



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณยา Rifampin

ในเม็ดยาโดยการเทียบด้วยการประมวลผลภาพดิจิทัล

Developing Method to Analyze Dose of Rifampin with Digital Image
Processing Techniques

วัชรพงษ์ แจ่มสว่าง

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้

จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2560A10801010
สัญญาเลขที่ 63/2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณยา Rifampin

ในเม็ดยาโดยการเทียบด้วยการประมวลผลภาพดิจิทัล

Developing Method to Analyze Dose of Rifampin with Digital Image
Processing Techniques

วัชรพงษ์ แจ่มสว่าง

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

10 กันยายน 2562

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 63/2560

ขอขอบพระคุณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่อำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ นางสาวอินทิรา เหลืองทวีผล และนางสาว ศุภลักษณ์ แก่นยิ่ง ผู้ช่วยวิจัยที่ช่วยในส่วนของ การดำเนินงานทดลองปฏิบัติการวิจัยอย่างเรียบร้อย

คณะผู้วิจัย

10 กันยายน 2562

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัล (digital image processing) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาสำคัญ Rifampin ในผลิตภัณฑ์ยาเพื่อรักษาโรควัณโรค เนื่องจากเทคนิค digital image processing เป็นเทคนิคที่ยังไม่เคยมีการนำมาใช้วิเคราะห์ยาดังกล่าว จึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคมาตรฐานเพื่อใช้เป็นวิธีการอ้างอิงในการหาปริมาณ rifampin ในตัวอย่าง โดยตามข้อกำหนดของ the United States Pharmacopeia 39 (USP 39) กำหนดให้ใช้เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ในการวิเคราะห์ ดังนั้นเทคนิคดังกล่าวได้ถูกนำมาใช้เป็นวิธีอ้างอิงในการวิเคราะห์หาปริมาณที่แท้จริงของตัวยา Rifampin เพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิค digital image processing ต่อไป โดยเทคนิค HPLC ที่นำมาใช้ในการศึกษานี้ได้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่มีความเหมาะสมกับเครื่องมือและสารเคมีที่มีอยู่ ซึ่งมีการพัฒนาและเปรียบเทียบชนิดของวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) รวมทั้งอัตราเร็วการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ (flow rate) วิธีวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำที่สุดคือ การใช้ column ชนิด Hypersil C18 ขนาด 250 x 4.6 mm ขนาดอนุภาค 5 um อัตราส่วนวัฏภาคเคลื่อนที่คงที่คือ Monosodium phosphate (NaH_2PO_4) ความเข้มข้น 0.01 M ต่อ Acetonitrile (ACN) เท่ากับ 60:40 โดยมีอัตราเร็วการไหล 1.0 mL/min มี injection volume เท่ากับ 20 uL และตรวจวัดสัญญาณของ rifampicin ด้วย UV detector ที่ความยาวคลื่น 360 nm โดยการวิเคราะห์ดังกล่าวมีค่า Limits of Detection (LOD) เท่ากับ 3.00 ng/ml และ Limits of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.17 ug/ml มีความถูกต้องแม่นยำในการวิเคราะห์โดยมี %recovery อยู่ในช่วง 95-102% และ %RSD อยู่ในช่วง 0.1-0.7% ซึ่งน้อยกว่า 2% และเทคนิค HPLC ดังกล่าวที่พัฒนาขึ้นได้นำมาประเมินประสิทธิภาพด้วยการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่มีขายในท้องตลาดสองชนิดได้ จากนั้นเตรียมตัวอย่างยา Rifampin เพื่อเป็นตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วย digital image processing โดยเตรียมในรูปแบบยาเม็ดให้ความเข้มข้นของตัวยา Rifampin อยู่ในช่วง 30-150 g/เม็ด และตอกด้วยเครื่อง rotary tableting machine ด้วยแรงตอก 5 นิวตัน จากนั้นวิเคราะห์คุณสมบัติเบื้องต้นของยาเม็ดและวิเคราะห์ปริมาณตัวยา rifampin ด้วย HPLC ข้างต้น และนำไปศึกษาด้วยเทคนิค digital image processing ต่อไป

Abstract

This study is the development of an analytical method by using the digital image processing technique for the content determination of Rifampin in pharmaceutical products. Since the digital image processing technique is a technique that has not been used to analyze rifampin, it is necessary to use standard techniques to assist as a reference method to quantify of rifampin in the samples. According to the United States Pharmacopeia 39 (USP 39) requirements of the quantitative method of rifampin is High- Performance Liquid Chromatography (HPLC) technique. Therefore, HPLC techniques have been used to analyze the actual concentration of rifampin in samples for the development of digital image processing techniques. In this study, the HPLC method was developed to a suitable method for existing instruments and chemicals by developing and comparing the type and ratio of the mobile phase and flow rate. The best development of the HPLC method was performed by using is a Hypersil C18 column, 250x4.6 mm with particle size 5 μm . The separations were carried out isocratic elution with a mobile phase comprised of 0.01 M Monosodium phosphate (NaH_2PO_4) : Acetonitrile (ACN) ratio 60:40. The flow-rate was maintained at 1.0 mL/min, and a 20 μL sample volume was injected for all experiments. The signal of rifampin was detected by UV detector at 360 nm. This method has accuracy and precision which are shown %recovery in the range of 95-102% and %RSD in the range of 0.1-0.7%, which is less than 2% as the requirement. Moreover, the developed HPLC method is evaluated efficiency by analyzing two of rifampin pharmaceutical commercial products. Then the rifampin tablets are prepared as samples for the development of the digital image processing method. The amount of rifampin in the preparation tablets is between 30- 150 g/tablet and they are compressed with the rotary tableting machine with a force of 5 newtons. After that, the samples of rifampin tablets are analyzed for the basic properties of tablets and quantify rifampin in dosage form with the HPLC method. All of the rifampin tablets are continued to study with the digital image processing technique.

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	ก
สารบัญตาราง	ข
สารบัญรูป	ค
บทที่ 1	1
บทที่ 2	3
บทที่ 3	40
บทที่ 4	50
บทที่ 5	66

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 3.1 วิธีเตรียมกราฟสารมาตรฐาน	43
ตารางที่ 3.2 แสดงส่วนผสมของยาเม็ดต้นแบบ rifampicin ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตามสูตร	45
ตารางที่ 3.3 วิธีเตรียมกราฟสารมาตรฐาน	47
ตารางที่ 4.1 แสดงข้อมูล condition ที่ใช้ในการหาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม	51
ตารางที่ 4.2 แสดง retention time ของ rifampin ในการทดสอบ specificity	55
ตารางที่ 4.3 แสดงข้อมูลการวิเคราะห์ linearity	56
ตารางที่ 4.4 แสดงการวิเคราะห์ความถูกต้อง (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น	57
ตารางที่ 4.5 แสดงการวิเคราะห์ precision ของวิธีวิเคราะห์ Rifampin	57
ตารางที่ 4.6 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณตัวยา Rifam ในตำรับยาที่มีขายในท้องตลาด	60
ตารางที่ 4.7 แสดงความแข็งของตำรับยาต้นแบบ	63
ตารางที่ 4.8 แสดงผลการวิเคราะห์ตัวยา rifampicin ต้นแบบ	64

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 2.1 แสดงระบบสี HSV	7
รูปที่ 2.2 แสดงระบบสี HLS	8
รูปที่ 2.3 แสดง CMYK	10
รูปที่ 2.4 การแปลงภาพอนาล็อกให้เป็นภาพดิจิทัล	12
รูปที่ 2.5 แสดงภาพแบบ Binary หรือ ภาพขาว-ดำ	13
รูปที่ 2.6 แสดงภาพแบบ Grayscale	13
รูปที่ 2.7 แสดงภาพแบบ RGB	14
รูปที่ 2.8 แสดงภาพสีแบบ Indexed	15
รูปที่ 2.9 ระดับสีของ Grayscale ตามขนาดข้อมูลที่เก็บค่าสี	15
รูปที่ 2.10 ความแตกต่างของ สีแสง (RGB) และ สีวัตถุ (CMYK)	16
รูปที่ 2.11 วงล้อสีแบบ RGB	16
รูปที่ 2.12 โมเดลสี HSV ในรูปแบบโคน (Cone)	17
รูปที่ 2.13 แสดงภาพที่เก็บในแต่ละ channel ในระบบสี RGB และ HSV	17
รูปที่ 2.14 แสดงการ Convolution	18
รูปที่ 2.15 การทำ Correlation	18
รูปที่ 2.16 แสดงการวาด ROI รอบบริเวณมือ	19
รูปที่ 2.17 กราฟการทำ Feature Selection ที่แตกต่างกัน 2 ลักษณะ	19
รูปที่ 2.18 แสดงการแยกวัตถุออกจากฉากหลัง	20
รูปที่ 2.19 ภาพใบหน้าจากวีดีโอ และภาพ Gray Scale ของวัตถุที่ถูกเลือก	20
รูปที่ 2.20 การติดตามการเคลื่อนที่ของนักกีฬาเทนนิสในสนามเทนนิส	21
รูปที่ 2.21 การหาค่าเฉลี่ยของจุดข้อมูล Mean shift	21
รูปที่ 2.22 โครงสร้าง Permanent Magnet DC Motor	22
รูปที่ 2.23 สัญญาณ Pulse Width Modulation	24
รูปที่ 2.24 ส่วนประกอบของ เซอร์โวมอเตอร์	25
รูปที่ 2.25 สัญญาณที่สามารถป้อนให้กับ Servo motor	25
รูปที่ 2.26 Servo motor เมื่อป้อนสัญญาณความกว้าง pulse 2.5 ms, 1.5 ms และ 0.5 ms	26
รูปที่ 2.27 Servo motor เมื่อป้อนสัญญาณความกว้าง pulse 1 ms และ 2 ms	27

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 2.28 Pin Configuration ของ IC เบอร์ L298N	27
รูปที่ 2.29 Raspberry Pi	28
รูปที่ 2.30 อุปกรณ์พื้นฐานสำหรับระบบประมวลผลภาพ	30
รูปที่ 2.31 เมตริกซ์ของรูปขนาด 256*256	32
รูปที่ 2.32 วิธีการปรับปรุงคุณภาพโดยวิธีการ Unsharp	33
รูปที่ 2.33 แสดงลักษณะขอบภาพแบบต่างๆ	35
รูปที่ 2.34 แสดงขอบภาพชนิดต่างๆ	36
รูปที่ 2.35 แสดงตัวดำเนินการหาขอบภาพของ Laplacian	39
รูปที่ 4.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ Rifampin	51
รูปที่ 4.2 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Rifampin ด้วย condition ที่ 1 : 0.01M NaH ₂ PO ₄ :ACN (50:50), flowrate 0.7 mL/min	52
รูปที่ 4.3 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Rifampin ด้วย condition ที่ 2 : 0.01M NaH ₂ PO ₄ :ACN (50:50), flowrate 0.9 mL/min	53
รูปที่ 4.4 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Rifampin ด้วย condition ที่ 3 : 0.01M NaH ₂ PO ₄ :ACN (60:40), flowrate 0.7 mL/min	53
รูปที่ 4.5 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Rifampin ด้วย condition ที่ 4 : 0.01M NaH ₂ PO ₄ :ACN (60:40), flowrate 0.9 mL/min	54
รูปที่ 4.6 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Rifampin ด้วย condition ที่ 5 : 0.01M NaH ₂ PO ₄ :ACN (60:40), flowrate 1.0 mL/min	55
รูปที่ 4.7 แสดงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น	57
รูปที่ 4.8 แสดงตัวอย่างยา Rifadin®	59
รูปที่ 4.9 แสดงตัวอย่างยา Rifam®	60
รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะภายนอกของตำรับยา Rifampin ต้นแบบ: A คือตำรับที่ 1, B คือตำรับที่ 2, C คือตำรับที่ 3, D คือตำรับที่ 4 และ E คือตำรับที่ 5	61

บทที่ 1

บทนำ

1. ที่มาและความสำคัญ

การวิเคราะห์ปริมาณสารในอดีตจนถึงปัจจุบันมีการใช้เครื่องมือวิเคราะห์เชิงปริมาณต่างๆ เช่น UV-Vis Spectroscopy, fluorospectroscopy, high performance liquid chromatography (HPLC), gas chromatography (GC) เป็นต้น โดยเครื่องมือเหล่านี้มีราคาที่สูง โดยสองอย่างหลังจำเป็นต้องใช้สารละลายอแกนิกเป็น mobile phase ทำให้ต้องเสียปริมาณของสารละลายที่ใช้เป็น mobile phase ที่มากและสิ้นเปลือง ไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จึงได้มีการพยายามศึกษาทดลองหาวิธีวิเคราะห์ใหม่ๆ มาทดแทนวิธีเดิมมาใช้เพื่อลดต้นทุนและสะดวกในการวิเคราะห์มากขึ้น แต่ให้ผลในการวิเคราะห์ที่แม่นยำและถูกต้องเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐานเดิมที่มีอยู่

ในปัจจุบันเทคโนโลยีสารสนเทศด้วยนำภาพถ่ายดิจิทัลที่มีความละเอียดและความคมชัดที่สูงมาช่วยในการวิเคราะห์งานด้านวิจัยทางวิทยาศาสตร์ การพัฒนาเทคนิคเพื่อการวิเคราะห์ภาพดิจิทัล (digital image processing) การเอาภาพมาประมวลผลในเมดิยาเพื่อหาปริมาณสารสำคัญในตัวอย่างหาความสัมพันธ์ร่วมกับวิธีทางแสงสเปกโตรเมตรีวิเคราะห์ซึ่งมีการคำนวณทางคณิตศาสตร์นั้นมีหลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีก็มีประโยชน์แตกต่างกันไป ไม่ว่าจะเป็นการนำเอาสีแต่ละจุด (Pixel) มาคิดหาสี (Color), การคิดคำนวณเป็นบริเวณหลายๆจุดรวมๆกัน (Area) ของเมดิยาเป็นวิธีการที่ใช้ความสามารถของโปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการประมวลผลเพื่อดำเนินการวิเคราะห์ข้อมูลภาพสามารถลดต้นทุนเวลาได้มากและวิเคราะห์ผลได้จำนวนมากในเวลาอันสั้น นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาโปรแกรมให้สามารถแยกสีและความเข้มความสว่างของสีในช่วงต่างๆที่ตาของมนุษย์สามารถตอบสนองการมองเห็นของคนปกติมองเห็นได้คือ คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่น 380-720 นาโนเมตร การหาสเปกตรัมของแสง (Visible Light Spectrum) แสงขาว ประกอบด้วยแสงสีต่างๆ 7 สี คือ ม่วง คราม น้ำเงิน เขียว เหลือง แสด และ แดงจึงมีการนำสมการตัวแปรของสีที่ได้จากภาพถ่ายดิจิทัล คือ ค่า RGB นำมาศึกษาความสัมพันธ์กับเข้มข้นหรือปริมาณของสารเพื่อประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณของสารที่มีสีหรือเรืองแสงซึ่งผลของวิเคราะห์นั้นทำได้รวดเร็ว และลดการสัมผัสของนักวิจัยกับสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการได้ซึ่งเหมาะกับการนำไปใช้ควบคุมการผลิตในอุตสาหกรรมยา โดยนำไปใช้ตรวจสอบหาปริมาณตัวอย่างสำคัญในเมดิยาโดยวิเคราะห์จากสีของเมดิยาจากภาพถ่ายดิจิทัลได้

คณะผู้วิจัยเริ่มพัฒนาเทคนิควิธีการที่ได้ข้อมูลมาวิเคราะห์ในยา Rifampin ด้วยแสงสเปกโตรเมตรีวิเคราะห์ร่วมกับเทคนิคการประมวลผลด้วยภาพดิจิทัลซึ่งงานวิจัยให้ความสำคัญยา Rifampin เป็น

หนึ่งที่มีบทบาทสำคัญในการรักษาโรคผิวหนังซึ่งมักให้โดยการรับประทานร่วมกับยา Isoniazid และ Ethambutol เพื่อส่งผลต่อการฆ่าเชื้อ *M. Tuberculosis* ได้อย่างมีประสิทธิภาพและป้องกันการเกิดการดื้อยาของเชื้อ ส่วนลักษณะทางกายภาพของสาร Rifampin เป็นผงสีส้ม ไม่ละลายในน้ำ แต่สามารถละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ จึงมักจะต้องใช้ของเหลวเคมีอินทรีย์ในการเป็นตัวทำละลาย งานวิจัยนี้จึงสนใจในการนำการวิเคราะห์ปริมาณด้วย Rifampin ในรูปแบบเม็ดผ่านการวิเคราะห์สีจากภาพถ่ายดิจิทัล (Digital-image-based colorimetry) เพื่อลดการใช้ตัวทำละลายเคมีอินทรีย์ และลดต้นทุนค่าใช้จ่ายเครื่องมือลงได้

2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 2.1 เพื่อศึกษาหาสมการความสัมพันธ์ของตัวแปรที่ได้จากภาพถ่ายดิจิทัลกับปริมาณด้วย Rifampin ในรูปแบบเม็ดยา
- 2.2 เพื่อพัฒนาวิธีใหม่ในการวิเคราะห์หาปริมาณด้วย Rifampin ในรูปแบบเม็ดยาจากภาพถ่ายดิจิทัล
- 2.3 สามารถนำวิธีวิเคราะห์จากภาพถ่ายดิจิทัลไปประยุกต์ใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการวิเคราะห์ปริมาณยา Rifampin ได้สะดวกและรวดเร็วขึ้น

3. ขอบเขตของโครงการวิจัย

งานวิจัยมุ่งในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณด้วย Rifampin โดยการประยุกต์ใช้วิธีวิเคราะห์ความสว่างของสีจากภาพถ่ายดิจิทัลเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์โดย HPLC ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ United States Pharmacopeia (USP) รับรองในปัจจุบัน โดยมีการทำ method validation เพื่อเปรียบเทียบทั้ง 2 วิธี

ในการวิเคราะห์สีจากภาพถ่ายดิจิทัลจะมีการศึกษาตัวแปรต่างๆ ที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ได้แก่ ความสว่างของสี, ช่วงความถี่ของสีเป็นต้น ร่วมกับลักษณะของเม็ดยา ได้แก่ พื้นผิวหน้าตัด และความหนาของเม็ดยา เพื่อนำมาประเมินสมการหลายตัวแปรเพื่อหาความสัมพันธ์ของตัวแปรเหล่านี้กับปริมาณสาร Rifampin ในเม็ดยาจากนั้นจึงนำสมการที่ได้มาใช้ในการทำนายปริมาณตัวยา Rifampin ในผลิตภัณฑ์ที่มีอยู่ในท้องตลาด เพื่อดูความถูกต้องและแม่นยำของวิธีต่อไป

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 4.1 ได้เทคนิคใหม่ในการวิเคราะห์หาปริมาณของตัวยา Rifampin ได้อย่างถูกต้องและน่าเชื่อถือ
- 4.2 เป็นเทคนิคที่ช่วย Screen เม็ดยาซึ่งสามารถลดระยะเวลาในการวิเคราะห์ลง
- 4.3 สามารถช่วยลดต้นทุน และสารเคมี จากการใช้เทคนิควิธีวิเคราะห์ใหม่นี้
- 4.4 ลดการทำลายเม็ดยาด้อย่างเพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

ภาพถ่ายดิจิทัล (Digital image) ได้มาจากการใช้หลักการของแสงที่สะท้อนจากวัตถุผ่านเข้าสู่เลนส์กล้องแล้วตกกระทบบนเซ็นเซอร์รับภาพซึ่งมีพิวเตอร์แม่สีของแสงทั้งสามสีคือ แดง, เขียวและน้ำเงินคุณสมบัติความสามารถแปรผลเป็นสีในโหมด RGB แล้วแสดงออกมาเป็นภาพ ในปัจจุบันความละเอียดของภาพถ่ายดิจิทัลมีหลายระดับขึ้นอยู่กับประเภทของกล้องที่ใช้ โดยกล้อง Digital single-lens reflex (DSLR) ถูกพัฒนาขึ้นโดยให้ผลของภาพถ่ายดิจิทัลที่มีความละเอียดที่สูงกว่ากล้องดิจิทัลแบบ compact ทั่วไป ดังนั้น DSLR จึงเป็นที่นิยมของช่างกล้องในการนำมาใช้ถ่ายภาพ และมีการนำมาประยุกต์ใช้ในสายงานอื่นๆ เช่น งานควบคุมคุณภาพในโรงงานอุตสาหกรรม เป็นต้น เพื่อให้ภาพที่ถ่ายที่ได้มีความละเอียดและสีที่ใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด

เนื่องจากในอุตสาหกรรมมีปริมาณการผลิตที่สูง ภาพถ่ายดิจิทัลถูกนำมาใช้ช่วยลดความผิดพลาดจากสายตาของมนุษย์ได้ดี ดังจะเห็นจากงานวิจัยที่นำมาใช้เพื่อตรวจสอบรูปร่างและขนาดของเมล็ดข้าวเพื่อให้สามารถแยกเมล็ดข้าวที่แตกหักออกจากเมล็ดข้าวที่สมบูรณ์ได้(2)สำหรับในอุตสาหกรรมยา ก็เช่นเดียวกัน ในการผลิตยาโดยเฉพาะยาเม็ดที่ต้องใช้แรงตอกที่สูงและเร็วส่งผลให้อาจเกิดความบกพร่องของเม็ดยาได้ เช่น เกิดการแตกหักของเม็ดยาและการตอกไม่เต็มเม็ด ทั้งสองอย่างนี้ส่งผลถึงปริมาณของตัวยาในเม็ดยาที่ไม่ได้มาตรฐาน เมื่อถึงมือผู้บริโภคอาจก่อให้เกิดอันตรายจากการใช้ยาต่อไป ดังนั้นการใช้ภาพถ่ายจึงเป็นเครื่องช่วยเสริมการคัดกรองที่มีความสะดวกรวดเร็ว และยังช่วยลดแรงงานที่ต้องอาศัยทักษะและความชำนาญในการคัดแยกลง ส่งผลในการควบคุมการผลิตยาให้มีคุณภาพตามมาตรฐานนอกจากรูปร่างและขนาดของเม็ดยาแล้วภาพถ่ายดิจิทัลยังสามารถใช้ประเมินเปรียบเทียบสีของเม็ดยาได้อีกด้วย

การประยุกต์ใช้ภาพถ่ายดิจิทัลในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารอาศัยหลักการของ Colorimetry หรือที่เรียกว่า Digital-image-based colorimetry เป็นการศึกษาสัมพันธ์ระหว่างค่าสี RGB ที่ได้จากภาพถ่ายดิจิทัลกับความเข้มข้นของสีของผลิตภัณฑ์ที่เปลี่ยนแปลง จึงถูกนำมาประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์หาปริมาณของสารที่สนใจในตัวอย่างต่างๆ โดยสารที่ต้องการวิเคราะห์นั้นต้องมีคุณสมบัติทางกายภาพที่ให้สีด้วยตัวมันเอง เช่น tetracycline ซึ่งให้สีเหลืองทำให้การศึกษาสีโดยอาศัยภาพถ่ายดิจิทัลทำได้ง่าย แต่ถ้าสารที่ต้องการวิเคราะห์นั้นไม่มีสีอาจใช้วิธีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นแล้วทำให้เกิดสีขึ้น เช่นการหาปริมาณของ trinitrotoluene (TNT) ซึ่งสารนี้ไม่สามารถให้สีด้วยตัวมันเองได้ จึงต้องอาศัยการทำปฏิกิริยากับ dicyclohexylamine (DCHA) เพื่อให้เกิดสีม่วงปนแดงขึ้น เป็นต้นบางงานวิจัยใช้เทคนิคนี้เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์เชิงคุณภาพโดย

ประเมินการเปลี่ยนสีของผลิตภัณฑ์นั้น เช่น ซ็อกโกแลต สามารถตรวจสอบการเสื่อมสภาพโดยวิเคราะห์จากความเปลี่ยนแปลงของสีบนผิวซ็อกโกแลตซึ่งเกิดจากการแยกชั้นของไขมันขึ้นมาบนผิวของซ็อกโกแลตความสว่างและความเข้มของสีที่แสดงออกมาสามารถประเมินโดยใช้โปรแกรม Digital Image-Processing software ซึ่งได้แก่ Photoshop, MATLAB เป็นต้นแล้วนำค่าตัวแปรสีที่ได้มาหาความสัมพันธ์เชิงเส้น (linear regression) กับความเข้มข้นของสารที่ศึกษาแล้วแสดงออกมาเป็นสมการเชิงเส้นตรงแล้วนำมาทดสอบกับตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างเทียบกับผลที่ได้จากวิธีมาตรฐานที่ใช้ทดสอบ

การมองเห็นของมนุษย์เป็นสิ่งสำคัญและร่างกายมีกลไกการรับภาพที่ซับซ้อน โดยการทำให้ข้อมูลภาพที่รับเข้ามาถูกบันทึกไว้เป็นความจำเป็นสำหรับใช้ในงานแบบง่าย เช่น การจดจำวัตถุ การจดจำใบหน้า และสำหรับงานที่มีความซับซ้อน ได้แก่ การวางแผน การตัดสินใจ การค้นคว้าทางวิทยาศาสตร์ การพัฒนาทางด้านความคิด ดังคำสุภาษิตของจีนกล่าวไว้ว่า "รูปภาพสามารถแทนคำได้เป็นพัน ๆ คำ" รูปภาพมีบทบาทมากสำหรับองค์กรต่าง ๆ เช่น หนังสือพิมพ์ โทรทัศน์ ภาพยนตร์ ซึ่งได้ใช้ภาพเป็นสื่อในการนำเสนอข้อมูลข่าวสารต่าง ๆ สิ่งที่น่าสนใจของข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการมองเห็นหรือข้อมูลภาพคือกระบวนการประมวลผลภาพ (Image Processing) โดยใช้ดีจिटอลคอมพิวเตอร์

ความพยายามทางการประมวลผลภาพได้เริ่มขึ้นในปี 1964 ณ หองแลป Jet Propulsion (Pasadena California) ซึ่งได้นำการบวนการประมวลผลภาพมาใช้ในการพิจารณาภาพถ่ายดาวเทียมของดวงจันทร์ ต่อมา มีการตั้งสาขาทางวิทยาศาสตร์สาขาใหม่มีชื่อว่า Digital image processing หลังจากนั้นงานทางการประมวลผลภาพได้มีการพัฒนาเพิ่มขึ้นและใช้กันอย่างกว้างขวางสำหรับงานในหลายด้าน ตัวอย่างเช่น ด้านการสื่อสารโทรคมนาคม การสื่อสารทางโทรทัศน์ ทางด้านการพิมพ์ ทางด้านกราฟฟิก การแพทย์ และการค้นคว้าทางวิทยาศาสตร์

Digital image processing เกี่ยวข้องกับการแปลงข้อมูลภาพให้อยู่ในรูปแบบข้อมูลดิจิตอล (Digital format) ซึ่งสามารถนำเอาข้อมูลนี้ผ่านกระบวนการต่าง ๆ ด้วยดีจिटอลคอมพิวเตอร์ได้ อินพุตและเอาท์พุตในระบบของดีจिटอลจะอยู่ในรูปแบบดิจิตอลเท่านั้น

Digital image analysis เกี่ยวข้องกับวิธีการอธิบายและการจดจำข้อมูลภาพดิจิตอล โดยอินพุตของระบบคือข้อมูลภาพดิจิตอลและเอาท์พุตคือเครื่องหมายที่ใช้แทนข้อมูลภาพดิจิตอลเหล่านั้น ในการวิเคราะห์ภาพมีหลายวิธีที่ได้นำการทำงานของตาเปล่า (human vision) เช่น งานด้าน Computer Vision ซึ่งเป็นลักษณะเดียวกับ Digital image analysis นั่นเอง การมองเห็นด้วยตาเปล่าของมนุษย์จัดว่าเป็นกระบวนการที่ซับซ้อน โดยเทคนิคโดยทั่วไปที่ใช้ในกระบวนการ Digital image analysis และ Computer Vision มีความซับซ้อนเช่นเดียวกัน

รูปร่างของภาพ (Image Shape)

วัตถุที่มีอยู่ตามธรรมชาติและที่มนุษย์สร้างขึ้นมีรูปร่างที่แตกต่างกันไป ทั้งที่เป็นรูปทรงเรขาคณิตและไม่เป็นรูปทรงเรขาคณิต ในศาสตร์ของการประมวลผลภาพนั้นการกำหนดขอบเขตของภาพทุกภาพให้อยู่ในรูปสี่เหลี่ยม (Rectangular image model) เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุด เนื่องจากทำให้การอ่านภาพ การจัดเก็บข้อมูลภาพในหน่วยความจำและการแสดงภาพออกทางอุปกรณ์ต่าง ๆ เป็นไปได้โดยมีประสิทธิภาพ

การเก็บข้อมูลภาพลงหน่วยความจำของคอมพิวเตอร์สามารถทำได้โดยการจองหน่วยความจำของเครื่องไว้ในรูปของตัวแปรอะเรย์ (array) โดยค่าในแต่ละช่องของอะเรย์แสดงถึงคุณสมบัติของจุดภาพ (pixel) และตำแหน่งของช่องอะเรย์เป็นตัวกำหนดตำแหน่งของจุดภาพ

สมมุติให้ Image เป็นตัวแปรแบบอะเรย์ขนาด $M \times N$ (M แถว และ N คอลัมน์) ที่ใช้เก็บภาพขนาด $M \times N$ จุด (M จุดในแนวนอน และ N จุดในแนวตั้ง) ค่าสี (หรือความสว่าง ในกรณีที่เป็นภาพ grey level) ของจุดภาพในแถวที่ 5 คอลัมน์ที่ 4 จะตรงกับค่าของ Image (5,4) จะเห็นว่าเราใช้ตำแหน่งของจุดภาพทั้งสองแกนเป็นตัวชี้ค่าข้อมูลในอะเรย์

จากการใช้หน่วยความจำเพื่อการเก็บภาพในลักษณะที่กล่าวข้างต้นพบว่าเนื้อที่ในการเก็บภาพสามารถคำนวณได้จาก $M \times N \times g$ เมื่อ g เป็นจำนวนเต็มที่แทนจำนวนบิตของข้อมูลในแต่ละจุดภาพ ตัวอย่างถ้า g มีค่าเท่ากับ 8 บิตเราจะสามารถเก็บความแตกต่างของระดับสีได้สูงสุด 256 ระดับ ค่า M และ N จะเป็นตัวบอกถึงความละเอียดของภาพ สำหรับคอมพิวเตอร์ทั่วไปในระบบ VGA (Video Graphic Array) จะมีขนาด 640×480 , 800×600 และ 1024×768 จุดเป็นต้น การกำหนดความละเอียดจะขึ้นอยู่กับงานที่ใช้ในงานบางประเภทใช้ความละเอียดแค่ 30×50 จุด ก็เพียงพอต่อความต้องการ แต่ในงานบางชนิดแม้ว่าใช้ความละเอียดของภาพสูงถึง 1000×1000 จุดก็อาจยังไม่เพียงพอต่อความต้องการได้

ปกติแล้วในการเก็บข้อมูลภาพโดยเครื่องมือต่าง ๆ จะเก็บตามมาตรฐานของโทรทัศน์ซึ่งมีอัตราส่วน x ต่อ y เท่ากับ 4:3 สำหรับเครื่องมือเก็บข้อมูลภาพที่ไม่เป็นไปตามอัตราส่วน 4:3 นั้น เมื่อนำภาพนี้ไปแสดงในจอภาพมาตรฐานจะทำให้ภาพที่แสดงมีขนาดของจุดภาพไม่เป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัส เช่น ในระบบบางชนิดอาจจะต้องใช้ความละเอียดในการแสดงเท่ากับ 640×512 ซึ่งจะทำให้ขนาดของจุดภาพที่ได้มีขนาดของด้านกว้างมีความยาวมากกว่าด้านสูง ซึ่งลักษณะดังกล่าวส่งผลให้เกิดเป็นหัวขอที่ต้องให้ความสำคัญสำหรับการเขียนโปรแกรมทางด้านกราฟฟิกและการจัดการข้อมูล

จำนวนสีสูงสุดที่เป็นไปได้ของแต่ละจุดภาพขึ้นอยู่กับจำนวนบิตที่ใช้ เมื่อมีการกำหนดให้ขนาดของบิตต่อจุดมากขึ้นจะทำให้จำนวนของสีมากขึ้นด้วย ตัวอย่างเช่น

1 บิต = $2^1 = 2$ สี

2 บิต = $2^2 = 4$ สี

4 บิต = $2^4 = 16$ สี

8 บิต = $2^8 = 256$ สี

16 บิต = $2^{16} = 65536$ สี เป็นต้น

สำหรับการแสดงข้อมูลภาพที่มีขนาด 1 บิตและ 8 บิตนั้นจะมีการทำงานที่จะใกล้เคียงกันมากเนื่องจากหน่วยประมวลผลจะไม่สามารถจัดการกับข้อมูลที่เป็นบิตเดี่ยวได้ ดังนั้นในการแสดงข้อมูลออกจากจอภาพตัวโปรเซสเซอร์จะทำการก๊อปปข้อมูลทั้ง 8 บิต (1 Byte) ส่งให้กับจอภาพซึ่งในกรณีที่มี Pixel มีขนาด 1 บิต เมื่อโปรเซสเซอร์ทำงานกับบิตแรกที่ต้องการแล้วจะทำการก๊อปปข้อมูลชุดใหม่ทันทีโดยไม่เกี่ยวกับข้อมูลอีก 7 บิตที่เหลือ ส่วนในกรณี Pixel ที่มีขนาด 8 บิตโปรเซสเซอร์จะทำการก๊อปปข้อมูลชุดใหม่ก็ต่อเมื่อโปรเซสเซอร์ทำงานครบทุกบิตแล้ว

ตัวอย่างสำหรับระบบที่มีความละเอียดเท่ากับ 800×600 และมีขนาด 16 บิตต่อ Pixel จะสามารถแสดงสีได้ทั้งหมด 65536 ระดับและต้องใช้เวลาในการเก็บเท่ากับ $800 \times 600 \times 16$ บิต

มาตรฐานของสี

มาตรฐานของสีที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมีอยู่หลายระบบทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะการนำไปใช้ แต่โดยทั่วไปแล้วทุกมาตรฐานจะมีแนวคิดเดียวกัน คือ การแทนจุดสีด้วยจุดที่อยู่ภายในสเปส 3 มิติ โดยจะมีแกนอ้างอิงสำหรับจุดสีนั้นในสเปสซึ่งแต่ละแกนจะมีความเป็นอิสระต่อกันตัวอย่างเช่นในระบบ RGB จะมีแกนสีคือ แขนงสีแดง เขียว และน้ำเงินในระบบ HLS จะมีแกนเป็น ค่าสี (hue) ความสว่าง (lightness) และความบริสุทธิ์ของสี (saturation)

ตัวอย่างระบบสีที่ได้รับความนิยมได้แก่ ระบบ RGB, HSV (Hue Saturation Value) และ HLS (Hue Lightness Saturation)

ระบบสี RGB

ระบบสี RGB เป็นระบบสีที่เกิดจากการรวมกันของแสงสีแดง เขียวและน้ำเงิน โดยมีการรวมกันแบบ Additive ซึ่งโดยปกติจะนำไปใช้ในจอภาพแบบ CRT (Cathode ray tube) ในการใช้งานระบบสี RGB ยังมีการสร้างมาตรฐานที่แตกต่างกันออกไปโดยมาตรฐานที่นิยมใช้งาน ได้แก่ RGB-CIE และ RGB-NTSC

ระบบสีแบบ RGB ของ CIE

เป็นระบบสีที่พัฒนาขึ้นโดย CIE (Commission International l 'Eclairage) ซึ่งอ้างอิงสีด้วยสีแดงที่ 700 nm สีเขียวเท่ากับ 546.1 nm และสีน้ำเงิน 435.8 nm

ระบบสีแบบ RGB ของ NTSC

เป็นระบบที่พัฒนาโดย NTSC (National Television System Committee) เพื่อใช้สำหรับการแสดงภาพของจอภาพแบบ CRT เป็นมาตรฐานสำหรับผู้ผลิตแบบ CRT ให้มีลักษณะเดียวกัน

ระบบสี HSV

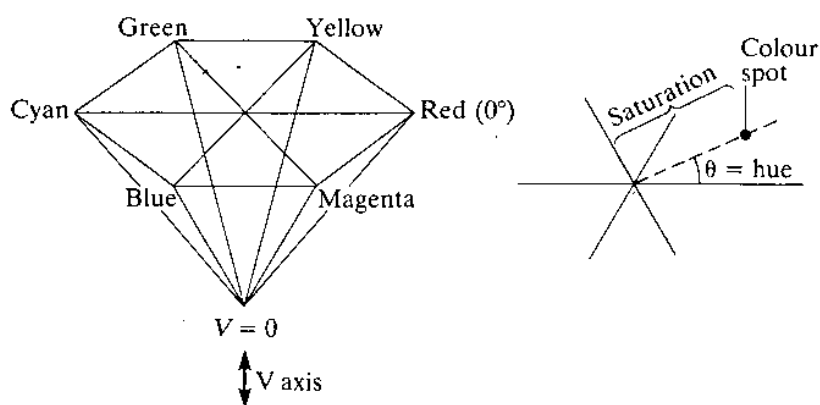
ระบบสี HSV (Hue Saturation Value) เป็นการพิจารณาสีโดยใช้ Hue Saturation และ Value ซึ่ง Hue คือค่าสีของสีหลัก (แดง เขียวและน้ำเงิน) ในทางปฏิบัติจะอยู่ระหว่าง 0 และ 255 ซึ่งถ้า Hue มีค่าเท่ากับ 0 จะแทนสีแดงและเมื่อ Hue มีค่าเพิ่มขึ้นสีก็จะเปลี่ยนแปลงไปตามสเปกตรัมของสีจนถึง 256 จึงจะกลับมาเป็นสีแดงอีกครั้งซึ่งสามารถแทนให้อยู่ในรูปขององศาได้ดังนี้ สีแดง = 0 องศา สีเขียวเท่ากับ 120 องศา สีน้ำเงินเท่ากับ 240 องศา

Hue สามารถคำนวณได้จากระบบสี RGB ได้ดังนี้

$$\text{red } h = \text{red} - \min(\text{red}, \text{green}, \text{blue})$$

$$\text{green } h = \text{green} - \min(\text{red}, \text{green}, \text{blue})$$

$$\text{blue } h = \text{blue} - \min(\text{red}, \text{green}, \text{blue}) \quad (1.1)$$



รูปที่ 2.1 แสดงระบบสี HSV

จากลักษณะโมเดลของระบบ Hue พบว่าจะมีค่าน้อยหนึ่งค่าที่จะเท่ากับ 0 แต่ถ้ามีสองค่าเท่ากับ 0 แล้ว hue จะเป็นมุมของสี (ค่าสี) มีค่าเป็นไปตามสีที่สามและถ้าทั้งสามสีมีค่าเท่ากับ 0

แล้วจะทำให้ไม่มีค่าของ Hue หรือสีที่ได้จะมีค่าเท่ากับสีขาวนั่นเอง ตัวอย่างเช่น จอภาพขาว-ดำ ถ้าหากมีสีใดสีหนึ่งมีค่าเท่ากับ 0 จะทำให้ค่าสีที่ได้เป็นไปตามสีที่เหลือ การให้น้ำหนักในการพิจารณาเมื่อสีแดงมีค่าเท่ากับ 0

$$\frac{(240 \times blue_k) + (120 \times green_k)}{blue_k + green_k} \quad (1.2)$$

Saturation คือความบริสุทธิ์ของสี โดยถ้า Saturation มีค่าเท่ากับ 0 แล้วสีที่ได้จะไม่มี Hue และจะเป็นสีขาวล้วนแต่ถ้าหาก Saturation มีค่าเท่ากับ 255 แสดงว่าจะไม่มีแสงสีขาวผสมอยู่เลย

Saturation สามารถคำนวณได้ดังนี้

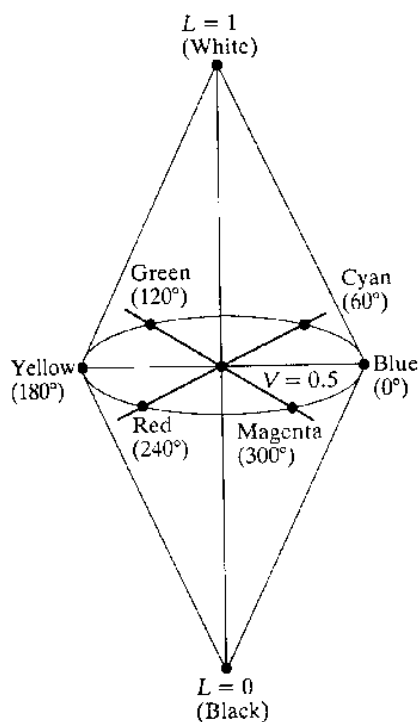
$$Saturation = \frac{\max(red, green, blue) - \min(red, green, blue)}{\max(red, green, blue)} \quad (1.3)$$

Value คือความสว่างของสี ซึ่งสามารถวัดได้โดยค่าความเข้มของความสว่างของแต่ละสีที่ประกอบกันสามารถคำนวณได้จาก

$$value = \max(red, green, blue) \quad (1.4)$$

ระบบสีแบบ HLS

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



รูปที่ 2.2 แสดงระบบสี HLS

Hue คือค่าของสีหลักซึ่งมีสีน้ำเงินอยู่ที่ 0 องศา สีเขียวอยู่ที่ 120 องศา และสีแดงอยู่ที่ 240 องศา

Lightness คือค่าความสว่างซึ่งจะมีค่าเปลี่ยนแปลงตามแนวแกน L โดยที่ L = 0 จะเป็นสีดำ L = 1 จะเป็นสีขาว สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$lightness = \frac{\max(red, green, blue) - \min(red, green, blue)}{2} \quad (1.5)$$

Saturation คือความบริสุทธิ์ของสีสามารถหาได้ดังนี้คือ

$$saturation = \begin{cases} \frac{\max(red, green, blue) + \min(red, green, blue)}{\max(red, green, blue) - \min(red, green, blue)} & \text{if } L \leq 0.5 \\ \frac{\max(red, green, blue) - \min(red, green, blue)}{2 - \max(red, green, blue) - \min(red, green, blue)} & \text{if otherwise} \end{cases} \quad (1.6)$$

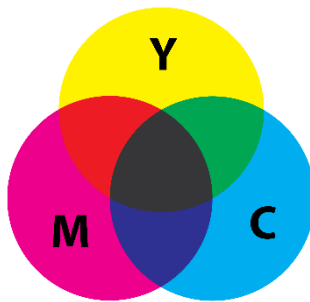
ระบบสีแบบ CMY

CMY (Cyan Magenta Yellow) เป็นระบบสีที่พัฒนาขึ้นมาใช้สำหรับการพิมพ์ภาพสี โดยมีสีหลัก คือสี Cyan Magenta และ Yellow ซึ่งเรียกว่า Subtractive primaries Color (สีแดง เขียว และน้ำเงิน เรียกว่า Additive primaries Color) ระบบสีแบบ CMY สามารถหาได้โดยการนำเอาสีในระบบ RGB ลบกับสีขาวดังนี้คือ

$$\begin{aligned} C &= 1 - R \\ M &= 1 - G \\ Y &= 1 - B \end{aligned} \quad (1.7)$$

ระบบสี CMY จะนำไปใช้สำหรับการพิมพ์ภาพสีแต่ยังไม่ดีเท่าที่ควรเนื่องจากยังไม่สามารถสร้างสีดำได้อย่างถูกต้อง ดังนั้นจึงมีการใช้ระบบ CMYK (Cyan Magenta Yellow Key) แทนโดย

$$\begin{aligned} K &= \min(C, M, Y) && K \text{ เป็นสีที่ 4 แทนสีดำ} \\ C &= C - K \\ M &= M - K \\ Y &= Y - K \end{aligned} \quad (1.8)$$



รูปที่ 2.3 แสดง CMYK

ระบบสีแบบ YUV

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

ระบบสีแบบ YIQ

เป็นระบบที่ใช้ใน TV Broadcasting สำหรับ NTSC ประโยชน์หลักก็เพื่อให้ใช้งานได้กับโทรทัศน์แบบขาว-ดำ โดยที่ y คือความสว่างของภาพ ส่วน I และ Q จะเป็นสัญญาณที่เข้ารหัสสีของภาพ ไขว่ ดังนั้นสำหรับโทรทัศน์ขาว-ดำจึงสามารถใช้ค่า Y ค่าเดียวเพื่อให้ได้ภาพที่สมบูรณ์

ระบบสีแบบ XYZ

เป็นระบบสีที่ CIE ได้กำหนดใหม่ขึ้นเป็นมาตรฐานเนื่องจากในระบบสี RGB ยังไม่สามารถสร้างสีที่เป็นไปได้ทั้งหมดดังนั้นจึงได้มีตั้งระบบสี XYZ ซึ่งเป็นระบบสีที่สมมติขึ้น

การแปลงค่าสีระหว่างระบบสีต่าง ๆ

การแปลงค่าสีระหว่างระบบสามารถทำได้โดยการใช้ Matrix ตัวอย่างเช่น การแปลงสีระหว่างระบบ RGB (ICE) กับระบบสีแบบ XYZ จะมีเมตริกสำหรับการแปลงดังนี้คือ

$$\begin{bmatrix} X \\ Y \\ Z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.490 & 0.310 & 0.200 \\ 0.177 & 0.813 & 0.011 \\ 0.000 & 0.010 & 0.990 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R_{CIE} \\ G_{CIE} \\ B_{CIE} \end{bmatrix}$$

```

ตัวอย่างโปรแกรม การแปลงสีจากระบบ RGB (CIE) ไปเป็น XYZ
int cieRGB_XYZ (r ,g ,b ,x ,y ,z ,N1 ,M1 ,N2 ,M2)
image r,g,b,x,y,z;
int N1,M1,N2,M2;
/* Subroutine to perform cieRGB to XYZ transform
r,g,b : input image buffers
x,y,z: transform buffers
N1, M1: upper left corner coordinates
N2, M2: lower right corner coordinates */
{
int i, j; double R,G,B; double X,Y,Z;
for(i = N1;i< N2;i++)
    for(j = M1;j<M2;j++)
    { R = (double)r[i][j]; G = (double)g[i][j]; B = (double)b[i][j];
      X = 0.490*R + 0.310*B + 0.200* B;
      Y = 0.177*R + 0.813*G + 0.011*B;
      Z = 0.010*G + 0.990*B;
      If(X>255.0) x[i][j]=255; else x[i][j]=(unsigned char)X;
      If(Y>255.0) y[i][j]=255; else y[i][j]=(unsigned char)Y;
      If(Z>255.0) z[i][j]=255; else z[i][j]=(unsigned char)Z;
    }
return(0);
}

```

Open Computer Vision

Open Computer Vision (OpenCV) คือ Libraries สำหรับ Image Processing พัฒนาโดยบริษัท Intel เพื่อส่งเสริมการพัฒนาระบบ Image Processing โดย OpenCV จัดเป็น Library ที่ทำงานได้เร็วมากตัว หนึ่งเนื่องจากพัฒนาจากภาษา C แต่ในเวอร์ชัน 2.4.7 ได้เพิ่ม C++ Wrapper มาเพื่ออำนวยความสะดวก และลดข้อผิดพลาดจากการเขียนโดยใช้ภาษา C ซึ่งปัญหาหลัก คือ ปัญหาที่เกี่ยวกับการใช้ pointer ไม่ดีเท่าที่ควรและยังได้มีการ Optimize ใหม่จำนวนมาก ที่ทำให้สามารถทำงานได้เร็วขึ้น จึงอาจกล่าวได้ว่าปัจจุบันหากจะใช้ OpenCV นั้น จะต้องใช้ร่วมกับ ภาษา C++ และ

namespace cv จึงจะเหมาะสมที่สุดเนื่องจากสามารถลดปัญหาที่พบบ่อยได้ เช่น memory leak และ Dangling pointers

การประมวลผลภาพดิจิทัลคือการนำภาพที่มีอยู่แล้วหรือภาพที่รับเข้ามาจากอุปกรณ์ต่าง ๆ หรือเป็นภาพที่มีอยู่มาประมวลผลเพื่อหาลักษณะเด่นบางประการของภาพที่มีอยู่ หรือเป็นการตีความหมายของภาพ รวมถึงการปรับคุณลักษณะของภาพให้เป็นไปตามความต้องการโดยใช้กระบวนการทางคณิตศาสตร์

Image Processing ถือเป็นวิธีที่เกิดขึ้นใหม่ เนื่องจากวิธีนี้เริ่มเกิดขึ้นมาเมื่อคอมพิวเตอร์มีความสามารถสูงขึ้น จึงมีแนวคิดที่จะนำคณิตศาสตร์ที่ใช้ในการประมวลผล Signal processing มาทำการประยุกต์ใช้กับสัญญาณภาพ โดยภาพส่วนใหญ่ถูกเก็บอยู่ในรูปแบบของ Array โดยกลุ่มของ array กลุ่มหนึ่งจะเป็นค่าของภาพหนึ่งพิกเซล เช่น ภาพแบบ RGB ใช้ Array 3 ช่องเพื่อเก็บค่าสีของ RGB ในหนึ่งพิกเซลดังนั้น โดยส่วนมากภาพแบบ RAW ที่ไม่ผ่านการบีบอัดใด ๆ จะใช้เนื้อที่เก็บข้อมูล $width*height*channel$ ซึ่งจะกินหน่วยความจำมาก จึงมีการคิดค้นการบีบข้อมูลภาพ เพื่อลดขนาดของภาพลงโดยจะแบ่งอัลกอริทึมในการบีบอัดภาพออกเป็นสองกลุ่มคือ

1. Lossless Algorithm คือ วิธีการที่บีบอัดภาพโดยไม่ยอมสูญเสียคุณภาพของภาพไป เช่น Runlength หรือ Huffman เป็นต้น
2. Lossy Algorithm วิธีนี้คือวิธีที่ยอมเสียคุณภาพของภาพไปบ้างเพื่อลดขนาดลง โดยปกติวิธีนี้จะให้ไฟล์ภาพที่เล็กกว่าวิธีที่ 1 แต่จะมีการสูญเสียคุณภาพของภาพไปบ้าง

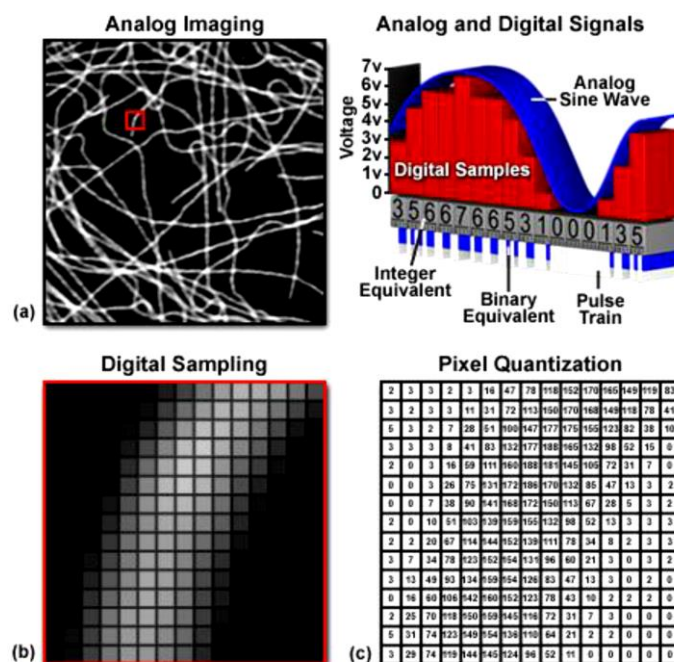
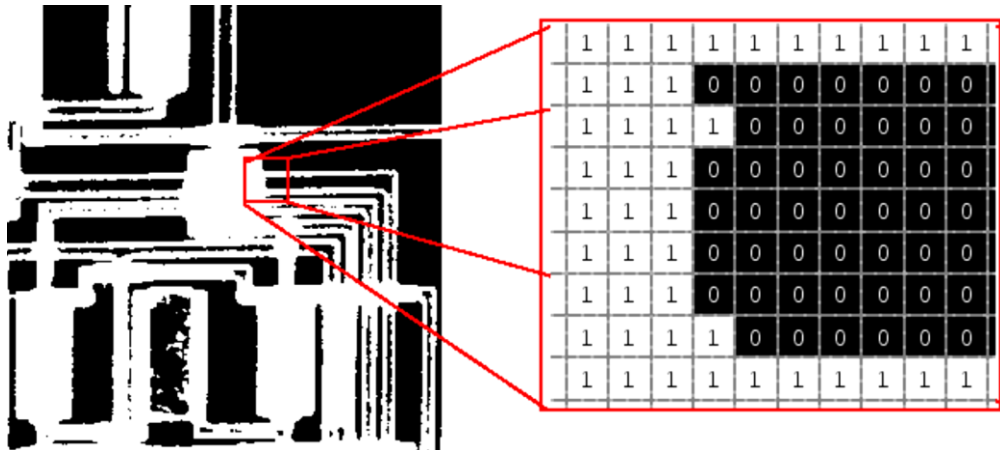


Figure 1

รูปที่ 2.4 การแปลงภาพอนาล็อกให้เป็นภาพดิจิทัล

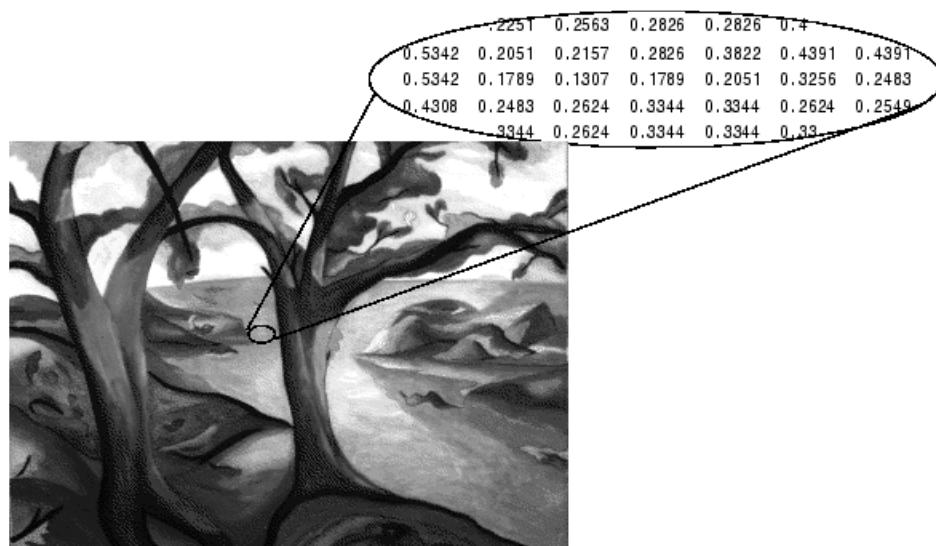
ภาพดิจิทัลที่ได้จะมีรูปแบบการเก็บเป็นเมทริกซ์ ซึ่งจะมีการจัดเก็บภาพแต่ละชนิดต่างกัน ขึ้นอยู่กับระบบสีของภาพดังกล่าว โดยสามารถแบ่งชนิดของภาพได้ดังนี้

- Binary Image เป็นภาพที่มีสีเพียงสองระดับ คือ สีขาวและสีดำ โดยในเมทริกซ์จะส่งค่าคือ 0 หมายความว่าดำ และ 255 หมายความว่าขาว ดังรูปที่ 2.5



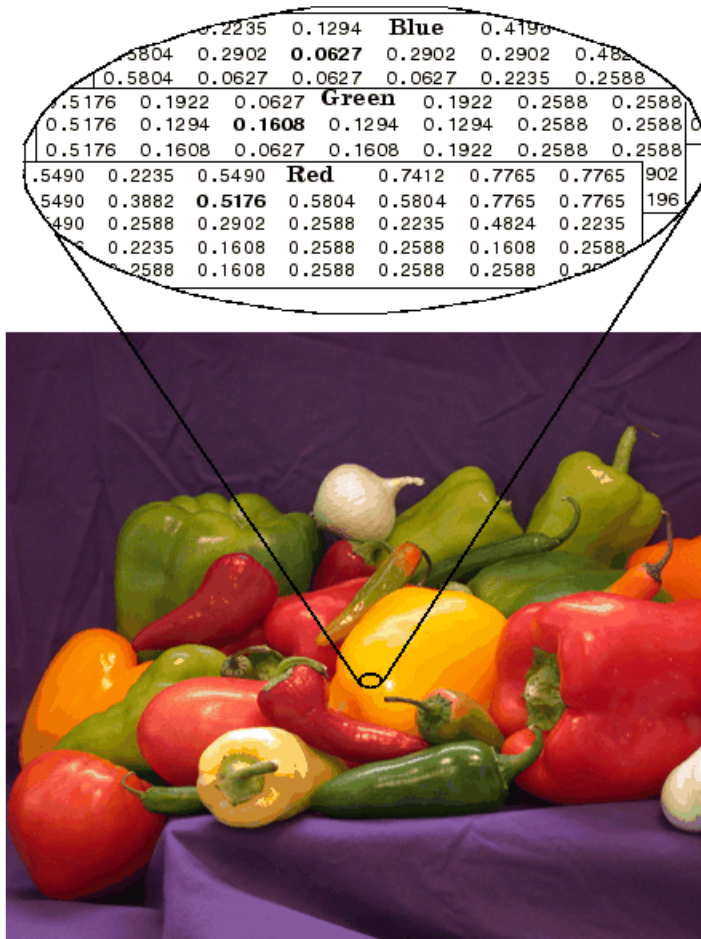
รูปที่ 2.5 แสดงภาพแบบ Binary หรือ ภาพขาว-ดำ

- Grayscale Image เป็นภาพ channel เดียวเช่นกัน โดยเก็บเป็น array คล้ายกับภาพขาว-ดำ แต่ค่าที่อยู่ใน Array เป็นค่าของความสว่างซึ่งมีค่าได้ตั้งแต่ 0-255 ดังรูปที่ 2.6



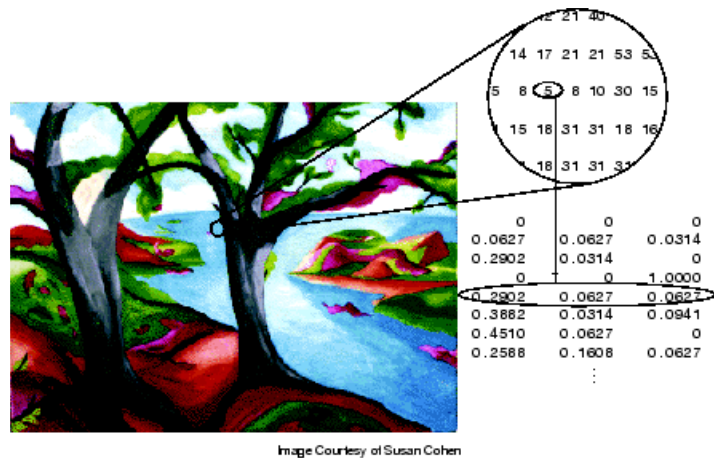
รูปที่ 2.6 แสดงภาพแบบ Grayscale

RGB Image เป็นภาพแบบ 3 Chanel โดยภาพจะเก็บอยู่ในรูปภาพ ซึ่งเรียงตามลำดับ BGR แต่ถ้าหากอยู่ในไฟล์ภาพจะเรียงตามปกติ คือ RGB โดยจะใช้พื้นที่ในการเก็บภาพเป็นขนาด $m*n*3$ กล่าวคือ จะต้องใช้พื้นที่เก็บทั้ง 3 channel นั้นเอง



รูปที่ 2.7 แสดงภาพแบบ RGB

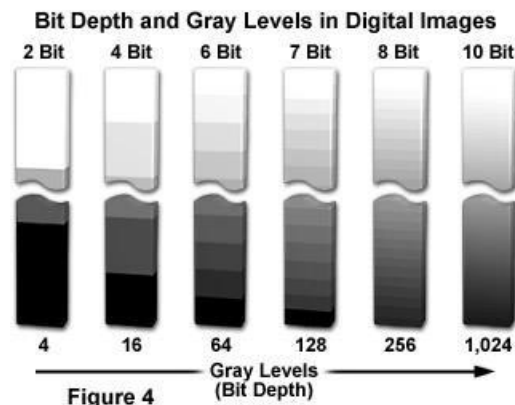
Indexed Image เป็นลักษณะที่นิยมใช้กันในการประมวลผลภาพอีกแบบหนึ่ง โดยภาพจะมีลักษณะที่มีสารบัญเก็บค่าสีในแต่ละจุดแล้วนำมาอ้างอิง ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 แสดงภาพสีแบบ Indexed

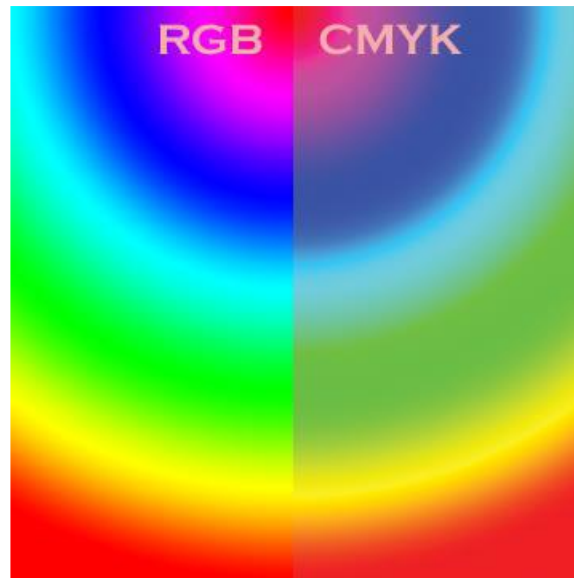
ระบบสี (Color Model)

ระบบสี Grayscale เป็นช่วงของเฉดสีเทาซึ่งแตกต่างกับภาพขาว-ดำที่มีเพียง 2 สี คือขาวกับดำ สีใน grayscale นี้แสดงถึงความเข้มของสี (Intensity) ในระดับต่างๆ โดยสีดำเป็นส่วนที่ความเข้มของสีน้อยและสีขาวจะมีความเข้มของสีมาก จำนวนระดับของสีขึ้นอยู่กับขนาดของบิตที่ใช้เก็บค่าสีโดยทั่วไปแล้วจะเก็บข้อมูลสีประเภทนี้ด้วยข้อมูลขนาด 8 บิตหรือ 1 ไบต์ ซึ่งจะทำให้ความละเอียดของสีที่ 265 เฉดสี ดังรูปที่ 2.9

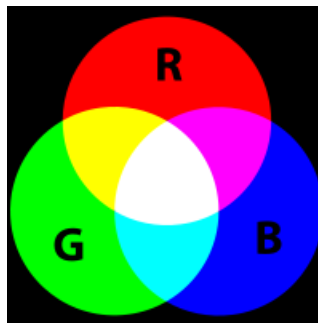


รูปที่ 2.9 ระดับสีของ Grayscale ตามขนาดข้อมูลที่เก็บค่าสี

ระบบสี RGB เป็นระบบสีที่ประกอบด้วยแม่สีหลักสามสีคือแดง (Red), เขียว (Green) และน้ำเงิน (Blue) RGB นั้นเป็นระบบสีแสงและเป็นแบบ Additive คือ เมื่อไม่มีสีจะทำให้มองเห็นเป็นสีดำและในทางกลับกันหากมีครบทุกสีจะมองเป็นสีขาว ซึ่งต่างกับระบบสีแบบ Subtractive หรือระบบสีแบบ CMYK ที่เป็นสีที่เกิดจากการสะท้อนหรือเรียกว่าสีวัตถุ ดังรูปที่ 2.10 และ ดังรูปที่ 2.11

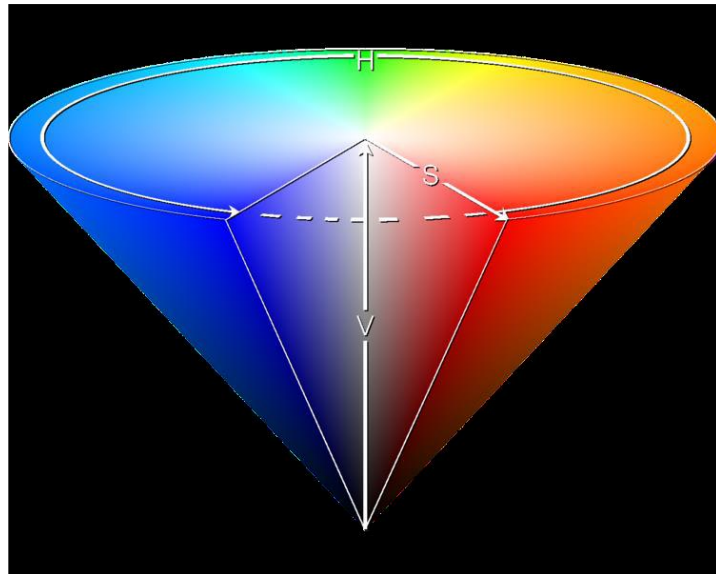


รูปที่ 2.10 ความแตกต่างของ สีแสง (RGB) และ สีวัตถุ (CMYK)

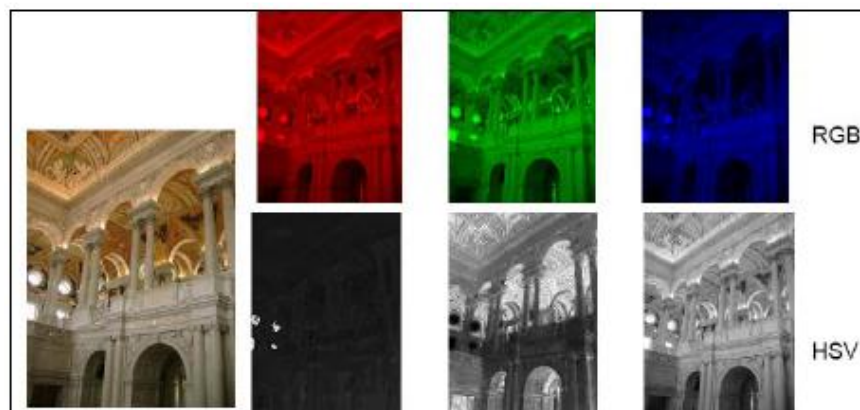


รูปที่ 2.11 วงล้อสีแบบ RGB

ระบบสี HSV (Hue, Saturation, Value) เป็นระบบสีที่นิยมใช้ในการประมวลผลภาพที่ต้องการรับภาพที่มีลักษณะมีความหลากหลายทางแสงสูงเนื่องจากมีข้อดี คือ ระบบสีประเภทนี้จะ เป็นระบบสีที่แยกความสว่างออกไปเป็นค่า V ทำให้การประมวลผลภาพเดียวกันแต่มีความสว่าง แตกต่างกันได้ตีมากขึ้น และนอกจากนี้ ระบบสีดังกล่าวยังเป็นระบบที่สามารถจะนำไปพิจารณาค่า ความอึมทัวสีต่าง ๆ ได้ ซึ่งจะเป็นผลดีในการแต่งภาพเช่นกัน ดังรูปที่ 2.12 และ ดังรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.12 โมเดลสี HSV ในรูปแบบโคน (Cone)

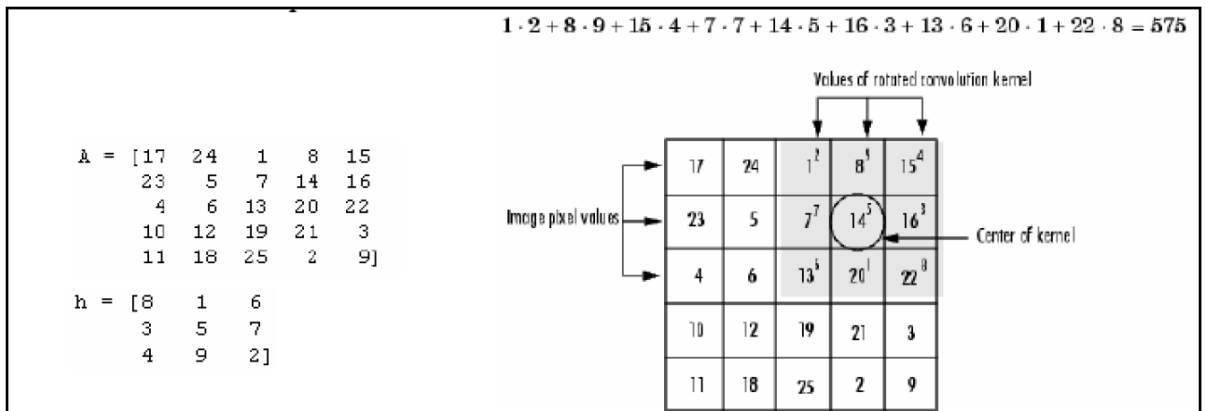


รูปที่ 2.13 แสดงภาพที่เก็บในแต่ละ channel ในระบบสี RGB และ HSV

การทำ Image Filtering, Convolution และ Correlation

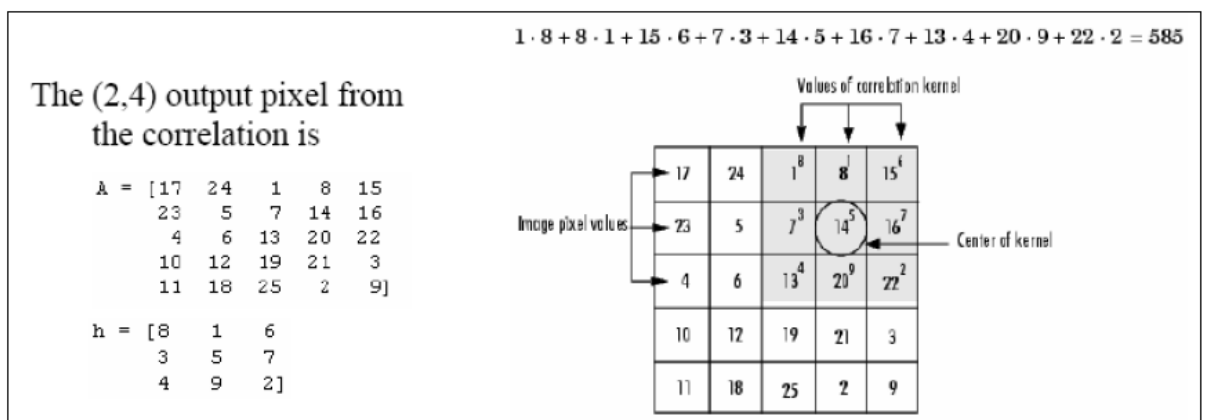
Image Filtering: เป็นเทคนิคในการนำเมทริกซ์ขนาดเล็ก (Sub window mask) ที่ภายในประกอบด้วยค่าต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับชนิดของฟิลเตอร์ภายในภาพต้นฉบับ พร้อมทั้งคำนวณค่าเพื่อวิเคราะห์หรือเปลี่ยนแปลงลักษณะของภาพ เช่น การทำภาพเบลอ การปรับขอบของภาพ เป็นต้น

Convolution: เป็นเทคนิคในการนำภาพไปเปรียบเทียบกับ Template คือ เทคนิคนี้จะนำภาพ Template ไปคูณในแต่ละพิกเซลของภาพ input โดยจะเลื่อนจุดที่คูณไปที่ละจุด ซึ่งจะเป็นการเน้นคุณสมบัติบางประการของภาพซึ่งขึ้นอยู่กับ Template ที่ใช้ดังรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.14 แสดงการ Convolution

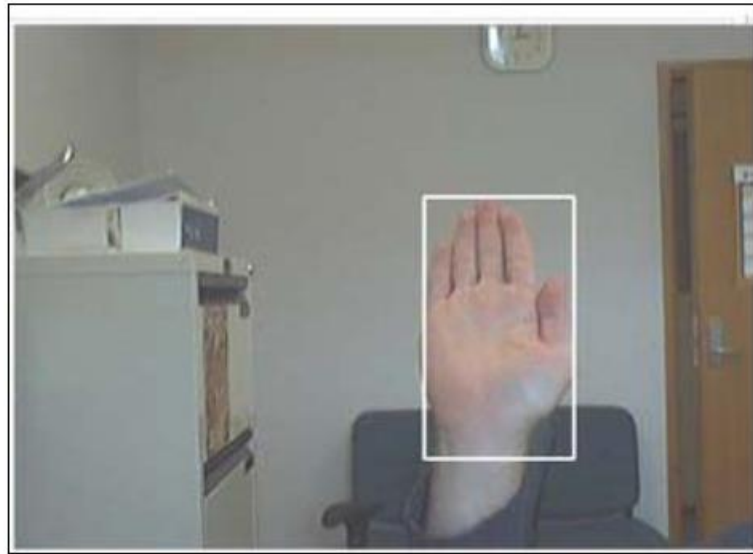
Correlation: เป็นการนำภาพ Template มาคูณกับภาพต้นฉบับเช่นกัน โดยการคูณทีละจุด ซึ่งจะเป็นการเน้นลักษณะบางประการของภาพเช่นกันแต่จะมีสมการการคูณต่างจาก convolution ดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 การทำ Correlation

Region-of-interest (ROI)

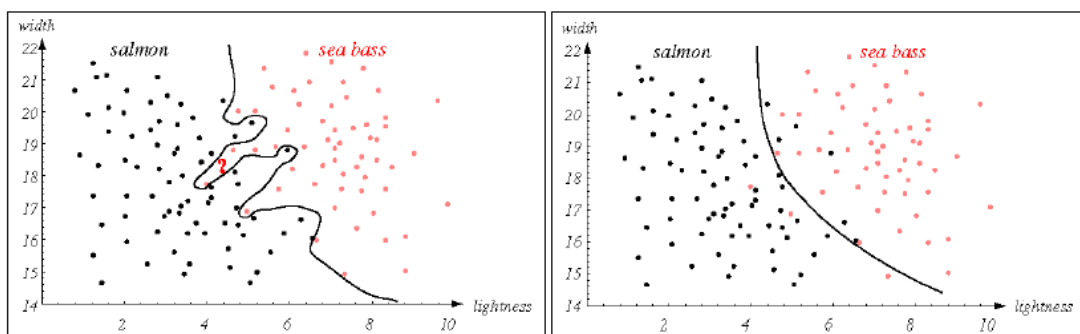
Region-of-interest (ROI) คือ บริเวณที่สนใจ ซึ่งอาจเป็นบริเวณใดภายในภาพก็ได้ โดยการติกรอบล้อมรอบบริเวณที่สนใจด้วยวงกลม กรอบสี่เหลี่ยม หรือกรอบรูปเหลี่ยมใดๆ เพื่อนำภาพเฉพาะส่วนดังกล่าวมาประมวลผล หรือเปลี่ยนแปลงภาพตามต้องการโดยไม่มีผลกระทบต่อส่วนอื่น ซึ่งใน 1 ภาพสามารถกำหนดได้หลาย ROI เมื่อกำหนดตำแหน่งต่าง ๆ แล้วจะสร้าง Mask ที่เป็น Binary Mask สำหรับใช้กำหนดขอบเขตที่จะมีการเปลี่ยนแปลงภายในรูปภาพนั้น ๆ โดยให้ค่าส่วนที่สนใจเป็น 1 หรือสีขาวและให้ส่วนอื่นๆ เป็น 0 หรือสีดำ ดังรูปที่ 2.16



รูปที่ 2.16 แสดงการวาด ROI รอบบริเวณมือ

Pattern Recognition

Pattern คือ เอกลักษณ์หรือลักษณะต่าง ๆ ที่สามารถบ่งชี้ได้ ดังนั้น Pattern Recognition คือกระบวนการหาและจำแนกลักษณะต่างๆที่สนใจภายในภาพสำหรับตีความหมายหรือยืนยันลักษณะต่าง ๆ เช่น การแปลงภาพลายมือเป็นตัวพิมพ์ การระบุเจ้าของลายนิ้วมือ เป็นต้น Feature Selection คือ กระบวนการเลือกลักษณะที่ต้องการ โดยการเก็บข้อมูลลักษณะเด่นของวัตถุที่เราต้องการจะตรวจจับและตีความ เช่น ต้องการจำแนก ปลาแซลมอนกับปลาซีเบส ซึ่งใช้ความยาวของปลาและการสะท้อนแสงของเกล็ดปลาที่แตกต่างกัน ช่วยในการจำแนกปลาสองชนิดนี้ซึ่งการใช้ Feature หลาย ๆ แบบมาช่วยนั้น จะทำให้ระบบมีประสิทธิภาพมากขึ้น แต่ในขณะเดียวกันกราฟที่ได้จะมีความซับซ้อนขึ้น ซึ่งขึ้นอยู่กับวิธีการเลือก Feature ว่าต้องการความละเอียดเพียงใด ดังรูปที่ 2.17



รูปที่ 2.17 กราฟการทำ Feature Selection ที่แตกต่างกัน 2 ลักษณะ

การแยกวัตถุออกจากพื้นหลัง

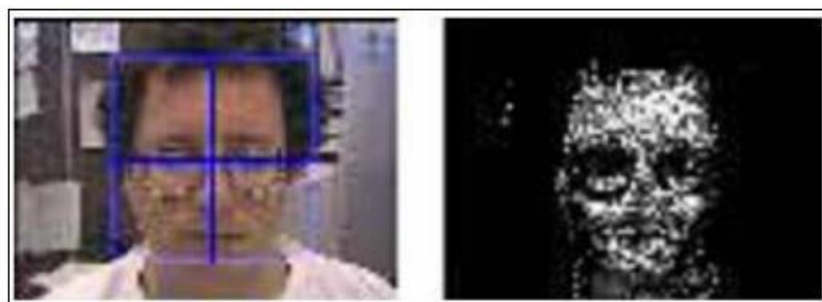
การแยกวัตถุออกจากพื้นหลังนั้น วิธีที่นิยมใช้งานมากที่สุด คือ การใช้ Colour Base Background Substraction โดยตั้งสมมุติฐานว่าวัตถุควรจะเด่นจากพื้นหลังโดยเริ่มจากการหาค่าเฉลี่ยของสีที่เป็นพื้นหลัง แล้วจึงกำหนดให้สีที่อยู่ต่ำกว่าค่าเฉลี่ยเป็นพื้นหลังและสีที่อยู่สูงกว่าค่าเฉลี่ยเป็นวัตถุ อัลกอริทึมนี้ใช้ได้ผลดีสำหรับพื้นหลังที่ไม่ซับซ้อนแล้ววัตถุสีแตกต่างกับพื้นหลังอย่างชัดเจน ดังรูปที่ 2.18



รูปที่ 2.18 แสดงการแยกวัตถุออกจากฉากหลัง

Mean shift

เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการติดตามวัตถุที่เป็นภาพเคลื่อนไหว โดยจะรับอินพุตมาจากกล้องวิดีโอแล้วนำมาเข้ากระบวนการ Mean shift เพื่อสามารถทำการตรวจจับการเคลื่อนที่ของสิ่งที่เราสนใจได้ ซึ่ง Mean shift เป็นวิธีการที่ง่ายและมีประสิทธิภาพในการติดตามวัตถุที่มีสีซึ่งในการติดตามจะทำการติดตามวัตถุที่ทำการเลือกหรือวัตถุที่สนใจโดยใช้ค่าสีมาทำการติดตาม จะเห็นได้จากกราฟ Histogram ที่แสดงความสว่างของภาพซึ่งอัลกอริทึมนี้จะติดตามวัตถุที่มีสีใกล้เคียงกับกราฟฮิสโตแกรมของวัตถุที่ถูกเลือกนั่นเอง ดังรูปที่ 2.19 และดังรูปที่ 2.20

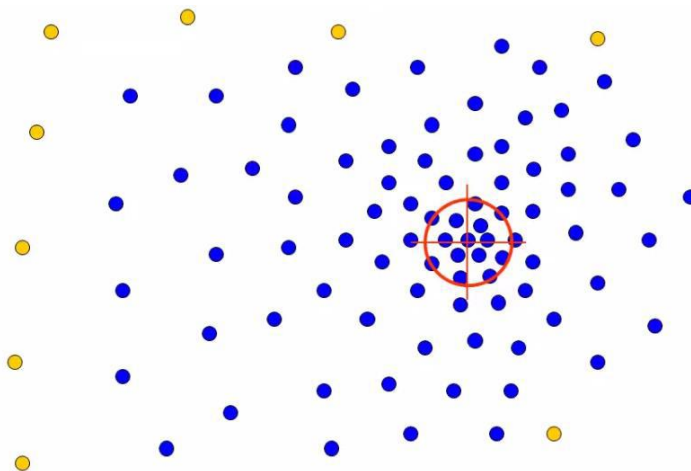


รูปที่ 2.19 ภาพใบหน้าจากวิดีโอ และภาพ Gray Scale ของวัตถุที่ถูกเลือก



รูปที่ 2.20 การติดตามการเคลื่อนที่ของนักกีฬาเทนนิสในสนามเทนนิส

โดยอัลกอริทึมของ Mean shift จะมีการคงที่ของจำนวนข้อมูลในเซตให้มีขนาดเท่ากับจำนวนข้อมูลอินพุตเริ่มต้น ในจุดเริ่มต้นของอัลกอริทึมนี้เซตของข้อมูลนี้เกิดจากการคัดลอกมาจากเซตข้อมูลอินพุต หลังจากนั้น ในแต่ละการวนซ้ำข้อมูลในเซตนี้ได้ถูกแทนที่ด้วยค่าเฉลี่ยของจุดข้อมูลที่อยู่ในเซตที่อยู่ภายในระยะทางที่กำหนดจากจุดข้อมูลจุดนั้น ในทางกลับกันการที่ Mean shift จำกัดการอัปเดตข้อมูลนี้ให้อยู่ที่ข้อมูล k จุดและเปลี่ยนค่าของแต่ละจุดใน k จุดนี้ด้วยค่าเฉลี่ยของจุดข้อมูลทุกจุดที่ในเซตข้อมูลอินพุตที่อยู่ใกล้กับจุดจุดนั้นที่สุด ซึ่งในอัลกอริทึมนี้มีการแทนที่ค่าของเซตข้อมูลด้วยค่าเฉลี่ยของจุดข้อมูลทั้งหมดในเซตอินพุตที่มีระยะห่างภายในระยะทางที่กำหนดไว้จากเซตนั้น ๆ Mean shift นั้นมีข้อได้เปรียบอย่างหนึ่งคือการที่การแบ่งกลุ่มไม่จำเป็นต้องมีการกำหนดจำนวนของกลุ่มข้อมูล เนื่องจาก Mean shift นั้นสามารถหาจำนวนของกลุ่มข้อมูลที่จำเป็นโดยอัตโนมัติ



รูปที่ 2.21 การหาค่าเฉลี่ยของจุดข้อมูล Mean shift

การทำงานพื้นฐานของอัลกอริทึมนี้ คือ

1. เลือกขนาดของหน้าต่าง (windows) ที่จะค้นหาวัตถุ
2. เลือกตำแหน่งเริ่มต้นของ windows ที่ต้องการค้นหา

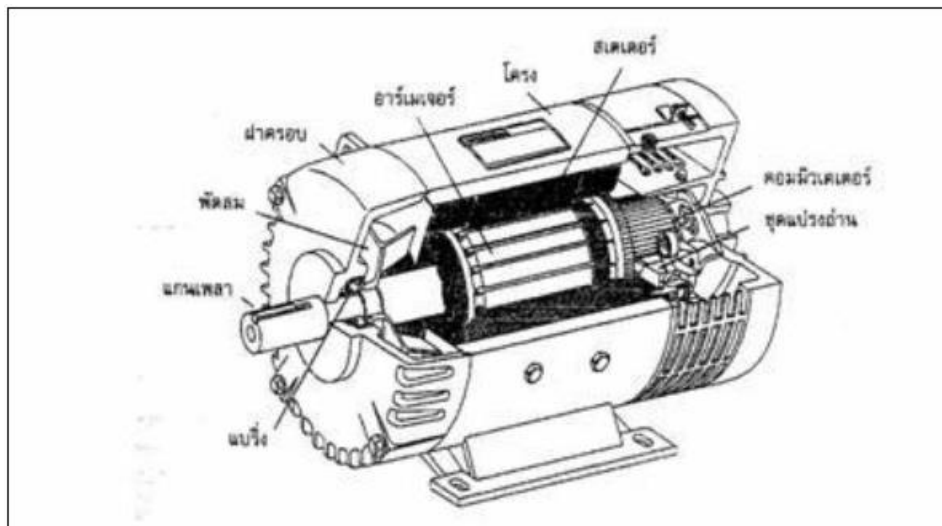
3. คำนวณหาตำแหน่งเฉลี่ยใน windows ที่ต้องการค้นหา
4. ตั้งจุดศูนย์กลางของ windows ที่ต้องการค้นหาที่ตำแหน่งเฉลี่ยที่ได้จากการคำนวณข้อ 3
5. ทำซ้ำข้อ 3 และ 4 จนกระทั่งเกิดการลู่เข้า (convergence)

DC Motor

DC Motor หรือ มอเตอร์ไฟฟ้ากระแสตรง คือ เครื่องกลไฟฟ้าที่เปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าให้เป็นพลังงานกล (Electromechanical Transducer) ซึ่งมอเตอร์ไฟฟ้ากระแสตรงนั้นจะใช้ในงานด้านการขับเคลื่อนในแบบต่าง ๆ ที่มีอัตราไม่สูงมากนัก เนื่องจากมอเตอร์ไฟฟ้ากระแสตรงนั้น มีแรงบิดเริ่มต้นที่สูง (Starting torque) สามารถควบคุมอัตราเร็วได้ง่าย แต่มีข้อเสียคือมีโครงสร้างที่ค่อนข้างซับซ้อนมากจึงไม่เหมาะที่จะใช้ในงานด้านการขับเคลื่อนในแบบต่าง ๆ ที่มีอัตราเร็วค่อนข้างสูงมาก ๆ

โครงสร้างของ Permanent Magnet DC Motor DC Motor

โครงสร้างของ Permanent Magnet DC Motor DC Motor มีลักษณะดังแสดงในรูปที่ 2.22 ซึ่งส่วนประกอบ 2 ส่วนสำคัญ คือ ภายนอกเป็นแม่เหล็กถาวร (Stator) และส่วนที่เป็นแกนหมุนโพลภายในเป็นขดลวด (Rotor) ดังแสดงในรูปที่ 2.22



รูปที่ 2.22 โครงสร้าง Permanent Magnet DC Motor

รายละเอียดพื้นฐานของมอเตอร์ไฟฟ้ากระแสตรงที่จะนำมาพิจารณาเลือกใช้กับงานต่าง ๆ

1. แรงดันไฟฟ้า (Voltage)

มอเตอร์ไฟฟ้ากระแสตรงทุกตัวจะมีแรงดันไฟฟ้าใช้งานที่แตกต่างกันตามคุณสมบัติของมอเตอร์แต่ละตัวที่ผู้ผลิตกำหนดมา เช่น มอเตอร์ไฟฟ้ากระแสตรง 6V เป็นต้น สำหรับมอเตอร์ไฟฟ้า

กระแสตรงนั้น สามารถใช้ได้ทั้งไฟกระแสตรงหรือกระแสสลับ แต่ถ้าเป็นมอเตอร์ไฟฟ้ากระแสสลับจะใช้ไฟกระแสสลับเท่านั้นและแรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้กับมอเตอร์จะมีผลต่ออัตราเร็วและแรงบิดของมอเตอร์ ถ้าหากแรงดันไฟฟ้ามาก อัตราเร็วและแรงบิดของมอเตอร์ก็จะมากด้วย

2. การไหลของกระแส (Current Dawn)

ในการไหลของกระแสนั้นจะกล่าวถึงในกรณีที่มอเตอร์ไฟฟ้า กระแสตรงได้รับกระแสจากแหล่งจ่ายในกรณีที่มอเตอร์ไม่ได้ต่อกับโหลดใดๆ นั้น จะมีกระแสไหลผ่านน้อย แต่ในกรณีที่มีการใช้งานต่อกับโหลดจะมีปริมาณกระแสที่เพิ่มมากขึ้น การไหลของกระแสนั้นมีความจำเป็นเพราะถ้าหากกระแสไม่พอแล้ว มอเตอร์ก็จะมีกำลังเพียงพอสำหรับการขับโหลด และกระแสไฟฟ้าที่จ่ายให้กับมอเตอร์จะมีผลต่ออัตราเร็วและแรงบิดของมอเตอร์ด้วย คือ ถ้าหากจ่ายกระแสไฟฟ้ามากอัตราเร็วและแรงบิดของมอเตอร์ก็จะมากด้วย

3. แรงบิด (Torque)

สำหรับแรงบิดเป็นแรงที่มอเตอร์ไฟฟ้ากระแสตรงกระทำกับโหลดในการพิจารณาเลือกมอเตอร์นั้น ถ้าหากมีแรงบิดน้อยจะใช้งานได้กับโหลดที่ไม่หนักมาก แต่ถ้ามีแรงบิดมากสามารถใช้งานกับโหลดที่มีน้ำหนักมากได้ ดังนั้นในการพิจารณาเลือกใช้งานมอเตอร์จึงจำเป็นต้องรู้ข้อมูลพื้นฐานของมอเตอร์เพื่อที่จะเป็นข้อพิจารณาในการเลือกใช้งานต่อไป

4. อัตราเร็ว (Speed)

ส่วนใหญ่มอเตอร์กระแสตรงจะมีอัตราเร็วปกติที่ 4000-7000 รอบต่อนาที ซึ่งอัตราเร็วของมอเตอร์สามารถลดหรือเพิ่มขึ้นได้ตามความต้องการของผู้ใช้ถ้าหากต้องการใช้งานที่ต้องการความเร็วมากจึงต้องเลือกมอเตอร์ที่มีอัตราเร็วสูง เป็นต้น สำหรับการควบคุมการหมุนของ DC Motor นั้นสามารถทำได้โดยการจ่ายไฟฟ้กระแสตรงเข้าไปที่ขั้วของ Motor และถ้าต้องการเปลี่ยนทิศทางการหมุนของมอเตอร์ก็สามารถทำได้โดยการกลับขั้วการจ่ายไฟฟ้าให้กับ Motor

คุณสมบัติของมอเตอร์ไฟฟ้ากระแสตรง

1. กรณี No load

กรณี No load จะทำให้มอเตอร์หมุนด้วยความเร็วสูงสุด ค่า e ก็จะสูงส่งผลให้กระแสไหลเข้ามือน้อยที่สุดซึ่งในทางทฤษฎีจะมีค่าเท่ากับ 0 แต่ในทางปฏิบัติมอเตอร์จะยังคงมีการอยู่เนื่องจากแรงเสียดทานภายในของตัวมอเตอร์เองทำให้กระแสที่ไหลเข้ามือน้อยไม่เท่ากับ 0

2. เมื่อยึดมอเตอร์ไว้ไม่ให้หมุน

เมื่อยึดมอเตอร์ไว้ไม่ให้หมุนจะทำให้ $e = 0$ กระแสที่ไหลเข้ามือนจะมีค่าสูงสุดเท่ากับ V_s / R_a

3. เมื่อมอเตอร์ถูกต่อเข้ากับ Load ใด ๆ

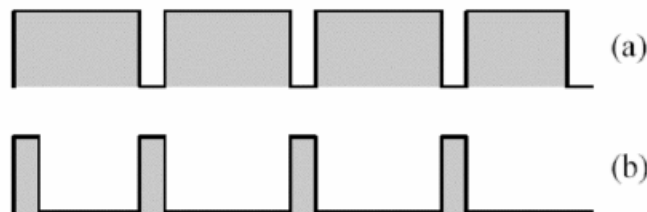
เมื่อมอเตอร์ถูกต่อเข้ากับ Load ใด ๆ ความเร็วของมอเตอร์จะขึ้นกับแรงบิด (Torque) หรือ Load ของมอเตอร์ โดยถ้าหาก Load มากจะต้านการหมุนของมอเตอร์ทำให้มอเตอร์หมุนช้าลงและดึงกระแสมาก และในทางกลับกันถ้า Load ต้านทานการหมุนน้อย มอเตอร์จะดึงกระแสน้อยและหมุนเร็วขึ้น

4. เมื่อต้องการเพิ่มความเร็วของมอเตอร์

เมื่อต้องการเพิ่มความเร็วของมอเตอร์สามารถทำได้โดยการเพิ่มแรงดันไฟฟ้า Vs หรือก็คือการเพิ่ม กระแสให้มอเตอร์ แต่ถ้าต้องการลดความเร็วมอเตอร์ก็สามารถทำได้โดยการลดแรงดันไฟฟ้า Vs หรือก็คือการลดกระแสให้กับมอเตอร์นั่นเอง

5. การกลับทิศทางการหมุนของมอเตอร์

การกลับทิศทางการหมุนของมอเตอร์สามารถทำได้โดยการกลับขั้วแหล่งจ่ายแรงดันไฟฟ้าให้กับมอเตอร์ดัง ที่กล่าวไปแล้วว่าเราสามารถเพิ่ม ความเร็วในการหมุน DC Motor ได้โดยเพิ่มกระแสที่จ่ายให้กับ Motor ซึ่งในที่นี้คือการเพิ่มแรงดันไฟฟ้าให้กับ Motor ก็จะทำให้ Motor หมุนเร็วขึ้น ดังนั้นเราสามารถควบคุมความเร็วของมอเตอร์ได้ด้วยการใช้สัญญาณควบคุมแบบ PWM (Pulse Width Modulation) โดยสัญญาณแบบ PWM ดังแสดงในรูปที่ 2.23 โดยในรูป (a) จะมีช่วง High มากกว่ารูป (b) ทำให้ค่าเฉลี่ยของแรงดันในรูป (a) สูงกว่ารูป (b) ดังนั้นมอเตอร์ที่ถูกป้อนด้วยสัญญาณในรูป (a) จะหมุนได้เร็วกว่ามอเตอร์ที่ถูกป้อนด้วยสัญญาณในรูป (b)



รูปที่ 2.23 สัญญาณ Pulse Width Modulation

เซอร์โวมอเตอร์

Servo motor คือ มอเตอร์ไฟฟ้ากระแสตรง (DC motor) ที่ถูกประกอบรวมกับชุดเกียร์และส่วนควบคุมต่าง ๆ ไว้ในกล่องพลาสติกเดียวกัน โดยมอเตอร์ชนิดนี้เป็น Servo motor ที่ใช้กับเครื่องบินบังคับด้วยวิทยุจะมีสายต่อใช้งานเพียง 3 เส้นเท่านั้น คือ VCC, GND และสายควบคุมให้มอเตอร์หมุนซ้าย หรือขวาได้จากสายสัญญาณ pluses with modulation (PWM) แบบ TTL level ระดับแรงดันที่จ่ายให้กับมอเตอร์นี้จะอยู่ในช่วง 4 ถึง 6 โวลต์ ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของมอเตอร์แต่ละตัว

ส่วนประกอบของ Servo motor

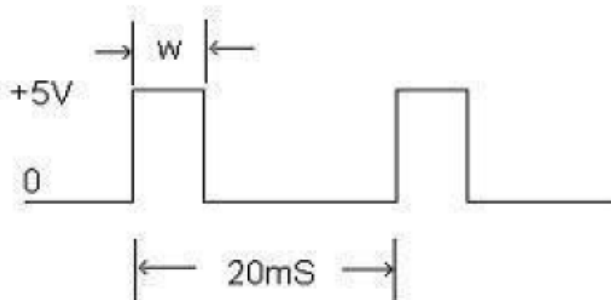
Servo motor มีส่วนประกอบที่สำคัญ 2 ส่วน คือ ส่วนแรกชุดเฟืองเกียร์ ส่วนประกอบหลักของ Servo motor มีน้ำหนักเบาและแข็งแรงสูง ส่วนที่สองบอร์ดควบคุมทำหน้าที่คำนวณตำแหน่งการหมุนของ Servo motor ตามสัญญาณ pulse ที่เข้ามา ดังรูปที่ 2.24 โดยในบอร์ดก็จะมีตัวต้านทานที่ปรับค่าได้



รูปที่ 2.24 ส่วนประกอบของ เซอร์โวมอเตอร์

การทำงานของ Servo motor

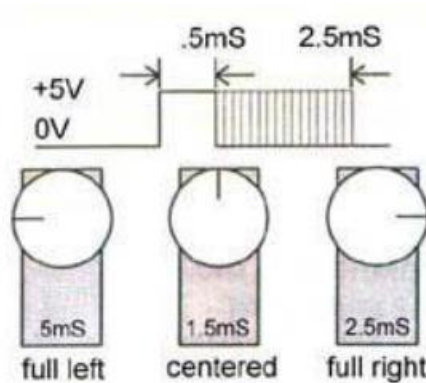
เราสามารถควบคุมการทำงานของ Servo motor ได้โดยป้อนสัญญาณความกว้าง pulse ให้กับ Servo motor ซึ่งความกว้างของสัญญาณ pulse นี้จะไปกำหนดตำแหน่งของ Servo motor ว่าจะหมุนไปอยู่ตำแหน่งใด ซึ่งเราสามารถป้อนความกว้าง pulse ได้ตั้งแต่ 1.0 ms - 2.0 ms โดยที่คาบเวลา (Period) ในการส่งสัญญาณความกว้าง pulse เท่ากับ 20 ms ดังรูป ที่ 1.25 สัญญาณที่ส่งให้ Servomotor โดยค่า w นั้น หมายถึงช่วงความกว้าง pulse ที่เราสามารถป้อนให้กับ Servo motor มีค่าตั้งแต่ 0.5 ms - 2.5 ms



รูปที่ 2.25 สัญญาณที่สามารถป้อนให้กับ Servo motor

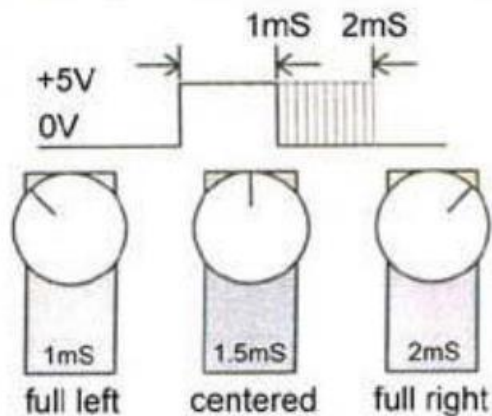
โดยจะมีจุดที่อ้างอิง 3 จุดด้วยกันคือ

1. ตำแหน่งซ้ายสุด สามารถกำหนดให้ Servo motor เคลื่อนที่ไปยังตำแหน่งซ้ายสุด (-90 องศา) ได้โดยการป้อนความกว้าง pulse เท่ากับ 0.5 ms
2. ตำแหน่งตรงกลาง สามารถกำหนดให้ Servo motor เคลื่อนที่ไปยังตำแหน่งตรงกลาง (0 องศา) ได้ โดยการป้อนความกว้าง pulse เท่ากับ 1.5 ms
3. ตำแหน่งขวาสุด สามารถกำหนดให้ Servo motor เคลื่อนที่ไปยังตำแหน่งขวาสุด (90 องศา) ได้ โดยการป้อนความกว้าง Pulse เท่ากับ 2.5 ms



รูปที่ 2.26 Servo motor เมื่อป้อนสัญญาณความกว้าง pulse 2.5 ms, 1.5 ms และ 0.5 ms

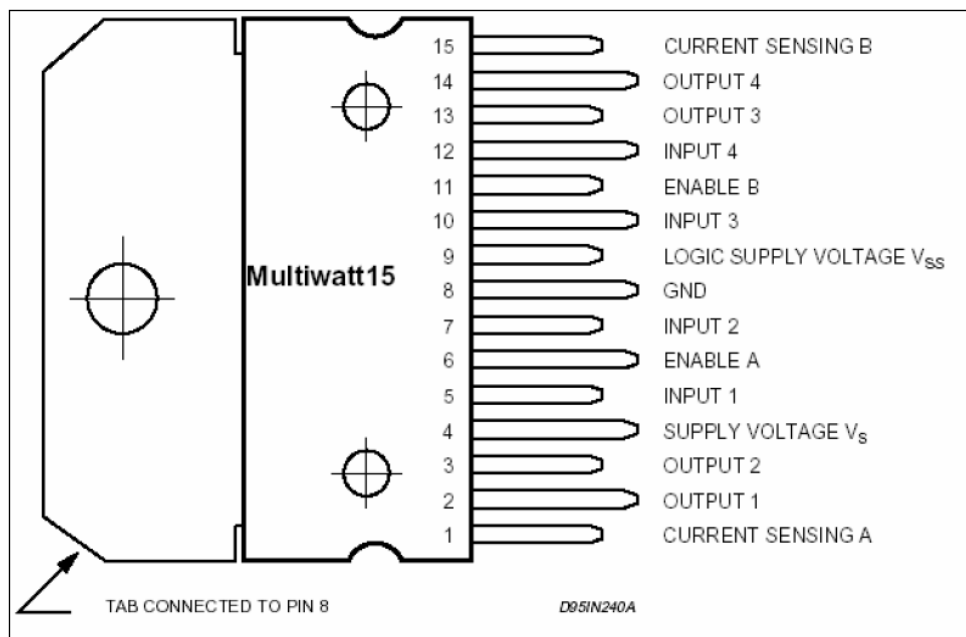
จากจุดอ้างอิงทั้ง 3 เราสามารถคำนวณตำแหน่งที่ต้องการให้ Servo motor หมุนไปได้ เช่นถ้าเราต้องการให้ Servo motor หมุนไปยังตำแหน่ง -45 องศา เราก็ทำการป้อน $(0.5+1.5)/2=1.0$ ms ให้กับ Servo motor เมื่อทำการป้อนค่า 0.5 ms เข้าไปจะเห็นว่า Servo motor จะหมุนไปยังตำแหน่งซ้ายสุด (-90 องศา) แต่เมื่อเราทำการป้อน 2.5 ms Servo motor จะหมุนไปยังตำแหน่งขวาสุด (+90 องศา) ซึ่งค่า 0.5 ms และ 2.5 ms นี้จะเป็นค่าต่ำสุดและสูงสุดที่จะสามารถป้อนให้กับ Servo motor ได้ ส่วนในรูปที่ 2.27 นั้น เป็นการแสดงภาพของ Servo motor เมื่อเราทำการป้อน 1.0 ms และ 2.0 ms จะเห็นว่า Servo motor จะเคลื่อนที่ไปยังตำแหน่ง -45 และ +45 องศาตามลำดับ



รูปที่ 2.27 Servo motor เมื่อป้อนสัญญาณความกว้าง pulse 1 ms และ 2 ms

IC เบอร์ L298N

IC เบอร์ L298N คือ ไอซีขับมอเตอร์ไฟฟ้ากระแสตรง มีลักษณะดังแสดงในรูปที่ 2.28 ซึ่งสามารถควบคุมทิศทางการหมุนของมอเตอร์, การเปิดปิด และความเร็วของมอเตอร์ด้วยการส่งสัญญาณการควบคุมแบบ PWM ได้ โดยสามารถควบคุมการขับมอเตอร์กระแสตรงได้ 2 ตัว



รูปที่ 2.28 Pin Configuration ของ IC เบอร์ L298N

ขา 1 ต่อ GND

ขา 2 - 3 ต่อเข้าขั้วมอเตอร์

ขา 4 เป็นแรงดันสำหรับมอเตอร์ โดยคำนึงถึงลักษณะมอเตอร์ (Motor Specification) เป็น

หลัก

ขา 5 , 7 เป็นขาสำหรับรับ Logic 1 (3.3 Volt +), Logic 0 (0 Volt) เพื่อควบคุมมอเตอร์ A (มอเตอร์ 1)

ขา 6 Enable A คล้ายกับการเปิด-ปิดมอเตอร์ ถ้าเราจ่ายแต่ Logic เข้า ขา 5 , 7 แต่ไม่จ่าย Enable มอเตอร์ก็จะไม่ทำงาน ปกติจ่ายแรงดันแค่ 3.3 Volt ก็จะเป็นการ Enable มอเตอร์ไว้ตั้ง

ขา 8 GND ต้องเป็น Ground ร่วมกับ ขา 1 และ 15 ต้องต่อร่วมด้วย

ขา 9 ต่อไปยังแรงดัน สำหรับ Logic gate

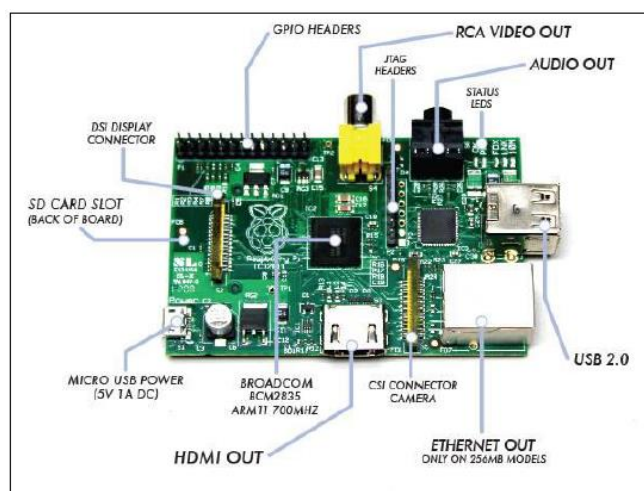
ขา 10 , 12 เป็นขาสำหรับรับ Logic 1 (3.3 Volt +) , Logic 0 (0 Volt) เพื่อควบคุมมอเตอร์ B (มอเตอร์ 2)

ขา 13 – 14 ต่อเข้าขั้วมอเตอร์

ขา 15 ต่อ GND

Raspberry Pi

คือคอมพิวเตอร์ขนาดจิ๋วมีแต่สิ่งที่จำเป็นเพื่อการประมวลผล ราคาไม่แพงเกินไป บอร์ดใช้ชิป SoC ของ Broadcom BCM2835 ซึ่งบรรจุ ARM1176JZFS พร้อมทั้งหน่วยประมวลผลเลขทศนิยม (floating point) ทำงานที่ความถี่สัญญาณนาฬิกา 700 MHz DRAM ขนาด 512 MB ซึ่งถ้าเป็น microcontroller ทั่วไปอาจมี RAM น้อยกว่านี้ (เป็น SRAM เพราะไม่มี MMU) ภายในมีแกนประมวลผลกราฟิก Videocore IV ทำให้สามารถเล่นไฟล์วิดีโอความละเอียด 1080p ได้ ไม่มีฮาร์ดดิสก์มาให้มีเพียง ROM ที่ไว้ใช้จัดการบูตเข้าระบบปฏิบัติการที่ได้รับการติดตั้งในการ์ดหน่วยความจำ ไร้สาย USB หรือผ่านทางเครือข่ายเท่านั้น ไม่มีจอภาพ คีย์บอร์ด หรือเมาส์มาให้ และถูกออกแบบให้รองรับ Linux ซึ่งงานบางอย่างอาจต้องใช้หน่วยความจำเยอะ เช่น งานประมวลผลภาพ Raspberry Pi จึงมีความเหมาะสมที่จะใช้งานในด้านนี้



รูปที่ 2.29 Raspberry Pi

ภาษา Python

Python เป็นภาษาระดับสูงภาษาหนึ่งที่มีความสามารถสูง ถูกสร้างขึ้นในปี 1989 โดย Guido van Rossum ซึ่งถูกพัฒนาขึ้นมาโดยไม่ยึดติดกับแพลตฟอร์ม กล่าวคือสามารถรันภาษา Python ได้ทั้งบนระบบ Unix, Linux, Windows NT, Windows 2000, Windows XP หรือแม้แต่ระบบ FreeBSD อีกอย่างหนึ่งภาษาดังนี้ เป็นภาษาลักษณะ Open Source เหมือนอย่าง PHP

ความสามารถของภาษา Python

ในปัจจุบันภาษาที่ใช้ในการพัฒนา Web Application มีมากมายหลายภาษา เช่น ภาษา Perl, PHP, JAVA, ASP, Tcl, Python เป็นต้น สำหรับภาษา Python นับว่ายังใหม่ในวงการพัฒนาโปรแกรมบนเว็บ แต่ด้วยข้อดีหลายประการของภาษา Python ทำให้มีผู้นิยมใช้มากขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งพอสรุปข้อดีของภาษา Python ได้ดังนี้

1. ง่ายต่อการเรียนรู้โดยภาษา Python มีโครงสร้างของภาษาไม่ซับซ้อน เข้าใจง่าย ซึ่งโครงสร้างภาษา Python จะคล้ายกับภาษา C มาก เพราะภาษา Python สร้างขึ้นมาโดยใช้ภาษา C ทำให้ผู้ที่คุ้นเคยภาษา C อยู่แล้วใช้งานภาษา Python ได้ไม่ยาก นอกจากนี้โดยตัวภาษาเองมีความยืดหยุ่นสูงทำให้การจัดการกับงานด้านข้อความ และ Text File ได้เป็นอย่างดี
2. ไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายใด ๆ ทั้งสิ้นเพราะตัวแปลภาษา Python อยู่ภายใต้ลิขสิทธิ์ GNU
3. ใช้ได้หลายแพลตฟอร์ม ในช่วงแรกภาษา Python ถูกออกแบบใช้งานกับระบบ Unix แต่ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาตัวแปลภาษา Python ให้สามารถใช้กับระบบปฏิบัติการอื่นๆ เช่น Linux, Windows 95/98/ME, Windows NT, Windows 2000, OS/2
4. ภาษา Python ถูกสร้างขึ้น โดยได้รวบรวมเอาส่วนดีของภาษาต่างๆ เข้ามาไว้ด้วยกัน เช่น ภาษา C, C++, Java, Perl
5. ภาษา Python เป็นภาษาประเภท Server side Script คือการทำงานของภาษา Python จะทำงานด้านฝั่ง Server แล้วส่งผลลัพธ์กลับมายัง Client ทำให้มีความปลอดภัยสูง
6. ใช้พัฒนา Web Service โดยที่ภาษา Python สามารถนำมาพัฒนาเว็บเซอร์วิสรวมทั้งใช้บริหารจัดการสร้างเว็บไซต์สำเร็จรูปที่ 2.30 เรียกว่า Content Management Framework (CMF) ตัวอย่าง CMF ที่มีชื่อเสียงมากและเบื้องหลังทำงานด้วย python คือ Plone

หลักการประมวลผลภาพ

หลักการมองเห็นของมนุษย์กับการประมวลผลภาพดิจิทัล

ระบบการมองเห็นของมนุษย์ หากเปรียบเทียบกับปัจจุบันก็คือกล้องถ่ายภาพดิจิทัลและกล้องวิดีโอ อุปกรณ์เหล่านี้ทำหน้าที่ในการแปลงข้อมูลภาพให้เป็นสัญญาณทางไฟฟ้า ในการประมวลผลภาพดิจิทัลนิยมใช้กล้องถ่ายภาพดิจิทัล หรือ กล้องวิดีโอ เนื่องจากให้ภาพที่คมชัดและเหมือนจริง จากนั้นนำข้อมูลภาพที่ได้มาทำการวิเคราะห์ต่อไป

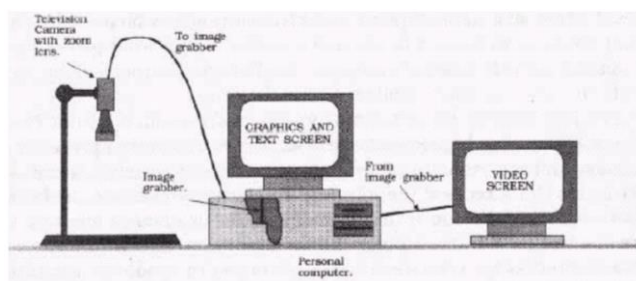
ขั้นตอนการประมวลผลภาพดิจิทัล

ขั้นตอนการประมวลผลภาพจะประกอบไปด้วย 3 ส่วน

1. ขั้นตอนการนำข้อมูลภาพเข้าสู่เครื่องคอมพิวเตอร์
2. ขั้นตอนการนำคอมพิวเตอร์มาพัฒนาอัลกอริทึมเพื่อประมวลผลภาพ
3. ขั้นตอนการแสดงผลภาพ

หลักการประมวลผลภาพ

3.1 หลักการมองเห็นของมนุษย์กับการประมวลผลภาพดิจิทัล



รูปที่ 2.30 อุปกรณ์พื้นฐานสำหรับระบบประมวลผลภาพ

โดยทั่วไปอุปกรณ์พื้นฐานในการประมวลผลภาพตามขั้นตอนที่กล่าวมาข้างต้น จะประกอบด้วยเครื่องไมโครคอมพิวเตอร์ที่มีอุปกรณ์ตรวจจับภาพ (frame grabber card) ซึ่งจะต่อกับกล้องวิดีโอตัวจับภาพ ดังรูปที่ 2.31 ขั้นตอนการนำภาพเข้าสู่เครื่องคอมพิวเตอร์เป็นการแปลงสัญญาณภาพทั่วไปเป็นสัญญาณอนาล็อก (analog signal) ให้เป็นสัญญาณภาพดิจิทัล เพื่อให้เครื่องคอมพิวเตอร์สามารถประมวลผลภาพได้ ทั้งนี้สามารถทำได้นำข้อมูลภาพจากตัวจับภาพ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วภาพดิจิทัลที่ได้จากการแปลงสัญญาณจะถูกเก็บ ในหน่วยความจำที่มีอยู่ในอุปกรณ์ตัวจับภาพ และสามารถนำมาประมวลผลได้โดยการเขียนโปรแกรมภาษาระดับสูง เช่น ภาษาซี อุปกรณ์ตัวจับภาพที่นิยมใช้จะสามารถเก็บภาพขนาด $512 * 512$ จุดภาพ (pixel) และแต่ละจุดภาพสามารถแสดงระดับเทาได้อย่างน้อย 256 ระดับ ส่วนกล้องวิดีโอที่ใช้ในการเก็บภาพมักจะเป็นกล้องซีซีดี (charge coupled device (CCD) camera)

ก่อนการประมวลผลภาพต้องเตรียมข้อมูลภาพซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. ปรับปรุงข้อมูลภาพในส่วนที่ไม่คมชัด
2. กำจัดสัญญาณรบกวน
3. การปรับคอนทราสต์ หรือปรับปรุงคุณสมบัติของการมองเห็น เช่น การปรับค่าความเข้มของจุดภาพ การกลับข้อมูลภาพ เป็นต้น

4. การแบ่งแยกข้อมูลภาพออกจากสีพื้น โดยใช้ค่าเทรสโฮลด์
5. การแปลงข้อมูลภาพในทางเรขาคณิต เช่น การหมุนภาพ การเปลี่ยนแปลงขนาดภาพ และการแก้ไขตำแหน่งของจุดภาพ
6. การแก้ไขข้อมูลภาพในส่วนที่มีการผิดเพี้ยน

การแปลงภาพดิจิทัล

สิ่งมองเห็นที่เป็นภาพทั่วไปจะเป็นลักษณะสัญญาณแบบอนาล็อกซึ่งจะสามารถกำหนดได้เป็นฟังก์ชันความเข้ม 2 มิติ (two-dimensional light intensity function) $f(x,y)$ โดยที่ x และ y เป็นตำแหน่งพิกัดของภาพ ส่วนค่าของ f ที่ตำแหน่ง (x,y) นั้นจะเป็นสัดส่วนกับความเข้ม(brightness) หรือระดับเทา (gray level) ของภาพที่ตำแหน่งนั้น ซึ่งค่า $f(x,y)$ จะมีค่ามากกว่าศูนย์ กล่าวคือ

$$0 < f(x,y) < \infty \quad (3-1)$$

โดยทั่วไปค่าระดับความเข้มของแสง $f(x,y)$ จะขึ้นกับองค์ประกอบสองส่วนคือ 1) ค่า illumination ซึ่งเป็นค่าระดับแสงที่มองเห็นและ 2) ค่า reflection ซึ่งค่าระดับที่สะท้อนมาจากวัตถุ ซึ่งค่าทั้งสองนี้อาจกำหนดให้เป็นฟังก์ชัน $i(x,y)$ และ $r(x,y)$ ตามลำดับ และค่า $f(x,y)$ จะเป็นผลคูณของค่าทั้งสอง

$$f(x,y) = i(x,y)r(x,y) \quad (3-2)$$

โดยที่

$$0 < i(x,y) < \infty \quad (3-3)$$

และ

$$0 < r(x,y) < 1 \quad (3-4)$$

ค่าโดยเฉลี่ยสำหรับสภาพสิ่งแวดล้อมต่างๆ $i(x,y)$ และ $r(x,y)$ สำหรับวัตถุ(วัสดุ) ต่างๆจะเป็นดังนี้

$$r(x, y) = \begin{cases} 0.01 & \text{black velvet} \\ 0.65 & \text{stainless steal} \\ 0.80 & \text{flat white paint} \\ 0.90 & \text{silver plated metal} \\ 0.93 & \text{snow} \end{cases}$$

และ

$$i(x, y) = \begin{cases} 9000 & \text{clear sunny day} \\ 1000 & \text{cloudy day} \\ 0.01 & \text{full moon night} \\ 100 & \text{inside office} \end{cases}$$

โดยทั่วไปเราจะกำหนดค่าระดับความเข้มของแสงในกรณีของภาพโมนโอโครม (monochrome image) f ที่พิกัด (x,y) เป็นค่าระดับเทา L ซึ่งจากสมการที่ (3-1) ถึง (3-4) เราจะได้ค่า L ดังนี้

$$L_{\min} \leq L \leq L_{\max} \quad (3-5)$$

โดยที่

$$L_{\min} \text{ จะมีค่าเป็น } L_{\min} = i_{\min} r_{\min} \approx 0.005$$

$$\text{และ } L_{\max} \text{ จะมีค่าเป็น } L_{\max} = i_{\max} r_{\max} \approx 100$$

ลักษณะของแฟมการเก็บภาพใ้ที่อยู่ในระบบข้อมูลแบบดิจิทัล

ลักษณะของแฟมข้อมูลภาพจะมีการกำหนดตำแหน่งเหมือนกับเมตริกซ์โดยที่จำนวนคอลัมน์ (Column) และแถว (Row) จะแทนจำนวนจุดภาพของภาพเช่น ภาพขนาด 256×256 หมายถึงแฟมข้อมูลของภาพดังกล่าวมีขนาด 256 คอลัมน์และ 256 แถว

$$A = \begin{bmatrix} f(1,1) & f(1,2) & f(1,3) & \dots & f(1,256) \\ f(2,1) & f(2,2) & f(2,3) & \dots & f(2,256) \\ f(3,1) & f(3,2) & f(3,3) & \dots & f(3,256) \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ f(256,1) & f(256,2) & f(256,3) & \dots & f(256,256) \end{bmatrix}$$

รูปที่ 2.31 เมตริกซ์ของรูปขนาด 256×256

จะเห็นว่าแฟมข้อมูลภาพจะประกอบไปด้วยสมาชิกของเมตริกซ์ ทั้งหมด $i \times j$ ตัวและที่ตำแหน่งในเมตริกซ์ต่าง ๆ ก็จะมี $f(i,j)$ ซึ่งเป็นค่าระดับความเข้ม (Gray Level) ของภาพที่จุดนั้น

การเตรียมภาพก่อนการประมวลผลภาพ

การเตรียมภาพเป็นขั้นตอนก่อนการแปลงภาพให้เป็นภาพไบนารี ส่วนใหญ่จะเป็นกรองภาพเพื่อกำจัดการรบกวน (Noise) หรือทำให้ภาพมีคุณภาพที่ดีขึ้นเมื่อไปเป็นภาพไบนารี

- การเปลี่ยนแปลงฮิสโตแกรม (Histogram Equalize)

เป็นการแปลงฮิสโตแกรมของภาพใหม่มีค่ากว้างขึ้นผลของการแปลงทำให้ภาพมีความเข้มที่ดีขึ้น เทคนิคเช่นนี้นิยมมาใช้กับภาพที่ต้องการดูรายละเอียดของภาพที่ซ่อนอยู่โดยไม่คำนึงถึงสีของภาพ

- การเปลี่ยนแปลงคุณภาพอัตโนมัติ (Auto Level)

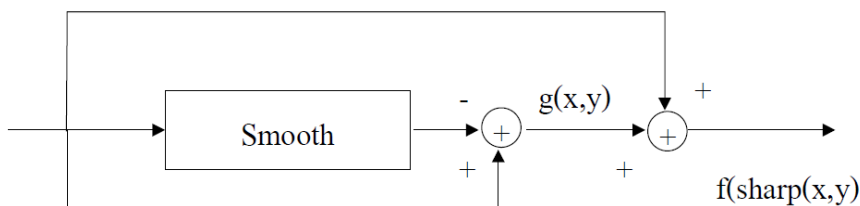
เป็นเทคนิคหนึ่งที่น่าิยมกันมากอีกวิธีหนึ่ง เทคนิคดังกล่าวนี้เป็นการเพิ่มความสว่างและความเข้มแสงของภาพ โดยไม่มีผลกระทบต่อสีของภาพเทคนิคดังกล่าวนิยมนำมาใช้กับภาพที่ถ่ายแล้วมืด

- การกรองภาพ (Filtering)

การกรองภาพมีอยู่หลายวิธีเช่น Average, Gaussian, Laplacian, LoG, Prewitt Sobel, Unsharp ในนี้จะกล่าวเฉพาะวิธีการกรองภาพ

วิธีการกรองแบบ Unsharp Filter

วิธีการกรองแบบนี้การเตรียมภาพก่อนการประมวลผลภาพอีกวิธีหนึ่งโดยการเพิ่มความคมชัดให้กับภาพ ความเร็วในการทำงานในการประมวลผลภาพรวดเร็วเนื่องจากการทำงานที่ไม่ซับซ้อน ลักษณะการทำงานแสดงได้ดังรูปที่ 2.32



รูปที่ 2.32 วิธีการปรับปรุงคุณภาพโดยวิธีการ Unsharp

จากรูปที่ 2.32 เมื่อข้อมูลภาพที่ต้องการปรับโดยใช้วิธีการนี้ต้องผ่านฟังก์ชันการปรับภาพให้เรียบจากนั้นนำข้อมูลภาพที่ผ่านการปรับมาบวกกับข้อมูลภาพเดิมก็จะทำให้ได้ภาพที่คมชัดขึ้นตามสมการที่ (3-6)

$$f_{\text{sharp}}(x, y) = f(x, y) + k * g(x, y) \quad (3-6)$$

เมื่อค่า k เป็นค่าในการปรับความคมชัดมีค่าระหว่าง 0.2-0.7 ในกรณีค่า k มีค่ามากจะถือได้ว่าการกรองจะมีความคมชัดขึ้น

วิธีการแปลงภาพให้เป็นภาพไบนารี

การแปลงภาพให้เป็นไบนารีเพื่อแปลงค่าภาพก่อนนำไปสู่กระบวนการประมวลผลภาพแบบดิจิทัล(Digital Image Processing) ที่ใช้ในงานวิจัยคือ การใช้ค่าเทรชโฮลด์ (Threshold)

การที่ภาพมีทั้งสีและลำดับชั้นของสี (Shade) ทำให้เกิดลวดลาย ซึ่งระดับความเข้มที่น้อยที่สุดที่ทำให้เกิดลวดลายได้คือความเข้มสองระดับหรือที่เรียกว่าไบนารี (Binary) ซึ่งส่วนใหญ่คือสีขาวดำ และระดับความเข้มของสีขาวดำที่สามารถเก็บรายละเอียดของภาพได้หมดคือระดับ 256 ระดับ ดังนั้นการที่เราสร้างอัลกอริธึมจะสามารถจำแนกลวดลายได้รวดเร็วเราควรแปลงภาพให้มีระดับความเข้มสองระดับเพื่อให้คอมพิวเตอร์ทำการประมวลผลภาพได้ และมีวิธีการที่ใช้กันทั่วไปคือการแปลงภาพโดยใช้ค่าเทรชโฮลด์ (Threshold) ซึ่งมีสมการดังต่อไปนี้

สมมติให้ $B[i,j]$ คือภาพไบนารีที่เกิดจากภาพต้นแบบ $f[i,j]$ ดังนั้น

$$f_T [i,j] = \begin{cases} 1 & \text{If } f[i,j] > T \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (3-7)$$

โดยที่ $f_T [i, j] =$ ค่าระดับความสว่างที่ตำแหน่ง (i,j)

$T =$ ค่าเทรชโฮลด์

จากสมการข้างต้นภาพวัตถุ (Object) จะเป็นระดับความเข้มที่สว่าง ส่วนที่มีมืดกว่าจะเป็นพื้น (Background) แต่ถ้าวัตถุมีความเข้มอยู่ในระดับกลางๆเราจะหาภาพไบนารีได้จาก

$$f_T [i,j] = \begin{cases} 1 & \text{If } T1 \leq f[i,j] \leq T2 \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (3-8)$$

โดยที่ $T1 =$ ค่าเทรชโฮลด์ของความเข้มระดับที่ 1

$T2 =$ ค่าเทรชโฮลด์ของความเข้มระดับที่ 2

จากสมการเราจะได้ภาพที่มีความเข้มในระดับกลางๆ เป็น 1 ส่วนนอกนั้นจะเป็น 0 การที่ในภาพเดียวกันอาจมีส่วนภาพในแต่ละส่วนไม่เท่ากันเราอาจแบ่งภาพออกเป็นส่วนๆแล้วใช้ค่าเทรชโฮลด์อัตโนมัติ (Automatic Threshold)

การหาขอบภาพ

การหาขอบภาพเป็นการหาขอบเขตของวัตถุภายในภาพซึ่งขอบเขตของวัตถุจะเป็นที่เด่นและมีความสำคัญมากที่สุดที่จะนำไปสู่การรู้จักวัตถุนั้นๆ โดยคอมพิวเตอร์จะเห็นได้ว่าการหาขอบภาพเป็นการหาจุดเด่นของวัตถุนั้นเอง ลักษณะที่เด่นของวัตถุที่เรามองเห็นโดยทั่วไปก็คือส่วนที่เป็นสันหรือส่วนที่เป็นขอบของวัตถุ เมื่อมีแสงมากระทบก็จะมีแสงสว่างมากกว่าส่วนอื่น โดยทั่วไปลักษณะของขอบภาพที่ดีจะต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้

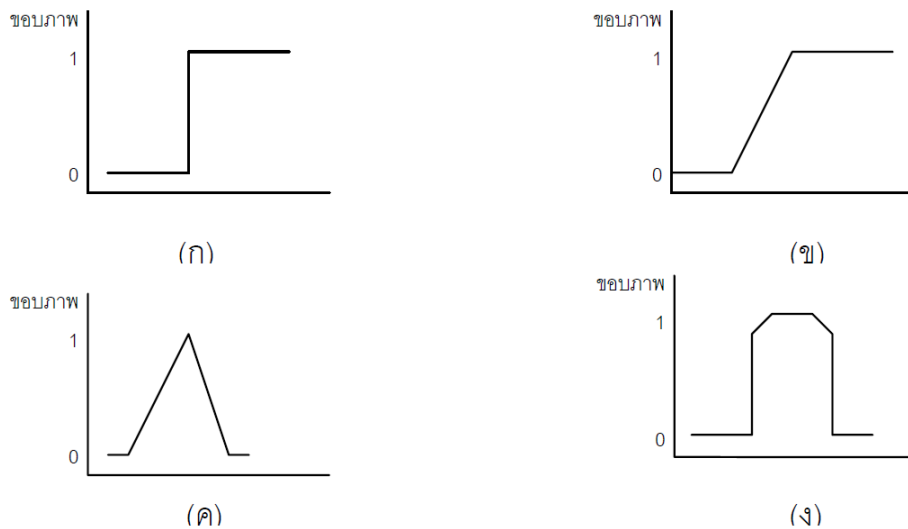
- มีความบางคือ จุดที่เป็นขอบภาพจะต้องมีความกว้างเพียงจุดเดียวเท่านั้น
- มีความต่อเนื่อง โดยจุดของขอบภาพในวัตถุเดียวกันมีความต่อเนื่องกัน ถ้าจุดที่เป็นขอบภาพมีอยู่เพียงจุดเดียว โดยไม่ต่อเนื่องกับจุดใดในย่านใกล้เคียงเลยอาจจะเป็นขอบภาพที่ไม่สมบูรณ์ หรืออาจจะเป็นสัญญาณรบกวนได้
- ตำแหน่งของจุดที่เป็นขอบภาพควรมีความถูกต้องโดยขอบที่มีความถูกต้องนั้นจะต้องอยู่ในส่วนที่มีค่าความเข้มของจุดภาพที่สูงกว่าจากรูปที่ 2,33 ได้แสดงขอบภาพ โดยใช้ตัวเลขในลักษณะต่างๆ โดยรูปที่ 2.33(ก) แสดงขอบภาพที่มีความหนา และรูปที่ 2.33(ข) เป็นขอบภาพที่ไม่ต่อเนื่อง

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

(ก) ขอบภาพหนา (กว้าง 2 จุด)
(ข) ขอบภาพที่ไม่ต่อเนื่อง

รูปที่ 2.33 แสดงลักษณะขอบภาพแบบต่างๆ

รูปแบบของขอบภาพที่ปรากฏในรูปภาพโดยทั่วไปจะประกอบไปด้วยขอบภาพหลายชนิดดังแสดงในรูปที่ 2.34(ก) เป็นขอบภาพที่เปลี่ยนแปลงทันทีทันใดขอบภาพแบบนี้ส่วนใหญ่เป็นภาพที่มนุษย์จำลองขึ้นมาส่วนภาพโดยทั่วไปจะเป็นขอบภาพที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มที่ละน้อย ดังรูปที่ 2.34(ข) รูปที่ 2.34(ค) ขอบภาพที่ค่าความเข้มที่ค่าความเข้มค่อยๆ เพิ่มขึ้น หรือทดลองที่ละน้อยในลักษณะของรูปหน้าจั่ว และรูป 2.34(ง) แสดงขอบภาพที่เป็นเส้น



รูปที่ 2.34 แสดงขอบภาพชนิดต่างๆ

การเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มแสงมีผลต่อการหาขอบภาพ หรือลักษณะทางกายภาพตัววัตถุเอง (เช่น ลักษณะของพื้นผิว และรูปทรง) คุณสมบัติเหล่านี้จะเป็นปัจจัยพื้นฐานที่สำคัญของรูปภาพที่จะบอกขอบเขตและลักษณะทางกายภาพของวัตถุที่อยู่ในภาพ

การหาขอบภาพโดยใช้อนุพันธ์อันดับที่หนึ่ง

เป็นการหาขอบภาพโดยแปลงเกรเดียนตแบบไม่ต่อเนื่องบนข้อมูลภาพเชิงตัวเลข ซึ่งเป็นการหาตำแหน่งค่าความเข้มของจุดภาพที่มีการเปลี่ยนแปลง และเกรเดียนต $\nabla f(x,y)$ ที่เป็นฟังก์ชันต่อเนื่องในระนาบสองมิติซึ่งสามารถกำหนดได้โดย

$$\nabla f(x,y) = \left(\frac{\partial f}{\partial x} + \frac{\partial f}{\partial y} \right) \quad (3-9)$$

สำหรับขนาดของมันสามารถกำหนดได้ดังนี้

$$|\nabla f(x,y)| = \sqrt{\left(\frac{\partial f}{\partial x} \right)^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial y} \right)^2} \quad (3-10)$$

ส่วนทิศทางของเวกเตอร์เกรเดียนตคือ

$$\theta = \tan^{-1} \left(\frac{\partial f}{\partial x} / \frac{\partial f}{\partial y} \right) \quad (3-11)$$

เนื่องจากการหาขอบภาพเป็นการประมวลผลแบบไม่ต่อเนื่อง ดังนั้นจึงใช้อนุพันธ์ย่อยแบบไม่ต่อเนื่องทิศทางที่ตั้งฉากกับแกน x และ y ซึ่งสามารถกำหนดได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \nabla_x g(x, y) &= g(x, y) - g(x-1, y) \\ \nabla_y g(x, y) &= g(x, y) - g(x, y-1) \end{aligned} \quad \begin{bmatrix} x-1, y & x, y \\ x, y & x, y-1 \end{bmatrix} \quad (3-12)$$

และสำหรับทิศทาง θ หาได้จากสมการที่ (3-11)

$$\nabla g(x, y) = g(x, y)\cos\theta + g(x, y)\sin\theta \quad (3-13)$$

ส่วนขนาดโดยประมาณของเกรเดียนต $g(x, y)$ สามารถกำหนดได้ดังนี้

$$|\nabla g(x, y)| = \sqrt{(\nabla_x g(x, y))^2 + (\nabla_y g(x, y))^2} \quad (3-14)$$

การหาขอบภาพโดยใช้เกรเดียนตในทางปฏิบัติจะมีลักษณะที่แตกต่างกันไป เช่น วิธี Roberts สามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$g(x, y) = \text{Max}(g(x, y) - g(x+1, y+1), g(x+1, y) - g(x, y+1)) \quad (3-15)$$

โดยพิกัด x, y มีลักษณะดังนี้

$$\begin{bmatrix} x, y+1 & x+1, y+1 \\ x, y & x+1, y \end{bmatrix}$$

และฟังก์ชัน $\text{Max}(A, B)$ จะเป็นค่าที่มากกว่าระหว่าง A กับ B วิธีของ Prewitt และ Sobel จะใช้จุดภาพในบริเวณใกล้เคียงที่จะอยู่ในกรอบหรือวินโดวขนาด 3×3 ซึ่งอยู่ในรูปแบบดังนี้

$$\begin{bmatrix} x, y+2 & x+1, y+2 & x+2, y+2 \\ x, y+1 & x+1, y+1 & x+2, y+1 \\ x, y & x+1, y & x+2, y \end{bmatrix}$$

วิธีของ Prewitt

$$g(x, y) = \left(\left| \sum_y^{y+2} g(x, y) - \sum_y^{y+2} g(x+2, y) \right| + \left| \sum_x^{x+2} g(x, y) - \sum_x^{x+2} g(x, y+2) \right| \right) \quad (3-16)$$

วิธีของ Sobel จะมีการใช้ค่าถ่วงน้ำหนัก ซึ่งสามารถกำหนดได้ดังนี้

$$g(x, y) = \left(\left| g(x, y) + 2g(x, y+1) + g(x, y+2) - (g(x+2, y) + 2g(x+2, y+1) + g(x+2, y+2)) \right| - \left| g(x, y) + 2g(x+1, y) + g(x+2, y) - (g(x, y+2) + 2g(x+1, y+2) + g(x+2, y+2)) \right| \right)$$

จากสมการข้างตน (3-12)-(3-13) สามารถนำมาเขียนใหม่ในรูปของวินโดวได้ดังนี้ Roberts

$$w_1 = \begin{bmatrix} 0 & -1 \\ 1 & 0 \end{bmatrix} \quad w_2 = \begin{bmatrix} -1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$$

Prewitt

$$w_1 = \begin{bmatrix} 1 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & -1 \end{bmatrix} \quad w_1 = \begin{bmatrix} -1 & -1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix}$$

Sobel

$$w_1 = \begin{bmatrix} 1 & 0 & -1 \\ 2 & 0 & -2 \\ 1 & 0 & -1 \end{bmatrix} \quad w_1 = \begin{bmatrix} -1 & -2 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & 1 \end{bmatrix}$$

จะเห็นว่าในวินโดวของแต่ละวิธีจะมีค่าถ่วงน้ำหนักต่างไปจากการหาเกรเดียนตของสมการเริ่มต้น (3-11) ที่มีเพียง 2 ระดับ เช่น ค่าถ่วงน้ำหนักของ Roberts และ Prewitt จะได้ค่าถ่วงน้ำหนักของเกรเดียนต 3 ระดับ (คือ $-1, 0, 1$) และของ Sobel มี 5 ระดับ (คือ $-2, -1, 0, 1, 2$)

การหาขอบภาพโดยใช้อนุพันธ์อันดับที่สอง

การหาขอบภาพโดยวิธีนี้จะไม่มีการพิจารณาทิศทางของขอบภาพ แต่จะสนใจเฉพาะขนาดของความเป็นขอบภาพ (เกรเดียนต) เท่านั้น ดังนั้นวินโดวที่ใช้หาขอบภาพโดยวิธีนี้จะมีเพียงวินโดวเดียว ซึ่งวิธีต่างๆ ที่นำมาใช้ในงานวิจัยมี ดังนี้

- ตัวดำเนินการ Laplacian

ตัวดำเนินการหาขอบภาพ Laplacian ของฟังก์ชันสอง มิติ $g(x,y)$ ซึ่งเป็นฟังก์ชันไม่ต่อเนื่องบนช่วง $[x,y]$ ที่ได้มาจากการประมาณอนุพันธ์เชิงเส้นของฟังก์ชันต่อเนื่องดังสมการ (3-14)

$$\nabla^2 f(x,y) = \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 f}{\partial y^2} \quad (3-17)$$

สำหรับในกรณีของเกรเดียนตของ $\square 2 g(x,y)$ ที่ได้จากการประมาณสมการที่(3-14) เพื่อใช้ในการหาขอบภาพในพื้นที่ 3×3 จุดสามารถกำหนดได้ดังนี้

$$\nabla^2 g(x,y) = 4g(x,y) - (g(x+1,y) + g(x,y+1) + g(x,y-1)) \quad (3-18)$$

ในการกำหนด Laplacian เองตัวเลข สัมประสิทธิ์ที่คูณอยู่กับพิกัดที่ต้องการหาขอบภาพจะตองมีค่าเป็นบวกเสมอส่วนสัมประสิทธิ์ในตำแหน่งอื่นๆอาจจะมีค่าเป็นบวกหรือลบก็ได้ เนื่องจากอนุพันธ์ของ Laplacian ผลรวมของสัมประสิทธิ์ทั้งหมดต้องเป็นศูนย์เสมอ ซึ่งในกรณีที่ถาจุดภาพที่อยู่ในพื้นที่ 3×3 มีค่าเท่ากันหมดเมื่อคอนโวลูชันกับตัวดำเนินการนี้ผลลัพธ์ที่ได้ก็คือศูนย์ ซึ่งแสดงได้ว่า

จุดภาพไม่ใช่ขอบภาพอย่างแน่นอน ในรูปที่ 2.35 แสดงวินโดวของ Laplacian ในรูปแบบต่างๆ ทั้งที่ใช้จุดภาพใกล้เคียง 4 จุดดังรูปที่ 2.35(ก) และ 8 จุดดังรูปที่ 2.35(ข) กับ(ค) ซึ่งจะมีผลต่อจุดภาพตางกัน

$$\begin{array}{ccc} \begin{bmatrix} 0 & -1 & 0 \\ -1 & 4 & -1 \\ 0 & -1 & 0 \end{bmatrix} & \begin{bmatrix} -1 & -1 & -1 \\ -1 & 8 & -1 \\ -1 & -1 & -1 \end{bmatrix} & \begin{bmatrix} 1 & -2 & 1 \\ -2 & 4 & -2 \\ 1 & -2 & 1 \end{bmatrix} \\ \text{(ก)} & \text{(ข)} & \text{(ค)} \end{array}$$

รูปที่ 2.35 แสดงตัวดำเนินการหาขอบภาพของ Laplacian

ในปัจจุบันเทคโนโลยีในการถ่ายภาพมีการพัฒนาที่สูงและถูกนำมาใช้ในโทรศัพท์เคลื่อนที่ ทำให้มีงานวิจัยใหม่ๆสนใจศึกษาการใช้ iPhone เพื่อการถ่ายภาพทดแทนการใช้กล้อง DSLR ซึ่งสะดวกต่อการพกพาทั้งราคาที่ย่อมเยากว่าและยังใช้งานได้หลายอย่าง ส่วน Digital Image Processing software จะเป็นแอปพลิเคชัน เช่น Colorconc ที่มีให้โหลดมาใช้ จากการศึกษาพบว่าสามารถนำมาใช้วิเคราะห์หาปริมาณสาร tetracycline ในตัวอย่างนมวัวได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจสอบมาตรฐานโดยใช้เครื่องมือ UV-Vis spectroscopy และเร็วนี้ๆ มีงานวิจัยที่ถูกนำมาใช้เพื่อหาปริมาณของสาร methamphetamine โดยเปรียบเทียบกับเครื่องมือ Gas Chromatography-Flame ionization detector (GC-FID) ทั้งสองงานวิจัยนี้สามารถช่วยลดค่าใช้จ่ายเรื่องเครื่องมือรวมถึงอุปกรณ์ได้ค่อนข้างมาก

งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาเทคนิค Digital-image-based colorimetry มาประยุกต์ใช้กับยาเม็ดที่มีส่วนผสมของยา Rifampin ซึ่งมีคุณสมบัติทางเภสัชศาสตร์เป็นยาที่ใช้ในการต้านเชื้อวัณโรค (tuberculosis) ซึ่งมักจะให้โดยการรับประทานร่วมกับยาต้านเชื้อวัณโรคกลุ่มอื่น ได้แก่ Isoniazid และ Ethambutol ในตลาดจะพบในรูปแบบเดี่ยวและแบบผสม ส่วนคุณสมบัติทางกายภาพของ Rifampin มีลักษณะเป็นผงสีส้ม ละลายในน้ำได้น้อยแต่สามารถละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ จากสมมติฐานเมื่อ Rifampin ผสมในปริมาณที่แตกต่างกันในเม็ดยาส่งผลต่อความสว่างและความเข้มของสีที่แตกต่างกัน จากค่าสมการความสัมพันธ์ของความสว่างและความเข้มของสีกับความเข้มของสีที่แตกต่างกัน จะถูกนำมาใช้วิเคราะห์ปริมาณตัวอย่างยา Rifampin ในผลิตภัณฑ์เม็ดยาในตลาดโดยเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณของยา Rifampin ตามที่ United States Pharmacopeia (USP) กำหนด

บทที่ 3

วิธีการทดลองวิจัย

1. การหาวิธีวิเคราะห์ปริมาณตัวยา Rifampin ด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

1.1 Instrumentation

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ HPLC Agilent 1200 Series ประกอบด้วย UV spectrophotometer ในการตรวจวัดการดูดกลืนแสงของสารและประมวลผลด้วยโปรแกรม Lab solution®

คอลัมน์: RP18 column (250 x 4.6 mm, 5 µm)

ปริมาตรที่ฉีด: 20 ไมโครลิตร

1.2 Method optimization

ศึกษาผลของส่วนประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่ต่อประสิทธิภาพในการแยกสารในสารตัวอย่าง โดยพิจารณาจากค่า

- number of theoretical plate (N)
- tailing factor
- resolution (R_s) ของพีค Rifampin และพีคของสารอื่น
- system suitability

โดยส่วนประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่ที่นำมาศึกษาในขั้นตอนนี้ประกอบด้วย

- Water
- Acetonitrile
- 0.01 M NaH_2PO_4

1.3 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

1) Specificity

เตรียมสารละลาย Raw material และสารละลายมาตรฐาน Rifampin ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายและปรับปริมาตรสารละลาย Raw material และสารมาตรฐาน Rifampin ด้วย Acetonitrile และนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่พัฒนาขึ้น โดยเปรียบเทียบค่า Retention time ของโครมาโตแกรมของ Rifampin ในสารละลาย Raw

material กับสารละลายมาตรฐาน Rifampin โดยพีคของ Rifampin จะต้องมีความ Resolution กับพีคใกล้เคียงมากกว่า 2.0

2) Linearity and range

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Rifampin ความเข้มข้น 60-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการวิเคราะห์สารละลายดังกล่าวด้วยวิธี HPLC ที่พัฒนาขึ้น สร้างกราฟมาตรฐานของ Rifampin โดยการ plot ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (x-axis) และค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีค (y-axis) ที่แต่ละความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ค่า regression equation ของกราฟมาตรฐานจะคำนวณโดยใช้ least square linear regression ซึ่ง correlation coefficient (r) ควรจะมากกว่า 0.99 และทำการประเมินผลจากการเตรียมสารละลายมาตรฐาน 3 ชุด

3) Accuracy

ชั่งสาร Rifampin ชนิด Raw material ละลายและปรับปริมาตรด้วย Acetonitrile ให้มีความเข้มข้นของสาร Rifampin 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐาน Rifampin ในปริมาณที่เหมาะสมที่ 3 ระดับเพื่อให้มีความเข้มข้นรวมของ Rifampin เท่ากับ 1000, 500 และ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการเตรียมตัวอย่างระดับละ 3 ซ้ำ และกรองด้วย Nylon syringe filter 0.45 ไมครอน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC หา %recovery ตามสมการ

$$\%recovery = \frac{C_{found}}{C_{added}} \times 100$$

โดย C_{found} คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Rifampin ที่พบ

C_{added} คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Rifampin ที่เติม

โดยพิจารณาค่า %recovery อยู่ในช่วง 95-105%

4) Precision

เตรียมสารละลาย Rifampin raw material ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 6 ตัวอย่างภายในวันเดียวกัน (repeatability) และผู้วิเคราะห์ 2 คน ต่างวันกัน (intermediate precision)

คำนวณค่า relative standard deviation (RSD, %) ของค่าร้อยละโดยมวล (% content) ดังนี้

$$RSD (\%) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

โดย SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าร้อยละโดยมวล

\bar{X} คือ ค่าเฉลี่ยของค่าร้อยละโดยมวล

กำหนดให้ relative standard deviations (RSD, %) ของ Rifampin ไม่ควรเกิน 2%

5) Limit of detection

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Rifampin ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุด นำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC และประเมินหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่มีสัญญาณของ signal to noise (S:N) ratio เท่ากับ 3 จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นดังกล่าวจำนวนทั้งหมด 6 ซ้ำและทำการวิเคราะห์ด้วย HPLC คำนวณ relative standard deviation (RSD) โดย relative standard deviations (RSD, %) ของ Rifampin ไม่ควรเกิน 2%

6) Limit of quantitation

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Rifampin ที่ความเข้มข้นสูงกว่าค่า Limit of detection และนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC และประเมินหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่มีสัญญาณของ signal to noise (S:N) ratio เท่ากับ 10 จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นดังกล่าวจำนวนทั้งหมด 6 ซ้ำและทำการวิเคราะห์ด้วย HPLC คำนวณ relative standard deviation (RSD) โดย relative standard deviations (RSD, %) ของ Rifampin ไม่ควรเกิน 2%

2. การวิเคราะห์หาปริมาณ Rifampin ในตัวอย่างตำรับยาที่มีขายในท้องตลาดด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

2.1 การเตรียม mobile phase

สารละลาย 0.01 M NaH_2PO_4

- 1) ชั่งสารโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 1.1998 กรัม
- 2) ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำจนครบ 1000 มิลลิลิตร
- 3) กรองผ่าน nylon membrane 0.45 ไมครอน
- 4) บรรจุสารแต่ละชนิดลงในขวดที่สะอาดและไม่มีอนุภาคเจือปน
- 5) Degas ด้วยเครื่อง Sonicater เป็นเวลา 30 นาที

Acetonitrile และ DI water

- 1) นำ Acetonitrile HPLC grade และ Deionized water
- 2) กรองผ่าน nylon membrane 0.45 ไมครอน
- 3) แยกบรรจุสารแต่ละชนิดลงในขวดที่สะอาดและไม่มีอนุภาคเจือปน
- 4) Degas ด้วยเครื่อง Sonicater เป็นเวลา 30 นาที

2.2 Instrumentation และ condition

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ HPLC Agilent 1200 Series ประกอบด้วย UV spectrophotometer ในการตรวจวัดการดูดกลืนแสงของสารและประมวลผลด้วยโปรแกรม Lab solution®

คอลัมน์: RP18 column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)

ปริมาตรที่ฉีด: 20 ไมโครลิตร

วัฏภาคเคลื่อนที่: 0.01 M NaH₂PO₄ : ACN (50:50)

อัตราการไหล: 1 มิลลิลิตรต่อนาที

ตรวจวัดสัญญาณ: UV detector ที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร

2.3 การเตรียมกราฟของสารมาตรฐาน (standard calibration curve) Rifampin

1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน Rifampin ใน Acetonitrile ให้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 100 มิลลิลิตร

2) ปิเปตสารละลายมาตรฐานในข้อ 1 ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตรตามจำนวนที่ระบุในตารางที่ 3.1 เพื่อให้มีความเข้มข้นของสารมาตรฐานระหว่าง 60-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย Acetonitrile

ตารางที่ 3.1 วิธีเตรียมกราฟสารมาตรฐาน

สาร	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณสารละลายที่ปิเปต (ไมโครลิตร)	ขนาด volumetric flask (มิลลิลิตร)
STD1	1000	1000	10
STD2	500	500	10
STD3	250	250	10
STD4	125	125	10
STD5	62.5	62.5	10

3) กรองสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ทุกความเข้มข้นผ่าน nylon membrane 0.45 ไมครอน บรรจุลงใน HPLC vials

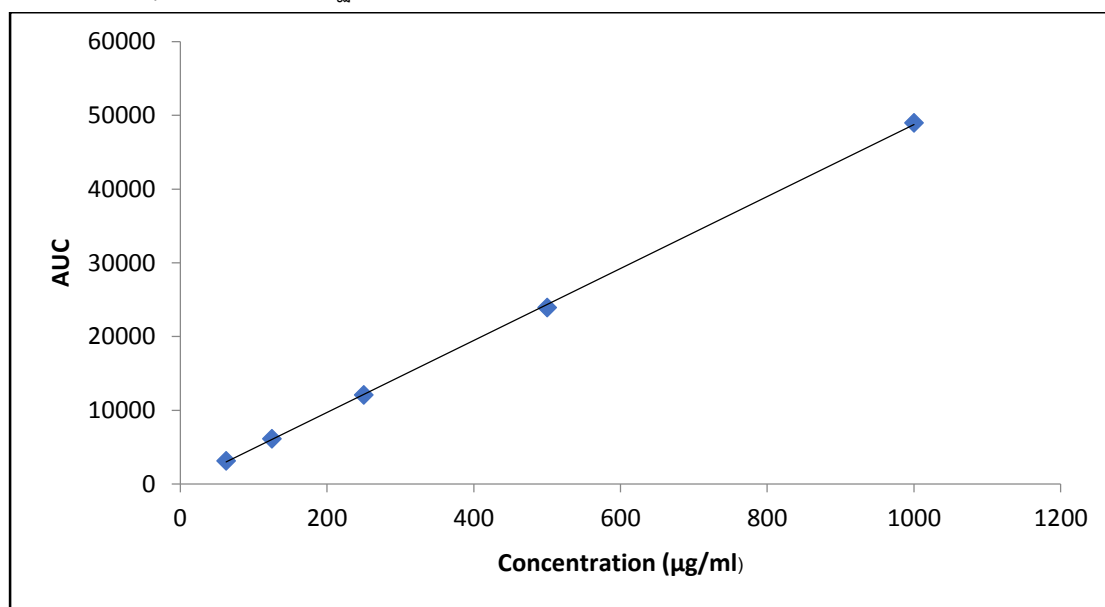
4) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ตามระบุในข้อ 2.2 โดยการ inject สารมาตรฐานความเข้มข้นละ 3 μ l

5) นำค่าเฉลี่ย AUC (Area under curve) ของสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมา plot กราฟเพื่อหาความสัมพันธ์แบบสมการเส้นตรงของค่าทั้งสอง โดยสมการเส้นตรงที่ได้จากความสัมพันธ์นี้คือ

$$y = mx + c$$

โดย	y	คือ ค่า AUC ที่วิเคราะห์ได้จากพีคของสารมาตรฐาน
	x	คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน
	m	คือ ความชันของกราฟ
	c	คือ จุดตัดแกน y ของกราฟ

ตัวอย่างการ plot กราฟมาตรฐาน



2.4 การเตรียมและการวิเคราะห์ตัวอย่าง

- 1) เลือกตำรับยา Rifampin ที่มีขายในท้องตลาดสองชนิด ได้แก่ Rifam[®] capsule 300 mg และ Rifadin[®] 300 mg
- 2) ชั่งน้ำหนักยาแต่ละชนิดจำนวน 20 เม็ด เพื่อคำนวณหาน้ำหนักยาต่อเม็ด
- 3) บดผสมผงยาทั้ง 20 เม็ดให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน
- 4) ชั่งน้ำหนักผงยาที่บดผสมแล้วให้ได้น้ำหนัก Rifampin equivalent 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- 5) ละลายด้วย Acetonitrile ปริมาณเล็กน้อย และนำไป sonicate เพื่อเพิ่มการละลาย

- 6) ปรับปริมาณด้วย Acetronotril
- 7) กรองสารที่เตรียมได้ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
- 8) ปิเปตสารละลายใส่ที่ได้ใส่ volumetric flask ให้มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย acetronotril
- 9) กรองสารตัวอย่างที่เตรียมได้ผ่าน nylon membrane 0.45 ไมครอน บรรจุลงใน HPLC vials
- 10) ทำการเตรียมตัวอย่างซ้ำ ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ
- 11) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ตามระบุในข้อ 2.2 โดยการ inject สารมาตรฐานความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
- 12) นำค่า AUC ของพีคที่มี retention time เท่ากับสารมาตรฐาน Rifampin มาคำนวณโดยการแทนค่าสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน Rifampin ที่ได้จากข้อ 2.3 เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างแต่ละชนิด

3. การเตรียมตัวอย่างตำรับยา Rifampin tablets และการวิเคราะห์หาปริมาณตัวยา Rifampin ในตำรับที่เตรียมขึ้น

3.1 การผลิตยาเม็ด Rifampin tablets

- 1) ผลิตยา Rifampin tablets เพื่อใช้เป็นต้นแบบยาในการหาวิธีวิเคราะห์ด้วยภาพถ่าย โดยมีปริมาณตัวยา rifampin แตกต่างกันจำนวน 5 ความเข้มข้นและม็องค์ประกอบต่างๆ ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 แสดงส่วนผสมของยาเม็ดต้นแบบ rifampicin ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตามสูตร

	Rx1	Rx2	Rx3	Rx4	Rx5
Rifampicin	-	30 g	60 g	90 g	150 g
Lactose	150 g	120 g	90 g	60 g	-
Avicel pH102	60 g	60 g	60 g	60 g	60 g
PVP k30	9 g	9 g	9 g	9 g	9 g
Aerosil	3 g	3 g	3 g	3 g	3 g
Magnesium stearate	3 g	3 g	3 g	3 g	3 G

- 2) ผสมผงยาและส่วนประกอบต่างๆในตำรับข้อ 1) ด้วยวิธี geometric dilutions
- 3) ทำการตอกยา Rifampin tablets ด้วยเครื่อง rotary tableting machine ด้วยแรง 5 นิวตันเท่ากันทุกสูตร
- 4) ประเมินคุณสมบัติเบื้องต้นของยาเม็ดต้นแบบ เช่น น้ำหนักเม็ดยา ความแข็งของเม็ดยาแต่ละสูตร

3.2 วิเคราะห์ปริมาณตัวยา Rifampin ด้วยเทคนิค HPLC

a) การเตรียม mobile phase

สารละลาย 0.01 M NaH_2PO_4

- 1) ชั่งสารโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 1.1998 กรัม
- 2) ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำจนครบ 1000 มิลลิลิตร
- 3) กรองผ่าน nylon membrane 0.45 ไมครอน
- 4) บรรจุสารแต่ละชนิดลงในขวดที่สะอาดและไม่มีอนุภาคเจือปน
- 5) Degas ด้วยเครื่อง Sonicator เป็นเวลา 30 นาที

Acetonitrile และ DI water

- 1) นำ Acetonitrile HPLC grade และ Deionized water
- 2) กรองผ่าน nylon membrane 0.45 ไมครอน
- 3) แยกบรรจุสารแต่ละชนิดลงในขวดที่สะอาดและไม่มีอนุภาคเจือปน
- 4) Degas ด้วยเครื่อง Sonicator เป็นเวลา 30 นาที

b) Instrumentation และ condition

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ HPLC Agilent 1200 Series ประกอบด้วย UV spectrophotometer ในการตรวจวัดการดูดกลืนแสงของสารและประมวลผลด้วยโปรแกรม Lab solution®

คอลัมน์: RP18 column (250 x 4.6 mm, 5 μm)

ปริมาตรที่ฉีด: 20 ไมโครลิตร

วัฏภาคเคลื่อนที่: 0.01 M NaH_2PO_4 : ACN (50:50)

อัตราการไหล: 1 มิลลิลิตรต่อนาที

ตรวจวัดสัญญาณ: UV detector ที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร

c) การเตรียมกราฟของสารมาตรฐาน (standard calibration curve) Rifampin

- 1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน Rifampin ใน Acetonitrile ให้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 100 มิลลิลิตร

2) ปิเปตสารละลายมาตรฐานในข้อ 1 ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตรตามจำนวนที่ระบุในตารางที่ 3.3 เพื่อให้มีความเข้มข้นของสารมาตรฐานระหว่าง 60-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย Acetonitrile

ตารางที่ 3.3 วิธีเตรียมกราฟสารมาตรฐาน

สาร	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณสารละลายที่ปิเปต (ไมโครลิตร)	ขนาด volumetric flask (มิลลิลิตร)
STD1	1000	1000	10
STD2	500	500	10
STD3	250	250	10
STD4	125	125	10
STD5	62.5	62.5	10

3) กรองสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ทุกความเข้มข้นผ่าน nylon membrane 0.45 ไมครอน บรรจุลงใน HPLC vials

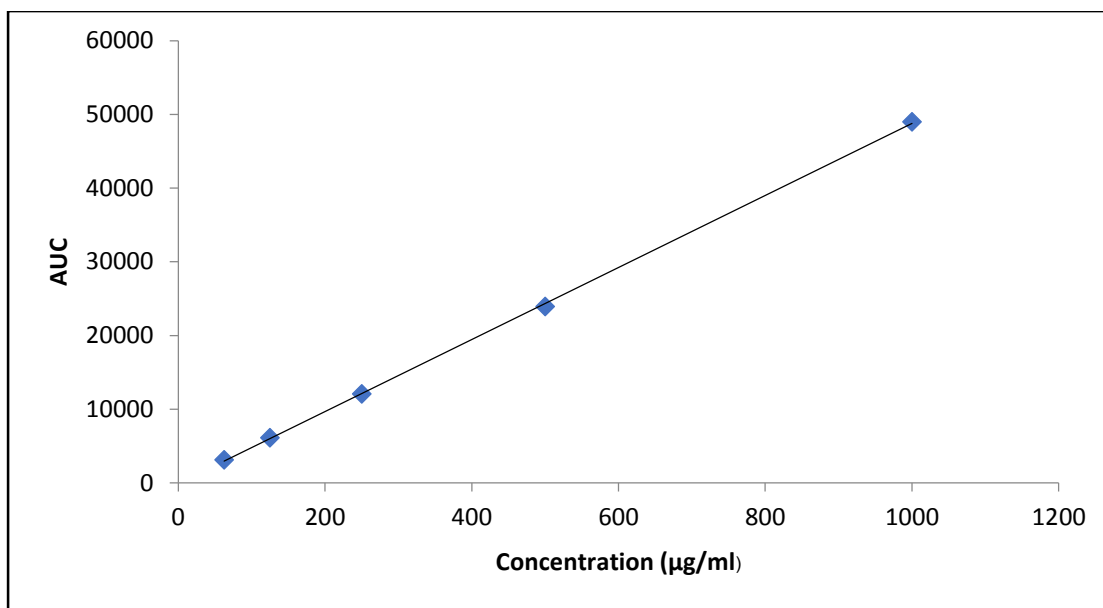
4) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC โดยการ inject สารมาตรฐานความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

5) นำค่าเฉลี่ย AUC (Area under curve) ของสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมา plot กราฟเพื่อหาความสัมพันธ์แบบสมการเส้นตรงของค่าทั้งสอง โดยสมการเส้นตรงที่ได้จากความสัมพันธ์นี้คือ

$$y = mx + c$$

โดย y คือ ค่า AUC ที่วิเคราะห์ได้จากพีคของสารมาตรฐาน
 x คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน
 m คือ ความชันของกราฟ
 c คือ จุดตัดแกน y ของกราฟ

ตัวอย่างการ plot กราฟมาตรฐาน



d) การวิเคราะห์ปริมาณตัวยา Rifampin ในตัวอย่างยาเม็ดต้นตำรับ

- 1) ชั่งน้ำหนักยาแต่ละขนาดจำนวน 20 เม็ด เพื่อคำนวณหาน้ำหนักยาต่อเม็ด
- 2) บดผสมผงยาทั้ง 20 เม็ดให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน
- 3) ชั่งน้ำหนักผงยาที่บดผสมแล้วให้ได้น้ำหนัก Rifampin equivalent 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- 4) ละลายด้วย Acetonitrile ปริมาณเล็กน้อย และนำไป sonicate เพื่อเพิ่มการละลาย
- 5) ปรับปริมาณด้วย Acetonitrile
- 6) กรองสารที่เตรียมได้ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
- 7) ปิเปตสารละลายใส่ที่ได้ใส่ volumetric flask ให้มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย acetonitrile
- 8) กรองสารตัวอย่างที่เตรียมได้ผ่าน nylon membrane 0.45 ไมครอน บรรจุลงใน HPLC vials
- 9) ทำการเตรียมตัวอย่างซ้ำ ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ
- 10) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC โดยการ inject สารมาตรฐานความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

11) นำค่า AUC ของพีคที่มี retention time เท่ากับสารมาตรฐาน Rifampin มาคำนวณโดยการแทนค่าสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน Rifampin คำนวณหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างแต่ละชนิด

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. การหาวิธีวิเคราะห์ปริมาณตัวยา Rifampin ด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

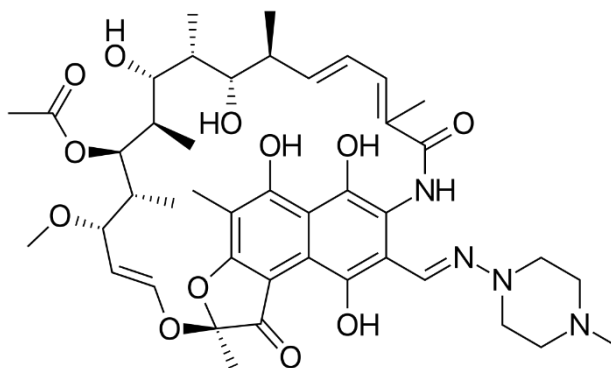
1.1 Method optimization

การหาวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ซึ่งเป็นเทคนิคมาตรฐานที่ระบุไว้ใน USP ประกอบด้วย condition ของการวิเคราะห์ดังนี้

รายการ	รายละเอียด
Mobile phase	Water : acetonitrile : phosphate buffer : 1.0 M citric acid : 0.5 M sodium perchlorate (510 : 350 : 100 : 20 : 20)
Column	Packing C8 ขนาดอนุภาค 5 μm ขนาด 4.6 mm x 10 cm
Detector	UV 254 nm
Flow rate	1.5 mL/min

จากข้อมูลข้างต้นพบว่าสารเคมี Sodium perchlorate ที่ใช้เป็น mobile phase นั้นมีปัญหาด้านการนำเข้ามาภายในประเทศทำให้คณะวิจัยไม่สามารถใช้สารดังกล่าวตามกำหนดของ USP ได้ จากปัญหาด้านการใช้วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณยา Rifampin ตาม USP ผู้วิจัยจึงเปลี่ยนแปลงรายละเอียดการวิเคราะห์เพื่อให้ใช้เทคนิค HPLC ในการวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นที่แท้จริงของ Rifampin ในตัวอย่างที่จัดเตรียมขึ้นและในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีขายในท้องตลาด

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของ Rifampin ดังรูป พบว่าโครงสร้างมีทั้งส่วนที่เป็น H-C จำนวนมากซึ่งแสดงความไม่มีขั้ว แต่ทั้งนี้โครงสร้างยังประกอบด้วยส่วนที่เป็น -OH group จำนวนมากด้วยเช่นกันจึงแสดงความมีขั้วออกมา โดยมีลักษณะเป็น Zwitterion โดยส่วนที่เป็น 4-hydroxy มีค่า pKa 1.7 และบริเวณ 3-piperazine nitrogen มีค่า pKa 7.9



รูปที่ 4.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ Rifampin

จากข้อมูลข้างต้นผู้วิจัยได้ทำการปรับ condition HPLC และทดลองโดยการวิเคราะห์ standard rifampin โดยประกอบด้วย condition ดังต่อไปนี้

- Hypersil C18 250 x 4.6 mm 5 μ m column
- Mobile phase 0.01 M NaH_2PO_4 : Acetonitrile
- Injection volume 20 μ L
- Detector 360 nm

โดยผู้วิจัยเลือกปรับอัตราส่วนของ mobile phase และ flowrate ที่ใช้ดังต่อไปนี้

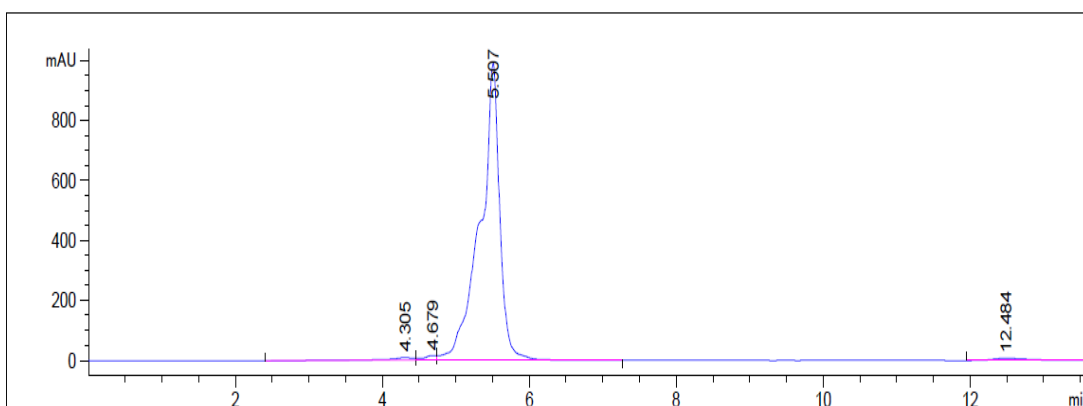
ตารางที่ 4.1 แสดงข้อมูล condition ที่ใช้ในการหาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม

Condition 1	
Ration of mobile phase	0.01 M NaH_2PO_4 : Acetonitrile (50:50)
Flow rate	0.7 mL/min
Condition 2	
Ration of mobile phase	0.01 M NaH_2PO_4 : Acetonitrile (50:50)
Flow rate	1.0 mL/min
Condition 3	
Ration of mobile phase	0.01 M NaH_2PO_4 : Acetonitrile (40:60)
Flow rate	0.7 mL/min
Condition 4	
Ration of mobile phase	0.01 M NaH_2PO_4 : Acetonitrile (40:60)
Flow rate	0.9 mL/min
Condition 5	

Ration of mobile phase	0.01 M NaH ₂ PO ₄ : Acetonitrile (40:60)
Flow rate	1.0 mL/min

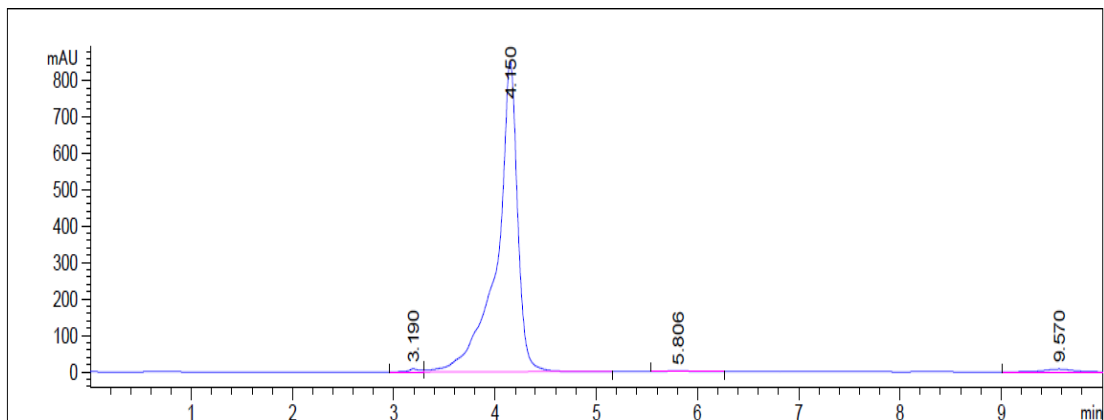
จากข้อมูลข้างต้นผู้วิจัยได้เลือกใช้ stationary phase ที่มีความ non-polar เช่นเดียวกับวิธีของ USP แต่ได้เปลี่ยนเป็นใช้ชนิด C18 แทนการใช้ C8 เพื่อให้สารสามารถแยกออกจากส่วนที่เป็นองค์ประกอบอื่นๆของตำรับได้

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วย condition 1 ประกอบด้วย อัตราส่วนวัฏภาคเคลื่อนที่สองชนิดคือ 0.01M NaH₂PO₄ และ acetonitrile (50:50) และใช้อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ดังโครมาโตแกรมที่แสดงในรูปที่ 4.2 จะสังเกตเห็นได้ชัดว่า condition นี้มีลักษณะโครมาโตแกรมของ Rifampin เห็นเป็นสองพีคที่ซ้อนทับกันอยู่ ซึ่งเป็นลักษณะของโครมาโตแกรมที่ไม่เหมาะสม



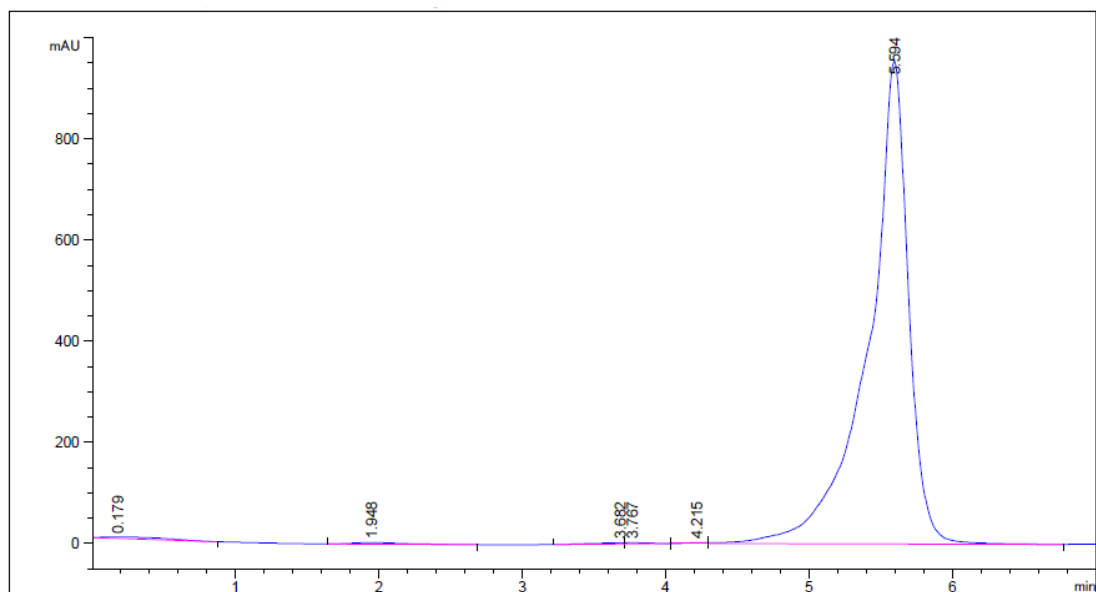
รูปที่ 4.2 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Rifampin ด้วย condition ที่ 1: 0.01M NaH₂PO₄:ACN (50:50), flowrate 0.7 mL/min

ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทดลองเพิ่มอัตราไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เป็น 1 มิลลิลิตรต่อนาที ได้เป็น condition 2 และโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานใน condition 2 แสดงดังรูปที่ 4.3 พบว่าโครมาโตแกรมมีลักษณะที่ดีขึ้นกว่า condition 1 แต่ยังไม่สมมาตรและมี retention time เปลี่ยนแปลงจาก 5.5 นาทีเป็น 4.1 นาที เนื่องจากอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เร็วขึ้น



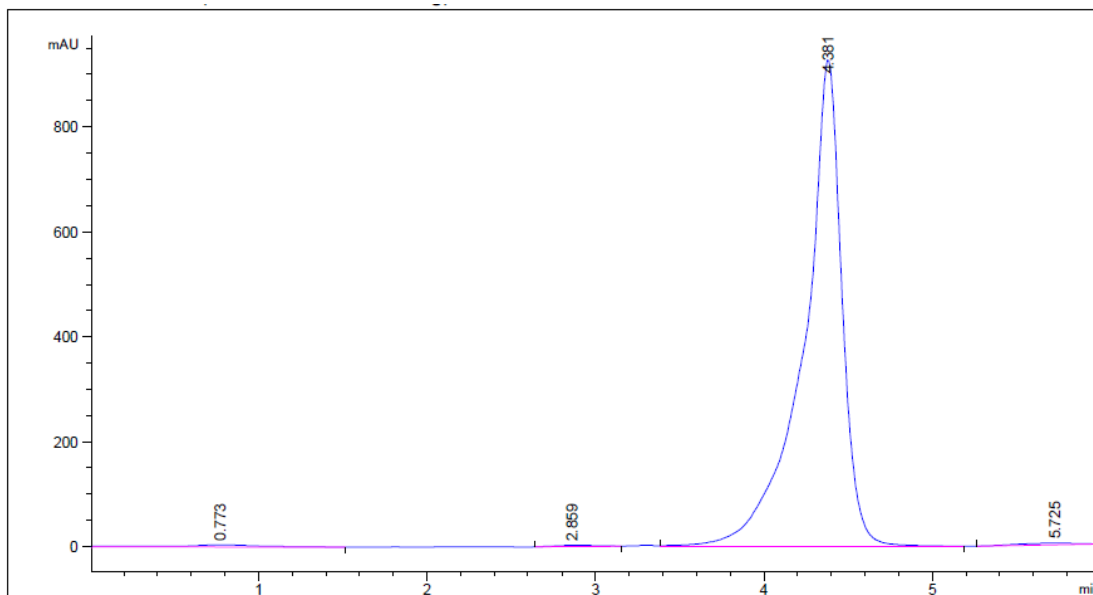
รูปที่ 4.3 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Rifampin ด้วย condition ที่ 2: 0.01M NaH_2PO_4 :ACN (50:50), flowrate 0.9 mL/min

จากปัญหาที่ค Rifampin ไม่สมมาตร ผู้วิจัยได้ทดลองเปลี่ยนอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ เป็น condition 3 คือ มีอัตราส่วนของ 0.01 M NaH_2PO_4 ต่อ Acetonitrile เท่ากับ 40 ต่อ 60 หมายความว่าอัตราส่วนของ organic solvent เพิ่มขึ้น ส่งผลให้เมื่อ Rifampin เคลื่อนที่และผ่านการแยกในคอลัมน์แล้วโครงสร้างของ rifampin มีการแสดงทางเคมีที่เหมือนกันและการเคลื่อนที่ผ่าน คอลัมน์ออกมาพร้อมกันทำให้สังเกตเห็นสัญญาณของ rifampin ที่สมมาตรมากขึ้น และมี retention time เปลี่ยนแปลงด้วยเนื่องจากลดอัตราไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เป็น 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ดังรูปที่ 4.4



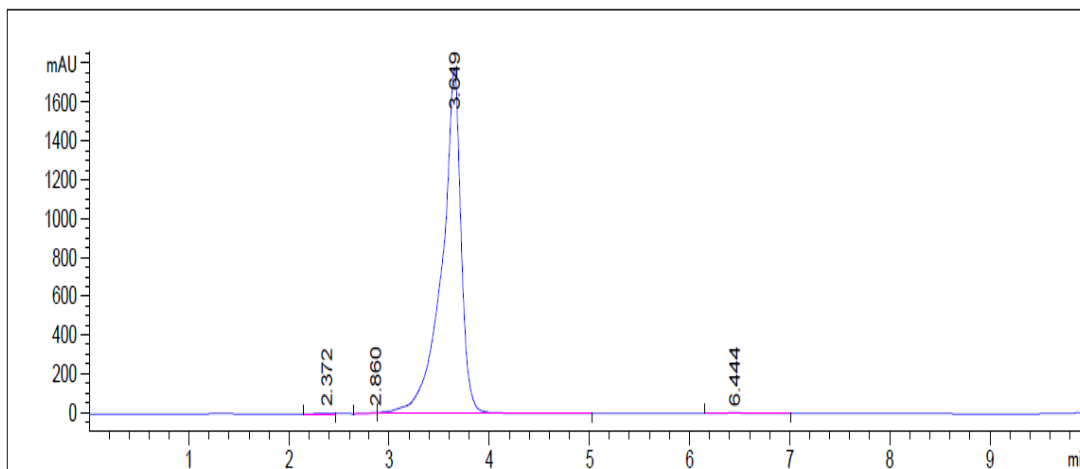
รูปที่ 4.4 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Rifampin ด้วย condition ที่ 3: 0.01M NaH_2PO_4 :ACN (60:40), flowrate 0.7 mL/min

เพื่อปรับปรุงให้ลักษณะของโครมาโตแกรมสมมาตรมากขึ้นและมี retention time เร็วขึ้น ผู้วิจัยจึงปรับอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เป็น 0.9 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าลักษณะของโครมาโตแกรมสมมาตรเพิ่มขึ้นและมี retention time ที่เร็วขึ้นด้วย ดังแสดงในรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Rifampin ด้วย condition ที่ 4: 0.01M NaH_2PO_4 :ACN (60:40), flowrate 0.9 mL/min

จากการหาวิธีวิเคราะห์ด้วยยา Rifampin ด้วยเทคนิค HPLC โดยการทำให้ optimization พบว่าเมื่อปรับ condition ในการวิเคราะห์จนได้ condition ที่ 5 ซึ่งประกอบด้วย อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ 0.01M NaH_2PO_4 และ acetonitrile (60:40) โดยมีอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าได้เป็น condition ที่ดีที่สุด โดย Rifampin เมื่อผ่าน condition ดังกล่าวสามารถตรวจวัดสัญญาณของ Rifampin โดย UV detector ที่ 360 นาโนเมตรและมี retention time เท่ากับ 3.6 นาที ดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Rifampin ด้วย condition ที่ 5: 0.01M NaH_2PO_4 :ACN (60:40), flowrate 1.0 mL/min

1.2 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

จากการหาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ Rifampin ด้วย HPLC โดยประกอบด้วย คอลัมน์ชนิด Hypersil C18 250 x 4.6 มิลลิเมตร ขนาด 5 ไมครอน, วัฏภาคเคลื่อนที่ประกอบด้วย 0.01 M NaH_2PO_4 และ acetonitrile อัตราส่วน 50:50, อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที, ปริมาตรการฉีด 20 ไมโครลิตร และตรวจวัดด้วย UV detector ที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร วิธีดังกล่าวได้ทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ดังนี้

1) Specificity

เมื่อเปรียบเทียบโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกับ Rifampin raw material โดยเปรียบเทียบ retention time พบว่าโครมาโตแกรมทั้งสองมี retention time ที่เวลา 3.7 นาที นอกจากนี้จากวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นพบว่าไม่มีพีคของสารอื่นซึ่งรบกวนพีคของ rifampin ดังนั้นจึงไม่ได้มีการรายงานค่า resolution

ตารางที่ 4.2 แสดง retention time ของ rifampin ในการทดสอบ specificity

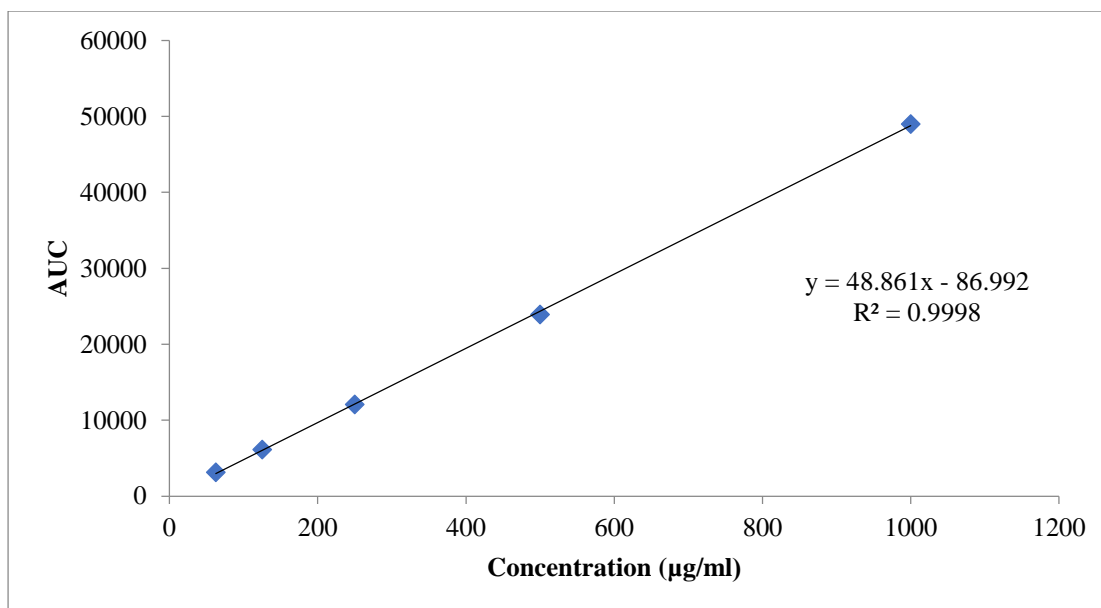
สาร	Retention time	%RSD
Standard 1	3.723	0.03956
Standard 2	3.720	
Standard 3	3.720	
Raw material 1	3.722	
Raw material 2	3.719	
Raw material 3	3.721	

2) Linearity and range

การหาช่วงความเข้มข้นของสารที่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับ AUC โดยจากวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีช่วงความเข้มข้นสารที่เป็นเส้นตรงคือ 62.5-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร แสดงข้อมูลในตารางที่ 4.3 โดยความเป็นเส้นตรงแสดงด้วยค่า r ที่มากกว่า 0.99 ดังแสดงในรูปที่ 4.7

ตารางที่ 4.3 แสดงข้อมูลการวิเคราะห์ linearity

Conc. ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	AUC			Average	S.D.	RSD
	1	2	3			
1000	49356.1	48893.5	48678.6	48976.07	346.21	0.706906
500	23988.6	23901.5	23851.4	23913.83	69.43	0.29032
250	12125.6	12072.7	12044.5	12080.93	41.17	0.340802
125	6138.9	6132.2	6121.4	6130.833	8.83	0.144021
62.5	3140	3127.2	3124.9	3130.7	8.14	0.259869



รูปที่ 4.7 แสดงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

3) Accuracy

ความถูกต้องของการวิเคราะห์ทำได้โดยการเตรียมสารละลาย Rifampin 3 ความเข้มข้นคือ 125, 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาวิเคราะห์ด้วย HPLC ตาม condition ที่ดีที่สุดและคำนวณหา %recovery ของแต่ละความเข้มข้น ดังแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าอยู่ในช่วงที่ยอมรับคือมี %recovery ช่วง 99.6-101.0 %

ตารางที่ 4.4 แสดงการวิเคราะห์ความถูกต้อง (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

Conc. (ug/mL)	AUC	%recovery
1000	49360.1	100.4
	49358.2	100.4
	49357.8	100.4
500	23990.6	99.7
	23985.2	99.6
	23992.4	99.7
125	6141.8	101.0
	6138.0	100.9
	6139.7	100.9

4) Precision

จาก AOAC guideline ค่า %RSD ของ repeatability และ intermediate precision ควรน้อยกว่า 2 โดย repeatability ของ Rifampin มีค่า %RSD เท่ากับ 0.43 - 0.56 และ intermediate precision ของ พรตพทยรี มีค่า %RSD เท่ากับ 0.48 ซึ่งผ่านตามเกณฑ์ที่กำหนด แสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงการวิเคราะห์ precision ของวิธีวิเคราะห์ Rifampin

Day	Solution No.	%content
1	1	99.7
	2	101.2
	3	100.3
	4	99.9
	5	100.1
	6	100.8
	Average	100.3
	SD = 0.5680	
	Repeatability (%RSD, n = 6) = 0.56	
2	1	100.1
	2	100.8
	3	99.8
	4	99.9
	5	100.4
	6	100.8
	Average	100.3
	SD = 0.4381	
	Repeatability (%RSD, n = 6) = 0.43	
Immediate (%RSD, n = 12) = 0.48		

5) Limit of detection

จากการวิเคราะห์หาค่า limit of detection ของการวิเคราะห์ rifampin ด้วย HPLC พบว่าความเข้มข้นที่ทำให้สัญญาณของ signal to noise ration เท่ากับ 3 คือความเข้มข้น 3.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

6) Limit of quantitation

จากการวิเคราะห์หาค่า limit of detection ของการวิเคราะห์ rifampin ด้วย HPLC พบว่าความเข้มข้นที่ทำให้สัญญาณของ signal to noise ration เท่ากับ 10 คือความเข้มข้น 0.17 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การวิเคราะห์หาปริมาณ Rifampim ในตัวอย่างตำรับยาที่มีขายในท้องตลาดด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

2.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน Rifampin

จากการเตรียมกราฟมาตรฐาน Rifampin เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและ AUC พบว่าได้สมการเส้นตรงคือ $y = 48.861x - 86.992$ โดย y คือ ความเข้มข้น และ x คือ AUC และมีความเป็นเส้นตรง r เท่ากับ 0.998

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ Rifampim ในตัวอย่างตำรับยาที่มีขายในท้องตลาด

การวิเคราะห์ปริมาณยาเม็ด rifampicin ที่มีขายในท้องตลาด 2 ยี่ห้อ คือ Rifadin® (รูปที่ 4.8) และ Rifam® (รูปที่ 4.9)



รูปที่ 4.8 แสดงตัวอย่างยา Rifadin®



รูปที่ 4.9 แสดงตัวอย่างยา Rifam®

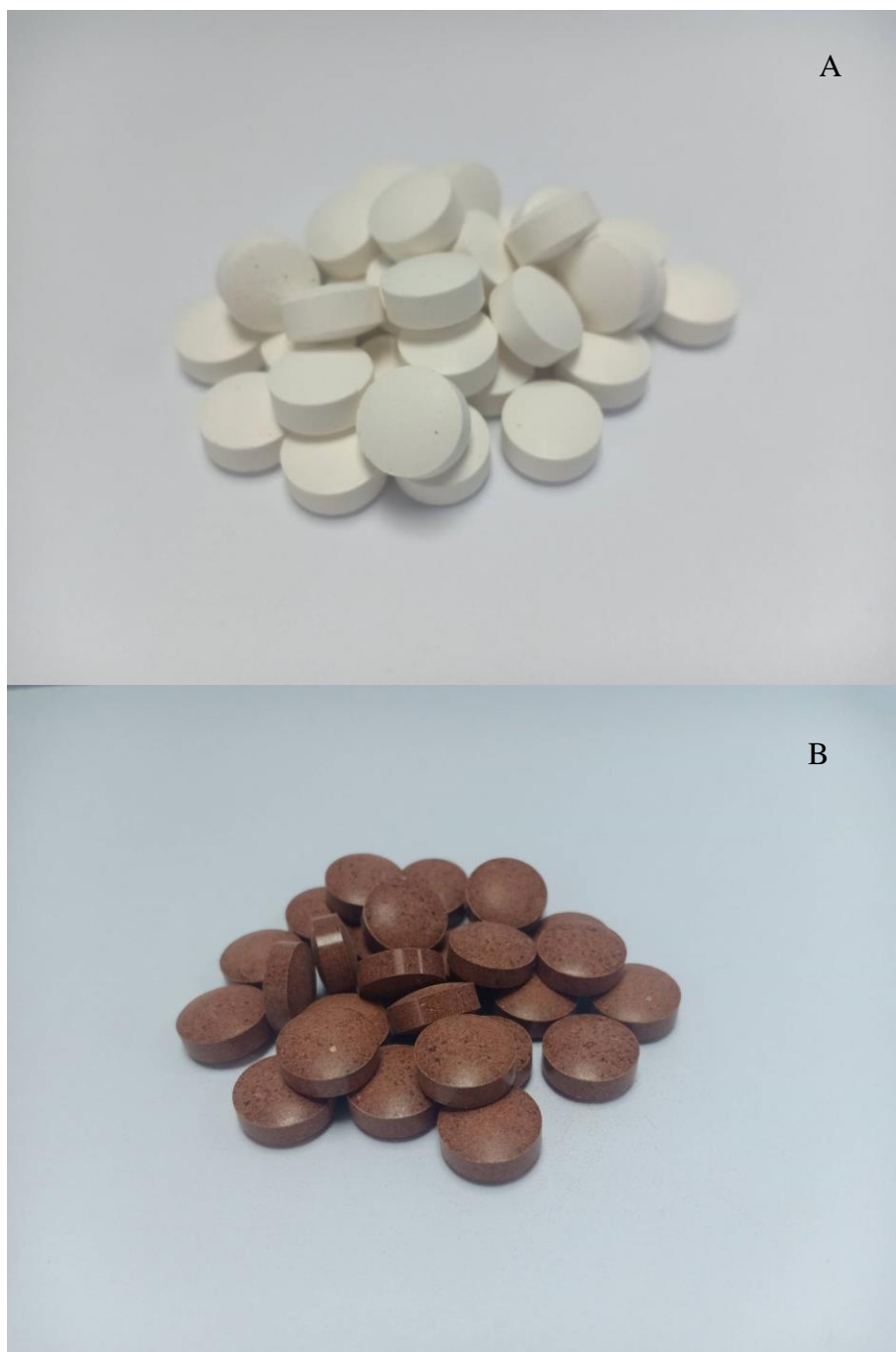
ผลการวิเคราะห์ปริมาณด้วย Rifampin ในตำรับยาที่มีขายในท้องตลาดสองชนิดคือ Rifadin® และ Rifam® ด้วยเทคนิค HPLC ที่พัฒนาขึ้นแสดงในตารางที่ 4.6 พบว่าตัวยาทั้งสองสามารถนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC นี้ได้โดยมี %recovery ของยาทั้งสองช่วง 95.74-102.91 %

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณด้วยยา Rifam ในตำรับยาที่มีขายในท้องตลาด

	Retention time (min)	% Recovery
Rifampicin standard	3.721±0.001	98.78±1.06
Rifadin®	3.721±0.000	102.91 ± 6.87
Rifam®	3.720±0.002	95.74 ± 3.53

3. การเตรียมตัวอย่างตำรับยา Rifampin tablets และการวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิคการถ่ายภาพ พบว่าสูตรตำรับยาเม็ดที่เตรียมขึ้นมีลักษณะทางกายภาพดังรูปที่ 4.10

จากการเตรียมตำรับยาต้นแบบ Rifampin เพื่อใช้เป็นยาต้นแบบในการหาวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการถ่ายภาพ พบว่าสูตรตำรับยาเม็ดที่เตรียมขึ้นมีลักษณะทางกายภาพดังรูปที่ 4.10



รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะภายนอกของตำรับยา Rifampin ต้นแบบ: A คือตำรับที่ 1, B คือตำรับที่

2, C คือตำรับที่ 3, D คือตำรับที่ 4 และ E คือตำรับที่ 5



รูปที่ 4.10 (ต่อ) แสดงลักษณะภายนอกของตำรับยา Rifampin ต้นแบบ: A คือตำรับที่ 1, B คือตำรับที่ 2, C คือตำรับที่ 3, D คือตำรับที่ 4 และ E คือตำรับที่ 5



รูปที่ 4.10 (ต่อ) แสดงลักษณะภายนอกของตำรับยา Rifampin ต้นแบบ: A คือตำรับที่ 1, B คือตำรับที่ 2, C คือตำรับที่ 3, D คือตำรับที่ 4 และ E คือตำรับที่ 5

นอกจากนี้ตำรับยาต้นแบบได้วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ความแข็งของเม็ดยา แต่ละตำรับดังแสดงในตารางที่ 4.7 พบว่าความแข็งของเม็ดยาอยู่ในช่วง 44-57

ตารางที่ 4.7 แสดงความแข็งของตำรับยาต้นแบบ

ตำรับ	ความแข็ง
Rx1	44±3.2
Rx2	47±4.8
Rx3	49±6.1
Rx4	53±3.7
Rx5	57±4.1

การวิเคราะห์ปริมาณยา Rifampin ของยาต้นแบบแสดงในตารางที่ 4.8 พบว่าแต่ละตำรับของยาต้นแบบที่ผลิตขึ้นมีน้ำหนักและปริมาณยาใกล้เคียงกันจึงเป็นตัวอย่างที่เหมาะสมในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยภาพถ่ายต่อไป

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการวิเคราะห์ด้วยยา rifampicin ต้นแบบ

ตำรับยา	น้ำหนัก (mg)	Area Under Curve			Average	µg	*25	น้ำหนักเฉลี่ย (10เม็ด)	mg/tablet	SD
		1	2	3						
Rx.1.1	0.7	-	-	-	-	-	-	630.24	-	-
Rx.1.2	0.8	-	-	-	-	-	-		-	-
Rx.1.3	0.6	-	-	-	-	-	-		-	-
Rx.2.1	0.45	94.6	95.6	95.6	95.3	3.73	93.25	653.80	135.49	2.64
Rx.2.2	0.5	107.8	108.8	107.4	108.0	3.99	99.77		130.46	
Rx.2.3	0.5	100.4	114.4	114.2	109.7	4.02	100.62		131.57	
Rx.3.1	0.7	424.8	485.5	496.8	469.0	11.38	284.49	674.60	274.17	4.30
Rx.3.2	0.8	581.0	544.0	555.6	560.2	13.25	331.14		279.23	
Rx.3.3	0.8	534.1	545.4	541.6	540.4	12.84	320.99		270.68	
Rx4.1	0.6	520.3	506.1	489.3	505.2	12.12	303.02	696.70	351.85	4.21
Rx4.2	0.8	673.1	704.3	701.1	692.8	15.96	399.00		347.48	
Rx4.3	0.8	715.0	711.0	709.2	711.7	16.35	408.67		355.90	
Rx5.1	0.9	873.5	874.7	913.3	887.2	19.94	498.43	745.90	413.09	15.59
Rx5.2	0.9	879.3	904.2	986.3	923.3	20.68	516.90		428.40	
Rx5.3	0.8	759.2	738.6	739.2	745.7	17.04	426.03		397.22	

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการเตรียมยาต้นแบบ Rifampin เพื่อใช้เป็นยาต้นแบบในการศึกษาหาวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคภาพถ่าย เพื่อให้ทราบปริมาณตัวยา Rifampin ที่แท้จริงของยาต้นแบบแต่ละตำรับจึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคที่เป็นมาตรฐานในการวิเคราะห์ โดยใน USP กำหนดให้ใช้วิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC แต่เนื่องจากภูมิภาคเคลื่อนที่ที่ใช้ในข้อกำหนดดังกล่าวเป็นสารที่ไม่สามารถนำเข้ามาในประเทศได้ประกอบกับทางผู้วิจัยต้องการใช้ทรัพยากรที่มีอยู่จึงได้เลือกใช้เทคนิค HPLC เช่นเดิม แต่ได้ทำการ optimization เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์นี้ จากการทดลองพบว่าเทคนิค HPLC ที่พัฒนาขึ้นและมีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดคือ การใช้คอลัมน์ชนิด Hypersil C18 ขนาด 250 x 4.6 มิลลิเมตร และอนุภาคขนาด 5 ไมครอน ใช้การแยกสารด้วยอัตราส่วนภูมิภาคเคลื่อนที่คงที่ซึ่งประกอบด้วย 0.01 M NaH₂PO₄ 40% ใน Acetonitrile และ flow-rate 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรสารที่ฉีดเท่ากับ 20 ไมโครลิตร ตรวจวัดสัญญาณด้วย UV detector ที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร โดยวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวได้รับการประเมินความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์พบว่ามีความแม่นยำผ่านตามเกณฑ์ที่กำหนด และเมื่อนำเทคนิคดังกล่าวทดสอบวิเคราะห์ตำรับยาที่มีขายในท้องตลาดสองชนิดพบว่าเทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณยา Rifampin ในตำรับยาได้ถูกต้องโดยมีค่า recovery เท่ากับ 95.74-102.91 %

จากนั้นผู้วิจัยได้ผลิตยาต้นแบบ Rifampin เพื่อใช้ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยภาพถ่าย โดยผู้วิจัยได้ผลิตตำรับยาจำนวน 5 ตำรับที่มีปริมาณตัวยา Rifampin แตกต่างกันและวิเคราะห์ปริมาณตัวยา Rifampin ด้วยเทคนิค HPLC ที่พัฒนาขึ้น พบว่าตำรับยาต้นแบบทั้ง 5 ตำรับมีปริมาณตัวยา Rifampin และลักษณะทางกายภาพต่างๆที่ใกล้เคียงกันในแต่ละตำรับ จึงเหมาะสมสำหรับนำไปเป็นยาต้นแบบในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยภาพถ่ายต่อไป

บทที่ 6

ผลผลิต (Output)

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับการนำเสนอผลงานวิจัย ระดับ นานาชาติ International conference of pharmaceutical science and medicines 2018 (ICPAM2018) 3rd August 2018, Burapha university, Chonburi, Thailand

งบประมาณของโครงการวิจัย

รายละเอียดงบประมาณการวิจัย จำแนกตามงบประมาณประเภทต่างๆ

ปีที่ ดำเนินการ	งบประมาณที่เสนอขอ (บาท)						
	งบบุคลากร	ค่าตอบแทน	ค่าใช้สอย	ค่าวัสดุ	ค่าธรรมเนียมการ อุดหนุนสถาบัน	ครุภัณฑ์	รวม
ปีที่ 1	319,200	50,000	17,000	336,950	80,350	-	803,500

รายละเอียดงบประมาณการวิจัย จำแนกตามงบประมาณประเภทต่างๆที่เสนอขอในแต่ละปี

รายการ	จำนวนเงิน		หมายเหตุ
	ปี 2560		
1. งบบุคลากร			
1.1 ค่าจ้างชั่วคราวผู้ช่วยนักวิจัย ทำงานเต็มเวลา			
- วุฒิปริญญาตรี 13,300 บาท x จำนวน2 คน 12เดือน)		319,200	
- วุฒิปริญญาตรี 13,300 บาท x จำนวน2 คน 12เดือน)		-	
2. งบดำเนินงาน	403,950		
2.1 ค่าตอบแทน	50,000		

รายการ	จำนวนเงิน	หมายเหตุ
	ปี 2560	
(1) ค่าตอบแทนคณะผู้วิจัย (อาจารย์ต่ำกว่าระดับ 5x จำนวน 4 คน)	40,000	
(2) ค่าตอบแทนที่ปรึกษา โครงการ	10,000	
2.2 ค่าใช้สอย	17,000	
(1) ค่าใช้จ่ายในการเดินทางไปราชการ	4,000	
(2) ค่าใช้จ่ายในการสัมมนา/ฝึกอบรม	8,000	
(3) ค่าใช้สอยอื่น	5,000	
- ค่าถ่ายเอกสารและสืบค้นข้อมูล		
- ค่าตีพิมพ์		
2.3 ค่าวัสดุ	336,950	
ค่าวัสดุสำนักงาน	2,000	
- กระดาษ		
- ตู้อัดเอกสาร		
- แฟ้มใส่เอกสาร		
- เครื่องเจาะรูกระดาษ		
- ปากกาเคมี		
- แม่เย็บกระดาษ		
- คลิปหนีบกระดาษ		
ค่าวัสดุคอมพิวเตอร์	20,000	
ค่าวัสดุสารเคมีและค่าวัสดุวิทยาศาสตร์		
- สารมาตรฐาน	314,950	

รายการ	จำนวนเงิน	หมายเหตุ
	ปี 2560	
<ul style="list-style-type: none"> - ตัวทำละลาย HPLC grade - Glass cuvette - HPLC column - HPLC filter - Solvent bottle - Experimental box - Fluorescence lamp - Lux 		
3. งบลงทุน (ค่าครุภัณฑ์ และ สิ่งก่อสร้าง)	-	
3.1 ค่าครุภัณฑ์	-	
3.2 ค่าที่ดินและสิ่งก่อสร้าง	-	
4. ค่าธรรมเนียมอุดหนุนสถาบัน (คำอธิบาย : เป็นค่าสาธารณูปโภค ไม่เกิน ร้อยละ 10 ของงบวิจัยไม่รวมค่าครุภัณฑ์)	80,350	
รวมงบประมาณที่เสนอขอ	803,500	

เอกสารอ้างอิง

1. พันธุ์แก้ว ต. คู่มือถ่ายภาพด้วยกล้อง DSLR ฉบับสมบูรณ์: โปรวีชั่น; 2554. 400 p.
2. Van Dalen G. Determination of the size distribution and percentage of broken kernels of rice using flatbed scanning and image analysis. *Food Research International*. 2004;37(1):51-8.
3. Manzo-or H, SinghRandhawa Y. Comparative Studies of Algorithms Using Digital Image Processing in Drug Industry *International Journal of Scientific and Research Publication*. 2014;4(4):1-6.
4. Oprea S, Lit, x, x, I., Jurianu M, et al., editors. Digital image processing applied in drugs industry for detection of broken aspirin tablets. *Electronics Technology, 2008 ISSE '08 31st International Spring Seminar on; 2008 7-11 May 2008*.
5. Urapen R, Masawat P. Novel method for the determination of tetracycline antibiotics in bovine milk based on digital-image-based colorimetry. *International Dairy Journal*. 2015;44:1-5.
6. Choodum A, Kanatharana P, Wongniramaikul W, Nic Daeid N. Using the iPhone as a device for a rapid quantitative analysis of trinitrotoluene in soil. *Talanta*. 2013;115:143-9.
7. Briones V, Aguilera JM. Image analysis of changes in surface color of chocolate. *Food Research International*. 2005;38(1):87-94.
8. Shishkin YL, Dmitrienko SG, Medvedeva OM, Badakova SA, Pyatkova LN. Use of a Scanner and Digital Image-Processing Software for the Quantification of Adsorbed Substances. *Journal of Analytical Chemistry*. 2004;59(2):102-6.
9. Masawat P, Harfield A, Namwong A. An iPhone-based digital image colorimeter for detecting tetracycline in milk. *Food Chemistry*. 2015;184:23-9.
10. Choodum A, Parabun K, Klawach N, Daeid NN, Kanatharana P, Wongniramaikul W. Real time quantitative colourimetric test for methamphetamine detection using digital and mobile phone technology. *Forensic Science International*. 2014;235:8-13.
11. Winters WD, Tuan AL, Morton DL. Differential effects of rifampicin on cultured human tumor cells. *Cancer research*. 1974;34(12):3173-9.

12. Lu Y, Park K. Polymeric micelles and alternative nanonized delivery vehicles for poorly soluble drugs. *International journal of pharmaceutics*. 2013;453(1):198-214.
13. Theja D, Rao VT, Jamuna P, Reddy SP. AN APPROACH TO INCREASE THE SOLUBILITY OF RIFAMPICIN BY SOLID DISPERSION TECHNIQUE. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2012;3(6):1800.
14. Croy S, Kwon G. Polymeric micelles for drug delivery. *Current pharmaceutical design*. 2006;12(36):4669-84.
15. Rifampicinpicture [Internet]. chemicalbook. [cited 2018 Mar 21]. Available from:http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_DE_CB7474473.htm.
16. Remington the science and practice of pharmacy. 21 ed. B.troy D, editor. Baltimore,USA: Lippincott Williams & Wikins.
17. U.S Pharmacopeia 39 National Formulary 34. Baltimore,USA: United Book Press 2016.
18. Shichiri M, Tanaka Y. Inhibition of cancer progression by rifampicin: involvement of antiangiogenic and anti-tumor effects. *Cell Cycle*. 2010;9(1):64-8.