



## การประยุกต์ใช้การประมวลผลภาพกับภาพจากกล้องจุลทรรศน์

### Applications of Digital Image Processing in Microscope Images

เยาวเรศ ศิริสถิตย์กุล<sup>1</sup>

#### บทคัดย่อ

บทความนี้กล่าวถึงการประยุกต์ใช้งานโปรแกรมประมวลผลภาพเพื่อวิเคราะห์คุณลักษณะส่วนประกอบ โครงสร้าง และพื้นผิวภาพจุลทรรศน์ กล้องจุลทรรศน์จำแนกได้เป็นกล้องจุลทรรศน์แสง กล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอน และกล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวอ่านส่องกราด เทคนิคที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์วัตถุในภาพ คือ การแบ่งส่วนภาพ ซึ่งสามารถดำเนินการโดยใช้งานการกำหนดค่าเทรชโฮล และการค้นหาขอบของวัตถุ ความก้าวหน้าในการวิจัยประมวลผลภาพจากกล้องจุลทรรศน์ประเภทต่าง ๆ บ่งชี้ว่า การวิเคราะห์คุณลักษณะ โครงสร้าง สัณฐาน หรือพื้นผิวสามารถดำเนินการได้อย่างมีประสิทธิภาพ

#### ABSTRACT

This article reviews the applications of digital image processing program in compositional, structural, and morphological characterizations of microscope images. Microscopes can be classified into optical microscopes, electron microscopes and scanning probe microscopes. The essential technique in the object analysis is the image segmentation which can be performed by the thresholding and the edge detection. The progress in research on different types of microscope images indicates that the characterization of composition, structure, and morphology can be effectively carried out.

**คำสำคัญ:** การประมวลผลภาพ ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ การแบ่งส่วนภาพ การกำหนดค่าเทรชโฮล การค้นหาขอบของวัตถุ

**Keywords:** Digital image processing, Microscope image, Image segmentation, Thresholding, Edge detection

<sup>1</sup> สำนักวิชาสารสนเทศศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ อ. ท่าศาลา จ.นครศรีธรรมราช 80161

## บทนำ

ในปัจจุบันการวิเคราะห์โครงสร้างส่วนประกอบ คุณสมบัติหรือพื้นผิวของสิ่งต่าง ๆ สามารถทำได้โดยใช้ภาพนิ่งจากกล้องดิจิทัล และกล้องจุลทรรศน์ หรือภาพต่อเนื่องจากกล้องวิดีโอ และกล้องโทรทัศน์วงจรปิด ซึ่งภาพถ่ายด้วยกล้องดิจิทัลนั้นได้รับความนิยมใช้งานอย่างแพร่หลาย แต่สำหรับงานทางด้านวิทยาศาสตร์ระดับจุลภาค การวิเคราะห์ตัวอย่างจำเป็นต้องใช้ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ เนื่องจากสามารถวิเคราะห์โครงสร้าง ส่วนประกอบ คุณสมบัติ หรือพื้นผิวในเชิงลึกได้ ในการวิเคราะห์ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ มีขอบเขตเกี่ยวข้องกับการคำนวณ ขนาด หรือการเปรียบเทียบความแตกต่างที่เกิดขึ้น จากการศึกษาวิจัยในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา ได้มีการนำเทคนิค กระบวนการ และอัลกอริทึมต่าง ๆ ในสาขาวิชาการประมวลผลภาพ (image processing) มาช่วยในการวิเคราะห์ข้อมูลภาพจุลทรรศน์เหล่านี้ ซึ่งกระบวนการประมวลผลภาพที่นำมาใช้งานมีทั้งแบบอัตโนมัติ และกึ่งอัตโนมัติ แต่ไม่ว่าจะใช้งานในแบบใด ก็พบว่า การประมวลผลภาพได้ทำให้การวิเคราะห์เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็วมากยิ่งขึ้น ซึ่งบทความนี้ได้กล่าวถึงกล้องจุลทรรศน์ วิธีประมวลผลภาพดิจิทัล และตัวอย่างการประยุกต์ใช้การประมวลผลภาพกับภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบต่าง ๆ

## กล้องจุลทรรศน์

กล้องจุลทรรศน์เป็นอุปกรณ์สำหรับดูภาพวัตถุที่มีขนาดเล็กเกินกว่ามองเห็นได้ด้วยตาเปล่า กล้องจุลทรรศน์สามารถแบ่งออกเป็นประเภทใหญ่ ๆ ได้ 3 ประเภท คือ กล้องจุลทรรศน์แสง (optical microscopes) ที่สามารถใช้ศึกษาวัตถุที่เล็กถึงระดับ 100 นาโนเมตร กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (electron

microscopes) และกล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวอ่านส่องกราด (scanning probe microscope) ที่สามารถใช้ศึกษาโครงสร้างขนาดต่ำกว่านาโนเมตรได้ (Geisse) ซึ่งมีหลักการทำงานที่แตกต่างกันดังแสดงในรูปที่ 1

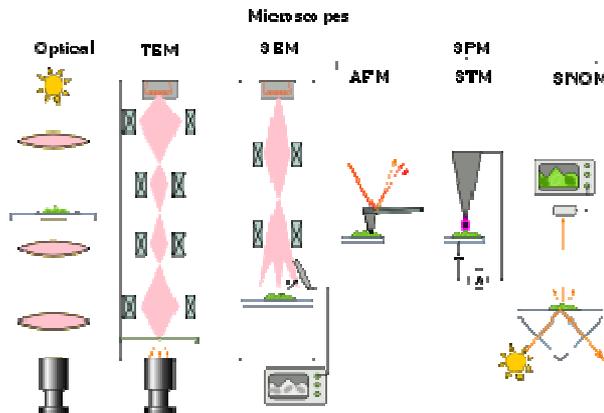
กล้องจุลทรรศน์แสงเป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้งานกันโดยทั่วไป อาศัยเลนส์เพื่อขยายภาพวัตถุที่วางในระนาบโฟกัสของเลนส์นั้น ๆ กล้องจุลทรรศน์แสงมีแบบต่าง ๆ ที่หลากหลายได้แก่ stereo microscope ใช้ส่องดูสิ่งมีชีวิตที่ไม่เล็กมาก เช่น แมลง โดยสามารถส่องดูเป็นภาพ 3 มิติ, dark field microscope ใช้การกระเจิงของแสงเพื่อสร้างภาพของวัตถุที่ใสไม่มีสีหรือย้อมสีติดยาก เช่น สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก หรือเนื้อเยื่อบางชนิด, phase contrast microscope ใช้การหักเหของแสงสะท้อนในการสร้างภาพวัตถุที่เป็นสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ ที่บางและโปร่งใส ไม่มีสี เช่น เนื้อเยื่อ เซลล์ และ fluorescence microscope ใช้งานในห้องวิจัยหรือห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล เพื่อศึกษาสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ที่มีคุณสมบัติสามารถเรืองแสงหรือเปล่งแสงเองได้ เมื่อได้รับพลังงานแสงจากแหล่งกำเนิดที่มีพลังงานสูง เช่น แสงอัลตราไวโอเลต

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังการขยายสูงถึงระดับล้านเท่า เพราะใช้ลำอิเล็กตรอนแทนแสงปกติ โดยลำอิเล็กตรอนซึ่งมีขนาดเล็กมากกระทบวัตถุทำให้เกิดสัญญาณสร้างภาพบนจอ และใช้สนามแม่เหล็กจากขดลวดพันรอบ ๆ แกนเหล็กอ่อนแทนเลนส์แสงในกล้อง ซึ่งสนามแม่เหล็กที่เกิดขึ้นเมื่อมีกระแสไฟฟ้าไหลผ่านขดลวดจะบีบลำอิเล็กตรอนไปสู่เป้าหมาย กล้องประเภทนี้เป็นกล้องที่ใช้ในการศึกษาโครงสร้าง และส่วนประกอบได้อย่างละเอียด ในปัจจุบันกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนมี 2 ชนิด ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscope) หรือเรียกว่า SEM

ใช้ศึกษาลักษณะพื้นผิววัตถุ โดยลำอิเล็กตรอนจะส่องกราดไปบนผิวของวัตถุ แล้วเกิดสัญญาณสร้างภาพที่เป็น 3 มิติ และ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (transmission electron microscope) หรือเรียกว่า TEM ใช้ศึกษาโครงสร้างภายใน โดยลำแสงอิเล็กตรอนจะส่องผ่านตัวอย่างที่ต้องการศึกษา ดังนั้นจึงต้องเตรียมตัวอย่างให้มีขนาดบางเป็นพิเศษ

กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวอ่านส่องกราดเป็นเครื่องมือที่ใช้ในงานนาโนเทคโนโลยี กล้องจุลทรรศน์

ประเภทนี้มีแบบที่ต่างกัน ได้แก่ scanning tunneling microscope หรือเรียกว่า STM ใช้สำหรับศึกษาพื้นผิวของโลหะในระดับอะตอม, atomic force microscope หรือเรียกว่า AFM สามารถใช้งานได้ด้วยตัวอย่างที่ไม่นำไฟฟ้า ซึ่งรวมถึงตัวอย่างทางชีวภาพ และ scanning near-field optical microscopy หรือเรียกว่า SNOM



รูปที่ 1 หลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์ประเภทต่าง ๆ (ที่มา: <http://en.wikipedia.org/wiki/Microscope>)

### การประมวลผลภาพดิจิทัล

การประมวลผลภาพดิจิทัลคือ เทคนิคกระบวนการ หรืออัลกอริทึมต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินการกับภาพดิจิทัล โดยมีจุดประสงค์หลักเพื่อให้ภาพมีคุณภาพดีขึ้น เหมาะสำหรับการนำไปประมวลผลในขั้นตอนต่อไป โดยส่วนใหญ่ การประมวลผลภาพจะประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ ที่เริ่มต้นจากกระบวนการรับภาพ กระบวนการทำให้ภาพมีความคมชัดมากขึ้นหรือการกำจัดสัญญาณรบกวน (noise) ภายในภาพ หากต้องการวิเคราะห์วัตถุในภาพ ก็จะต้องมีขั้นตอนการแบ่งส่วนภาพ (image segmentation) เพื่อแบ่งส่วนของวัตถุในภาพออกจาก

ฉากหลัง จากนั้นจึงจะสามารถวิเคราะห์และคำนวณข้อมูลเชิงปริมาณ เช่น ขนาด รูปทรง สี และทิศทางของวัตถุ เป็นต้น ดังนั้นหากนำข้อมูลเชิงปริมาณเหล่านี้ไปวิเคราะห์และสร้างเป็นระบบ ก็จะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่าง ๆ ได้ เช่น การคัดแยกเกรดหรือคุณภาพของพืชผลทางการเกษตร เช่น ระบบคัดแยกส้มโชกุน (Sirisathitkul et al., 2006) และการวัดความแก่ของส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง (Wattanavicheanand and Aroonyadet, 2005) เป็นต้น การวิเคราะห์ภาพในงานด้านการแพทย์ เช่น การวิเคราะห์ต่อมทอนซิลโดยใช้กระบวนการประมวลผลภาพและโครงข่ายประสาทเทียม (Leelasantitham and Kiattisin, 2009) และการวิเคราะห์ภาพเรตินาด้วยกระบวนการ

mathematical morphology (Sopharak et al., 2011) เป็นต้น การวิเคราะห์ภาพในงานอุตสาหกรรม เช่น การตรวจหา bump ใน flip-chip โดยใช้ fuzzy filtering และการประมวลผลภาพ (Karnpracha et al., 2007) ระบบเหล่านี้จำเป็นต้องมีการประมวลผลภาพเป็นจำนวนมาก และเป็นกระบวนการที่ดำเนินการซ้ำ ๆ ซึ่งการวิเคราะห์ด้วยสายตาคงใช้เวลาเป็น การสิ้นเปลืองแรงงาน และหากต้องวิเคราะห์ภาพเป็น จำนวนมาก เป็นเหตุให้ผู้ตรวจสอบเกิดอาการล้าและ ส่งผลให้มีความผิดพลาดเกิดขึ้นได้

การแบ่งส่วนภาพเป็นการดำเนินการซึ่งทำให้ สามารถแยกข้อมูลภาพในส่วนที่ต้องการออกจากส่วน อื่น ๆ วิธีที่สะดวกที่สุดคือ การแบ่งส่วนภาพโดยใช้งาน การกำหนดค่าเทรชโฮล (threshold) ซึ่งเป็นค่าความ เข้มที่มีค่าคงที่ และสามารถแบ่งแยกความแตกต่างของ วัตถุและฉากหลังได้ ดังนั้นเมื่อนำไปประยุกต์ใช้กับ ภาพโทนสีเทา (gray scale image) ก็จะทำให้ได้โดยการ นำค่าความเข้มของแต่ละพิกเซลในภาพมาเปรียบเทียบกับ ค่าเทรชโฮล หากความเข้มของพิกเซลนั้นมีค่าสูงกว่า ค่าเทรชโฮล ก็จะกำหนดให้พิกเซลนั้นในภาพผลลัพธ์มี ค่า 1 แต่ถ้าไม่ใช้ก็จะกำหนดเป็น 0 ดังนั้นจึงเรียกภาพ ผลลัพธ์ว่าภาพไบนารี (binary image)

การแบ่งส่วนภาพอีกวิธีหนึ่งที่เป็นที่นิยม คือ การค้นหาขอบของวัตถุ (edge detection) เป็นการ ค้นหาเส้นรอบวัตถุที่อยู่ในภาพ เมื่อทราบเส้นรอบวัตถุ ก็จะสามารถคำนวณค่าต่าง ๆ เช่น พื้นที่ เส้นผ่าน ศูนย์กลาง ความเบี้ยว (eccentricity) หรือนำไปใช้ในการ รู้จำชนิดของวัตถุ นั้น ๆ ได้ การดำเนินการนี้จะต้อง กำหนดเทมเพลต (template) สำหรับใช้ในการ พิจารณาหาขอบ ซึ่งเทมเพลตที่นิยมใช้งานมีขนาดต่าง ๆ กัน เช่น 2x2, 3x3, 5x5 เป็นต้น โดยที่ตัวดำเนินการ ค้นหาขอบภาพ (edge detector) แต่ละตัวจะมีเทม

เพลตและสัมประสิทธิ์ที่แตกต่างกัน ตัวอย่างตัว ดำเนินการค้นหาขอบภาพที่นิยมใช้งานได้แก่ Canny, laplacian of gaussian (LoG), Prewitt, Roberts และ Sobel เป็นต้น ซึ่งภาพผลลัพธ์ที่ได้จาก กระบวนการนี้ประกอบด้วยพิกเซลต่าง ๆ ที่ประกอบ กันเป็นขอบของวัตถุในภาพ

โดยทั่วไป ระบบที่ใช้งานการดำเนินการ ประมวลผลภาพมีทั้งแบบระบบอัตโนมัติ (automatic system) นั่นคือการดำเนินการทั้งหมดจะเกิดขึ้นโดย ระบบเองและไม่ต้องให้ผู้ใช้งานเข้าไปเกี่ยวข้อง ดังนั้น ระบบนี้จึงต้องมีกระบวนการและมีอัลกอริทึมการ ประมวลผลภาพหรือการวิเคราะห์ภาพที่ค่อนข้าง ซับซ้อน แต่สำหรับระบบกึ่งอัตโนมัติ (semi-automatic system) จะอนุญาตให้ผู้ใช้งานสามารถ ระบุข้อมูลอื่น ๆ เพิ่มเติมได้ระหว่างประมวลผล เช่น จำนวนวัตถุในภาพ และตำแหน่งของวัตถุแต่ละชิ้น เป็น ต้น ดังนั้นโปรแกรมก็จะสามารถดำเนินการในส่วนที่ เหลือได้อย่างถูกต้อง

### การประมวลผลภาพจุลทรรศน์แสง

ในช่วงแรกที่มีการนำเทคนิคการประมวลผล ภาพมาประยุกต์ใช้กับภาพจุลทรรศน์นั้น โดยส่วน ใหญ่จะเกี่ยวข้องกับการปรับปรุงคุณภาพของภาพ เพื่อ กำจัดสัญญาณรบกวนและ image restoration และ เป็นการกรองข้อมูลภาพ (Bonnet, 2004) แต่หลังจาก ที่กล้องจุลทรรศน์สามารถจัดเก็บข้อมูลเป็นภาพดิจิทัล และโปรแกรมคอมพิวเตอร์มีความสามารถในการ ประมวลผลกับภาพขนาดใหญ่ภายในเวลาอันรวดเร็วได้ จึงทำให้มีการพัฒนาการประยุกต์ใช้การประมวลผล ภาพจุลทรรศน์กันอย่างกว้างขวาง

Santis et al. (2008) นำเสนอการ ประมวลผลภาพโดยใช้งาน image processing

toolbox ในซอฟต์แวร์ MatLab สำหรับการคำนวณพารามิเตอร์ต่าง ๆ เพื่อวิเคราะห์สัญญาณของอนุภาคกราฟไฟต์ในเหล็กหล่อ เริ่มต้นจากการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์แสง และนำภาพที่ได้มาเข้าสู่กระบวนการแบ่งส่วนภาพ ซึ่งภาพผลลัพธ์ที่ได้จากการดำเนินการประกอบด้วยวัตถุและฉากหลังที่แบ่งแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน จากนั้นดำเนินการด้วยอัลกอริทึมสำหรับการค้นหาขอบของวัตถุ ซึ่งในงานชิ้นนี้ ใช้งานตัวดำเนินการค้นหาขอบภาพต่าง ๆ ดังนี้คือ Sobel, Canny และ LoG ดังนั้นเมื่อสามารถสร้างภาพที่ประกอบด้วยเส้นขอบของวัตถุต่าง ๆ ได้แล้ว จึงใช้งาน active contour method เพื่อทำให้เส้นขอบของวัตถุต่าง ๆ มีความคมชัดและมีความต่อเนื่องมากขึ้น จากนั้นใช้งาน image processing toolbox ในการคำนวณพารามิเตอร์ต่าง ๆ เกี่ยวกับรูปร่างของวัตถุจากภาพผลลัพธ์ ซึ่งพารามิเตอร์ที่นำมาใช้ในงานชิ้นนี้ คือ พื้นที่ ความเบี้ยว และ solidity ซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่างพื้นที่และ convex area ของวัตถุ

Wang et al. (2010) ได้นำเสนอวิธีการประมวลผลภาพซึ่งนำมาประยุกต์ใช้กับภาพจุลทรรศน์แสงของฟิล์มบางไทเทเนียมที่เคลือบบนแก้ว เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสัญญาณด้วยวิธี digital image correlation method (DICM) ดังแสดงในรูปที่ 2 โดยเริ่มต้นด้วยการถ่ายภาพฟิล์มบางไทเทเนียมที่มีความหนา 150 นาโนเมตรด้วยกล้องจุลทรรศน์แสง จากนั้นดำเนินการค้นหาขอบของวัตถุด้วยตัวดำเนินการค้นหาขอบภาพ Roberts ซึ่งเป็นเทมเพลตขนาด  $2 \times 2$  เพื่อสร้างภาพเส้นขอบของวัตถุต่าง ๆ ในภาพ โดยที่เส้นขอบของวัตถุที่มีการเปลี่ยนแปลงโทนาสีก่อนข้างสูงจะทำให้เกิดความต่อเนื่องของเส้นขอบ จากนั้นนำภาพที่ได้มาคำนวณค่าเทรซโฮล และนำค่าเทรซโฮลที่ได้มาดำเนินการกับภาพเพื่อสร้างภาพไบนารี

ซึ่งในขั้นตอนนี้ทำให้สามารถกำจัดพิกเซลที่ไม่ได้เป็นสมาชิกของเส้นขอบของวัตถุได้ นำภาพไบนารีที่ได้ไปดำเนินการ Gaussian filter กับทุก ๆ ตำแหน่งพิกเซลและประมวลผลด้วยการดำเนินการเทรซโฮลอีกครั้ง ซึ่งในขั้นตอนนี้ พิกเซลใดที่มีค่าสูงกว่าค่าเทรซโฮลจะถูกกำหนดเป็นสีขาว และ พิกเซลใดที่มีค่าต่ำกว่าค่าเทรซโฮลจะถูกกำหนดเป็นสีดำ ดังนั้นภาพผลลัพธ์ที่ได้จึงเป็นภาพไบนารีที่มีเส้นขอบของบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และนำไปใช้ในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสัญญาณได้ต่อไป

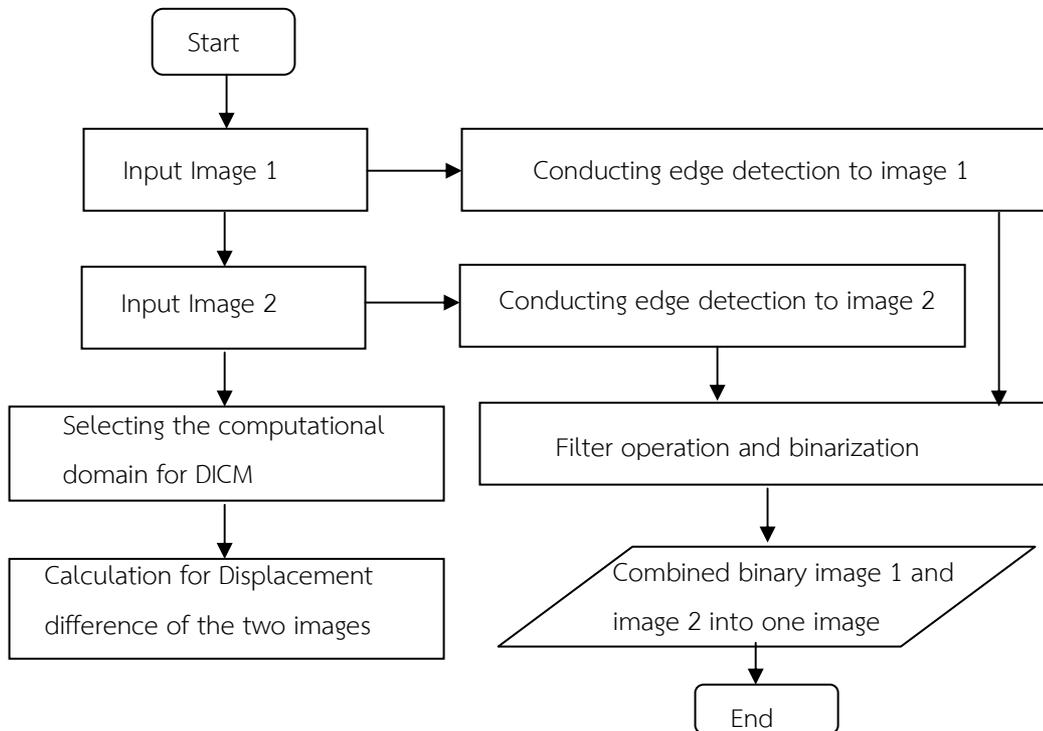
Phromsuwan et al. (2012A) ได้ประยุกต์ใช้เทคนิคการประมวลผลภาพโดยใช้งาน image processing toolbox ในซอฟต์แวร์ MatLab เพื่อศึกษาแพทเทิร์นแม่เหล็กระดับไมโครที่สังเคราะห์ด้วยกระบวนการ X-Ray lithography โดยได้ทำการเปรียบเทียบอัลกอริทึมสำหรับการค้นหาขอบของวัตถุต่าง ๆ กับภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แสง เพื่อค้นหาตัวดำเนินการค้นหาขอบภาพที่เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในงานนี้ ดังแสดงในรูปที่ 3 ซึ่งกระบวนการนี้เริ่มต้นจากการใช้งานภาพสี RGB ดังนั้นเพื่อให้สามารถนำมาใช้งานในกระบวนการแบ่งส่วนภาพ จึงต้องทำการแปลงให้เป็นภาพโทนาสีก่อน จากนั้นใช้งานอัลกอริทึมสำหรับการค้นหาขอบของวัตถุ ภาพผลลัพธ์ที่ได้จากขั้นตอนนี้เป็นภาพไบนารีซึ่งประกอบด้วยเส้นขอบของวัตถุต่าง ๆ เปรียบเทียบเมื่อใช้ตัวดำเนินการค้นหาขอบภาพแบบต่าง ๆ ได้แก่ Canny, LoG, Prewitt, Roberts และ Sobel จากนั้นขั้นตอนต่อไปจึงเป็นการดำเนินการระบายพื้นที่ภายในวัตถุ ซึ่งภาพผลลัพธ์ที่ได้จะถูกนำไปใช้ในการนับจำนวนวัตถุทั้งหมดภายในภาพ ดังแสดงในรูปที่ 4 ค่าที่คำนวณได้จากโปรแกรมระบุว่า ควรใช้งานตัวดำเนินการค้นหา

ขอบภาพ LoG ในการตรวจจับเส้นขอบของวัตถุสำหรับ  
ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แสง

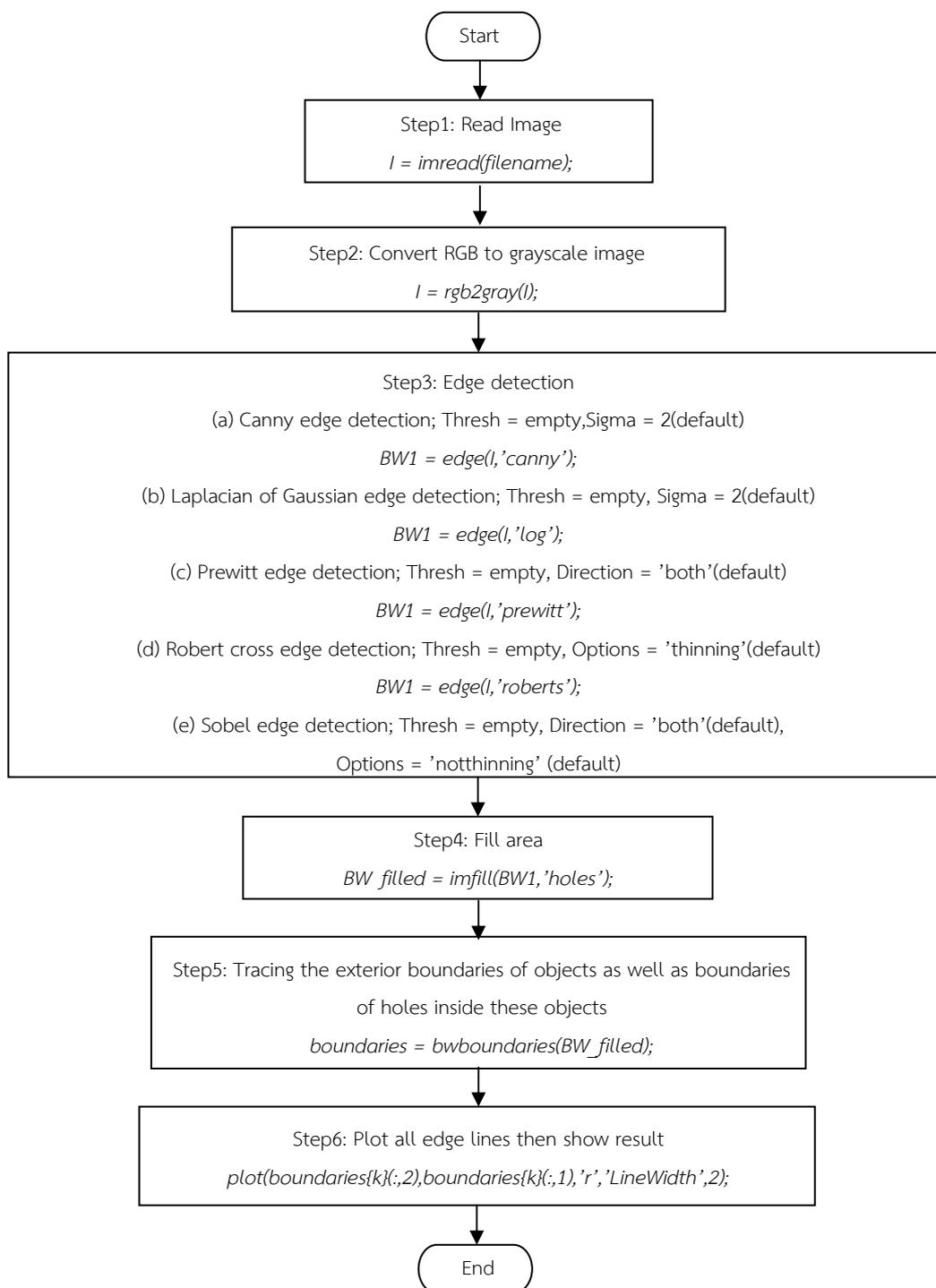
### การประมวลผลภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด ส่องกราด (SEM)

Midoh et al. (2007) ได้ใช้งาน scale space กับภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดที่มีสัญญาณรบกวน เพื่อวัดขนาดวัตถุตามขั้นตอนในรูปที่ 5 เริ่มต้นด้วยการระบุวัตถุในภาพ จากนั้นประมาณสัญญาณรบกวนที่เกิดขึ้นในภาพโดยใช้ 2-way ANOVA

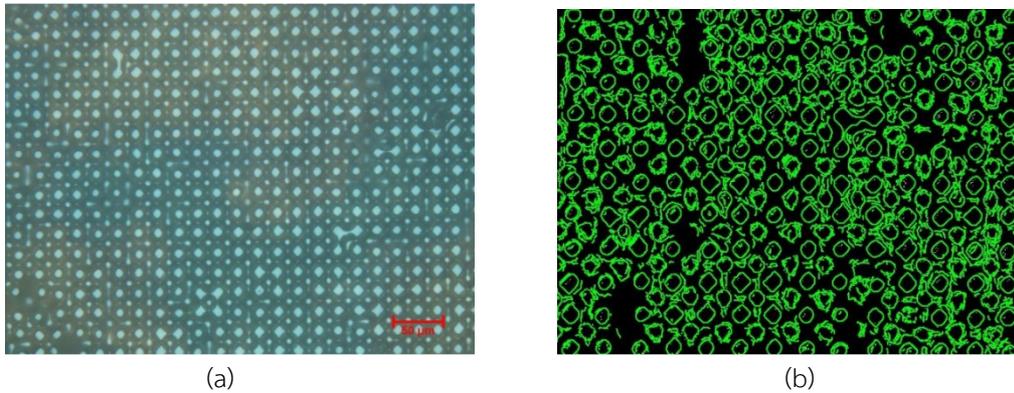
และสร้าง gaussian and gradient scale space ขั้นตอนต่อไปทำการกำหนดจุดเริ่มต้นของขอบวัตถุสำหรับการทำ edge tracking จากนั้นดำเนินการ edge tracking และวัดขนาดของวัตถุ นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับภาพเดียวกันที่ประมวลผลด้วยตัวดำเนินการค้นหาขอบภาพ Canny ซึ่งพบว่าวิธีที่คณณะของ Midoh นำเสนอมีประสิทธิภาพเหนือกว่าตัวดำเนินการค้นหาขอบภาพ Canny ในเรื่องการกำจัดสัญญาณรบกวนและความถูกต้องในการตรวจจับเส้นขอบ



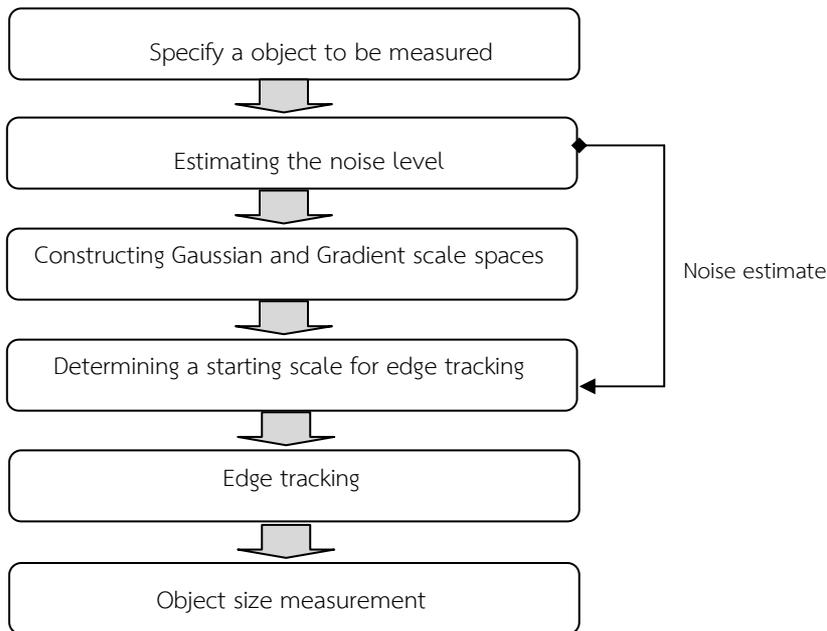
รูปที่ 2 ลำดับวิธีของการประมวลผลภาพ (ดัดแปลงจาก: Wang et al., 2010)



รูปที่ 3 แผนภาพแสดงขั้นตอนต่าง ๆ ในโปรแกรมประมวลผลภาพซึ่งใช้งานอัลกอริทึมสำหรับการค้นหาขอบของวัตถุต่าง ๆ (ดัดแปลงจาก: Phromsuwan et al., 2012A)



รูปที่ 4 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสงของแพทเทิร์นแม่เหล็กระดับไมโคร (a) ก่อนประมวลผล (b) ภายหลังจากประมวลผล (ที่มา: Phromsuwan et al., 2012A)



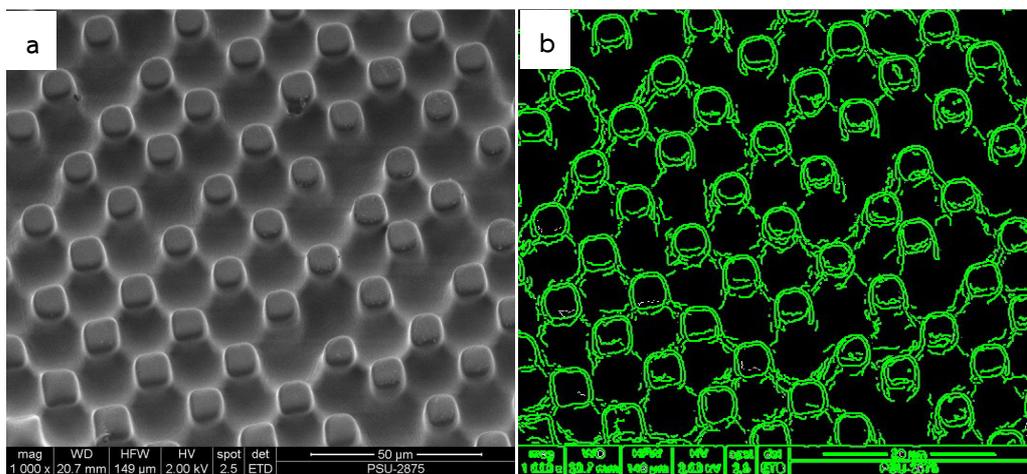
รูปที่ 5 ภาพรวมของอัลกอริทึมการวัดขนาด (ดัดแปลงจาก: Midoh et al., 2007)

Mogireddy et al. (2011) ได้ใช้งาน support vector machines (SVM) ในการเลือก อัลกอริทึมการแบ่งส่วนภาพที่เหมาะสมสำหรับการใช้ งานกับภาพ particulate matter (PM) กระบวนการ ประมวลผลภาพที่ใช้ประกอบด้วย 5 ขั้นตอนดังนี้ ขั้นตอนที่ 1 เริ่มจากการอ่านข้อมูลภาพ (image reading) ซึ่งภาพที่นำมาใช้เป็นภาพจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดขนาด  $M \times N$  พิกเซล ขั้นตอนที่

ที่ 2 เป็นการประมวลผลเบื้องต้น (preprocessing) ซึ่ง ประกอบด้วยการกำจัดสัญญาณรบกวน โดยที่สัญญาณ รบกวนที่เกิดขึ้นในภาพมีลักษณะเป็นจุด เส้น และรอย ขนาดเล็ก การกำจัดสัญญาณรบกวนทำได้โดยการใช้ งาน median filter จากนั้นทำให้ภาพคมชัดเพื่อทำให้ วัตถุและฉากหลังมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ขั้นตอนที่ 3 เป็นการแบ่งส่วนภาพด้วยการใช้งานตัว ดำเนินการค้นหาขอบภาพ Sobel ดังนั้นจึงสามารถ

ระบุบริเวณของวัตถุและเส้นขอบของวัตถุได้ ขั้นตอนที่ 4 คือการสกัดคุณลักษณะ (feature extraction) ซึ่งเริ่มต้นด้วยการใช้งานอัลกอริทึม connected component labeling เพื่อกำหนดหมายเลขให้กับวัตถุแต่ละชิ้น จากนั้นคำนวณขนาด พื้นที่ และคุณลักษณะอื่น ๆ แต่เนื่องจากวัตถุมีรูปร่างที่ผิดปกติ จึงต้องคำนวณค่าพารามิเตอร์ shape factor หรือ form factor (ff) ซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ของวัตถุและเส้นรอบรูป ขั้นตอนที่ 5 ได้แก่การแทนข้อมูล (representation) โดยใช้งานวิธีทางสถิติ เช่น แทนข้อมูลในรูปแบบกราฟ ฮิสโตแกรม และตาราง นอกจากนี้ บทความนี้ยังได้กล่าวถึงซอฟต์แวร์ในเชิงพาณิชย์ที่ใช้งานกับภาพ SEM สำหรับการวิเคราะห์คุณลักษณะของ PM และกล่าวถึงข้อดีข้อเสียของซอฟต์แวร์เหล่านี้

Phromsuwan et al. (2012A) ประยุกต์ใช้เทคนิคการประมวลผลภาพโดยใช้งาน image processing toolbox ในซอฟต์แวร์ MatLab เพื่อศึกษาแพทเทิร์นแม่เหล็กในระดับไมโครที่สังเคราะห์ด้วยกระบวนการ X-ray lithography โดยได้ทำการเปรียบเทียบอัลกอริทึมสำหรับการค้นหาขอบของวัตถุต่าง ๆ กับภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM) เพื่อค้นหาตัวดำเนินการค้นหาขอบภาพที่เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในงานนี้ ดังแสดงในรูปที่ 6 ซึ่งมีกระบวนการเดียวกันกับที่อธิบายข้างต้น และผลของการเปรียบเทียบสรุปได้ว่า ควรใช้งานตัวดำเนินการค้นหาขอบภาพ Canny และ LoG ในการตรวจจับเส้นขอบของวัตถุสำหรับภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด



รูปที่ 6 ภาพ SEM ของแพทเทิร์นแม่เหล็กในระดับไมโคร (a) ก่อนประมวลผล (b) ภายหลังจากประมวลผล (ที่มา:

Phromsuwan et al., 2012A)

### การประมวลผลภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (TEM)

Ortalan et al. (2009) นำเทคนิคในการประมวลผลภาพมาประยุกต์ใช้งาน เพื่อศึกษาขอบเกรนและอนุภาคนาโน (nanoparticles) จากภาพคอน-

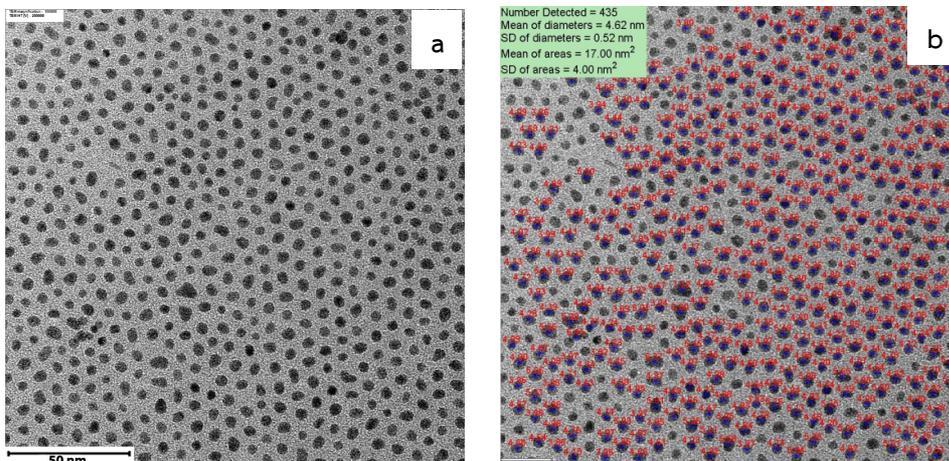
ทราสต์ต่ำ (low-contrast image) ของวัสดุที่มีความหนาไม่สม่ำเสมอ โดยนำภาพถ่าย STEM จุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของซูเปอร์คอนดักเตอร์ที่มีอนุภาคในระดับนาโนเมตรมาทำการวิเคราะห์ ซึ่งเทคนิคการประมวลผลภาพเริ่มต้นด้วยการดำเนินการ

ค้นหาขอบของวัตถุด้วยตัวดำเนินการค้นหาขอบภาพ Sobel, Prewitt, Kirsch, Frei-chen จากภาพผลลัพธ์พบว่า การดำเนินการค้นหาขอบของวัตถุด้วยตัวดำเนินการค้นหาขอบภาพ Sobel ให้ผลลัพธ์ดีกว่าวิธีอื่น ๆ หลังจากนั้นนำภาพที่ได้ไปประมวลผลด้วย LoG เพื่อกำจัดสัญญาณรบกวน จากนั้นนำภาพที่ได้มาปรับความเข้มภายในภาพด้วยกระบวนการ non-uniform illumination (NUI) และเพื่อทำให้เส้นขอบของวัตถุในภาพมีความคมชัดมากขึ้น จึงดำเนินการด้วย image sharpening ผลการทดลองระบุได้ว่า เมื่อประยุกต์ใช้เทคนิคการประมวลผลภาพเหล่านั้น ทำให้สามารถวัดขนาด คำนวณความหนาแน่น และระบุตำแหน่งของอนุภาคนาโนได้ และสามารถระบุขอบเกรนได้

Wojcik and Krapf (2011) ใช้งานซอฟต์แวร์ MatLab ในการนำเสนอขั้นตอนการประมวลผลภาพซึ่งใช้งาน Shannon entropy ในการดำเนินการค้นหาขอบของวัตถุ เพื่อสร้างระบบซึ่งสามารถรู้จำและวัดขนาดของรูพรุนในระดับนาโน (nanopore) แบบเรียลไทม์และเป็นการดำเนินการแบบอัตโนมัติ ซึ่งขั้นตอนการดำเนินการค้นหาขอบของวัตถุ ตรวจจับเส้นขอบของรูพรุนในระดับนาโนในภาพถ่ายจากกล้อง-

จุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านนั้น ดำเนินการโดยใช้งาน Shannon entropy filter ซึ่งเป็นเทมเพลตสำหรับใช้ในการคำนวณค่า Shannon entropy ของพิกเซลที่อยู่ในบริเวณขนาด 19x19 ผลลัพธ์ของกระบวนการนี้คือ entropy image หลังจากนั้นประมวลผลกับ entropy image อีกครั้งด้วย Gaussian filter เพื่อกำจัดสัญญาณรบกวน และดำเนินการขั้นตอนการแบ่งส่วนภาพโดยใช้งานการกำหนดค่าเทรชโฮลด้วยวิธี automatic thresholding ซึ่งภาพผลลัพธ์ที่ได้เป็นภาพไบนารีประกอบด้วยเส้นขอบต่าง ๆ และสามารถนำไปใช้ในการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้

Phromsuwan et al. (2012B) ประยุกต์ใช้เทคนิคการประมวลผลภาพโดยใช้งาน image processing toolbox ในซอฟต์แวร์ MatLab เพื่อศึกษาอนุภาคแม่เหล็กนาโนเหล็กพลาตินัมที่สังเคราะห์จากปฏิกิริยาเคมี โดยใช้งานตัวดำเนินการค้นหาขอบภาพ Canny สำหรับการค้นหาขอบของวัตถุกับภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (TEM) ดังแสดงในรูปที่ 7 และสามารถคำนวณการกระจายขนาดของอนุภาคได้



รูปที่ 7 ภาพ TEM ของอนุภาคแม่เหล็กนาโน (a) ก่อนประมวลผล (b) ภายหลังจากประมวลผล (ที่มา: Phromsuwan et al., 2012B)

## บทสรุป

การประมวลผลภาพดิจิทัลเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ภาพได้หลากหลายประเภท ทั้งภาพทางด้านทางการแพทย์ การแพทย์ อุตสาหกรรม และด้านวิทยาศาสตร์ เป็นต้น จากการศึกษาพบว่า การประยุกต์ใช้งานเทคนิคการประมวลผลภาพกับภาพจุลทรรศน์ของวัสดุระดับนาโน และไมโคร สามารถช่วยในการวิเคราะห์โครงสร้าง สัณฐาน คุณสมบัติ หรือพื้นผิว โดยใช้การวัดพื้นที่ ความเบี่ยง เส้นขอบของวัตถุ เป็นต้น ซึ่งสามารถช่วยให้การดำเนินการมีประสิทธิภาพมากขึ้นได้ ในปัจจุบันยังคงมีช่องทางในการพัฒนาเทคนิคประมวลผลภาพให้ใช้งานได้กับภาพจุลทรรศน์กำลังขยายสูง ซึ่งอาจมีความคมชัดต่ำ การลดข้อจำกัดต่าง ๆ เหล่านี้จะนำไปสู่การประยุกต์ใช้งานที่หลากหลายและแพร่หลายมากยิ่งขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

- Bonnet, N. (2004). Some trends in microscope image processing. *Micron* 35(8): 635-653.
- Geisse, N. AFM and Combined Optical Techniques. Asylum Research, แหล่งข้อมูล: <http://www.asylumresearch.com/Application/s/CombinedAFMOptical/CombinedAFMOptical.shtml>. ค้นเมื่อวันที่ 11 กันยายน 2555.
- Karnpracha, S., Seanton, A. and Kaitwanidvilai, S. (2007). A nondestructive bump inspection in flip chip component using fuzzy filtering and image processing. *ECTI Transactions on Electrical Engineering. Electronics and Communications* 5(2): 103-108.
- Leelasantitham, A. and Kiattisin, S. (2009). A diagnosis of tonsillitis using image processing and neural network. *International Journal of Applied Biomedical Engineering* 2(2): 36-42.
- Midoh, Y., Nakamae, K. and Fujioka, H. (2007). Object size measurement method from noisy SEM images by utilizing scale space. *Measurement Science and Technology* 18(3): 579-591.
- Mogireddy, K., Devabhaktuni, V., Kumar, A., Aggarwal, P. and Bhattacharya, P. (2011). A new approach to simulate characterization of particulate matter employing support vector machines. *Journal of Hazardous Materials* 186(2-3): 1254-1262.
- Ortalan, V., Herrera, M., Morgan, D.G., Browning, N.D. (2009). Application of image processing to STEM tomography of low-contrast materials. *Ultramicroscopy* 110(1): 67-81.
- Phromsuwan, U., Sirisathitkul, C., Sirisathitkul, Y. and Sriphung, C. (2012A). Implementation of edge detection algorithms to characterize magnetic micropillars patterned by X-ray lithography. *International Journal of Physical Sciences* 7(12): 1959-1966.
- Phromsuwan, U., Sirisathitkul, C., Sirisathitkul, Y. and Uyyanonvara, B. (2012B). Application of image processing to determine size distribution of magnetic nanoparticles. In: *The 19th International Conference on Magnetism* 8-13 July 2012. Busan, Korea.
- Santis, A.D., Bartolomeo, O.D., Iacoviello, D. and Iacoviello, F. (2008). Quantitative shape evaluation of graphite particles in ductile iron. *Journal of Materials Processing Technology* 196(1-3): 292-302.
- Sirisathitkul, Y., Thumpen, N. and Puangtong, W. (2006). Automated Chokun orange maturity sorting by color grading. *Walailak Journal of Science and Technology* 3(2):195-205.
- Sopharak, A., Uyyanonvara, B. and Barman, S. (2011). Automatic microaneurysm detection from

- non-dilated diabetic retinopathy retinal images using mathematical morphology methods. *IAENG International Journal of Computer Science* 38(3): 295-301.
- Wang, S.B., Fang, Y.Z., Jia, H.K., Li, L.A., Wang, Z.Y. and Zhang, S.J. (2010). A new application of digital image processing to investigate thin compressed films: The measurement of buckling propagation. *Optics and Lasers in Engineering* 48(11): 1140-1144.
- Wattanavicheanand, K. and Aroonyadet, N. (2005) Assessment of fruit maturity in Kao Nampheung pummelo using image processing of oil grands. *Thai Journal of Agricultural Science* 36(2): 129-140.
- Wojcik, T.R. and Krapf, D. (2011). Solid-state nanopore recognition and measurement using Shannon entropy. *IEEE Photonics Journal* 3(3): 337-343.

