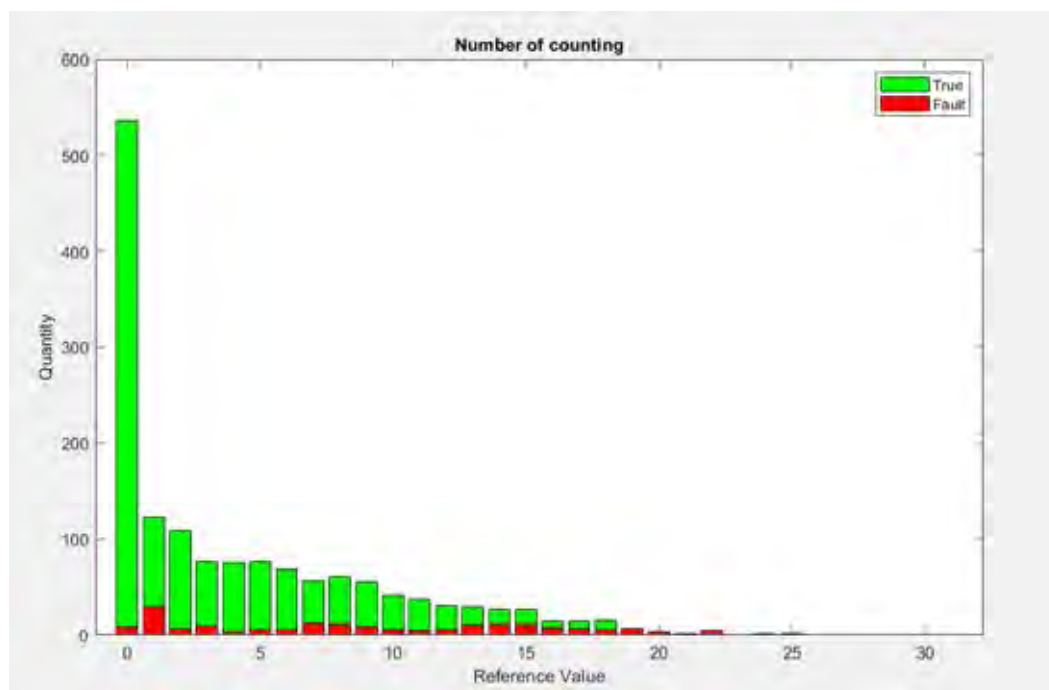
#### 5.2.4 การประเมินผลของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบการนับผลของไวรัส

เพื่อประเมินว่าเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลของไวรัสที่มีความถูกต้องจำเป็นต้องกำหนดเกณฑ์การตัดสินใจ ซึ่งการตัดสินใจนี้กำหนดโดย ผศ.ดร.พญ.ศิวะพร บุญยทรัพย์การ กำหนดดังต่อไปนี้

เกณฑ์การกำหนดมี 6 ช่วงดังนี้

1. ค่าอ้างอิงในช่วง 0 – 1 ผลการนับต้องอยู่ในช่วงบวกลบ 0
2. ค่าอ้างอิงในช่วง 2 – 3 ผลการนับต้องอยู่ในช่วงบวกลบ 1
3. ค่าอ้างอิงในช่วง 4 – 8 ผลการนับต้องอยู่ในช่วงบวกลบ 2
4. ค่าอ้างอิงในช่วง 9 – 10 ผลการนับต้องอยู่ในช่วงบวกลบ 3
5. ค่าอ้างอิงในช่วง 11 – 15 ผลการนับต้องอยู่ในช่วงบวกลบ 4
6. ค่าอ้างอิงตั้งแต่ 16 เป็นต้นไปต้องอยู่ในช่วงบวกลบ 5

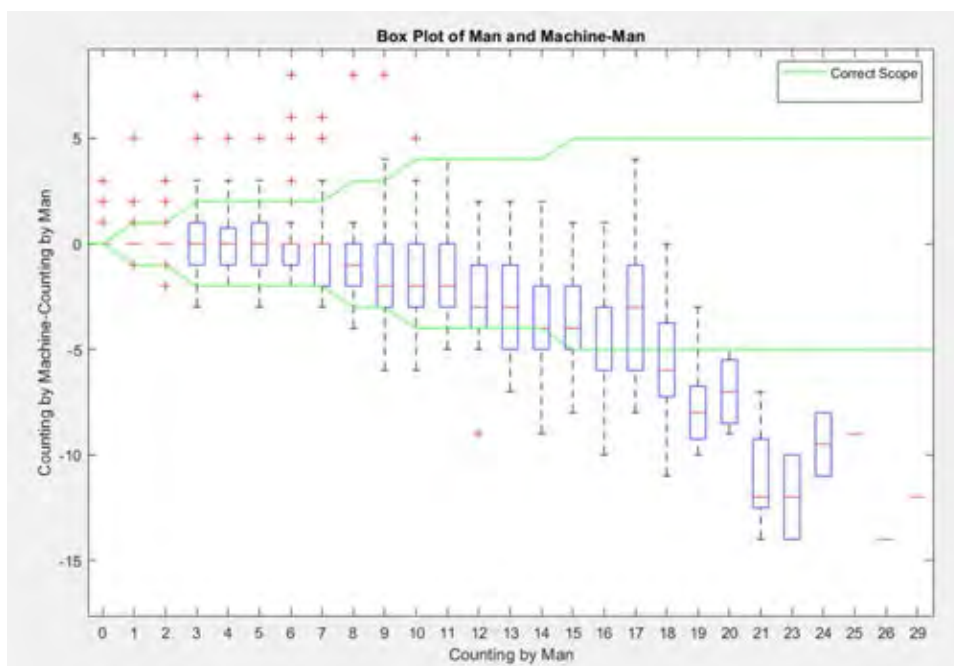
เพื่อให้เห็นอัตราส่วนการนับถูกการนับผิดอย่างชัดเจนจึงแสดงจำนวนการนับถูกจำนวนการนับผิดของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลของไวรัสแต่ละค่าอ้างอิงแสดงดังรูปที่ 5-9



รูปที่ 5-9 การแสดงจำนวนการนับถูกการนับผิดของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลของไวรัสที่ค่าอ้างอิงต่างๆ หรือผลการนับโดยคน โดยสีเขียวคือจำนวนรูปที่เครื่องนับถูกต้องและสีแดงคือจำนวนรูปที่เครื่องนับผิด

เพื่อให้เห็นถึงภาพรวมของผลการนับของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลของไวรัสจึงแสดงรายละเอียดการนับของแต่ละค่าอ้างอิงด้วยการพล็อตกราฟ Box plot ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงความถี่ของข้อมูลโดยมีค่า Quartile ที่ 1 คือขอบล่างของกล่อง ค่า Quartile ที่ 2 คือตำแหน่งตรงกลางของกล่องหรือที่รู้จักกันในชื่อค่ามัธยฐาน และค่า Quartile ที่ 3 คือขอบบนของกล่อง เพื่อให้เห็นขอบเขตความถูกต้องจากเกณฑ์การนับที่กำหนดจึงใช้เส้นที่เขียวบอกขอบเขตแสดงดังรูปที่ 5-10





รูปที่ 5-10 การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าอ้างอิงที่นับโดยคนและผลต่างของการนับโดยคนกับโดยเครื่องและการแสดงเส้นขอบเขตที่กำหนดการนับที่ถูกต้อง

จากรูปที่ 5-10 พบว่าที่ค่าอ้างอิงที่ 0 ถึงค่าอ้างอิงที่ 12 มีค่า Quartile ที่ 1 และค่า Quartile ที่ 2 และ Quartile ที่ 3 อยู่ในขอบเขตความถูกต้อง แต่ค่าอ้างอิงที่ 13 เป็นต้นไป พบค่า Quartile ทั้ง 3 อยู่ในขอบเขตบ้างไม่อยู่บ้างและมีแนวโน้มที่จะนับผิดมากขึ้นเรื่อยๆ ตามค่าอ้างอิงสูงขึ้น จึงสรุปได้ว่าเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับพลาคของไวรัสมีความน่าเชื่อถือในการนับที่ช่วงค่าอ้างอิงตั้งแต่ 0 ถึง 12 สำหรับรายละเอียดการนับถูกและการนับผิดแต่ละช่วงค่าอ้างอิงแสดงดังตารางที่ 5-1

ตารางที่ 5-1 การแสดงรายละเอียดการนับถูกและการนับผิดของแต่ละค่าอ้างอิง

ค่าอ้างอิง	จำนวนภาพที่เครื่องนับถูก	จำนวนภาพที่เครื่องนับผิด	เปอร์เซ็นต์การนับถูกต้อง
0	536	9	98.349
1	123	30	80.392
2	109	7	93.966
3	76	10	88.372
4	75	4	94.937
5	76	6	92.683
6	68	6	91.892
7	57	13	81.429
8	61	12	83.562
9	56	9	86.154
10	42	6	87.5
11	38	5	88.372
12	31	6	83.784
13	30	11	73.171
14	27	12	69.231
15	15	8	65.217
16	15	7	68.182
17	16	6	72.727
18	6	7	46.154
19	1	4	20
20	1	2	33.333
21	0	5	0
22	0	0	-
23	0	2	0

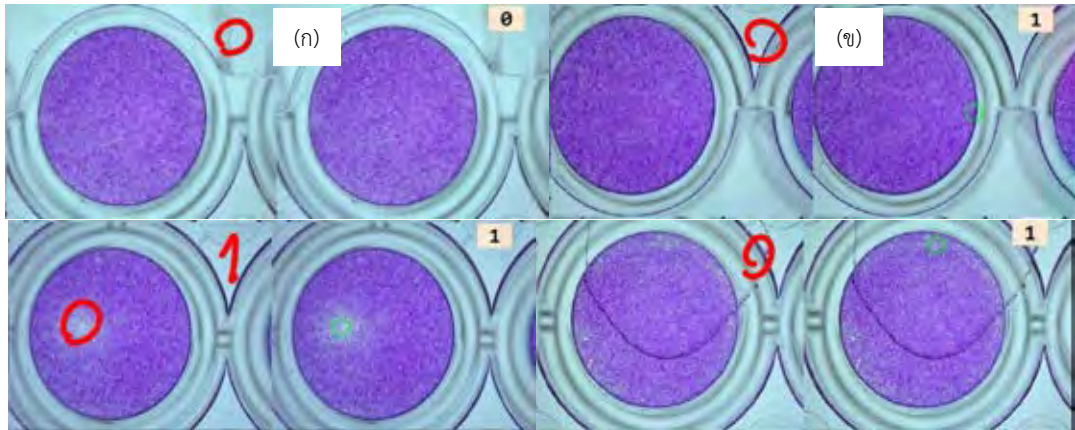
ค่าอ้างอิง	จำนวนภาพที่เครื่องนับถูก	จำนวนภาพที่เครื่องนับผิด	เปอร์เซ็นต์การนับถูกต้อง
24	0	2	0
25	0	1	0
26	0	1	0
27	0	0	-
28	0	0	-
29	0	1	0
รวม	1,459	192	88.19

สรุปจำนวนรูปที่ใช้ทั้งหมดคือ 1,651 รูป เครื่องนับถูกต้องจำนวน 1,459 รูปและนับผิดจำนวน 192 รูป ดังนั้นเครื่องนับถูก 88.19%

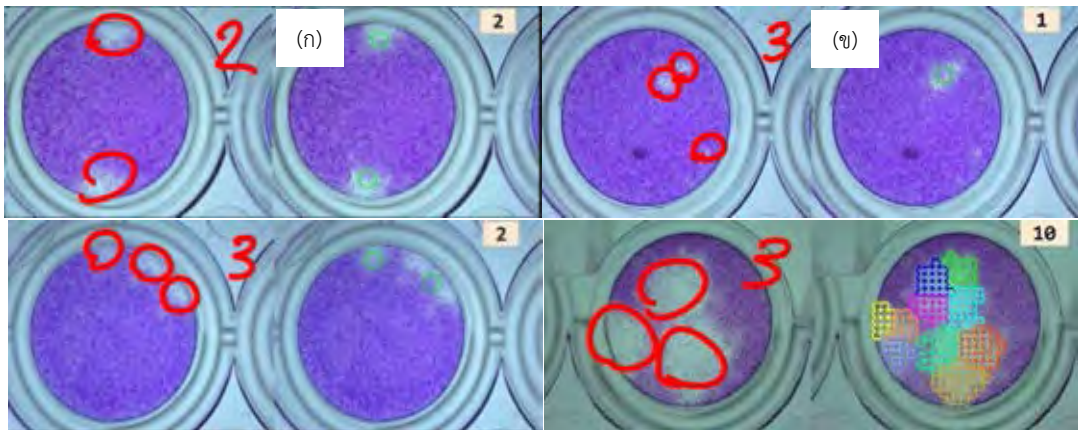
#### การวิเคราะห์ผลการนับแต่ละช่วงของค่าอ้างอิง

จากรูปที่ 5-8 พบว่าค่าอ้างอิงหรือจำนวนพลาคนที่นับโดยคนมีความสัมพันธ์กับความถูกต้องในการนับของเครื่องนับอัตโนมัติ กล่าวคือยิ่งค่าอ้างอิงหรือจำนวนพลาคนที่นับโดยคนมากความถูกต้องในการนับของเครื่องนับจะน้อยลง

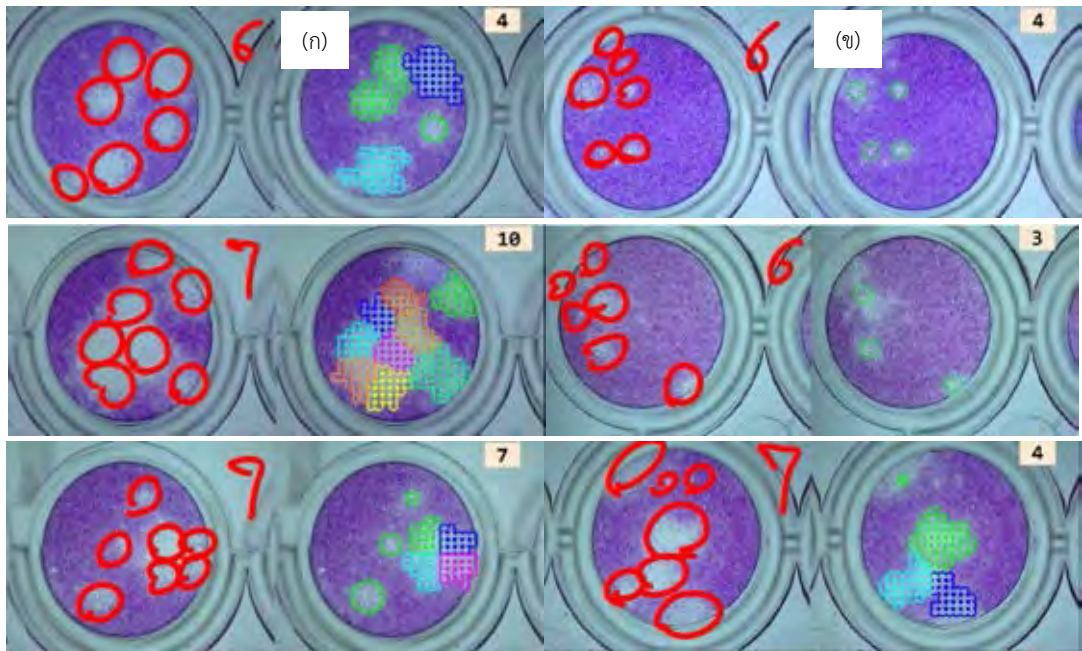
จากรูปที่ 5-11 และรูปที่ 5-12 คือตัวอย่างการนับพลาคนที่ค่าอ้างอิงอยู่ในช่วง 0-1 และ 2-3 พบพลาตส่วนมากจะแยกกันอย่างชัดเจน ไม่ต้องทำนายจำนวนพลาตจากพื้นที่พลาตที่ติดกัน ส่วนรูปที่ 5-12 ถึงรูปที่ 5-16 พบพลาตที่ติดกันมีจำนวนมากขึ้นตามลำดับ



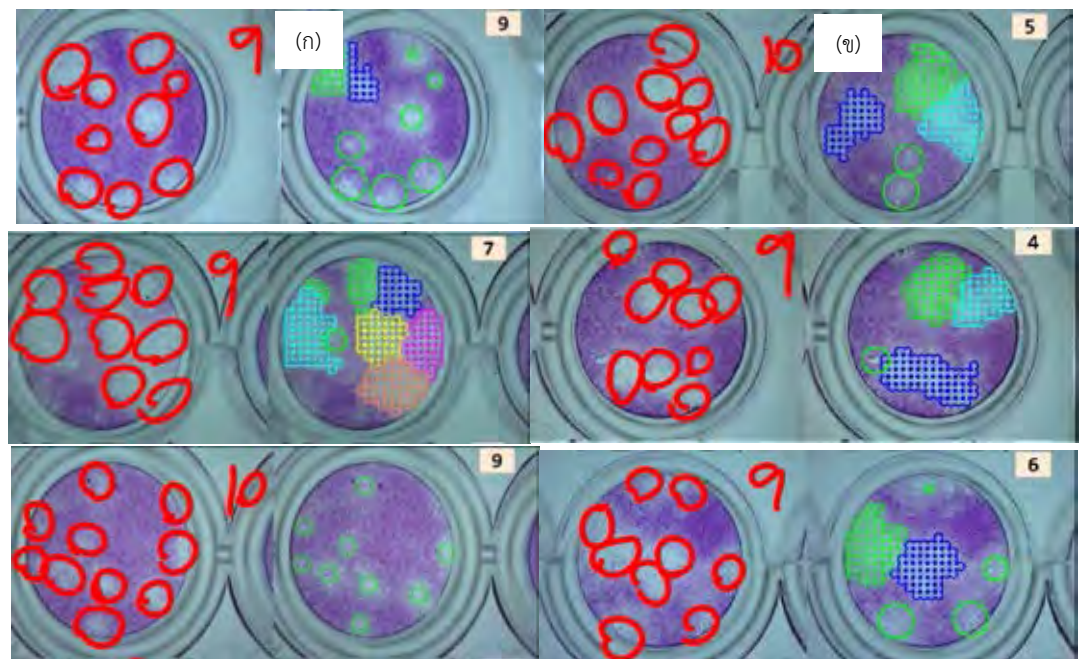
รูปที่ 5-11 ตัวอย่างการนับพลาทที่ค่าอ้างอิงอยู่ในช่วง 0-1 (ก) ผลการนับถูกต้อง (ข) ผลการนับผิด



รูปที่ 5-12 ตัวอย่างการนับพลาทที่ค่าอ้างอิงอยู่ในช่วง 2-3 (ก) ผลการนับถูกต้อง (ข) ผลการนับผิด

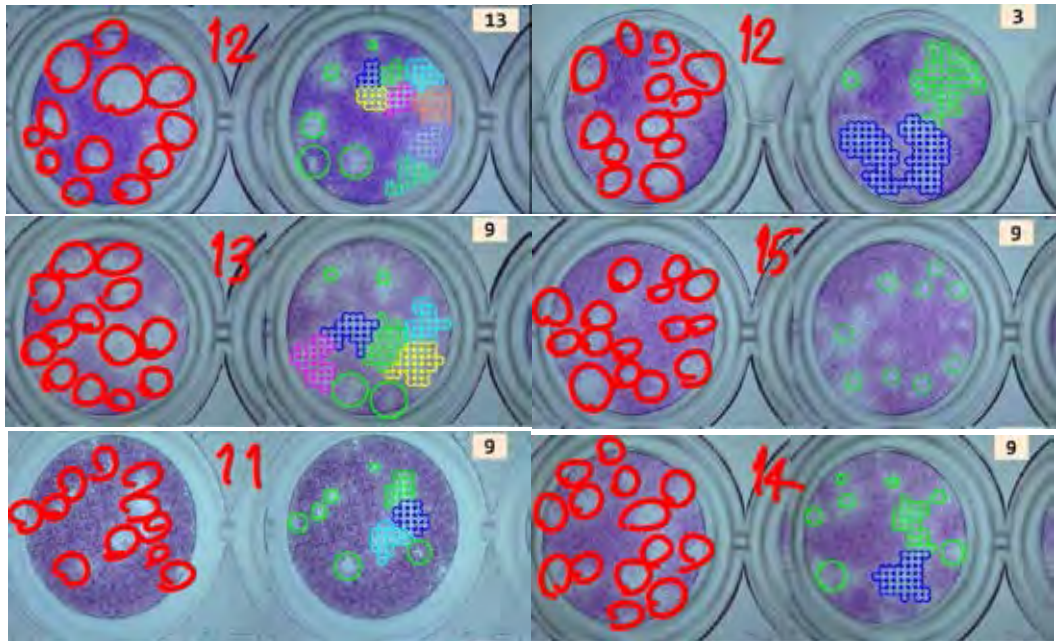


รูปที่ 5-13 ตัวอย่างการนับพลาซมาที่ค่าอ้างอิงอยู่ในช่วง 4-8 (ก) ผลการนับถูกต้อง (ข) ผลการนับผิด

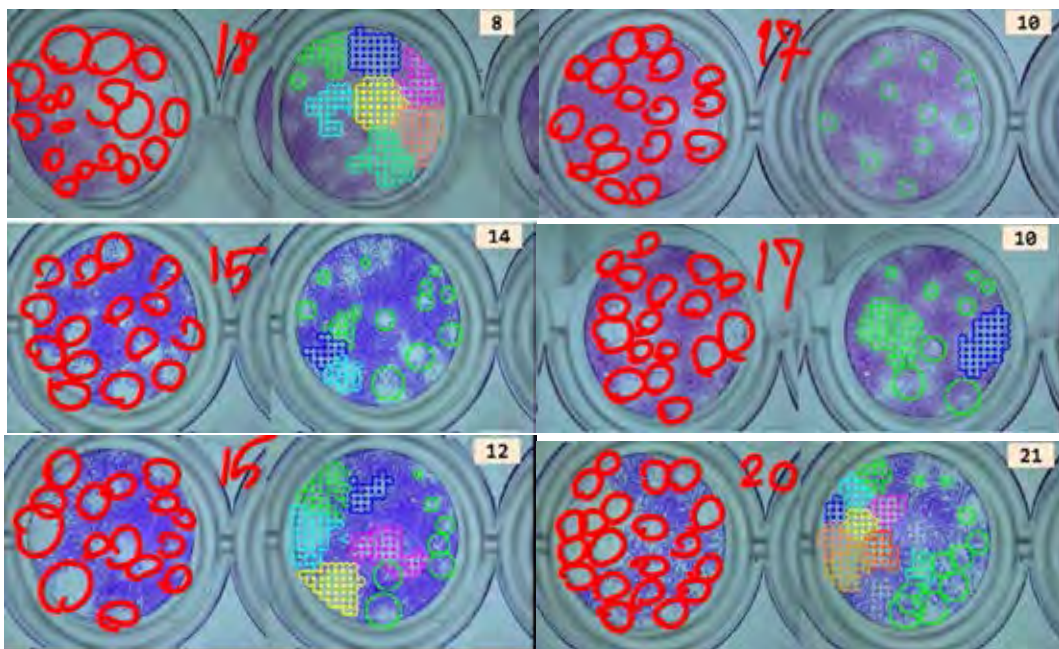


รูปที่ 5-14 ตัวอย่างการนับพลาซมาที่ค่าอ้างอิงอยู่ในช่วง 9-10 (ก) ผลการนับถูกต้อง (ข) ผลการนับผิด





รูปที่ 5-15 ตัวอย่างการนับพลาทที่ค่าอ้างอิงอยู่ในช่วง 11-15 (ก) ผลการนับถูกต้อง (ข) ผลการนับผิด



รูปที่ 5-16 ตัวอย่างการนับพลาทที่ค่าอ้างอิงมากกว่า 15 ขึ้นไป (ก) ผลการนับถูกต้อง และ (ข) ผลการนับผิด

### สรุปการวิเคราะห์ผลการนับพลาของไวรัส

จากรูปที่ 5-8 พบว่ายิ่งค่าอ้างอิงหรือจำนวนพลาที่นับโดยคนมีมาก ผลการนับพลาที่ได้จะยิ่งมีความผิดพลาดมากตาม เนื่องจากการที่ค่าอ้างอิงหรือจำนวนพลาที่นับโดยคนมีส่วนใหญ่คือการที่พลาหลายพลาเกยกันซึ่งต้องใช้วิธีการทำนายจำนวนพลาด้วยวิธี K-means และ Silhouette ซึ่งมีโอกาสทำนายผิด โดยยิ่งพื้นที่พลาที่ต้องทำนายมีขนาดใหญ่มากเท่าไร ยิ่งมีโอกาสทำนายผิดพลาดมากเท่านั้น

ที่ค่าอ้างอิงมีค่ามากๆ บางครั้งพบพลาขนาดเล็กๆ ซึ่งบางครั้งทำให้เครื่องตรวจไม่พบส่งผลให้ความถูกต้องในการนับน้อยลง

#### 5.2.5 การตรวจสอบว่ามีพลาหรือไม่ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับพลาของไวรัส

การตั้งค่าที่มีผลต่อค่าอ้างอิงที่มากกว่า 0 นี้คือการกำหนดพื้นที่พลาเล็กที่สุดที่เป็น 1 พลา โดยในงานวิจัยนี้กำหนดให้พื้นที่ดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 0.35% ของพื้นที่หลุม จากนั้นนำผลการนับที่ได้ไปคำนวณหา Sensitivity, Specificity และ Accuracy

Sensitivity ในที่นี้คือสมรรถภาพของการทดสอบในการตรวจหาหลุมที่มีพลาของไวรัส กล่าวคือถ้ายิ่ง Sensitivity มีค่ามากหลุมที่มีพลาจริงๆ จะผ่านเกณฑ์มาก แต่หลุมทั้งหมดที่ผ่านเกณฑ์อาจพบว่าบางหลุมจริงๆ แล้วไม่มีพลา

Specificity ในที่นี้คือสมรรถภาพของการทดสอบในการตรวจหารูปที่ไม่มีพลาของไวรัส กล่าวคือถ้ายิ่ง Specificity มีค่ามากหลุมที่ไม่มีพลาจริงๆ จะไม่ผ่านเกณฑ์ แต่หลุมทั้งหมดที่ไม่ผ่านเกณฑ์อาจพบว่าบางหลุมจริงๆ แล้วมีพลา

Accuracy คือความเที่ยงตรง ในที่นี้หมายถึงความเที่ยงตรงของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับพลาของไวรัสในการบอกว่ารูปมีพลาของไวรัสหรือไม่ โดยแสดงรายละเอียดดังนี้



3874745264

CT :Thesis 5970245121 thesis / revv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ตารางที่ 5-2 การแสดงผลของจำนวนการนับโดยคนและเครื่องซึ่งพิจารณาว่ามีจำนวนพลาสมาสูงกว่า 0 มีจำนวนเท่าไร

เครื่อง \ คน	จำนวนรูปที่คนนับได้มากกว่า 0	จำนวนรูปที่คนนับได้เท่ากับ 0
	จำนวนที่เครื่องนับได้มากกว่า 0	1,100
จำนวนที่เครื่องนับได้เท่ากับ 0	9	536

โดยที่ True positive (TP) คือ จำนวนที่เครื่องและคนนับได้มากกว่า 0  
 False positive (FP) คือ จำนวนที่เครื่องนับได้มากกว่า 0 และคนนับได้เท่ากับ 0  
 True negative (TN) คือ จำนวนที่เครื่องและคนนับได้เท่ากับ 0  
 False negative (FN) คือ จำนวนที่เครื่องนับได้เท่ากับ 0 และคนนับได้มากกว่า 0  
 Positive predictive value (PPV) คือ การทำนายว่ามีพลาสมา  
 Negative predictive value (NPV) คือ การทำนายว่าไม่มีพลาสมา

$$Sensitivity = \frac{TP}{TP + FN} = \frac{1100}{1100 + 9} = 0.9919 \quad (99.19\%)$$

$$Specificity = \frac{TN}{TN + FP} = \frac{536}{536 + 6} = 0.9889 \quad (98.89\%)$$

$$Accuracy = \frac{TP + TN}{TP + FP + FN + TN} = \frac{1100 + 536}{1100 + 6 + 9 + 536} = 0.991 \quad (99.1\%)$$

$$PPV = \frac{TP}{TP + FP} = \frac{1100}{1100 + 6} = 0.995 \quad (99.5\%)$$

$$NPV = \frac{TN}{FN + TN} = \frac{536}{9 + 536} = 0.983 \quad (98.3\%)$$

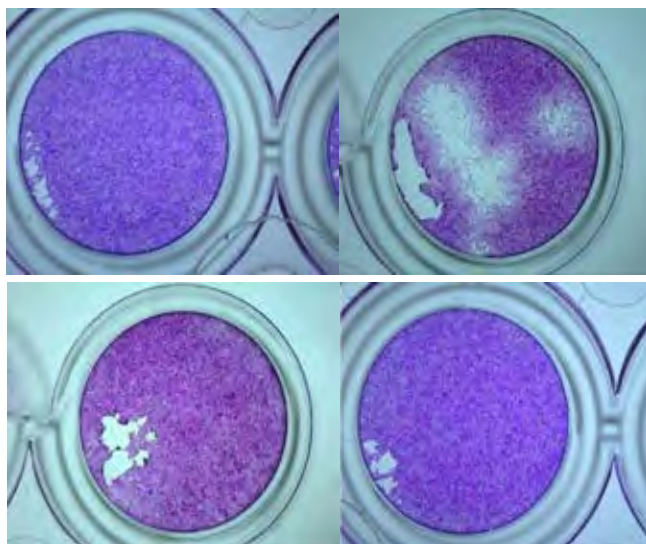
จากการคำนวณได้ค่า False positive และ True negative มีค่าน้อยแสดงว่าการคัดกรองของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับพลาสมาของไวรัสที่แสดงผลว่าหลุมที่พิจารณาไม่มีพลาสมา จะเชื่อถือได้ 99.5% โดยสามารถตรวจพบหลุมที่มีพลาสมาได้ถึง 99.19% ถ้าแสดงผลว่าหลุมที่พิจารณา



ไม่มีพลาคะจะเชื่อถือได้ 98.3% โดยสามารถตรวจพบหลุมที่ไม่มีพลาคะได้ถึง 96.89% และมีความเที่ยงตรงในการคัดกรอง 99.1%

### 5.2.6 ผลที่ไม่นำมาพิจารณา

ในบางครั้งพบว่าบางหลุมที่เซลล์หายไป ซึ่งไม่ได้เป็นผลมาจากการกินของไวรัส แต่เกิดจากการลอกของเซลล์ในขั้นตอนการทำ Plaque assay แสดงดังรูปที่ 5-17 ในกรณีแบบนี้ไม่นำมาพิจารณาความถูกต้องในการนับ เนื่องจากเครื่องนับในงานวิจัยนี้ไม่สามารถแยกได้ว่าที่เซลล์หายไปเกิดจากการลอกหรือเกิดจากการกินของไวรัส



รูปที่ 5-17 ตัวอย่างเซลล์ที่ลอก

## บทที่ 6

### สรุปผลการวิจัย

การพัฒนาอุปกรณ์ถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับพลาทของไวรัสประกอบด้วยสองส่วนหลัก คือ (1) การสร้างเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ และ (2) กำหนดระเบียบวิธีการนับพลาทของไวรัส หลักการทำงานของส่วนแรกคือการใช้กล้องไมโครสโคปถ่ายภาพทุกหลุมของ 96-well plate โดยการใช้กล้องไมโครสโคปอยู่กับที่และวางตั้งฉากกับ 96-well plate แล้วให้โต๊ะที่จับ 96-well plate ขยับไปตามตำแหน่งต่างๆ เพื่อถ่ายภาพโดยใช้สเต็ปเปอร์มอเตอร์และลีดสกรู ผลที่ได้คือภาพถ่าย 96 ภาพ โดยหนึ่งภาพเห็นหนึ่งหลุม ส่วนที่สองคือกำหนดยุทธศาสตร์วิธีการนับพลาทของไวรัสเป็นการรวบรวมกระบวนการต่างๆ และนำมาวางเป็นลำดับขั้นตอนแล้วประมวลผลโดยคอมพิวเตอร์ โปรแกรมที่ใช้คือ Halcon ซึ่งขั้นตอนมีดังนี้ (1) การหาพื้นที่เฉพาะในหลุม (2) การแยกส่วนของภาพ (Segmentation image) โดยใช้ K-means clustering (3) การกำจัดสัญญาณรบกวนโดยใช้กระบวนการ Morphology (4) กำหนดภาพที่นับไม่ได้ซึ่งตัดสินโดยผลต่างของค่าเฉลี่ยในการแบ่งกลุ่มในขั้นตอนที่ 2 และการกำหนดขนาด (5) การกำหนดว่าพื้นที่ไหนเป็นหนึ่งพลาทและพื้นที่ไหนมีมากกว่าหนึ่งพลาท (6) ตีกริดพื้นที่ที่กำหนดแล้วว่ามากกว่าหนึ่งพลาท (7) การหาจำนวนพลาทที่ติดกันโดยการใช้ K-means clustering ควบคู่กับการใช้ Silhouette และสุดท้ายคือแสดงผล

ผลการทดสอบเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติสรุปได้ค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) เท่ากับ 0.042 มิลลิเมตร ค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) เท่ากับ 0.034 มิลลิเมตร

ผลการนับของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนำพลาทพลาทของไวรัสได้ความถูกต้องในการนับเท่ากับ 88.21%

#### 6.1 ปัญหาที่พบ

จากการออกแบบเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติที่เน้นชิ้นส่วนน้อยและราคาถูก ทำให้เครื่องถ่ายภาพอัตโนมัตินี้มีโครงสร้างที่ไม่แข็งแรงมากพอจะใช้งานที่ความเร็วสูง และมอเตอร์ที่ใช้คือสเต็ปเปอร์มอเตอร์ซึ่งให้แรงบิดเป็นขั้นหรือแรงบิดที่ไม่ต่อเนื่อง ทำให้ขณะทำงานเกิดการสั่นสะเทือน เมื่อทำงานไปนานๆ ส่งผลให้น็อตที่ใช้คลายตัว ต้องหมั่นตรวจสอบน็อตและตึงน็อตเมื่อคลาย

## 6.2 แนวทางในการพัฒนาต่อ

จากปัญหาที่พบสามารถแก้ไขด้วยการเพิ่มขนาดชิ้นส่วนของเครื่องถ่ายภาพรูอัตโนมัติให้มีขนาดใหญ่ขึ้นเพื่อเพิ่มความแข็งแรง กล่าวคืออะลูมิเนียมโปรไฟล์ที่ใช้ จากเดิมขนาด 20x20 มิลลิเมตร อาจปรับเพิ่มเป็น 30x30 มิลลิเมตร เพื่อรองรับการทำงานที่เร็วขึ้น เพื่อเพิ่มโอกาสในการปรับจูนหาช่วงความเร็วที่สปีดเปอร์มอเตอร์มีการสั่นสะเทือนน้อยที่สุด

## บรรณานุกรม

- [1] E. V. Koonin, T. G. Senkevich, and V. V. Dolja, "The ancient Virus World and evolution of cells," *Biology direct*, vol. 1, no. 1, pp. 29, 2006.
- [2] N. Finter, "Dye uptake methods for assessing viral cytopathogenicity and their application to interferon assays," *Journal of General Virology*, vol. 5, no. 3, pp. 419-427, 1969.
- [3] S Boonyasuppayakorn, A Suroengrit *et al.*, "Simplified dengue virus microwell plaque assay using an automated quantification program," *Journal of virological methods*, vol. 237, pp. 25-31, 2016.
- [4] S. Savkare and S. Narote, "Blood cell segmentation from microscopic blood images," in *2015 International Conference on Information Processing (ICIP)*, pp. 502-505, 2015.
- [5] M. Yan, J. Cai, J. Gao, and L. Luo, "K-means cluster algorithm based on color image enhancement for cell segmentation," in *2012 5th International Conference on BioMedical Engineering and Informatics*, pp. 295-299, 2012.
- [6] S. D. Brugger, C. Baumberger, M. Jost, W. Jenni, U. Brugger, and K. Mühlemann, "Automated counting of bacterial colony forming units on agar plates," *PloS one*, vol. 7, no. 3, pp. 1747-1772, 2012.
- [7] G. Zhu, B. Yan, M. Xing, and C. Tian, "Automated counting of bacterial colonies on agar plates based on images captured at near-infrared light," *Journal of microbiological methods*, vol. 153, pp. 66-73, 2018.
- [8] T. Chankong, N. Theera-Umpon, and S. Auephanwiriyaikul. "Automatic cervical cell segmentation and classification in Pap smears" in *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 113, pp. 539-556, 2014.
- [9] G. Phanomchoeng and R. Chanchareon, "Adaptive Gain Control for a Two-Axis, H-Frame-Type, Positioning System," *Engineering Journal*, vol. 21, no. 3, pp. 223-234, 2017.

- [10] K. S. Sollmann, M. K. Jouaneh, and D. Lavender, "Dynamic modeling of a two-axis, parallel, H-frame-type XY positioning system," *IEEE/ASME transactions on mechatronics*, vol. 15, no. 2, pp. 280-290, 2009.
- [11] M indiamart. (2019, 15 july). X Y Slide Table. Available: <https://www.indiamart.com/proddetail/x-y-slide-table-13176524955.html>
- [12] Makeblock. (2019, 15 july). timing belt. Available: <https://www.makeblock.com/project/xy-plotter-robot-kit>
- [13] L Assoufid, N Brown *et al.*, "Development of a high-performance gantry system for a new generation of optical slope measuring profilers," *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, vol. 710, pp. 31-36, 2013.
- [14] K. Ito, M. Yamamoto, M. Iwasaki, and N. Matsui, "Fast and precise positioning of ball screw-driven table system using minimum jerk control-based command shaping," in *9th IEEE International Workshop on Advanced Motion Control*, pp. 115-119, 2006.
- [15] MiSuMi Thailand. (2019, 15 july). Timing belt. Available: <https://th.misumi-ec.com/vona2/detail/221000529090/?HissuCode=MPM-02&fbclid=IwAR1S5KatigJxx8L893rVARnPFWatw7XCmyY3kykMdG0MLSBABHgetr7AKiY>
- [16] J.-S. Chen and I.-D. Lin, "Toward the implementation of an ultrasonic motor servo drive using FPGA," *Mechatronics*, vol. 12, no. 4, pp. 511-524, 2002.
- [17] K. Devender Reddy , P. Sridhar and P. Shiva Kumar, "Interfacing myRIO to Control Various Sensors in Electrical Applications," *Journal of Engineering and Applied Sciences* 13, 2018.
- [18] N. Cameron, N. Cameron, and Pao, *Arduino Applied*. Springer, 2019.
- [19] P. A. S. da Rocha, R. Diogne de Silva e Souza and M. E. de Lima Tostes, "Prototype CNC machine design," in *2010 9th IEEE/IAS International Conference on Industry Applications-INDUSCON 2010*, pp. 1-5, 2010.


- [20] R. Kiebert, "The step motor--The next advance in control systems," *IEEE Transactions on Automatic Control*, vol. 9, no. 1, pp. 98-104, 1964.
- [21] B. Jayachandriah, O. V. Krishna, P. A. Khan, and R. A. Reddy, "Fabrication of Low Cost 3-Axis Cnc Router," *International Journal of Engineering Science Invention*, vol. 3, no. 6, pp. 1-10, 2014.
- [22] S. Pandian and S. R. Pandian, "A low-cost build-your-own three axis CNC mill prototype," *Int. J. Mechanical Engineering and Robotics*, vol. 2, no. 1, pp. 6-11, 2014.
- [23] R. Firoozian, *Servo motors and industrial control theory*. Springer, 2014.
- [24] K. Itoh, M. Iwasaki, and N. Matsui, "Robust fast and precise positioning of ball screw-driven table system on machine stand," in *The 8th IEEE International Workshop on Advanced Motion Control, 2004. AMC'04.*, pp. 511-515, 2004.
- [25] O. Heriana, T. Praludi, and C. B. A. Wael, "Binary Template Matching for Morphological Dilation Enhancement in Navigation Radar Imaging," *Jurnal Elektronika dan Telekomunikasi*, vol. 18, no. 2, pp. 60-66, 2018.
- [26] A. A. Jecko, R. Das, M. A. Ashraf, M. M. Rashed, and S. Khan, "Design and Implementation of a Microcontroller Based Driver Impairment Monitoring System," in *2018 International Conference on Smart Systems and Inventive Technology (ICSSIT)*, pp. 489-493, 2018.
- [27] A. McAndrew, "An introduction to digital image processing with matlab notes for scm2511 image processing," *School of Computer Science and Mathematics, Victoria University of Technology*, vol. 264, no. 1, 2004.
- [28] TEKNIC. (2019, 18 july). CPM-SDSK-2310D-RLN. Available: <https://www.teknic.com/model-info/CPM-SDSK-2310D-RLN/>
- [29] SCNC. (2019, 18 july). 42hs03 bipolar parallel. Available: <http://www.smartcncs.com/product-th-369964-6447991->

- [30] S. Mehta and J. Vajpai, "Adaptive Local Thresholding for Edge Detection," *International Journal of Computer Applications*, vol. 975, p. 8887.
- [31] P. Arora and S. Varshney, "Analysis of k-means and k-medoids algorithm for big data," *Procedia Computer Science*, vol. 78, pp. 507-512, 2016.
- [32] SDSU. (2019, 1 july). Extended-Minima. Available: <https://edoras.sdsu.edu/doc/matlab/toolbox/images/morph14.html>
- [33] L. Vincent and P. Soille, "Watersheds in digital spaces: an efficient algorithm based on immersion simulations," *IEEE Transactions on Pattern Analysis & Machine Intelligence*, no. 6, pp. 583-598, 1991.
- [34] S. Ruparelia, "Implementation of watershed based image segmentation algorithm in FPGA," 2012.
- [35] HIPR2. (2019, 5 july). Distance Transform. Available: <https://homepages.inf.ed.ac.uk/rbf/HIPR2/distance.htm>
- [36] KEYENCE. (2019, 5 jan). เครื่องวัดขนาดชิ้นงานด้วยภาพ Available: [https://kt.keyence.co.th/metro/im-7000/lp/product/0619?aw=googleTHinfo0070838&gclid=CjwKCAjw67XpBRBqEiwA5RCocWUUh\\_2ryGHkO2mE1OYWruG8hRap6dOUaa1lCBbp26r1hOe6B5hxgqRoC2EMOAvD\\_BwE](https://kt.keyence.co.th/metro/im-7000/lp/product/0619?aw=googleTHinfo0070838&gclid=CjwKCAjw67XpBRBqEiwA5RCocWUUh_2ryGHkO2mE1OYWruG8hRap6dOUaa1lCBbp26r1hOe6B5hxgqRoC2EMOAvD_BwE)
- [37] MReport. (2019, 15 july). เครื่องมือวัด Nikon ขนาดชิ้นงาน 3 แกน แบบอัตโนมัติ รุ่น NEXIV VMZ-R Series. Available: <https://www.mreport.co.th/products/metrology/1801430037>
- [38] KEYENCE. (2019, 6 jan). Digital microscope. Available: [https://kt.keyence.co.th/micro/vhx-7000/lp/product/0619?aw=googleTHinfo0050248&gclid=CjwKCAjw67XpBRBqEiwA5RCocfPLPnhN8oywkF0F8FzbrGpfUmglPxW8e8EA7\\_\\_0LepFjeG3ArvHLhoC2wIQAvD\\_BwE](https://kt.keyence.co.th/micro/vhx-7000/lp/product/0619?aw=googleTHinfo0050248&gclid=CjwKCAjw67XpBRBqEiwA5RCocfPLPnhN8oywkF0F8FzbrGpfUmglPxW8e8EA7__0LepFjeG3ArvHLhoC2wIQAvD_BwE)
- [39] K. Claytor, "Development and implementation of an efficient automated cell colony and plaque counter," *University of Illinois Internal Physics Publication*, 2008.

- [40] Wildlifetrackingsouthwes. (2019, 15 july). 96 Well Plate. Available: <http://wildlifetrackingsouthwest.com/96-well-plate-template/96-well-plate-template-96-well-plate-template-grand-imagine-ideastocker-template/>
- [41] R. K. Burdick, C. M. Borror, and D. C. Montgomery, *Design and analysis of gauge R&R studies: making decisions with confidence intervals in random and mixed ANOVA models*. SIAM, 2005.



ภาคผนวก

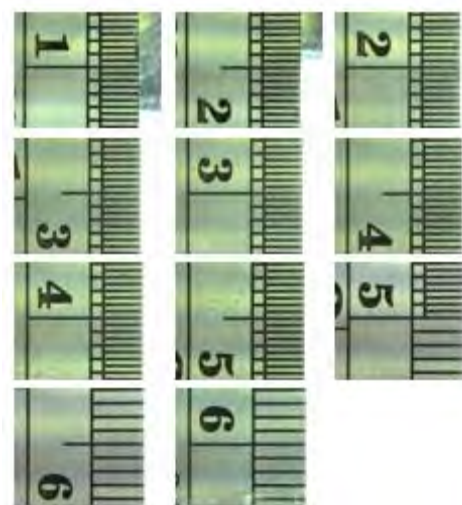
 CT IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26  
3874745264

### ภาคผนวก ก.

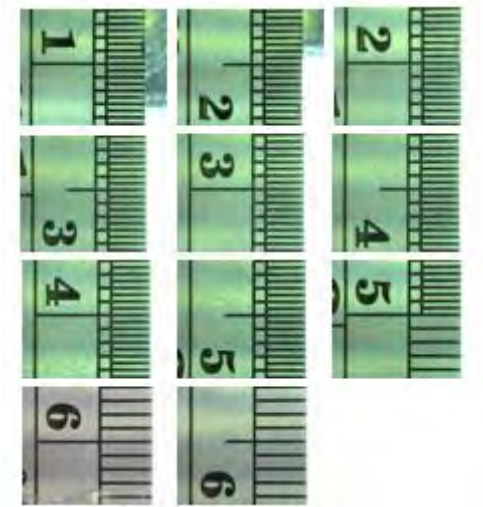
เพื่อหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ โดยการสั่งให้เคลื่อนที่ที่ระยะ 5 10 15 20 25 30 35 40 45 และ 50 มิลลิเมตร ซ้ำเป็นจำนวน 10 ครั้ง รูปที่ได้แสดงดังรูปที่ ก.1-ก.10 และผลการวัดแสดงดังตารางที่ ก-1

เพื่อหาค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ โดยใช้คน 3 คน ซึ่งประกอบไปด้วย A B และ C แต่ละคนสั่งให้เคลื่อนที่ที่ระยะ 5 10 15 20 25 30 35 40 45 และ 50 มิลลิเมตร ซ้ำเป็นจำนวน 3 ครั้ง แสดงดังตารางที่ ก-2

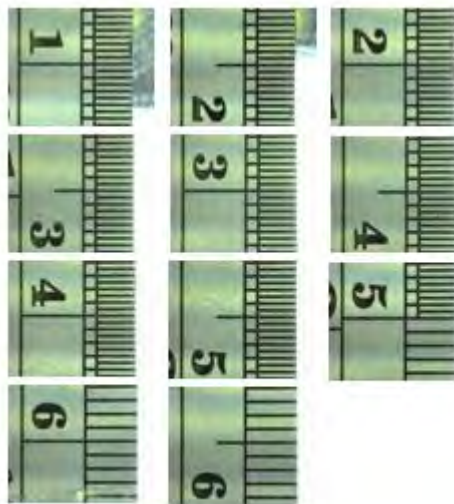
เพื่อหาค่าความผันแปรของระบบการวัดต่างๆ ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับพลาควงไวรัส โดยกำหนดค่าอ้างอิง 4 ช่วงคือ 0 ช่วง 1-5 ช่วง 6-10 และช่วงมากกว่า 10 แต่ละช่วงกำหนดจำนวน 60 ภาพ และแต่ละภาพใช้เครื่องวัดซ้ำ 3 ครั้ง แสดงดังตารางที่ ก-3



รูปที่ ก-1 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติครั้งที่ 1



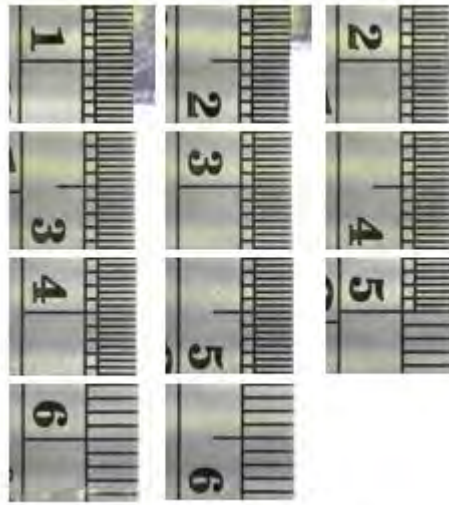
รูปที่ ก-2 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติครั้งที่ 2



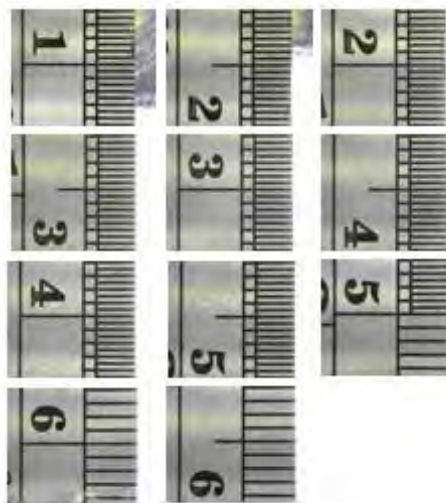
รูปที่ ก-3 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติครั้งที่ 3



3874745264



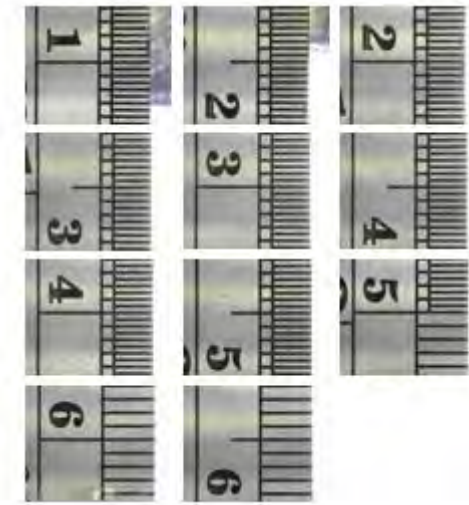
รูปที่ ก-4 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติครั้งที่ 4



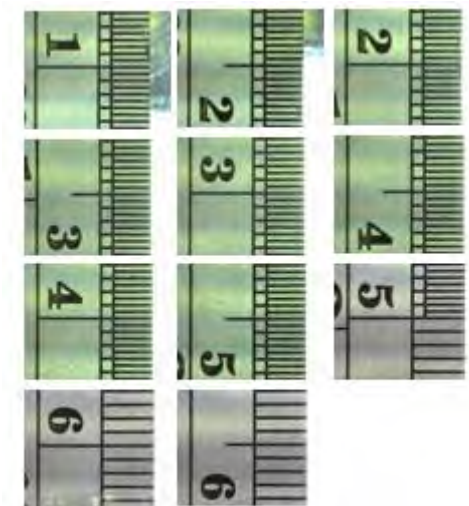
รูปที่ ก-5 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติครั้งที่ 5



3874745264



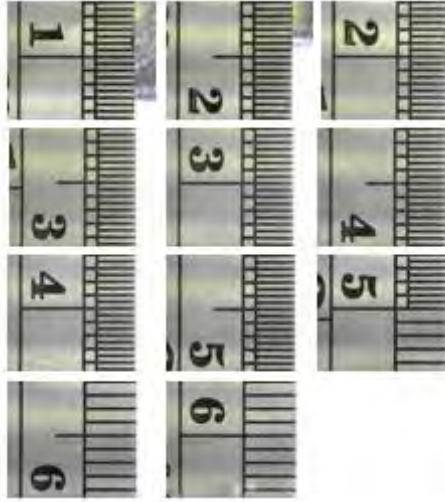
รูปที่ ก-6 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติครั้งที่ 6



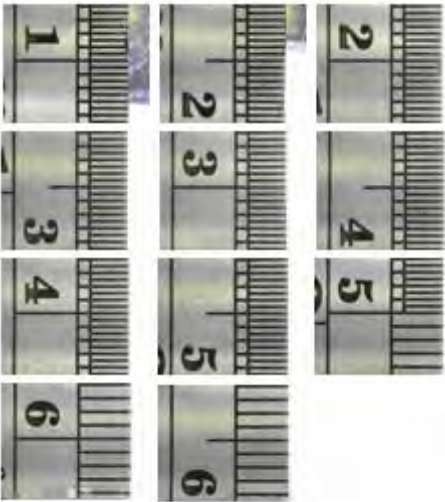
รูปที่ ก-7 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติครั้งที่ 7



3874745264



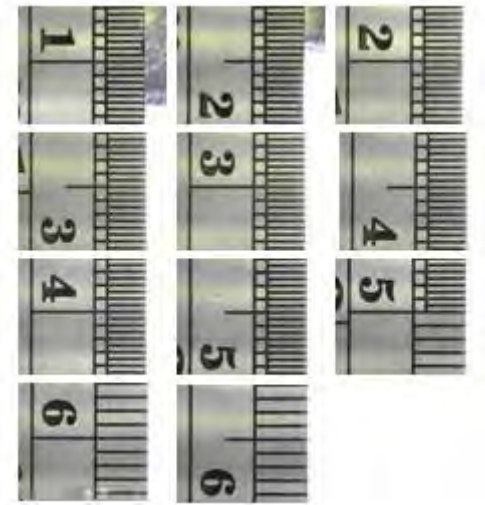
รูปที่ ก-8 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติครั้งที่ 8



รูปที่ ก-9 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติครั้งที่ 9



3874745264



รูปที่ ก-10 การหาค่าความเที่ยงตรง (Accuracy) ของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติครั้งที่ 10





ตารางที่ ก-2 การแสดงข้อมูลที่ใช้หาค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) ของเครื่องถ่ายภาพนิ่งเป็นมิลลิเมตร

ค่าอ้างอิง	A			B			C		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
5	5.0258	5.0258	5.0688	4.9656	5.0516	4.9527	5.0129	4.9828	4.9914
10	10.0301	10.0129	10.0688	9.9613	10.043	9.9441	10.0301	9.9828	10.0129
15	15.0000	14.9656	15.0344	14.9355	15.0086	14.9097	15.0000	14.9226	14.9742
20	20.0258	19.9957	20.0473	19.9484	20.0129	19.9312	19.9957	19.9785	19.9914
25	25.0559	24.9914	25.0645	24.9656	25.0215	24.9441	25.0387	24.9957	25.0215
30	30.0000	29.9527	30.0215	29.9369	29.9914	29.8839	29.9871	29.9355	29.9871
35	35.0387	34.9914	35.0516	34.9613	35.0344	34.9183	35.0301	35.0043	35.0129
40	39.9914	39.9312	39.9956	39.9226	39.9871	39.8538	39.9656	39.9441	39.9957
45	45.0043	44.9484	45.0000	44.9312	45.0086	44.9269	44.9742	44.9656	45.0000
50	50.0000	49.9699	50.0430	49.9656	50.0301	49.9054	50.0000	49.9699	50.0258

ตารางที่ ก-3 การแสดงข้อมูลที่ใช้เพื่อหาค่าความผันแปรของระบบการวัดต่างๆ ของเครื่องถ่ายภาพ  
อัตโนมัติและระเบียบวิธีการนับผลาคของไวรัส

No.	ช่วงค่าอ้างอิงเท่ากับ 0			ช่วงค่าอ้างอิง 1-5			ช่วงค่าอ้างอิง 6-10			ช่วงค่าอ้างอิง > 10						
	ค่า อ้างอิง	เครื่องวัด ครั้งที่ 1	เครื่องวัด ครั้งที่ 2	เครื่องวัด ครั้งที่ 3	ค่า อ้างอิง	เครื่องวัด ครั้งที่ 1	เครื่องวัด ครั้งที่ 2	เครื่องวัด ครั้งที่ 3	ค่า อ้างอิง	เครื่องวัด ครั้งที่ 1	เครื่องวัด ครั้งที่ 2	เครื่องวัด ครั้งที่ 3	ค่า อ้างอิง	เครื่องวัด ครั้งที่ 1	เครื่องวัด ครั้งที่ 2	เครื่องวัด ครั้งที่ 3
1	0	0	0	0	1	1	1	1	8	6	6	5	12	13	13	13
2	0	0	0	0	2	3	3	3	6	4	4	4	13	9	9	9
3	0	0	0	0	1	1	1	1	8	8	8	5	15	9	11	11
4	0	0	0	0	1	2	2	2	8	6	6	6	17	10	2	2
5	0	0	0	0	3	2	2	2	8	6	7	6	11	8	9	10
6	0	0	0	0	5	4	4	4	8	6	5	5	13	9	10	8
7	0	0	0	0	1	1	1	1	6	4	4	4	14	9	12	11
8	0	0	0	0	2	1	1	1	9	7	7	6	14	12	12	9
9	0	0	0	0	1	1	1	1	10	9	9	9	14	16	8	8
10	0	0	0	0	1	1	1	1	6	3	3	3	18	8	8	8
11	0	0	0	0	1	1	1	1	9	7	7	7	9	12	10	10
12	0	0	0	0	4	3	4	3	10	5	4	5	13	8	9	9
13	0	0	0	0	2	2	3	2	7	6	6	6	11	9	8	8
14	0	0	0	0	1	1	1	1	6	6	6	9	14	9	9	9
15	0	0	0	0	3	5	5	5	6	3	6	4	14	9	9	8
16	0	0	0	0	5	4	4	4	7	4	4	7	13	6	6	5
17	0	0	0	0	1	1	1	1	10	8	9	8	17	10	9	9
18	0	0	0	0	5	4	4	4	9	4	6	3	11	9	9	9
19	0	0	0	0	1	1	1	1	7	5	5	5	13	7	6	6
20	0	0	0	0	4	4	4	4	7	5	5	5	24	17	17	17
21	0	0	0	0	2	2	2	2	5	4	4	4	11	7	7	8
22	0	0	0	0	4	1	3	2	9	8	8	8	17	9	10	11
23	0	0	0	0	1	1	1	1	6	4	4	3	19	11	9	10
24	0	0	0	0	1	1	1	1	7	5	6	6	11	8	8	9
25	0	0	0	0	4	4	4	4	6	5	7	5	13	10	11	10
26	0	0	0	0	2	1	1	1	7	5	5	4	20	11	12	12
27	0	0	0	0	4	3	3	3	9	10	7	7	12	11	11	11
28	0	0	1	1	1	1	1	1	8	6	6	5	12	7	6	7
29	0	0	0	0	2	2	2	2	8	3	3	3	12	10	10	8
30	0	0	0	0	3	2	3	3	6	4	4	4	13	9	8	9
31	0	0	0	0	2	1	1	1	8	6	6	9	14	9	10	12
32	0	0	0	0	4	3	2	2	6	7	4	6	14	9	16	12
33	0	0	0	0	3	10	12	8	9	13	12	12	17	9	6	8



3874745264

No.	ช่วงค่าอ้างอิงเท่ากับ 0				ช่วงค่าอ้างอิง 1-5				ช่วงค่าอ้างอิง 6-10				ช่วงค่าอ้างอิง > 10			
	ค่า อ้างอิง	เครื่องวัด ครั้งที่ 1	เครื่องวัด ครั้งที่ 2	เครื่องวัด ครั้งที่ 3	ค่า อ้างอิง	เครื่องวัด ครั้งที่ 1	เครื่องวัด ครั้งที่ 2	เครื่องวัด ครั้งที่ 3	ค่า อ้างอิง	เครื่องวัด ครั้งที่ 1	เครื่องวัด ครั้งที่ 2	เครื่องวัด ครั้งที่ 3	ค่า อ้างอิง	เครื่องวัด ครั้งที่ 1	เครื่องวัด ครั้งที่ 2	เครื่องวัด ครั้งที่ 3
34	0	0	0	0	4	4	6	5	8	7	7	7	11	10	9	10
35	0	0	0	0	5	6	5	5	9	9	10	9	15	12	12	9
36	0	0	0	0	5	5	5	5	7	7	6	7	20	8	8	6
37	0	0	0	0	3	1	1	1	10	9	10	15	14	14	11	13
38	0	0	0	0	2	2	2	2	10	8	10	9	19	10	10	10
39	0	1	0	0	2	2	2	2	10	6	5	5	15	7	7	8
40	0	0	0	0	4	4	4	4	8	10	8	10	17	16	6	9
41	0	0	0	0	5	4	5	4	6	3	3	2	17	15	14	17
42	0	0	0	0	5	4	3	3	7	8	8	9	16	13	17	14
43	0	0	0	0	5	4	4	4	8	8	8	6	14	12	18	18
44	0	0	0	0	3	3	3	3	8	7	8	8	15	7	7	7
45	0	0	0	0	2	2	1	2	6	5	6	7	16	13	13	13
46	0	0	0	0	1	1	1	1	5	5	5	4	17	13	13	13
47	0	0	0	0	1	1	1	1	6	4	4	4	13	8	7	7
48	0	0	0	0	1	1	1	1	10	9	8	6	11	6	7	8
49	0	0	0	0	1	1	1	1	6	5	5	5	15	13	13	13
50	0	0	0	0	2	1	1	1	7	4	5	4	13	9	9	10
51	0	0	0	0	2	2	1	1	6	4	3	4	14	11	10	10
52	0	0	0	0	1	1	1	1	7	7	7	7	11	9	9	9
53	0	0	0	0	2	2	2	2	10	10	9	9	13	12	10	14
54	0	0	0	0	1	1	1	1	7	7	7	8	13	12	11	11
55	0	0	0	1	2	2	2	2	10	11	11	11	15	10	11	11
56	0	0	0	0	4	4	3	3	10	7	7	9	18	9	10	9
57	0	0	0	0	2	2	2	2	10	6	7	8	19	11	10	12
58	0	0	0	0	1	1	2	1	10	8	7	7	12	12	13	10
59	0	0	0	0	2	2	2	2	6	6	6	4	16	11	11	11
60	0	0	0	0	3	3	3	3	8	6	6	6	15	11	17	16

เพื่อประเมินความถูกต้องในการนับของเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติและระเบียบวิธีนับผลของ  
ไวรัส โดยใช้ข้อมูลดังตารางที่ ก-4 รูปที่ใช้ทั้งหมดมีจำนวน 1,651 รูป

ตารางที่ ก- 4 การแสดงข้อมูลค่าที่นับโดยคนหรือค่าอ้างอิงกับค่าที่นับโดยเครื่องถ่ายภาพอัตโนมัติ  
และระเบียบวิธีการนับผลาคของไวรัส

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	1	1
5	4	5
6	0	0
7	8	6
8	12	3
9	6	4
10	8	5
11	8	8
12	2	3
13	0	0
14	1	1
15	0	0
16	0	0
17	0	0
18	0	0
19	0	0
20	0	0
21	0	0
22	0	0
23	0	0
24	0	0
25	0	0



3874745264

CD :Thesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
26	0	0
27	0	0
28	0	0
29	0	0
30	0	0
31	0	0
32	0	0
33	0	0
34	0	0
35	0	0
36	0	0
37	2	2
38	8	6
39	4	3
40	3	1
41	8	6
42	8	8
43	3	2
44	12	13
45	8	6
46	6	4
47	0	0
48	9	7
49	5	4
50	0	0
51	0	0
52	1	1



3874745264

CT IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
53	0	0
54	0	0
55	0	0
56	1	1
57	1	1
58	0	0
59	0	0
60	0	0
61	0	0
62	2	1
63	0	0
64	0	0
65	0	0
66	1	1
67	0	0
68	0	0
69	0	0
70	0	0
71	0	0
72	0	0
73	0	0
74	0	0
75	0	0
76	0	0
77	0	0
78	0	0
79	0	1



3874745264

CT IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
80	0	1
81	0	1
82	0	0
83	0	0
84	0	0
85	0	0
86	1	1
87	0	0
88	0	0
89	0	0
90	0	0
91	0	0
92	0	0
93	0	0
94	0	0
95	0	0
96	0	0
97	1	1
98	0	0
99	0	0
100	0	0
101	0	0
102	0	0
103	0	0
104	1	1
105	4	3
106	2	2



3874745264

CT IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
107	1	1
108	5	4
109	1	1
110	0	0
111	5	4
112	1	1
113	4	4
114	0	0
115	0	0
116	0	0
117	13	9
118	15	9
119	17	10
120	2	2
121	11	8
122	13	9
123	14	10
124	4	2
125	10	9
126	14	12
127	0	0
128	0	0
129	0	0
130	0	0
131	0	0
132	0	0
133	0	0



3874745264

CU :Thesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26



ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
134	0	0
135	0	0
136	0	0
137	0	0
138	0	0
139	0	0
140	0	0
141	0	0
142	1	1
143	0	0
144	0	0
145	0	0
146	0	0
147	1	1
148	0	0
149	4	3
150	1	1
151	4	4
152	2	1
153	0	0
154	4	3
155	1	1
156	2	2
157	0	0
158	0	0
159	0	0
160	0	0



3874745264

CD IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
161	9	7
162	9	6
163	14	16
164	3	2
165	7	6
166	15	8
167	9	12
168	2	1
169	13	8
170	0	0
171	0	0
172	4	3
173	3	10
174	6	6
175	0	0
176	4	4
177	5	6
178	5	5
179	5	3
180	1	3
181	2	1
182	0	0
183	2	2
184	0	2
185	0	0
186	0	0
187	0	1



3874745264

CT IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
188	0	0
189	0	0
190	0	0
191	0	0
192	0	0
193	0	0
194	0	0
195	0	0
196	0	0
197	0	0
198	0	0
199	0	0
200	0	0
201	0	0
202	0	0
203	0	0
204	0	0
205	0	0
206	0	0
207	0	0
208	0	0
209	0	0
210	0	0
211	0	0
212	0	0
213	0	0
214	0	0

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
215	0	0
216	4	4
217	5	4
218	0	0
219	0	0
220	5	4
221	1	2
222	7	4
223	10	8
224	5	4
225	0	0
226	9	4
227	3	3
228	0	0
229	2	2
230	1	1
231	1	1
232	1	1
233	1	1
234	0	0
235	1	1
236	0	0
237	0	0
238	0	0
239	0	0
240	0	0
241	0	0

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
242	0	0
243	0	0
244	0	0
245	0	0
246	0	0
247	0	0
248	0	0
249	0	0
250	0	0
251	0	0
252	0	0
253	0	0
254	0	0
255	0	0
256	0	0
257	0	0
258	0	0
259	0	0
260	0	0
261	0	0
262	0	0
263	0	0
264	0	0
265	0	0
266	0	0
267	0	0
268	0	0



3874745264

CD IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
269	0	0
270	0	0
271	0	0
272	0	0
273	0	0
274	0	0
275	2	1
276	2	2
277	7	5
278	0	0
279	0	0
280	0	0
281	0	0
282	0	0
283	0	0
284	0	0
285	0	0
286	0	0
287	0	0
288	0	0
289	0	0
290	7	5
291	1	1
292	5	4
293	0	0
294	0	0
295	0	0

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
296	11	9
297	14	9
298	0	0
299	0	0
300	0	0
301	0	0
302	1	1
303	0	0
304	1	1
305	1	1
306	0	0
307	0	0
308	0	0
309	0	0
310	0	0
311	1	1
312	1	0
313	0	0
314	1	1
315	2	2
316	1	1
317	2	2
318	0	0
319	0	0
320	9	8
321	6	4
322	7	5

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
323	0	0
324	0	0
325	2	2
326	4	4
327	2	2
328	1	1
329	0	0
330	0	0
331	0	0
332	2	2
333	6	4
334	3	3
335	3	3
336	10	9
337	6	5
338	13	6
339	5	5
340	16	10
341	7	4
342	2	2
343	2	2
344	6	4
345	2	2
346	2	2
347	1	1
348	1	1
349	0	0



3874745264

CT IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26



ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
350	1	1
351	3	2
352	0	0
353	0	0
354	0	0
355	0	0
356	0	0
357	0	0
358	1	1
359	0	0
360	1	1
361	0	0
362	0	0
363	0	0
364	0	0
365	0	0
366	0	0
367	0	0
368	0	0
369	0	0
370	0	0
371	0	0
372	0	0
373	0	0
374	2	2
375	11	9
376	3	3



3874745264

CD IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
377	2	1
378	13	7
379	7	7
380	10	4
381	6	4
382	29	17
383	15	7
384	7	7
385	3	3
386	1	1
387	4	3
388	0	0
389	1	1
390	1	1
391	0	0
392	2	2
393	1	1
394	0	0
395	0	0
396	2	2
397	0	0
398	0	0
399	0	0
400	0	0
401	0	0
402	0	0
403	3	3



3874745264

CU :Thesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
404	0	0
405	0	0
406	0	0
407	0	0
408	0	0
409	0	0
410	0	0
411	0	0
412	0	0
413	0	0
414	0	0
415	0	0
416	0	0
417	0	0
418	0	1
419	0	0
420	0	0
421	0	0
422	0	0
423	0	0
424	0	0
425	0	0
426	0	0
427	0	0
428	0	0
429	0	0
430	0	0

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
431	0	0
432	0	0
433	1	1
434	0	0
435	0	0
436	0	0
437	0	0
438	3	2
439	5	5
440	1	1
441	1	1
442	2	2
443	3	3
444	3	2
445	3	2
446	0	0
447	4	3
448	3	2
449	4	4
450	0	0
451	0	0
452	0	0
453	0	0
454	17	9
455	6	5
456	18	11
457	2	2



3874745264

CT IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
458	7	5
459	11	8
460	9	10
461	5	4
462	13	10
463	20	11
464	0	0
465	0	0
466	0	0
467	0	0
468	0	0
469	0	0
470	0	0
471	0	0
472	0	0
473	0	0
474	0	0
475	0	0
476	0	0
477	0	0
478	0	0
479	0	0
480	0	0
481	1	1
482	0	1
483	0	1
484	0	0



3874745264

CT IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
485	0	0
486	0	0
487	0	0
488	3	3
489	0	0
490	2	2
491	0	0
492	2	2
493	0	0
494	1	1
495	4	3
496	0	0
497	0	0
498	0	0
499	3	2
500	8	6
501	5	5
502	1	1
503	12	11
504	8	4
505	6	4
506	5	5
507	12	7
508	8	6
509	3	3
510	0	0
511	0	0

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
512	0	0
513	7	7
514	3	6
515	0	0
516	7	10
517	9	6
518	4	4
519	8	4
520	3	2
521	0	0
522	0	0
523	0	0
524	1	1
525	4	4
526	0	0
527	0	0
528	1	1
529	0	0
530	0	0
531	0	0
532	0	0
533	0	0
534	0	0
535	0	0
536	0	0
537	0	0
538	0	0



3874745264

CU Thesais 5970245121 thesais / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
539	0	0
540	1	1
541	0	0
542	0	0
543	0	0
544	0	0
545	0	0
546	0	0
547	0	0
548	0	0
549	1	1
550	0	0
551	0	0
552	0	0
553	0	0
554	0	0
555	0	0
556	0	0
557	0	0
558	3	3
559	6	4
560	1	3
561	0	0
562	1	1
563	2	2
564	7	6
565	6	5



ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
566	3	3
567	0	0
568	9	9
569	2	2
570	0	0
571	0	0
572	0	0
573	1	1
574	0	0
575	0	0
576	0	0
577	0	0
578	3	3
579	0	0
580	0	0
581	0	0
582	0	0
583	0	0
584	0	0
585	0	0
586	0	0
587	0	0
588	0	0
589	0	0
590	0	0
591	0	0
592	0	0



3874745264

CD IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
593	0	0
594	0	0
595	0	0
596	0	0
597	0	0
598	0	0
599	0	0
600	0	0
601	0	0
602	0	0
603	0	0
604	0	0
605	17	13
606	12	12
607	11	6
608	10	10
609	16	10
610	15	12
611	16	14
612	17	21
613	8	8
614	8	6
615	12	8
616	6	5
617	10	9
618	11	9
619	5	4

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
620	12	12
621	8	9
622	2	2
623	1	1
624	2	2
625	26	12
626	21	9
627	21	11
628	25	16
629	24	13
630	14	10
631	14	13
632	11	8
633	16	13
634	13	9
635	19	9
636	18	10
637	18	18
638	17	18
639	16	12
640	9	8
641	10	10
642	13	11
643	10	8
644	7	10
645	8	7
646	9	7

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
647	6	4
648	9	9
649	10	8
650	2	2
651	5	6
652	1	1
653	6	6
654	1	1
655	1	0
656	6	7
657	12	10
658	12	9
659	14	9
660	14	9
661	17	9
662	11	10
663	9	13
664	15	12
665	8	7
666	9	9
667	1	1
668	7	7
669	10	9
670	14	14
671	19	10
672	15	7
673	17	16

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
674	17	15
675	16	13
676	5	5
677	14	12
678	10	8
679	16	13
680	17	13
681	13	8
682	11	6
683	15	13
684	13	9
685	14	11
686	11	9
687	9	6
688	1	1
689	3	4
690	13	12
691	7	8
692	0	0
693	0	0
694	1	1
695	0	0
696	2	2
697	0	0
698	0	0
699	0	0
700	2	1

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
701	9	17
702	5	6
703	16	11
704	14	10
705	14	11
706	13	14
707	23	13
708	14	8
709	9	9
710	6	6
711	14	10
712	9	9
713	7	7
714	5	6
715	5	4
716	6	6
717	17	14
718	5	4
719	5	4
720	0	0
721	18	14
722	23	9
723	17	12
724	17	14
725	15	11
726	10	8
727	16	11



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
728	15	13
729	18	14
730	21	14
731	9	4
732	12	9
733	13	10
734	10	10
735	4	3
736	9	7
737	3	4
738	3	3
739	12	8
740	3	2
741	3	3
742	5	4
743	4	6
744	14	10
745	6	6
746	14	11
747	14	15
748	14	11
749	12	9
750	11	9
751	9	7
752	6	7
753	8	6
754	9	6



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
755	4	4
756	4	5
757	4	5
758	5	4
759	7	7
760	4	4
761	10	12
762	21	9
763	20	13
764	18	7
765	17	16
766	18	12
767	15	15
768	14	10
769	8	6
770	7	7
771	8	5
772	13	10
773	12	9
774	11	12
775	16	10
776	17	15
777	9	9
778	6	6
779	7	9
780	4	4
781	1	1



3874745264

CU :Thesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26



ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
782	0	0
783	0	0
784	0	0
785	0	0
786	2	2
787	0	0
788	2	2
789	3	2
790	3	3
791	6	4
792	13	12
793	15	10
794	8	8
795	8	7
796	17	9
797	9	10
798	18	11
799	12	12
800	16	11
801	19	11
802	7	10
803	7	8
804	3	5
805	7	9
806	6	5
807	1	1
808	5	5



3874745264

CU IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
809	20	15
810	21	7
811	16	13
812	17	12
813	19	11
814	10	11
815	10	7
816	4	5
817	11	8
818	17	9
819	10	6
820	13	9
821	16	6
822	17	15
823	16	10
824	10	8
825	1	1
826	1	1
827	6	6
828	6	6
829	8	6
830	0	0
831	2	3
832	2	1
833	0	0
834	0	0
835	1	1



3874745264

CU :Thesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
836	1	1
837	1	1
838	1	1
839	3	2
840	2	2
841	16	11
842	14	8
843	11	6
844	6	6
845	11	12
846	9	11
847	9	8
848	16	11
849	18	14
850	5	5
851	11	9
852	0	0
853	1	1
854	2	2
855	0	0
856	2	3
857	3	3
858	8	8
859	0	0
860	1	1
861	0	0
862	0	0



3874745264

CU IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
863	0	0
864	0	0
865	0	0
866	17	14
867	16	9
868	24	16
869	18	16
870	14	12
871	9	9
872	15	9
873	1	3
874	3	3
875	10	9
876	3	3
877	8	8
878	8	9
879	9	11
880	14	12
881	4	4
882	8	8
883	2	3
884	2	3
885	5	5
886	18	11
887	13	12
888	14	12
889	12	9

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
890	6	4
891	6	6
892	2	1
893	4	5
894	3	3
895	8	6
896	5	5
897	9	11
898	5	2
899	1	1
900	6	5
901	2	3
902	2	3
903	1	2
904	1	1
905	8	6
906	1	1
907	2	2
908	2	2
909	4	6
910	19	16
911	8	9
912	8	6
913	10	7
914	14	12
915	11	9
916	12	9



3874745264

CD IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
917	8	6
918	11	11
919	13	13
920	11	10
921	2	2
922	3	8
923	4	3
924	6	7
925	4	3
926	6	7
927	8	16
928	9	5
929	5	8
930	5	5
931	0	0
932	0	0
933	0	0
934	0	0
935	0	0
936	6	6
937	2	2
938	6	4
939	2	2
940	4	4
941	0	0
942	0	0
943	1	1



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
944	0	0
945	0	0
946	13	13
947	5	4
948	5	4
949	3	3
950	5	5
951	8	7
952	8	7
953	8	9
954	5	6
955	8	9
956	3	1
957	6	6
958	6	5
959	7	5
960	9	8
961	5	10
962	0	0
963	5	4
964	1	1
965	0	0
966	1	2
967	0	0
968	0	0
969	3	3
970	1	1



3874745264

CU :Thesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
971	4	4
972	1	1
973	9	7
974	10	10
975	6	5
976	9	6
977	5	4
978	3	3
979	3	2
980	9	10
981	4	6
982	9	10
983	10	7
984	9	9
985	5	5
986	2	3
987	0	0
988	1	3
989	1	2
990	0	0
991	4	4
992	4	3
993	2	4
994	18	15
995	13	11
996	13	13
997	13	7



ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
998	13	10
999	14	7
1000	6	6
1001	3	3
1002	8	5
1003	5	5
1004	6	6
1005	9	10
1006	5	4
1007	8	7
1008	4	4
1009	1	1
1010	7	13
1011	3	4
1012	2	1
1013	2	2
1014	1	1
1015	2	3
1016	1	1
1017	2	2
1018	0	0
1019	0	0
1020	2	3
1021	7	4
1022	12	8
1023	3	2
1024	11	7



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1025	12	7
1026	13	7
1027	13	13
1028	12	9
1029	17	11
1030	5	6
1031	3	3
1032	3	4
1033	3	4
1034	5	4
1035	13	11
1036	8	7
1037	9	9
1038	4	4
1039	10	7
1040	2	2
1041	0	0
1042	2	3
1043	5	6
1044	2	2
1045	2	3
1046	3	4
1047	3	5
1048	10	8
1049	9	7
1050	9	7
1051	13	11



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1052	7	6
1053	10	9
1054	10	9
1055	6	6
1056	6	11
1057	6	7
1058	3	3
1059	9	6
1060	6	4
1061	4	4
1062	4	4
1063	11	8
1064	8	9
1065	5	7
1066	4	7
1067	6	5
1068	8	5
1069	13	15
1070	15	16
1071	7	7
1072	11	7
1073	11	7
1074	7	7
1075	6	14
1076	4	4
1077	7	6
1078	4	3



3874745264

CU :Thesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1079	6	11
1080	9	6
1081	5	5
1082	4	4
1083	7	7
1084	6	6
1085	15	13
1086	11	11
1087	16	17
1088	17	18
1089	14	14
1090	14	9
1091	11	12
1092	14	13
1093	10	7
1094	5	5
1095	4	6
1096	5	6
1097	1	2
1098	4	4
1099	7	6
1100	12	12
1101	9	9
1102	12	11
1103	8	6
1104	7	5
1105	8	7



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1106	5	4
1107	8	8
1108	15	10
1109	13	8
1110	12	10
1111	14	10
1112	12	8
1113	14	14
1114	10	11
1115	4	4
1116	7	12
1117	1	1
1118	2	2
1119	5	5
1120	4	9
1121	6	7
1122	6	6
1123	4	4
1124	2	2
1125	1	1
1126	11	15
1127	8	7
1128	6	12
1129	5	6
1130	10	13
1131	8	5
1132	5	6



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1133	6	9
1134	13	7
1135	12	11
1136	15	11
1137	16	14
1138	14	11
1139	14	10
1140	15	11
1141	12	11
1142	7	6
1143	7	4
1144	2	3
1145	6	5
1146	1	1
1147	5	8
1148	1	2
1149	0	0
1150	6	5
1151	2	3
1152	7	8
1153	3	3
1154	5	4
1155	6	5
1156	6	6
1157	3	3
1158	10	6
1159	7	7



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1160	10	9
1161	8	7
1162	2	4
1163	11	6
1164	11	9
1165	12	7
1166	12	9
1167	16	14
1168	15	10
1169	12	12
1170	5	6
1171	8	8
1172	1	1
1173	12	9
1174	14	7
1175	14	11
1176	18	9
1177	16	12
1178	6	5
1179	1	0
1180	1	1
1181	7	7
1182	6	6
1183	11	10
1184	7	7
1185	7	6
1186	0	0



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1187	6	7
1188	2	2
1189	0	0
1190	0	0
1191	4	5
1192	4	4
1193	6	8
1194	0	0
1195	1	1
1196	8	7
1197	1	1
1198	1	1
1199	8	8
1200	10	8
1201	1	1
1202	14	8
1203	13	9
1204	17	17
1205	13	14
1206	14	7
1207	16	9
1208	2	5
1209	2	2
1210	5	6
1211	4	4
1212	5	4
1213	13	13



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26



ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1214	7	6
1215	7	8
1216	1	1
1217	0	0
1218	11	12
1219	2	2
1220	0	0
1221	2	4
1222	4	6
1223	1	1
1224	5	3
1225	2	1
1226	3	4
1227	7	7
1228	1	2
1229	1	3
1230	8	9
1231	11	9
1232	10	15
1233	12	8
1234	9	6
1235	10	6
1236	15	13
1237	11	10
1238	9	7
1239	9	7
1240	10	8



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1241	8	9
1242	11	10
1243	4	5
1244	0	0
1245	1	1
1246	7	5
1247	2	2
1248	8	4
1249	3	4
1250	2	3
1251	2	2
1252	5	5
1253	5	4
1254	3	2
1255	0	0
1256	1	2
1257	3	3
1258	2	2
1259	0	0
1260	0	0
1261	1	2
1262	1	1
1263	0	0
1264	1	1
1265	0	0
1266	0	0
1267	0	0



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1268	8	8
1269	13	11
1270	13	9
1271	9	7
1272	10	4
1273	8	7
1274	10	8
1275	9	11
1276	14	5
1277	9	4
1278	10	8
1279	7	7
1280	0	0
1281	7	5
1282	5	4
1283	6	7
1284	9	9
1285	1	3
1286	0	0
1287	4	7
1288	6	5
1289	3	5
1290	0	0
1291	0	0
1292	2	4
1293	1	1
1294	1	2



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1295	0	0
1296	0	0
1297	0	0
1298	2	3
1299	1	1
1300	0	3
1301	0	0
1302	0	0
1303	7	6
1304	11	14
1305	0	0
1306	6	4
1307	9	7
1308	3	3
1309	6	4
1310	5	3
1311	3	4
1312	4	4
1313	3	3
1314	3	2
1315	6	9
1316	1	1
1317	1	1
1318	0	0
1319	0	0
1320	1	2
1321	2	1



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1322	3	3
1323	0	0
1324	0	0
1325	0	0
1326	2	2
1327	0	0
1328	0	0
1329	0	0
1330	0	0
1331	0	0
1332	0	0
1333	0	0
1334	0	0
1335	0	0
1336	0	0
1337	0	0
1338	0	0
1339	7	6
1340	9	6
1341	11	13
1342	10	7
1343	10	12
1344	7	12
1345	10	10
1346	0	0
1347	9	7
1348	7	6



3874745264

CD IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1349	3	3
1350	9	5
1351	4	4
1352	5	6
1353	3	3
1354	2	2
1355	4	3
1356	8	8
1357	4	4
1358	1	1
1359	0	0
1360	0	0
1361	0	0
1362	2	2
1363	2	2
1364	0	0
1365	2	2
1366	2	2
1367	5	4
1368	0	0
1369	0	0
1370	0	0
1371	0	0
1372	2	1
1373	2	1
1374	0	0
1375	0	0

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1376	1	1
1377	0	0
1378	12	9
1379	10	7
1380	15	15
1381	15	12
1382	13	13
1383	4	4
1384	3	3
1385	0	0
1386	7	6
1387	11	13
1388	8	5
1389	9	8
1390	6	5
1391	1	1
1392	4	4
1393	0	0
1394	7	7
1395	0	0
1396	4	3
1397	0	0
1398	1	1
1399	2	2
1400	4	3
1401	5	6
1402	1	6



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1403	2	2
1404	3	4
1405	0	0
1406	7	9
1407	10	8
1408	1	1
1409	13	11
1410	11	12
1411	10	9
1412	6	6
1413	4	4
1414	2	4
1415	7	6
1416	7	4
1417	9	6
1418	8	7
1419	3	3
1420	5	4
1421	3	4
1422	6	7
1423	3	4
1424	3	3
1425	1	3
1426	4	4
1427	5	3
1428	3	3
1429	2	2



ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1430	5	7
1431	0	0
1432	2	2
1433	6	6
1434	15	15
1435	11	6
1436	5	6
1437	13	8
1438	0	0
1439	1	1
1440	8	7
1441	6	5
1442	7	5
1443	0	0
1444	5	4
1445	6	6
1446	4	4
1447	2	2
1448	8	6
1449	4	7
1450	1	1
1451	1	1
1452	2	2
1453	2	2
1454	3	2
1455	4	4
1456	0	0



3874745264

CT IThesis 5970245121 thesis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1457	1	2
1458	0	0
1459	0	0
1460	4	3
1461	2	2
1462	0	0
1463	0	0
1464	1	1
1465	0	0
1466	0	0
1467	2	2
1468	0	0
1469	2	2
1470	1	1
1471	0	0
1472	2	3
1473	12	14
1474	12	9
1475	9	9
1476	11	9
1477	12	13
1478	10	8
1479	8	8
1480	6	6
1481	7	4
1482	3	3
1483	12	8

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1484	7	7
1485	11	8
1486	7	9
1487	7	6
1488	4	5
1489	8	7
1490	5	4
1491	5	5
1492	1	2
1493	2	2
1494	2	2
1495	2	1
1496	0	0
1497	2	2
1498	5	8
1499	7	5
1500	0	0
1501	1	1
1502	2	2
1503	5	4
1504	9	6
1505	8	6
1506	7	13
1507	8	8
1508	1	2
1509	3	3
1510	6	4



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1511	9	7
1512	8	6
1513	7	7
1514	5	4
1515	1	0
1516	4	2
1517	4	3
1518	4	3
1519	0	0
1520	0	0
1521	0	0
1522	0	0
1523	2	1
1524	3	0
1525	1	1
1526	0	0
1527	0	0
1528	0	0
1529	5	5
1530	3	2
1531	0	0
1532	1	1
1533	0	0
1534	0	0
1535	0	0
1536	1	1
1537	0	0



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1538	0	0
1539	0	0
1540	0	0
1541	0	0
1542	8	5
1543	11	8
1544	10	10
1545	12	7
1546	7	6
1547	7	8
1548	1	1
1549	0	0
1550	8	6
1551	5	5
1552	13	8
1553	8	8
1554	7	5
1555	9	9
1556	0	0
1557	5	2
1558	8	8
1559	0	0
1560	0	0
1561	0	0
1562	1	2
1563	5	5
1564	6	6



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1565	2	1
1566	2	2
1567	0	0
1568	0	0
1569	4	5
1570	3	3
1571	0	0
1572	0	0
1573	1	2
1574	0	0
1575	1	1
1576	0	0
1577	1	1
1578	0	0
1579	0	0
1580	1	2
1581	2	0
1582	13	8
1583	12	7
1584	15	11
1585	13	10
1586	8	8
1587	7	5
1588	8	9
1589	7	7
1590	9	5
1591	6	7



3874745264

CU Thesais 5970245121 thesais / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1592	5	4
1593	4	4
1594	4	3
1595	2	2
1596	0	0
1597	1	1
1598	1	1
1599	0	0
1600	3	2
1601	5	5
1602	1	1
1603	1	1
1604	0	0
1605	0	0
1606	0	0
1607	0	0
1608	1	1
1609	1	2
1610	0	0
1611	0	0
1612	0	0
1613	0	0
1614	0	0
1615	1	1
1616	0	0
1617	3	4
1618	9	8

ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1619	10	7
1620	9	6
1621	8	5
1622	9	3
1623	7	5
1624	11	11
1625	9	12
1626	10	11
1627	11	13
1628	14	5
1629	7	7
1630	8	9
1631	4	5
1632	4	4
1633	4	5
1634	6	6
1635	3	4
1636	3	4
1637	3	3
1638	1	1
1639	1	1
1640	3	3
1641	1	1
1642	3	5
1643	1	1
1644	2	2
1645	1	1



3874745264

CU Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26



ลำดับที่	ค่าอ้างอิง	ค่าที่นับโดยเครื่อง
1646	0	0
1647	0	0
1648	2	3
1649	1	1
1650	0	0
1651	2	2

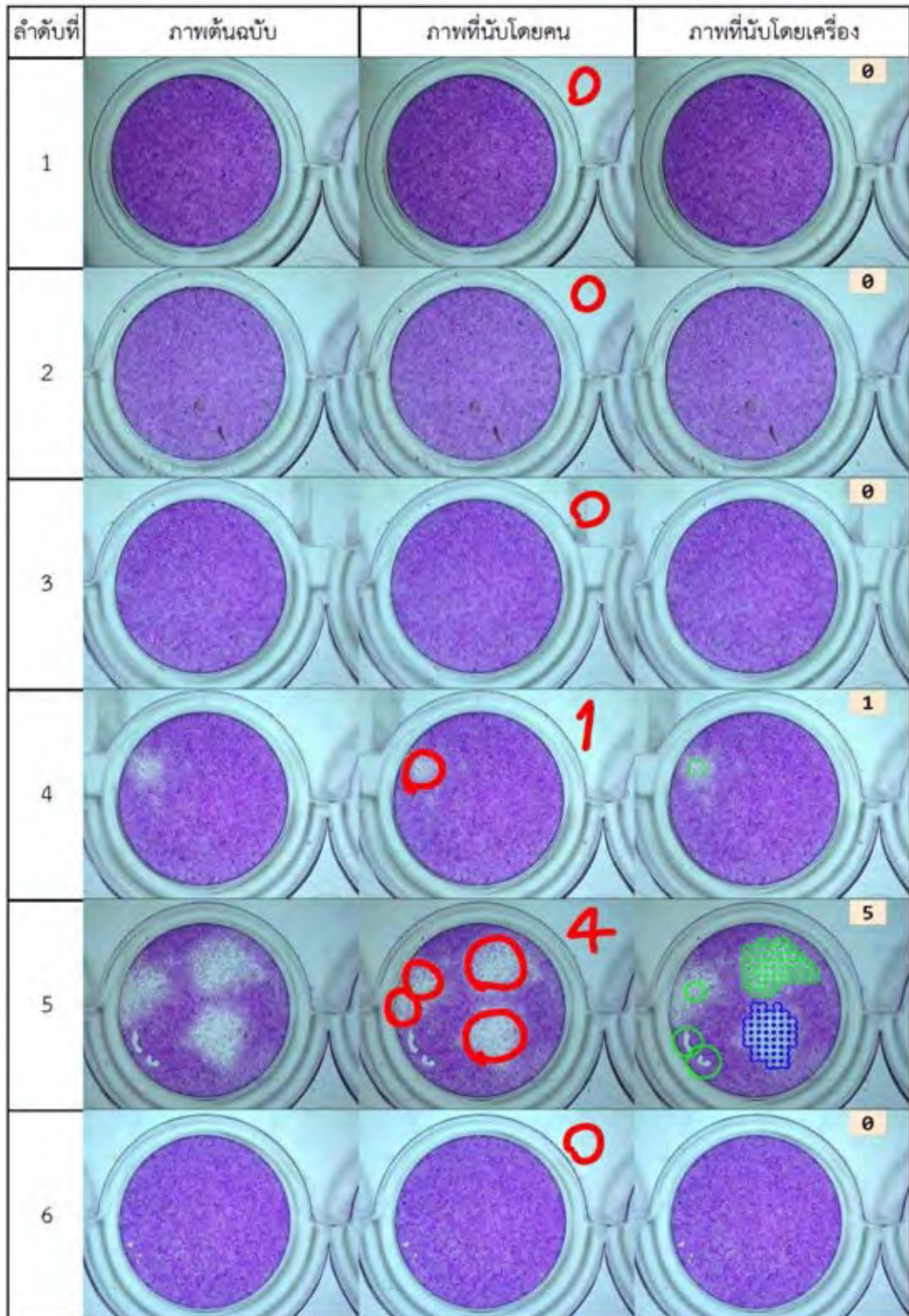


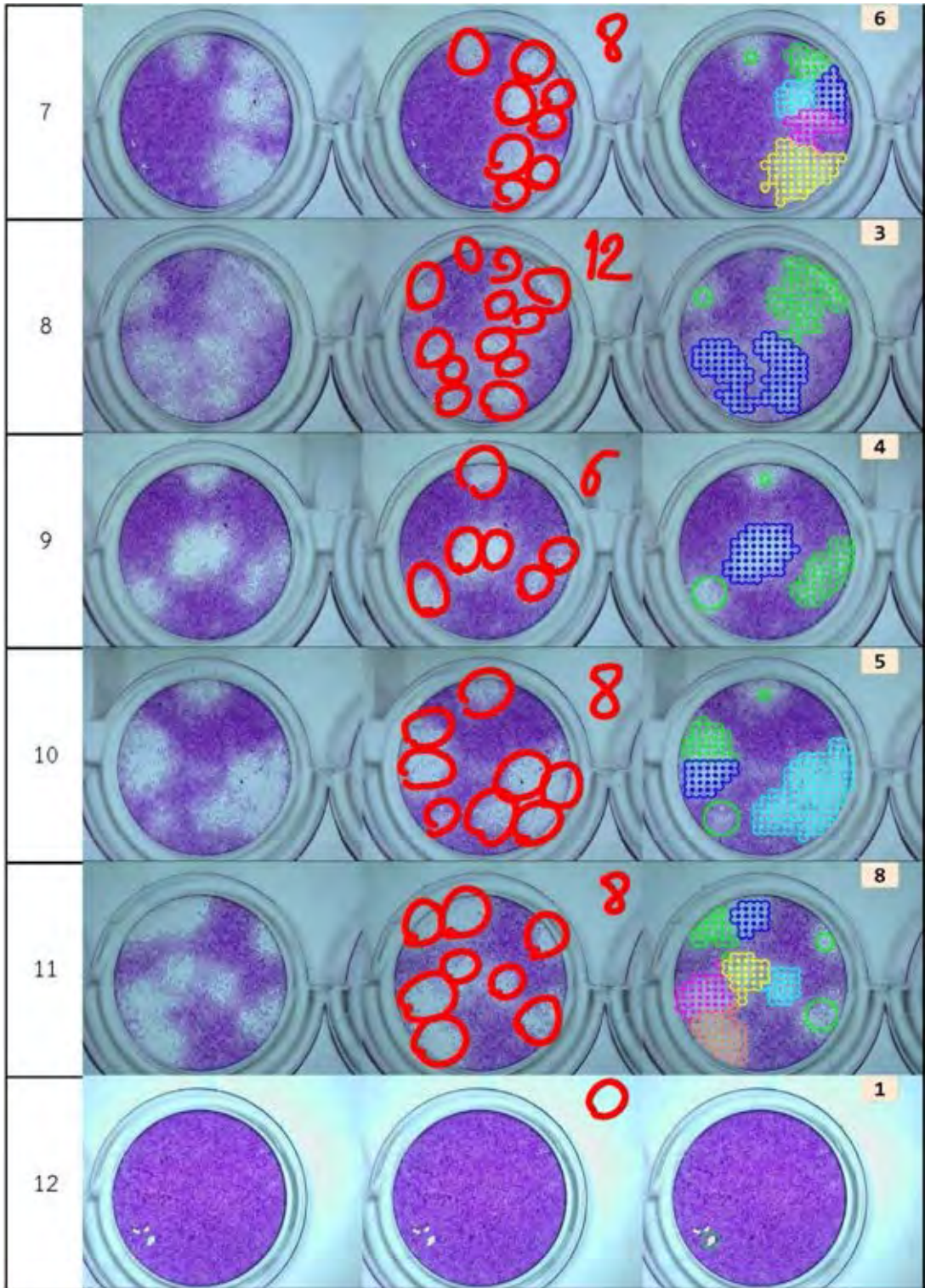
3874745264

CU Thesais 5970245121 thesais / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26

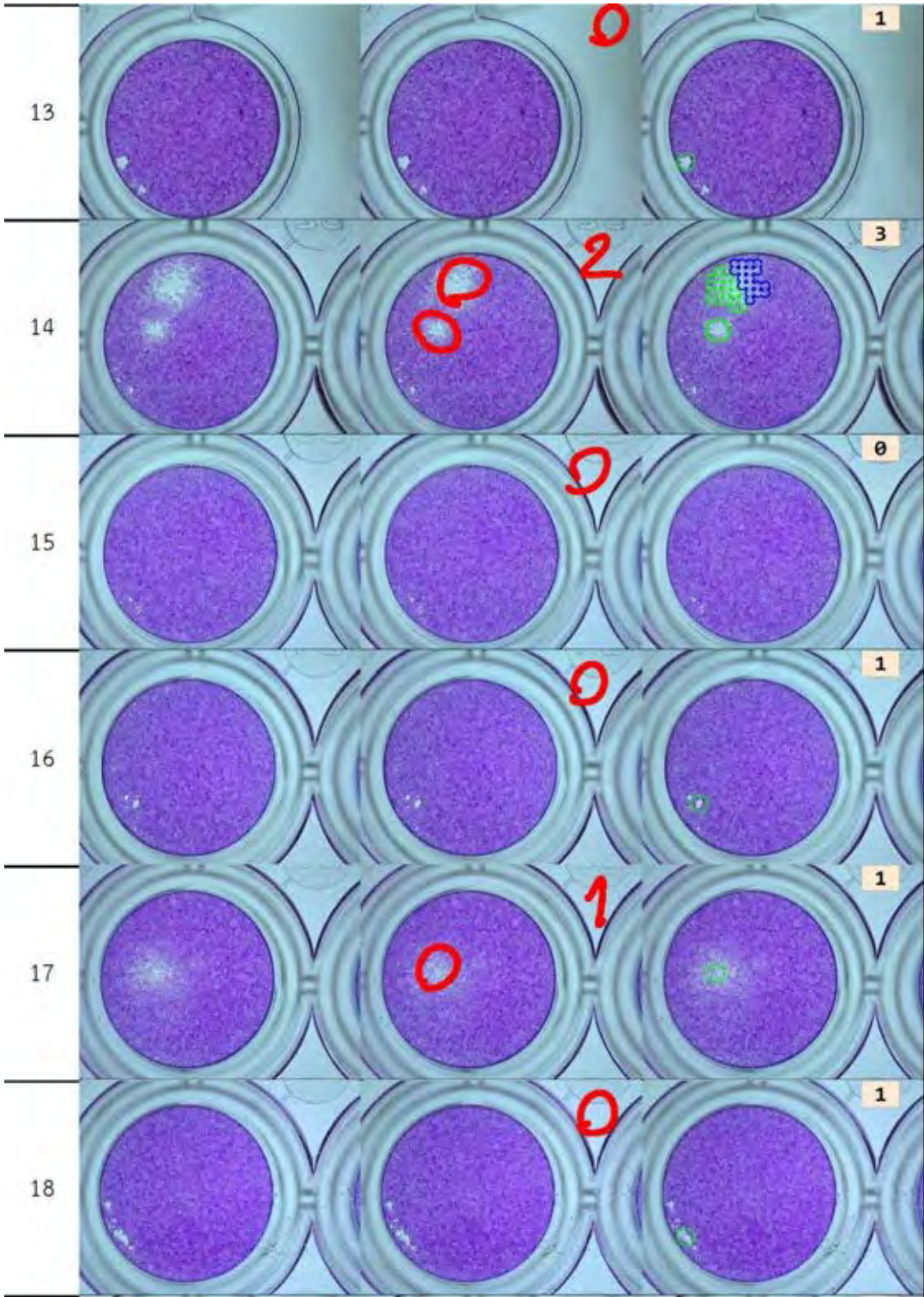
## ภาคผนวก ข.

## ผลการทดลอง

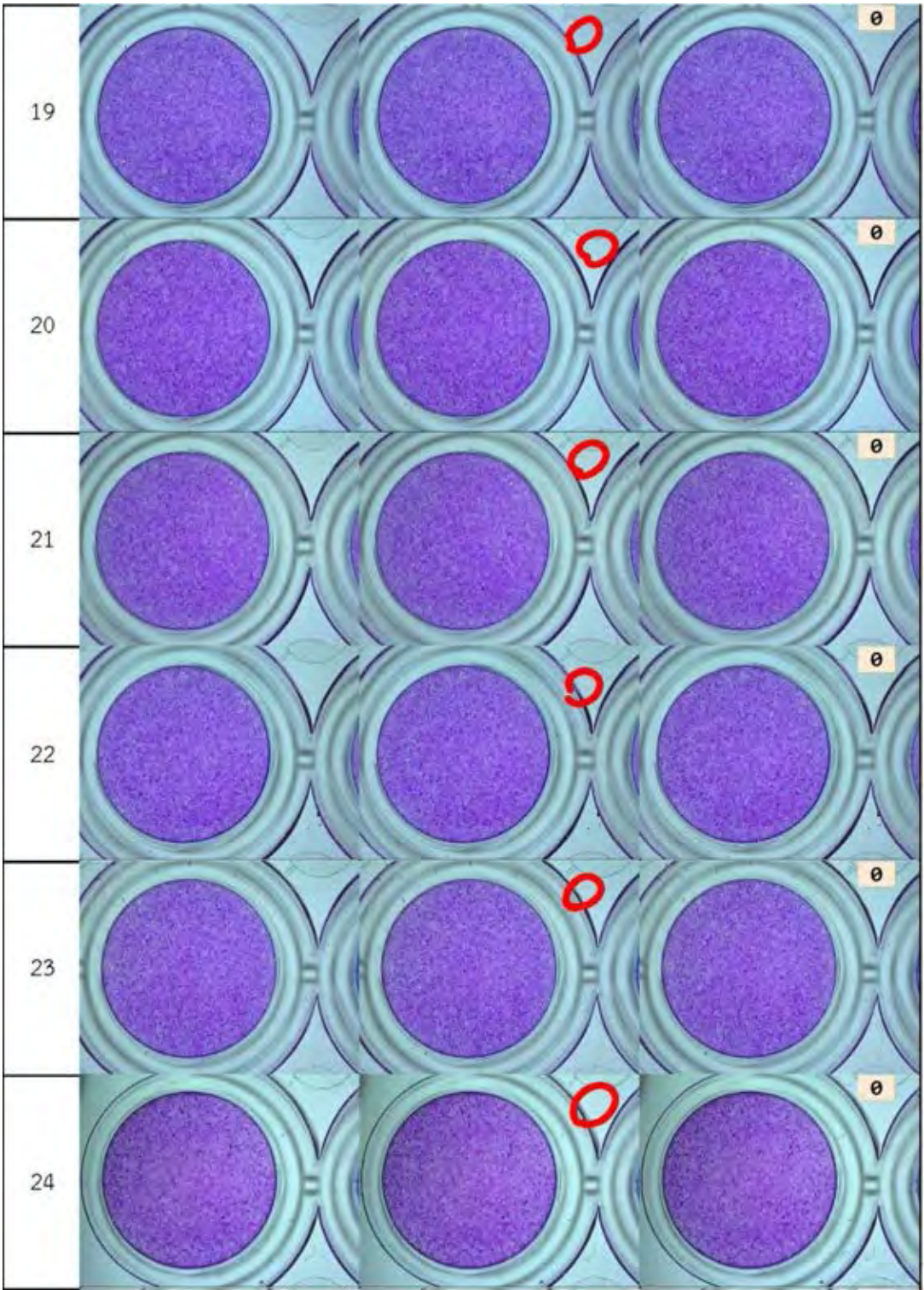




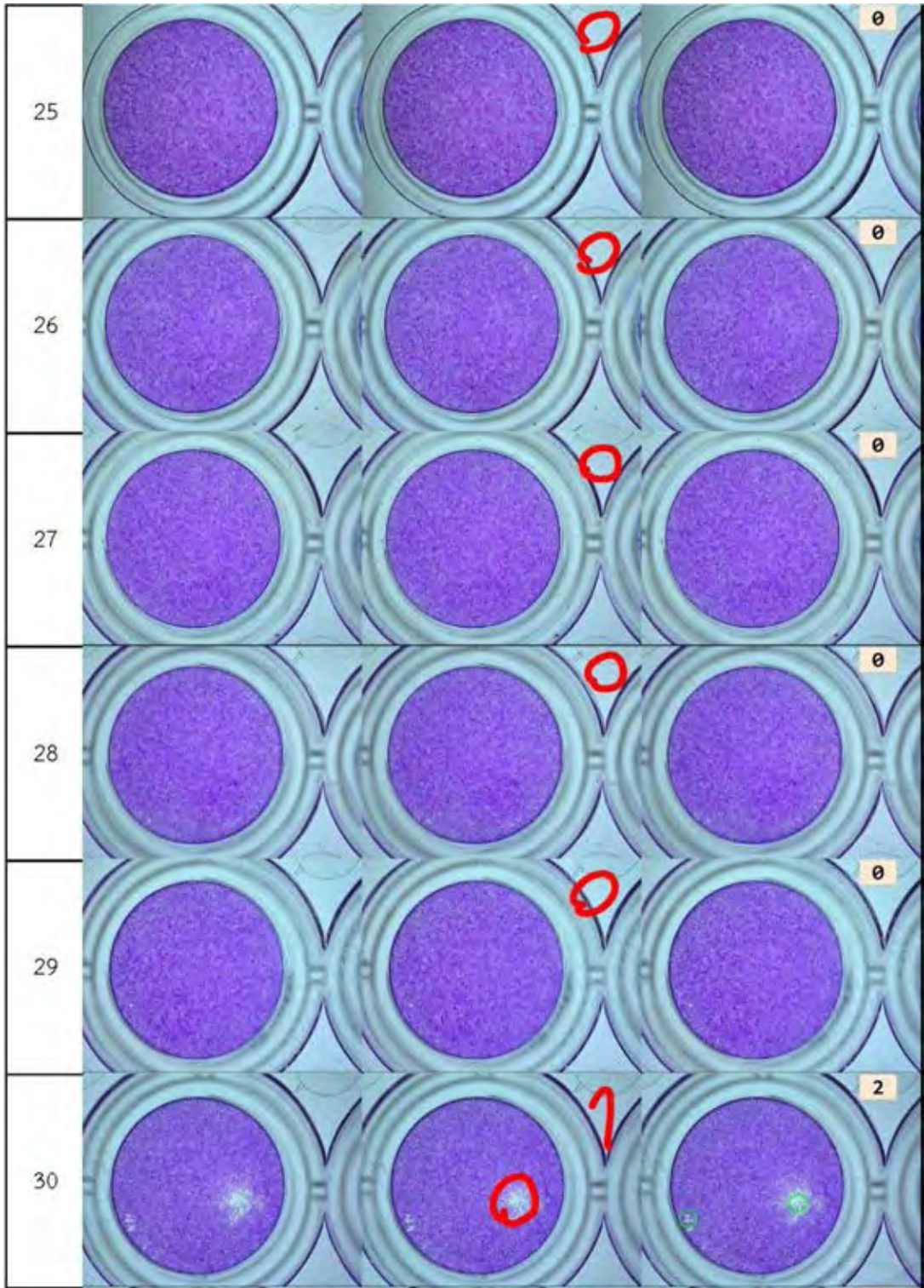




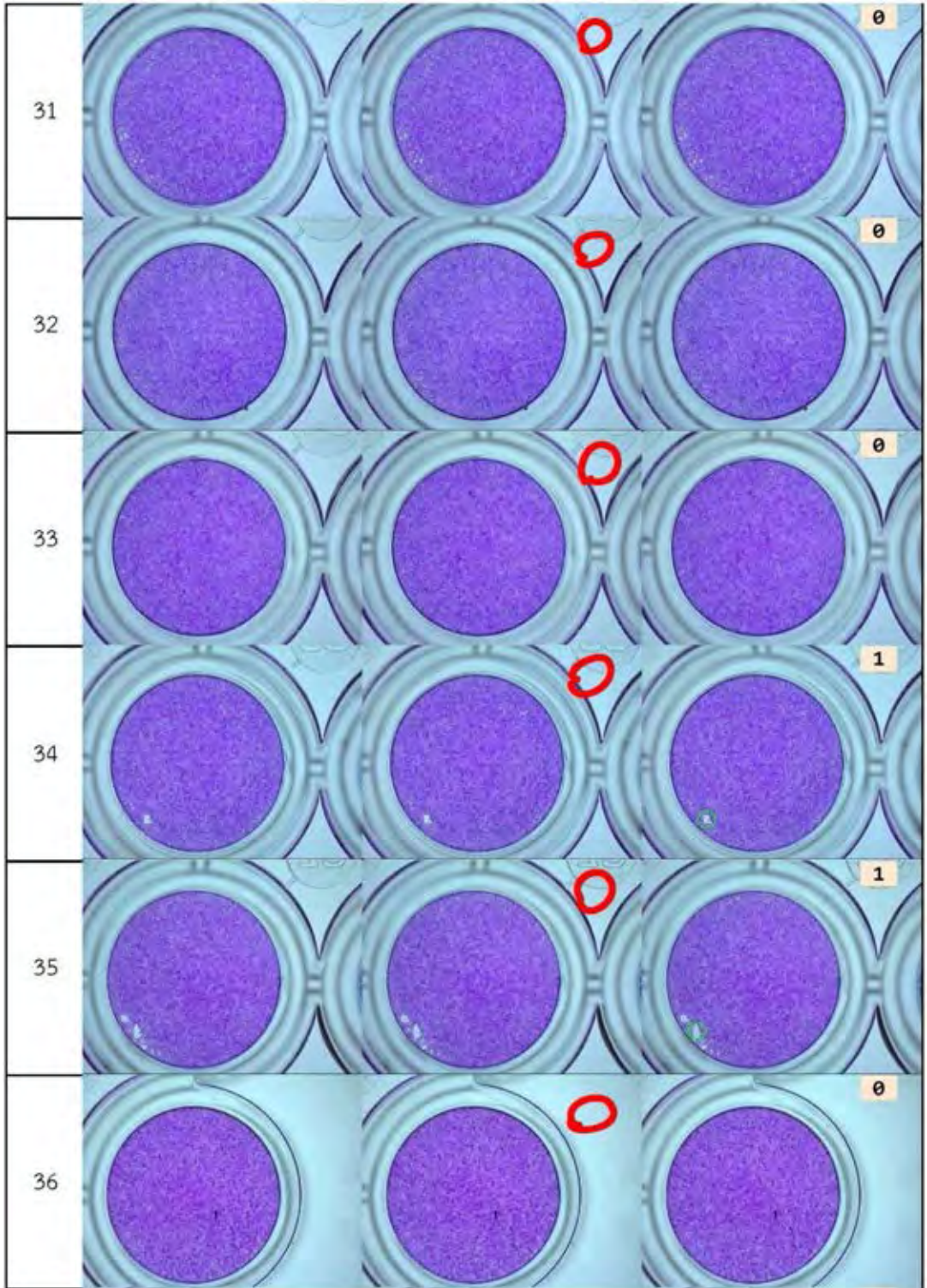




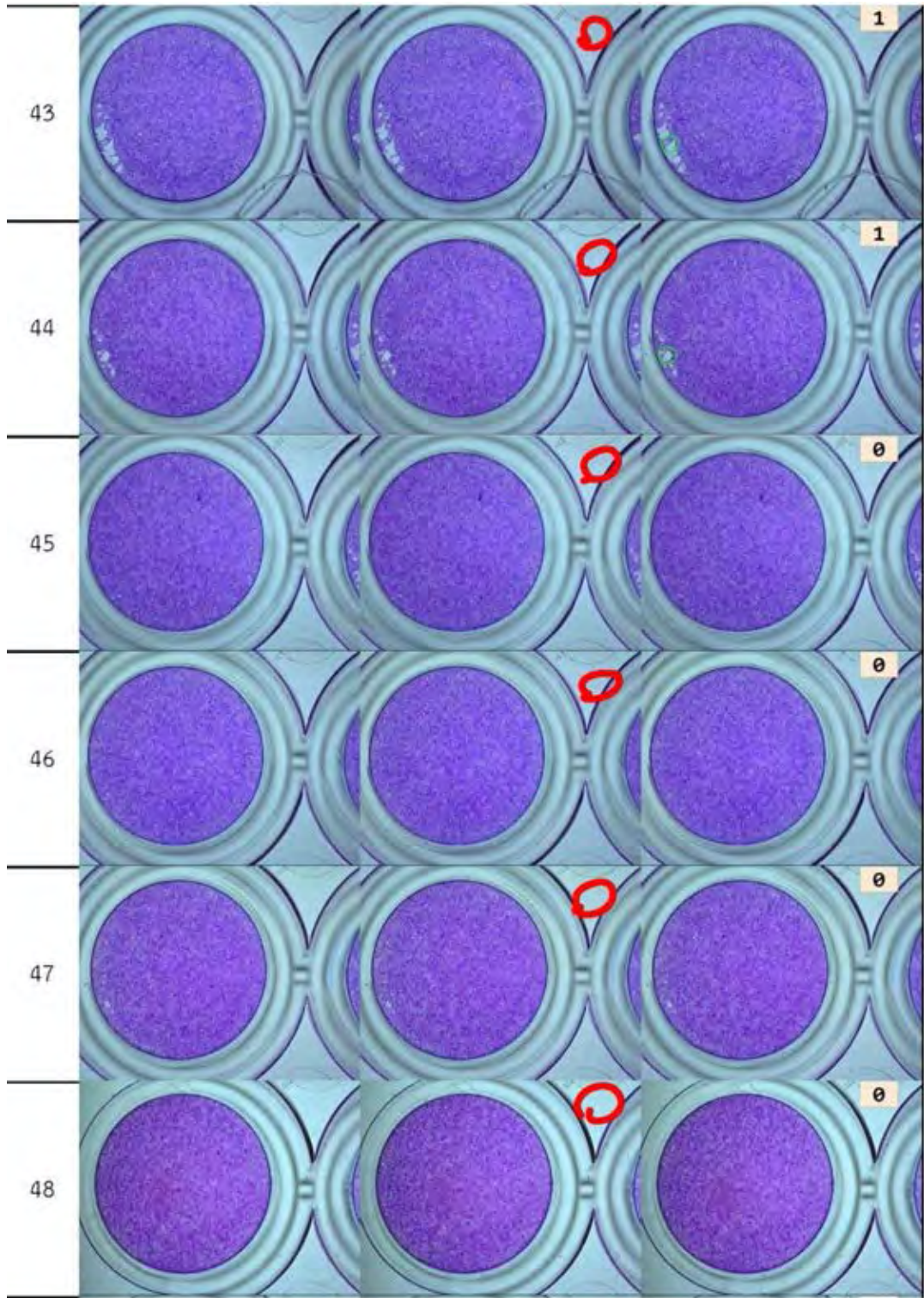




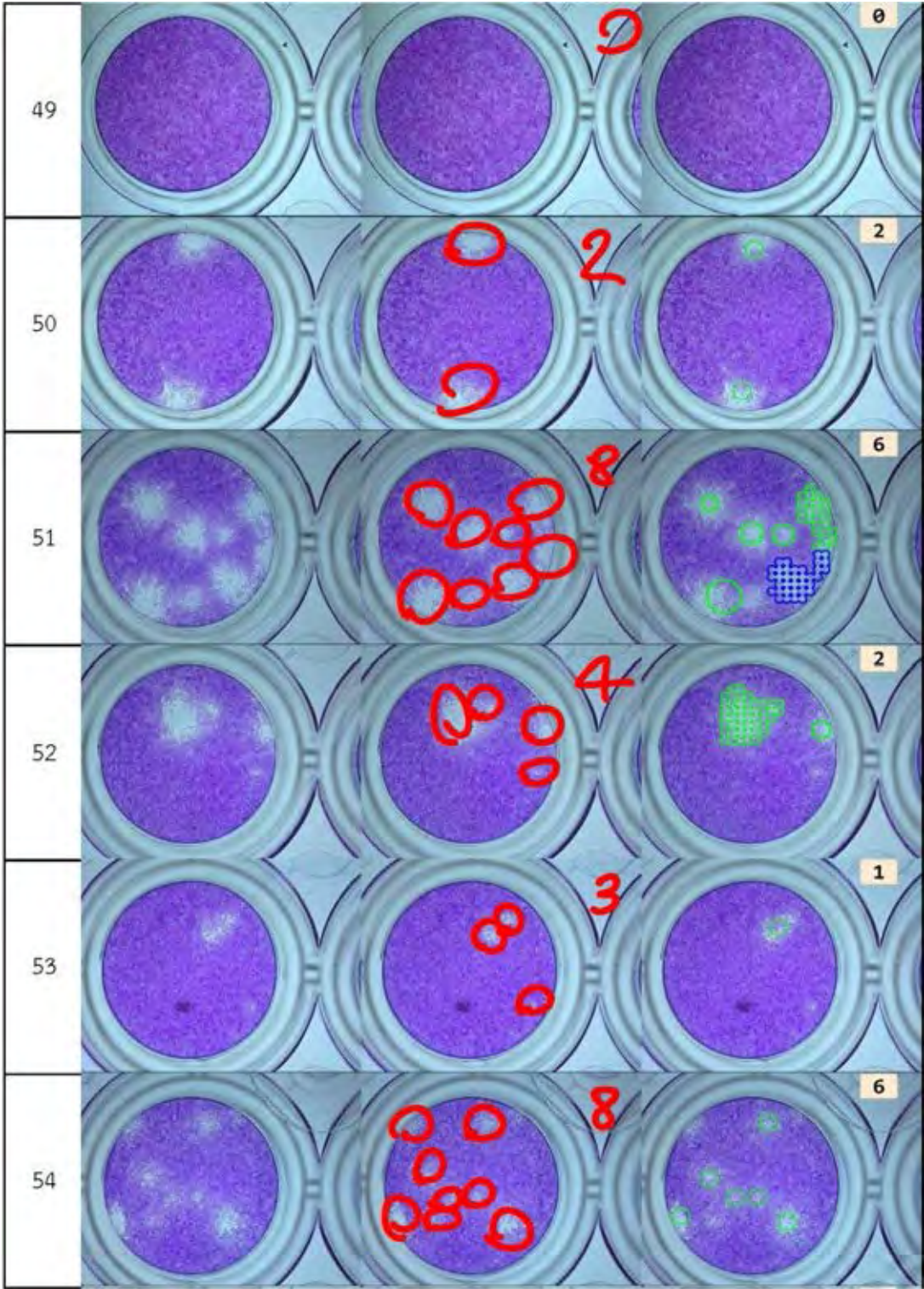




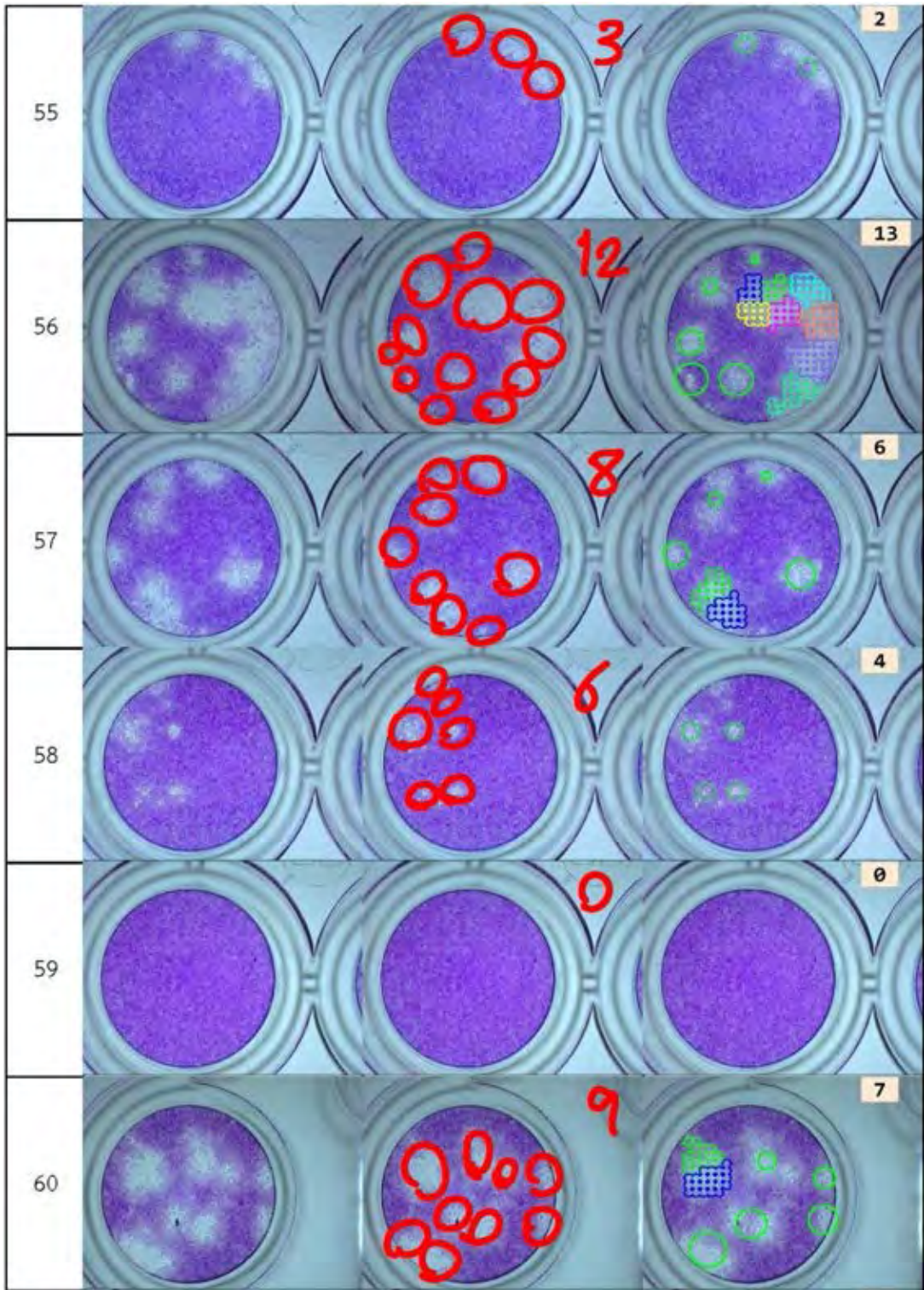




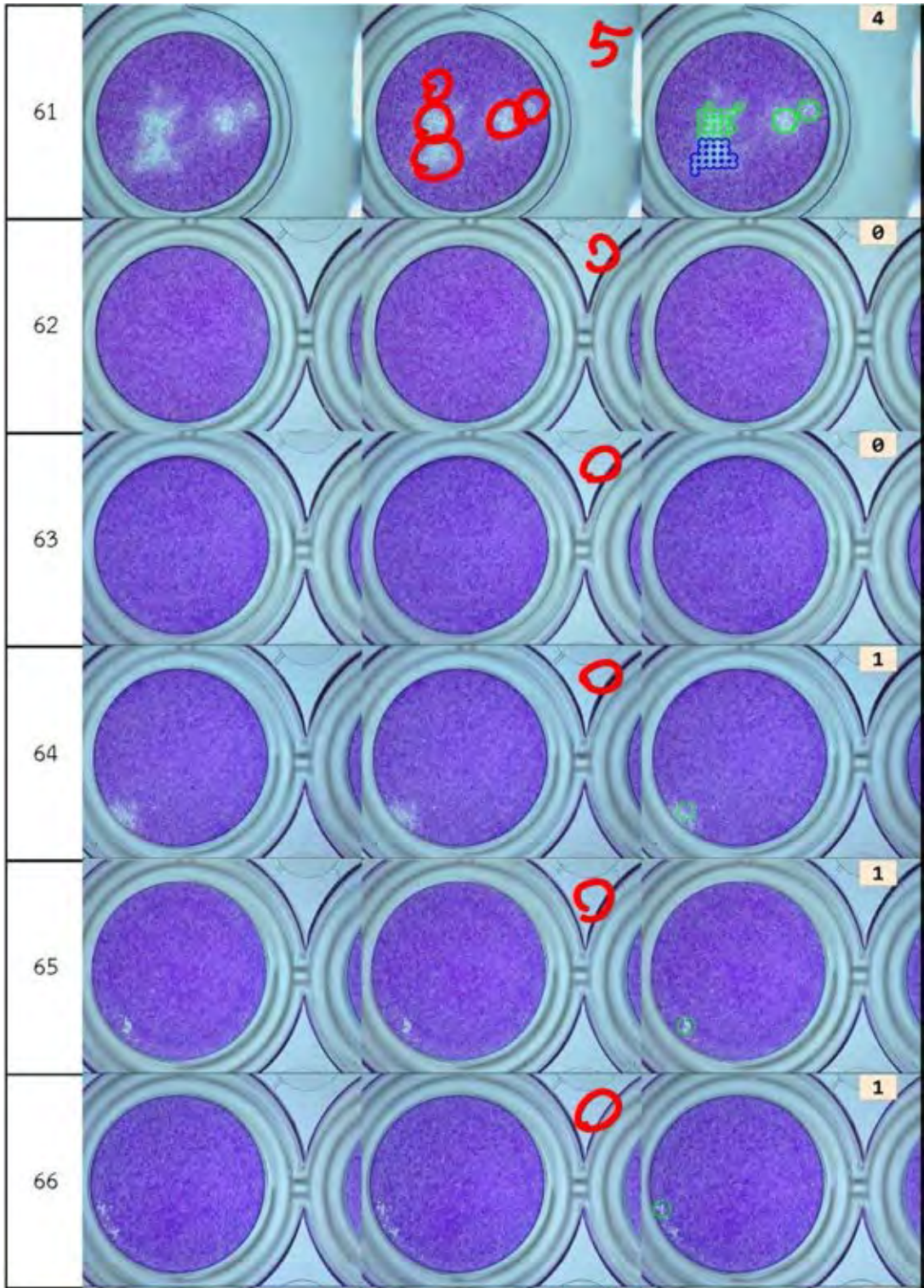




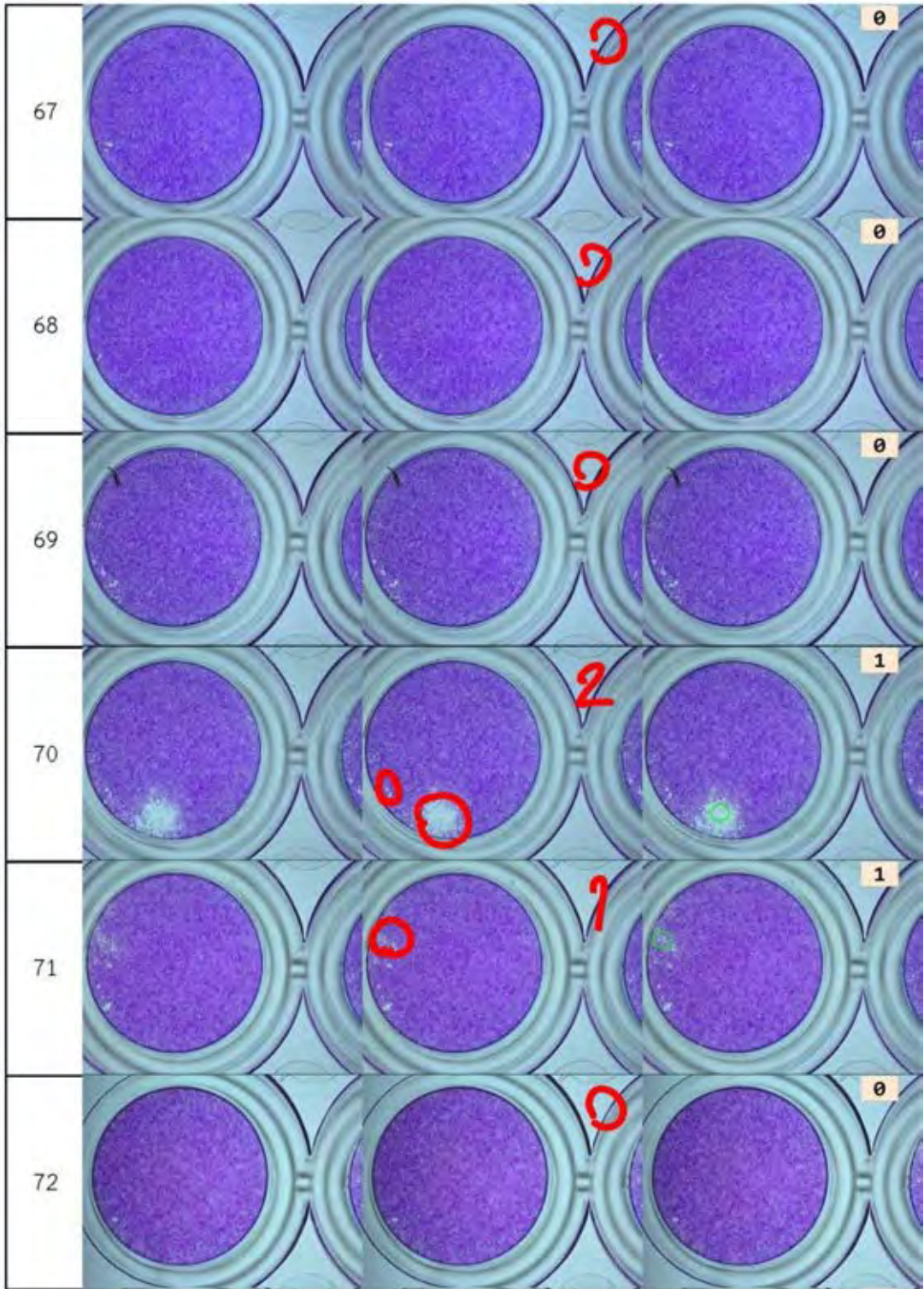




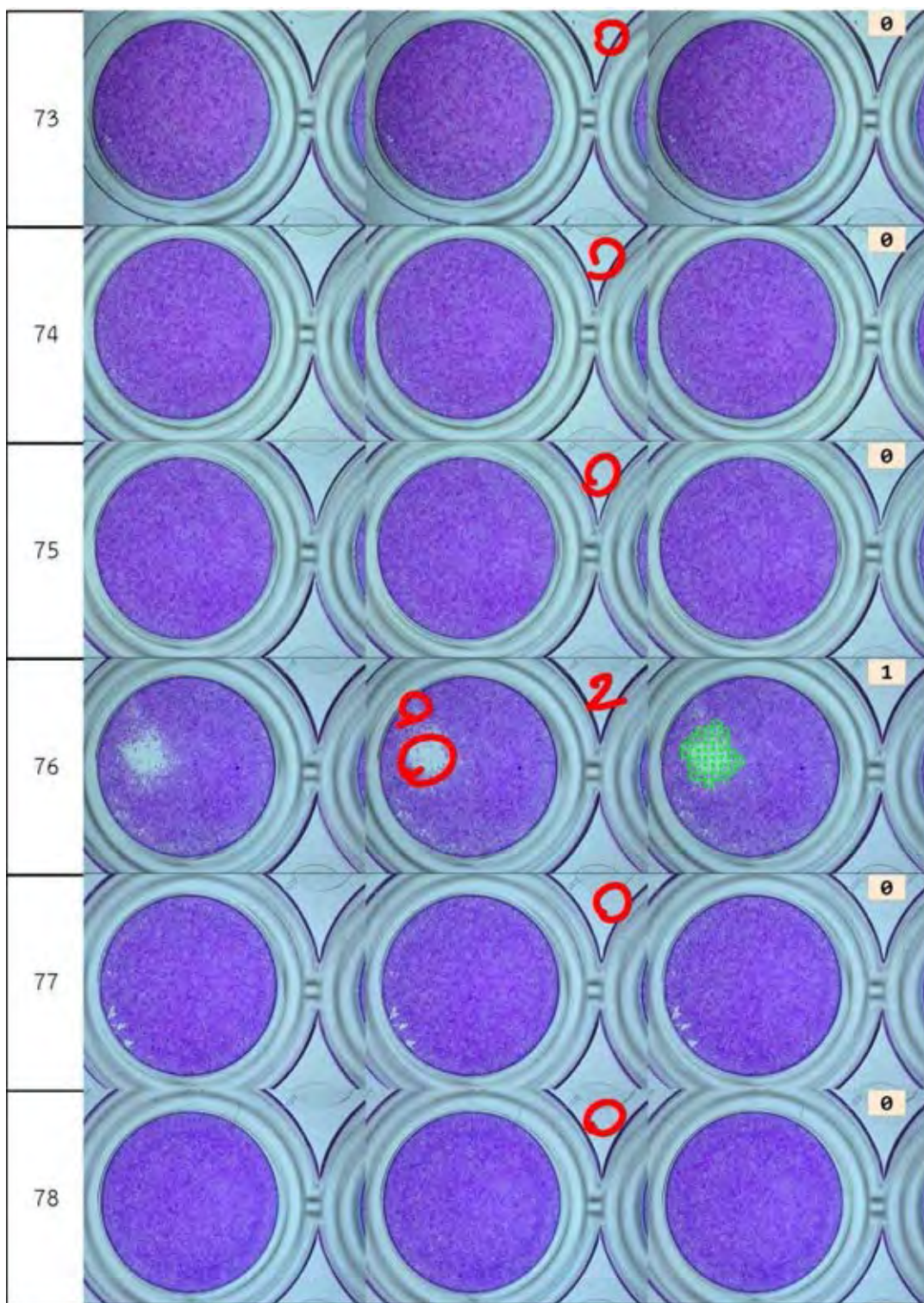




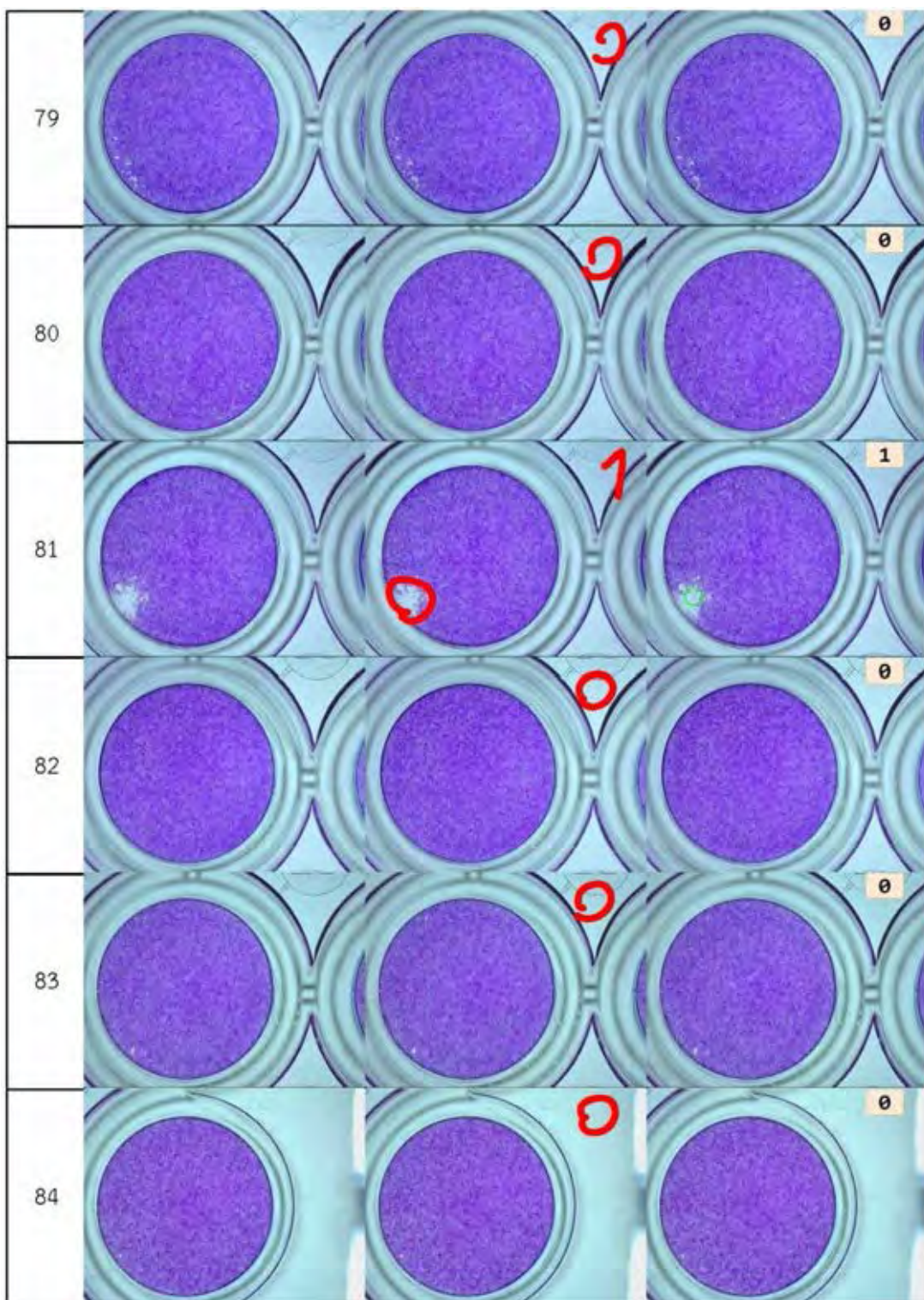




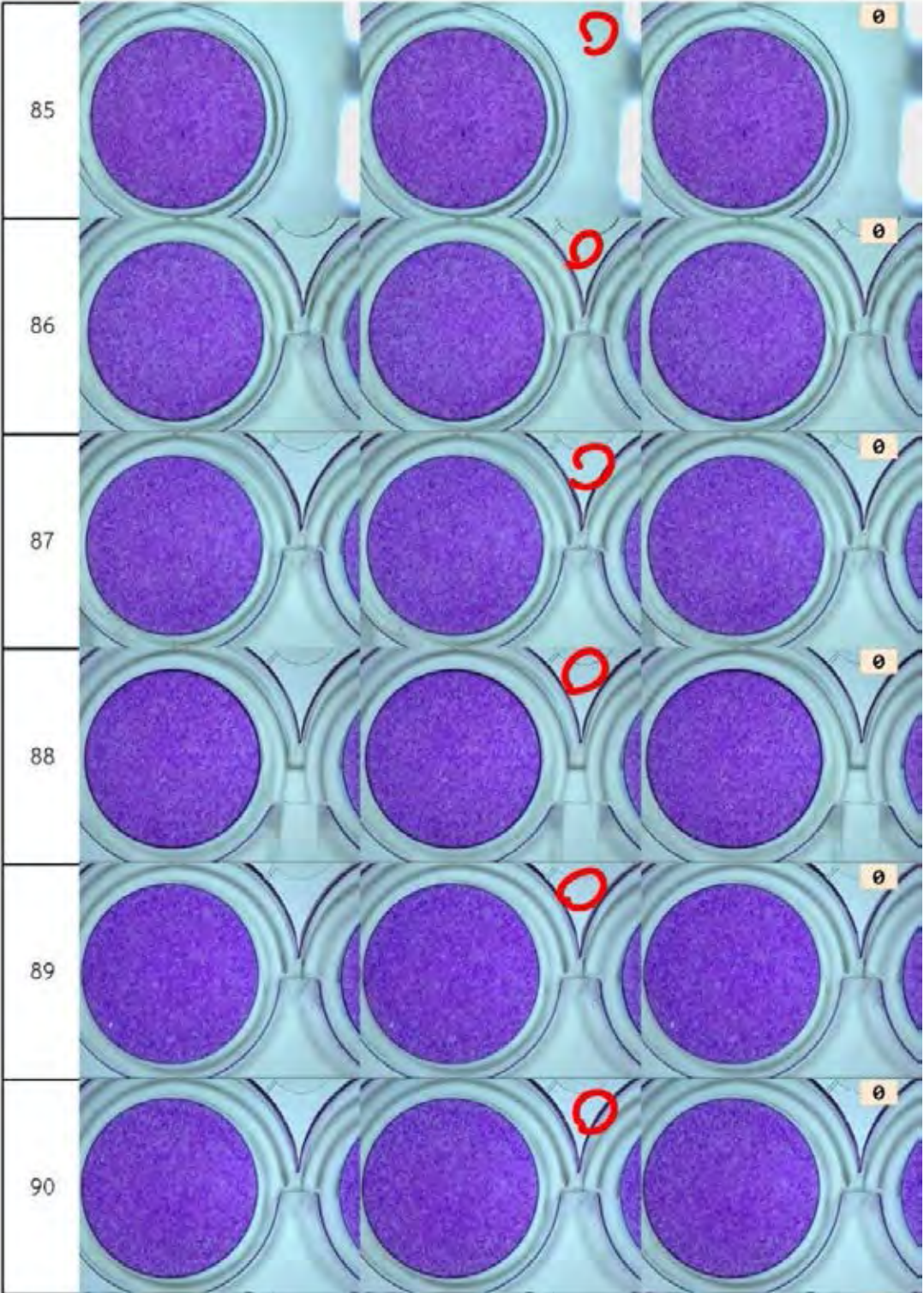


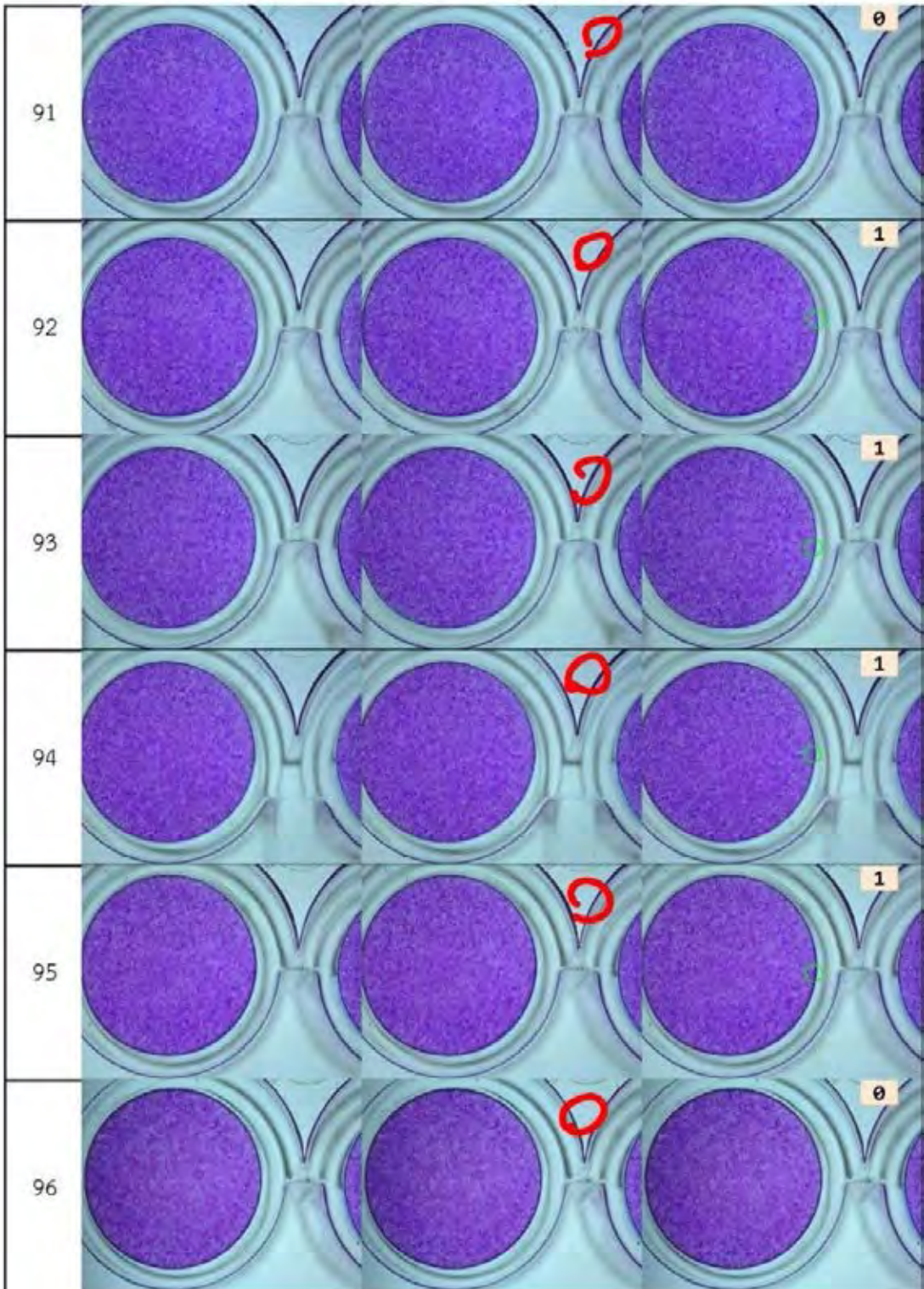














## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ปิ่นณวิชญ์ เปรมสัต์ยธรรม
วัน เดือน ปี เกิด	29 ตุลาคม 2535
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
วุฒิการศึกษา	คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
ที่อยู่ปัจจุบัน	55/1 หมู่ที่ 1 ต.ทรงคนอง อ.สามพราน จ.นครปฐม 73210
ผลงานตีพิมพ์	2018 3rd International Conference on Mechatronics and Electrical Systems (ICMES 2018)
รางวัลที่ได้รับ	-



3874745264

CD Thesisis 5970245121 thesisis / recv: 02082562 14:09:27 / seq: 26