

การถ่ายภาพ HDR เพื่อเพิ่มความเปรียบต่างให้กับภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์

HDR Imaging for the Contrast Amplification in Photomicrography

อาชีวะ หลงกาศ¹ ปกรณ์ ปรีชาบุรณะ² และศุภลักษณ์ อัมลอย^{3*}
Arcesa Longkasa¹ Pakorn Preechaburana² and Supaluck Amloy^{3*}

บทคัดย่อ

ในการเพิ่มประสิทธิภาพการมองเห็นรายละเอียดของเซลล์ที่มีความเปรียบต่างต่ำ เราสามารถใช้เทคนิคการย้อมสีเซลล์ เพื่อเพิ่มความเปรียบต่างให้กับภาพถ่ายของเซลล์จากกล้องจุลทรรศน์ได้ แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการเตรียมเซลล์มีความซับซ้อนเพราะว่าขั้นตอนการย้อมสีขึ้นกับชนิดของสีย้อม ซึ่งต้องใช้ให้ตรงกับวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกัน ในงานวิจัยนี้เราได้ศึกษาการเพิ่มความเปรียบต่างในภาพถ่ายของเซลล์ที่มีความเปรียบต่างต่ำ ได้แก่ เซลล์รากกล้วยไม้ รากหัวหอม สปอร์แรงเจียมของหอยทาก และปีกผีเสื้อ โดยใช้การถ่ายภาพที่ให้ความสว่างชัดเจนทั่วทั้งภาพ (HDR) เทคนิค HDR สามารถเก็บรายละเอียดของภาพได้เพิ่มขึ้นโดยการถ่ายภาพสามภาพที่มีค่าความสว่างแตกต่างกันแล้วนำมาปรับโทนของภาพจนได้ค่าความสว่างชัดเจนทั่วทั้งภาพ ผลของภาพ HDR ที่สามารถเพิ่มความละเอียดของเซลล์ตัวอย่างได้ทั้งบริเวณมืดและบริเวณสว่างของภาพ ดังนั้นค่าความเปรียบต่างของภาพ HDR ของเซลล์ตัวอย่างเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญโดยมีค่าเฉลี่ยประมาณ 4.5 เท่า เมื่อเทียบกับภาพถ่ายธรรมดา และ 3.5 เท่าเมื่อเทียบกับภาพถ่ายเซลล์ที่ย้อมสีแล้ว

คำสำคัญ: การประมวลผลภาพ ความเปรียบต่าง การถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ ช่วงกว้างของการเก็บรายละเอียดแสงสูงสุด กล้องจุลทรรศน์

Abstract

In order to enhance visualization under a microscope of very low contrast cells, cell staining technique can be used to increase the contrast in the photomicrography. However, cell preparation process is complicated because it depends on several types of staining media, which can be used for a different purpose.

Here we investigate the contrast boosting in photomicrography of low contrast cells such as orchid root, onion root, sporangium of *Psilotum nudum* and butterfly wings by using high dynamic range (HDR) image processing. HDR techniques record an extended dynamic range by composing and tone mapping of three images with different exposures.

As a result, HDR technique can increase the fine details within the specimen both in dark and bright areas. Thus the overall contrast of the HDR images is enhanced significantly about 4.5 times by average when comparing to the normal images and about 3.5 times when comparing to the images of stained cells.

Keywords: Image Processing, Contrast, Photomicrography, High Dynamic Range, Microscope

¹ นิสิตปริญญาตรี สาขาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

² อ.ดร., ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี 12121

³ อ.ดร., สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

* Corresponding author: e-mail: supaluckam@gmail.com Tel. 074-609600 ext.2451

บทนำ

การศึกษาเซลล์ขนาดเล็กจำเป็นต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ในการส่องดูรายละเอียดเซลล์ตัวอย่าง โดยเฉพาะเซลล์ที่ถ่ายภาพที่มีความเปรียบต่างน้อยมาก ได้แก่ เซลล์รากกล้วยไม้ รากหัวหอม สปอร์แรงเจียม และปีกผีเสื้อ เป็นต้น จึงทำให้ภาพที่ถ่ายออกมาไม่สามารถเห็นรายละเอียดของเซลล์ได้อย่างชัดเจน และไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างภาพของเซลล์กับภาพพื้นหลังได้ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาวิธีการต่างๆ เพื่อให้สามารถเห็นรายละเอียดเซลล์เหล่านี้ได้มากขึ้น โดยการเพิ่มความเปรียบต่างมีหลายวิธี ได้แก่ การย้อมสีเซลล์ตัวอย่างซึ่งมีข้อเสียตรงที่ต้องมีการเปลี่ยนสภาพดั้งเดิมของเซลล์ไป หรือการตัดแปลงระบบแสงในกล้องจุลทรรศน์ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการเพิ่มความเปรียบต่างโดยไม่ต้องย้อมสีเซลล์ตัวอย่างได้แก่ การปรับไดอะแฟรม เพื่อให้แสงเข้าคอนเดนเซอร์ได้น้อยลง แต่วิธีการนี้มีข้อเสียตรงที่ความละเอียดและความคมของภาพจะลดลง

สำหรับงานวิจัยนี้อาศัยเทคนิคการถ่ายภาพที่มีช่วงการรับแสงกว้างและให้ความสว่างชัดเจนทั่วทั้งภาพ (High Dynamic Range imaging technique หรือ HDR imaging) ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถเพิ่มความเปรียบต่างให้กับภาพโดยอาศัยหลักการถ่ายภาพหลาย ๆ ภาพที่มีค่าปริมาณแสง (exposure value หรือ EV) แตกต่างกันตั้งแต่ต่ำสุดไปจนถึงมากที่สุด แล้วนำภาพเหล่านั้นมาซ้อนทับกันและปรับโทนของภาพด้วยโปรแกรมแต่งภาพ ซึ่งโดยปกติแล้วตามนุษย์สามารถมองเห็นช่วงการรับแสง (dynamic range) ในช่วงที่กว้าง ส่วนกล้องนั้นมีความสามารถในการรับแสงในช่วงที่แคบ (Low Dynamic Range หรือ LDR) จึงทำให้ภาพถ่ายมีความเปรียบต่างน้อย จึงต้องนำภาพ LDR หลาย ๆ ภาพที่มีค่า EV ต่าง ๆ กันมารวมกัน จนทำให้ภาพที่ได้มีช่วงการรับแสงที่สูงขึ้น (High Dynamic Range หรือ HDR) และมีความเปรียบต่างเพิ่มขึ้นด้วย [1-3] ดังแสดงในภาพที่ 1

ความแตกต่างระหว่างค่าปริมาณแสงที่แตกต่างกันนั้นขึ้นกับการตั้งค่าของเวลาในการเปิดหน้ากล้องที่ต่างกัน โดยจะคำนวณปัจจัยที่ส่งผลให้แสงผ่านเข้ากล้องได้มากน้อยต่างกัน คือขนาดของหน้ากล้องและความเร็วชัตเตอร์ โดยเทคโนโลยีของกล้องถ่ายภาพได้พัฒนาให้มีการถ่ายภาพคร่อมแบบอัตโนมัติ (auto exposure bracketing) โดยสามารถตั้งค่า EV เพื่อถ่ายภาพได้อย่างน้อยสามระดับ คือ $EV = -2, 0$ และ $+2$ โดยกล้องจะใช้โปรแกรมและระบบวัดแสงเพื่อกำหนดเป็นขนาดหน้ากล้องและเวลาเปิดหน้ากล้องอย่างอัตโนมัติ ซึ่งเวลาที่ใช้ในการเปิดหน้ากล้องที่ต่างกันมีผลต่อระดับปริมาณแสง ภาพ HDR ที่ได้จะมีความเปรียบต่างเพิ่มขึ้นซึ่งสามารถสังเกตได้จากภาพที่มีความสว่างชัดเจนทั่วทั้งภาพทั้งบริเวณมืดที่สุดและสว่างที่สุดของภาพ

ทั้งนี้ค่า EV มีความสัมพันธ์กับขนาดของหน้ากล้อง (camera exposure) และความเร็วชัตเตอร์ (exposure time) ดังสมการที่ (1) [4]

$$EV = \log_2 \left(\frac{N^2}{\tau} \right) \quad (1)$$

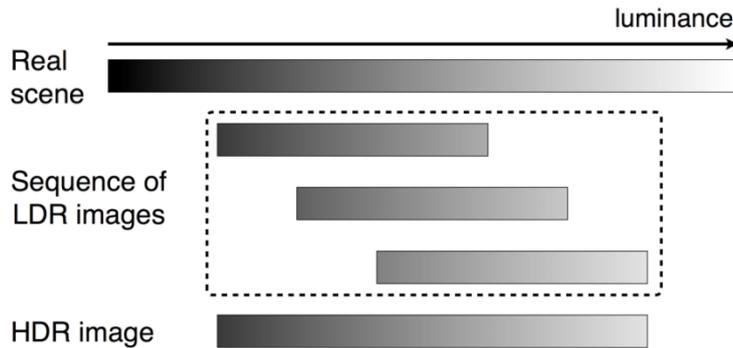
เมื่อ N คือ ขนาดของหน้ากล้อง

τ คือ เวลาในการเปิดชัตเตอร์

และค่า EV มีความสัมพันธ์กับค่าอัตราส่วนของความเปรียบต่างดังสมการที่ (2)

$$C = 2^{\Delta EV} \quad (2)$$

เมื่อ C คือ อัตราส่วนของความเปรียบต่าง (contrast ratio)



ภาพที่ 1 หลักการของเทคนิคการถ่ายภาพที่ให้ความสว่างชัดเจนทั่วทั้งภาพ (High Dynamic Range imaging)

การใช้เทคนิคการถ่ายภาพแบบ HDR เพื่อเพิ่มความเปรียบต่างให้กับภาพถ่ายเซลล์ตัวอย่างที่มีความเปรียบต่างน้อยนั้น มีข้อได้เปรียบเมื่อเทียบกับการย้อมสีเซลล์ตัวอย่าง เนื่องจากไม่ต้องมีการเปลี่ยนสภาพดั้งเดิมของเซลล์ตัวอย่าง ทำให้สามารถลดขั้นตอนและความยุ่งยากในการเตรียมเซลล์ตัวอย่างได้ และยังลดงบประมาณจากการซื้ออุปกรณ์เสริมสำหรับวิธีการดัดแปลงระบบแสงในกล้องจุลทรรศน์ด้วย ดังนั้นจึงมีความน่าสนใจที่จะศึกษาเกี่ยวกับการถ่ายภาพเพื่อเพิ่มความเปรียบต่างให้กับภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เทคนิคการถ่ายภาพแบบ HDR กับเซลล์ตัวอย่างที่มีความเปรียบต่างน้อย

วิธีการวิจัย

เตรียมเซลล์ตัวอย่างแบบสไลด์สดของเซลล์รากกล้วยไม้ เซลล์รากหอม สปอร์แรงเจียมและปีกผีเสื้อ แล้วจึงถ่ายภาพเซลล์เหล่านี้ด้วยกล้องดิจิทัล DSLR (Canon EOS 450D) ที่เชื่อมต่อกับกล้องจุลทรรศน์ (Olympus BX50) โดยเชื่อมต่อผ่านพอร์ตแบบ C-mount และได้ตั้งค่าการเปิดหน้ากล้อง (Av) เท่ากับ f/8 ค่าความไวแสง (ISO) เท่ากับ 200 และตั้งโหมดการถ่ายภาพแบบอัตโนมัติ (manual mode) ทั้งนี้ในการถ่ายภาพ HDR ต้องตั้งโปรแกรมให้กล้องถ่ายภาพक्रमแสงแบบอัตโนมัติ (auto exposure bracketing หรือ AEB) ซึ่งกล้องจะถ่ายภาพสามภาพที่มีค่า EV แตกต่างกันแบบอัตโนมัติ โดยกล้องจะปรับเวลาในการเปิดชัตเตอร์ให้สอดคล้องกับค่า EV ที่ได้ตั้งไว้ก่อน ซึ่งในงานวิจัยนี้ค่า EV ที่ใช้ค่าเท่ากับ -2, 0 และ 2 ตามลำดับ จากนั้นจึงนำภาพมาประมวลผลด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ แล้วจึงปรับโทนของภาพด้วยโหมดเพิ่มโทนภาพ (tone enhancer mode) ตามค่าที่ใช้ในโปรแกรมดังนี้ Strength = 100, Color saturation = 80, Luminosity = 100, Detail contrast = 60 และ Lighting adjustment = -100

ภาพ HDR ที่ได้จะเป็นไฟล์ .tiff แบบ 16 บิต ซึ่งจะนำภาพเหล่านี้ไปคำนวณหาค่าความเปรียบต่างต่อไป ซึ่งจะเปรียบเทียบค่าความเปรียบต่างกับภาพที่ไม่ได้เป็นภาพ HDR ซึ่งจะใช้แค่ภาพที่มีค่า EV = 0 เท่านั้น และในงานวิจัยนี้ได้นำเซลล์รากกล้วยไม้และสปอร์แรงเจียมของหวายทะนอยมาย้อมสีด้วย Safranino เพื่อเปรียบเทียบผลค่าความเปรียบต่างกับภาพ HDR ที่ไม่ได้ทำการย้อมสีด้วยการคำนวณหาค่าความเปรียบต่างในงานวิจัยนี้ได้ใช้วิธี Squared โดยคำนวณได้ดังจากสมการที่ (3) [5]

$$L = \frac{1}{J * K} \sum_{x=1}^J \sum_{y=1}^K G(x, y)^2 \quad (3)$$

เมื่อ L คือ ค่าความเปรียบต่าง

$G(x, y)$ คือ ผลรวมของผลต่างของระดับความเข้มแสงในแต่ละพิกเซล

J คือ จำนวนพิกเซลในแนวแถว

K คือ จำนวนพิกเซลในแนวคอลัมน์

โดยสามารถคำนวณค่า $G(x, y)$ ได้ดังสมการที่ (4)

$$G(x, y) = \sum_{i=x-1}^{x+1} |I(x, y) - I(i, y)| + \sum_{j=y-1}^{y+1} |I(x, y) - I(x, j)| \quad (4)$$

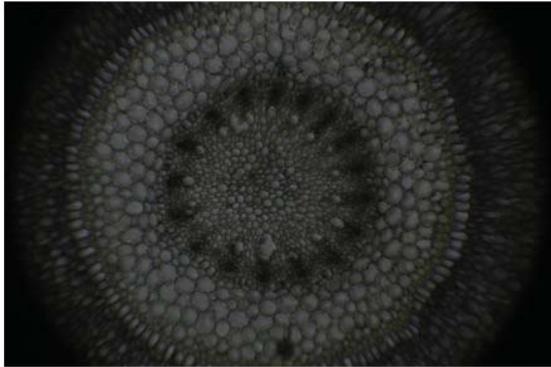
เมื่อ I คือ ค่าระดับความเข้มแสงที่ตำแหน่งต่าง ๆ ในภาพ

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

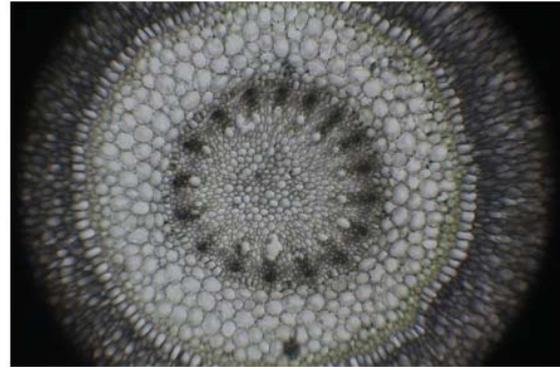
ภาพ HDR ที่ได้จากการประมวลผลภาพหลายๆ ภาพที่มีค่าปริมาณแสงต่างๆ กัน จะมีช่วงการรับแสงที่สูงกว่าปกติ ซึ่งมากกว่าที่กล้องดิจิทัลทั่วไปจะสามารถทำได้ และไม่สามารถทำได้จากภาพถ่ายเพียงภาพเดียว แม้ว่าจะพยายามปรับเพิ่มความสว่างให้ภาพเพื่อให้เห็นรายละเอียดของภาพบริเวณเงามืด (shadow) ของภาพก็จะสูญเสียรายละเอียดของภาพบริเวณสว่าง (highlight) ไป หรือในทางกลับกันเมื่อลดความสว่างของภาพลงเพื่อให้เห็นรายละเอียดของภาพบริเวณสว่างก็จะสูญเสียรายละเอียดของภาพบริเวณเงามืดไปเช่นกัน ทั้งนี้รายละเอียดของภาพ HDR จะให้ความละเอียดที่ชัดเจนทั้งบริเวณเงามืดและบริเวณสว่างได้ในภาพเดียวกันได้

ภาพที่ 2 เป็นภาพถ่ายของเซลล์รากล้วยไม้ก่อนย้อมสีซึ่งเป็นการถ่ายภาพคร่อมแบบอัตโนมัติ ทำให้ได้ภาพสามภาพที่มีค่า EV แตกต่างกันได้แก่ EV = -2 (ภาพที่ 2(ก)) EV = 0 (ภาพที่ 2(ข)) และ EV = +2 (ภาพที่ 2(ค)) ตามลำดับ แล้วจึงประมวลผลภาพทั้งสามภาพเพื่อสร้างภาพ HDR ด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ จนได้ภาพ HDR ดังแสดงในภาพที่ 2(ง) จากภาพจะเห็นได้ว่ามีความสว่างชัดเจนทั่วทั้งภาพทั้งบริเวณเงามืดและบริเวณสว่างของภาพ ทำให้ค่าความเปรียบต่างของภาพมีค่าเพิ่มขึ้น มากกว่าค่าความเปรียบต่างของภาพถ่ายก่อนทำภาพ HDR ทั้งสามภาพ และสามารถเห็นรายละเอียดของเซลล์รากล้วยไม้ได้อย่างชัดเจน สังเกตได้จากรายละเอียดของเนื้อเยื่อลำเลียงอาหารและน้ำ

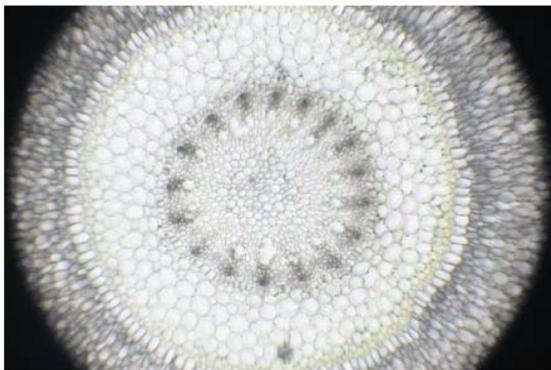
เมื่อนำเซลล์ของรากล้วยไม้จากภาพที่ 2 ไปทำการย้อมสีด้วย Safranino เพื่อตรวจสอบการเพิ่มความเปรียบต่างด้วยการย้อมสีแล้วจึงนำมาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทำภาพ HDR ดังแสดงในภาพที่ 3 ที่แสดงให้เห็นความแตกต่างของภาพเซลล์ของรากล้วยไม้ที่ไม่ได้ย้อมสีที่ถ่ายด้วยค่า EV = 0 (ภาพที่ 3(ก)) ภาพเซลล์ของรากล้วยไม้ที่ย้อมสีที่ถ่ายด้วยค่า EV = 0 (ภาพที่ 3(ข)) และภาพเซลล์ของรากล้วยไม้ที่ไม่ได้ย้อมสีที่ทำเป็นภาพ HDR (ภาพที่ 3(ค)) ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าภาพ HDR มีความสว่างทั่วทั้งภาพต่างจากภาพที่ได้จากการย้อมสีซึ่งความสว่างของภาพบริเวณวงรอบนอกของรากล้วยไม้จะน้อยกว่ามาก ทำให้รายละเอียดในบริเวณเงามืดนี้จะน้อยกว่าในภาพ HDR ดังนั้นค่าความเปรียบต่างของภาพ HDR จึงมีค่ามากกว่าภาพที่ได้จากการย้อมสีและภาพที่ไม่ได้ย้อมสีที่ถ่ายเพียงภาพเดียวด้วย



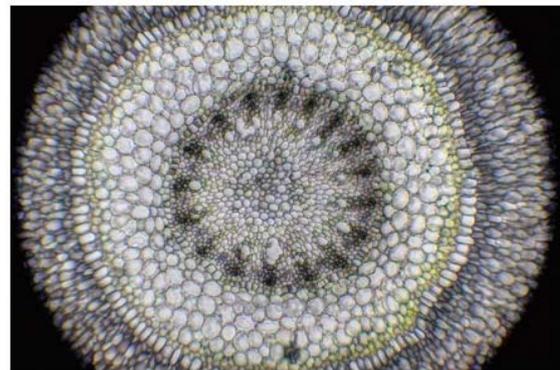
(ก) EV = -2



(ข) EV = 0



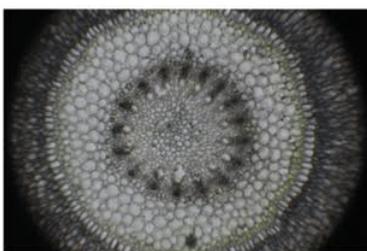
(ค) EV = 2



(ง) HDR

ภาพที่ 2 ภาพ HDR ของเซลล์รากกล้วยไม้ที่ไม่ได้ย้อมสีที่เกิดจากการรวมภาพสามภาพที่มีค่า EV = -2, 0 และ +2

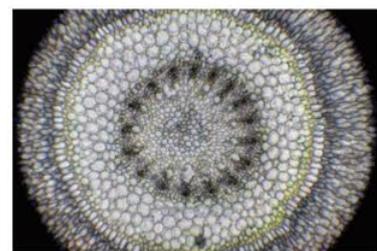
(ก) ภาพที่มีค่า EV = -2 (ข) ภาพที่มีค่า EV = 0 (ค) ภาพที่มีค่า EV = +2 และ (ง) ภาพ HDR



(ก) เซลล์รากกล้วยไม้ (EV = 0)



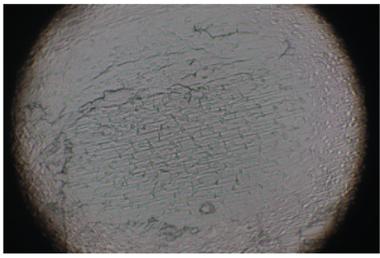
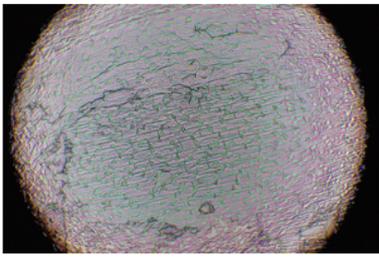
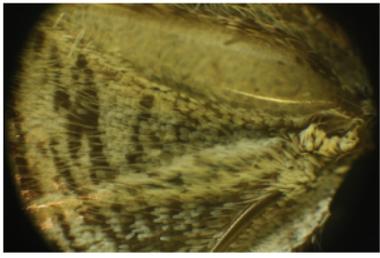
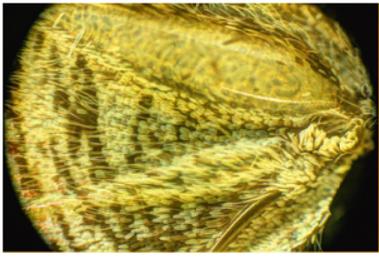
(ข) เซลล์รากกล้วยไม้ย้อมสี (EV = 0)



(ค) เซลล์รากกล้วยไม้ (HDR)

ภาพที่ 3 การเปรียบเทียบรายละเอียดและความแตกต่างของภาพเซลล์รากกล้วยไม้เมื่อ

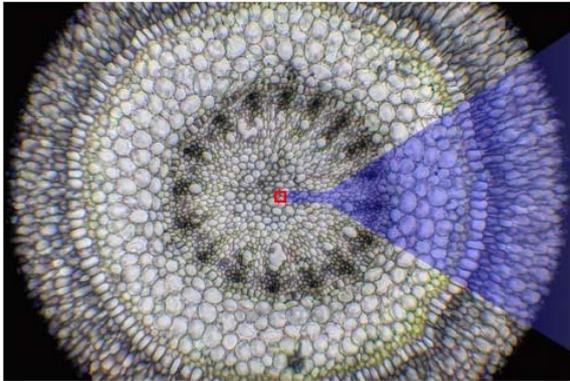
(ก) ภาพที่มีค่า EV = 0 และไม่ย้อมสี (ข) ภาพที่มีค่า EV = 0 และได้ย้อมสีด้วย Safranin (ค) ภาพ HDR

ชนิดของภาพ ชนิดของเซลล์	EV = 0	HDR
เซลล์รากหอม		
สปอร์แรงเจียมของหวายทะนอย		
ปีกผีเสื้อ		

ภาพที่ 4 การเปรียบเทียบภาพที่มีค่า EV = 0 และภาพ HDR ของภาพเซลล์รากหอม สปอร์แรงเจียมของหวาย ทะนอยและปีกผีเสื้อ

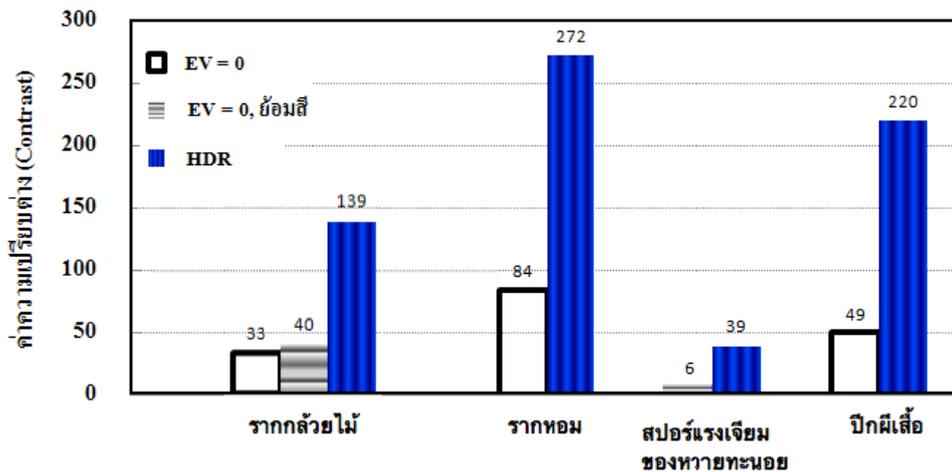
ตัวอย่างของเซลล์อื่นๆ ที่แสดงในงานวิจัยนี้ยังมีเซลล์รากหอม สปอร์แรงเจียมของหวายทะนอยและปีกผีเสื้อดังแสดงในภาพที่ 4 ซึ่งยืนยันว่าการถ่ายภาพ HDR สามารถเพิ่มรายละเอียดของภาพถ่ายเซลล์ต่างๆ ได้ นอกจากนี้เพื่อเป็นแสดงให้เห็นว่าการถ่ายภาพ HDR สามารถเพิ่มค่าความเปรียบต่างได้จริง จึงได้คำนวณหาค่าความเปรียบต่างเพื่อให้ได้เป็นค่าเชิงตัวเลขที่สามารถเปรียบเทียบระหว่างภาพถ่ายที่ใช้เทคนิคอื่นได้ง่ายกว่าการสังเกตจากความละเอียดของภาพถ่ายเพียงอย่างเดียว โดยภาพที่ 5 แสดงตัวอย่างค่าระดับความเข้มแสง (I) ที่เฉพาะตำแหน่งตรงกลางภาพในกรอบสี่เหลี่ยมสีแดงที่มีขนาด 20×20 พิกเซล ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งนำไปใช้ในการคำนวณค่าเปรียบเทียบดังสมการที่ (3) และ (4) โดยผลการคำนวณค่าความเปรียบต่างซึ่งแสดงเป็นกราฟแท่งในภาพที่ 6 ได้เปรียบเทียบค่าความเปรียบต่างของเซลล์รากกล้วยไม้ทั้งก่อนย้อมสี หลังย้อมสีและภาพ HDR จากภาพที่ 2 และ 3 และการเปรียบเทียบค่าความเปรียบต่างของเซลล์รากกล้วยไม้ทั้งก่อนย้อมสี หลังย้อมสีและภาพ HDR จากภาพที่ 4

เทคนิคการถ่ายภาพ HDR สามารถเพิ่มค่าความเปรียบต่างได้เป็นอย่างมาก โดยสำหรับเซลล์รากกล้วยไม้ค่าความเปรียบต่างของภาพ HDR มีค่ามากกว่าภาพก่อนย้อมสีเท่ากับ 4.2 เท่า และมากกว่าภาพหลังย้อมสีเท่ากับ 3.5 เท่า นอกจากนี้สำหรับเซลล์รากหอม สปอร์แรงเจียมของหวายทะนอยและปีกผีเสื้อ ค่าความเปรียบต่างของภาพ HDR มีค่ามากกว่าภาพถ่ายธรรมดาเท่ากับ 3.2 เท่า 6.5 เท่า และ 4.5 เท่า ตามลำดับ



163	170	167	182	188	134	96	148	145	140	161	157	163	188	182	179	199	203	206	213
171	166	145	157	176	139	111	159	143	148	164	164	168	185	191	201	214	218	213	199
163	163	141	136	165	133	97	141	140	144	155	164	176	191	200	208	208	213	200	
143	164	150	150	148	111	82	111	129	127	140	159	179	182	191	199	202	200	204	201
117	137	154	158	125	80	94	107	106	105	122	145	166	168	170	185	200	201	195	194
119	123	129	131	93	81	92	117	111	88	102	138	159	144	135	162	178	179	193	201
93	106	102	101	131	153	136	115	123	101	102	128	146	140	139	162	177	164	178	197
131	106	80	123	177	178	157	114	113	114	121	133	123	128	148	168	180	162	164	179
186	167	125	125	161	171	156	125	106	120	127	119	104	106	140	169	179	160	159	169
182	185	175	148	141	150	148	129	90	101	120	113	120	104	120	165	179	154	149	168
161	177	186	184	141	115	119	120	123	96	94	131	130	125	125	141	157	145	146	158
141	157	173	187	127	88	108	103	107	103	94	122	112	108	128	143	145	137	135	155
131	147	174	169	107	70	107	138	154	168	172	186	186	165	136	137	155	144	141	163
158	176	172	145	91	93	152	179	187	193	195	202	209	215	194	162	146	138	144	131
156	142	119	100	96	139	173	180	180	185	187	192	204	214	204	205	165	118	119	123
119	98	84	92	139	164	177	176	177	184	183	196	202	199	206	213	200	143	120	154
104	106	86	127	156	163	171	168	169	177	180	199	203	185	199	206	223	202	128	105
119	143	94	132	157	151	152	158	165	176	170	183	202	194	189	199	216	211	137	99
170	147	109	140	149	154	164	159	158	169	154	152	174	181	186	195	206	200	130	88
221	192	131	166	145	134	163	156	145	151	138	130	147	167	190	203	197	181	123	103

ดั่งภาพที่ 5 ตัวอย่างค่าระดับความเข้มแสง (I) ที่เฉพาะตำแหน่งตรงกลางภาพ ในกรอบสี่เหลี่ยมสีแดงที่มีขนาด 20×20 พิกเซล ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งที่น่าไปใช้ในการคำนวณค่าเปรียบเทียบของทั้งภาพ



ภาพที่ 6 ค่าความเปรียบต่างของภาพถ่ายเซลล์รากกล้วยไม้ รากหัวหอม สปอร์แรงเจียมของหอยทงน้อย และปีกผีเสื้อ โดยเปรียบเทียบกันระหว่างก่อนย้อมสี (EV = 0) หลังย้อมสี (EV = 0) และภาพ HDR

เทคนิคการถ่ายภาพ HDR มีประโยชน์สำหรับผู้สนใจในการถ่ายภาพเซลล์เพื่อเพิ่มความเปรียบต่างและความละเอียดของภาพ โดยเฉพาะเมื่อต้องการนำภาพเซลล์เหล่านี้ไปใช้โดยการพิมพ์ลงบนกระดาษ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบเฟสคอนทราสต์ (phase contrast microscope) เทคนิค HDR ให้ภาพที่มีคุณภาพสูงกว่าโดยสามารถลดความไม่คมชัดที่บริเวณขอบของภาพได้ ทำให้ภาพ HDR มีความคมชัดมากกว่า

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการเพิ่มความเปรียบต่างให้กับภาพถ่ายของเซลล์ตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์โดยอาศัยเทคนิคการประมวลผลภาพแบบ HDR โดยใช้เซลล์ตัวอย่างได้แก่ เซลล์รากกล้วยไม้ เซลล์รากหอม สปอร์แรงเจียมของหอยทงน้อยและปีกผีเสื้อ จากผลการทดลองพบว่าค่าความเปรียบต่างของภาพ HDR เมื่อเทียบกับภาพถ่ายธรรมดาเพิ่มสูงขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ 4.5 เท่า และมากกว่าภาพที่ย้อมสีแล้วประมาณ 3.5 เท่า

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คุณมานี แก้วชนิด สำหรับคำแนะนำในเรื่องของตัวอย่างเซลล์ชนิดต่าง ๆ และสาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ได้สนับสนุนงานวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วง

เอกสารอ้างอิง

- [1] Piper, J. (2010). Image processing for the optimization of dynamic range and ultra-high contrast amplification in photomicrography. **Microscope: Science, Technology, Applications and education**. 1436-1444.
- [2] Rim, B.R., Park, R.-H. and Kim, S. (2006). High dynamic range for contrast enhancement. **IEEE Trans. Cons. Electrons**. 4, 1454-1462.
- [3] McCollough, F. (2008). **Complete Guide to High Dynamic Range Digital Photography**. Lark Books, China.
- [4] Preechaburana, P., Macken, S., Suska, A. and Filippini, D. (2013). HDR imaging evaluation of a NT-proBNP test with a mobile phone. **Biosens. Bioelectronics**. 26, 2107-2113.
- [5] Xu, X., Wang, Y., Tang, J., Zhang, X. and Liu, X. (2011). Robust automatic focus algorithm for low contrast images using a new contrast measure. **Sensor**. 11, 8281-8294.