

การตรวจข้อสอบสุจิของมนุษย์จากภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์
โดยการมองเห็นด้วยเครื่อง

นางสาวณัฏฐ์จิรา ศิริธนพงศ์ภาค



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกลและระบบกระบวนการ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2567

DETECTION OF HUMAN SPERM FROM MICROSCOPIC IMAGES
USING MACHINE VISION

NATCHIRA SIRITANAPONGPAK



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Engineering in Mechanical and Process System Engineering
Suranaree University of Technology
Academic Year 2024

การตรวจจับสัจของมนุษย์จากภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์
โดยการมองเห็นด้วยเครื่อง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้หน่วยวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมาการสอบวิทยานิพนธ์


(ผศ. นพ.ทศนัย พิพัฒน์โชติธรรม)
ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร.วรรณนัช บุ่งสุต)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(ผศ. ดร.สมศักดิ์ ศิวดำรงพงศ์)
กรรมการ

(อาจารย์ ดร.จิตติมา วระกุล)
กรรมการ

(รศ. ดร.ยุพาพร รักสกุลพิวัฒน์)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการและ
ประกันคุณภาพ

(รศ. ดร.พรศิริ จงกล)
คณบดีสำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์

ณัฐจิรา ศิริธนพงศ์ภัก : การตรวจจับอสุจิของมนุษย์จากภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์โดยการมองเห็นด้วยเครื่อง (DETECTION OF HUMAN SPERM FROM MICROSCOPIC IMAGES USING MACHINE VISION)

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณวนัช บุ่งสุด, 82 หน้า.

คำสำคัญ: การล่องละเมิดทางเพศ/นิติเวชศาสตร์/อสุจิ/การประมวลผลภาพ/OpenCV

การพิสูจน์หลักฐานการล่องละเมิดทางเพศวิธีการตรวจสอบหาอสุจิเป็นวิธีที่สามารถยืนยันผลได้อย่างชัดเจน แต่มีการใช้เวลานานและอาจเกิดความเสี่ยงต่อความผิดพลาดได้ งานวิจัยนี้จึงนำการมองเห็นของคอมพิวเตอร์มาช่วยประมวลผลภาพในการวิเคราะห์หาอสุจิอย่างมีประสิทธิภาพ การประมวลผลภาพในปัจจุบันมีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นทางเทคโนโลยีอุตสาหกรรม ทางเกษตรกรรม และรวมถึงทางการแพทย์ด้วย ซึ่งงานวิจัยนี้้นำการประมวลผลภาพมาใช้ในการตรวจหาอสุจิโดยอัตโนมัติ เพื่อช่วยในการลดเวลากระบวนการตรวจหาอสุจิให้มีเวลาน้อยลง โดยนำเสนออัลกอริทึมที่ใช้การประมวลผลภาพด้วยคอมพิวเตอร์มาใช้ในการตรวจหาอสุจิโดยอัตโนมัติ อัลกอริทึมที่พัฒนาขึ้นเริ่มต้นด้วยการนำภาพไฟล์ JPEG. ความละเอียด 800x600 พิกเซล เข้าสู่ระบบ จากนั้นแปลงภาพเป็น Grayscale และ HSV เพื่อเลือกกระบบสีที่เหมาะสมสำหรับแยกหัวอสุจิออกจากพื้นหลังโดยใช้เทคนิค Threshold และ Binary image processing พร้อมปรับปรุงภาพด้วย Averaging filter และ Dilation ก่อนใช้ Canny edge detection และ Circle hough detection ในการระบุตำแหน่งหัวอสุจิ ผลลัพธ์ถูกบันทึกพร้อมข้อมูลจำนวนอสุจิและเวลาที่ใช้ในกระบวนการ การตรวจจับอสุจิของมนุษย์จากภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์โดยการมองเห็นด้วยเครื่อง แสดงความแม่นยำที่ 95.00%, ความจำเพาะที่ 94.12% และ ประสิทธิภาพของอัลกอริทึมที่ 96.97% เมื่อเปรียบเทียบกับผลการตรวจด้วยตาเปล่าของผู้เชี่ยวชาญทางนิติวิทยาศาสตร์ นอกจากนี้อัลกอริทึมยังใช้เวลาเฉลี่ยเพียง 4.070 วินาที ในการประมวลผลภาพ ซึ่งใช้เวลาน้อยกว่ากระบวนการของผู้เชี่ยวชาญ

สาขาวิชา วิศวกรรมการผลิต
ปีการศึกษา 2567

ลายมือชื่อนักศึกษา ณัฐจิรา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ดร.วรรณวนัช บุ่งสุด

NATCHIRA SIRITANAPONGPAK: DETECTION OF HUMAN SPERM FROM
MICROSCOPIC IMAGES USING MACHINE VISION.

ADVISOR: ASST.PROF.DR. WANWANUT BOONGSOOD, Ph.D. 82 PP.

Keyword: Sexual harassment/Forensic/Specimen/Image processing/OpenCV

The forensic examination of sexual assault cases often relies on sperm detection as a clear and reliable method for verification. However, this process is time-consuming and prone to errors. This study introduces the application of computer vision to enhance image analysis for sperm detection efficiently. Image processing is widely applied in fields such as industry, agriculture, and medicine. This research utilizes image processing for automatic sperm detection, significantly reducing the time required for identification. The proposed algorithm processes JPEG images (800x600 resolution) by converting them into Grayscale and HSV color spaces to optimize sperm head separation using Threshold and Binary image processing. Noise is reduced with an Averaging filter and Dilation, followed by Canny edge detection and Circle hough detection to pinpoint sperm head locations. Results include processed images with sperm counts and processing times. The algorithm demonstrated a high accuracy of 95.00%, recall of 94.12%, and average efficiency of 96.97% when compared to manual visual inspection by forensic experts. Additionally, the algorithm processes images in an average of 4.070 seconds, considerably faster than the traditional expert analysis.

School of Manufacturing Engineering
Academic Year 2023

Student's Signature _____
Advisor's Signature _____

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี ผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณครอบครัวที่คอยให้กำลังใจ สนับสนุน และคอยให้ความช่วยเหลือผู้มาเสนอจนสำเร็จการศึกษา

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณวนิช บุ่งสุต อาจารย์ที่ปรึกษา และ รวมไปถึง พญ.วรมน บุ่งสุต ถือว่าเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาอีกท่านหนึ่ง ที่ให้ข้อมูล คำแนะนำ วิทยานิพนธ์ คอยให้ คำแนะนำ ตรวจสอบ แก้ไข ชี้แนะแนวทาง ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของอาจารย์ทั้งสองท่าน ปรึกษา ที่ติดตามความก้าวหน้าของงานวิจัยนี้มาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณสาขานิเทศศาสตร์ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติที่ ให้การสนับสนุนข้อมูลในการทำวิจัยจนสามารถทำให้งานวิจัยนี้ได้สำเร็จลงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือ ให้คำชี้แนะผู้วิจัยมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ คณะกรรมการสอบทุกท่านที่กรุณาสละเวลาตรวจสอบและให้ข้อเสนอแนะที่ เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้

ณัฐจิรา ศิริธนพงศ์ภาค



สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
สารบัญรูป (ต่อ)	ฅ
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.4 สถานที่ทำงานวิจัยและเก็บข้อมูล	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2 ปรัชณวกรรมและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ความหมายของนิติวิทยาศาสตร์	4
2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับข้อพิสูจน์	5
2.3 การตรวจทางห้องปฏิบัติการในคดีทางเพศ	5
2.3.1 การตรวจทางเคมีและการตรวจทางอิมมูโนวิทยา	6
2.3.2 การป้ายเปื้อน (Wet smear)	6
2.3.3 การย้อมสี	6
2.4 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการประมวลผลภาพ	7
2.4.1 รูปภาพดิจิทัล (Digital image)	7
2.4.2 หลักการการประมวลผลภาพ	8
2.5 ทฤษฎีเกี่ยวกับการประมวลผลภาพ	10
2.5.1 การนำภาพเข้า (Image acquisition)	11
2.5.2 การแปลงข้อมูลรูปภาพทั้งขนาดและรูปร่าง (Image transformation)	11
2.5.3 การกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพ (Image filters)	11
2.5.4 ปรับปรุงคุณภาพของภาพ (Image enhancement)	12
2.5.5 การคืนสภาพของภาพ (Image restoration)	12

สารบัญ (ต่อ)

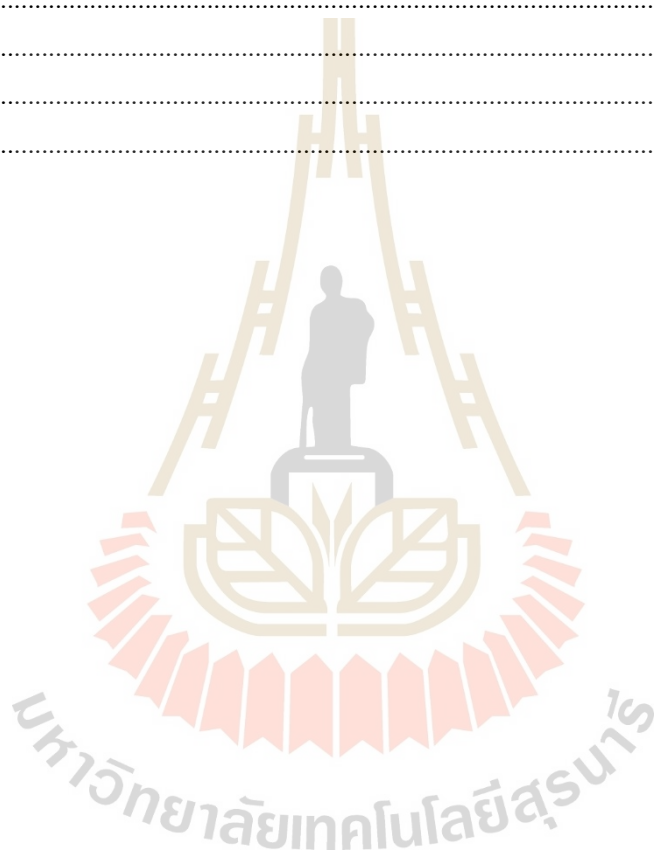
หน้า

2.5.6 การบีบอัดภาพ (Image compression).....	12
2.5.7 การแปลงค่าสี (Color conversion image).....	12
2.5.8 การดำเนินการทางสัณฐานวิทยา (Morphological operations image)	16
2.5.9 การหาขอบของวัตถุภายในภาพ (Edge Detection)	17
2.5.10 การวิเคราะห์รูปทรงเรขาคณิต (Shape analysis).....	19
2.5.11 Open computer vision.....	19
2.5.12 การประเมินผลการประมวลผลภาพ	20
2.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	21
3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	26
3.1 ศึกษาข้อมูลและวิเคราะห์เพื่อตรวจหาข้อสุจิในภาพ.....	27
3.2 วัสดุอุปกรณ์และการเตรียมชุดข้อมูล	27
3.3 การพัฒนาเทคนิคการประมวลผลภาพสำหรับชุดข้อมูล	29
3.3.1 การนำภาพเข้า (Image acquisition).....	29
3.3.2 การแปลงค่าสี (Color conversion image).....	30
3.3.3 ปรับปรุงรูปภาพโดยการกำจัดสัญญาณรบกวนออก (Image filters).....	35
3.3.4 การหาขอบภาพในวัตถุ (Edge Detection).....	36
3.3.5 บันทึกรูปภาพเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ.....	40
3.4 ประเมินผลการทดลอง.....	40
3.4.1 ประเมินเปรียบเทียบการตรวจหาข้อสุจิ “พบ” และ “ไม่พบ”	40
3.4.2 ประเมินเปรียบเทียบการนับจำนวนของข้อสุจิ.....	41
3.4.3 ประเมินเปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการตรวจข้อสุจิ.....	41
4 ผลการวิจัยและอภิปราย	43
4.1 ผลการวิเคราะห์การตรวจพบข้อสุจิ	43
4.2 ผลการเปรียบเทียบการนับจำนวนของข้อสุจิ	50
4.3 ผลการทดลองเปรียบเทียบเวลาของการตรวจหาข้อสุจิ.....	53
5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	57
5.1 สรุปผลการวิจัย	57
5.2 ข้อเสนอแนะ	57
รายการอ้างอิง.....	58
รายการอ้างอิง (ต่อ).....	59

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

รายการอ้างอิง (ต่อ).....	60
รายการอ้างอิง (ต่อ).....	61
รายการอ้างอิง (ต่อ).....	62
ภาคผนวก ก	63
ภาคผนวก ข	66
ภาคผนวก ค	73
ประวัติผู้เขียน	82



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างตาราง Confusion matrix	20
3.1 ตาราง Confusion matrix ตรวจสอบหาสุจิ.....	40
4.1 ภาพต้นฉบับและภาพแสดงผลจากการผ่านการทดลองของอัลกอริทึม	43
4.2 เปรียบเทียบการพบและไม่พบสุจิของผู้เชี่ยวชาญกับอัลกอริทึม	48
4.3 ตารางเปรียบเทียบรูปภาพในอยู่ในรูปของ Confusion matrix	49
4.4 คำนวณประสิทธิภาพของอัลกอริทึมตรวจสอบหาสุจิ	50
4.5 ตารางการนับของผู้เชี่ยวชาญกับอัลกอริทึม	50
4.6 ตารางเวลาการตรวจสอบหาสุจิของผู้เชี่ยวชาญ 3 คน	53
4.7 ตารางเวลาการตรวจสอบหาสุจิของอัลกอริทึม 3 ครั้ง	54

สารบัญรูป

รูปที่

หน้า

1.1 ตัวอย่างการย้อมสีอสุจิแบบ Papanicolaou stain (PAP stain)	2
1.2 ตัวอย่างการย้อมสีประเทศญี่ปุ่น แบบ SPERM HY-LITER™ Express	2
2.1 โครงสร้างทางกายภาพของสเปิร์ม	5
2.2 ตัวอย่างภาพที่ผ่านการใช้การกรองภาพในกระบวนการต่าง ๆ (Zong et al., 2015)	11
2.3 ตัวอย่างการคำนวณทิศทางแนวตั้งและแนวนอนของ Sobel edge detection	18
2.4 ตัวอย่างภาพการนำกระบวนการประมวลผลภาพมาใช้ (ก) ตรวจสอบะเร็ง (ข) การใช้วัดขนาด เส้นเลือดในดวงตา	22
2.5 กระบวนการตรวจหาหัวอสุจิของ (Shaker et al., 2016)	22
2.6 กระบวนการตรวจจับและแบ่งตัวของอสุจิของ (El-kenawy, Eid, & Ibrahim, 2021)	23
2.7 กระบวนการตรวจจับอสุจิของ (Ghasemian et al., 2015)	24
3.1 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย	26
3.2 ภาพตัวอย่างชุดข้อมูลที่พบอสุจิ และ เซลล์เยื่อหุ้มรังไข่ของคลอด	28
3.3 ภาพตัวอย่างชุดข้อมูลที่ไม่พบอสุจิ	28
3.4 การวิเคราะห์ภาพด้วยประมวลผลภาพเพื่อตรวจหาอสุจิ	29
3.5 ตัวอย่างภาพที่นำภาพเข้าสู่ระบบ	30
3.6 เปลี่ยนระบบสีจาก RGB ไปเป็นแบบ Grayscale	30
3.7 เปลี่ยนระบบสีจาก RGB ไปเป็นระบบสี HSV	31
3.8 ตัวอย่างการเลือกค่า Threshold พื้นที่ของหัวอสุจิ (ก) ภาพระบบเน็ตสี HSV (ข) ภาพขยาย เฉพาะของระบบสี HSV ของหัวอสุจิ (ค) ตัวอย่างการขยายเพื่อหาค่า Threshold ของหัวอสุจิ (ง) ตัวอย่างภาพลำดับตำแหน่งการเลื่อนมาหาค่า Threshold (จ) ตัวอย่างค่า Threshold (HSV)	32
3.9 ภาพที่เปลี่ยนจากระบบสี Grayscale ไปเป็น Binary	33
3.10 ภาพที่เปลี่ยนจากระบบสี HSV ไปเป็น Binary	33
3.11 ภาพที่เปลี่ยนจากระบบสี HSV ไปเป็น Binary	34
3.12 การ Adaptive thresholding	35
3.13 ตัวอย่าง (ก) Dilation ตามด้วย (ข) Averaging filter	36
3.14 ตัวอย่าง (ก) Averaging filter ตามด้วย (ข) Dilation	35
3.15 การแสดงผลภาพการหาอสุจิ	38
3.16 แสดงจำนวนของอสุจิและเวลาที่ใช้ของอัลกอริทึม	39
3.17 การดำเนินการทดสอบเพื่อเลือกใช้อัลกอริทึมในการตรวจหาอสุจิ	39

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่

หน้า

4.1 ผลคำนวณ Attribute Agreement Analysis ในการนับจำนวน	51
4.2 ผลคำนวณ Two-way ANOVA วิเคราะห์การนับจำนวนสุจิ.....	52
4.3 การคำนวณเปรียบเทียบเวลาระหว่างผู้เชี่ยวชาญ 3 คน.....	55
4.4 การคำนวณเปรียบเทียบเวลาระหว่างการตรวจหาอสุจิ 3 ครั้ง.....	55
4.5 การคำนวณเปรียบเทียบเวลาระหว่างผู้เชี่ยวชาญกับอัลกอริทึม.....	56



บทที่ 1

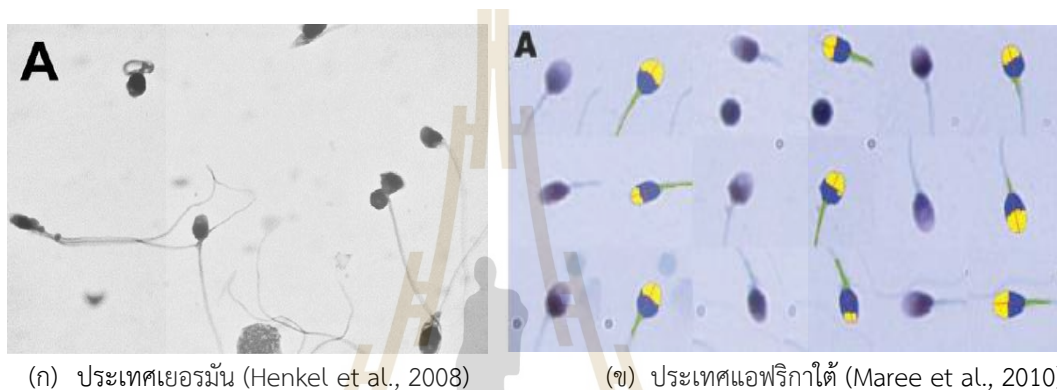
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

จากการศึกษาขององค์การอนามัยโลก (World health organization, WHO) พบว่าในปี 2564 ผู้หญิงประมาณร้อยละ 30 ของผู้หญิงทั่วโลกเคยตกเป็นเหยื่อของความรุนแรงทางเพศ (Ghasemian, Mirroshandel, Monji-Azad, Azarnia, and Zahiri, 2015; WHO, 2021) ประเทศไทยมีสถิติความรุนแรงต่อผู้หญิงและล่วงละเมิดสูงเป็นอันดับต้น ๆ ของโลก พบถูกระทำไม่น้อยกว่า 7 คนต่อวัน มีสถิติผู้หญิงที่แจ้งความร้องทุกข์ประมาณ 30,000 คนต่อปี (Thai PBS, 2565) การล่วงละเมิดทางเพศถือเป็นความผิดทางอาญา ความผิดฐานข่มขืนกระทำชำเรา (พินพา สุทะเงิน, 2565) ในทางกฎหมายความผิดเกี่ยวกับเพศเป็นความผิดทางอาญาซึ่งกฎหมายได้บัญญัติไว้ในประมวลกฎหมายอาญาลักษณะ 9 ความผิดเกี่ยวกับเพศตั้งแต่มาตรา 276-287/2 (ทวีป ศรีน่วม, 2567) เมื่อเกิดเหตุคดีกระทำชำเรา สิ่งที่สำคัญคือการตรวจหาหลักฐานเพื่อยืนยันการมีเพศสัมพันธ์ระหว่างผู้กระทำและผู้ถูกรกระทำโดยอาศัยการตรวจร่างกายจากแพทย์และการตรวจหาอสุจิเพื่อเป็นพยานหลักฐานยืนยันการมีเพศสัมพันธ์ คราบน้ำอสุจิถือว่าเป็นวัตถุพยานที่สำคัญอย่างยิ่งในคดีดังกล่าวเพื่อที่จะยืนยันการกระทำความผิด รวมทั้งสามารถใช้ในการระบุตัวบุคคลของผู้กระทำผิดอีกด้วย (Allery, Telmon, Miesusset, Blanc, and Rouge, 2001; อาภา อิมสิน, 2559)

โดยปัจจุบันการตรวจสอบแบบวิธีการมาตรฐานของประเทศไทยในการตรวจหาอสุจิจะผ่านกระบวนการเก็บหลักฐาน (สิ่งส่งตรวจ) ย้อมสี และใช้กล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจหาตัวอสุจิ ในขั้นตอนการตรวจสอบคราบของอสุจิจากสารคัดหลั่งเพื่อตรวจหาส่วนประกอบของน้ำอสุจิสามารถทำได้หลายวิธี เช่น Acid phosphatase, Prostate specific antigen (PSA), Semenogelin (Sg) (De lamirande, 2007; Martínez, Santiago, Alcalá, and Atienza, 2015; ปภาณ สุทธิ ประสิทธิ์, 2567) และสามารถตรวจหาตัวอสุจิโดยตรงจากสิ่งส่งตรวจ ซึ่งการตรวจพบตัวอสุจิถือว่าเป็นการยืนยัน (Gold standard) ที่เป็นที่ยอมรับในปัจจุบัน(Maree, Du Plessis, Menkveld, and Van der Horst, Maree, Du Plessis, Menkveld, & Van der Horst, 2010; Wasserstrom et al., 2013) อย่างไรก็ตาม สิ่งสำคัญในการตรวจและยืนยันผลให้ได้ข้อเท็จจริงนั้นขึ้นอยู่กับความเชี่ยวชาญโดยตรง ดังนั้นในการตรวจหาอสุจิโดยการย้อมสีเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการยืนยันหลักฐานจากการมองเห็นด้วยตาเปล่า ซึ่งการย้อมสีในแต่ละประเทศก็จะมีแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาพเศรษฐกิจสังคมและงบประมาณของประเทศนั้นๆ จากการศึกษาการย้อมสีตัวอสุจิที่มีหลากหลายวิธี เช่น Hematoxylin and Eosin(H&E), DAPI (4',6- diamidino-2- phenylindole), Christmas tree (Oppitz test)(Deshmukh et al., 2020; Watanabe, and Akutsu, 2020; Shaker, Monadjemi, and Naghsh-Nilchi, 2016) ตัวอย่างการใช้ในการย้อมสีตัวอสุจิในแต่ละประเทศ เช่น เยอรมัน (Henkel et al., 2008), แอฟริกาใต้ (Maree et al., 2010) เป็นการย้อมแบบ Papanicolaou stain: PAP stain (รูปที่ 1.1) และ ในทางเอเชียอย่างประเทศญี่ปุ่น (Takamura, Watanabe, and Akutsu,

2017) เป็นการย้อมแบบ SPERM HY-LITER™ Express (รูปที่ 1.2) จากการศึกษาประเทศที่กล่าวข้างต้น รูปที่ 1.1 และ รูปที่ 1.2 สามารถมองเห็นตัวอสุจิได้อย่างชัดเจน แต่ในรูปที่ 1.2 อาจพบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่อสุจิรวมเข้ามาบ้าง เมื่อผ่านกระบวนการย้อมสีตัวอย่างจะถูกนำไปตรวจสอบผ่านกล้องจุลทรรศน์โดยการตรวจผ่านจากการส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์และยืนยันผลด้วยผู้เชี่ยวชาญซึ่งในกระบวนการนี้เองจำเป็นที่จะต้องให้ผู้เชี่ยวชาญในการตรวจสอบและวิเคราะห์ผลเพื่อตรวจสอบด้วยตาเปล่า มากไปกว่านั้น กระบวนการดังกล่าวในประเทศไทยมีจำนวนผู้เชี่ยวชาญและบุคลากรที่มีจำนวนจำกัด ความล่าช้าจะส่งผลโดยตรงต่อรูปคดีและสภาพจิตใจของครอบครัวผู้ถูกกระทำและผู้ถูกกระทำ



รูปที่ 1.1 ตัวอย่างการย้อมสีอสุจิแบบ Papanicolaou stain (PAP stain)



รูปที่ 1.2 ตัวอย่างการย้อมสีประเทศญี่ปุ่น แบบ SPERM HY-LITER™ Express

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาระบบอัลกอริทึมเพื่อช่วยในการตรวจหาอสุจิจากภาพถ่ายที่ผ่านโดยกล้องจุลทรรศน์ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการตรวจพิสูจน์หลักฐานในการบอกรายละเอียดของภาพถ่ายโดยจะบอกตำแหน่ง และจำนวนของอสุจิ ด้วยวิธีการการประมวลผลภาพ (Image processing) ซึ่งในงานวิจัยนี้ให้ความสำคัญกับการตรวจหาอสุจิจากภาพถ่ายเป็นอย่างมาก เพื่อให้ได้การตรวจพบอสุจิได้อย่างถูกต้องและมีประสิทธิภาพ รวมไปถึงเพื่อช่วยลดเวลาภาระงานในส่วนของผู้เชี่ยวชาญทางนิติวิทยาศาสตร์ด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

สำหรับงานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในการพัฒนาอัลกอริทึมโดยใช้การมองเห็นจากภาพถ่ายและประมวลผลผ่านคอมพิวเตอร์ ในการระบุตำแหน่งของอสุจิจากสิ่งส่งตรวจ ซึ่งมีวัตถุประสงค์หลักดังนี้

1.2.1 เพื่อพัฒนาอัลกอริทึมสำหรับการตรวจหาอสุจิ นับจำนวน และระบุตำแหน่งของตัวอสุจิได้

1.2.2 เพื่อช่วยลดเวลาทางนิติวิทยาศาสตร์ ในส่วนของการตรวจหาอสุจิ

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

เพื่อสามารถกำหนดเป้าหมายและวิธีการแก้ปัญหาอย่างเป็นระบบโดยที่ขอบเขตของงานวิจัยนี้ประกอบด้วย

1.3.1 ศึกษาการตรวจหาอสุจิจากชุดภาพของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ

1.3.2 ศึกษาเทคนิคการเตรียมสิ่งส่งตรวจและการย้อมสีอสุจิ

1.3.3 ประยุกต์ใช้ทฤษฎีการประมวลผลภาพ และเปรียบเทียบผลกับผู้เชี่ยวชาญทางนิติวิทยาศาสตร์จำนวน 3 ท่าน

1.3.4 อัลกอริทึมสามารถตรวจหาอสุจิจากภาพถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่ได้จากสิ่งส่งตรวจได้

1.3.5 ชุดข้อมูลภาพที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์จำนวน 20 ภาพ (ขนาดขยายที่ 400 เท่า)

1.4 สถานที่ทำงานวิจัยและเก็บข้อมูล

1.4.1 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1.4.2 โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ (นิติเวชศาสตร์)

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 สามารถพัฒนาอัลกอริทึมเพื่อช่วยการมองเห็นตัวอสุจิด้วยการใช้คอมพิวเตอร์ได้

1.5.2 มีส่วนช่วยในการลดเวลาในการตรวจสอบหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ได้

บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรมและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาวิจัยเรื่อง การพัฒนาอัลกอริทึมช่วยตรวจจับข้อสุจิของมนุษย์จากภาพที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาค้นคว้า เอกสาร ทฤษฎี และงานวิจัยอื่น ๆ ที่มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้อง และมีแนวทางในการกำหนดการศึกษาของงานวิจัย เพื่อสามารถดำเนินการศึกษาได้สมบูรณ์ โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น ส่วน ดังต่อไปนี้

- 2.1 ความหมายของนิติวิทยาศาสตร์
- 2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับข้อสุจิ
- 2.3 การตรวจทางห้องปฏิบัติการในคดีทางเพศ
- 2.4 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการประมวลผลภาพ
- 2.5 ทฤษฎีเกี่ยวกับการประมวลผลภาพ
- 2.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความหมายของนิติวิทยาศาสตร์

นิติวิทยาศาสตร์ (Forensic Science) เป็น “วิทยาศาสตร์ผสม” ที่นำวิทยาศาสตร์มาใช้เพื่อ ความยุติธรรมด้วยการประยุกต์ใช้กับการตอบคำถามต่อหน้าศาล (Houck, 2015) คำว่านิติ วิทยาศาสตร์ มาจาก นิติ เป็นเรื่องในส่วนของกฎหมาย กับคำว่า วิทยาศาสตร์ ที่มาโดยการศึกษา ค้นคว้า อ้างอิง วิจัย ดังนั้น “นิติวิทยาศาสตร์” เป็นการนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์และความรู้ทางการ แพทย์มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หลักฐานที่เกี่ยวข้องกับการกระทำผิดกฎหมาย ซึ่งในบางครั้งอาจ เข้าใจได้ว่า นิติวิทยาศาสตร์กับนิติเวชศาสตร์นั้นทำหน้าที่คล้ายกัน แต่แท้ที่จริงแล้วมีบทบาทที่ต่างกัน งานทางด้านนิติเวชเป็นบทบาทของแพทย์จะนำความรู้ในสาขาที่เรียนมาช่วยค้นหาเพื่อพิสูจน์ความ จริงในกระบวนการยุติธรรมหรือความจริงในทางคดี ซึ่งไม่ได้มีเพียงแพทย์เท่านั้นยังมีบุคลากรด้านอื่น ๆ เข้ามาช่วยให้ความเห็นในบางกรณีด้วย เช่น ทันตแพทย์ เภสัชกร เทคนิคการแพทย์และบุคลากร ในอาชีพอื่นๆที่เกี่ยวข้อง สำหรับในประเทศไทยการนำวิทยาศาสตร์เข้ามาเกี่ยวข้องทำให้การสืบสวนมี ความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น และช่วยลดความผิดพลาดในการตัดสินคดี โดยรวมไปถึงการตรวจสอบ หลักฐานต่าง ๆ เช่น รอยนิ้วมือ เส้นผม เลือด และรวมไปถึงการวิเคราะห์ข้อมูลทางดิจิทัล เป็นต้น (แสง บุญเฉลิมวิภาส, 2556)

หน้าที่ที่พบทั่วไปของนิติวิทยาศาสตร์ มีดังนี้

- 1) การตรวจสถานที่เกิดเหตุ และถ่ายภาพ (Crime scene investigation and forensic)
- 2) การตรวจลายนิ้วมือ (Fingerprint examination)
- 3) การตรวจเอกสาร (Forensic document examination)
- 4) การตรวจอาวุธปืน (Forensic ballistics)
- 5) การตรวจทางเคมีและฟิสิกส์ (Forensic chemistry and physics)

6) การตรวจทางชีววิทยาและดีเอ็นเอ (Biological trace evidence)

7) การตรวจทางนิติเวช (Forensic medicine)

พยานหลักฐานต่าง ๆ ทางนิติวิทยาศาสตร์ เป็นหลักฐานที่สำคัญที่เกิดขึ้นด้วยการวิเคราะห์ผ่านกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ และความรู้ในด้านนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งในทางกฎหมาย ถือว่าเป็นการนำความรู้มาวิเคราะห์เพื่อให้ศาลวินิจฉัยข้อเท็จจริงในคดีว่าจำเลยมีความผิดหรือไม่ ซึ่งก็นับว่าเป็นบทบาทที่สำคัญอย่างยิ่งเพื่อสนับสนุนข้อเท็จจริงในเรื่องของการดำเนินคดีทางกฎหมายและนำผู้กระทำผิดมาลงโทษตามกฎหมาย (Miahi, Mirroshandel, & Nasr, 2022)

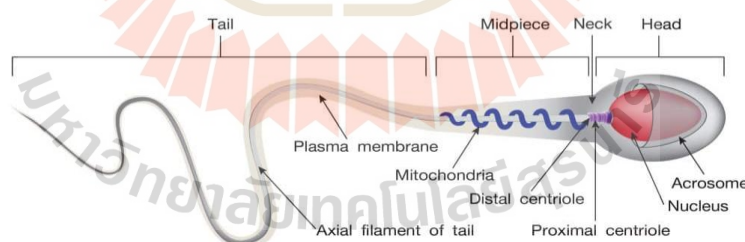
2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับอสุจิ

อสุจิ (Sperm) คือเซลล์สืบพันธุ์ของเพศชาย มีความยาวประมาณ 0.05 มิลลิเมตร มีรูปร่างทรงไข่ ส่วนหัวมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 ถึง 3.5 μm และมีโครโมโซมครบอยู่ที่ส่วนหัวประมาณ 40 – 70 เพอร์เซ็นต์ หัวของอสุจิประกอบไปด้วยโครงสร้าง 3 ส่วน ดังนี้ (รูปที่ 2.1)

1) ส่วนหัว (Head) ประกอบไปด้วยนิวเคลียส (Nucleus) มีโครงสร้าง Acrosome คลุมทางด้านหน้าของส่วนหัวสเปิร์ม มีลักษณะเป็นผนังชั้นเดียว (Single membrane sac) ภายในบรรจุเอนไซม์สำคัญต่อกระบวนการปฏิสนธิ

2) ส่วนกลาง หรือ ลำตัว (Midpiece) ส่วนใหญ่ประกอบไปด้วย Mitochondria วางตัวลักษณะเป็นเกลียวตลอดลำตัว มีหน้าที่สร้างพลังงาน (Adenosine triphosphate: ATP) ใช้ในการเคลื่อนไหวของสเปิร์ม

3) ส่วนหาง (Tail) โครงสร้างประกอบไปด้วย Flagellum (ลักษณะเป็นเส้น) มี Axoneme หรือ Microtubules ทำหน้าที่เคลื่อนที่ของตัวสเปิร์ม



(เสมอ ถาน้อย, 2561)

รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางกายภาคของสเปิร์ม

2.3 การตรวจทางห้องปฏิบัติการในคดีทางเพศ

เมื่อมีการก่ออาชญากรรมเกิดการหาตัวผู้กระทำผิดมาลงโทษตามกระบวนการยุติธรรมนั้น เป็นเรื่องที่สำคัญเป็นอย่างยิ่ง โดยเมื่อเกิดเหตุขึ้นตอนแรกพนักงานสอบสวนไปยังสถานที่เกิดเหตุทำการเก็บรวบรวมข้อมูลหลักฐาน ส่งตัวผู้เสียหายไปตรวจร่างกาย และเก็บวัตถุพยาน จากนั้นจึงส่งวัตถุพยานไปตรวจยังห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจพิสูจน์ การตรวจทางนิติวิทยาศาสตร์จึงเข้ามามีบทบาทที่สำคัญในการพิสูจน์หลักฐานต่าง ๆ ให้ได้ผลที่ถูกต้องอย่างแท้จริงตามหลักทางวิทยาศาสตร์ ใน

งานวิจัยนี้จะเน้นการใช้ตัวอย่างที่มาจากวัตถุพยาน ดังนั้นเมื่อเกิดคดีขึ้นกระทำการตรวจทางนิติวิทยาศาสตร์เบื้องต้นจะเป็นการตรวจทางเคมีซึ่งเป็นการตรวจหาส่วนประกอบของน้ำอสุจิ (Semen) และ วิธี Confirmatory test คือการตรวจยืนยันหาตัวอสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์ ในการตรวจจากวัตถุพยานทางนิติเวชเพื่อตรวจหาผู้กระทำความผิดมาดำเนินคดีมีขั้นตอนเบื้องต้นดังนี้ การเก็บวัตถุพยานมี 2 รูปแบบ คือ

- 1) วัตถุพยานที่ไม่มีคราบ เช่น เสื้อผ้า เส้นผม เศษวัตถุพยานต่าง ๆ เป็นต้น
- 2) วัตถุพยานที่มีคราบ เช่น คราบเลือด คราบอสุจิที่บริเวณเกิดเหตุ หรือบริเวณที่ติดตามร่างกายของผู้เสียหายสามารถทำการเก็บได้โดยการใช้ไม้พันสำลี (Swabs) ชุบ 0.9% NSS เช็ดคราบดังกล่าวออกมา แล้วทำการฝังให้แห้ง จากนั้นห่อใส่กระดาษซอง และจัดเก็บใส่ซองกระดาษเพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการต่อไป (อานนท์ จำลองกุล, 2560; พรเพชร ปัญญาภิยะกุล และคณะ, 2557) หลังจากได้มีการเก็บวัตถุพยานตัวอย่างส่งตรวจจากที่ได้กล่าวข้างต้นแล้ว ในขั้นตอนต่อไปจะนำตัวอย่างการส่งตรวจเพื่อหาตัวอสุจิ โดยจะแบ่งวิธีการตรวจได้ 3 แบบดังนี้

2.3.1 การตรวจทางเคมีและการตรวจทางอิมมูโนวิทยา

การตรวจทางเคมีและการตรวจทางอิมมูโนวิทยา เป็นการตรวจเพื่อหาส่วน

- 1) ประกอบของน้ำอสุจิ (Semen) และถือเป็นการตรวจเบื้องต้น (Presumptive test or preliminary screening test) การตรวจตรวจหาส่วนประกอบของน้ำอสุจิมียหลายวิธีการตรวจที่นิยมในประเทศไทยในปัจจุบันมีดังนี้

- 1) การตรวจหาสารสังกะสี (Zinc)
- 2) การทดสอบหาเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส (Enzyme acid phosphatase)
- 3) การตรวจหาสาร Prostate specific antigen
- 4) การตรวจหาสาร Semenogelin (Sg, SEMG)
- 5) การตรวจอื่น ๆ ที่ไม่เป็นที่นิยม เช่น การตรวจแบบ Free choline เป็นต้น (ปภาณ สุทธิประสิทธิ์, 2567)

2.3.2 การป้ายเปียก (Wet smear)

เป็นการตรวจหาตัวอสุจิทางกล้องจุลทรรศน์โดยการดูสด สามารถทำได้โดยนำสิ่งส่งตรวจที่เก็บมา นำมา หยดหรือป้ายไปบน Slide และหยดน้ำเกลือ (NSS) ลงบนสิ่งส่งตรวจ 1-2 หยด ปิดด้วยแผ่นแก้วบาง (Cover slip) ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจหาตัวอสุจิ (เพียงขวัญ จารเขียน, 2557) หากพบตัวอสุจิจะตรวจดูว่าตัวอสุจิยังเคลื่อนที่ได้หรือไม่ ข้อดีของการตรวจวิธีนี้คือ ไม่ยุ่งยาก ทำได้ทันที และสามารถสังเกตการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิได้ ส่วนข้อจำกัดคือ ต้องทำทันทีอาศัยสิ่งส่งตรวจจำนวนค่อนข้างมาก และ เป็นของเหลวเท่านั้น มีโอกาสเกิด False positive และ False negative สูง การตรวจหาตัวอสุจิ จึงต้องย้อมสี เพื่อยืนยันเสมอ

2.3.3 การย้อมสี

หากเป็นสิ่งส่งตรวจจากช่องคลอด สามารถป้ายแผ่นสไลด์แล้วย้อมสีได้เลย หากเป็นไม้พัน (Swab) ที่เช็ดคราบจากบริเวณต่างๆ จะต้องผ่านการสกัดสิ่งส่งตรวจออกจากไม้พันสำลีก่อน แล้วจึงนำไปสู่ขั้นตอนการย้อมสี การย้อมสีสามารถย้อมได้ตั้งแต่สีทั่วไป เช่น Wright's stain, Gram's stain หรือ Methylene blue แต่จะสังเกตตัวอสุจิได้ยาก เนื่องจากสีของตัวอสุจิกับ

ของพื้นหลังไม่แตกต่างกัน หรือ อาจย้อมสีด้วย Harris' Hematoxylin and Eosin (H&E) เป็นวิธีที่เห็นตัวอสุจิได้ง่ายกว่า (Fischer, Jacobson, Rose, & Zeller, 2008; Goodwin, Linacre, & Hadi, 2010) และ วิธีที่นิยมใช้ย้อมอีกวิธีหนึ่งก็คือการย้อมสีแบบ Christmas tree staining หรือ Oppitz test ในการตรวจสอบและระบุอสุจิบนสไลด์เพื่อตรวจด้วยตาเปล่าผ่านกล้องจุลทรรศน์ โดยเฉพาะกรณีตัวอย่างการถูกเก็บรักษาที่ใช้เวลานาน (Hymus, Egan, & Tay, 2022) ดังนั้นเมื่อมองเห็นตัวอสุจิแล้วผู้เชี่ยวชาญจะทำการบันทึกภาพ เพื่อตรวจยืนยันด้วยตาอีกครั้ง ซึ่งในงานวิจัยนี้ชุดข้อมูลที่ใช้วิจัยก็เป็นภาพถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่ผ่านกระบวนการย้อมสีแบบ Oppitz test

รายละเอียดขั้นตอนการได้มาซึ่งภาพด้วยการย้อมสีแบบ Oppitz test มีดังนี้

- 1) การเตรียมสไลด์ หยดตัวอย่างที่ต้องการย้อมลงบนสไลด์แก้วและปล่อยให้แห้งเพื่อรักษาสภาพเซลล์
- 2) จุ่มสไลด์ในสาร Fixation เช่น แอลกอฮอล์ เพื่อให้เซลล์ยึดติดกับสไลด์
- 3) ย้อมสี Nuclear fast red เป็นสีแดงที่ใช้ย้อมนิวเคลียสของเซลล์ อสุจิจะมีสีแดง และ ตามด้วย Picroindigocarmine (PIC) เป็นกระบวนการที่ทำให้ส่วนของหัวและหางของอสุจิเปลี่ยนเป็นสีเขียว
- 4) ทำการล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่นเบา ๆ แล้วทำให้สไลด์แห้ง
- 5) หลังจากการทำให้แห้งเรียบร้อยแล้วจะเป็นการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อตรวจหาอสุจิ

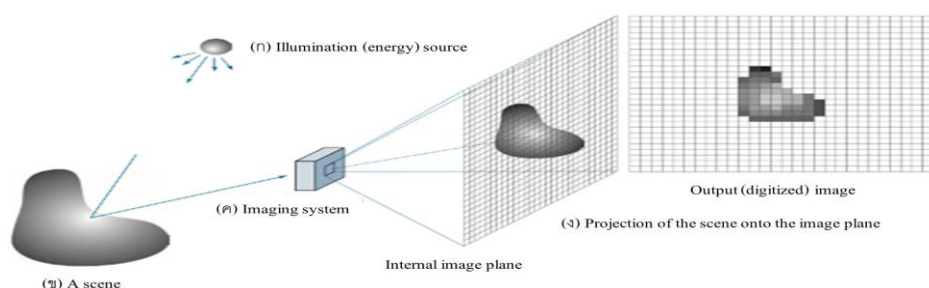
การย้อมสีแบบนี้จะทำให้มองเห็นโครงสร้างของอสุจิได้ชัดเจน ช่วยให้สามารถตรวจวิเคราะห์ทางนิติวิทยาศาสตร์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.4 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการประมวลผลภาพ

การมองเห็นของมนุษย์และกลไกการรับภาพเป็นสิ่งสำคัญและซับซ้อน ด้วยการทำให้ข้อมูลภาพที่ได้รับเข้ามาทำการบันทึกไว้เป็นความทรงจำอย่างง่าย เช่น จดจำสี จดจำวัตถุ จดจำใบหน้า และส่วนที่ซับซ้อน ได้แก่ การตัดสินใจ การวางแผน เป็นต้น ดังนั้นการมองเห็นข้อมูลภาพเป็นส่วนจำเป็นในการจดจำ สามารถรับรู้ได้จากสื่อต่าง ๆ ได้ด้วย ผ่านหนังสือพิมพ์ จากการดูภาพยนตร์ หรือข่าวสารต่าง ๆ ที่น่าสนใจเกี่ยวกับการมองเห็นหรือเปรียบได้ว่าเป็นข้อมูลภาพ

2.4.1 รูปภาพดิจิทัล (Digital image)

รูปภาพดิจิทัล คือ การแสดงผลของภาพจากภาพจริงแปลงเป็นรูปแบบภาพดิจิทัลผ่านระบบการสร้างภาพ (Imaging system) และการประมวลผลภาพดิจิทัล (Digitized image) ดังรูปที่ 2.2 ในการแสดงผลของรูปแบบดิจิทัลสามารถจัดเก็บ ประมวลผล และ แสดงผลบนอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ เช่น คอมพิวเตอร์ โทรศัพท์ หรือกล้องดิจิทัล ภาพดิจิทัลถูกแทนที่ด้วยจุด จุดต่าง ๆ เรียกว่า พิกเซล (Pixel) (Gonzalez and Woods, 2008)



(Hassan, Ema, and Islam, 2017)

รูปที่ 2.2 ตัวอย่างภาพ Digital image acquisition (ก) Illumination (energy) source. (ข) A scene. (ค) Imaging system. และ (ง) Projection of the scene onto the image plane.

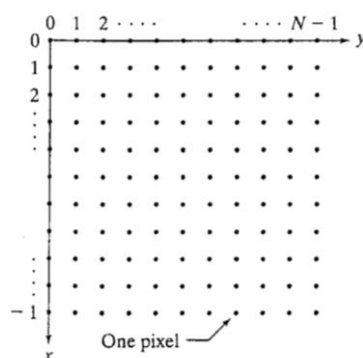
2.4.2 หลักการการประมวลผลภาพ

การประมวลผลภาพ หมายถึง กระบวนการจัดการ และวิเคราะห์รูปภาพให้อยู่ในรูปแบบดิจิทัล หรือ ข้อมูลเชิงตัวเลข โดยวัตถุประสงค์ของการประมวลผลภาพแบ่งได้สองประเภท คือ การปรับปรุงคุณภาพของภาพเพื่อให้มนุษย์มองเห็นและเพื่อให้คอมพิวเตอร์ตีความหมายจากรูปภาพได้ การประมวลผลภาพ มีหลักการหลัก ๆ ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ขั้นตอนการประมวลผลภาพ

รูปภาพดิจิทัล การแสดงออกบนจอภาพของรูปภาพดิจิทัล คือฟังก์ชันที่แสดงออกมาแบบมิติเป็นอาร์เรย์ (Array) หรือแสดงแบบเชิงตัวเลขเมตริกซ์ (Matrix) ภาพดิจิทัลจะแสดงในรูปแบบสองมิติ (ดังรูปที่ 2.4 และ รูปที่ 2.5) เป็นฟังก์ชัน $f(x,y)$ หรือ (x,y) โดยจะมีขนาดความกว้างความสูงของภาพอยู่บนแนวแกน X และ Y หรือ เรียกว่าตำแหน่ง Coordinate ในระนาบสองมิติ (Spatial Coordinate) และส่วนจุดใดๆที่อยู่บนระนาบของ XY จะเรียกว่า ความเข้มแสง (Intensity) ของจุดภาพพิกเซล รูปภาพดิจิทัลแบบเมตริกซ์จะมีขนาดแทนค่าเป็น $M \times N$ (M จำนวนแถว, N จำนวนคอลัมน์)

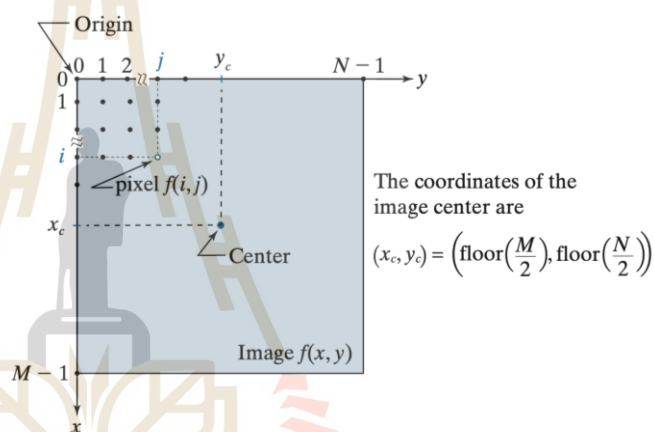


(Gonzalez & Woods, 2002)

รูปที่ 2.4 ฟังก์ชันที่แสดงออกมาแบบสองมิติ หรือตำแหน่งของพิกเซล

FIGURE 2.19

Coordinate convention used to represent digital images. Because coordinate values are integers, there is a one-to-one correspondence between x and y and the rows (r) and columns (c) of a matrix.



(Young et al., 2004)

รูปที่ 2.5 ตำแหน่งของพิกัด (Coordinate) ในระนาบสองมิติ

$$f(x, y) = \begin{bmatrix} f(0, 0) & f(0, 1) & \cdots & f(0, N-1) \\ f(1, 0) & f(1, 1) & \cdots & f(1, N-1) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ f(M-1, 0) & f(M-1, 1) & \cdots & f(M-1, N-1) \end{bmatrix} \quad (2.1)$$

ฟังก์ชันสองมิติของรูปแบบ $f(x, y)$ ค่า f ที่พิกัดเชิงพื้นที่ (x, y) คือปริมาณสเกลาร์ซึ่งความหมายทางกายภาพถูกกำหนดโดยแหล่งที่มาของภาพ และมีค่าเป็นสัดส่วนกับพลังงานที่แผ่โดยแหล่งกำเนิดทางกายภาพ (เช่น คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า) ดังนั้น ค่า $f(x, y)$ จะต้องไม่เป็นลบ (-) ดังสมการที่ 2.1 ซึ่งในความเข้มของแต่ละพิกเซลจะมีความเข้มที่ต่างกัน โดยในแต่ละค่าของความเข้มจะกำหนดขอบเขตได้ด้วยสมการที่ 2.2

$$0 \leq f(x, y) < \infty \quad (2.2)$$

$f(x, y)$ แทนค่าความเข้มของพิกเซลในภาพดิจิทัลที่ตำแหน่ง (x, y)

เมื่อ $f(x, y) = 0$ พิกเซลที่ตำแหน่ง (x, y) มีค่าความเข้มเท่ากับ 0 หมายความว่า พื้นที่ในภาพเป็นสีดำหรือไม่มีแสงเลย, $f(x, y) > 0$ พิกเซลมีค่าความเข้มที่มีแสงตกกระทบ และ $f(x, y) < \infty$ ค่าความเข้มไม่สามารถเป็นค่าติดลบหรือไม่มีที่สิ้นสุดในบริบทของภาพจริง (หรือมีค่าแสงสว่างเพิ่มขึ้นไปเรื่อย ๆ)

ฟังก์ชัน $f(x, y)$ มีลักษณะพิเศษด้วยสององค์ประกอบดังนี้

- 1) ปริมาณความสว่างจากแหล่งกำเนิดที่ตกกระทบในฉาก
- 2) ปริมาณความสว่างที่สะท้อนจากวัตถุในฉากอย่างเหมาะสม

สิ่งเหล่านี้เรียกว่าส่วนประกอบของค่าความเข้มของแหล่งกำเนิดแสง (Illumination) และการสะท้อนแสง (Reflectance) ของวัตถุในภาพ เขียนแทนด้วย $i(x, y)$ และ $r(x, y)$ ตามลำดับ ฟังก์ชันทั้งสองรวมกันเพื่อสร้าง $f(x, y)$:

$$f(x, y) = i(x, y)r(x, y) \quad (2.3)$$

เมื่อ
$$0 \leq i(x, y) < \infty \quad (2.4)$$

และ
$$0 \leq r(x, y) \leq 1 \quad (2.5)$$

ดังนั้นการสะท้อนกลับจะล้อมรอบด้วย 0 (การดูดกลืนแสงทั้งหมด) ดังสมการที่ 2.4 จะเป็นค่าบวกเริ่มต้นที่ 0 และเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามแหล่งกำเนิดแสงจริง และ ค่าสะท้อนแสงที่อยู่ในช่วง 0 ถึง 1 ดังสมการที่ 2.5 $r(x, y)$ เมื่อมีค่าเท่ากับ 0 แสดงว่าวัตถุนั้นมีสีดำไม่มีการสะท้อนแสง และ ถ้าหากมีค่าเท่ากับ 1 แสดงว่ามีการสะท้อนแสงทั้งหมด วัตถุจะมีสีขาว ในการนำไปใช้ถูกกำหนดโดยคุณลักษณะของวัตถุที่ถูกถ่ายภาพ ภาพเหล่านี้ยังใช้ได้กับภาพที่เกิดจากการถ่ายทอดความสว่างผ่านตัวกลาง เช่น เอ็กซ์เรย์ต่าง ๆ ในกรณีนี้ จะจัดการกับการส่งผ่านแทนฟังก์ชันการสะท้อนแสง แต่ขีดจำกัดจะเหมือนกับในสมการที่ 2.5 และฟังก์ชันรูปภาพที่สร้างขึ้นจะถูกจำลองเป็นผลคูณในสมการที่ 2.3 (Young et al., 2004) ภาพที่ได้หลังจากการแปลงภาพจะเป็นภาพ “เชิงดิจิทัล” แต่ละตำแหน่งจะมีค่าแสงที่แตกต่างกันตามที่คอมพิวเตอร์สามารถคำนวณได้ ตามปกติฟังก์ชัน $f(x, y)$ เป็นปริมาณสเกลาร์ ในกรณีที่ภาพเป็น ขาว-ดำ (Binary) หรือภาพโทนเทา (Grayscale) และ เป็นปริมาณเวกเตอร์ในกรณีที่ค่าความเข้มแสง ตำแหน่งใด ๆ มีมากกว่าหนึ่งองค์ประกอบ เช่น ภาพสี จะมี 3 องค์ประกอบ คือ สีแดง สีเขียว และ สีน้ำเงิน (RGB)

2.5 ทฤษฎีเกี่ยวกับการประมวลผลภาพ

กระบวนการประมวลผล (Image processing) หมายถึง ขั้นตอนกระบวนการจัดการและวิเคราะห์รูปภาพให้อยู่ในรูปแบบดิจิทัลโดยการใช้คอมพิวเตอร์มาประมวลผลต่างๆ เพื่อให้ได้ภาพที่มีคุณสมบัติตามความต้องการทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ ซึ่งมีหลากหลายวิธีการ อย่างเช่น การแปลงข้อมูลรูปภาพทั้งขนาดและรูปร่าง (Image transformation), การกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพ (Image filters), ปรับปรุงคุณภาพของภาพ (Image enhancement), การคืนสภาพของภาพ (Image restoration), การบีบอัดภาพ (Image compression), การตัดแบ่งภาพวัตถุ (Image

segmentation) เป็นต้น ผลลัพธ์ของรูปภาพหรือการแสดงผลรูปภาพ (Output) หมายถึง ผลที่ได้จากการประมวลผลต่างๆ ผลลัพธ์ที่ได้จะขึ้นอยู่กับการใช้เทคนิคและวิธีการจากข้างต้น ที่เลือกนำมาใช้ โดยจะใช้คอมพิวเตอร์เป็นการประมวลผลทั้งหมด (Gonzalez and Woods, 2018) ในขั้นตอนการประมวลผลภาพมีรายละเอียดเบื้องต้น ดังต่อไปนี้

2.5.1 การนำภาพเข้า (Image acquisition)

การนำภาพเข้า คือ ขั้นตอนแรกในการประมวลผลภาพจะเป็นการรับภาพเข้าสู่ระบบก่อนการประมวลผล

2.5.2 การแปลงข้อมูลรูปภาพทั้งขนาดและรูปร่าง (Image transformation)

การแปลงข้อมูลภาพมีความจำเป็นในการประมวลผลอย่างมากเช่น ใช้ในการปรับตำแหน่งภาพหรือเลื่อนภาพ (Translation) ให้อยู่ในตำแหน่งที่ต้องการ การหมุนภาพ (Rotation) เพื่อให้ได้ภาพตามทิศทางเหมาะสม การย่อหรือขยายขนาดภาพ (Scaling) เพื่อทำการย่อหรือขยายโดยสามารถระบุจำนวนเท่าของภาพได้ และ การบิดภาพ (Shearing) ใช้เพื่อทำการบิดภาพให้มีรูปทรงหรือทิศทางต่างไปจากเดิม ซึ่งสามารถระบุให้บิดภาพได้ทั้งในแนวแกน x และ y

2.5.3 การกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพ (Image filters)

การกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพ คือ การนำภาพไปผ่านตัวกรองสัญญาณเพื่อให้ได้ภาพผลลัพธ์ออกมา ภาพผลลัพธ์ที่ได้จะมีคุณสมบัติแตกต่างจากภาพเริ่มต้น การกรองข้อมูลภาพคือการเน้น (Enhance) หรือลดทอน (Attenuate) เพื่อให้ได้ภาพที่มีคุณสมบัติตามต้องการ มีการใช้การกรองรูปภาพมาช่วย ยกตัวอย่างเช่น รูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 ตัวอย่างภาพที่ผ่านการใช้การกรองภาพในกระบวนการต่าง ๆ (Zong et al., 2015)

(ก) ภาพต้นฉบับ (ข) Averaging filter (ค) Median filter (ง) Gaussian filter

- 1) Averaging filter (รูปที่ 2.6ข) เป็นการประมวลผลภาพที่ใช้ในการเบลอภาพและลดรายละเอียดของภาพ โดยทำให้พื้นที่พิกเซลใกล้เคียงมีค่าเฉลี่ยในความคมชัดเท่า ๆ กัน
- 2) Median filter (รูปที่ 2.6ค) เป็นเทคนิคการประมวลผลภาพที่ลดการกระจายตัวได้ดีในพื้นที่ที่มีจุดสีดำและสีขาวอยู่ในภาพ
- 3) Gaussian filter (รูปที่ 2.6ง) เป็นเทคนิคการประมวลผลภาพที่ใช้ในการเบลอภาพ (Blurring) และลดรายละเอียดของภาพ แต่มีการรักษารูปร่างของภาพได้ดีกว่า Averaging filter

2.5.4 ปรับปรุงคุณภาพของภาพ (Image enhancement)

เป็นการปรับปรุงภาพให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นเป็นกระบวนการในการแปลงข้อมูลภาพตัวเลขเพื่อที่จะสร้างภาพที่เน้นรายละเอียดที่ต้องการหรือปรับพิสัยของโทนแสงที่ต้องการ

1) Histogram equalization เป็นการปรับปรุงความคมชัดของภาพโดยการกระจายความเข้มของภาพให้ทั่วทั้งภาพ

2) Sharpening filters เป็นการเพิ่มความคมชัดและรายละเอียดของภาพ

2.5.5 การคืนสภาพของภาพ (Image restoration)

การทำให้ภาพคืนสู่สภาพเดิมหรือการปรับปรุงภาพให้เหมาะสมกับการมองเห็น เป็นเทคนิคที่ใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของภาพที่ถูกทำลายหรือมีข้อบกพร่อง เช่น มีสัญญาณรบกวน (Noise) หรือภาพเบลอ (Blur) โดยเป้าหมายเพื่อทำให้การปรับปรุงภาพออกมาให้ใกล้เคียงภาพตั้งต้นมากที่สุด

2.5.6 การบีบอัดภาพ (Image compression)

1) การบีบอัดแบบไม่มีการสูญเสียรายละเอียดข้อมูล (Lossless compression) เป็นวิธีที่ค่าความสว่างของแต่ละจุดภาพจะยังคงอยู่เหมือนเดิมทุกประการ หรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่าของแต่ละจุดภาพ ซึ่งการบีบอัดวิธีนี้จะอาศัยเทคนิคการจัดเก็บข้อมูลเชิงตัวเลขในการลดขนาดของข้อมูล เช่น ไฟล์นามสกุล PNG, TIFF และ ZIP เป็นต้น

2) การบีบอัดแบบสูญเสียรายละเอียดข้อมูล (Lossy compression) วิธีการนี้จะมีการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างของจุดภาพนั้นหมายความว่า วิธีการนี้ไม่เหมาะสมสำหรับข้อมูลภาพที่ต้องการมีการจำแนกข้อมูลแบบ (Classification) เหมาะแก่การโอนถ่ายข้อมูลที่ไม่เน้นคุณภาพสูง เช่น ไฟล์นามสกุล JPEG, PDF และ MP3 เป็นต้น

2.5.7 การแปลงค่าสี (Color conversion image)

การแปลงค่าของสีสามารถทำได้ด้วยเครื่องมือและไลบรารีต่าง ๆ ในการประมวลผลภาพ เช่น OpenCV, PIL (Python Image Library) และ MATLAB เป็นกระบวนการเปลี่ยนภาพจากระบบสีหนึ่งไปยังอีกระบบสีหนึ่ง ดังรูปที่ 2.7 แสดงตัวอย่างการเปลี่ยนแปลงของระบบสี



(ก) ภาพสี RGB

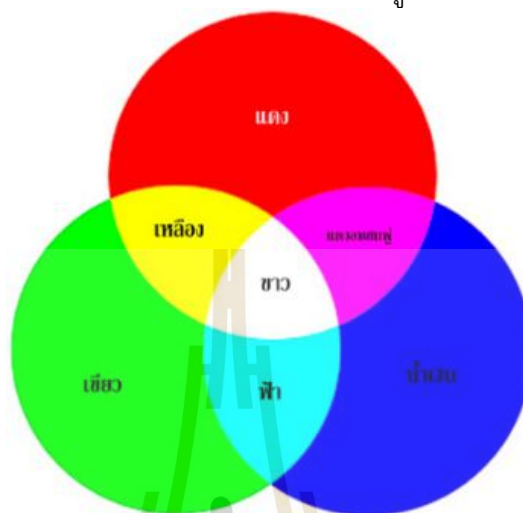
(ข) ภาพสี Grayscale

(ค) ภาพขาวดำ Binary

(Gonzalez and Woods, 2017)

รูปที่ 2.7 ภาพตัวอย่างแสดงการเปลี่ยนแปลงของระบบสี (ก) RGB ,(ข) Grayscale และ (ค) Binary

1) RGB (รูปที่ 2.7ก) ระบบสีที่รวมกันของสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน โดยรวมตัวกันแบบ Additive เมื่อมีการรวมกันของ RGB ก็จะสามารถมองเห็นเป็นภาพสีตามที่เห็นกันปกติได้ แต่ละสีจะไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับว่าในแต่ละจุดนั้นๆมีการเรียงแสงและการตั้งค่าจอ และสภาพแวดล้อมของจอแสดงผล ซึ่งปกติก็จะแตกต่างกันไปตามรูปที่ 2.8 แบบจำลองสี RGB



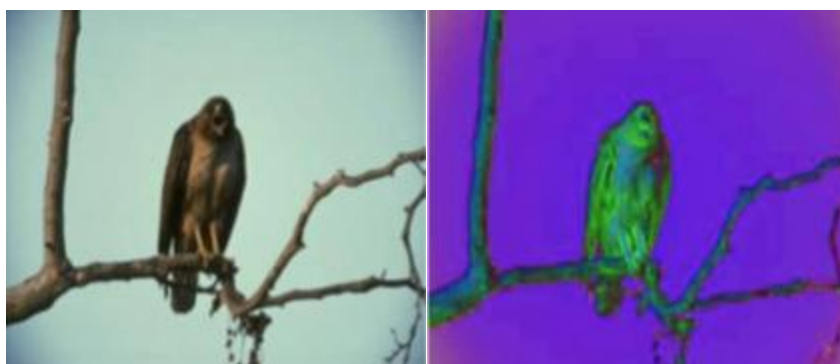
รูปที่ 2.8 แบบจำลองสี RGB

2) Grayscale (รูปที่ 2.7ข) เป็นการปรับภาพที่เป็นภาพโทนขาวดำ โดยจะคำนวณความเข้มของสีที่สอดคล้องกับภาพขาวดำจากระดับความเข้มของสีดำ 255 ระดับ รวมกับสีขาวอีกหนึ่งสีในโหมด จะเท่ากับ 256 (รูปที่ 2.9)



รูปที่ 2.9 ระดับสีของ Grayscale 256 ระดับ

3) Binary เป็นการเปลี่ยนระบบสีที่เป็นขาวดำให้ไปเป็นระบบสีที่มีเฉพาะสีขาวและดำ โดยการกำหนดค่าความเข้มของพิกเซลที่เกินหรือต่ำกว่าค่าที่กำหนด ในการเปลี่ยนระบบสีของรูปภาพไม่ได้มีเพียงแต่ระบบสี Grayscale และ Binary เท่านั้น ยังมีระบบสีที่น่าสนใจก็คือ HSV (ดังรูปที่ 2.10ข) และ CMYK (ดังรูปที่ 2.13ข)



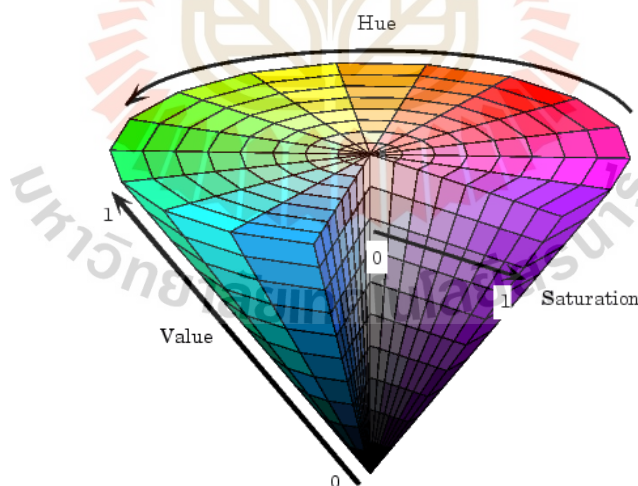
(ก) ภาพสี RGB

(ข) ภาพสี HSV

(Hassan et al., 2017)

รูปที่ 2.10 ภาพตัวอย่างแสดงการเปลี่ยนแปลงของระบบสีจาก (ก) ภาพสี RGB ไปเป็น (ข) HSV

4) HSV Hue, Saturation, Value (รูปที่ 2.11) มีค่าของสีหลัก คือ แดง เหลือง เขียว น้ำเงิน หรือ ม่วง เป็นต้น Saturation เป็นความอิ่มตัวของ Hue รูปที่ 2.11 เป็นการแสดงแบบจำลองของสี HSV Value คือค่าความสว่างของสี โดย Value ที่มีค่าสูงสุดจะเป็นสีขาว จะเป็นสีที่สว่างที่สุดของ Hue และ Saturation ส่วนค่าที่ต่ำที่สุดของ Value ก็คือ สีดำ การประมวลผลภาพในระบบสี HSV เป็นแบบจำลองสีที่สร้างขึ้นเพื่อเป็นทางเลือกภาพที่จะแยกความเข้มของสีและความอิ่มตัวของสีได้อย่างง่าย เหมาะสำหรับงานที่ต้องวิเคราะห์เฉดสี เช่น การตรวจจับวัตถุในภาพ ดังรูปภาพที่ 2.10 เป็นตัวอย่างการตรวจจับวัตถุที่สนใจในการเลือกปรับสีให้เหมาะสมกับงานเฉพาะ (Hassan et al., 2017)



รูปที่ 2.11 แบบจำลองของสี HSV

5) CMYK (รูปที่ 2.12) มักจะใช้ในการพิมพ์ภาพ โดยใช้สีหลักสี่สีตามที่กล่าว คือ Cyan (สีฟ้าอมเขียว), Magenta (แดงอมม่วง), Yellow (เหลือง) และ Key/Black (สีดำ) มารวมตัวกัน เพื่อสร้างสีที่หลากหลาย เป็นสีในการลดแสงที่สะท้อนบนกระดาษสีขาว หรือการเพิ่มสีเข้าไปเพื่อให้สีขาวมีการโฟกัสน้อยลงนั่นเอง



รูปที่ 2.12 แบบจำลองของสี CMYK

ยกตัวอย่างเช่น รูปที่ 2.13(ข) เป็นการปรับระบบสีจาก RGB ไปเป็น CMYK การทำงานของระบบ CMYK ใช้ในการสร้างสีลดแสงสะท้อนจากพื้นผิวและเพิ่มสีดำเพื่อเพิ่มความเข้มและความชัดเจน เหมาะสำหรับการประมวลผลประเภทงานพิมพ์ เช่น โปสเตอร์ หนังสือ และภาพถ่าย



(ก) ภาพต้นฉบับระบบสี RGB ของจุลินทรีย์

(ข) ภาพสี CMYK

(Anilkumar, Manoj, and Sagi, 2018)

รูปที่ 2.13 ภาพตัวอย่างแสดงการเปลี่ยนแปลงของระบบสีจาก (ก) ภาพสี RGB ไปเป็น (ข) CMYK

6) Thresholding เป็นเทคนิคในการแปลงสีภาพ จากระดับสีเทาหรือภาพที่มีหลายระดับของความเข้มแสงให้กลายเป็นภาพ Binary ภาพตัวอย่าง Binary อยู่ในรูปที่ 2.7ค โดยการแปลงสีภาพแบบ Thresholding จะเป็นการกำหนดค่าเกณฑ์ หรือเรียกว่า Threshold value ค่าหนึ่ง ซึ่งจะทำให้แยกพิกเซลที่มีค่าความเข้มที่สูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้ออกจากค่าความเข้มต่ำกว่า โดยการ Thresholding มีอยู่ 3 แบบ หลัก ๆ ก็คือ

1. Global thresholding เป็นการเลือกใช้ค่าเกณฑ์หนึ่งค่า เช่น 128 ในภาพที่มีความเข้มระหว่าง 0 ถึง 255 (ตัวอย่างระดับสี รูปที่ 2.9) โดยพิกเซลที่มีค่าความเข้มตั้งแต่ 128 ขึ้นไป จะถูกแทนที่ด้วยสีขาว (1) และ พิกเซลที่มีค่าความเข้มต่ำกว่าจะถูกแทนที่ด้วยสีดำ (0)

สูตร Global thresholding สำหรับทุกพิกเซลในภาพ $f(x, y)$:

$$f(x, y) = 1; \text{ หากความเข้ม } I(x, y) > T \quad (2.6)$$

$$f(x, y) = 0; \text{ หากความเข้ม } I(x, y) \leq T \quad (2.7)$$

$I(x, y)$ คือ ค่าความเข้มของพิกเซลนั้น ๆ

T (Threshold value) คือ ค่า Threshold ที่เลือกไว้เป็นเกณฑ์

2. Adaptive thresholding เป็นการคำนวณค่าเกณฑ์ Threshold สำหรับพิกเซล โดยอ้างอิงจากค่าความเข้มของพิกเซลในบริเวณข้าง ๆ หรือ บริเวณเล็ก ๆ (Neighborhood) ในภาพ โดยจะกำหนดค่าที่แตกต่างกันจาก Global thresholding ที่มีเพียงค่าเดียว มีการคำนวณดังนี้:

$$T(x, y) = \text{mean}(I(x - r : x + r, y - r : y + r)) - C \quad (2.8)$$

โดย $I(x, y)$ คือ ค่าความเข้มของพิกเซล

r คือ ขนาดของพื้นที่รอบ ๆ พิกเซลที่ใช้ในการคำนวณค่าเกณฑ์

C คือ ค่าที่ถูกลบจากค่าเกณฑ์ เพื่อปรับแต่งให้ผลลัพธ์เหมาะสม

วิธีนี้เหมาะกับภาพที่มีความไม่สม่ำเสมอของแสง เช่น ภาพที่มีเงาหรือความเข้มในแต่ละส่วนของภาพไม่เท่ากันและสามารถประมวลผลภาพที่มีความซับซ้อนและรายละเอียดสูงได้ดีกว่า Global thresholding

3. Otsu's thresholding วิธีนี้เป็นวิธีการแบ่งกลุ่ม Foreground (วัตถุ) และ Background (พื้นหลัง) ด้วยการคำนวณจำนวนพิกเซลในระดับสี (0-255) เพื่อสร้างกราฟ Histogram ที่แสดงการกระจายตัวของความเข้มแสงของภาพ จะเป็นการใช้ค่า Threshold ที่ดีที่สุดในระดับสีที่มีเกณฑ์ผลรวมภายในกลุ่มน้อยที่สุดและทำให้ความแปรปรวนระหว่างกลุ่มมากที่สุดเป็นวิธีที่ใช้งานได้ง่าย เหมาะกับภาพที่มีพื้นหลังและวัตถุมีการแยกแยะอย่างชัดเจนและเป็นวิธีคำนวณเองโดยอัตโนมัติ

2.5.8 การดำเนินการทางสัณฐานวิทยา (Morphological operations image)

เป็นการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของภาพหรือรูปแบบของวัตถุภายในภาพ มักจะใช้กับภาพที่เป็นแบบไบนารี (Binary) หรือภาพสีเทา (Grayscale) เหมาะแก่การใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของภาพ ใช้เพื่อการตรวจจับวัตถุ การแบ่งส่วนภาพและวิเคราะห์รูปแบบได้ การดำเนินการทางสัณฐานวิทยาหลัก ๆ แล้วเป็นการเพื่เน้นหรือแก้ไขคุณสมบัติทางรูปร่างของวัตถุภายในภาพ (Soille, 2013) ตัวอย่างเช่น

1) การขยาย (Dilation) เป็นการเติมพิกเซลให้กับขอบของวัตถุ เพิ่มขนาดของวัตถุภายในภาพ การขยายมักใช้การเติมตามช่องว่างเล็กๆภายในวัตถุหรือเชื่อมต่อที่อยู่ใกล้กัน ช่วยในการเชื่อมต่อส่วนที่หายไปในวัตถุ เติมช่องว่างหรือหลุมในภาพทำให้ขอบของวัตถุดูหนาขึ้น

2) การกัดเซาะ (Erosion) เป็นสิ่งที่ตรงกันข้ามกับ Dilation ก็คือการลบพิกเซลออกจากขอบของวัตถุหรือลดขนาดของวัตถุภายในภาพ ใช้ในการลบจุดหรือวัตถุขนาดเล็กที่ไม่ต้องการ มักจะช่วยกำจัดสัญญาณรบกวนเล็ก ๆ หรือแยกวัตถุที่เชื่อมกันออกได้

3) การเปิด (Opening) เป็นการ Erosion ตามด้วย Dilation ใช้เพื่อกำจัดสัญญาณรบกวนเล็ก ๆ ในขณะที่รักษารูปร่างของวัตถุใหญ่ ๆ

4) การปิด (Closing) การ Dilation ตามด้วย Erosion ใช้ในการเติมช่องว่างเล็ก ๆ ภายในวัตถุและเชื่อมต่อวัตถุที่อยู่ใกล้กัน

5) การตีกรอบ (Boundary Extraction) การนำขอบของวัตถุภายในภาพออกมา โดยใช้ Erosion และลบผลลัพธ์ออกจากต้นฉบับ สามารถแยกและวิเคราะห์ขอบของวัตถุในภาพได้ เป็นขั้นตอนสำคัญในการทำ Segmentation และ การตรวจจับวัตถุ สามารถปรับใช้ได้หลายสถานการณ์

2.5.9 การหาขอบของวัตถุภายในภาพ (Edge Detection)

การตรวจจับขอบของวัตถุภายในภาพ (Edge Detection) อาศัยหลักการหาความชันของความเข้มสี (Intensity) จากบริเวณขอบจะมีการเปลี่ยนแปลงของสีอย่างชัดเจนและรวดเร็ว เช่น ขอบของวัตถุในภาพ การตรวจจับขอบช่วยระบุบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงของความเข้มของพิกเซลได้อย่างชัดเจน ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญในกระบวนการประมวลผลและวิเคราะห์ภาพ (Szeliski and Richard, 2022)

เนื่องจากขอบเป็นข้อมูลพื้นฐานที่ช่วยให้สามารถตรวจจับวัตถุและแบ่งสัดส่วนของวัตถุในภาพได้ เทคนิคที่นิยมใช้ในการหาขอบของวัตถุเป็นการหาความชัน (Gradient) เพื่อเป็นการเปลี่ยนแปลงของความเข้มของพิกเซลในภาพซึ่งสามารถหาขอบของวัตถุ Gradient (G) ในภาพวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าความสว่างหรือสีของพิกเซลในทิศทางต่างๆ โดยทั่วไปจะพิจารณาถึงการเปลี่ยนแปลงในทิศทางแนวนอนและแนวตั้ง เป็นเวกเตอร์ที่ประกอบด้วยส่วนประกอบของการเปลี่ยนแปลงในทิศทาง G_x (แนวนอน) และ G_y (แนวตั้ง) การคำนวณประกอบด้วย

Gradient vector:

$$\text{Gradient vector} = \begin{bmatrix} G_x \\ G_y \end{bmatrix} \quad (2.9)$$

ขนาด (Gradient magnitude, G):

$$G = \sqrt{G_x^2 + G_y^2} \quad (2.10)$$

ทิศทางของกราเดียนต์ (Gradient direction, θ):

$$\theta = \tan^{-1} \left(\frac{G_y}{G_x} \right) \quad (2.11)$$

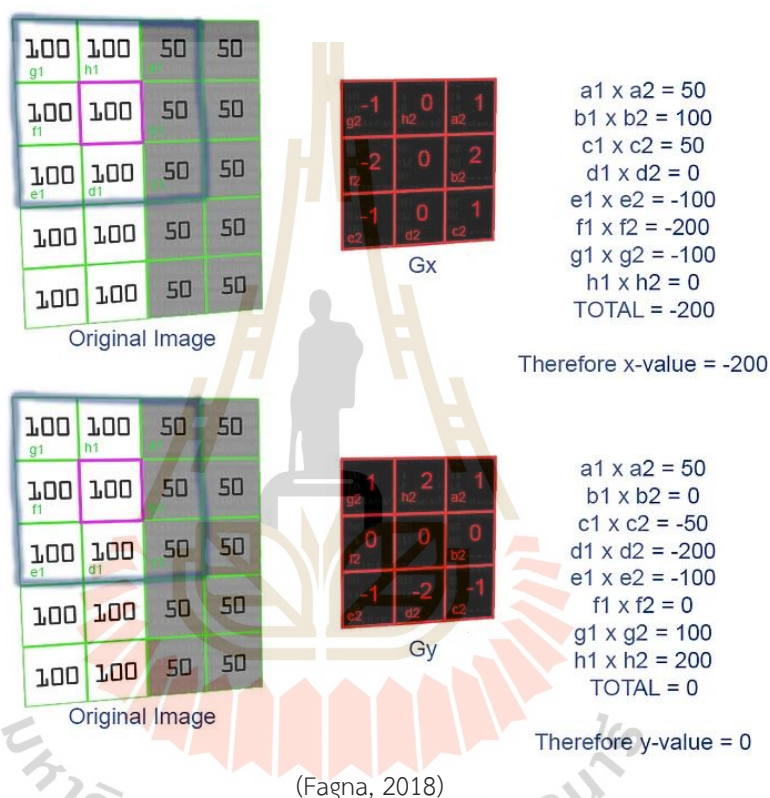
1) การตรวจจับขอบแบบโซเบล (Sobel edge detection) เป็นตัวกรองเชิงความถี่สูง (High-pass filter) ออกแบบมาเพื่อเน้นการเปลี่ยนความเข้มในทิศทางแนวนอนและแนวตั้ง โดยคำนวณอนุพันธ์ (Derivative) ของภาพในสองทิศทาง จะเน้นขอบของวัตถุในภาพโดยการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงของความเข้มของสีหรือความสว่าง

ทิศทางแนวนอน (G_x):

$$G_x = \begin{bmatrix} -1 & 0 & +1 \\ -2 & 0 & +2 \\ -1 & +2 & +1 \end{bmatrix} \quad (2.12)$$

ทิศทางแนวตั้ง (G_y):

$$G_y = \begin{bmatrix} -1 & -2 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ +1 & +2 & +1 \end{bmatrix} \quad (2.13)$$



รูปที่ 2.14 ตัวอย่างการคำนวณทิศทางแนวตั้งและแนวนอนของ Sobel edge detection

2) การตรวจจับขอบแบบแคนนี่ (Canny edge detection) เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงและเป็นที่นิยมในการตรวจจับขอบ สามารถตรวจจับขอบที่มีความละเอียดและลดสัญญาณรบกวนได้ดี เทคนิคนี้ถูกพัฒนาโดย John F. Canny ในปี 1986 และประกอบด้วยหลายขั้นตอนดังนี้

1. Gaussian filtering หรือ Gaussian blur ใช้เพื่อเบลอภาพเล็กน้อย เพื่อลดสัญญาณรบกวนในภาพ แต่อาจจะทำให้การตรวจจับขอบมีความแม่นยำที่น้อยลง รูปภาพตัวอย่างรูปที่ 2.6ง
2. Gradient calculation หรือ Gradient intensity เป็นการคำนวณการเปลี่ยนแปลงของความเข้มของพิกเซลในภาพทั้งแนวนอนและแนวตั้ง โดยใช้ Sobel หรืออื่นๆ เพื่อหาขนาดและทิศทางกราฟิเดียนต์ ตามสมการที่ 2.12 และ สมการที่ 2.13

3. Non-maximum suppression เป็นการตัดค่าที่มากที่สุดที่ไม่ใช่ขอบออก เปรียบเทียบด้วยขนาดของกราดิเอนต์ในทิศทางที่มีค่าใกล้เคียงกับพิกเซลข้างเคียง ถ้าขนาดของกราดิเอนต์ไม่ใช่ค่าที่มากที่สุดจะถูกตั้งค่าเป็น 0

4. Double thresholding ขั้นตอนนี้ใช้การตั้งค่าเกณฑ์สองค่า คือ High threshold และ Low threshold เพื่อแยกแยะระหว่างขอบที่ค่าความเข้มที่สูงและขอบที่มีค่าความเข้มต่ำ ขอบที่เข้มกว่าจะถูกกำหนดให้เป็นขอบหลัก ส่วนขอบที่ต่ำกว่าจะถูกพิจารณาว่าอาจเป็นขอบหรือสัญญาณรบกวน

2.5.10 การวิเคราะห์รูปร่างเรขาคณิต (Shape analysis)

การหาขอบแบบ Hough transform อาศัยหลักการแปลงภาพจาก Image space (พื้นที่ของภาพ) ไปยัง Parameter space (พื้นที่พารามิเตอร์) โดยแทนที่การตรวจจ็ับรูปร่างในภาพ ด้วยการคำนวณวิธีทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ในการตรวจจ็ับรูปร่างเรขาคณิตต่าง ๆ เช่น เส้นตรงหรือวงกลม ยกตัวอย่างเช่นการตรวจจ็ับหาวงกลม (Circle hough transform) โดยมีพารามิเตอร์ที่ใช้ 3 ตัวคือ

1. พิกัดศูนย์กลางวงกลมในภาพ (a, b)
2. รัศมีของวงกลม (r)

$$(x - a)^2 + (y - b)^2 = r^2 \quad (2.14)$$

Hough transform เป็นเทคนิคที่ใช้ในการตรวจหาขอบ และช่วยในการแยกส่วนของวัตถุในภาพดิจิทัลแม้ว่ารูปร่างเหล่านั้นจะถูกแสดงเป็นพิกเซลที่ไม่ต่อเนื่องหรือถูกสัญญาณรบกวนรบกวน ก็สามารถช่วยในการแยกส่วนของวัตถุในภาพได้ การตรวจหาวงกลมในภาพจะคำนวณได้โดย สมการที่ 2.14 จากนั้นจะเป็นการเพิ่มคะแนนให้กับพิกัดศูนย์กลางที่เป็นไปได้ เมื่อการตรวจหาและให้คะแนนสูงสุดในพื้นที่ของภาพจะแสดงตำแหน่งที่มีโอกาสที่เป็นศูนย์กลางของวงกลมที่ต้องการตรวจจ็ับมากที่สุดและค่าที่คำนวณได้จะถูกนำมาคำนวณเป็นรัศมีเพื่อหาวงกลมที่เหมาะสมได้ (Davies and E Roy, 2012)

2.5.11 Open computer vision

Open computer vision (OpenCV) เป็นไลบรารีซอฟต์แวร์ที่ใช้ในการประมวลผลภาพและวิดีโอ รวมถึงการทำงานเกี่ยวกับการมองเห็นของเครื่องคอมพิวเตอร์ (Computer vision) และเป็นการเรียนรู้ของเครื่อง (Machine learning) ถูกพัฒนาโดย Intel และปัจจุบันมีการสนับสนุนโดยชุมชนโอเพนซอร์ส (Opensource) มีฟังก์ชันที่หลากหลาย เช่น การตรวจจ็ับและรู้จำวัตถุ การประมวลผลภาพพื้นฐาน เช่น การปรับความสว่าง การเปลี่ยนขนาดภาพ การตรวจจ็ับใบหน้าและการรู้จำใบหน้า และการจัดการกับวิดีโอและการประมวลผลวิดีโอ เป็นต้น

OpenCV เป็นไลบรารีที่เขียนด้วยภาษา C++ แต่มีการสร้าง Bindings ให้สามารถใช้งานได้ ในหลายภาษา เช่น Python, Java และ C#. นอกจากนี้ยังสามารถทำงานได้บนหลายแพลตฟอร์ม เช่น Windows, Linux และ macOS

2.5.12 การประเมินผลการประมวลผลภาพ

การประเมินผลลัพธ์ของการประมวลผลภาพสามารถทำได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยเน้นการวัดความแม่นยำ ประสิทธิภาพ และความคล้ายคลึงกับภาพต้นฉบับ โดยใช้ตัวชี้วัดต่างๆ เช่น Precision, Recall, Specificity และ F1 Score รวมถึงการวัดเวลาประมวลผล ซึ่งแต่ละตัวชี้วัดสามารถใช้ประเมินความเหมาะสมของอัลกอริทึมในแต่ละสถานการณ์ โดยมีการประเมินการประมวลผลภาพ ดังต่อไปนี้

1. การประเมินเชิงคุณภาพ (Qualitative evaluation)

1) การตรวจสอบด้วยสายตา เป็นวิธีการที่ใช้กันทั่วไป โดยให้ผู้เชี่ยวชาญตรวจสอบภาพหลังจากการประมวลผลด้วยสายตา เพื่อดูว่าภาพที่ได้มีความชัดเจน หรือสามารถแยกแยะวัตถุที่ต้องการได้หรือไม่

2) การเปรียบเทียบกับภาพต้นฉบับ เป็นการตรวจสอบว่าภาพที่ผ่านการประมวลผลภาพผ่านอัลกอริทึมที่มีความเหมือนและแตกต่างอย่างไร

2. การประเมินเชิงปริมาณ (Quantitative Evaluation)

1) การประเมินเชิงปริมาณ คือ วิธีการวัดหรือประเมินผลลัพธ์โดยใช้ข้อมูลที่เป็นตัวเลขหรือสถิติ เพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่สามารถวัดได้อย่างแม่นยำและเปรียบเทียบได้ ในการประมวลผลภาพก็มีการใช้ Confusion matrix เพื่อมาประเมินประสิทธิภาพของการจำแนกประเภท โดยจะแสดงผลการทำนายของโมเดลเทียบกับผลจริง ในทางการแพทย์ก็มีการนำมาใช้ในประเมินผล เช่น การตรวจจับโรคมะเร็งเต้านมในภาพแมมโมแกรม (Litjens, Kooi et al., 2017) และ การวัดผลการแบ่งส่วนของเนื้อเยื่อ (Ronneberger, Fischer and Brox, 2015)

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างตาราง Confusion matrix

n=(จำนวนข้อมูลทั้งหมด)		การทำนายของโมเดล	
		เป็นผลบวก (Positive)	เป็นผลลบ (Negative)
ผลจริง	เป็นผลบวก (Positive)	(True Positive)	(False negative)
	เป็นผลลบ (Negative)	(False positive)	(True negative)

True positive (TP): จำนวนการทำนายที่ถูกต้องระบุว่าเป็นบวก (Positive) และเป็นบวกจริง

True negative (TN): จำนวนการทำนายที่ถูกต้องระบุว่าเป็นลบ (Negative) และเป็นลบจริง

False positive (FP): จำนวนการทำนายที่ถูกระบุว่าเป็นบวก แต่จริง ๆ แล้วเป็นลบ (Type I error)

False negative (FN): จำนวนการทำนายที่ถูกระบุว่าเป็นลบ แต่จริง ๆ แล้วเป็นบวก (Type II error)

การประเมินประสิทธิภาพของการทำนาย ดังนี้

ความแม่นยำ (Accuracy) เป็นการวัดว่าระบบสามารถระบุวัตถุที่ต้องการได้ถูกต้อง มักใช้ในการประเมินโมเดลที่ทำการตรวจจับหรือจำแนกประเภทของวัตถุในภาพ

$$Accuracy = \frac{TP+TN}{TP+TN+FP+FN} \quad (2.15)$$

ความไว (Sensitivity หรือ Recall) วัดความสามารถในการตรวจจับวัตถุที่ต้องการทั้งหมดที่มี

$$Recall = \frac{TP}{TP+FN} \quad (2.16)$$

ความจำเพาะ (Specificity) วัดความสามารถในการหลีกเลี่ยงการตรวจจับที่ผิดพลาด

$$Specificity = \frac{TN}{TN+FP} \quad (2.17)$$

ความถูกต้อง (Precision) วัดอัตราส่วนของการตรวจจับที่ถูกต้องเมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจจับทั้งหมดในชุดข้อมูล

$$Precision = \frac{TP}{TP+FP} \quad (2.18)$$

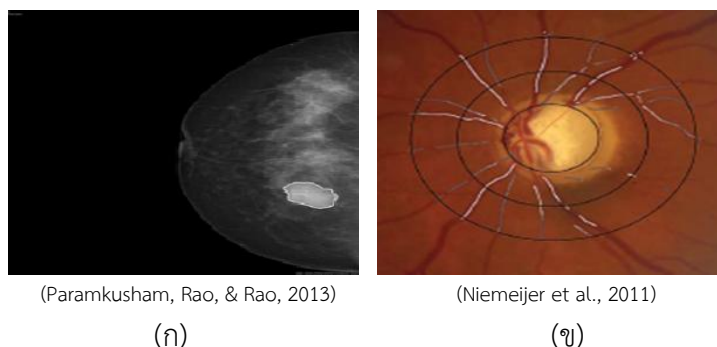
F1 Score ใช้สำหรับสรุปผลลัพธ์ของ Precision และ Recall เข้าด้วยกัน

$$F1\ Score = 2x \frac{Precision \times Recall}{Precision + Recall} \quad (2.19)$$

จากการศึกษาการวิเคราะห์ผลของการตรวจจับหรือการจำแนกในงานวิจัยอื่นพบว่าวิธี Confusion matrix เป็นที่นิยมใช้ไม่ว่าจะเป็นในการแยกสัตว์แมวหรือสุนัขในภาพ (Chen, 2020; Razavi, Samei, Alipour, & Farhadi, 2006) ในทางการแพทย์ก็มีการใช้เพื่อวัดประสิทธิภาพของโมเดลที่ใช้ในการประมวลผลภาพ (Ramteke and Monali, 2012) และรวมไปถึงทางนิติวิทยาศาสตร์ก็นำมาวิเคราะห์โมเดลเพื่อวัดประสิทธิภาพในเรื่องของการระบุบาดแผล (Wahyuni, Putri, Pelu, & Wiraagni, 2024) เป็นต้น

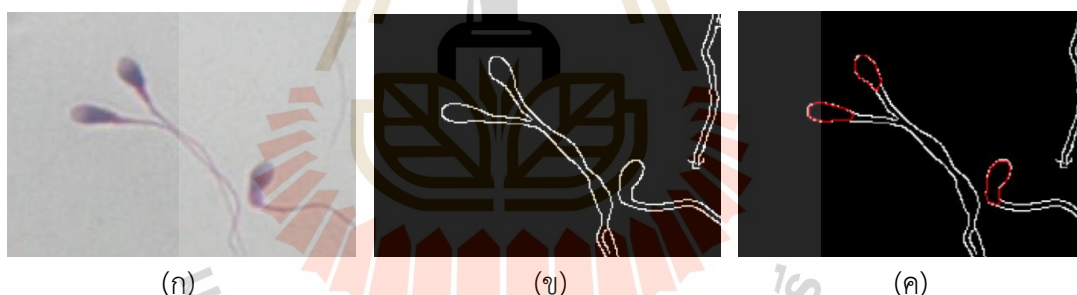
2.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในช่วงหลังปี ค.ศ. 2000 ที่ผ่านมา Image processing ไม่เพียงถูกใช้งานอยู่ในกลุ่มของ Computer engineering ทางอุตสาหกรรมโรงงานเท่านั้นแต่ยังถูกนำมาพัฒนาใช้ในการแพทย์อย่างแพร่หลาย ทั้งการตรวจหามะเร็ง รูปที่ 2.15 (ก), การใช้วัดขนาดเลือดในดวงตา รูปที่ 2.15 (ข) และรวมไปถึงการหาตัวอสุจิอีกด้วย (Deshmukh et al., 2020; Hidayatullah and Zuhdi, 2014; Mirroshandel and Ghasemian, 2018)



รูปที่ 2.15 ตัวอย่างภาพการนำกระบวนการประมวลผลภาพมาใช้ (ก) ตรวจหามะเร็ง (ข) การใช้วัดขนาดเส้นเลือดในดวงตา

การประมวลผลภาพมักดึงคุณสมบัติของภาพออกมา เช่น สี พื้นผิว หรือรูปร่าง ใช้การประมวลผลภาพมีอยู่ 4 ขั้นตอนหลัก ๆ ตามที่กล่าวไว้ข้างต้นก็คือ การนำภาพเข้า (Import image), กระบวนการเตรียมภาพ (Pre-processing), การประมวลผลภาพ (Image processing) และ การแสดงผล (Output image) ซึ่งเทคนิคที่ใช้จะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยรอบ ๆ ของภาพนั้น ๆ เนื่องจากกระบวนการเตรียมส่งตรวจไม่เหมือนกันทำให้รูปภาพที่ได้มานั้นลักษณะของภาพ สี อาจ会有ความแตกต่างกันรวมถึงขนาดของความขยายภาพที่แตกต่างกันด้วย

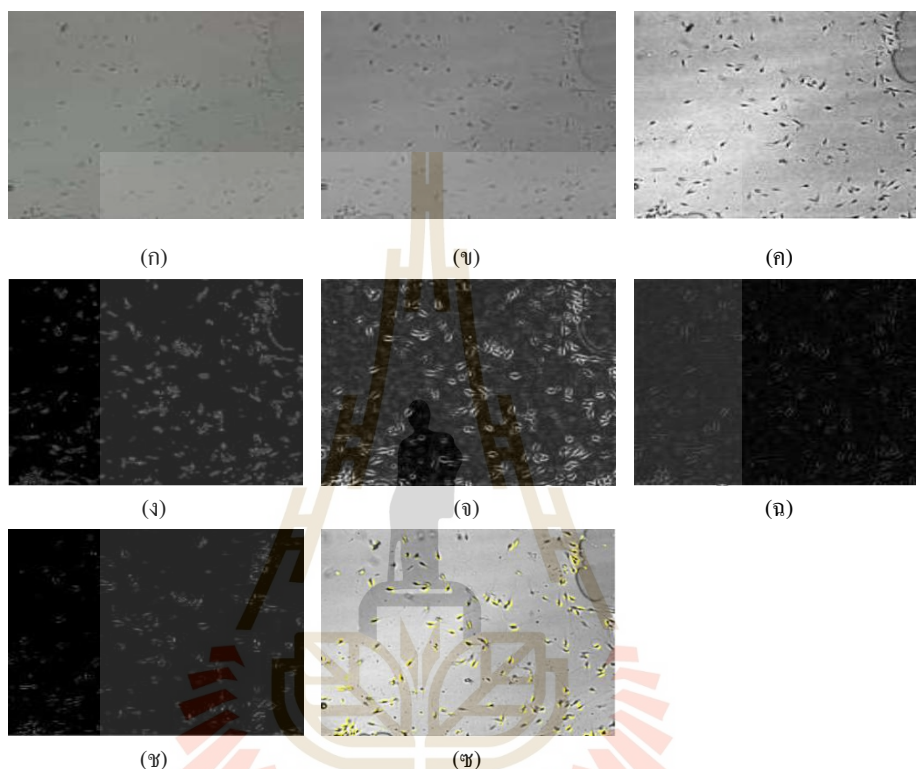


รูปที่ 2.16 กระบวนการตรวจหาหัวสperm ของ (Shaker et al., 2016)

(ก) ภาพต้นฉบับที่ผ่านการย้อมสีแบบ H&E (ข) การหาขอบของภาพ
(ค) การวาดกรอบด้วยสีแดง

Shaker et al. (2016) ได้ทำการศึกษาวิธีการในการตรวจจับและแบ่งสัดส่วนของสperm เพื่อช่วยในการวิเคราะห์ผลจากภาพอย่างอัตโนมัติและแม่นยำ โดยเริ่มต้นจากรูปที่ 2.16 ก ภาพต้นฉบับของสperm ที่ผ่านการย้อมสีด้วยวิธี Oppitz testing จากการสังเกตภาพจะเห็นได้ว่าภาพของตัวสperm จะมีหัวที่เป็นสีแดงแกมม่วงและพื้นหลังมีสีขาวหรือโทนออกสีเทา ซึ่งทำให้เห็นตัวสperm ได้อย่างชัดเจนในการย้อมสีแบบนี้ เมื่อดูจากภาพจึงทำให้ในขั้นตอนถัดไป Shaker et al. (2016) ทำการแปลงสีของภาพจาก RGB ไปเป็น Grayscale และทำให้เป็นสีขาวดำโดย วิธี Otsu method เพื่อจำแนกสิ่งที่ เป็นสperm และพื้นหลังออกจากกัน เมื่อเป็นสีที่แตกต่างกันเรียบร้อยแล้วจะเป็นการหาขอบของภาพ โดยใช้วิธี Canny edge detection เพื่อหาขอบของภาพรวมกับการใช้ Gaussian filter size Kernel 9x9 ดังรูปที่ 2.16ข และในส่วนสุดท้ายในการจะทราบถึงหัวสperm จะเป็นการตีกรอบของหัวสperm ด้วย

วิธีการ Active contour model โดยการใช้การแบ่งภาพโดย Gradient vector flow (GVF) เป็นเทคนิคในการใช้สนามเวกเตอร์ที่คำนวณจากการกระจายของการลาดชันพื้นที่ในภาพที่ต้องการ จากนั้นทำการตีกรอบหรือ Active contour สีแดงในพื้นที่ที่ต้องการจะได้ผลลัพธ์ดังรูปที่ 2.16 การวิจัยตามขั้นตอนดังกล่าว มีค่า Accuracy ของ heads 0.92, Acrosome 0.84 และ Nuclei 0.87 ความน่าเชื่อถือในความถูกต้องของโมเดล คือ 96% ว่าสามารถแบ่งตัวอสุจิได้



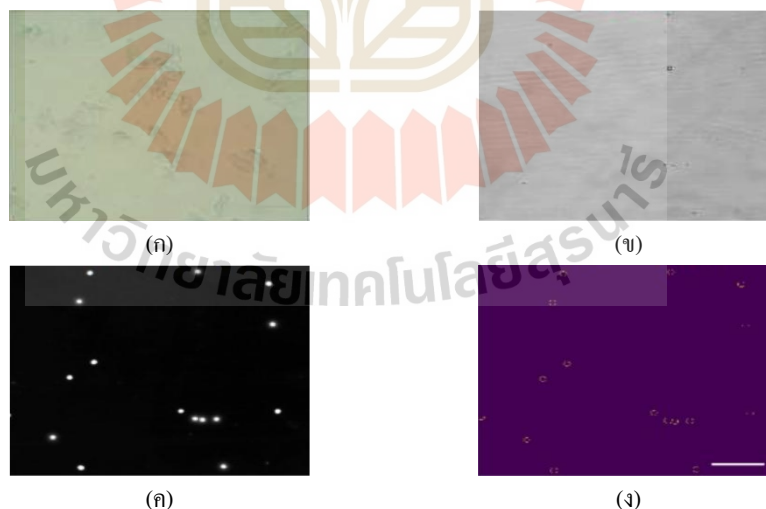
รูปที่ 2.17 กระบวนการตรวจจับและแบ่งตัวของอสุจิของ (El-kenawy, Eid, & Ibrahim, 2021)
 (ก) ภาพต้นฉบับ (ข) เปลี่ยนระบบสี RGB ไปเป็น Grayscale (ค) Enhanced image
 (ง) Detected edge (จ) Shadowing stage (ฉ) Gradient detection (ช)
 Crossing-over detection (ซ) การแสดงผลภาพพร้อมการนับจำนวน

การศึกษาเพื่อวิเคราะห์ระบุและวิเคราะห์ภาพที่มีสิ่งรบกวน (Noise) ผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบอัตโนมัติด้วยวิธีการใช้การประมวลผลภาพและการเรียนรู้ของเครื่อง (Machine Learning) โดย El-kenawy et al. (2021) ได้ทำการนำภาพเข้ายังระบบและทำการเปลี่ยนระบบสีจาก RGB ไปเป็น Grayscale ดังรูปที่ 2.17ก-ข จากนั้นเพิ่มความคมชัดของขอบและลดการรบกวนที่ไม่เกี่ยวกับสิ่งที่สนใจในภาพด้วยวิธีการ Enhanced image ดังรูปที่ 2.17ค ต่อไปเป็นการหาขอบของตัวสเปิร์มด้วยการใช้ Toolbox ต่าง ๆ ใน MATLAB คือ Canny side detection ตามด้วยการปรับปรุงภาพควบคู่ไปกับการ Dilation (การขยาย), Hole-filling (การเติมรู) และ Boundary cleaning (การทำความสะอาดขอบ) จะได้ภาพดังรูปที่ 2.17ง เมื่อหาขอบวัตถุเรียบร้อยแล้วจะเป็นการกรองสิ่งที่ไม่สนใจออกจากรูปภาพโดยการ Shadowing detection ซึ่งประกอบไปด้วย 4 ขั้นตอน คือ Histogram

equalization (การกระจายค่าพิกเซลให้สม่ำเสมอ) Mean filtering (การกรองภาพแบบเฉลี่ย) ใช้กรองเฉลี่ยขนาด Kernel 3x3 เพื่อลดสัญญาณรบกวนในภาพ 2D Wiener filter เพื่อเพิ่มขีดการตรวจจับ โดยการปรับขีดความเข้มให้เหมาะสมเพื่อลดความผิดพลาดจากสัญญาณรบกวน และ Object detection (การตรวจจับวัตถุ) เพื่อตรวจจับวัตถุ ดึงขอบ และค้นหาขนาดของวัตถุขนาดเล็กในภาพ Binary image รวมไปถึงการปรับเปลี่ยนความเข้มพิกเซล (Gradient Detection) ที่ช่วยในการปรับปรุงการวิเคราะห์ภาพ ดังรูปที่ 2.17จ-ฉ

ในส่วนการเรียนรู้ของเครื่องจักร (Machine learning) EL-kenawy et al. (2021) ได้เลือกใช้วิธี Crossing-over detection เป็นกระบวนการตรวจจับการข้ามเส้นหรือการทับซ้อนกันในโครงสร้างของภาพซึ่งในบริบทของการวิเคราะห์ภาพ Microscopic ที่มีการตรวจสอบหาอสุจิ เพื่อหลีกเลี่ยงการนับหรือวัดความยาวของอสุจิที่อาจทับซ้อนกันในภาพ ซึ่งอาจทำให้มีการวัดที่เกิดความผิดพลาดได้ การใช้เทคนิค Crossing-Over Detection ช่วยแยกแยะและจัดการกับการทับซ้อนเส้น ทำให้ได้ข้อมูลที่แม่นยำ ความยาวและโครงสร้างของอสุจิ และใช้ Deconvolution filter ร่วมกับการตรวจสอบพิกเซลรอบข้าง (Moore's Neighborhood) เพื่อระบุการทับซ้อนของเส้นและป้องกันการประเมินที่ผิดพลาด ดังรูปที่ 2.17ซ-ซ ผลลัพธ์งานวิจัยนี้สามารถตรวจสอบตัวสเปิร์มได้ ในภาพ 2 มิติได้

ผลการวิจัยของ EL-kenawy et al. (2021) แสดงให้เห็นว่าอัลกอริทึมที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถนำภาพอสุจิออกมาได้ไม่ว่าจะมีสัญญาณรบกวนอยู่หรือไม่ อย่างไรก็ตาม ข้อเสียของการตรวจจับและแยกแยะหางอสุจิคือ วัตถุที่อยู่บนหางอสุจิอาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของการวิจัยได้



รูปที่ 2.18 กระบวนการตรวจจับอสุจิของ (Ghasemian et al., 2015)
 (ก) ภาพต้นฉบับ (ข) เปลี่ยนระบบสี RGB ไปเป็น Grayscale
 (ค) หลังจาก Thresholding (ง) ผลลัพธ์จาก Hough transform

การตรวจจับอสุจิเป็นขั้นตอนสำคัญในการวิเคราะห์ตัวอย่างทางนิติวิทยาศาสตร์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่เกี่ยวข้องกับการโจมตีทางเพศ งานวิจัยของ Ghasemian et al. (2015) ได้นำเสนอวิธีการที่รวดเร็วและแม่นยำในการตรวจจับและนับจำนวนอสุจิในตัวอย่างรูปที่ 2.18 โดยผสมการใช้ระบบไมโครฟลูอิดิกส์ (Microfluidics) กับเทคนิคการประมวลผลภาพดิจิทัลผ่านกล้องโทรศัพท์มือถือ ในขั้นตอนแรก ตัวอย่างรูปที่ 2.18ก ถูกย้อมด้วยสารเรืองแสง DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) ซึ่งทำให้หัวของอสุจิสามารถเรืองแสงได้เมื่อตรวจสอบด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ ภาพที่ได้จากกล้องจะแสดงพื้นหลังเป็นสีเขียวและหัวของอสุจิในโทนสีเทาสว่าง จากนั้นภาพถูกนำเข้าสู่กระบวนการประมวลผลเพื่อปรับปรุงความชัดเจน โดยเปลี่ยนระบบสีจาก RGB เป็น Grayscale ดังรูปที่ 2.18ข ทำให้พื้นหลังกลายเป็นสีเทาอ่อน และหัวของอสุจิกลายเป็นสีเทาเข้ม เพื่อเพิ่มความชัดเจนในการแยกวัตถุ เปลี่ยนภาพ Grayscale เป็นภาพ ขาวดำ (Binary Image) โดยใช้เทคนิค Thresholding ทำให้พื้นหลังเปลี่ยนเป็นสีขาว และหัวของอสุจิเป็นสีดำดังรูปที่ 2.18ค เทคนิคนี้ช่วยลดความซับซ้อนของภาพและช่วยให้การตรวจจับเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ต่อมา Ghasemian et al. (2015) ใช้ Hough Transform ซึ่งเป็นเทคนิคขั้นสูงในการตรวจจับรูปทรงเรขาคณิตที่มีลักษณะเป็นวงกลมในภาพ Hough Transform จะระบุและวาดวงกลมรอบหัวของอสุจิในแต่ละตำแหน่งที่ตรวจพบ

ขั้นตอนทั้งหมดใช้เวลาน้อยกว่า 15 นาที ซึ่งผลลัพธ์ที่ดี เนื่องจากมีค่าความถูกต้อง (Accuracy) 95.9%, ความไว (Sensitivity) 100%, และความจำเพาะ (Specificity) 93.5% แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการตรวจจับของอสุจิ และการนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างเหมาะสมในงานวิเคราะห์ตัวอย่างทางนิติวิทยาศาสตร์

งานวิจัยของ Ghasemian et al. (2015) ยังเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่น เช่น Shaker และคณะ (2016) ซึ่งใช้วิธีการที่คล้ายกันในการตรวจจับหาอสุจิ โดยทั้งสองงานวิจัยได้แสดงให้เห็นว่าการเลือกใช้กระบวนการการประมวลผลภาพและเทคนิคที่เหมาะสมสามารถทำให้ผลลัพธ์ที่มีความแม่นยำมากกว่า 90% อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างในการย้อมสีและคุณภาพของภาพต้นฉบับส่งผลต่อการประมวลผลในแต่ละขั้นตอน เช่น การแยกพื้นหลังออกจากวัตถุ การเลือกใช้วิธีการ Threshold และการตรวจจับขอบ

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะนำการประมวลผลภาพจากการศึกษาของงานวิจัยต่าง ๆ มาประยุกต์ใช้โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาอสุจิแบบอัตโนมัติและเพื่อช่วยลดเวลาในการทำงานของผู้เชี่ยวชาญในด้านนิติวิทยาศาสตร์ เนื่องจากงานวิจัยนี้มีความท้าทายในการประมวลผลเป็นอย่างมากเพราะจากรูปภาพที่มีความซับซ้อนในเรื่องของเยื่อหุ้มช่องคลอดกับอสุจิที่มีลักษณะและสีที่คล้ายคลึงกันมาก ซึ่งงานวิจัยนี้จะเน้นไปที่ตัวอสุจิเป็นหลักว่าสามารถถูกตรวจพบอสุจิในภาพนั้นหรือไม่ เพราะการตรวจพบตัวอสุจิ เป็นข้อเท็จจริง ที่สำคัญในทางกฎหมายที่พิสูจน์ว่ามีการล่วงละเมิดทางเพศ เกิดขึ้น

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

การดำเนินการวิจัยนี้เป็นการนำระบบการประมวลผลภาพเข้ามาช่วยในการตรวจสอบหาอสุจิจากภาพที่ถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ โดยเริ่มจากการศึกษาการตรวจสอบหาอสุจิในแบบปัจจุบัน โดยใช้ผู้เชี่ยวชาญในการหาด้วยตาเปล่า และ ศึกษาวิธีการประมวลผลภาพจากการวิเคราะห์ตรวจหาตัวอสุจิ เพื่อเป็นแนวทางไปสู่การพัฒนาอัลกอริทึมเพื่อช่วยในการตรวจหาตัวอสุจิได้อย่างรวดเร็วขึ้น โดยมีขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย แบ่งเป็น 4 ส่วน โดยมีรายละเอียดดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

3.1 ศึกษาข้อมูลและวิเคราะห์เพื่อตรวจหาอสุจิในภาพ

จากการศึกษาความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับอสุจิ ในหัวข้อ 2.3 ส่วนหัวที่ประกอบไปด้วยนิวเคลียสจะสามารถมีการย้อมสีที่ติดได้มากกว่าส่วนอื่นเพราะมีขนาดใหญ่ที่สุด ในหัวของอสุจิมียนิวเคลียสที่เป็นแหล่งสะสม DNA อย่างหนาแน่นและเป็นระเบียบมากกว่าเซลล์ทั่วไป ทำให้โปรตีนที่ปกติจะพบในนิวเคลียสของเซลล์อื่น ๆ ลดลง และถูกแทนที่ด้วยโปรตีนเฉพาะที่เรียกว่าโปรตามีน (Protamine) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการทำให้ DNA แน่นหนา การตรวจหาอสุจิด้วยการย้อมสีในแบบต่างๆที่ได้กล่าวไปในหัวข้อ 2.2.3 นั้นเมื่อย้อมสีแล้วสิ่งที่มองเห็นได้ชัดเจนที่สุดก็คือ ส่วนหัวของอสุจิ ดังนั้นการตรวจหาตัวอสุจิในงานวิจัยนี้จะใช้การตรวจหาหัวอสุจิเป็นหลัก

3.2 วัสดุอุปกรณ์และการเตรียมชุดข้อมูล

3.2.1 วัสดุอุปกรณ์ ที่ใช้ในการประมวลผลภาพในงานวิจัยนี้

- 1) คอมพิวเตอร์รุ่น ASUS ZenBook 14 UM431D RAM 8 GB
- 2) โปรแกรม IDLE (Python 3.10 64-bit) และ ซอร์ฟแวร์ OpenCV (Open-Source Computer Vision)

3.2.2 การเตรียมชุดข้อมูล

จากการรวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวกับวิธีการกำหนดขนาดตัวอย่างสำหรับการเรียนรู้ของเครื่องในทางการแพทย์โดย Balki et al. (2019) รายงานว่า เพียง 22 จาก 167 งานวิจัยเท่านั้นที่มีการวิเคราะห์เชิงปริมาณเกี่ยวกับขนาดตัวอย่าง ในจำนวนนี้มี 4 เรื่องที่มีการกล่าวถึงการกำหนดขนาดร่วมด้วย และพบว่าผลที่ได้มีความแปรผันสูง ในส่วนงานวิจัยหลักที่ให้ความสนใจ ได้แก่ Arthur et al. (2017); Chadha, Srivastava, Singh, Gupta, and Singla (2020); Deshmukh et al. (2020); Ilhan, Serbes, and Aydin (2020); Shaker et al. (2016) ซึ่งเกี่ยวกับการประมวลผลภาพเม็ดเลือด คราบเลือด และ หาสุมิ พบว่ามีการรายงานจำนวนรูปภาพที่ใช้ในการประมวลผลภาพในบทความตั้งแต่ 1, 6, 10, 19 และ 57 ภาพ

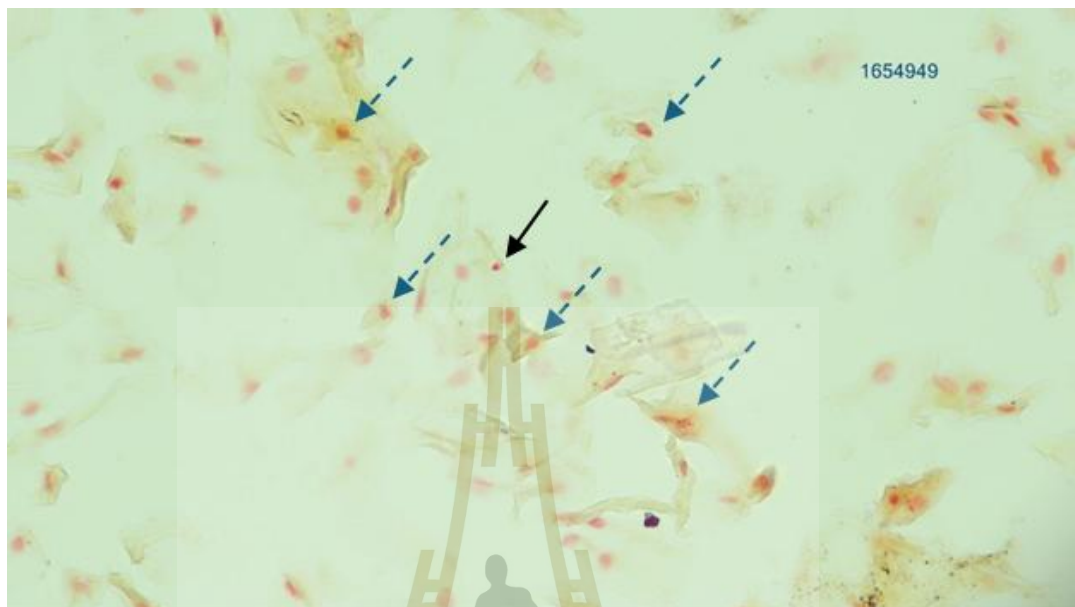
ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีแผนกำหนดตัวอย่างเพื่อนำมาทดสอบเป็นการรับชุดข้อมูลมาจากแพทย์นิติเวชศาสตร์ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ในปี พ.ศ. 2561 (ค.ศ.2018)

- 1) ชุดข้อมูลที่มีจำนวน 20 รูปภาพ
- 2) รูปภาพมีขนาดภาพความละเอียดภาพที่ 1080p x 920p (เป็นความละเอียดของชุดกล้องจุลทรรศน์)

3) ขนาดความขยายของกล้องจุลทรรศน์คือ 400 เท่า เพื่อให้ชุดข้อมูลที่ได้รับมีขนาดขยายที่เท่ากันซึ่งในชุดข้อมูล 20 รูปแบบนี้ประกอบไปด้วยภาพที่มีจำนวนอสุจิ 0 1 2 3 และมากกว่า 3 อย่างละ 2 รูปภาพเป็นอย่างน้อย กล้องที่ขนาดขยายที่ 400 เท่า ที่กำหนดจากประสบการณ์ของแพทย์นิติเวช (เป็นการขยายของเลนส์ใกล้วัตถุที่ตาเปล่าสามารถมองเห็นอสุจิได้)

4) ชุดข้อมูลภาพนี้ผ่านการย้อมสีอสุจิด้วยการย้อมแบบ Oppitz test และตัวอย่างรูปภาพรายละเอียดของชุดข้อมูลนี้ คือ มีอสุจิ (รูปที่ 3.2) และไม่มีอสุจิ (รูปที่ 3.3) รวมไปถึงภาพที่มีสีพื้นหลังที่แตกต่างกันในเรื่องของเฉดสีผสมกันอยู่ในชุดข้อมูลดังกล่าวด้วย และ ในแต่ละรูปภาพของชุดข้อมูลจะมีเยื่อหุ้มช่องคลอด (epitheliums) อยู่ในภาพด้วย ซึ่งเยื่อหุ้มช่องคลอดมีลักษณะที่คล้ายคลึงกับหัวอสุจิมาก ในการแยกออกจากกันก็คือขนาดของความกลม ถ้าเป็นหัวของอสุจิที่เรา

สนใจนั้นจะมีขนาดเล็กกว่าลักษณะเรียวมากกว่าและมีสีที่ปลายหัวสุจิเข้มมากกว่าเยื่อช่องคลอด ดังแสดงตัวอย่างรูปภาพที่ 3.2



รูปที่ 3.2 ภาพตัวอย่างชุดข้อมูลที่พบอสุจิ (✓) และ เซลล์เยื่อผนังช่องคลอด (✓)



รูปที่ 3.3 ภาพตัวอย่างชุดข้อมูลที่ไม่พบอสุจิ

3.3 การพัฒนาเทคนิคการประมวลผลภาพสำหรับชุดข้อมูล

ในงานวิจัยนี้เป็นการนำการประมวลผลภาพมาประยุกต์ใช้และพัฒนาเพื่อใช้ในการตรวจหาอสุจิในภาพถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ เป็นการตรวจหาหัวของอสุจิเพื่อระบุว่าในภาพมีอสุจิ รวมไปถึงการนับจำนวนสเปิร์มในภาพด้วย โดยมีการประมวลผลภาพ ดังรูปที่ 3.4 คือ การนำเข้าสู่ระบบ (Image acquisition) การแปลงค่าสี (Color conversion image) ปรับปรุงรูปภาพโดยการกำจัดสัญญาณรบกวนออก (Image filters) การหาขอบวัตถุในภาพ (Edge detection) และบันทึกรูปภาพเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ

3.3.1 การนำเข้าภาพ (Image acquisition) - การนำเข้าภาพเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์ไปยังโปรแกรมประมวลผลภาพ
3.3.2 การแปลงค่าสี (Color conversion image) - แปลงค่าสีจาก RGB ไปเป็น HSV - แปลงค่าสีจาก HSV ไปเป็น Binary (โดย Adaptive thresholding ด้วยค่าอิมตัวของสี HSV)
3.3.3 ปรับปรุงรูปภาพโดยการกำจัดสัญญาณรบกวนออก (Image filters) - ลดรายละเอียดภาพด้วย Averaging filter - การตกแต่งภาพปรับโครงสร้างของหัวอสุจิด้วยการขยาย (Dilation) หัวอสุจิในภาพ
3.3.4 การหาขอบภาพในวัตถุ (Edge Detection) - การตรวจจับขอบแบบแคนนี่ (Canny edge detection) - การตีกรอบเพื่อยืนยัน (Circle hough detection) - การจำกัดพื้นที่ที่ทิกเซลเพื่อตีกรอบยืนยัน (Contour detection)
3.3.5 บันทึกรูปภาพเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ - บันทึกรูปภาพผลลัพธ์เพื่อเปรียบเทียบกับผู้เชี่ยวชาญทางด้านนิติเวชศาสตร์

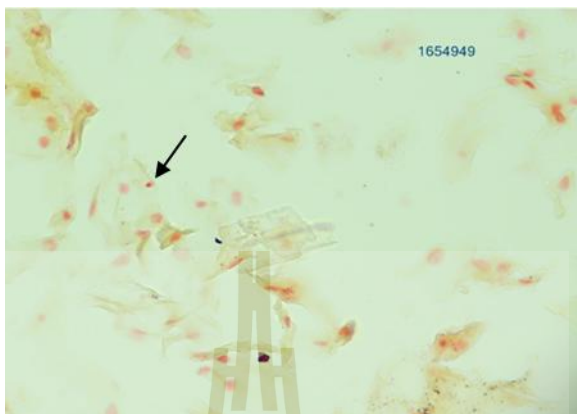
รูปที่ 3.4 การวิเคราะห์ภาพด้วยประมวลผลภาพเพื่อตรวจหาอสุจิ

3.3.1 การนำเข้าภาพ (Image acquisition)

นำรูปภาพ 1 ใน 20 รูปภาพจากหัวข้อ 3.2.2 ที่ถูกถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์เข้าสู่คอมพิวเตอร์ และ โปรแกรม IDLE (Python 3.10 64-bit) ที่กล่าวในหัวข้อ 3.2.1 เข้าเป็นภาพสี RGB และ บีบอัดให้มีขนาดความละเอียดที่ลดน้อยลง (จาก 1080p x 920p ไปเป็น 800p x 600p) โดยรูปภาพจะมีรูปแบบของไฟล์รูปภาพเป็น JPEG (Joint photographic experts group) หรือ .jpg

```
img = ('C:\\Users\\ASUS\\Desktop\\detect')
os.chdir(img)
t0 = time.time()
img1=cv.imread('a04.jpg')
img1=cv.resize(img1,(800,600))
```

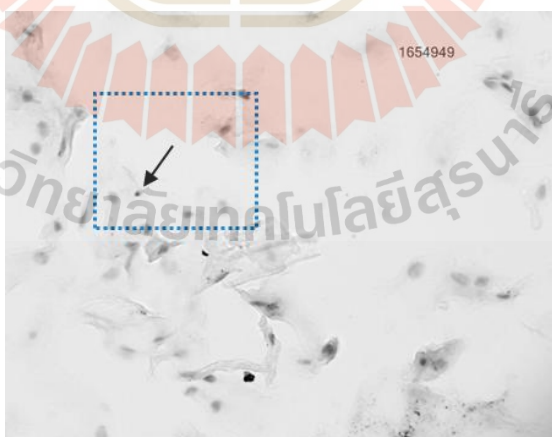
ใช้โค้ดที่แสดงนี้จะทำให้รูปภาพเข้าสู่คอมพิวเตอร์แบบดิจิทัลดังรูปที่ 3.5 เป็นรูปภาพที่มีสีอยู่ในภาพสังเกตจากลูกศร (ลูกศร คือ อสุจิ)



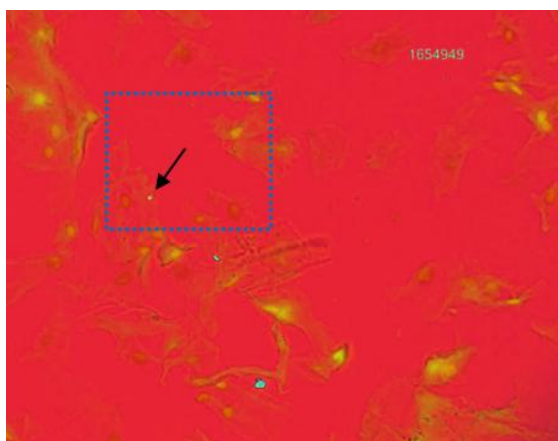
รูปที่ 3.5 ตัวอย่างภาพที่นำภาพเข้าสู่ระบบ

3.3.2 การแปลงค่าสี (Color conversion image)

การเปลี่ยนระบบสีของรูปภาพเป็นการปรับปรุงคุณภาพของข้อมูลภาพให้เหมาะสมก่อนการนำไปประมวลผลภาพ โดยเมื่อนำภาพจากหัวข้อ 3.3.1 เข้าสู่ระบบเรียบร้อยแล้วในขั้นตอนการแปลงค่าสีเป็นการเปลี่ยนแปลงระบบสีของรูปภาพ ในการทดสอบการเปลี่ยนระบบสีเพื่อเลือกให้มีการทดสอบใช้ 2 ระบบสี ได้แก่ ระบบสีแบบ Grayscale รูปที่ 3.6 และ HSV รูปที่ 3.7 (ในกรอบสี่เหลี่ยม คือ ลูกศรที่บอกตำแหน่งอสุจิ และ ลูกศรเส้นประ คือ เยื่อหุ้มเซลล์)

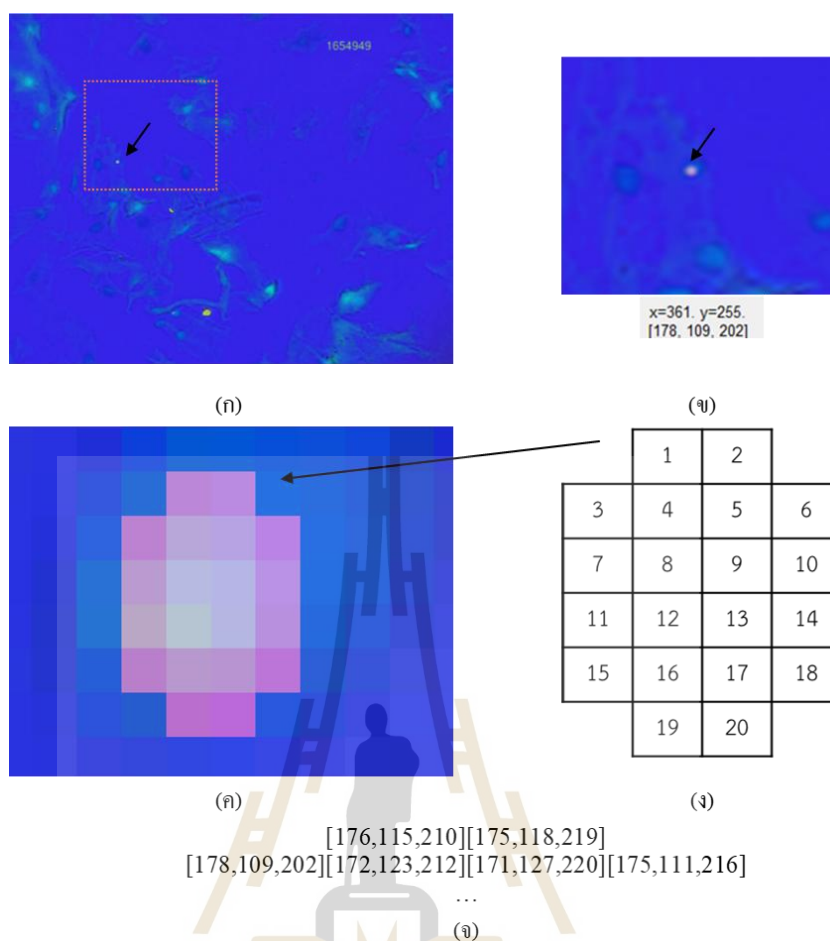


รูปที่ 3.6 เปลี่ยนระบบสีจาก RGB ไปเป็นแบบ Grayscale



รูปที่ 3.7 เปลี่ยนระบบสีจาก RGB ไปเป็นระบบสี HSV

จากการเปลี่ยนระบบสีเป็น Grayscale จะทำให้เห็นหัวอสุจิ และ เยื่อบุผิวช่องคลอด เป็นสีเทาเข้มที่มีสีที่ค่อนข้างใกล้เคียงกัน ในขณะที่ระบบสี HSV หัวอสุจิกับเยื่อบุผิวช่องคลอดจะมีสีที่แตกต่างกัน เนื่องจากหัวของอสุจิมีความเข้มมากกว่าเยื่อบุผิวช่องคลอด ทำให้เมื่อเปลี่ยนระบบสีเป็น HSV จะทำให้เห็นหัวของอสุจิมีสีที่สว่างมากกว่าเยื่อบุผิวช่องคลอด ขั้นตอนต่อไปเป็นการเปรียบเทียบโดยใช้ Threshold การกำหนดค่าสีที่ต้องการโดยจะเป็นการดูจากในชุดข้อมูลทั้ง 20 ภาพ ค่าที่สูงที่สุดและค่าที่ต่ำที่สุดของชุดข้อมูล ตัวอย่าง รูปที่ 3.8ก-ข เป็นการใช้เมาท์เลื่อนหาในพื้นที่ที่ของหัวอสุจิว่าในพื้นที่นั้นมีแฉดสีระดับสีที่สูงและต่ำที่สุดเท่าใด รูปที่ 3.8ค เพื่อแยกพื้นหลังกับหัวอสุจิออกจากกัน จะทำการบันทึกค่าเพื่อดูค่าสูงและต่ำโดยเลื่อนเมาท์ไปตามพื้นที่ช่องฟิเซล ดังรูปที่ 3.8ง ในแต่ละช่องจะมีค่าแฉดสีขึ้นเพื่อบันทึกค่าไปเปรียบเทียบค่าสูงและต่ำ ดังรูปที่ 3.8จ

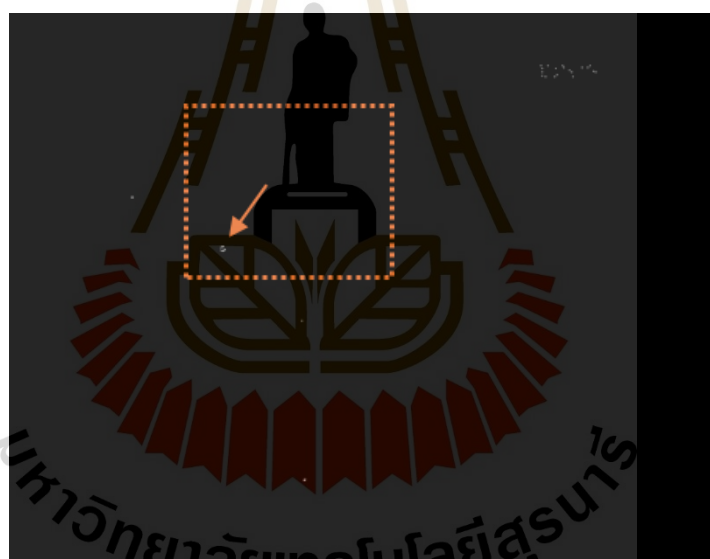


รูปที่ 3.8 ตัวอย่างการเลือกค่า Threshold พื้นที่ของหัวสูลิจิ (ก) ภาพระบบเฉดสี HSV (ข) ภาพขยายเฉพาะของระบบสี HSV ของหัวสูลิจิ (ค) ตัวอย่างการขยายเพื่อหาค่า Threshold ของหัวสูลิจิ (ง) ตัวอย่างภาพลำดับตำแหน่งการเลื่อนเมาท์หาค่า Threshold (จ) ตัวอย่างค่า Threshold (HSV)

ทั้งสองระบบสีโดยใช้ค่าสูงสุดและค่าต่ำสุดของระบบสี Grayscale (Upper 189,129,223), (Lower 79,50,207) รูปที่ 3.9 และ HSV (Upper 178,130,220), (Lower 165,85,189) รูปที่ 3.10 ซึ่งในค่า Threshold ดังกล่าวเป็น Threshold ที่ตรวจหาจากหัวสูลิจิที่สนใจในชุดข้อมูลทั้งหมด เมื่อดำเนินการในขั้นตอนนี้ หัวของสูลิจิและพื้นหลังจะแยกสื่ออกจากกันเป็น สีขาว (สิ่งที่สนใจ) และสีดำ (พื้นหลัง)



รูปที่ 3.9 ภาพที่เปลี่ยนจากระบบสี Grayscale ไปเป็น Binary



รูปที่ 3.10 ภาพที่เปลี่ยนจากระบบสี HSV ไปเป็น Binary

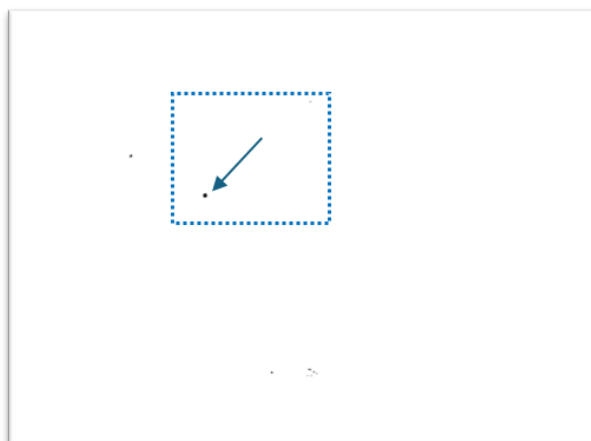
จากรูปที่ 3.9 และ รูปที่ 3.10 แสดงการเปลี่ยนระบบสีไปเป็น Binary เป็นการแยกหัวอสุจิออกจากพื้นหลัง จะเห็นได้ว่า Grayscale จะมีสีขาวขึ้นบนภาพมากกว่า HSV ซึ่งสีขาวที่เกิดขึ้นบนภาพจะมีทั้งหัวอสุจิและเยื่อบุผิวช่องคลอด เนื่องจากสีของอสุจิและเยื่อบุผิวช่องคลอดมีเฉดสีในระดับสีเทาที่ใกล้เคียงกันจึงทำให้เมื่อเปลี่ยนเป็นระบบสีขาวดำ ทำให้สีขาวขึ้นบนรูปภาพเป็นจำนวนมากดังรูปที่ 3.9

การเลือกใช้เทคนิคการแปลงระบบสีเป็น HSV จะแยกความเข้มและความอิ่มตัวของสีได้ง่ายมากขึ้น โดยสีที่ต้องการคือ “สีแดง” ระดับการอิ่มตัวสีแดงของ HSV อยู่ในช่วงประมาณ 160 ถึง 179 (Saravanan, Yamuna และคณะ 2016) จากการทดสอบการเปลี่ยนสีในค่า Threshold ข้างต้น (รูปที่ 3.10) จะเห็นได้ว่ามีสัญญาณรบกวน (Noise) ค่อนข้างน้อยแต่หัวของอสุจิไม่ชัดเจนอาจจะเป็นเพราะในชุดข้อมูลที่ใช้มีค่าเฉดสี HSV ที่ค่อนข้างต่างกันของแต่ละภาพ ในระบบสี HSV สามารถแยกความอิ่มสีของสีแดงได้ออกมาชัดเจน แต่ในความเข้มและความสว่างของรูปภาพในบางรูปภาพหัวของอสุจียังมองเห็นได้ไม่ชัดเจน จึงทำให้ใช้การอิ่มตัวของสีแดง ในช่วง HSV ที่ (Upper 178, 0, 255) และ (Lower 168, 0, 255) เนื่องจากการกรองสีแดงในภาพที่มีเฉดสีแดงและความสว่างที่หลากหลายจะช่วยให้การตรวจจับได้ทั้งสีแดงอ่อนและสีแดงเข้ม ในช่วงของการอิ่มสีของ H จะทำให้เห็นหัวอสุจิสว่างออกมาได้อย่างเห็นได้ชัดเจดดังรูปที่ 3.11

เพื่อให้หัวอสุจิชัดเจนมากขึ้นและลบสีที่ไม่สม่ำเสมอออกจากภาพ วิธีการ Adaptive thresholding (รูปที่ 3.12) ทำให้หัวอสุจิเป็นสีดำและจะสามารถโฟกัสไปยังหัวอสุจิได้ง่ายขึ้น หลังจากขั้นตอนนี้สิ่งที่เราไม่สนใจจะแสดงขึ้นด้วยเนื่องจากสีของสิ่งนั้นมีสีที่อยู่ในช่วงของเฉดเดียวกันกับอสุจิจึงทำให้แสดงออกมาให้เห็น



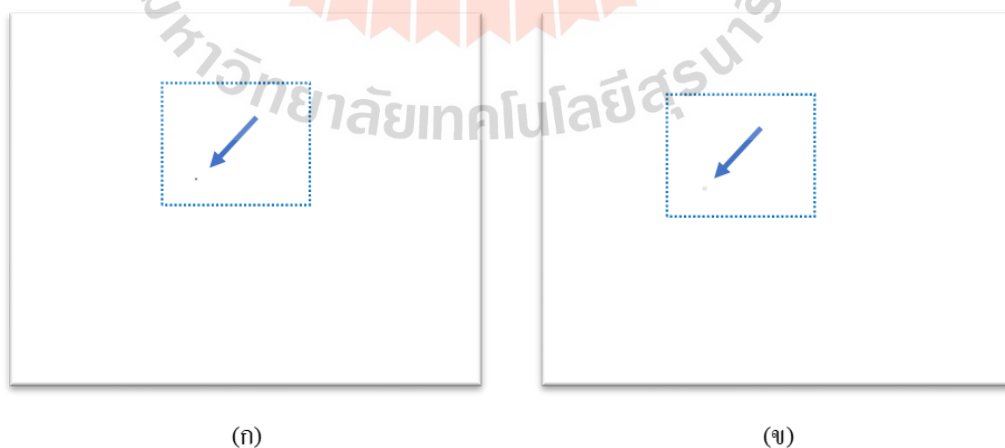
รูปที่ 3.11 ภาพที่เปลี่ยนจากระบบสี HSV ไปเป็น Binary
HSV Upper (178, 0, 255) และ Lower (168, 0, 255)



รูปที่ 3.12 การ Adaptive thresholding

3.3.3 ปรับปรุงรูปภาพโดยการกำจัดสัญญาณรบกวนออก (Image filters)

ในขั้นตอนนี้เป็นการปรับแต่งภาพเพื่อดึงคุณสมบัติของหัวอสุจิให้มีความคมชัดมากขึ้น โดยจะนำภาพที่ได้จากการเปลี่ยนสีเป็น Binary เรียบร้อยแล้ว มาทำการลดสัญญาณรบกวนหรือสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ ที่อาจจะมีผลต่อการประมวลผลภาพ ด้วยการ Averaging filter จะเป็นการเบลอ (Blurred) เพื่อลดการเฉลี่ยรายละเอียดในภาพให้เท่า ๆ กัน หลังจากวิธีนี้รายละเอียดบางส่วนของหัวอสุจิจะหายไปเล็กน้อย ถัดไปจึงจะเป็นการเพิ่มการดำเนินการทางสัณฐานวิทยา (Morphological operations image) โดยนำมาใช้เพิ่มขนาดของวัตถุที่สนใจในที่นี้ก็คือหัวของอสุจิ จะใช้การขยาย (Dilation) ด้วยขนาด kernel 3x3 โดยทั่วไปที่เป็นที่นิยมใช้จะช่วยในการเชื่อมต่อส่วนที่หายไปของหัวอสุจิจะทำให้ภาพมีเส้นที่คมมากขึ้น ในสองขั้นตอนนี้จะทำให้สิ่งที่ไม่สนใจในภาพจางและหายไป

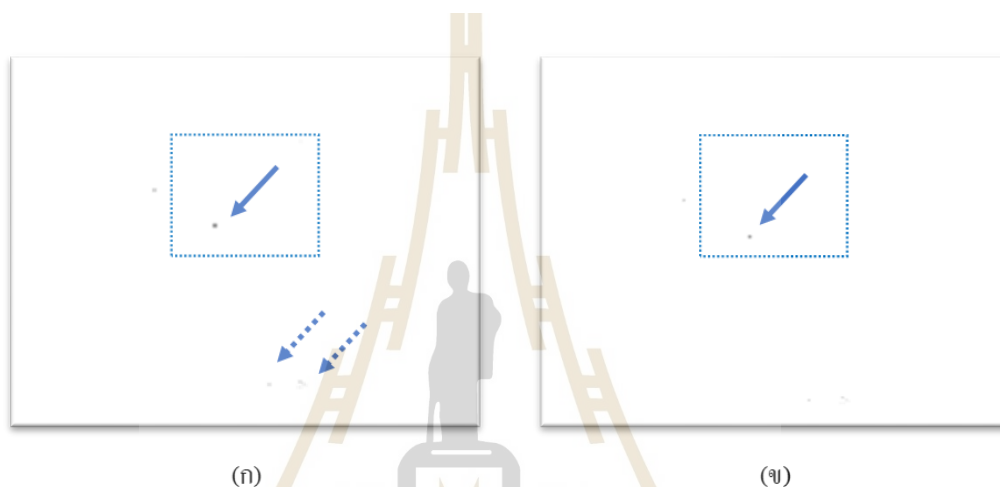


(ก)

(ข)

รูปที่ 3.13 ตัวอย่าง (ก) Dilation ตามด้วย (ข) Averaging filter

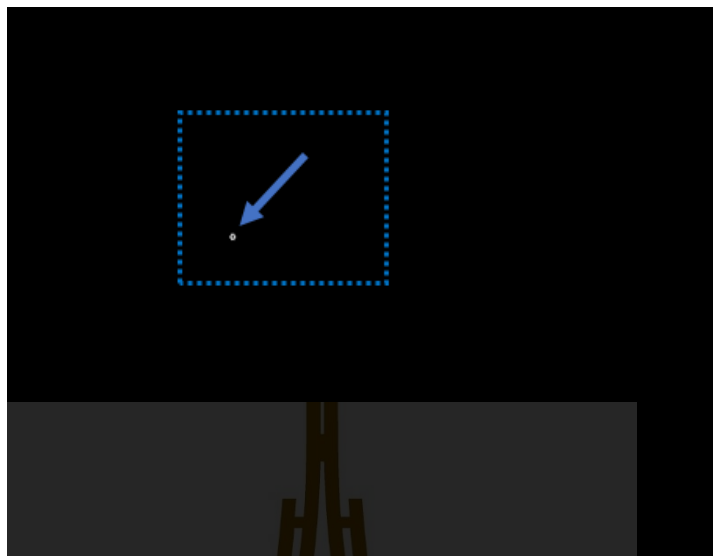
จากการทดสอบในการเลือกใช้ขั้นตอนข้างต้น เปรียบเทียบการนำไปใช้ระหว่างการ Dilation ตามด้วย Averaging filter (รูปที่ 3.13) กับการ Averaging filter ตามด้วย Dilation (รูปที่ 3.14) เปรียบเทียบได้ว่าเมื่อทำขั้นตอน Dilation ก่อนการ Averaging filter จะทำให้เกิดการลดสัญญาณรบกวนได้ดีกว่าการ Averaging filter ก่อน แต่หัวสุนัขมีความเร็วเล็กน้อยจากเดิมอาจจะเกิดปัญหาในการหาขอบภาพในขั้นตอนถัดไปได้ ดังนั้นในขั้นตอนการปรับปรุงรูปภาพโดยการกำจัดสัญญาณรบกวนออกงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้การ Averaging filter ต่อด้วย Dilation (รูปที่ 3.14) เพื่อการตรวจหาขอบในขั้นตอนถัดไป เนื่องจากในขั้นตอนนี้เมื่อทำการเบลอภาพจะโฟกัสไปที่จุดของหัวสุนัขให้ขยายมากขึ้นแล้วตามด้วยการเติมพื้นที่ที่ขาดหายด้วย Dilation เพื่อให้ภาพมีความต่อเนื่องกันในภาพยิ่งขึ้น



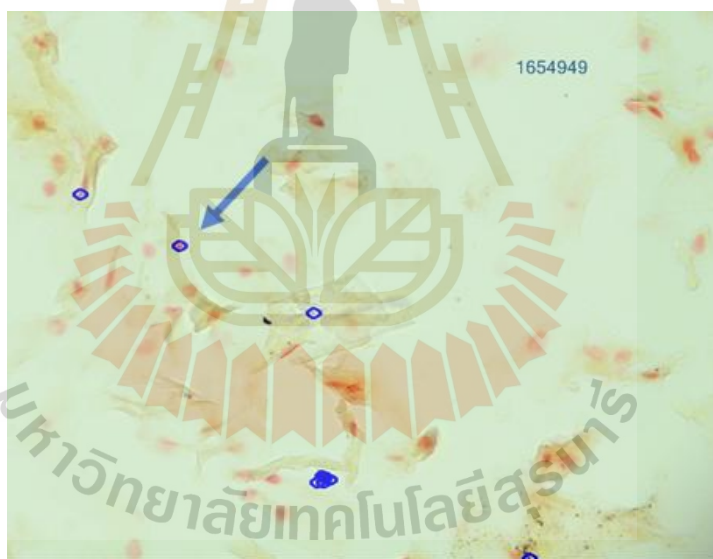
รูปที่ 3.14 ตัวอย่าง (ก) Averaging filter ตามด้วย (ข) Dilation

3.3.4 การหาขอบภาพในวัตถุ (Edge Detection)

การตรวจจับหาขอบของสุนัขนั้นจะเป็นการตีกรอบล้อมรอบหัวสุนัขเพื่อเป็นการบ่งบอกตำแหน่งของสุนัขว่าอยู่บริเวณใดของพื้นที่ในรูปภาพ โดยงานวิจัยนี้เลือกใช้การตรวจจับขอบแบบ Canny edge detection เนื่องจากมีการลดสิ่งรบกวน (Noise) ได้ดีสามารถตรวจจับขอบที่มีความละเอียดสูงได้ดี และ ให้ขอบที่ชัดเจนและต่อเนื่องมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ Sobel edge detection ที่อาจจะทำให้รายละเอียดที่สำคัญในภาพหายไปจึงเลือกใช้ Canny edge detection ดังนั้นขั้นตอนนี้จะแยกขอบของสุนัขและพื้นหลังได้ดีและชัดเจน โดยจะตีกรอบล้อมรอบสิ่งที่คอมพิวเตอร์มองเห็นในรูปภาพจากรูปที่ 3.13ข ในภาพพื้นหลังเป็นสีขาวและหัวสุนัขเป็นสีดำ หน้าที่ของการหาขอบ Canny edge detection ในภาพก็คือเมื่อเจอหัวสุนัขหรือสิ่งที่เห็นในภาพเป็นสีดำจะทำการตีกรอบล้อมรอบสิ่งที่พบในภาพนั้นด้วยวิธีการ Circle hough detection (CHT) โดยขั้นตอนนี้จะเป็นการวาดภาพในวัตถุที่มีความเป็นวงกลมที่เกิดจากการแสดงผลภาพในขั้นตอน Canny edge detection ในส่วนนี้จะบอกได้ว่าตัวสุนัขนั้นอยู่ที่บริเวณใดของรูปภาพนั้น ๆ ตัวอย่างของผลการ CHT ในรูปที่ 3.15 เพื่อหาวงกลมในภาพถ้ามีการหาเจอส่วนที่สามารถเป็นวงกลมได้ CHT จะมีการคำนวณรัศมีและวงกลมล้อมรอบในภาพ ทำให้ในบางจุดที่เราไม่สนใจจะมีวงกลมล้อมรอบขึ้นมาด้วยดังรูปที่ 3.16 ดังนั้นก่อนการทำขั้นตอน CHT จึงทำการเช็คพิกเซลในภาพ



รูปที่ 3.15 การหาขอบของภาพด้วยอสูจิด้วยวิธี Canny edge detection



รูปที่ 3.16 การหารัศมีวงกลมเพื่อตีกรอบแบบ Circle hough detection

การคำนวณพื้นที่พิกเซลในภาพด้วยโค้ดตามรูปที่ 3.17 เป็นขั้นตอนสำคัญในการวิเคราะห์ภาพที่ได้จากการตรวจหาอสูจิ โดยในขั้นตอนนี้จะทำการคำนวณพื้นที่ของภาพทั้งหมด รวมถึงพื้นที่ของเส้นขอบที่เกิดขึ้นภายในภาพ ซึ่งการทำงานเริ่มต้นจากการคำนวณค่าความสูง (height) และความกว้าง (width) ของภาพก่อน จากนั้นพื้นที่รวมของภาพจะได้จากการคูณความสูงและความกว้างด้วยสูตร $\text{Area} = \text{height} * \text{width}$ ซึ่งมีหน่วยเป็น “พิกเซล” เพื่อหาพื้นที่ของอสูจิจากภาพ จะใช้ฟังก์ชัน `cv.findContours()` เพื่อตรวจหาเส้นขอบ (Contours) ที่เกิดขึ้นภายในภาพ ซึ่งเส้นขอบที่ตรวจพบนั้นจะนำมาคำนวณพื้นที่ผ่านฟังก์ชัน `cv.contourArea()` ผลลัพธ์ที่ได้จะเป็นพื้นที่ของแต่ละ

เส้นขอบ โดยผลลัพธ์ทั้งหมดจะถูกบันทึกและรวมพื้นที่ของเส้นขอบทั้งหมดเข้าด้วยกัน สุดท้ายค่าพื้นที่ที่คำนวณได้จะแสดงออกมาในรูปของตัวเลข ดังสี่เหลี่ยมในรูปที่ 3.17 จากผลการทดลองในชุดข้อมูล 20 ภาพที่ศึกษา พบว่าขนาดของหัวสูลิจที่ปรากฏอยู่ในภาพมีพื้นที่ประมาณ 4 ถึง 9 พิกเซล หรือเทียบเป็นหน่วยจริงประมาณ 1.1 ถึง 2.5 มิลลิเมตร เพื่อให้มั่นใจว่าผลลัพธ์ที่ได้จากการประมวลผลภาพมีความถูกต้องแม่นยำ มีการใช้เครื่องมือวัดขนาดจริงร่วมประกอบการตัดสินใจด้วย โดยนำค่าที่ได้จากโปรแกรมมาเปรียบเทียบกับการวัดจริง

```
height = img1.shape[0]
width = img1.shape[1]
area = height * width

contours, hierarchy = cv.findContours(edges, cv.RETR_EXTERNAL, cv.CHAIN_APPROX_SIMPLE)

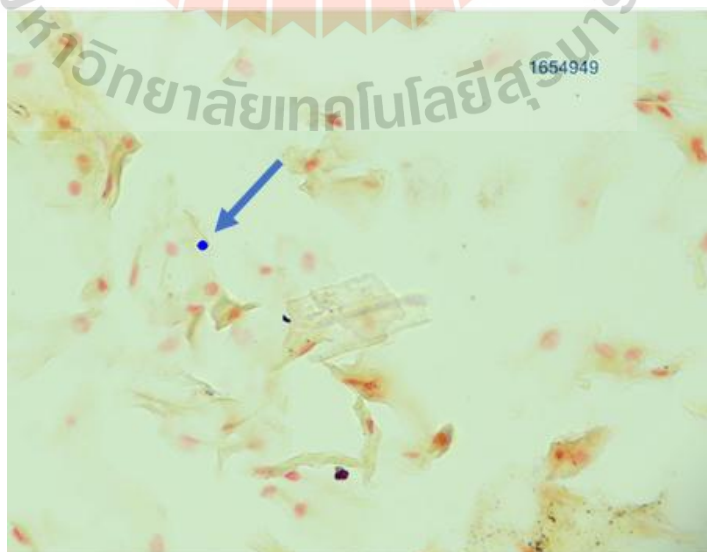
sum = 0
r = len(contours)
r1 = []
ar1=0

for i in range(r):
    ar1 = cv.contourArea(contours[i])
    sum += ar1
    r1.append(ar1)
    print (ar1)
```

=
1.5
4.0
4.0

รูปที่ 3.17 ตัวอย่างโค้ดและการหาพื้นที่พิกเซลในภาพ

ขั้นตอนถัดไปเป็นการสร้างเงื่อนไขเพื่อคัดกรองและยืนยันผลการตรวจจับก่อนทำการวาดวงกลมลงบนภาพ โดยเงื่อนไขดังกล่าวถูกออกแบบขึ้นเพื่อให้สามารถแยกวัตถุที่สนใจ เช่น หัวสูลิจออกจากส่วนประกอบอื่นที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน เช่น เยื่ออุณวกช่องคลอด ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าและมีลักษณะรูปร่างแตกต่างกัน การตั้งเงื่อนไขจะช่วยเพิ่มความจำเพาะและความแม่นยำในการตรวจจับหัวสูลิจได้ดังรูปที่ 3.18



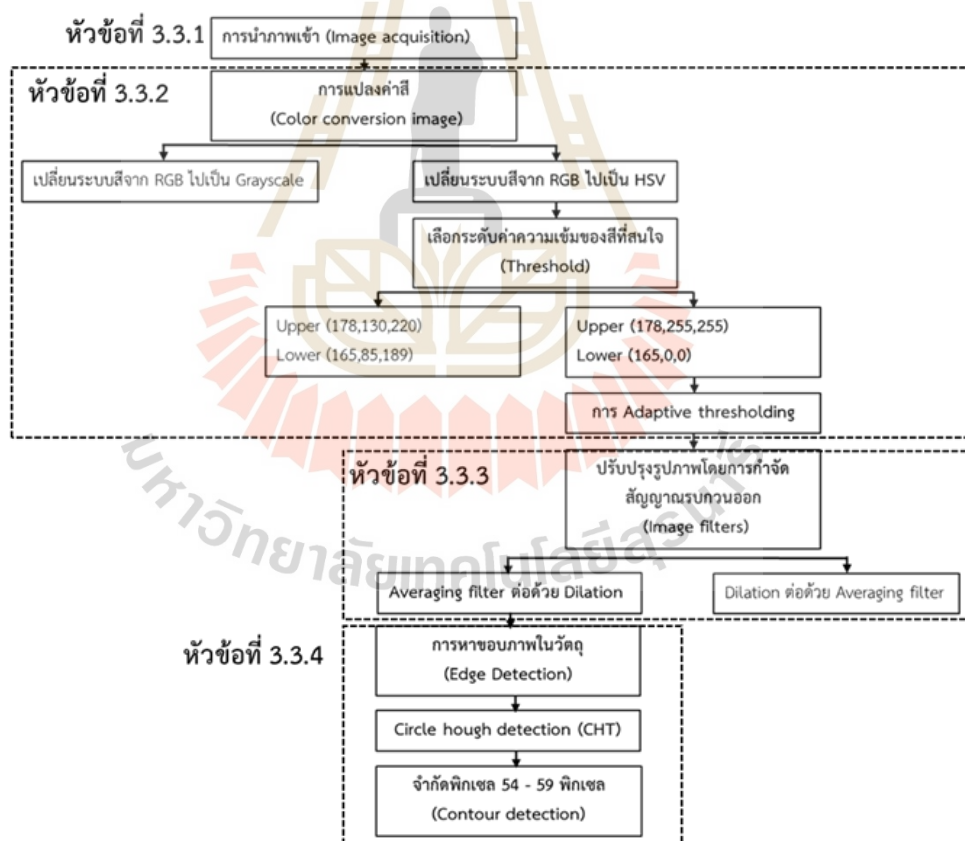
รูปที่ 3.18 การแสดงผลภาพการหาสูลิจ

นอกจากนี้ยังสามารถแสดงผลลัพธ์ในรูปแบบของการนับจำนวนอสุจิที่ตรวจพบ และบันทึกเวลาที่ใช้ในการประมวลผลภาพด้วยดังรูปที่ 3.19

Number of objects detected: 1
Time: 0.11653327941894531

รูปที่ 3.19 แสดงจำนวนของอสุจิและเวลาที่ใช้ของอัลกอริทึม

ในการพัฒนาอัลกอริทึมเพื่อตรวจหาอสุจินั้นได้ทำการทดสอบและเลือกใช้อัลกอริทึมต่าง ๆ ในแต่ละขั้นตอนมีความสำคัญเป็นอย่างมาก ทั้งการเปลี่ยนระบบสี การปรับปรุงรูปภาพ การหาขอบ และรวมไปถึงการตีกรอบรูปภาพ จากการค้นคว้าและพัฒนาอัลกอริทึมนี้จึงสรุปขั้นตอนทั้งหมดที่เลือกใช้ในการตรวจหาอสุจิดังรูปที่ 3.20



รูปที่ 3.20 การดำเนินการทดสอบเพื่อเลือกใช้อัลกอริทึมในการตรวจหาอสุจิ

3.3.5 บันทึกรูปภาพเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ

บันทึกรูปภาพพร้อมกับการนับจำนวนอสุจิ และ เวลาที่อัลกอริทึมประมวลผล (เวลาที่บันทึกจะเริ่มจับตั้งแต่การอ่านภาพจนไปถึงการแสดงผลภาพ) เป็นขั้นตอนสุดท้ายที่จะนำภาพที่ผ่านกระบวนการการประมวลผลภาพตามขั้นตอนที่ 3.3.4 มาเปรียบเทียบกับผู้เชี่ยวชาญทางด้านนิติเวชศาสตร์

3.4 ประเมินผลการทดลอง

การประเมินผลการทดลองของงานวิจัยนี้เป็นการประเมินอัลกอริทึมตรวจหาอสุจิจากรูปภาพที่ถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ โดยมีการดำเนินงานวิจัยตามขั้นตอน ดังนี้

3.4.1 ประเมินเปรียบเทียบการตรวจหาอสุจิ “พบ” และ “ไม่พบ”

ในงานวิจัยนี้มีการประเมินผลเพื่อเปรียบเทียบผลลัพธ์ระหว่างผู้เชี่ยวชาญกับอัลกอริทึมที่ใช้ในการตรวจจับตัวอสุจิในภาพชุดข้อมูล จะใช้ค่าการประเมินเชิงปริมาณ (หัวข้อ 2.5.12) โดยการประเมินการจำแนกประเภทส่วนใหญ่จะใช้วิธีการที่เรียกว่า Confusion matrix (อ้างอิงจากตารางที่ 2.1) จะทำให้เราเห็นภาพรวมของอัลกอริทึมได้ โดยงานวิจัยนี้สามารถอธิบายค่าต่างๆ ตามตารางที่ 3.1 ตาราง Confusion matrix สำหรับวัดประสิทธิภาพ เพื่อหาค่าที่จะใช้วัด ดังนี้ Accuracy, Precision, Recall และ F1 Score

ในการเก็บข้อมูลช่วงแรกของการทำวิจัยมีการรับข้อมูลผลการตรวจหาอสุจิ เพื่อระบุการพบหรือไม่พบอสุจิ และบันทึกภาพทั้ง 20 ภาพจากผู้เชี่ยวชาญเพียง 1 คน เพื่อเป็นการทดลองและพัฒนาอัลกอริทึม ทางผู้วิจัยจึงใช้ข้อมูลที่ได้รับมาเป็นต้นแบบของการดำเนินงานวิจัย

ตารางที่ 3.1 ตาราง Confusion matrix ตรวจหาอสุจิ

n=20		อัลกอริทึมตรวจหาอสุจิ	
		ตรวจพบอสุจิ	ตรวจไม่พบอสุจิ
ผลจริง (ผู้เชี่ยวชาญ)	ตรวจพบอสุจิ	(True Positive)	(False negative)
	ตรวจไม่พบอสุจิ	(False positive)	(True negative)

โดยอธิบายค่าต่าง ๆ ใน Confusion matrix ได้ดังนี้

True positive (TP) หมายถึง อัลกอริทึมตรวจพบอสุจิตรงตามผลจริง

True negative (TN) หมายถึง อัลกอริทึมไม่พบตัวอสุจิตรงตามผลจริง

False positive (FP) หมายถึง อัลกอริทึมตรวจพบอสุจิแต่ผลจริงตรวจไม่พบอสุจิ

False negative (FN) หมายถึง อัลกอริทึมตรวจไม่พบอสุจิแต่ผลจริงตรวจพบว่ามีอสุจิ

เมื่อได้ค่าความถูกต้องต่าง ๆ นำมาพิจารณาในการประเมินผลเพื่อหาค่าที่จะใช้วัด ดังนี้ Accuracy, Precision, Recall, Specificity และ F1 Score โดยจะหาค่าอ้างอิงจากสมการที่ 2.15 ถึง 2.19

3.4.2 ประเมินเปรียบเทียบการนับจำนวนของอสุจิ

ในงานวิจัยนี้ตรวจนับจำนวนเพื่อแสดงให้เห็นถึงจำนวนอสุจิในภาพระหว่างผู้เชี่ยวชาญ กับอัลกอริทึม โดยการเก็บข้อมูลจะเป็นการเก็บข้อมูลจากผู้เชี่ยวชาญ 3 คน เพื่อพิสูจน์ว่า หากเป็นผู้เชี่ยวชาญที่ไม่ใช่ผู้เชี่ยวชาญต้นฉบับจะมีการตรวจนับหรือตรวจพบผลลัพธ์เป็นอย่างไร และ เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับอัลกอริทึมที่ใช้ตรวจหาอสุจิ การวิเคราะห์การสอดคล้องของผู้เชี่ยวชาญใช้การประเมินทางเชิงสถิติแบบ Attribute Agreement Analysis (AAA) ในการวิเคราะห์การตรวจสอบความสอดคล้องของการวินิจฉัยหรือการประเมินของผู้เชี่ยวชาญในการให้ผลลัพธ์ (Elmore et al., 2015) เพื่อให้มั่นใจว่าการการตรวจนับของผู้เชี่ยวชาญนั้นเป็นไปในทิศทางเดียวกันหรือไม่

โดยคำนวณค่าความสอดคล้อง (Agreement Percentage) ทำได้โดยการนับจำนวนการประเมินที่สอดคล้องกัน (ตรงกัน)หารด้วยจำนวนการตรวจนับทั้งหมดแล้วคูณด้วย 100 เพื่อหาค่าเปอร์เซ็นต์ความสอดคล้อง

$$\text{Percentage of Agreement} = \frac{\text{Number of Agreements}}{\text{Total Number of Assessments}} \quad (3.1)$$

คำนวณค่า Kappa (สำหรับความสอดคล้องเชิงสถิติ) ค่า Kappa statistic (**K**) เป็นตัวชี้วัดที่ใช้ในการประเมินความสอดคล้องที่ควบคุมค่าความสอดคล้องที่เกิดขึ้นโดยบังเอิญ โดยค่า Kappa จะมีค่าอยู่ระหว่าง -1 ถึง 1:

ค่า Kappa ที่ 1 แสดงถึงความสอดคล้องสมบูรณ์

ค่า Kappa ที่ 0 แสดงถึงความสอดคล้องเท่ากับที่เกิดขึ้นโดยบังเอิญ

ค่า Kappa ติดลบแสดงถึงความสอดคล้องที่ต่ำกว่าการคาดหมายจากการเกิดโดยบังเอิญ

สูตรคำนวณค่า Kappa:

$$k = \frac{P_0 - P_e}{1 - P_e} \quad (3.2)$$

โดยที่:

P_0 คือสัดส่วนของการประเมินที่สอดคล้องกันจริง

P_e คือสัดส่วนของการประเมินที่คาดว่าควรสอดคล้องกัน

3.4.3 ประเมินเปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการตรวจจับอสุจิ

การเปรียบเทียบเวลาในการประมวลผลภาพจะเป็นการเปรียบเทียบเวลาระหว่างผู้เชี่ยวชาญ 3 คน และ การประมวลผลของอัลกอริทึมที่ใช้ 3 ครั้ง โดยจะประเมินด้วยการทดสอบสมมติฐาน (Hypothesis Testing) เพื่อเปรียบเทียบเวลาเฉลี่ยระหว่างผู้เชี่ยวชาญกับอัลกอริทึม ว่ามีความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่

ในการบันทึกเวลานั้นผู้เชี่ยวชาญจะเริ่มการจับเวลาเมื่อเห็นรูปภาพ ตรวจสอบสุจิตนมันใจกับผลลัพธ์ของรูปภาพนั้นแล้วจึงหยุดเวลา ส่วนการจับเวลาของอัลกอริทึมจะเริ่มจากการนำภาพเข้าระบบจนถึงภาพแสดงผลออกมาจึงหยุดเวลา ดังนั้น เพื่อเปรียบเทียบเวลาในการตรวจสอบสุจิตจะเลือกใช้การวิเคราะห์ผลแบบ Paired t-test เนื่องจากเป็นการใช้ชุดข้อมูลที่ใช้เปรียบเทียบเดียวกัน (Xu et al., 2017) จากสมการ 3.3 และ 3.4 เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่

สูตรการคำนวณ Paired t-test:

$$t = \frac{\sum D}{\sqrt{\frac{N \sum D^2 - (\sum D)^2}{N-1}}} \quad (3.3)$$

$$df = n - 1 \quad (3.4)$$

โดยที่:

t คือ ค่าทดสอบ T-test (ตารางเทียบค่า T-distribution, t)

N คือ จำนวนคู่ข้อมูล

D คือ ค่าความต่างระหว่างคู่ของข้อมูล

n คือ จำนวนข้อมูล

df หรือ Degree of freedom คือ จำนวนข้อมูลลบด้วย 1

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4

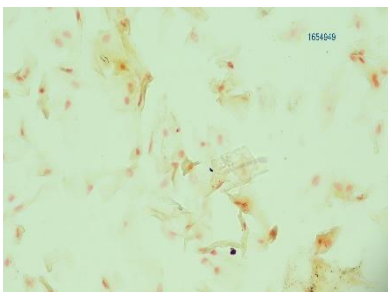
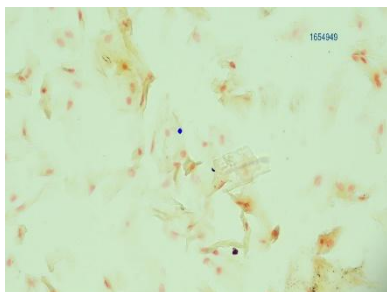
ผลการวิจัยและอภิปราย

การทดลองของอัลกอริทึมที่ประยุกต์ใช้ในการตรวจหาอสุจิในภาพ จำนวน 20 รูปภาพ ได้ผลการวิเคราะห์ และผลการอภิปรายผลวิจัย ซึ่งเป็นผลจากการวิเคราะห์การตรวจหาอสุจิ การเก็บข้อมูลผลลัพธ์ของภาพที่ทดลองมาทำการประเมินประสิทธิภาพของอัลกอริทึม โดยผลการดำเนินการตามขั้นตอนวิธีการพัฒนาอัลกอริทึมอธิบายรายละเอียดได้ดังนี้

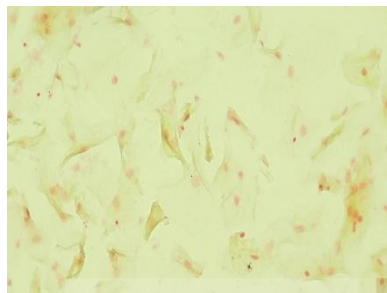
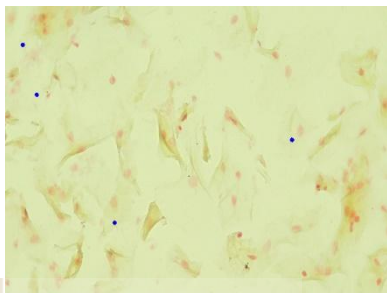
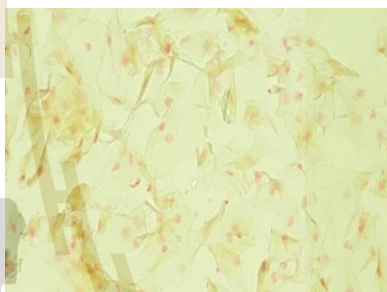
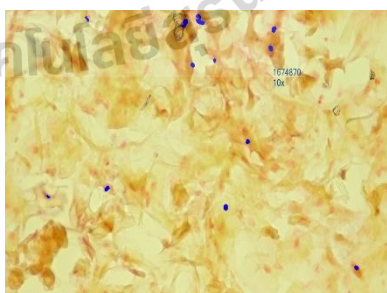
4.1 ผลการวิเคราะห์การตรวจพบอสุจิ

จากการนำชุดข้อมูลมาตรวจหาอสุจิในภาพจำนวน 20 รูปภาพ ตามวิธีการในหัวข้อที่ 3.3 ได้ทำการทดลองตรวจหาอสุจิจากภาพต้นฉบับสู่การประมวลผลภาพและแสดงผลภาพเพื่อตรวจหาอสุจิ ได้ทำการเปรียบเทียบผลจากผู้เชี่ยวชาญ 1 ท่าน ที่เป็นต้นแบบในการตรวจหาอสุจิว่า “พบ” และ “ไม่พบ” ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.1 และ ตารางที่ 4.2

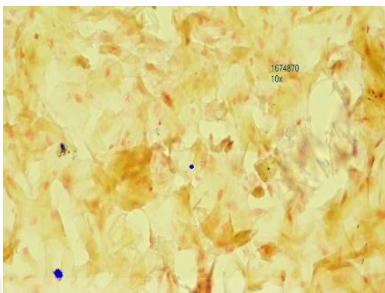
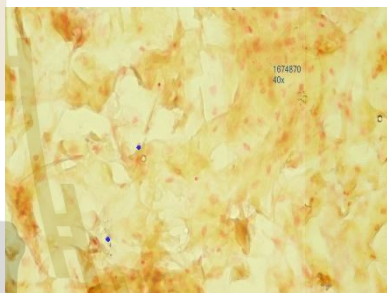
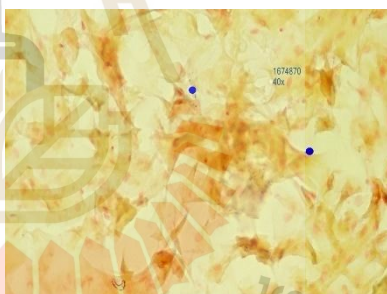
ตารางที่ 4.1 ภาพต้นฉบับและภาพแสดงผลจากการผ่านการทดลองของอัลกอริทึม

รูปภาพ	ภาพต้นฉบับ	ภาพแสดงผล	การตรวจพบโดยอัลกอริทึม
1			พบ
2			พบ

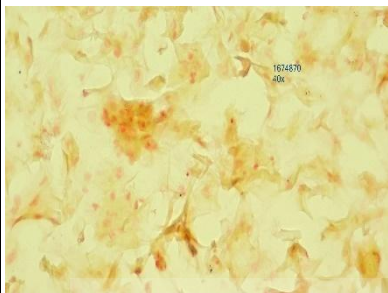
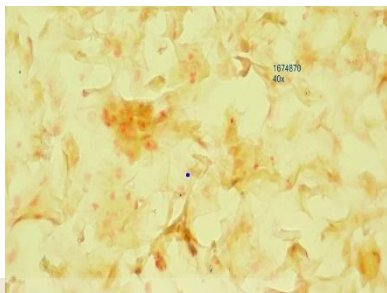
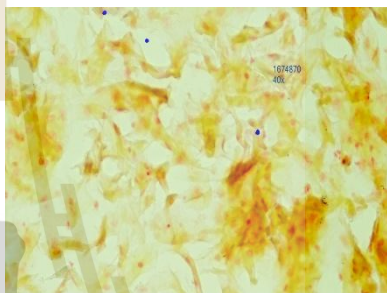
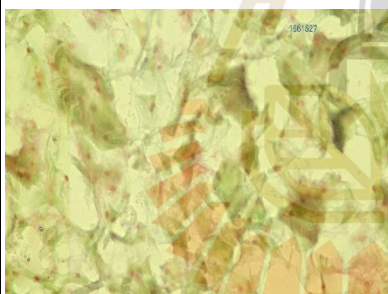
ตารางที่ 4.1 ภาพต้นฉบับและภาพแสดงผลจากการผ่านการทดลองของอัลกอริทึม (ต่อ)

รูปภาพ	ภาพต้นฉบับ	ภาพแสดงผล	การตรวจพบโดยอัลกอริทึม
3			พบ
4			พบ
5			พบ
6			พบ

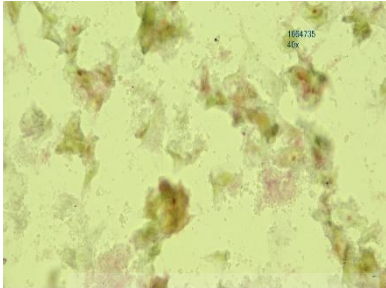
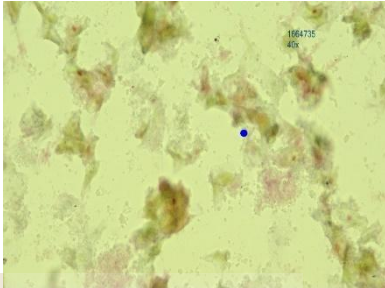
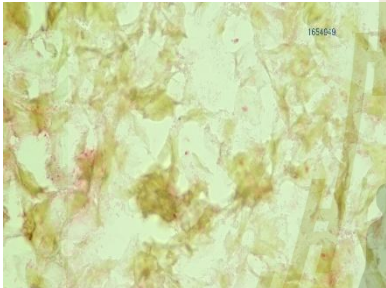
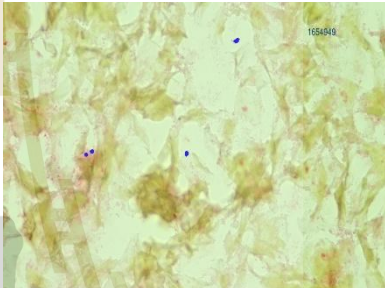
ตารางที่ 4.1 ภาพต้นฉบับและภาพแสดงผลจากการผ่านการทดลองของอัลกอริทึม (ต่อ)

รูปภาพ	ภาพต้นฉบับ	ภาพแสดงผล	การตรวจพบ โดยอัลกอริทึม
7			พบ
8			พบ
9			พบ
10			พบ

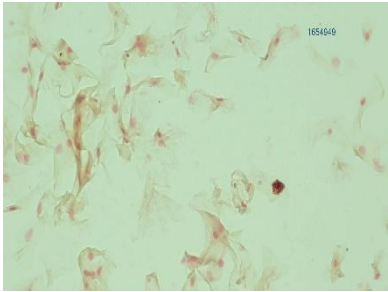
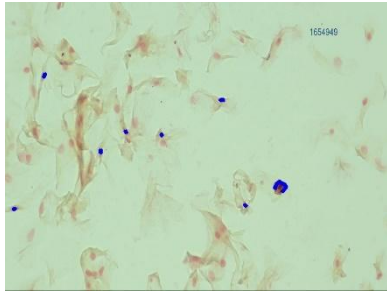
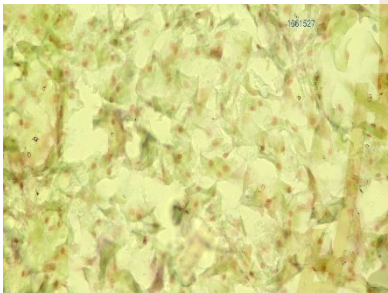
ตารางที่ 4.1 ภาพต้นฉบับและภาพแสดงผลจากการผ่านการทดลองของอัลกอริทึม (ต่อ)

รูปภาพ	ภาพต้นฉบับ	ภาพแสดงผล	การตรวจพบ โดยอัลกอริทึม
11			พบ
12			พบ
13			ไม่พบ
14			ไม่พบ

ตารางที่ 4.1 ภาพต้นฉบับและภาพแสดงผลจากการผ่านการทดลองของอัลกอริทึม (ต่อ)

รูปภาพ	ภาพต้นฉบับ	ภาพแสดงผล	การตรวจพบ โดยอัลกอริทึม
15			พบ
16			พบ
17			พบ
18			ไม่พบ

ตารางที่ 4.1 ภาพต้นฉบับและภาพแสดงผลจากการผ่านการทดลองของอัลกอริทึม (ต่อ)

รูปภาพ	ภาพต้นฉบับ	ภาพแสดงผล	การตรวจพบ
19			พบ
20			ไม่พบ

จากตารางที่ 4.1 แสดงภาพต้นฉบับและภาพจากอัลกอริทึมเมื่อเทียบการพบเป็นตัวเลขจะอธิบายดังตารางที่ 4.2 แสดงผล “พบ” = 1 และ “ไม่พบ” = 0 เนื่องจากเป็นผลจากผู้เชี่ยวชาญเทียบกับอัลกอริทึม

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบการพบและไม่พบอสุจิของผู้เชี่ยวชาญกับอัลกอริทึม

รูปภาพ	ผู้เชี่ยวชาญ	อัลกอริทึม	หมายเหตุ
1	1	1	
2	1	1	
3	1	1	
4	1	1	
5	1	1	
6	1	1	
7	1	1	
9	1	1	
10	1	1	
11	1	1	
12	1	1	
13	0	0	
14	0	0	
15	1	1	

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบการพบและไม่พบอสุจิของผู้เชี่ยวชาญกับอัลกอริทึม (ต่อ)

รูปภาพ	ผู้เชี่ยวชาญ	อัลกอริทึม	หมายเหตุ
16	1	1	
17	1	1	
18	1	0	ไม่ตรงกัน
19	1	1	
20	0	0	

จากการวิเคราะห์ตรวจหาอสุจิในตารางที่ 4.1 และ ตารางที่ 4.2 พบว่าในกรณีการพบและไม่พบอสุจิของชุดข้อมูลนี้ ในรูปภาพที่ 18 (ตัวอย่างรูปภาพอยู่ในตารางที่ 4.1) มีการตรวจพบที่ไม่ตรงกันอาจจะเป็นรูปภาพที่สีของหัวอสุจิอาจจะไม่ได้อยู่ในเฉดสีเดียวกันกับภาพอื่น ๆ ในชุดข้อมูล จึงทำให้ไม่สามารถตรวจหาได้พบ และรวมไปถึงถ้ามีการตรวจหาอสุจิที่มีสีที่แตกต่างไปจากชุดข้อมูลนี้ก็อาจจะทำให้เกิดเหตุการณ์แบบนี้ขึ้นอีกได้ก็อาจจะเกิดอีกได้ และในตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบอัลกอริทึมกับผู้เชี่ยวชาญผลที่ได้ในการตรวจหาอสุจิในจำนวน 20 รูปภาพ ได้ผลก็คือ มีการตรวจพบอสุจิตรงกับผู้เชี่ยวชาญเป็นจำนวนที่ 16 รูปภาพ ไม่พบอสุจิตรงกันที่ 3 รูปภาพ และ 1 รูปภาพที่ผู้เชี่ยวชาญ พบอสุจิ แต่อัลกอริทึมตรวจไม่พบ (หมายเหตุ: ไม่ตรงกัน) สามารถนำมาเปรียบเทียบเพื่อวัดประสิทธิภาพโดยนำข้อมูลมาวิเคราะห์ Confusion matrix ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ตารางเปรียบเทียบรูปภาพในอยู่ในรูปของ Confusion matrix

n=20		อัลกอริทึมตรวจหาอสุจิ	
		ตรวจพบอสุจิ	ตรวจไม่พบอสุจิ
ผลจริง (ผู้เชี่ยวชาญ)	ตรวจพบอสุจิ	16 (True Positive)	1 (False negative)
	ตรวจไม่พบอสุจิ	0 (False positive)	3 (True negative)

จากตารางที่ 4.3 ในกรณีที่มีความร้ายแรงเกิดขึ้น กรณีที่ 1 คือ อัลกอริทึมตรวจไม่พบอสุจิแต่ผลจริงตรวจพบว่ามีอสุจิ (False negative, FN) ในกรณีนี้เรียกว่าอัลกอริทึมไม่สามารถหาหลักฐานมัดตัวผู้กระทำผิดได้ทั้งที่กระทำผิดจริง และในกรณีที่ 2 เป็นกรณีที่อัลกอริทึมตรวจพบอสุจิแต่ผลจริงไม่พบอสุจิ (False positive, FP) ซึ่งถ้าเกิดกรณีนี้ขึ้นจะเป็นกรณีที่ผิดพลาดมากกว่า เพราะผู้บริสุทธิ์จะตกเป็นผู้กระทำผิดในคดีได้ จากข้อมูลในตารางที่ 4.3 ตารางเปรียบเทียบรูปภาพแบบ Confusion matrix จากการได้ข้อมูลสามารถนำข้อมูลมาคำนวณหาประสิทธิภาพของอัลกอริทึมการตรวจหาอสุจิได้ตามสมการที่ 2.15 ถึง สมการที่ 2.19 จะได้ผลการคำนวณประสิทธิภาพของอัลกอริทึม ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 คำนวณประสิทธิภาพของอัลกอริทึมตรวจหาอสุจิ

Parameter	Result
Accuracy	95.00%
Recall	94.12%
Specificity	100.00%
Precision	100.00%
F1-Score	96.97%

จากตารางที่ 4.4 เป็นการวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพของอัลกอริทึมที่สามารถตรวจหาอสุจิได้ดังนี้ ค่าความถูกต้องที่ 95.00%, การระบุผลบวกที่แท้จริงที่ 94.12%, ความจำเพาะที่ 100.00% , ความแม่นยำที่ 100.00% และ ประสิทธิภาพของอัลกอริทึมการจำแนกประเภท 96.97%

4.2 ผลการเปรียบเทียบการนับจำนวนของอสุจิ

การเปรียบเทียบจำนวนนับ จะใช้ผู้เชี่ยวชาญ 3 คน ในการนับจำนวนอสุจิในภาพ โดยการเปรียบเทียบระหว่างผู้เชี่ยวชาญ และอัลกอริทึม ดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ตารางการนับของผู้เชี่ยวชาญกับอัลกอริทึม

รูปภาพ	ผู้เชี่ยวชาญ			อัลกอริทึม		
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	2	2	2	2	2	2
2	1	1	1	1	1	1
3	4	6	5	4	4	4
4	1	2	1	2	2	2
5	2	6	1	4	4	4
6	2	3	2	6	6	6
7	3	3	2	5	5	5
8	3	7	2	2	2	2
9	4	5	4	2	2	2
10	3	3	3	2	2	2
11	2	3	2	1	1	1
12	3	4	2	3	3	3
13	0	0	0	0	0	0
14	0	2	0	0	0	0
15	1	1	1	1	1	1
16	2	3	1	4	4	4
17	1	3	1	1	1	1
18	1	2	1	0	0	0

ตารางที่ 4.5 ตารางการนับของผู้เชี่ยวชาญกับอัลกอริทึม (ต่อ)

รูปภาพ	ผู้เชี่ยวชาญ			อัลกอริทึม		
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
19	1	3	0	2	2	2
20	0	1	0	0	0	0

จากตารางที่ 4.5 ในส่วนแรกจะนำข้อมูลผู้เชี่ยวชาญมาทำการเปรียบเทียบกัน เนื่องจากผู้เชี่ยวชาญ 3 คน มีการนับจำนวนของอสุจิไม่เท่ากันจึงนำผู้เชี่ยวชาญ 3 คนมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อตรวจสอบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ โดยวิเคราะห์ความสอดคล้องของผลการประเมินระหว่างกลุ่มในการนับอสุจิในชุดข้อมูลเดียวกัน โดยใช้โปรแกรม Minitab16 ได้ผลดังรูปที่ 4.1

Attribute Agreement Analysis for Expert 1,Expert 2,Expert 3

Between Appraisers

Assessment Agreement

# Inspected	# Matched	Percent	95% CI
20	5	25.00	(8.66, 49.10)

Matched: All appraisers' assessments agree with each other.

Fleiss' Kappa Statistics

Response	Kappa	SE Kappa	Z	P(vs > 0)
0	0.567308	0.129099	4.39435	0.0000
1	0.403409	0.129099	3.12479	0.0009
2	0.111111	0.129099	0.86066	0.1947
3	0.166667	0.129099	1.29099	0.0984
4	0.196429	0.129099	1.52153	0.0641
5	-0.034483	0.129099	-0.26710	0.6053
6	-0.034483	0.129099	-0.26710	0.6053
7	-0.016949	0.129099	-0.13129	0.5522
Overall	0.251559	0.061744	4.07424	0.0000

รูปที่ 4.1 ผลคำนวณ Attribute Agreement Analysis ในการนับจำนวน

จากรูปที่ 4.1 ภาพที่แสดงถึงค่าการคำนวณทางสถิติด้วยผลการคำนวณเชิงสถิติแบบ Attribute Agreement Analysis โดยจากจำนวนรูปภาพ 20 ภาพ มีค่าที่นับได้ตรงกันอยู่ที่ 5 รูป สัดส่วนการนับตรงกันอยู่ที่ 25% และช่วงความเชื่อมั่นที่ 95% คือ ระหว่าง 8.66% ถึง 49.10% ซึ่งหมายความว่าในการนับจำนวนของกลุ่มผู้เชี่ยวชาญที่มีการนับจำนวนที่เท่ากัน เพียง 25% ซึ่งเป็นระดับที่ค่อนข้างต่ำ และ Fleiss' Kappa Statistics ใช้วัดระดับการสอดคล้องของการประเมินจากผู้เชี่ยวชาญ 3 คน ผลวิเคราะห์ค่า Kappa สูงสุดพบใน Response 0 (0.567308) และ Response 1

(0.403409) ซึ่งเป็นการบ่งชี้การประเมินของทั้งสองระดับที่มีการสอดคล้องในระดับ ปานกลางถึงสูง ตามการตีความของ Landis and Koch (1977) ซึ่งถือว่าผู้เชี่ยวชาญมีการตรวจที่ใกล้เคียงกัน แต่ในทางกลับกัน Response 2 ถึง Response 6 มีค่า Kappa ตีลบ (เช่น -0.034883) แสดงถึงความสอดคล้องที่ต่ำกว่าที่คาดการณ์ หรือกล่าวคือผู้เชี่ยวชาญมีความเห็นที่ไม่ตรงกันอย่างมีนัยสำคัญในคำตอบเหล่านี้ ซึ่งอาจสะท้อนถึงความไม่ชัดเจนในเกณฑ์การประเมิน หรือความยากในการแยกแยะลักษณะของการตรวจวัด และ ค่า Kappa โดยรวมอยู่ที่ 0.251559 ซึ่งอยู่ในระดับ ปานกลางถึงต่ำ (Fair agreement) ตามเกณฑ์ของ Landis and Koch (1977) การที่ค่า Kappa รวมอยู่ในระดับนี้สะท้อนถึงความสอดคล้องในการประเมินของผู้เชี่ยวชาญในภาพรวมยังไม่ดีพอสำหรับการสรุปผลในลักษณะที่น่าเชื่อถือในเชิงวิทยาศาสตร์ ดังนั้นจากรูปที่ 4.1 สามารถทำให้เห็นถึงการผิดพลาดของการตรวจหาอสุจิได้ด้วย ก็คือ เมื่อมีการนับจำนวนเกิดขึ้น นั้นแสดงว่ามีการตรวจพบของอสุจิซึ่งถ้าสังเกตผู้เชี่ยวชาญแต่ละคนก็มีการนับจำนวนที่ เท่ากัน และ ไม่เท่ากัน โดยอาจจะเกิดข้อผิดพลาดทาง Human Error ได้ และ ในส่วนของอัลกอริทึมนั้นจะมีการตรวจพบและนับจำนวนที่เท่ากัน เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนอสุจิกับรูปภาพและการนับจำนวน (ผู้เชี่ยวชาญและอัลกอริทึม) ว่ามีความสัมพันธ์กันในเชิงสถิติหรือไม่ โดยคำนวณผลได้ดังรูปที่ 4.2

Two-way ANOVA: Number of sperms versus Picture, Method

Source	DF	SS	MS	F	P
Pic	19	68.9	3.62632	3.81	0.003
Method	1	0.9	0.90000	0.94	0.343
Error	19	18.1	0.95263		
Total	39	87.9			

S = 0.9760 R-Sq = 79.41% R-Sq(adj) = 57.73%

รูปที่ 4.2 ผลคำนวณ Two-way ANOVA วิเคราะห์การนับจำนวนอสุจิ

จากรูปที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ Two-way ANOVA แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรสองตัว คือ Picture (รูปภาพ) และ Method (การนับจำนวนทั้งผู้เชี่ยวชาญและอัลกอริทึม) และผลกระทบในการนับจำนวนอสุจิ โดยสามารถสรุปได้ดังนี้

1. วิเคราะห์ปัจจัยของ Picture (รูปภาพ) จากผลการคำนวณพบว่า มีค่า F เท่ากับ 3.81 และ

ค่า P-value เท่ากับ 0.003 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P\text{-value} < 0.05$) บ่งชี้ได้ว่ารูปภาพมีนัยสำคัญต่อจำนวนอสุจิ ทำให้เห็นได้ว่าความแตกต่างของรูปภาพอาจมีผลต่อกระบวนการวิเคราะห์ได้ เช่น ความชัดเจน ความเข้มของสี หรือมุมมองของรูปภาพ

2. วิเคราะห์ปัจจัยของ Method (การนับจำนวนของผู้เชี่ยวชาญและอัลกอริทึม) จากผลการ

คำนวณพบว่า มีค่า F เท่ากับ 0.94 และ ค่า P-value เท่ากับ 0.343 ซึ่งไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P\text{-value} > 0.05$) หมายความว่า วิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์ไม่ใช่อุปกรณ์ที่สำคัญที่มีผลต่อจำนวนอสุจิ

สรุปได้ว่าการที่นับจำนวนของผู้เชี่ยวชาญและอัลกอริทึมไม่มีผลอย่างนัยสำคัญทางสถิติแสดงว่าวิธีการในการนับอสูจิไม่ใช่ปัจจัยที่ส่งผลต่อการนับจำนวนของอสูจิ ซึ่งในงานวิจัยนี้การเปรียบเทียบจำนวนเป็นส่วนหนึ่งของวัตถุประสงค์ของงานวิจัยเพื่อความสะดวกคล่องจึงนำจำนวนนับมาวิเคราะห์เชิงสถิติว่ามีสัมพันธ์กันหรือไม่ จากรูปที่ 4.1 การคำนวณสังเกตได้ว่าเมื่อวิเคราะห์เฉพาะกลุ่มของผู้เชี่ยวชาญเอง ยังมีความสอดคล้องที่อยู่ในระดับที่ 25% ของข้อมูลการจำแนกนับที่ตรงกัน แต่การนับจำนวนของอสูจิก็น่าจะสำคัญเท่ากับการพบ และไม่พบอสูจิ เนื่องจากการพบตัวอสูจิ เป็นข้อเท็จจริงที่ใช้ในทางกฎหมายที่ช่วยในการยืนยันว่ามีการล่วงละเมิดทางเพศแล้ว

4.3 ผลการทดลองเปรียบเทียบเวลาของการตรวจหาอสูจิ

การตรวจหาอสูจิได้มีการตรวจจับเวลาระหว่างผู้เชี่ยวชาญ กับอัลกอริทึมเปรียบเทียบจากผู้เชี่ยวชาญ 3 คนและอัลกอริทึม 3 ครั้ง เมื่อทำการบันทึกเวลาเรียบร้อยแล้วทำการเฉลี่ยเวลาของผู้เชี่ยวชาญและอัลกอริทึมดูว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ ตามที่ได้อธิบายไปในหัวข้อ 3.4.2

ตารางที่ 4.6 ตารางเวลาการตรวจหาอสูจิของผู้เชี่ยวชาญ 3 คน

รูปภาพ	จับเวลาการหาอสูจิ (วินาที)		
	ผู้เชี่ยวชาญ1	ผู้เชี่ยวชาญ2	ผู้เชี่ยวชาญ3
1	6.3	3	1.85
2	6.32	3	4.36
3	14.91	5	6.1
4	13.99	3	4.88
5	12	10	5.97
6	15.61	5	13.32
7	7.51	4	4.09
8	13	5	5.37
9	16.66	3	8.34
10	8.01	2	5.12
11	6.44	2	4.42
12	11.77	4	6.18
13	5.01	4	25.82
14	8.04	4	17.68
15	3.51	2	4.03
16	5.84	3	3.51
17	7.11	3	4.47
18	4.76	3	3.41

ตารางที่ 4.7 ตารางเวลาการตรวจหาอสูจิของผู้เชี่ยวชาญ 3 คน (ต่อ)

รูปภาพ	จับเวลาการหาอสูจิ (วินาที)		
	ผู้เชี่ยวชาญ1	ผู้เชี่ยวชาญ2	ผู้เชี่ยวชาญ3
19	6.06	4	15.64
20	7.88	12	31.15

ตารางที่ 4.7 ตารางเวลาการตรวจหาอสูจิของอัลกอริทึม 3 ครั้ง

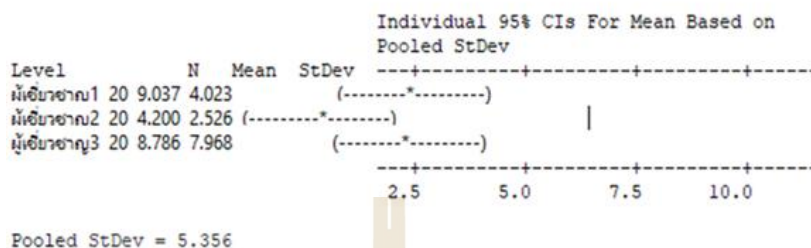
รูปภาพ	จับเวลาการหาอสูจิของอัลกอริทึม (วินาที)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	0.1321	0.1181	0.1243
2	0.1631	0.1193	0.1181
3	0.1228	0.1195	0.1221
4	0.1632	0.1164	0.116
5	0.1627	0.1435	0.1433
6	0.1679	0.1344	0.1047
7	0.1623	0.1014	0.1608
8	0.1426	0.1024	0.1231
9	0.1612	0.173	0.1583
10	0.1536	0.1034	0.1421
11	0.1689	0.1642	0.0986
12	0.2710	0.1217	0.1032
13	0.1381	0.1346	0.1362
14	0.1821	0.1163	0.1401
15	0.1816	0.1383	0.1431
16	0.1615	0.1334	0.1242
17	0.1613	0.16	0.1232
18	0.1537	0.1583	0.1421
19	0.1457	0.1298	0.1236
20	0.1511	0.1321	0.1588

จากตารางที่ 4.6 และ 4.7 นำข้อมูลในตารางเวลามาหาค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ โดยคำนวณเปรียบเทียบเวลาได้ดังรูปที่ 4.3

One-way ANOVA: ผู้เชี่ยวชาญ1, ผู้เชี่ยวชาญ2, ผู้เชี่ยวชาญ3

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	2	296.5	148.3	5.17	0.009
Error	57	1634.9	28.7		
Total	59	1931.5			

S = 5.356 R-Sq = 15.35% R-Sq(adj) = 12.38%

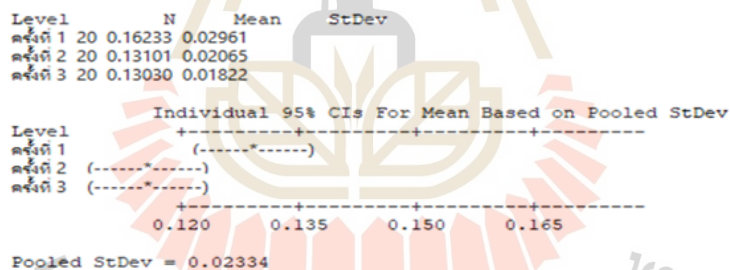


รูปที่ 4.3 การคำนวณเปรียบเทียบเวลาระหว่างผู้เชี่ยวชาญ 3 คน

One-way ANOVA: ครั้งที่ 1, ครั้งที่ 2, ครั้งที่ 3

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	2	0.013382	0.006691	12.28	0.000
Error	57	0.031063	0.000545		
Total	59	0.044445			

S = 0.02334 R-Sq = 30.11% R-Sq(adj) = 27.66%



รูปที่ 4.4 การคำนวณเปรียบเทียบเวลาระหว่างการตรวจหาอสุจิ 3 ครั้ง

จากการคำนวณของการหาความแตกต่างของรูปที่ 4.3 พบว่าค่า P-Value เท่ากับ 0.009 (น้อยกว่า 0.05) มีความแตกต่างกันระหว่างค่าเฉลี่ยในกลุ่มเวลาของผู้เชี่ยวชาญ โดยจะเห็นว่า ค่าเฉลี่ยเวลาของผู้เชี่ยวชาญคนที่ 2 มีการใช้เวลาการตรวจหาอสุจิน้อยที่สุด คือ 4.200 วินาที และ ในส่วนของอัลกอริทึมการตรวจหาอสุจินั้นเวลาเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างในเรื่องของการตรวจหาอสุจิ ภายในของกลุ่ม เนื่องจากค่า P-value ค่าเท่ากับ 0 มีผลการคำนวณดังรูปที่ 4.4

เพื่อการเปรียบเทียบสองข้อมูลระหว่างเวลาเฉลี่ยของผู้เชี่ยวชาญกับอัลกอริทึมว่ามีความ ต่างกันเชิงสถิติหรือไม่ โดยผู้วิจัยจะนำค่าที่เฉลี่ยของแต่ละกลุ่มที่ใช้เวลาเฉลี่ยที่น้อยที่สุดมาคำนวณหา เวลาเฉลี่ยที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่ม จะได้ผลดังรูปที่ 4.5

Paired T-Test and CI: ผู้เชี่ยวชาญ2, ครั้งที่ 3

Paired T for ผู้เชี่ยวชาญ2 - ครั้งที่ 3

	N	Mean	StDev	SE Mean
ผู้เชี่ยวชาญ2	20	4.200	2.526	0.565
ครั้งที่ 3	20	0.130	0.018	0.004
Difference	20	4.070	2.520	0.563

95% CI for mean difference: (2.890, 5.249)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = 7.22 P-Value = 0.000

รูปที่ 4.5 การคำนวณเปรียบเทียบเวลาระหว่างผู้เชี่ยวชาญกับอัลกอริทึม

จากรูปที่ 4.5 แสดงผลการคำนวณความแตกต่างของเวลาในโปรแกรม Minitab 16 (T-test) ตามสมการที่ 3.1 และ 3.2 แสดงให้เห็นว่า เวลาระหว่างผู้เชี่ยวชาญกับอัลกอริทึมแตกต่างกันเฉลี่ยอยู่ที่ 4.070 วินาที โดยอัลกอริทึมใช้เวลาได้น้อยกว่า (เมื่ออยู่ในเกณฑ์ระดับนัยสำคัญที่ 0.05)



บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การดำเนินการวิจัยนี้มีผลการวิจัยเพื่อพัฒนาอัลกอริทึมที่ช่วยในการตรวจหาอสุจิจากภาพถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ซึ่งสรุปได้ว่าผลการวิจัยทดสอบการตรวจหาอสุจิของอัลกอริทึมสามารถตรวจหาอสุจินั้นสามารถตรวจหาอสุจิได้ นับจำนวน และบอกตำแหน่งที่พบในภาพได้ รวมไปถึงสามารถใช้เวลาที่น้อยลงเมื่อเทียบกับผู้เชี่ยวชาญทางนิติเวชศาสตร์ได้ตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ โดยอัลกอริทึมมีประสิทธิภาพของโมเดลที่ 95.00% Accuracy, 94.12.% Recall, 100.00% Precision, และ 96.97% F1-Score (ประสิทธิภาพของอัลกอริทึมการจำแนกประเภท) การนับจำนวนมีความเท่ากันและสอดคล้องกันของข้อมูล เมื่อเทียบกับผู้เชี่ยวชาญ แต่ในงานวิจัยนี้ให้ความสำคัญกับการพบ และไม่พบอสุจิ มากกว่าการนับจำนวน เนื่องจากเมื่อหากพบอสุจิ เพียง 1 ตัวก็สามารถทำให้รูปภาพนั้นเกิดข้อสงสัยขึ้นมาได้แล้ว และ อีกอย่างของการนับจำนวนจะสังเกตได้ว่าในรูปภาพเดียวกันในผู้เชี่ยวชาญเองยังมีการนับจำนวนที่ไม่เท่ากันเกิดขึ้นด้วย ในส่วนของเวลาอัลกอริทึมสามารถลดเวลาการตรวจหาอสุจิได้จริง ซึ่งใช้เวลาน้อยกว่าเมื่อเทียบกับผู้เชี่ยวชาญทางนิติเวช ดังนั้นทำอัลกอริทึมสามารถช่วยลดเวลาในการตรวจหาอสุจิได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ความแม่นยำและประสิทธิภาพของอัลกอริทึมสามารถนำไปปรับปรุงเพิ่มความแม่นยำของการตรวจจับอสุจิ โดยใช้เทคนิคใหม่ ๆ เช่น การเรียนรู้เชิงลึก (Deep learning)

5.2.2 การเพิ่มจำนวนรูปภาพให้มากกว่า 20 รูปภาพ อาจช่วยให้ผลลัพธ์มีความแม่นยำและเชื่อถือได้มากยิ่งขึ้น รวมไปถึงการควบคุมการได้มาซึ่งภาพ โดยการควบคุมทั้งแสง สี และความเข้มเพื่อให้ผลการทดสอบครอบคลุมและเป็นที่ยอมรับมากขึ้น

5.2.3 การพัฒนาเพิ่มเติมในอนาคตควรขยายขอบเขตการใช้งานการประมวลผลภาพให้ได้ไปยังการตรวจจับปัญหาสุขภาพอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง หรือการนำเทคโนโลยีใหม่ ๆ เพื่อเป็นประโยชน์ต่อไปในทางการแพทย์ และอุตสาหกรรมต่าง ๆ

รายการอ้างอิง

- A, K. K., M, V. J., & S, T. M. (2018, 21-22 Dec. 2018). *Colour based Image Segmentation for Automated Detection of Leukaemia: A comparison between CIELAB and CMYK colour spaces*. Paper presented at the 2018 International Conference on Circuits and Systems in Digital Enterprise Technology (ICCSDET).
- Allery, J. P., Telmon, N., Mieusset, R., Blanc, A., & Rougé, D. (2001). Cytological detection of spermatozoa: comparison of three staining methods. *J Forensic Sci*, 46(2), 349-351.
- Arthur, R. M., Humburg, P. J., Hoogenboom, J., Baiker, M., Taylor, M. C., & de Bruin, K. G. (2017). An image-processing methodology for extracting bloodstain pattern features. *Forensic Sci Int*, 277, 122-132. doi:10.1016/j.forsciint.2017.05.022
- Balki, I., Amirabadi, A., Levman, J., Martel, A. L., Emersic, Z., Meden, B., . . . Tyrrell, P. N. (2019). Sample-Size Determination Methodologies for Machine Learning in Medical Imaging Research: A Systematic Review. *Can Assoc Radiol J*, 70(4), 344-353. doi:10.1016/j.carj.2019.06.002
- Chadha, G. K., Srivastava, A., Singh, A., Gupta, R., & Singla, D. (2020). An Automated Method for Counting Red Blood Cells using Image Processing. *Procedia Computer Science*, 167, 769-778.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.procs.2020.03.408>
- Chen, Y. Y. (2020). *Dog and Cat Classification with Deep Residual Network*. Paper presented at the Proceedings of the 2020 European Symposium on Software Engineering, Rome, Italy. <https://doi.org/10.1145/3393822.3432321>
- Davies, E. R. (2012). *Computer and machine vision: theory, algorithms, practicalities*: Academic Press.
- De Lamirande, E. (2007). Semenogelin, the main protein of the human semen coagulum, regulates sperm function. *Semin Thromb Hemost*, 33(1), 60-68.
doi:10.1055/s-2006-958463
- Deshmukh, S., Inci, F., Karaaslan, M. G., Ogut, M. G., Duncan, D., Klevan, L., . . . Demirci, U. (2020). A confirmatory test for sperm in sexual assault samples using a microfluidic-integrated cell phone imaging system. *Forensic Science International: Genetics*, 48, 102313.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102313>

รายการอ้างอิง (ต่อ)

- El-kenawy, E.-S. M., Eid, M. M., & Ibrahim, A. (2021). Automatic identification from noisy microscopic images. *Journal of Computer Science and Information Systems*, 17(11).
- Fagna, A. (2018). Understanding Edge Detection(Sobel Operator). *Abgerufen am*, 9, 2019.
- Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J., & Zeller, R. (2008). Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *Cold spring harbor protocols*, 2008(5), pdb. prot4986.
- Ghasemian, F., Mirroshandel, S. A., Monji-Azad, S., Azarnia, M., & Zahiri, Z. (2015). An efficient method for automatic morphological abnormality detection from human sperm images. *Computer methods and programs in biomedicine*, 122(3), 409-420.
- Gonzalez, R. C., & Woods, R. E. (2008). *Digital Image Processing*: Prentice Hall.
- Gonzalez, R. C., & Woods, R. E. (2017). *Digital image processing, global edition*: Pearson Education Canada.
- Gonzalez, R. C., & Woods, R. E. (2018). *Digital Image Processing*: Pearson.
- Goodwin, W., Linacre, A., & Hadi, S. (2010). *An introduction to forensic genetics*: John Wiley & Sons.
- Hassan, M. R., Ema, R. R., & Islam, T. (2017). Color image segmentation using automated K-means clustering with RGB and HSV color spaces. *Global Journal of Computer Science and Technology*, 17(2), 25-33.
- Henkel, R., Schreiber, G., Sturmhoefel, A., Hipler, U.-C., Zermann, D. H., & Menkveld, R. (2008). Comparison of three staining methods for the morphological evaluation of human spermatozoa. *Fertility and sterility*, 89(2), 449-455.
- Hidayatullah, P., & Zuhdi, M. (2014). *Automatic sperms counting using adaptive local threshold and ellipse detection*. Paper presented at the 2014 international conference on information technology systems and innovation (ICITSI).
- Houck, M. M. (2015). *Professional issues in forensic science*: Academic Press.
- Hymus, C. M., Egan, S. E., & Tay, J. W. (2022). Development of a Simple Cell Harvesting Method to Maximise DNA Recovery from Historic Microscope Slides for Sexual Assault Investigations. *Forensic Sciences*, 2(4), 795-807.
- Ilhan, H. O., Serbes, G., & Aydin, N. (2020). Automated sperm morphology analysis approach using a directional masking technique. *Computers in Biology and Medicine*, 122, 103845.

รายการอ้างอิง (ต่อ)

- Landis, J. R., & Koch, G. G. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, 33(1), 159-174.
- Litjens, G., Kooi, T., Bejnordi, B. E., Setio, A. A. A., Ciompi, F., Ghafoorian, M., . . . Sánchez, C. I. (2017). A survey on deep learning in medical image analysis. *Medical Image Analysis*, 42, 60-88.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.media.2017.07.005>
- Maree, L., Du Plessis, S., Menkveld, R., & Van der Horst, G. (2010). Morphometric dimensions of the human sperm head depend on the staining method used. *Human Reproduction*, 25(6), 1369-1382.
- Martínez, P., Santiago, B., Alcalá, B., & Atienza, I. (2015). Semen searching when sperm is absent. *Science & Justice*, 55(2), 118-123.
- Miahi, E., Mirroshandel, S. A., & Nasr, A. (2022). Genetic Neural Architecture Search for automatic assessment of human sperm images. *Expert Systems with Applications*, 188, 115937.
- Mirroshandel, S. A., & Ghasemian, F. (2018). Automated morphology detection from human sperm images. *Intracytoplasmic Sperm Injection: Indications, Techniques and Applications*, 99-122.
- Niemeijer, M., Xu, X., Dumitrescu, A. V., Gupta, P., Van Ginneken, B., Folk, J. C., & Abramoff, M. D. (2011). Automated measurement of the arteriolar-to-venular width ratio in digital color fundus photographs. *IEEE Transactions on medical imaging*, 30(11), 1941-1950.
- Organization, W. H. (2021). *Violence against women prevalence estimates, 2018: global, regional and national prevalence estimates for intimate partner violence against women and global and regional prevalence estimates for non-partner sexual violence against women*: World Health Organization.
- Paramkusham, S., Rao, K. M., & Rao, B. P. (2013). *Early stage detection of breast cancer using novel image processing techniques, Matlab and Labview implementation*. Paper presented at the 2013 15th International Conference on Advanced Computing Technologies (ICACT).
- Thai PBS. (2565). สสส.พบหญิงไทยถูกทำร้าย-ละเมิดทางเพศวันละมากกว่า 7 คน. Retrieved from https://www.thaipbs.or.th/news/content/313423?fbclid=IwY2xjawEeolFleHRuA2FlbOlXMAABHQQotPs_-EmOhYXwr6m5kKX_ub-WFcVFEwxb_tgSpBMCXLkUb61iUKs8uA_aem_gFnYD0mlakLlXyMLesChPg

รายการอ้างอิง (ต่อ)

- Ramteke, R., & Monali, K. Y. (2012). Automatic medical image classification and abnormality detection using k-nearest neighbour. *International Journal of Advanced Computer Research*, 2(4), 190.
- Razavi, N., Samei, G., Alipour, M., & Farhadi, A. (2006). How to tell the difference between a cat and a dog? *International Journal of Imaging Systems and Technology*, 16(5), 234-239.
- Ronneberger, O., Fischer, P. and Brox, T. (2015). *U-net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation*. Paper presented at the International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention, Cham.
- Sakurada, K., Watanabe, K., & Akutsu, T. (2020). Current methods for body fluid identification related to sexual crime: focusing on saliva, semen, and vaginal fluid. *Diagnostics*, 10(9), 693.
- Shaker, F., Monadjemi, S. A., & Naghsh-Nilchi, A. R. (2016). Automatic detection and segmentation of sperm head, acrosome and nucleus in microscopic images of human semen smears. *Computer methods and programs in biomedicine*, 132, 11-20.
- Soille, P. (2013). *Morphological Image Analysis: Principles and Applications*: Springer Berlin Heidelberg.
- Szeliski, R. (2022). *Computer vision: algorithms and applications*: Springer Nature.
- Takamura, A., Watanabe, K., & Akutsu, T. (2017). Advanced forensic validation for human spermatozoa identification using SPERM HY-LITER™ express with quantitative image analysis. *International Journal of Legal Medicine*, 131, 933-939.
- Wahyuni, E. S., Putri, A. W. K., Pelu, N. A. P., & Wiraagni, I. A. (2024). Image Processing-Based Application for Determining Wound Types in Forensic Medical Cases. *Jurnal Nasional Teknik Elektro*, 12-19.
- Wasserstrom, A., Frumkin, D., Davidson, A., Shpitzen, M., Herman, Y., & Gafny, R. (2013). Demonstration of DSI-semen—a novel DNA methylation-based forensic semen identification assay. *Forensic Science International: Genetics*, 7(1), 136-142.
- Young, I., Gerbrands, J., Van Vliet, L., Bibliotheek, C.-d., Haag, D., Theodore, Y., . . . Jozef, L. (2004). *Fundamentals Of Image Processing*.
- นายแพทย์พรเพชร ปัญญาพิยะกุล และคณะ. (2557). คู่มือการปฏิบัติงานนิติเวช (สำหรับแพทย์และบุคลากรทางการแพทย์) กระทรวงสาธารณสุข. กระทรวงสาธารณสุข.

รายการอ้างอิง (ต่อ)

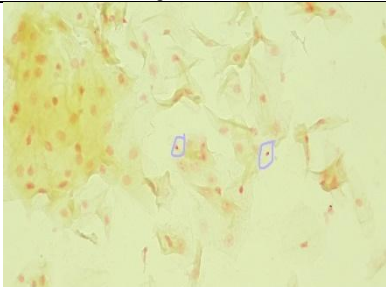
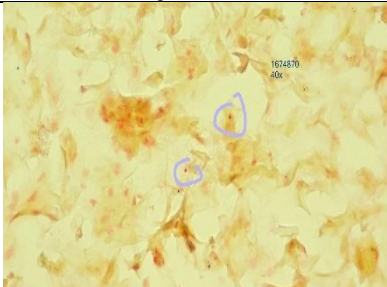
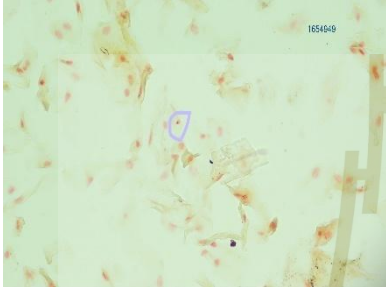
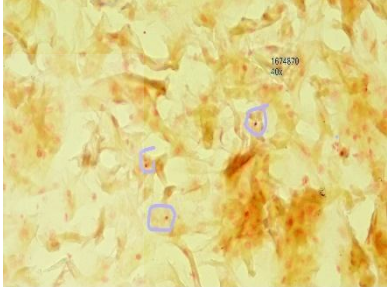
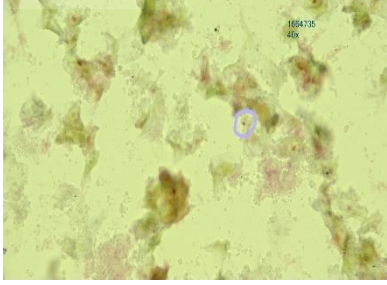
- เพียงขวัญ จารเขียน. (2557). การวิเคราะห์ผลการตรวจสอบสารก่อภูมิแพ้ด้านทานจำเพาะต่อมลูกหมากโดยใช้ชุดตรวจสำเร็จรูปเปรียบเทียบกับผลตรวจแอซิดฟอสฟาเทสในน้ำสีกัดสำหรับช่องคลอดที่ตรวจพบและไม่พบตัวอสุจิ. (Master GRAD-Health Sciences: Independent Study (IS)). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, Retrieved from <http://repository.cmu.ac.th/handle/6653943832/39731>
- อานนท์ จำลองกุล. (2560). การ ดูแล ผู้ ถูก ล่วง ละเมิด ทาง เพศ: ร่างกาย จิตใจ และ การ เยียวยา ทาง กฎหมาย. *Chulalongkorn Medical Journal*, 61(5), 603-618.
- ศาสตราจารย์ ดร.เสมอ ถาน้อย. (2561). สเปิร์ม โครงสร้างและความสามารถในการเจริญพันธุ์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- ศาสตราจารย์แสง บุญเฉลิมภาส, and บรรณาธิการ. (2557). นิติเวชศาสตร์และกฎหมายการแพทย์. วิทยุชน: ศูนย์กฎหมายกฎหมายและจริยศาสตร์ คณะนิติศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- ดร.ทวีป ศรีน่วม. (2567). ประมวลกฎหมายอาญา. สถาบันนิติธรรมาลัย.
- พิมพ์ สุทะเงิน. (2565). Sexual harassment in educational institutions and the Chiang Mai University regulations on personnel management and disciplinary regulations and student disciplinary actions. *The Journal of Law, Public Administration and Social Science. School of Law Chiang Rai Rajabhat University*, 7(1), 203-220. Retrieved from <http://cmuir.cmu.ac.th/jspui/handle/6653943832/74089>
- ปภาณ สุทธิประสิทธิ์. (2567). Semen detection in forensic medicine. *Thammasat Medical Journal*, 18(3), 415-426.
- อาภา อิมสิน. (2559). *Detection of seminal stains on ceramic tiles and fabrics by attendated reflection fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR)*. (Master of Science Program Science). Silpakorn University, Silpakorn University. Retrieved from <http://ithesis-ir.su.ac.th/dspace/handle/123456789/282> (RA1027.8 64 2558)

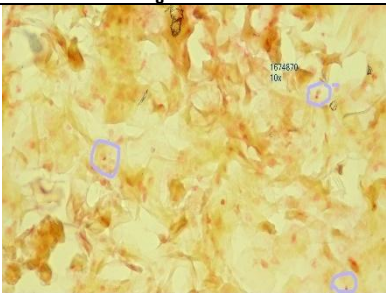
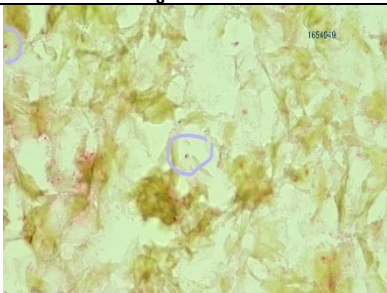
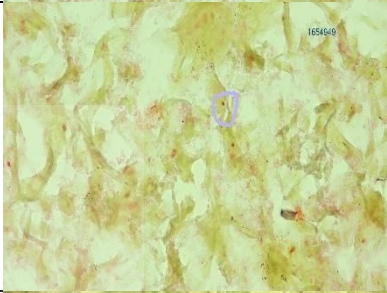
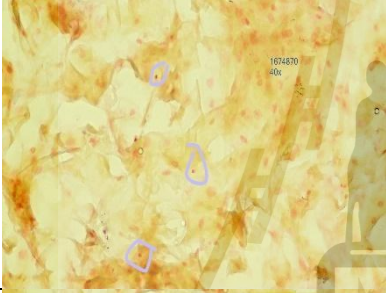
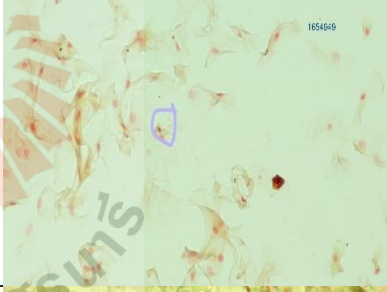
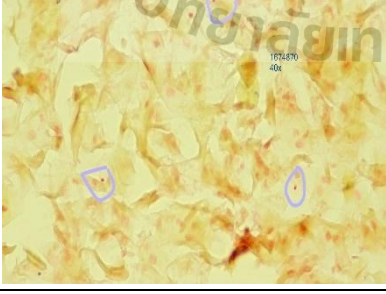
ภาคผนวก ก

ตารางรูปภาพการตรวจหาอสุจิ 20 รูปภาพที่ใช้เป็นต้นฉบับจากผู้เชี่ยวชาญ



ตารางต้นฉบับจากผู้เชี่ยวชาญ

ลำดับ	รูปภาพ	ลำดับ	รูปภาพ
1		11	
2		12	
3		13	
4		14	
5		15	

ลำดับ	รูปภาพ	ลำดับ	รูปภาพ
6		16	
7		17	
8		18	
9		19	
10		20	

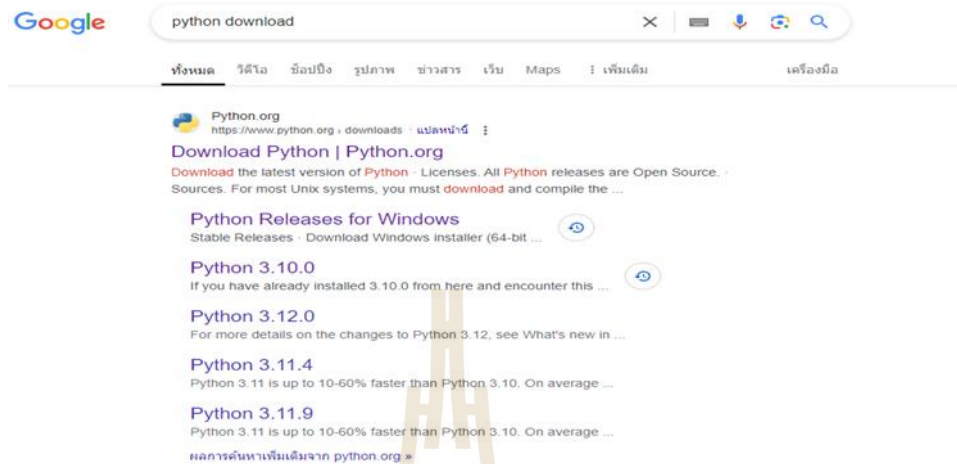
ภาคผนวก ข

คู่มือการใช้งานการใช้อัลกอริทึมเพื่อช่วยตรวจจับข้อสุจิจากภาพถ่ายผ่านกล้อง
จุลทรรศน์ และ โค้ดการตรวจหาข้อสุจิ

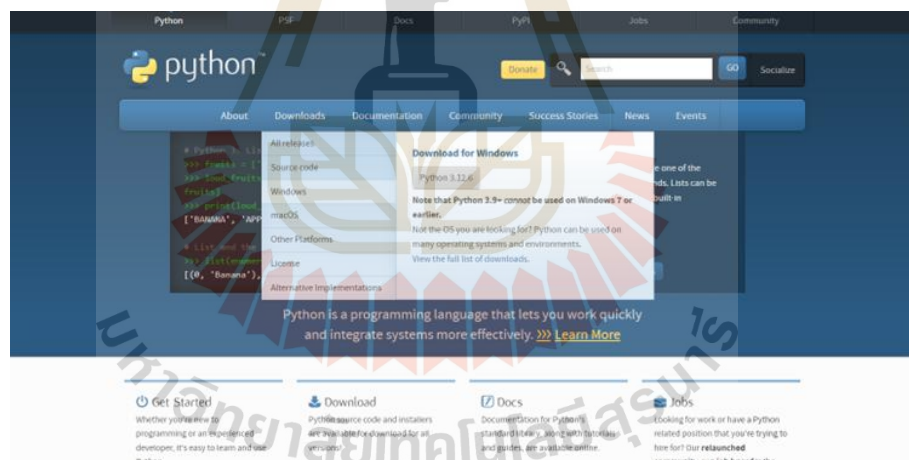


คู่มือการใช้งานการใช้อัลกิริทึมเพื่อช่วยตรวจสอบข้อมูลจากภาพถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์

3) ขั้นตอนที่ 1 ดาวน์โหลดโปรแกรมที่ใช้ IDLE (Python 3.10 64-bit)



4) ขั้นตอนที่ 2 เข้าไปเลือก Version ของโปรแกรมที่ใช้ (Python 3.10 64-bit) ด้วย <https://www.python.org/downloads/windows/>

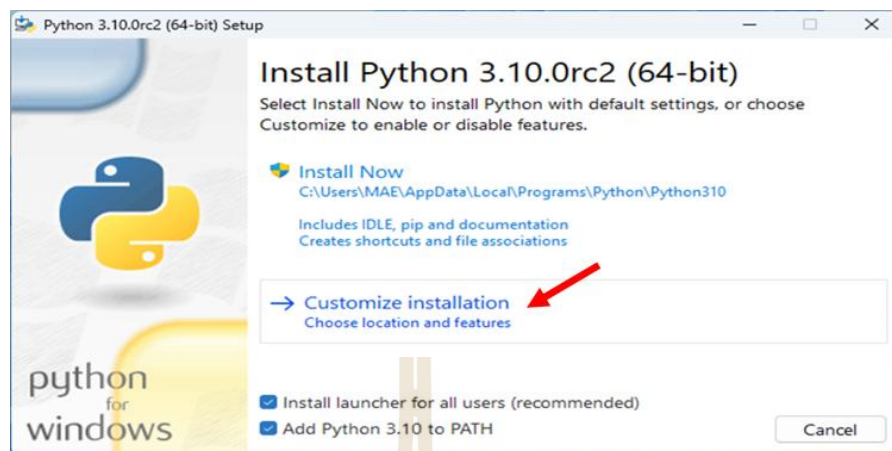


5) เลือกหา version 3.10

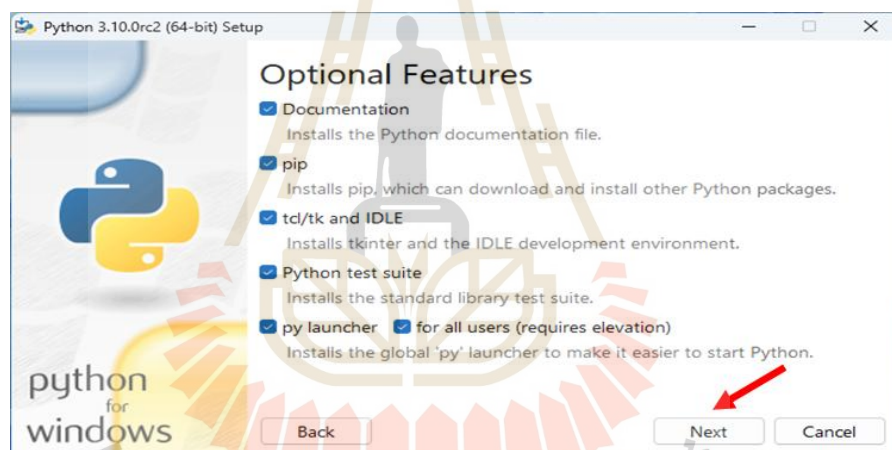
- **Python 3.10.0rc2 - Sept. 7, 2021**
 - Download [Windows installer \(64-bit\)](#)
 - Download [Windows installer \(32-bit\)](#)
 - Download [Windows help file](#)
 - Download [Windows embeddable package \(64-bit\)](#)
 - Download [Windows embeddable package \(32-bit\)](#)

6) ขั้นตอนที่ 3 เปิดไฟล์ที่ดาวน์โหลดเพื่อดาวโหลดลงเครื่องคอมพิวเตอร์

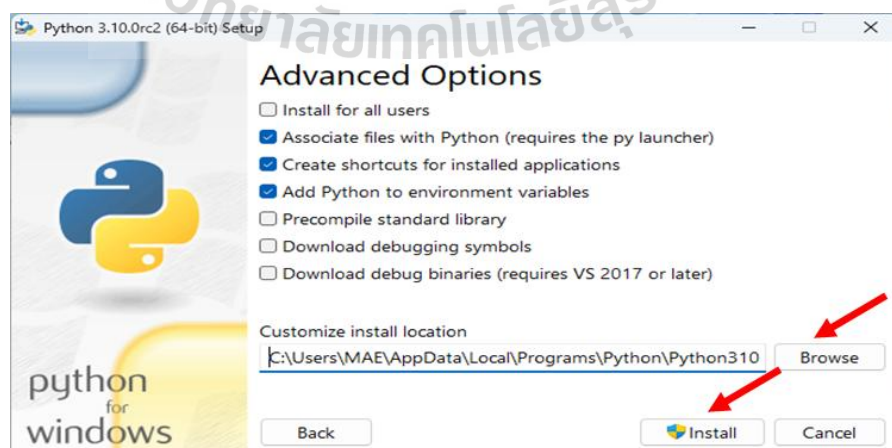
คลิก Customize installation



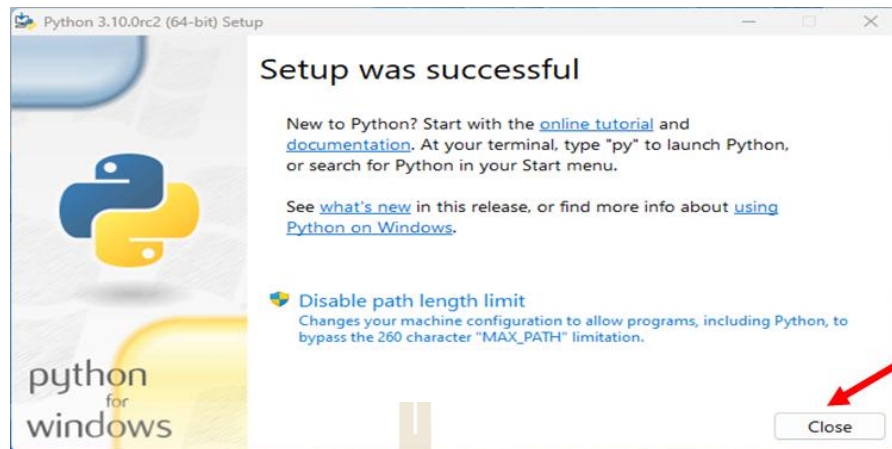
คลิก Next



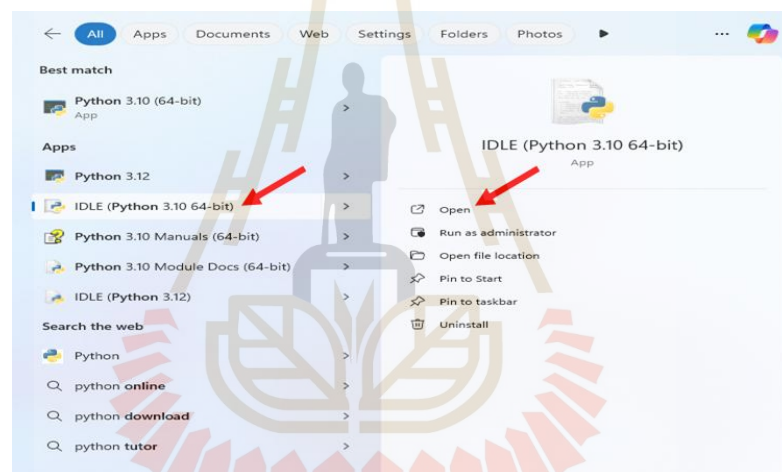
เลือกพื้นที่จัดเก็บโปรแกรมและคลิก Install



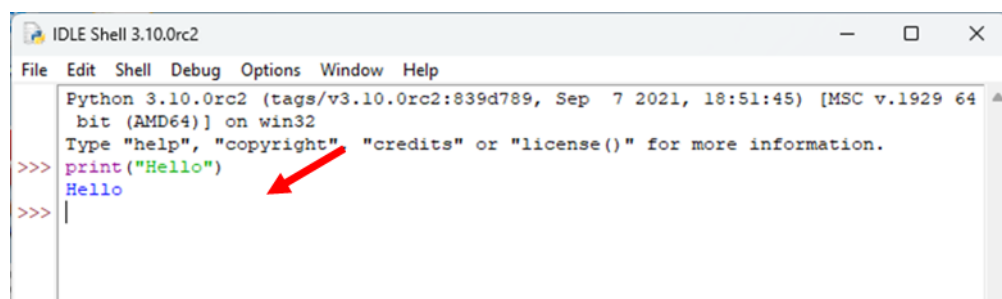
ลงโปรแกรมเสร็จเรียบร้อยแล้ว กด Close



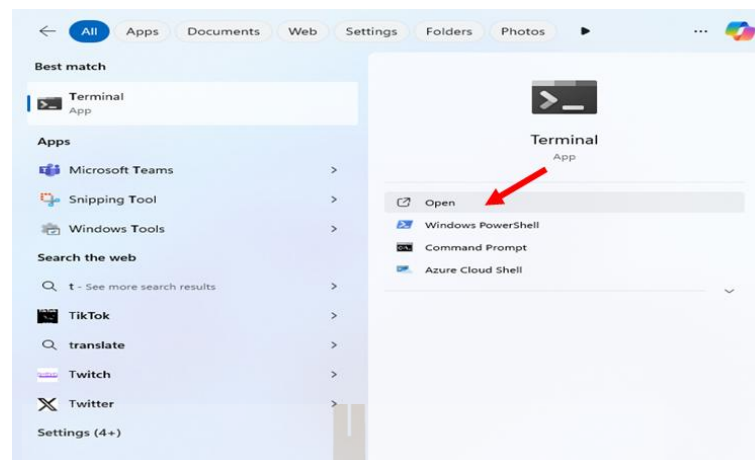
7) ขั้นตอนที่ 4 เข้าโปรแกรมด้วยการหาจาก Window search คลิก เปิดโปรแกรม



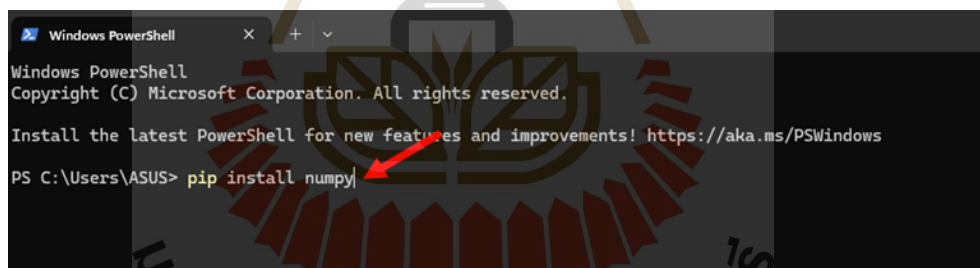
ตรวจการใช้งานของโปรแกรมด้วยการพิมพ์ `print("Hello")` และ กด Enter ขึ้นในบรรทัดถัดไปขึ้นคำว่า Hello ถือว่าโปรแกรมใช้งานได้



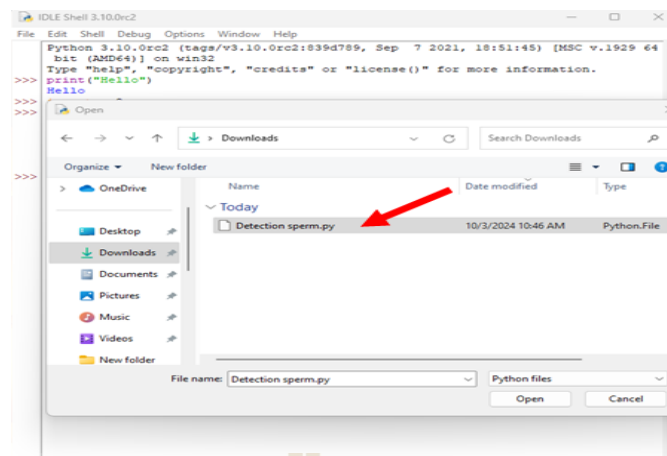
8) ขั้นตอนที่ 5 เป็นการลง Open source python ที่ใช้ในการประมวลผลโดยหา Window search ไปที่ Terminal > Open



- 9) ขั้นตอนที่ 6 เริ่มการติดตั้ง (ที่ละ Open source) ต่อไปนี้
- pip install numpy (กด Enter)
 - pip install opencv-python (กด Enter)
 - pip install opencv-contrib-python (กด Enter)
 - pip install matplotlib (กด Enter)
 - pip install panda (กด Enter)



- 10) ขั้นตอนที่ 7 เมื่อลงครบ 5 ตัวแล้ว ถัดไปเป็นการเริ่มโปรแกรมตรวจหาสุจิ โดยเข้าโปรแกรม ในขั้นตอนที่ 4 และกดไปที่ File > Open > เลือก Detection sperm.py



11) ขั้นตอน 8 จะทำการเปลี่ยน บรรทัด img =

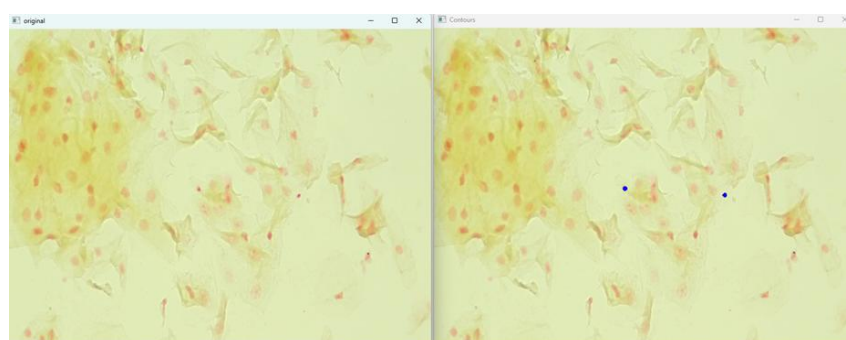
(C:\\Users\\MAE\\desktop\\Image sperm)

โดยไปที่โฟลเดอร์รูปภาพที่ต้องการใช้ แล้วทำการคลิกขวา และเลือก copy as path จากนั้น คลิกขวาในบรรทัดถัดไปจากตัวหนังสือสีขาว แล้วกด Paste เพื่อวางที่อยู่ของรูปภาพ และ ถัดไป จะตัดส่วน นามสกุล .jpg ออกไปใส่ที่บรรทัด `img1=cv.imread('a01.jpg')` *เป็นชื่อรูปภาพที่จะเลือกใช้

```
#Address image
img = ('C:\\Users\\MAE\\Desktop\\Image sperm')
#"C:\\Users\\MAE\\Desktop\\Image sperm\\a01.jpg"

os.chdir(img)
t0 = time.time()
img1=cv.imread('a01.jpg')
img1=cv.resize(img1,(800,600))
```

12) ขั้นตอนที่ 9 เมื่อเปลี่ยนเรียบร้อยแล้วทำการ RUN โปรแกรมจะทำการรันระบบ จะแสดงการนับจำนวน เวลา รูปภาพต้นฉบับ และ ภาพแสดงผลการตรวจหาอสุจิ รูปภาพก็จะถูก Save ไปยังไฟล์ที่อยู่ในโฟลเดอร์เดียวกับภาพต้นฉบับ



Number of objects detected: 2
Time: 0.21764063835144043

โค้ดการตรวจหาอสุจิ

```
import cv2 as cv
import matplotlib.pyplot as plt
import numpy as np
import time
import os

img = ('C:\\Users\\ASUS\\Desktop\\detect')
os.chdir(img)
t0 = time.time()
img1=cv.imread('a15.jpg')
img1=cv.resize(img1,(800,600))

hsv = cv.cvtColor(img1,cv.COLOR_BGR2HSV)

upper = np.array([178,255,255],np.uint8)
lower = np.array([165,0,0],np.uint8)
result = cv.inRange(hsv,lower,upper)

th4 = cv.adaptiveThreshold(
    result,+ 255, cv.ADAPTIVE_THRESH_MEAN_C, cv.THRESH_BINARY_INV , 73, 0)

blurred = cv.blur( th4, (6, 6))
kernel = np.ones((3, 3), np.uint8)
dilation = cv.dilate(blurred,kernel,iterations = 1)
edges = cv.Canny(dilation,150,250)
clone =img1.copy()

height = img1.shape[0]
width = img1.shape[1]
area = height * width

contours, hierarchy = cv.findContours(edges, cv.RETR_EXTERNAL, cv.CHAIN_APPROX_SIMPLE)
sum = 0
r = len(contours)
r1 = []
ar1=0

for i in range(r):
    ar1 = cv.contourArea(contours[i])
    sum += ar1
    r1.append(ar1)
    #print (ar1)
print("Number of objects detected:", r)

if ar1 ==0:
    print("Number of objects detected: None")
elif ar1 <= 9 and ar1 >= 4:
    print("Number of objects detected:", r)
cv.drawContours(clone, contours,-1, (255, 0, 0), 3)

cv.imshow('original' ,img1)
cv.imshow('Contours', clone)
cv.imwrite('AA12-4.jpg',clone)#saveภาพ
print("Time: " ,time.time() - t0)
```

ภาคผนวก ค

บทความทางวิชาการที่ได้รับการเผยแพร่



รายชื่อสัมมนาวิชาการที่ได้รับการเผยแพร่

Natchira Siritanapongpak, Wanwanut Boongsod, and Woramon Boongsod
"Development of an algorithm to help detect human sperm in microscope images",
Proc. SPIE 13180, International Conference on Image, Signal Processing, and Pattern
Recognition (ISPP 2024), 131800K (13 June 2024); <https://doi.org/10.1117/12.3034256>



Development of an algorithm to help detect human sperm in microscope images

Natchira Siritanapongpak^a, Wanwanut Boongsod^{a*} and Worawan Boongsod^b

^aSchool of Manufacturing Engineering, Institute of Engineering, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand; ^bDepartment of Forensic Unit, Thammasat University Hospital, Pathum Thani 12120, Thailand
*wanwanut@sut.ac.th

ABSTRACT

Sperm detection in forensic evidence has become crucial in proving sexual assault. The current method in Thailand relies on manual microscopic examination by experts to visually identify sperm cells from specimens. This process, while effective, is time-consuming and susceptible to inaccuracies due to artifacts resembling spermatozoa. Therefore, this research explored the benefits of incorporating standard forensic laboratory methods to automate and expedite sperm detection. This research utilized image processing for automated and rapid sperm identification, thereby assisting medical experts in making fast and efficient diagnoses. It presents a classification algorithm based on color, texture and morphology, employing computer vision and image processing techniques including the Hough Transform. The algorithm achieved an accuracy of 95.00%, a recall of 94.12%, and an average efficiency of 96.97% compared to manual examinations by forensic experts. Moreover, it efficiently processed images at an average speed of 0.199 seconds per image.

Keywords: Vision; Specimen; Sexual harassment; Forensic; Image processing; OpenCV

1. INTRODUCTION

According to the World Health Organization (WHO) report in 2021, 30% of women globally have experienced physical or sexual abuse [1]. The key components in establishing cases of rape primarily revolve around securing evidence that confirms the act of sexual intercourse between the perpetrator and the victim. This process entails a medical examination conducted by physicians, along with the detection of semen from specimens collected from the victim. Semen is considered crucial evidence for establishing guilt in a case, and it can be used to identify the perpetrator [2, 3].

In Thailand, the established protocol for semen detection entails the collection of specimens, staining and microscopic examination. To confirm the presence of semen in the evidence, the specimen is examined for both seminal fluid and sperm cells. Various methods are employed for seminal fluid detection, including Acid Phosphatase, Prostate-Specific Antigen (PSA), and Semenogelin (Sg) [4-6]. Importantly, the identification of sperm cells is the definitive method for confirming the existence of semen [4, 7]. When identifying sperm, staining the specimen is crucial for visualizing them under a microscope. Several well-established techniques can achieve this, including Hematoxylin and Eosin (H&E), DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) and Christmas tree (Oppitz test) [8-11]. After staining, the sample undergoes meticulous microscopic examination, requiring specialized expertise for a thorough analysis. However, in some jurisdictions, the limited number of specialists and personnel trained in these procedures can lead to delays, impacting both the case's progress and the psychological well-being of the victim.

In the 2000s, image processing was utilized in computer engineering and widely developed and employed in various medical fields. This includes applications like cancer detection [12], measuring the size of blood vessels in the eye [13], and detecting sperm [10, 14-16]. Image processing is a powerful tool that analyzes and manipulates digital images to extract valuable information or enhance their visual appeal. It often focuses on extracting key properties like color, texture and shape. In image processing, there are four main steps: importing images, pre-processing, image processing, and outputting images. The techniques used can differ. Importing images into the system is the first step in image processing, but each image brings its own unique characteristics. This is largely due to the preparation process, often staining, which results in images with distinct colors and magnification levels. For example, the original image of a H&E stain method image [9] has a dark gray background and purple colored sperm, highlighting their nuclei and cytoplasm, the DAPI stain method [10] yields images with a green background and bright gray-colored sperm heads and the Oppitz stain method image [17] exhibits a green background and red-colored sperm heads, etc. Pre-processing involves adjusting the image to

enhance the clarity of the object of interest, employing different techniques based on the specific characteristics of the imported images and analysis goals. For example, (Ispan D A., 2018) prepared the images by using the YCbCr color space to highlight brightness differences, and then applied a Gaussian filter to achieve smoothness. The next step in preparing the image was to reduce noise using the wavelet transform method, producing a brighter image and separating the color of the sperm cells from the background. Image processing offers a versatile toolkit of computer vision algorithms, each tailored for specific tasks within image analysis. In the context of sperm detection, edge detection and contour identification are the key techniques employed. (Ghasemian F., et al., 2015) proposed effective techniques to get a reliable result. They employed the Sobel edge detection method, using kernels size 3x3 to highlight pixel intensity changes that outline sperm edges. Then, the location of the semen (contours) could be identified. Various techniques exist, such as Blob detection [11], which identifies clusters of connected pixels sharing similar properties, and Active contours [10], which utilize flexible curves to dynamically adapt to object boundaries. The output image visually presents the results of image processing, highlighting the objects of interest. By carefully selecting and implementing appropriate image processing techniques, researchers can extract valuable information from sperm images, aiding in various medical and scientific investigations.

The analysis of the research findings reveals the effectiveness of applying different functions at each step of the sperm detection process. The process begins with the original image, which often depicts sperm cells against a distinct background, followed by identifying the region of interest containing sperm cells, and finally culminates in generating a visual representation of the detected objects. Interestingly, many researchers focused on images where the sperm contrasts distinctly with the background and lacks confounding elements like epithelial cells (often resembling sperm) that complicate microscopic examinations [10, 11, 15-17]. The automatically accurate detection of sperm cells in microscope-derived images poses a significant challenge, further amplified by the presence of epithelial tissue and potential variations in staining protocols and chemical quality. This is particularly relevant in settings like Thailand, where specific methodologies and resources may influence image characteristics. This paper proposes the development of a robust sperm detection algorithm specifically designed to overcome these complexities. By accounting for the presence of epithelial tissue and potential staining disparities, our algorithm aims to achieve reliable and accurate sperm identification, even in challenging and resource-constrained environments.

2. MATERIALS AND METHODOLOGY

This section describes the data sets and experimental procedures.

2.1 Image acquisition

The image dataset was acquired from the Department of Forensic Science at Thammasat Hospital. These images showcase samples containing both sperm and non-sperm components, specifically stained using the Christmas tree method (Oppitz test). Each image was captured using an optical microscope at a magnification of 40x and a resolution of 1080x920 pixels. This image dataset, consisting of 20 carefully chosen samples, provided a well-balanced representation of the complexities encountered in sperm detection tasks.

2.2 Software for algorithm

The tracking algorithm was implemented and executed using OpenCV (Open-Source Computer Vision Library), a comprehensive software toolkit for real-time computer vision tasks. The computations were performed on an ASUS ZenBook14 UM431D laptop equipped with 8GB DDR4 RAM and an AMD Ryzen 7 processor, ensuring adequate processing capabilities for efficient algorithm execution.

2.3 Detection of sperm

The steps in the sperm experiment image processing are as in the following.

2.3.1 Color transformation (Color space).

The first step of the algorithm involved importing the original image figure 1a and converting it from the RGB (Red, Green, Blue) color space to the HSV (Hue, Saturation, Value) space. This conversion facilitates the subsequent separation of sperm head regions from the background by isolating relevant visual properties. While this process allows for initial sperm head observation, their resolution and clarity remained suboptimal. To address this limitation, the algorithm proceeded to the next processing step.

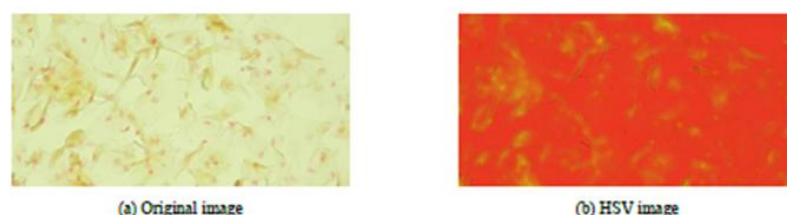


Figure 1. Conversion of color space from RGB to HSV.

2.3.2 Binary conversion

Step 2 of the algorithm entails binary segmentation of the isolated sperm head regions. This technique aimed to create uniform areas within the image, defined by a designated intensity value (Threshold, T) [18]. It involved converting the HSV image figure 1b into a binary format using the image threshold method (Adaptive Threshold). Binary segmentation excelled in separating objects of interest from the background by dynamically selecting appropriate upper and lower threshold values based on local image characteristics. Pixels with intensities falling below the threshold ($f(x, y) \leq T$) were assigned a value of 0 (black), effectively masking the sperm heads, while pixels exceeding the threshold ($f(x, y) > T$) were assigned a value of 255 (white), delineating the background.

2.3.3 Smoothing and Morphological Operations

Image smoothing and morphological operations are tools for separating image components that prove useful in displaying and describing the shape of a border [19]. This step aimed to reduce small foreign objects from the objects of interest. It involved using a blurring filter, an averaging filter, to reduce noise arising from out-of-focus elements. Subsequently, morphological transformations are implemented to improve the sperm head's visual representation. Dilation, a specific technique, strategically expands the foreground pixels by adding a defined layer of background pixels. This essentially thickens the edges of the sperm head, making its shape more distinct.

2.3.4 Edge detection

Edge detection plays an important role in image processing in various areas and is one of the most used operations in image analysis. The edge is defined as the inconsistency in pixel intensity within the image, leading to the delineation of its shape [20, 21]. In step 4, the Canny edge detection was used because of its relatively simple implementation process which was well-accepted in this process [22]. Figure 2 shows the resulting edges identified upon applying Canny edge detection to the sperm heads.



Figure 2. Identifying edges using canny edge detection.

2.3.5 Circle hough detection

The final step of our algorithm utilized the Circle Hough Transform method (CHT). CHT operates by transforming a set of feature points into votes within the parameter space, essentially tallying votes for each region in the image that potentially contains a circle. This vote collection forms an array of all possible parameter combinations, leading to the identification of circles with high vote counts [23]. This approach is particularly well-suited for detecting curved objects like sperm heads. Figure 3a shows the original image and figure 3b demonstrates the successful application of CHT in our research. The circles identified accurately corresponded to the sperm head locations within the image. To further pinpoint the sperm position, a contour line was drawn around each circle, providing a precise visual representation.

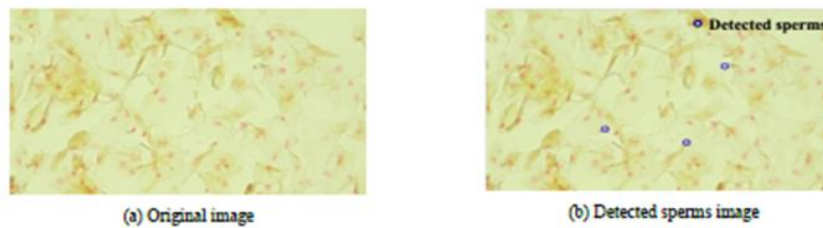


Figure 3. Showing the image between the original image and the results through the process using CHT.

3. EXPERIMENTAL RESULTS

To evaluate the performance of the developed algorithm, we employed a confusion matrix, a widely used tool for analyzing classification results. Confusion matrices are particularly valuable for assessing both binary (two-class) and multi-class classification tasks. Their versatility has been demonstrated in diverse domains, including blood cell analysis [24] and sperm analysis [10].

As shown in table 1, the confusion matrix provides a detailed breakdown of the algorithm's performance across four categories: True Positive (TP): The algorithm detects the sperm as a sperm when it is a sperm, True Negative (TN): The algorithm non-detects the sperm as a sperm when it is an undetected sperm, False Positive (FP): The algorithm does not detect a sperm but it is a true sperm. However, it is known as a "Type I error" and False negative (FN): The algorithm detects a sperm but in reality, it is a non-sperm, which is also known as a "Type II error". TN and TP represent the number of correctly classified positive (sperm) and negative (non-sperm) samples, respectively, while FP and FN refer to misclassified instances [25].

Table 1. The accuracy of the sperm detection algorithm using a confusion matrix, comparing its results to expert manual evaluations.

		Automated detection	
		Detected	Non-detected
Manual detection	Detected	16 (TP)	1 (FN)
	Non-detected	0 (FP)	3 (TN)

Analysis of the confusion matrix revealed the following: 16 images were correctly classified as sperm (TP), 3 images were correctly identified as non-sperm (TN), 1 image contained a false negative (FN) sperm detection, and no images had false positive (FP) detections. These values were used to calculate various performance metrics, including accuracy, precision, recall and F1 score (harmonic mean of precision and recall), which are presented in table 2.

The algorithm's effectiveness in sperm detection was quantified by several key metrics.

The effectiveness of the segmentation technique is quantified by accuracy, which measures the overall proportion of correctly classified samples. This was calculated as:

$$Accuracy = (TN + TP) / (TN + TP + FP + FN) \quad (1)$$

Precision serves as a key indicator of the model's performance by evaluating its ability to correctly identify positive samples (sperm cells). It was calculated as:

$$Precision = (TP) / (TP + FP) \quad (2)$$

Sensitivity (recall), on the other hand, measures the model's ability to detect all truly positive samples, reflecting its sensitivity. It was calculated as:

$$Recall = (TP) / (TP + FN) \quad (3)$$

Finally, the F1 score combines both precision and recall into a single metric, providing a balanced assessment of the model's performance. This was calculated as:

$$F1\ score = 2 \times (Precision \times Recall) / (Precision + Recall) \quad (4)$$

Table 2. Difference parameters.

Parameter	Result
Accuracy	95.00%
Precision	100.00%
Recall	94.12%
F1-Score	96.97%

Based on the calculations outlined in the previous section and utilizing the data from table 1, table 2 presents the performance metrics of the algorithm's sperm detection compared to the expert annotations. The analysis reveals a promising accuracy of 95.00%, a precision of 100.00%, and a perfect recall of 94.12%. Notably, the F1 score, which balances precision and recall in defect detection, reaches a commendable 96.97%. Research has found that most accuracy values are greater than 90%, which is considered acceptable [26, 27]. Therefore, the results in table 2 show an accuracy of 95.00%, also deemed acceptable. Statistical hypothesis testing provides a robust framework for comparing the reliability of medical tests [28]. This research chose the statistical analysis method, while the medical profession prefers to use 0.05 and 0.01 significance level [29]. Here the significance level for the test was set at 0.05, a common threshold in medical research [30]. According to table 1, it can be analyzed that the Type II error (FN) was 1 in 20 images. Table 3 highlights the proposed scheme's remarkable computational efficiency, achieving an average processing time of just 0.199 seconds across a diverse range of samples.

Table 3. Comparison of detection times between expert manual evaluations and using the algorithm.

Image No.	Manual (Sec.)	Algorithm (Sec.)	Image No.	Manual (Sec.)	Algorithm (Sec.)
Img01	6.30	0.16	Img11	6.44	0.18
Img02	6.32	0.16	Img12	11.77	0.20
Img03	14.91	0.19	Img13	5.01	0.21
Img04	13.99	0.19	Img14	8.04	0.20
Img05	12.00	0.18	Img15	3.51	0.19
Img06	15.61	0.18	Img16	5.84	0.22
Img07	7.51	0.18	Img17	7.11	0.19
Img08	13.00	0.22	Img18	4.76	0.23
Img09	16.66	0.23	Img19	6.06	0.21
Img10	8.01	0.22	Img20	7.88	0.24

4. CONCLUSION

This paper presents a novel approach to sperm detection in microscope images stained using the Oppitz test method. Leveraging OpenCV, an open-source computer vision and machine learning library, the proposed algorithm utilized diverse image processing functions to achieve robust detection. Notably, the algorithm offered several advantages, including the potential for real-time processing in future iterations. While complete accuracy remained elusive for such algorithms, techniques like color transformation and edge detection demonstrably can improve detection accuracy, highlighting the potential for practical application in various industries.

This research held particular significance in the field of forensic analysis, where automating sperm detection could expedite investigations and offer timely support to sexual assault victims. Furthermore, the proposed approach presents a promising foundation for expanding detection and classification capabilities to other medical domains, potentially aiding in the diagnosis of diseases through scanned images of organs such as the lungs, stomach, and heart.

REFERENCES

- [1] W. H. Organization, [Violence against women prevalence estimates, 2018: Global, regional and national prevalence estimates for intimate partner violence against women and global and regional prevalence estimates for non-partner sexual violence against women. Executive summary], (2021).
- [2] J.-P. Allery, N. Telmon, A. Blanc et al., "Cytological detection of spermatozoa: comparison of three staining methods," *J. Forensic Sci.*, 46(2), 349-51 (2001).
- [3] A. Imsin, [Detection of seminal stains on ceramic tiles and fabrics by attenuated reflection fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR)] Silpakorn University, Silpakorn University (2016).
- [4] P. Suttipasit, and S. Wongwittayapanich, "Detection of prostate specific antigen and semenogelin in specimens from female rape victims," *J. Forensic Leg. Med.*, 54, 102-8 (2018).
- [5] P. Martínez, B. Santiago, B. Alcalá et al., "Semen searching when sperm is absent," *Science & Justice*, 55(2), 118-23 (2015).
- [6] E. De Lamirande, "Semenogelin, the main protein of the human semen coagulum, regulates sperm function." 33, 60-8.
- [7] A. Wasserstrom, D. Frumkin, A. Davidson et al., "Demonstration of DSI-semen—a novel DNA methylation-based forensic semen identification assay," *Forensic Sci. Int. Genet.*, 7(1), 136-42 (2013).
- [8] L. Maree, S. Du Plessis, R. Menkveld et al., "Morphometric dimensions of the human sperm head depend on the staining method used," *Hum. Reprod.*, 25(6), 1369-82 (2010).
- [9] F. Shaker, S. A. Monadjemi, and A. R. Naghsh-Nilchi, "Automatic detection and segmentation of sperm head, acrosome and nucleus in microscopic images of human semen smears," *Comput. Methods Programs Biomed.*, 132, 11-20 (2016).
- [10] S. Deshmukh, F. Inci, M. G. Karaaslan et al., "A confirmatory test for sperm in sexual assault samples using a microfluidic-integrated cell phone imaging system," *Forensic Sci. Int. Genet.*, 48, 102313 (2020).
- [11] K. Sakurada, K. Watanabe, and T. Akutsu, "Current methods for body fluid identification related to sexual crime: focusing on saliva, semen, and vaginal fluid," *Diagnostics*, 10(9), 693 (2020).
- [12] S. Paramkusham, K. M. Rao, and B. P. Rao, "Early stage detection of breast cancer using novel image processing techniques, Matlab and Labview implementation." 1-5.
- [13] M. Niemeijer, X. Xu, A. V. Dumitrescu et al., "Automated measurement of the arteriolar-to-venular width ratio in digital color fundus photographs," *IEEE Trans. Med. Imaging*, 30(11), 1941-50 (2011).
- [14] S. A. Mirroshandel, and F. Ghasemian, "Automated morphology detection from human sperm images," *Intracytoplasmic Sperm Injection: Indications, Techniques and Applications*, 99-122 (2018).
- [15] P. Hidayatullah, and M. Zuhdi, "Automatic sperms counting using adaptive local threshold and ellipse detection." 56-61 (2014).
- [16] F. Ghasemian, S. A. Mirroshandel, S. Monji-Azad et al., "An efficient method for automatic morphological abnormality detection from human sperm images," *Comput. Methods Programs Biomed.*, 122(3), 409-20 (2015).
- [17] D. A. Ispan, "Validation of "Christmas tree" staining method for microscopic observation of spermatozoa," *Biology*.
- [18] P. D. R. Raju, and G. Neelima, "Image segmentation by using histogram thresholding," *Int. j. comput. sci. eng.*, 2(1), 776-9 (2012).
- [19] J. Nayak, R. Acharya U, P. S. Bhat et al., "Automated diagnosis of glaucoma using digital fundus images," *J. Med. Syst.*, 33, 337-46 (2009).
- [20] R. A. Al-Zahrani, and A. El-Zaart, "SAR images segmentation using edge information." 4, 496-9 (2010).
- [21] J. Varagul, and T. Ito, "General object detection method by on-board computer vision with Artificial Neural Networks," *Int. J. Automat. Eng.*, 8(4), 149-56 (2017).
- [22] S. M. Abid Hasan, and K. Ko, "Depth edge detection by image-based smoothing and morphological operations," *J. Comput. Des. Eng.*, 3(3), 191-7 (2016).
- [23] J. Ni, Z. Khan, S. Wang et al., "Automatic detection and counting of circular shaped overlapped objects using circular hough transform and contour detection." 2902-6 (2016).
- [24] G. K. Chadha, A. Srivastava, A. Singh et al., "An automated method for counting red blood cells using image processing," *Procedia Comput. Sci.*, 167, 769-78 (2020).
- [25] T. M. El-gohary, "Hypothesis testing, type I and type II errors: Expert discussion with didactic clinical scenarios," *IJHRS*, 8(3), 132 (2019).
- [26] Miah E, Mirroshandel S A and Nasr A 2022 *Expert Syst. Appl.* **188** 115937.

- [27] R. Golominski, C. Haas, A. Dobay et al., "Sperm hunting on optical microscope slides for forensic analysis with deep convolutional networks—a feasibility study," *Forensic Sci. Int. Genet.*, 56, 102602 (2022).
- [28] T. M. El-gohary, "Hypothesis testing, type I and type II errors: Expert discussion with didactic clinical scenarios," *IJHRS*, 8(3), 132 (2019).
- [29] A. Kumar, "HYPOTHESIS TESTING IN MEDICAL RESEARCH: A KEY STATISTICAL APPLICATION," *Univers. J. Med. Sci.*, 3(2), (2015).
- [30] J. Kim, "How to choose the level of significance: A pedagogical note," *MPRA Paper*, (2015).



ประวัติผู้เขียน

นางสาวณัฏฐจิรา ศิริชนพงศ์ภัก เกิดเมื่อวันที่ 26 ตุลาคม พ.ศ. 2538 เกิดที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร อาศัยอยู่ที่ 339 หมู่ 7 ตำบลหัวทะเล อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา และได้เรียนระดับมัธยมศึกษาปีที่ 1 ถึง 6 ในสายวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ ณ โรงเรียนอัสสัมชัญนครราชสีมา อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา จากนั้นได้สำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรี ในสาขาวิชาวิศวกรรม การผลิต ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ในปี พ.ศ. 2561 ได้ศึกษาต่อในระดับ ปริญญาโท สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกลและระบบกระบวนการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ปี พ.ศ. 2561 ภาคการศึกษาที่ 3

ประสบการณ์การทำงาน

- สหกิจศึกษาในระดับปริญญาตรี ณ บริษัท อาสโก อีคิวเมนท์ จำกัด จังหวัดราชบุรี (พฤศจิกายน 2560 - มีนาคม 2561)
- ทำงาน ณ บริษัท อาสโก อีคิวเมนท์ จำกัด จังหวัดราชบุรี (สิงหาคม 2561 - พฤศจิกายน 2561)
- สหกิจศึกษาในระดับปริญญาโท ณ บริษัท เอส เอ็น ซี พอร์เมอร์ จำกัด (มหาชน) (พฤศจิกายน 2562 - มีนาคม 2563)
- ประสบการณ์ด้านการสอนระหว่างการศึกษา ในตำแหน่งผู้ช่วยสอนและวิจัย หลักสูตร วิศวกรรมการผลิตอัตโนมัติและหุ่นยนต์ สาขาวิชาวิศวกรรมการผลิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา (มีนาคม 2563 – กันยายน 2567)