กล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพา

PORTABLE DARKFIELD MICROSCOPE

บูรพา โพธิวุฒิ[1] อนรรฆ นารอง[1] โสฐิตา จิโสะ[1] วิภาวี ศรีหานนท์[1] และ โสภณ กล่อมเกลี้ยง[1]
[1]โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาภรณราชวิทยาลัย ลพบุรี
Burapa Phothowut[1] Anak Narong[1] Sothita Chiso[1] Wipawee Srihanon[1]
and Sophon Klomkliang[1]
[1]Princess Chulabhorn Science High School Lopburi

(Received: January 9, 2023; Revised: April 15, 2023; Accepted: April 20, 2023)

*ผู้ประสานงาน : นายบูรพา โพธิวุฒิ อีเมล์ : aomburapa71@gmail.com

บทคัดย่อ

กล้องจุลทรรศน์ดาร์กฟิลด์เป็นเครื่องมือที่ใช้ในงานด้านชีววิทยาการแพทย์สำหรับศึกษาโครงสร้างและพัฒนาการของตัวอ่อนซึ่งต้องอาศัยความชำนาญในการหาจุดโฟกัส กล้องจุลทรรศน์นั้นมีน้ำหนักมากทำให้เกิดความไม่สะดวกในการพกพาไปใช้งานภาคสนาม นอกจากนี้ราคาที่สูงของกล้องจุลทรรศน์ทำให้ยากต่อการเข้าถึงสำหรับผู้ใช้ที่ไม่สามารถจ่ายได้ โครงงานนี้นำเทคนิคกล้องจุลทรรศน์สมาร์ทโฟนฟลูออเรสเซนต์มาใช้ในการประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพา โดยฉายแสงสีขาวจากหลอด LED ทางด้านข้างของสไลด์ตัวอย่าง หลังจากนั้นปิดด้านบนด้วยแผ่นอะคริลิกเพื่อทำให้เกิดคุณสมบัติดาร์กฟิลด์จากการกระเจิงของแสงโดยภาพของตัวอย่างที่ศึกษานั้นจะมีลักษณะเรืองแสงตัดกับพื้นหลังสีดำ ผู้ประดิษฐ์ได้ทำการย่อขนาดและออกแบบใหม่ตัวกล้องจุลทรรศน์ด้วยโปรแกรม SketchUp จากนั้นพิมพ์ออกมาในรูปแบบ 3 มิติด้วยเครื่องพิมพ์ 3 มิติโดยใช้วัสดุเป็นเส้นใย PLA โดยกล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพาได้รับการออกแบบมาเพื่อใช้กับสมาร์ทโฟนและปรับโฟกัสด้วยมอเตอร์ผ่านปุ่มควบคุมและมีปุ่มสำหรับปรับความสว่างเพื่อเพิ่มความชัดของภาพตัวอย่างมากยิ่งขึ้น การใช้งานกล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพาต้องใช้ร่วมกับเลนส์พอลิเมอร์ (อีพอกซีเรซิน) ในแต่ละกำลังขยาย 25x, 50x และ 100x วางบนกล้องหน้าของสมาร์ทโฟน จากนั้นวางสมาร์ทโฟนไว้ใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อถ่ายภาพตัวอย่าง เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการปรับโฟกัสด้วยมือกับการปรับด้วยมอเตอร์ใช้การประมวลผลภาพด้วยไลบรารี่ OpenCV เพื่อหาค่าคอนทราสต์ซึ่งบ่งบอกระยะจุดโฟกัส จากผลการเปรียบเทียบแสดงให้เห็นว่าวิธีที่ใช้มอเตอร์มีประสิทธิภาพมากกว่าวิธีดั้งเดิม โครงการนี้ช่วยแก้ปัญหาความยากลำบากในการหาจุดโฟกัสและเพิ่มโอกาสมากในการเข้าถึงกล้องจุลทรรศน์ดาร์กฟิลด์แบบพกพาด้วยต้นทุนที่ต่ำลง

คำสำคัญ: ดาร์กฟิลด์, กล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพา, การกระเจิงแสง, ค่าคอนทราสต์

ABSTRACT

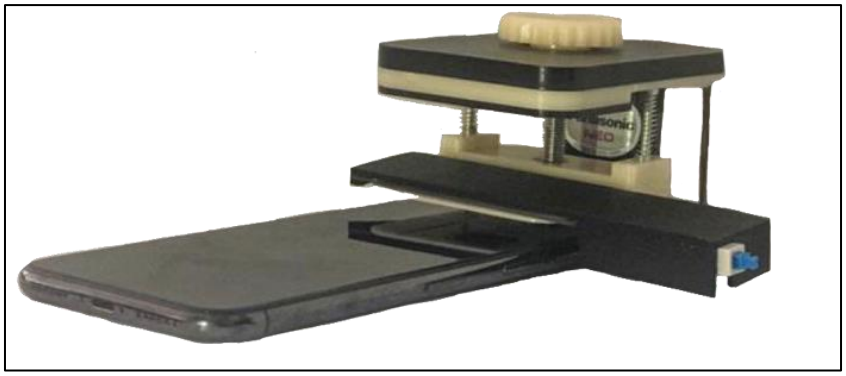
A darkfield microscope is a tool used in the biological and medical field for studying structural and embryo development which requires expertise in finding a focus point. Its weight cause inconvenience in carrying on the field, and the high cost of the microscope cause difficulty to approach for a user who cannot afford it. In this project, a fluorescent smartphone microscope technique is applied by emitting light from white light LED aside from a standard specimen glass slide, then covered with an acrylic sheet to cause darkfield properties from the light scattering. To generate the darkfield property and make it portable, we redesigned and minimized the microscope structure with the SketchUp program, then printout in 3D with PLA filaments. The portable darkfield microscope is designed for using with a smartphone and motorized focus adjustment via a control buttons and adjusted brightness with brightness volume. In the usage of the portable darkfield microscope requires a polymer lens (Epoxy resin) in each magnifying 25x, 50x, and 100x as an objective lens to place on the smartphone webcam, then set the smartphone under the microscope to take the specimen pictured. The study aims to compare the efficiency of the motorized focus adjustment and manual focus adjustment using image processing in OpenCV library to calculate contrast values which indicate focus point. The results show that the motorized method has greater contrast average value than the manual one. This project solves the difficulty in finding a focus point and provides more chances to approach the portable darkfield microscope at a lower cost.

Keywords: Darkfield, Portable darkfield microscope, Light scattering, Contrast value

1. บทนำ

ตัวอ่อนเป็นระยะเริ่มต้นของการพัฒนาของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ซึ่งมีคุณสมบัติโปร่งใส ดังนั้น กล้องจุลทรรศน์แบบดาร์กฟิลด์จึงเป็นอุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับการศึกษาโครงสร้างและพัฒนาการของเอ็มบริโอ เนื่องจากคุณสมบัติของดาร์กฟิลด์ ทำให้เกิดภาพที่ละเอียดและชัดเจน ในการใช้กล้องจุลทรรศน์ภายใต้คุณสมบัติดาร์กฟิลด์นั้น ผู้ใช้งานต้องประกอบชิ้นส่วนของแผ่นกั้นแสงระหว่าง

แหล่งกำเนิดแสงและเลนส์เพื่อให้เกิดการกระเจิงแสงซึ่งเป็นคุณสมบัติดาร์กฟิลด์ เนื่องจากเลนส์เป็นชิ้นส่วนที่เสียหายได้ง่าย น้ำหนัก และขนาดของกล้องจุลทรรศน์ ทำให้ ไม่สะดวก ลำบากต่อการพกพาไปใช้งานภาคสนาม ส่งผลให้มีการประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพารุ่นต้นแบบโดยใช้หลักการจากกล้องจุลทรรศน์สมาร์ทโฟนฟลูออเรสเซนต์โดยให้แสงจากด้านข้างของแผ่นสไลด์ในมุมที่เหมาะสมและปิดแผ่นสไลด์ด้วยแผ่นอะคริลิกสีดำเพื่อทำให้เกิดการกระ เจิงแสงที่ตัวอย่างซึ่งเป็นคุณสมบัติของดาร์กฟิลด์โดยภาพของตัวอย่างที่ได้มีลักษณะเรืองแสงตัดกับพื้นหลังสีดำสนิทในการจัดทำโครงงานนี้มีจุดประสงค์เพื่อลดต้นทุนและลดข้อจำกัดในการใช้งานภาคสนามโดยออกแบบเพื่อใช้งานร่วมกับกล้องโทรศัพท์มือถือซึ่งสามารถใช้งานได้จริง แต่กล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพารุ่นต้นแบบมีข้อจำกัดบางประการอาทิ เช่น โครงสร้างไม่แข็งแรง การปรับหาโฟกัสยาก ไม่สามารถปรับความสว่างได้ คณะผู้จัดทำได้นำโครงงานนี้มาต่อยอดโดยการออกแบบใหม่ด้วยโปรแกรมจากนั้นพิมพ์ออกมาด้วยเครื่องพิมพ์ 3 มิติโดยใช้เส้นใย PLA ทำให้น้ำหนักเบาและโครงสร้างแข็งแรงขึ้น เปลี่ยนวิธีการปรับโฟกัสด้วยมือเป็นวิธีการปรับโฟกัสด้วยมอเตอร์ผ่านปุ่มควบคุมและเพิ่มปุ่มสำหรับปรับความสว่าง ทำให้ใช้งานภาคสนามได้ง่ายขึ้นและราคาถูกกว่ากล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพารุ่นอื่น



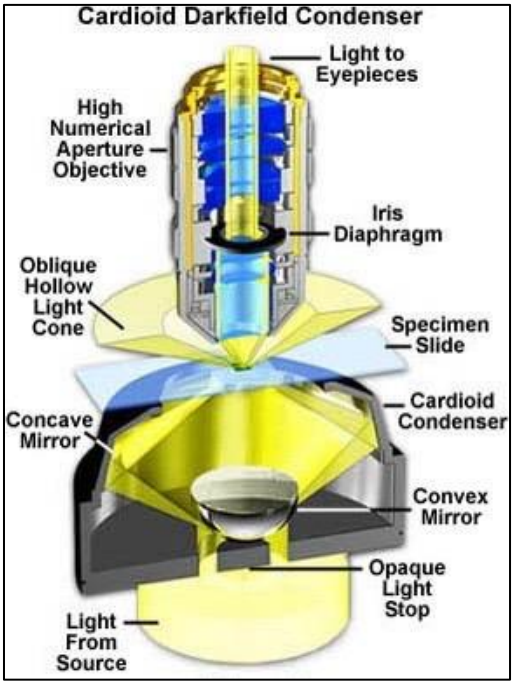
รูปที่ 1 กล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพารุ่นต้นแบบ

2. ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

หลักการนี้ถูกนำไปใช้ในกล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์เรียกอีกอย่างว่า Darkground ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและเป็นที่นิยมในการทำให้ตัวอย่างที่มีลักษณะโปร่งใสที่ไม่ได้ย้อมสีสามารถมองสังเกตอย่างได้ชัดเจน ตัวอย่างดังกล่าวมักจะมีค่าหักเหของแสงใกล้เคียงกับวัตถุรอบข้างเป็นอย่างมากซึ่งส่งผลให้สังเกตตัวอย่างได้ยากภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงธรรมดาทั่วไป ตัวอย่างเช่น สิ่งมีชีวิต

ในน้ำขนาดเล็กส่วนมากมีดัชนีหักเหตั้งแต่ 1.2 ถึง 1.4 ส่งผลให้มีตัวอย่างมีความกลมกลืนกับตัวกลางโดยรอบที่เป็นน้ำ ตัวอย่างเหล่านี้จึงเหมาะกับการใช้ในกล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์

การเรืองแสงภายของตัวอย่างภายใต้คุณสมบัติดาร์กฟิลด์จำเป็นต้องปิดกั้นแสงบริเวณส่วนกลางของลำแสงซึ่งโดยปกติแล้วแสงส่วนที่ปิดกั้นจะผ่านสู่ตัวอย่างแต่เนื่องจากการปิดกั้นแสงบริเวณส่วนกลางของลำแสงทำให้มีเพียงแสงบริเวณที่ไม่ได้ปิดกั้นเกิดเป็นกรวยแสงกลวงชนกับตัวอย่างที่อยู่บนสไลด์ในแนวทแยง ซึ่งทำให้รังสีแสงที่ส่องผ่านออกมาจากพื้นผิวของตัวอย่าง ตัดกันเป็นกรวยแสงกลวงกลับด้านโดยมีปลายยอดตัดอยู่ตรงกลางระนาบตัวอย่างดังรูปที่ 1 หากไม่มีตัวอย่างหรือช่องรับแสงของคอนเดนเซอร์เปิดมากเกินไป รังสีแสงดังกล่าวทั้งหมดจะไม่ตกกระทบเข้าสู่เลนส์ใกล้ตาเนื่องจากมุมการเอียงของกรวยแสง ทำให้ภาพที่ปรากฏเป็นสีดำ ซึ่งหมายความว่าไม่ปรากฏภาพตัวอย่าง

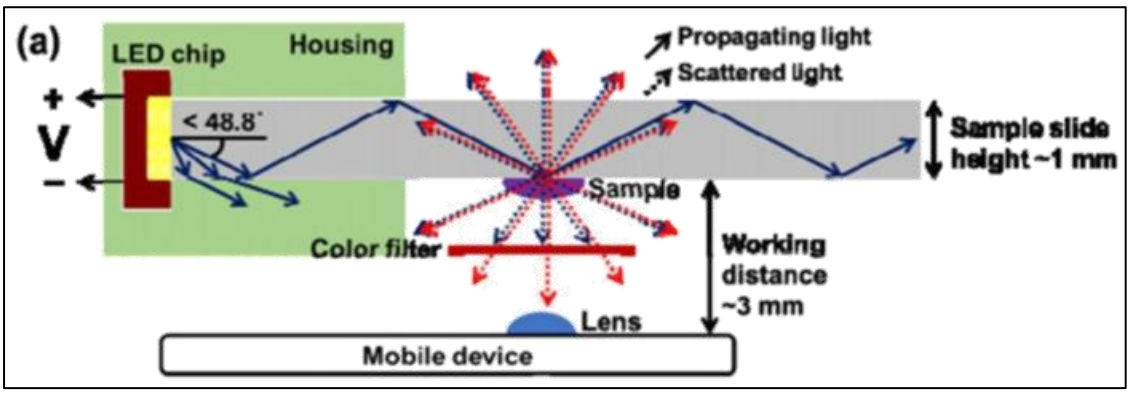


รูปที่ 2 แผนภาพโครงสร้างและการดินทางของแสงภายในกล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์

เมื่อวางตัวอย่างบนสไลด์ โดยเฉพาะตัวอย่างที่ไม่ย้อมสีและไม่ดูดซับแสง แสงจะส่องผ่านตัวอย่างและถูกหักเห สะท้อน หรือหักเหโดยความไม่ต่อเนื่องทางแสง เช่น เยื่อหุ้มเซลล์ นิวเคลียส และออร์แกเนลล์ภายใน ทำให้แสงที่เข้าสู่ตัวอย่างได้มีความเข้มแสงต่ำ จากนั้นสามารถมองเห็นตัวอย่างได้ชัดเจนบนพื้นหลังสีดำ ในหลักการของแสงฟูเรียร์ การเรืองแสงภายใต้คุณสมบัติดาร์กฟิลด์จะกำจัดแสงที่ไม่ได้เกิดการกระเจิง เนื่องจากรูปแบบการส่องผ่านของแสงที่เกิดขึ้นที่ระนาบโฟกัส

ด้านหลังของตัวอย่าง ซึ่งภาพที่ได้เกิดขึ้นจากความเข้มแสงจากการส่องผ่านตัวอย่างแล้วเกิดการกระเจิงที่ตัวอย่างเท่านั้น [1]

และเนื่องจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์แบบดังกล่าวมีขนาดใหญ่ น้ำหนักมาก ไม่สามารถพกพาไปใช้ในภาคสนามได้อีกทั้งยังมีราคาแพงบุคคลทั่วไปเข้าถึงได้ยากผู้วิจัยจึงพยายามหาวิธีการอื่นเพื่อนำมาประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพาและพบว่าในบทความของ Yulung Sung, Fernando Campa, and Wei-Chuan Shih (2017: Setup) ได้ใช้การส่องสว่างของแหล่งกำเนิดแสงแบบมุมฉากและมีการออกแบบทางเดินของแสงให้สามารถแยกส่วนออกจากกันโดยติดตั้งตรงด้านข้างของแผ่นสไลด์กระจกขนาดมาตรฐาน ให้แสงเกิดการสะท้อนกลับทั้งหมด (TIR) ระหว่างกระจกด้านบนและด้านล่างกับพื้นผิวระหว่างอากาศกับแผ่นสไลด์ดังรูปที่ 2 โดยวัตถุที่สัมผัสกับพื้นผิวกระจกจะเกิดการเรืองแสงและจะรวมแสงโดยใช้เลนส์โพลิเมอร์พิมพ์อิงค์เจ็ตที่ติดอยู่ด้านหน้ากล้องสมาร์ทโฟนสำหรับการถ่ายภาพ เลนส์โพลิเมอร์ติดแน่นกับกระจกครอบกล้องโดยไม่ต้องมีชิ้นส่วนรอง โดยวางตำแหน่งเลนส์กึ่งกลางของกล้องสมาร์ทโฟนโดย ช่องเสียบแผ่นสไลด์ออกแบบมาเพื่อรองรับสไลด์แก้วมาตรฐานขนาด 1 นิ้ว x 3 นิ้ว และ LED ไดโอดติดพื้นผิวห้าดวง (5 มม. x 5 มม.) อัตราส่วนมุมวิกฤตสำหรับ TIR ที่แผ่นสไลด์ต่ออากาศ โดยมุมของแหล่งกำเนิดแสงนี้มีช่วงตั้งแต่ 41.01° (λ = 465 nm, แก้ว BK7) ถึง 41.30° (λ = 630 nm) [2]



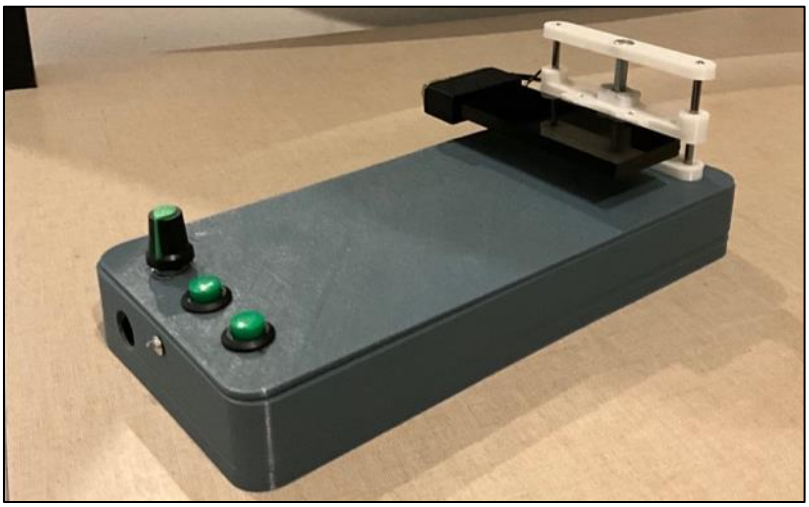
รูปที่ 3 แผนภาพการกระเจิงของแสงภายในสไลด์

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การออกแบบโมเดล

ในการออกแบบโมเดลใช้โปรแกรม Sketchup จากนั้นพิมพ์ออกมาในรูปแบบ 3 มิติ ด้วยเครื่องพิมพ์ 3 มิติโดยใช้วัสดุ PLA โดยมีแท่งอะลูมิเนียมสองข้างสำหรับการช่วยประคองแท่นวางสไลด์และมีสกรูสำหรับการหมุนเพื่อปรับแท่นวางสไลด์ขึ้นและลงแบบ Linear motion ทำให้สามารถปรับ

ระยะโฟกัสได้ละเอียดมากขึ้น ช่องสำหรับใส่สไลด์ตัวอย่างทำจากแผ่นอะคริลิคสีดำด้านติดตั้งหลอดไดโอดเปล่งแสง LED สีขาวโดยนำหลักการของกล้องสมาร์ทโฟนเรืองแสงมาประยุกต์ใช้อาศัยหลักการกระเจิงแสงซึ่งทำให้เกิดคุณสมบัติดาร์กฟิลด์ ในการปรับระยะโฟกัสมีปุ่มสำหรับการสั่งการเพื่อปรับระยะรวมไปถึงมีปุ่มปรับความสว่างสำหรับปรับความเข้มของแสงทำให้เกิดดาร์กฟิลด์ได้ดีขึ้นอุปกรณ์ภายในประกอบด้วยบอร์ด Node MCU และชุดโมดูลควบคุมสเต็ปเปอร์มอเตอร์สำหรับสั่งการปรับหาจุดโฟกัสทำให้ปรับหาจุดโฟกัสได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น



รูปที่ 4 โมเดลกล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพา

รูปที่ 5 ภายในโมเดลกล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพา

3.2 วิธีการใช้งาน

กล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพาถูกออกแบบมาเพื่อใช้ร่วมกับสมาร์ทโฟนใช้เลนส์พอลิเมอร์ (อีพอกซีเรซิน) โดยได้รับการสนับสนุกจากศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ ซึ่งเลนส์มีกำลังขยายตั้งแต่ 25x, 50x และ 100x เป็นเลนส์ใกล้วัตถุสำหรับวางบนกล้องหน้าของสมาร์ทโฟนเพื่อเพิ่มกำลังขยายโดยขั้นตอนการใช้งานกล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพามีดังนี้

1. วางเลนส์ในกำลังขยายที่ต้องการลงบนกล้องหน้าของสมาร์ทโฟน
2. วางแผ่นสไลด์บนช่องใส่แผ่นสไลด์แล้วปิดด้วยแผ่นอะคลิลิคสีดำ
3. วางสมาร์ทโฟนไว้ใต้ช่องใส่แผ่นสไลด์ให้ตำแหน่งตรงกับตัวอย่าง
4. ปรับหาระยะโฟกัสโดยการกดปุ่มปรับโฟกัสเพื่อให้ได้ภาพตัวอย่างที่ชัดเจนและสามารถปรับความสว่างเพื่อให้ภาพชัดเจนมากขึ้นได้

รูปที่ 6 MuEye lens ที่ได้รับการสนับสนุนจาก NECTEC

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพ

ในการวัดประสิทธิภาพการปรับโฟกัสด้วยมอเตอร์เปรียบเทียบกับการปรับโฟกัสด้วยมือที่เป็นวิธีดั้งเดิมจะใช้การคำนวณหาค่าคอนทราสต์ที่ได้จากภาพตัวอย่างโดยใช้ การประมวลผลภาพจากไลบรารี่ OpenCV ร่วมกับการเขียนโปรแกรมภาษา Python ซึ่งค่าคอนทราสต์บ่งบอกถึงความคมชัดของภาพ[3] โดยจะทำการเก็บภาพตัวอย่างสองชนิด ได้แก่ ตัวอย่างสไลด์ถาวรเอ็มบริโอของกบ (Frog embryo) และ ออสทราคอด (Ostracod) ซึ่งเป็นตัวอย่างสไลด์สด ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพา ซึ่งทำ 4 การทดลองโดยเก็บภาพตัวอย่างสไลด์ถาวรเอ็มบริโอของกบที่กำลังขยาย 50x และทำการเก็บภาพตัวอย่างสไลด์สดออสทราคอดที่กำลังขยาย 25x ตามขั้นตอนดังนี้

1. ปรับระยะช่องใส่แผ่นสไลด์ให้สูงสุด
2. ปรับโฟกัสในระยะที่ผู้สังเกตเห็นภาพชัดที่สุด
3. ถ่ายภาพตัวอย่างด้วยสมาร์ทโฟน
4. ทำซ้ำ 5 ครั้ง

4. ผลการวิจัยและอธิปรายผล

หลังจากการประมวลผลภาพที่ได้จาการทดลองด้วยไลบรารี่ OpenCV ร่วมกับการเขียนโปรแกรมภาษา Python ค่าคอนทราสต์บ่งบอกถึงความคมชัดของภาพเปรียบเทียบระหว่างการปรับโฟกัสด้วยมือและวิธีการปรับโฟกัสด้วยมอเตอร์ของแต่ละตัวอย่างสไลด์แสดงดังในตารางที่ 1 และ 2

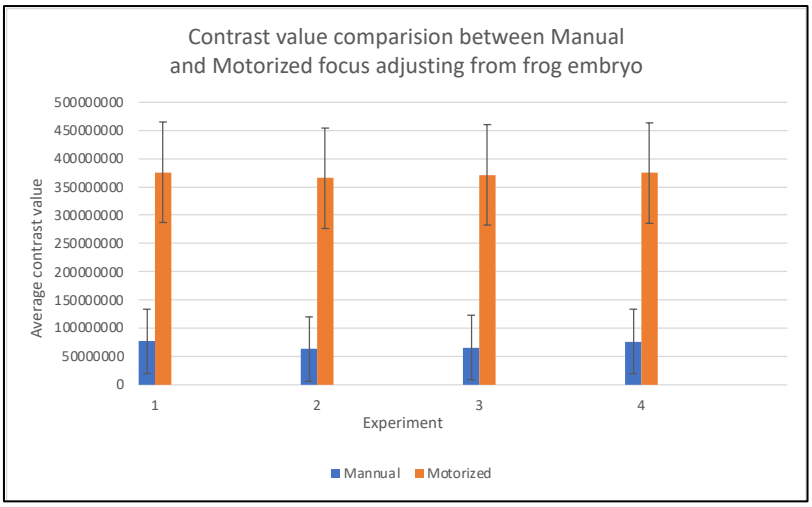
ตารางที่ 1 ตารางบันทึกผลการทดลองจากตัวอย่างสไลด์ถาวร เอ็มบริโอของกบ (Frog embryo) ที่กำลังขยาย 50x

The contrast value table from the frog embryo							
Experiments	Round	Manual			Motorized		
		Contrast value	Avg	SD	Contrast value	Avg	SD
1	1	83920550	76726861.4	5701261.56	432009312	375297984	84526982.6
	2	80789920			308741831		
	3	75841410			467948529		
	4	73437792			400681461		
	5	69644635			267108786		
2	1	60437326	63534111.2	2495084.59	391981317	365689858	89013135.9
	2	61930799			252236386		
	3	65205511			425364724		
	4	66685686			295196976		
	5	63411234			463669888		
3	1	66964020	65362382	2400832.4	467237300	370739960	87906258.9
	2	68392512			396894814		
	3	62384687			301477726		
	4	63802404			258336965		
	5	65268287			429752993		
4	1	78109092	76366698.6	2614905.65	307917151	374850913	84861922.4
	2	79661475			468283044		
	3	76284819			266457913		
	4	74655632			431515799		
	5	73122475			400080660		

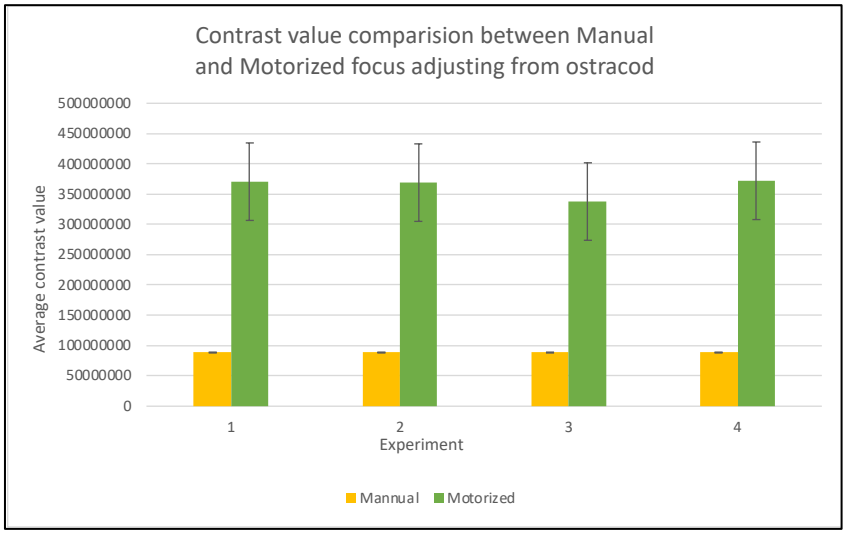
ตารางที่ 2 ตารางบันทึกผลการทดลองจากตัวอย่างสไลด์สด ออสทราคอด (Ostracod) ที่ กำลังขยาย 25x

The contrast value table from the frog ostracod							
Experiments	Round	Manual			Motorized		
		Contrast value	Avg	SD	Contrast value	Avg	SD
1	1	88254857	88512933.8	428142.386	301406861	370694133	64058933.1
	2	88420019			404745842		
	3	89101629			364841262		
	4	88770362			460432125		
	5	88017802			322044576		
2	1	88705902	88794462.2	446512.743	401955806	368230619	63767711.7
	2	88513107			300006620		
	3	89056362			458046055		
	4	89412414			361507982		
	5	88284526			319636632		
3	1	87939056	88211821.4	440807.693	299848505	337266228	45162764.6
	2	88801042			362999489		
	3	88482803			299848505		
	4	88152295			320039238		
	5	87683911			403595402		
4	1	88840976	89114122.4	450539.32	302839300	371833824	63920599.9
	2	89723940			461431924		
	3	88572407			365956337		
	4	89056990			405776560		
	5	89376299			323165001		

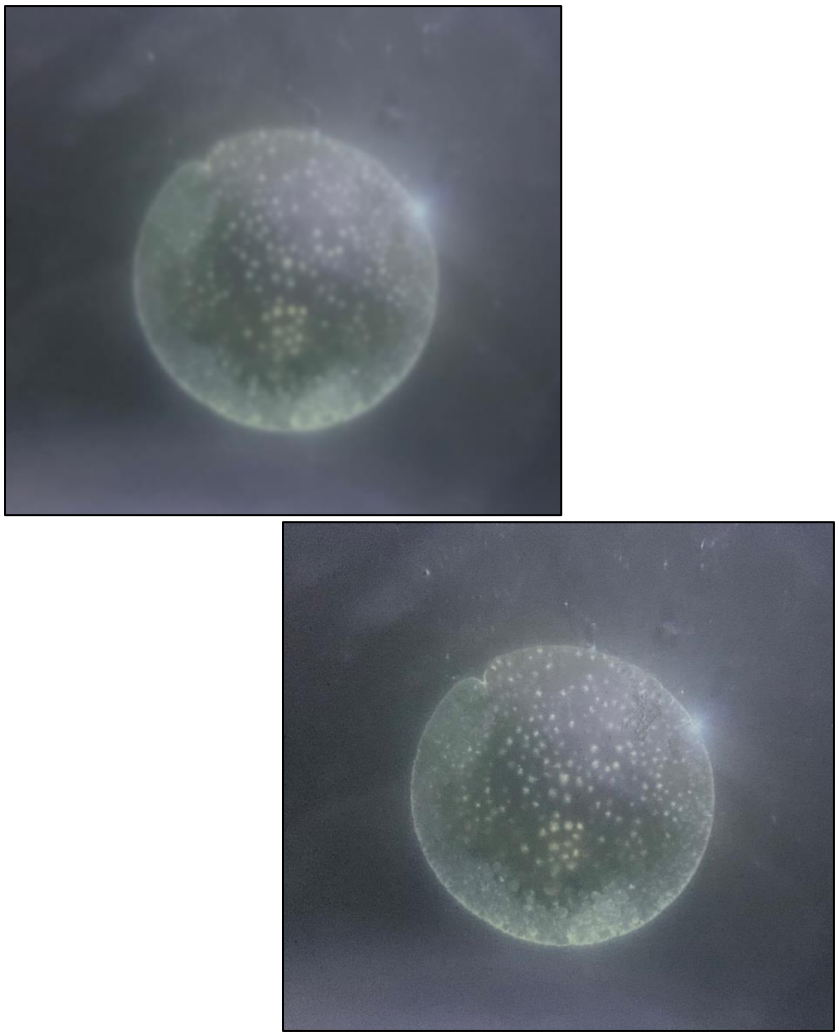
เมื่อนำผลจากตารางที่ 1 และ 2 มานำเสนอในรูปแบบของแผนภูมิแท่งเพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยค่าคอนทราสต์ระหว่างวิธีการปรับโฟกัสด้วยมือและวิธีการปรับโฟกัสด้วยมอเตอร์ในตัวอย่างสไลด์ถาวรเอ็มบริโอของกบและตัวอย่างสไลด์สดออสทราคอด ดังรูปที่ 7 และ 8 ตามลำดับจะสังเกตเห็นได้ว่าจากทั้งสองการทดลองซึ่งมีกำลังขยาย 25x และ 50x ตามลำดับมีค่าเฉลี่ยค่าคอนทราสต์จากวิธีการปรับโฟกัสด้วยมอเตอร์มีค่าสูงมากกว่าวิธีการปรับโฟกัสด้วยมืออย่างมีนัยสำคัญชี้ให้เห็นว่าวิธีการปรับโฟกัสด้วยมอเตอร์ช่วยให้ผู้ใช้งานสามารถปรับโฟกัสให้มีความคมชัดมากยิ่งขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากในการออกแบบกลไกการความคุมด้วยระบบมอเตอร์มีความละเอียดในการปรับระยะโฟกัสมากกว่าวิธีการปรับโฟกัสด้วยมือที่เป็นการปรับความละเอียดได้เพียงระดับหยาบทำให้เกิดความยากลำบากต่อผู้ใช้งานเมื่อต้องการปรับให้ภาพมีความคมชัดมากขึ้นแต่ทั้งนี้เนื่องจากการปรับโฟกัสทั้งสองวิธียังคงใช้วิธีการวัดความคมชัดในการทำการทดด้วยตามนุษย์ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนขึ้น



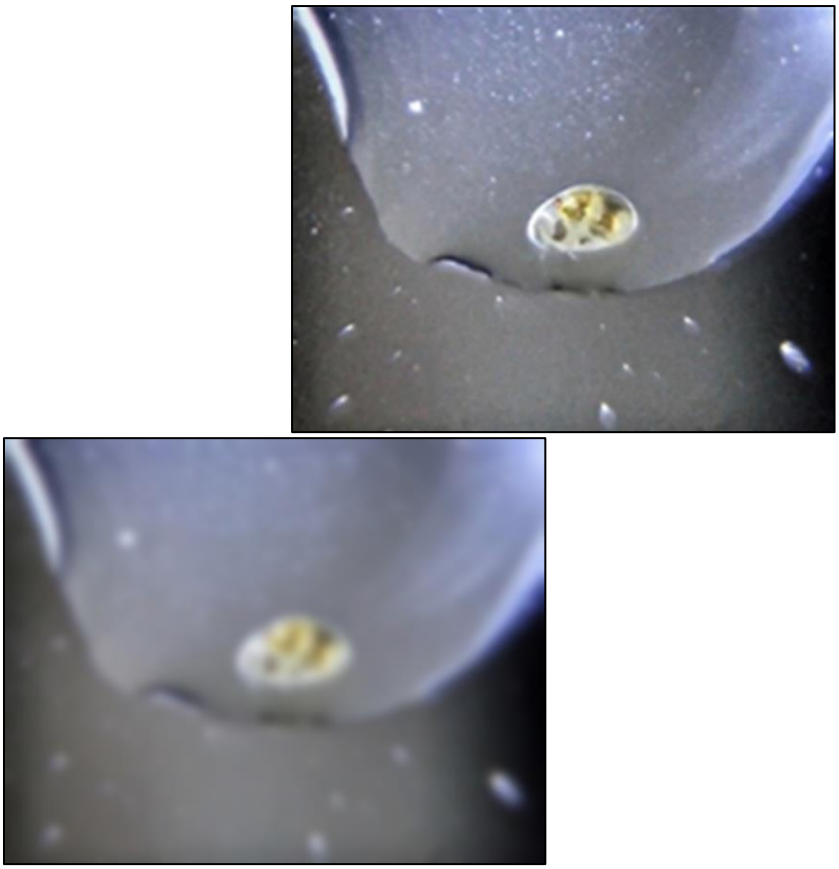
รูปที่ 7 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยค่าคอนทราสต์ระหว่างวิธีการปรับโฟกัสด้วยมือและวิธีการปรับโฟกัสด้วยมอเตอร์ในตัวอย่างสไลด์ถาวรเอ็มบริโอของกบที่กำลังขยาย 50x



รูปที่ 8 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยค่าคอนทราสต์ระหว่างวิธีการปรับโฟกัสด้วยมือและวิธีการปรับโฟกัสด้วยมอเตอร์ในตัวอย่างสไลด์สดออสทราคอดที่กำลังขยาย 50x



รูปที่ 9 ภาพเอ็มบริโอของกบจากวิธีการปรับโฟกัสด้วยมือ(ซ้าย) และวิธีการปรับโฟกัสด้วยมอเตอร์ (ขวา)



รูปที่ 10 ภาพออสทราคอดจากวิธีการปรับโฟกัสด้วยมือ(ซ้าย) และวิธีการปรับโฟกัสด้วยมอเตอร์ (ขวา)

5. สรุปผลการวิจัย

กล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์เป็นอุปกรณ์สำคัญที่ใช้ในการศึกษาทางด้านคัพภวิทยาอย่างแพร่หลายในต่างประเทศแต่ในประเทศไทยกลับมีจำนวนผู้ใช้งานน้อยและเข้าถึงได้ยากเนื่องจากข้อจำกัดทางด้านราคาและขาดผู้ชำนาญในการใช้งานรวมไปถึงความไม่สะดวกต่อการพกพาไปใช้งานภาคสนามเนื่องจากข้อจำกัดทางด้านน้ำหนัก ส่งผลให้ประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพาโดยนำหลักการของกล้องจุลทรรศน์สมาร์ทโฟนฟลูออเรสเซนต์ [2] มาประยุกต์ใช้โดยการให้แสงจากด้านข้างของสไลด์และปิดด้วยแผ่นอะคริลิกสีดำซึ่งทำให้เกิดการกระเจิงแสงซึ่งต่อยอดจากรุ่นต้นแบบโดยการออกแบบให้มีขนาดกระทัดรัดและใช้เส้นใยพลาสติกวัสดุในการขึ้นรูป 3 มิติทำให้น้ำหนักเบาพกพาได้สะดวกและสามารถนำไปใช้ในงานภาคสนามได้ เพิ่มปุ่มปรับความสว่างและเปลี่ยนระบบการปรับโฟกัสด้วยมือเป็นระบบการปรับด้วยมอเตอร์แทนซึ่งช่วยให้ผู้ใช้งานสามารถปรับโฟกัสได้อย่างมีประสิทธิภาพเพื่อให้ได้ภาพที่มีความคมชัดมากยิ่งขึ้นแต่มีต้นทุนการผลิตต่ำเปิดโอกาสให้บุคคลทั่วไปและหน่วยงานที่ขาดแคลนสามารถเข้าถึงได้

6. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.อัชฌา กอบวิทยา และทีมวิจัยจากเทคโนโลยีโฟโทนิกส์ ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ สำหรับการให้คำปรึกษาและอนุเคราะห์ต้นแบบกล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพาและเลนส์มิวอาย ขอขอบคุณอาจารย์โสภณ กล่อมเกลี้ยง และอาจารย์ วิภาวี ศรีหานนท์ ที่ให้คำแนะนำในการออกแบบส่วนฮาร์ดแวร์และอุปกรณ์รวมถึงแนะนำในการทำงานและช่วยเสนอแนวทางในการแก้ไขปัญหาต่างๆ และสนับสนุนโครงงานนี้ให้มีความคืบหน้า ขอขอบคุณโรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาภรณราชวิทยาลัย ลพบุรี ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำโครงงาน สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณสำหรับความพยายามของคณะอาจารย์ที่ปรึกษาและผู้ร่วมจัดทำทั้งหมด หากไม่ได้รับความอนุเคราะห์จากทุกท่าน ผลงานนี้คงจะไม่สำเร็จลุล่วงตามจุดประสงค์ในการพัฒนากล้องจุลทรรศน์ชนิดดาร์กฟิลด์ขนาดพกพาได้

เอกสารอ้างอิง

[1] Darkfield illumination. (2023). สืบค้นจาก https://www.olympus-lifescience.com/en/microscope-resource/primer/techniques/darkfield/

[2] Y.Sung, F.Campa, and Wei-Chuan Shih. (2017). Open-source do-it-yourself multi-color Fluorescent smartphone microscope, **Biomedical Optics Express**, **8**(11), 5075-5086.

[3] A.Narong, B.Phothiwut, W.Srihanon, and S.Klomkliang, “Autofocus web application for portable darkfield microscope,” **in Proceedings of the 7th TICC International Conference 2023**, Princess Chulabhorn Science High School Lopburi, Lobburi, 15120, Thailand, 2023, pp.1-9.