

**คู่มือการใช้โปรแกรม  
ซอร์บฟิล ทีแอลซี วิดีโอเดนสิโตมิเตอร์  
(Sorbfil TLC Videodensitometer)**

---

# 1 สารบัญ

1	สารบัญ.....	2
2	ลักษณะทั่วไป.....	4
2.1	วัตถุประสงค์.....	4
2.2	หลักการทำงาน.....	4
2.3	ข้อกำหนดคุณลักษณะระบบ.....	4
2.4	การจัดจำหน่าย.....	4
2.5	การติดตั้ง.....	5
2.6	การเริ่มปฏิบัติการ.....	5
2.7	การเลิกการทำงาน.....	5
2.8	การลงทะเบียน.....	5
2.9	การยกเลิกการติดตั้ง.....	5
3	การจัดเตรียมโปรแกรมซอฟต์แวร์ฟิล ทีแอลซี วีดีโอเดนมัสโตรมิเตอร์.....	6
3.1	การตั้งค่า.....	6
3.2	การตั้งค่าตารางโครมาโทแกรม (Chromatogram tab settings).....	6
3.3	การตั้งค่าอื่น ๆ (Misc tab settings).....	7
4	การโหลดภาพโครมาโทแกรม.....	8
4.1	การโหลดภาพจากแฟ้มบันทึกข้อมูล.....	8
4.2	การโหลดภาพจากแฟ้มข้อมูลปลอดภัย.....	8
4.3	การแกะภาพจากคลิปปอร์ด.....	8
4.4	การผสมภาพ.....	8
4.5	การผสมภาพจากแฟ้มบันทึกข้อมูล.....	8
4.6	การผสมภาพจากคลิปปอร์ด.....	8
4.7	การผสมภาพจากเฟรมข้อมูลวีดิทัศน์.....	9
4.8	การสแกนภาพจากเครื่องสแกนเนอร์.....	9
5	การบันทึกข้อมูลภาพโครมาโทแกรม.....	10
5.1	การบันทึกลงแฟ้มบันทึกข้อมูล.....	10
5.2	การบันทึกลงแฟ้มข้อมูลปลอดภัย.....	10
6	โหมดการทำงานของโปรแกรมวีดีโอเดนมัสโตรมิเตอร์.....	11
6.1	อะไรคือโหมดการทำงาน (work modes).....	11
6.2	โหมดการควบคุมความสว่าง (Illumination control mode).....	11
6.3	โหมดองค์ประกอบสี (Color composition mode).....	11
6.4	โหมดการทำแนวแถว (Track marking mode).....	11
6.5	โหมดแสดงความเข้มพื้นหลัง (Background Intensity mode).....	11
7	การเตรียมข้อมูลภาพเพื่อการประมวลผล.....	13
7.1	การปรับแก้สี (Color correction).....	13

7.2	การจัดภาพให้ตรง (Straightening of the image).....	13
7.3	การประมาณค่าพื้นหลัง (Background approximation).....	13
7.4	การกำหนดสเกลภาพ (Setting image scale).....	13
8	การจัดเตรียมแถว (Tracks arrangement).....	14
8.1	การตั้งตำแหน่งเส้นเริ่ม (Start) และเส้นฟรอนท์ (Front).....	14
8.2	การจัดเตรียมแบบแมนนวล.....	14
8.3	การค้นหาแถวแบบอัตโนมัติ.....	14
8.4	การจัดเตรียมแถวแบบสม่ำเสมอ.....	14
8.5	การเปลี่ยนระยะเส้นขอบแถว.....	14
8.6	การโหลดและบันทึกข้อมูลการจัดเตรียมแถว.....	15
9	การกำหนดค่าความเข้มพื้นหลัง.....	16
9.1	ลักษณะทั่วไป.....	16
9.2	การกำหนดค่าความเข้มพื้นหลังสำหรับแต่ละแนวแถว (for each track line).....	16
9.3	การคำนวณค่าความเข้มของแนวแถวโดยไม่ใช้ค่าความสว่างของพื้นหลัง (without using background brightness).....	16
9.4	การกำหนดค่าความเข้มพื้นหลังสำหรับทั้งภาพ (for the whole image).....	16
10	การหาพิกัดในแต่ละแถว.....	17
10.1	วิธีเริ่มการประเมินผลในแต่ละแถว.....	17
10.2	หน้าต่างแสดงค่าผลการประเมินแถว (Track evaluation results).....	17
10.3	เส้นกำหนดความไว (Sensitive threshold) – การหาพิกัดแบบอัตโนมัติ.....	17
10.4	การตั้งตำแหน่งเส้นขอบพิกัดและยอดพิกัดแบบแมนนวล.....	17
10.5	การเพิ่มและการเอาพิกัดออก.....	17
10.6	การดูโปรไฟล์ของแถวในครอสโหมด (Cross mode).....	18
10.7	การดูโครมาโทแกรมของแถว.....	18
10.8	วิธีการประเมินผลในแถวต่อไป.....	18
11	การประเมินหาความเข้มข้นของสารในแถว.....	19
11.1	หลักการประเมินค่า.....	19
11.2	การสร้างและการพิมพ์รายงานผลการประเมิน (Evaluation report).....	19
12	ผลการประเมินแถว (Track evaluation results).....	20
12.1	ผลการวิเคราะห์ของทุกแถว.....	20
12.2	การเลือกพิกัดเพื่อการประเมินค่าเชิงปริมาณ.....	20
12.3	กราฟ.....	20
13	การคำนวณเชิงปริมาณเพื่อหาความเข้มข้นของสารในตัวอย่าง.....	21
13.1	วิธี External standard method.....	21
13.2	การระบุปริมาณสารมาตรฐาน (Standards) และตัวอย่าง (Samples).....	21
13.3	การคำนวณเชิงปริมาณ.....	21
13.4	รายงานผลการคำนวณเชิงปริมาณ.....	21
14	คุณสามารถช่วยเราได้อย่างไร.....	22

## 2 ลักษณะทั่วไป

### 2.1 วัตถุประสงค์

ซอร์บฟิล ทีแอลซี วีดีโอเดนสิโตมิเตอร์ เป็นซอฟต์แวร์ที่ได้รับการพัฒนาขึ้นเพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณของสารในรูปของแถบหรือโครมาโทกราฟีชนิดแผ่นบาง (Thin-Layer Chromatography, TLC) โปรแกรมนี้สามารถนำมาใช้ในการประเมินค่าพื้นที่ของจุดในแถวต่าง ๆ บนภาพแผ่นที่แอลซีโดยอาศัยการสร้างโครมาโทแกรม (เส้นโค้งแบบแอนะล็อก (analog curve)) จากความเบี่ยงเบนของค่าความเข้มของแถวจากความเข้มของพื้นหลัง และตามมาด้วยการวิเคราะห์โครมาโทแกรมดังกล่าวในเชิงปริมาณได้

### 2.2 หลักการทำงาน

การประเมินค่าเชิงปริมาณเกิดจากข้อสันนิษฐานที่ว่าขนาดและความเข้มของจุด (ซึ่งสัมพันธ์กับความเข้มของพื้นหลังแผ่น) ขึ้นกับปริมาณของสารที่มีอยู่ในจุดนั้น

การคำนวณหาค่าความเข้มของพื้นหลังแผ่นสามารถทำได้โดยวิธีสามวิธีดังนี้

- วิธีสำหรับแต่ละแนวแถว (for each track line)
- วิธีไม่ใช้ค่าความสว่างของพื้นหลัง (without using background brightness)
- วิธีสำหรับทั้งภาพ (for the whole image)

อ่านบทที่ 9 สำหรับข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับการกำหนดค่าความเข้มพื้นหลัง

### 2.3 ข้อกำหนดคุณลักษณะระบบ

ข้อกำหนดขั้นต่ำของคอมพิวเตอร์ที่จำเป็นต้องมีเพื่อใช้ในการทำงานของซอฟต์แวร์นี้เป็นดังแสดงในตารางข้างล่าง

รายการ	ข้อกำหนดขั้นต่ำ	แนะนำ
ระบบปฏิบัติการ (operating system)	ไมโครซอฟต์ วินโดวส์ (Microsoft Windows) 95, 98, Me, NT 4, 2000 และ XP	
ซีพียู (CPU)	เพนเทียม (Pentium) – 100 MHz	เพนเทียม (Pentium) II – 300 MHz หรือเร็วกว่า
แรม (RAM)	16 MB	32 MB หรือมากกว่า
ฮาร์ด ดิสก์ (สำหรับแฟ้มข้อมูลโปรแกรมและระบบช่วยเท่านั้น)	10 MB	10 MB
เครื่องสแกนเนอร์	เครื่องสแกนเนอร์แบบระนาบรุ่นใดก็ได้ที่มีโปรแกรมต่อประสานทเวน (TWAIN) (ซึ่งมักพบได้ในเครื่องสแกนเนอร์รุ่นใหม่) ทั้งนี้สามารถสแกนได้เฉพาะโครมาโทแกรมที่สามารถเห็นจุดต่าง ๆ ได้ด้วยตาภายใต้แสงกลางวัน	

### 2.4 การจัดจำหน่าย

ซอร์บฟิล ทีแอลซี วีดีโอเดนสิโตมิเตอร์ ซอฟต์แวร์ สามารถดาวน์โหลดโดยไม่เสียค่าใช้จ่ายจาก ซอร์บพอลิเมอร์ อินเทอร์เน็ต (Sorbpolymer Internet) ที่อยู่ [http://www.sorbfil.com/demo/tlc\\_demo.zip](http://www.sorbfil.com/demo/tlc_demo.zip)

ซอฟต์แวร์ฉบับที่ดาวน์โหลดมานี้มีอายุการทดลองใช้งานได้ 30 วัน นั่นคือสามารถใช้โปรแกรมซอร์บฟิล ทีแอลซี วีดีโอเดนสิโตมิเตอร์ ได้เป็นเวลา 30 วันโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย ภายหลังจาก 30 วัน ต้องทำการลงทะเบียนหรือหยุดการใช้งาน

## 2.5 การติดตั้ง

ดาวน์โหลดซอฟต์แวร์จากที่อยู่ข้างต้นจากนั้นให้เรียกหน่วยเก็บถาวรที่ดาวน์โหลดมา (downloaded archive) ทั้งนี้ต้องมี วิน ซิป ซอฟต์แวร์ (WinZip software) เพื่อใช้ขยายแฟ้มข้อมูลสำหรับการติดตั้งออก

เปิด **tlcsetup.exe** และทำตามคำสั่งต่าง ๆ ต่อไป

กลุ่มของโปรแกรม “ซอร์บฟิล ทีแอลซี วีดิโอเดนสิโตมิเตอร์” จะปรากฏขึ้นในเมนูเริ่ม (Start menu) ภายหลังจากติดตั้งเสร็จสิ้น

## 2.6 การเริ่มปฏิบัติการ

เมื่อจะเริ่มใช้งานโปรแกรมวีดิโอเดนสิโตมิเตอร์ ให้ทำตามขั้นตอนดังต่อไปนี้ตามลำดับ

- คลิกที่ปุ่ม **Start** บนแถบหน้าจอของวินโดวส์
- เลือกรายการ **Programs**
- เลือกกลุ่มโปรแกรม **Sorbfil TLC Videodensitometer**
- คลิกที่ไอคอน **Sorbfil TLC Videodensitometer**

โปรแกรมซอร์บฟิล ทีแอลซี วีดิโอเดนสิโตมิเตอร์จะเริ่มทำงานนับจากนี้

## 2.7 การเลิกการทำงาน

หากต้องการเลิกการทำงานของโปรแกรมให้คลิกที่แป้น **Alt+X** หรือคลิกที่ **Exit** บนแถบรายการ **File** หรือคลิกปุ่ม **Exit (Exit button)** บนแถบเครื่องมือ (Tool Bar) ในหน้าต่างหลักของโปรแกรม

## 2.8 การลงทะเบียน

ภายหลังจากการหมดอายุช่วงการทดลองใช้งาน ต้องทำการลงทะเบียนเพื่อสามารถใช้ซอร์บฟิล ทีแอลซี วีดิโอเดนสิโตมิเตอร์ ต่อได้

ข้อมูลล่าสุดเกี่ยวกับราคาและขั้นตอนการลงทะเบียนสามารถหาได้ที่อยู่หน้า

<http://www.sorbfil.com/en/register.htm>

## 2.9 การยกเลิกการติดตั้ง

หากต้องการเอาโปรแกรมซอร์บฟิล ทีแอลซี วีดิโอเดนสิโตมิเตอร์ออกจากคอมพิวเตอร์โดยสมบูรณ์ ให้เปิด **Control Panel** และเลือก **Add / Remove programs** เลือก **Sorbfil TLC Videodensitometer** ที่ปรากฏอยู่บนหน้าต่างหน้าจอ และคลิกที่ปุ่ม **Remove**

### 3 การจัดเตรียมโปรแกรมซอร์บิล ทีแอลซี วิดีโอเดนมัสโตมิเตอร์

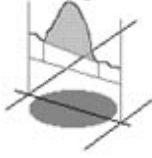
#### 3.1 การตั้งค่า

คลิกปุ่ม **Options** ในแถบเครื่องมือ (toolbar) เพื่อเปิดหน้าต่างตั้งค่าต่าง ๆ สำหรับโปรแกรมซอร์บิล ทีแอลซี วิดีโอเดนมัสโตมิเตอร์

หน้าต่างนี้จะแบ่งออกเป็นสองตาราง ซึ่งสามารถเลือกได้โดยการคลิกที่แถบชื่อหัวตาราง (tab header)

#### 3.2 การตั้งค่าตารางโครมาโทแกรม (Chromatogram tab settings)

ตารางนี้ใช้สำหรับการตั้งค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการค้นและประมวลผลของแถวต่าง ๆ บนแผ่นทีแอลซี

หลังจากเส้นเริ่ม (Back from start line)	การประเมินโครมาโทแกรมจะเริ่มหลังจากเส้นนี้ โดยกำหนดให้พีคมีค่า Rf เป็นศูนย์
โหมดการปรับเรียบเพื่อการหาพีค (Peaks finder smoothing mode)	วิธีต่าง ๆ ที่ใช้ในการปรับเรียบขณะโปรแกรมทำการหาพีคในแถว
ความกว้างของพีคต่ำสุด (Minimal peak width)	ความกว้างของพีคต่ำสุดที่สามารถยอมรับได้ในการนำมาคำนวณคิดเป็นพีคจริง (ช่วยให้ประเมินข้ามการแปรปรวนของพื้นหลัง)
การกำหนดค่าความเข้มพื้นหลัง (Background Intensity determination) วิธีสำหรับแต่ละแนวแถว (For each track line)	วิธีต่าง ๆ ที่ใช้ในการคำนวณค่าความเข้มพื้นหลัง (Background Intensity) อ่านบทที่ 9 สำหรับรายละเอียดเพิ่มเติม ความเข้มพื้นหลังสำหรับแต่ละแถวที่กำลังทำการสแกนคำนวณจากความแตกต่างเฉลี่ยของความเข้ม (mean significance of Intensity) ของพื้นที่สองบริเวณทางด้านซ้ายสุดและขวาสุดของแต่ละแถวที่กำลังทำการสแกน โดยสามารถปรับเปลี่ยนค่าความสูงและความกว้างของพื้นที่ดังกล่าวได้ที่ Width/Height spin boxes พื้นที่ดังกล่าวนี้ควรอยู่ในบริเวณซึ่งไม่มีจุดของสารใด ๆ ปรากฏ วิธีนี้เป็นวิธีหลักที่ใช้ในการกำหนดค่าความเข้มของพื้นหลัง
วิธีไม่ใช้ค่าความสว่างของพื้นหลัง (without background)	ความเข้มพื้นหลังสำหรับแต่ละแถวที่กำลังทำการสแกนคิดจากพื้นที่สี่เหลี่ยมของรูปสูงสุดในกราฟความสว่าง 
วิธีสำหรับทั้งภาพ (For the whole image)	ความเข้มพื้นหลังคิดจากความเข้มเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่เลือกและใช้สำหรับการประเมินผลในทุกแถว โดยหลักแล้ววิธีนี้เหมาะสำหรับภาพของแผ่นที่มีการส่องสว่างเท่าเทียมกันทั้งแผ่น อ่านบทที่ 6.5 สำหรับรายละเอียดเพิ่มเติม
การกรองสัญญาณรบกวนที่เส้นฐาน (Base line noise filtering)	การกรองใช้เพื่อช่วยให้สัญญาณที่เป็นผลจากการขึ้นลงของความเข้มพื้นหลังลดลง โดยทั่วไปแล้วหากค่าเบี่ยงเบนเฉลี่ย (mean deviation) ของความเข้มพื้นหลังอยู่ที่ประมาณ 0.3% (ดูวิธีการคำนวณค่าความเข้มพื้นหลังสำหรับทั้งภาพ (for the whole image) ไม่จำเป็นต้องทำการกรองสัญญาณรบกวน (noise filtration) แต่หากความเบี่ยงเบนเฉลี่ยมีค่าที่ประมาณ 1% ให้กำหนดค่าระดับการกรอง (filtration level) อยู่ที่ 1-5 และให้กำหนดที่ค่า 5-15 สำหรับภาพที่มีความเบี่ยงเบนเฉลี่ยสูงถึง 2% หรือมากกว่า ทั้งนี้ค่าการกรองที่เหมาะสมสามารถกำหนดได้โดยการพิจารณาของผู้วิเคราะห์

### 3.3 การตั้งค่าอื่น ๆ (Misc tab settings)

โปรแกรมบันทึกวีดิทัศน์ (video recorder program)	การเลือกโปรแกรมที่ใช้ในการดำเนินการจับภาพโครมาโทแกรมแปลงเป็นแฟ้มวีดิทัศน์หรือคลิปบอร์ด เพื่อเริ่มการทำงานให้คลิก <b>Image capture</b> บนแถบรายการ <b>File</b> หรือที่แถบเครื่องมือ (Toolbar) บนหน้าต่างหลัก
แฟลท บัททอนส์ อิน ทูลบาร์ส (Flat Buttons in Toolbars)	ฟังก์ชันนี้ไม่มีผลต่อการทำงานของโปรแกรม
ข้อมูลเพิ่มเติมสำหรับรายงาน (Additional Options for Reports)	แสดงรายการต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับการบันทึกในรายงาน
ชื่อของสถานที่ปฏิบัติการ (Name of your laboratory)	ชื่อของสถานที่ปฏิบัติการจะปรากฏที่หัวของรายงานทุกแผ่น
รายการของผู้วิเคราะห์ (Operator's List)	แสดงรายนามของผู้ปฏิบัติงาน โดยสามารถเลือกชื่อและใส่ลงในรายงานผล การใส่รายนามของผู้ปฏิบัติสามารถทำได้โดยพิมพ์ชื่อลงในกล่องข้อความ (Text Box) และคลิก Add
รายการอื่น ๆ	แสดงรายการต่าง ๆ ได้แก่ ชนิดของทีแอลซี สารที่ต้องการวิเคราะห์ สามารถลบหรือเพิ่มข้อมูลลงในแต่ละรายการได้โดยการกดปุ่ม <b>Delete</b> หรือ <b>Add</b> ในกล่องข้อความที่เหมาะสม

## 4 การโหลดภาพโครมาโทแกรม

ต้องทำการโหลดภาพโครมาโทแกรมเพื่อการประมวลผล

### 4.1 การโหลดภาพจากแฟ้มบันทึกข้อมูล

สามารถโหลดไฟล์ภาพที่อยู่ในรูปแบบ Windows Bitmap (\*.bmp), JPEG, JIF, TGA, RLE และ DIB โดยการเลือกคำสั่ง **Open image** จากแถบรายการ **File** หรือคลิก **Open** ในแถบเครื่องมือ หรือกด **Ctrl+O** เลือกไฟล์ภาพที่ต้องการเปิดโดยการคลิกที่ **Open**

### 4.2 การโหลดภาพจากแฟ้มข้อมูลปลอดภัย

รูปแบบแฟ้มข้อมูลปลอดภัย (\*.BMS) เหมาะสำหรับกรณีที่ไม่ต้องการให้ภาพโครมาโทแกรมเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม แฟ้มข้อมูลรูปแบบนี้ไม่สามารถดัดแปรได้ด้วยโปรแกรมนี้และโปรแกรมอื่นใด (ปฏิบัติการใดก็ตามที่ทำให้เกิดการดัดแปรข้อมูลภาพจะถูกระงับ) อย่างไรก็ตามข้อมูลภาพในรูปแบบนี้สามารถโหลดและใช้สำหรับประมวลผลโดยโปรแกรมซอร์บฟิล ทีแอลซี วีดีโอเดนสิตีมิเตอร์

เลือกคำสั่ง **Open image** จากแถบรายการ **File** หรือคลิก **Open** ในแถบเครื่องมือ หรือกด **Ctrl+O** เลือกเปิดไฟล์ภาพที่ต้องการในรูปแบบข้อมูลปลอดภัยโดยการคลิกที่ **Open**

### 4.3 การแปะภาพจากคลิปบอร์ด

ใช้คำสั่ง **Paste** จากแถบรายการ **File** หรือคลิกปุ่ม **Paste** ที่หน้าต่างหลัก หรือกดปุ่ม **Shift+Ins** เพื่อโหลดภาพโครมาโทแกรมจากคลิปบอร์ด หากแถบคำสั่ง **Paste** หรือปุ่ม **Paste** ที่หน้าต่างหลักไม่สามารถใช้งานได้ (แสดงเป็นสีเทา) แสดงว่าในคลิปบอร์ดไม่มีภาพ

### 4.4 การผสมภาพ

การผสมเป็นกระบวนการที่ใช้ในการได้มาซึ่งข้อมูลภาพที่ประมวลมาจากข้อมูลภาพหลาย ๆ ภาพของวัตถุเดียวกัน เช่นในกรณีมีภาพมากกว่าหนึ่งภาพสำหรับแผ่นที่แอลซีหนึ่งแผ่น ให้ทำการจับภาพที่สเกลและตำแหน่งเดียวกัน จากนั้นนำมาผสมกันเพื่อให้ได้ภาพที่มีคุณภาพดีขึ้นและสามารถลดสัญญาณรบกวนได้โดยประมาณ  $\sqrt{N}$  เท่า เมื่อผสมภาพจำนวน  $N$  ภาพเข้าด้วยกัน

### 4.5 การผสมภาพจากแฟ้มบันทึกข้อมูล

สามารถผสมข้อมูลภาพชนิดบิตแมป (bitmap) ได้เท่านั้น! เลือกคำสั่ง **Open image** จากแถบรายการ **File** หรือคลิก **Open** ในแถบเครื่องมือ หรือกด **Ctrl+O** เลือกเปิดไฟล์ภาพมากกว่าหนึ่งไฟล์ด้วยแป้น **Shift** และ **Control** และคลิกปุ่ม **Open** ข้อมูลภาพที่ได้รับการเลือกจะถูกนำมาผสมกันและได้เป็นภาพที่เปิดในโปรแกรมซอร์บฟิล ทีแอลซี วีดีโอเดนสิตีมิเตอร์

### 4.6 การผสมภาพจากคลิปบอร์ด

ใช้คำสั่งนี้สำหรับการแปะภาพหลาย ๆ ภาพจากคลิปบอร์ดวินโดวส์ (Windows clipboard) ถ้าเครื่องมีซอฟต์แวร์ที่ใช้ในการจับภาพที่สามารถรองรับการจับและสำเนาชุดของภาพลงสู่คลิปบอร์ด

เลือกคำสั่ง **Paste several images** จากแถบ **File** หรือคลิก **Paste** ที่แถบเครื่องมือ เลือกจำนวนภาพและคลิกปุ่ม **Ok** เพื่อเริ่มโปรแกรมการจับภาพ (อ่านบทที่ 3.3 ประกอบ) ภายหลังจากการจับภาพตามจำนวนที่ต้องการ ภาพเหล่านี้จะเกิดการผสมและโหลดลงสู่โปรแกรมซอร์บฟิล ทีแอลซี วีดีโอเดนสิตีมิเตอร์ เพื่อการประมวลผลต่อไป

#### 4.7 การผสมภาพจากเฟรมข้อมูลวิดีโอ

หากเครื่องคอมพิวเตอร์มีส่วนฮาร์ดแวร์และซอฟต์แวร์รองรับการจับแฟ้มข้อมูลวิดีโอแบบ AVI (AVI video) จะสามารถผสมภาพหลายรูปจากข้อมูลวิดีโอที่จับภาพไว้

เลือกคำสั่ง **Open Videofile** จากแถบ **File** หรือคลิกปุ่มดังกล่าวที่แถบเครื่องมือ เลือก AVI video ในกล่องโต้ตอบที่เปิดขึ้น และคลิกปุ่ม **Ok** หน้าต่างที่ควบคุมข้อมูลวิดีโอจะปรากฏขึ้นแล้วจึงเลือกตำแหน่งที่จะเริ่มและจำนวนเฟรมที่ต้องการผสม คลิกปุ่ม **Accept** เพื่อทำการผสมเฟรม

#### 4.8 การสแกนภาพจากเครื่องสแกนเนอร์

เครื่องสแกนเนอร์ที่ใช้กันอยู่ทั่วไปในสำนักงานสามารถใช้ในการเก็บภาพโครมาโทแกรมที่สามารถเห็นจุดได้ด้วยตาภายใต้แสงขาว การสแกนโครมาโทแกรมทำให้ได้ข้อมูลภาพที่มีคุณภาพดีกว่าจากการถ่ายด้วยกล้อง วิธีนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการเก็บข้อมูลภาพของโครมาโทแกรมที่สามารถเห็นจุดได้ด้วยตาภายใต้แสงขาว

ก่อนที่จะเริ่มทำการสแกนและหลังจากการติดตั้งเครื่องสแกนเนอร์ใหม่เข้าสู่วินโดวส์ ผู้ใช้ต้องเลือกเครื่องสแกนเนอร์ที่จะใช้สำหรับการจับภาพ เลือกคำสั่ง **Select Scanner** จากแถบ **File** เลือกเครื่องสแกนเนอร์ที่ต้องการและกดปุ่ม **Select**

วางแผนที่แอลซีลิงบนเครื่องสแกนเนอร์เลือกคำสั่ง **Scan image** จากแถบ **File** หรือคลิกปุ่มดังกล่าวที่แถบเครื่องมือ ตามด้วยการกำหนดให้เครื่องสแกนภาพที่ 150-300 dpi (dots per image) ภาพที่แอลซีจะโหลดเข้าสู่โปรแกรมอัตโนมัติภายหลังจากการสแกนเสร็จ

## 5 การบันทึกข้อมูลภาพโครมาโทแกรม

### 5.1 การบันทึกลงแฟ้มบันทึกข้อมูล

หากต้องการเก็บภาพโครมาโทแกรมที่จับไว้ในรูปบีทแมปหรือ JPEG (ข้อมูลเช่นนี้สามารถตัดแปรงได้) เลือกคำสั่ง **Save** จากแถบ **File** หรือคลิกปุ่ม **Save** ที่แถบเครื่องมือ หรือแป้น **Ctrl+S** เลือกรูปแบบไฟล์ที่ต้องการ ใส่ชื่อไฟล์และกดปุ่ม **Save**

### 5.2 การบันทึกลงแฟ้มข้อมูลปลอดภัย

รูปแบบแฟ้มข้อมูลปลอดภัย (\*.BMS) เหมาะสำหรับกรณีที่ไม่ต้องการให้ภาพโครมาโทแกรมเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม แฟ้มข้อมูลรูปแบบนี้ไม่สามารถตัดแปรงได้ด้วยโปรแกรมนี้และโปรแกรมอื่นใด (ปฏิบัติการใดก็ตามที่ทำให้เกิดการตัดแปรงข้อมูลภาพจะถูกระงับ) อย่างไรก็ตามข้อมูลภาพในรูปแบบนี้สามารถโหลดและใช้สำหรับประมวลผลโดยโปรแกรมซอร์บฟิล ทีแอลซี วีดีโอเดนสิโตมิเตอร์

การเก็บภาพโครมาโทแกรมในรูปแบบข้อมูลปลอดภัยทำได้โดยขั้นตอนดังข้างต้น เพียงแต่ให้เลือกชนิดของไฟล์เป็นแบบ **Secure BMP Images** ในกล่องโต้ตอบก่อนที่จะทำการบันทึกข้อมูล

## 6 โหมดการทำงานของโปรแกรมวิดีโอเดนมัสติมิเตอร์

### 6.1 อะไรคือโหมดการทำงาน (work modes)

โปรแกรมซอร์บฟิล ทีแอลซี วิดีโอเดนมัสติมิเตอร์สามารถทำงานในโหมดต่าง ๆ สี่โหมด ซึ่งแต่ละโหมดจะใช้ในการประมวลผลแต่ละแบบบนภาพโครมาโทแกรม

แถบรายการหรือแถบเครื่องมือบางแถบสามารถหรือไม่สามารถใช้งานได้ในโหมดการทำงานที่แตกต่างกัน

ในการเปลี่ยนโหมดการทำงานของโปรแกรมให้เลือก **Mode** ในแถบรายการหลักหรือคลิกปุ่มดังกล่าวในแถบเครื่องมือบนหน้าต่างหลัก

### 6.2 โหมดการควบคุมความสว่าง (Illumination control mode)

ใช้โหมดการทำงานนี้ในการควบคุมคุณภาพของความสว่างของพื้นหลังภาพโครมาโทแกรม

เมื่อคลิกบนภาพโครมาโทแกรมด้วยปุ่มซ้ายของเมาส์ กราฟสองรูปจะปรากฏขึ้น (ความสว่างบนแกนตั้งและแกนนอน) ทั้งนี้จะเห็นเป็นแผนที่แสดงความสว่างลดลง 4 เท่าซึ่งแสดงในรูปสี่ประติษฐ์

โดยหากไม่พอใจในคุณภาพของความสว่างของภาพ ให้ใช้คำสั่ง **Background Approximation** จากแถบ **File** (อ่านบทที่ 7.3 สำหรับรายละเอียดเพิ่มเติม)

### 6.3 โหมดองค์ประกอบสี (Color composition mode)

การวิเคราะห์องค์ประกอบสีของภาพช่วยให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับการกระจายตัวของสี (แดง เขียวและน้ำเงิน) ในพื้นที่ที่เลือกไว้ โดยหลังจากที่เลือกโหมดองค์ประกอบสี (Color composition mode) ให้ทำการกำหนดเส้นกรอบพื้นที่ของจุดที่ต้องการทำการวิเคราะห์

กล่องแสดงผลการวิเคราะห์องค์ประกอบสีจะปรากฏขึ้น

ใช้โหมดการทำงานนี้เพื่อเลือกช่องสัญญาณสเปกตรัมที่แสดงผลสูงสุด (กราฟกว้างสุด) และลดช่องสัญญาณอื่นด้วยเครื่องมือ **Color Correction** (อ่านบทที่ 7.3 สำหรับรายละเอียดเพิ่มเติม)

### 6.4 โหมดการทำแนวแถว (Track marking mode)

โหมดนี้เป็นโหมดการทำงานหลักของโปรแกรมซอร์บฟิล ทีแอลซี วิดีโอเดนมัสติมิเตอร์ ภายหลังจากการโหลดภาพให้เข้าสู่การทำงานด้วยโหมดนี้เพื่อการประเมินแถวต่าง ๆ ที่ปรากฏบนแผ่นโครมาโทแกรม ขอบของแถวต่าง ๆ และจำนวนแถวจะแสดงบนภาพโครมาโทแกรม เมื่อเลือกใช้โหมดการทำงานนี้จะพบว่าแถบย่อยต่าง ๆ ในเมนู **Tracks** จะสามารถใช้งานได้

โหมดการทำงานนี้สามารถใช้ในการจัดแนวแถว (อ่านบทที่ 8) และวิเคราะห์ผลได้ (อ่านบทที่ 10)

### 6.5 โหมดแสดงความเข้มพื้นหลัง (Background Intensity mode)

ความเข้มพื้นหลังคิดจากความเข้มเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่เลือกสำหรับการประเมินผลของทุกแถว โดยหลักแล้ววิธีนี้เหมาะสำหรับภาพของแผ่นที่มีการส่องสว่างเท่าเทียมกันทั้งแผ่น

ในกล่อง **Option** ที่ปรากฏในเมนู **Chromatogram** ให้คลิกปุ่ม **For the whole image**

คลิก **Background Intensity Determination (F8)** บนเมนู **Mode** หรือแป้นบนแถบเครื่องมือ จากนั้นให้กำหนดเส้นรอบพื้นที่บริเวณซึ่งไม่มีจุดใดปรากฏบนโครมาโทแกรม กล่องแสดงค่าทางสถิติของความเข้มพื้นหลัง (Background Intensity Statistic box) จะปรากฏขึ้นหลังจากปล่อยเมาส์

ทั้งนี้ยังสามารถดูผลการประเมินความเข้มพื้นหลังในรูปของตารางและฮิสโทแกรมของการกระจายตัวของพิกเซลในพื้นที่ที่อยู่ในกรอบซึ่งขึ้นกับความเข้ม คลิก **Ok** หากพอใจกับผลการประเมินที่ได้ ค่าที่ได้จากการเฉลี่ยของพื้นที่ที่เลือกมานี้จะใช้ในการนำไปประเมินผลของทุกแถวบนแผ่นโครมาโทแกรม

หากความสว่างของพื้นหลังไม่สม่ำเสมอ ให้ทำการลองปรับโดยใช้คำสั่ง **Background Approximation** ในแถบเมนู **File** (อ่านบทที่ 7.3 สำหรับรายละเอียดเพิ่มเติม)

## 7 การเตรียมข้อมูลภาพเพื่อการประมวลผล

### 7.1 การปรับแก้สี (Color correction)

การปรับแก้สีของภาพสามารถทำได้เพื่อการปรับเพิ่มความเปรียบต่าง (contrast) ของจุดในแต่ละแถว การวิเคราะห์ภาพโดยคำสั่ง **Color composition analysis** (อ่านบทที่ 6.3) ช่วยให้ทราบเกี่ยวกับการกระจายตัวขององค์ประกอบสีในพื้นที่บริเวณที่เลือก ทำให้ได้ข้อสรุปว่าองค์ประกอบสีใดควรดึงออกเพื่อช่วยเพิ่มความเปรียบต่างของจุดต่าง ๆ ที่ต้องการให้แยกจากกัน

### 7.2 การจัดภาพให้ตรง (Straightening of the image)

ภาพโครมาโทแกรมสามารถจัดให้ตรงได้หากภาพที่ได้มานั้นมีความเอียงบ้างเล็กน้อย ให้คลิก **Straighten** บนแถบเครื่องมือหรือเลือก **Straighten** ในแถบเมนู **File** เพื่อเปิดหน้าต่างที่ใช้ในการจัดโครมาโทแกรมให้ตรง

ลากเส้นในแนวนอนบนภาพโครมาโทแกรม ภายหลังจากการปล่อยปุ่มเมาส์ภาพจะถูกหมุน แต่หากไม่พอใจกับผลที่ได้ให้คลิกปุ่ม **Reload image** เพื่อกลับไปภาพเดิม

### 7.3 การประมาณค่าพื้นหลัง (Background approximation)

แนะนำให้ใช้เครื่องมือการประมาณค่าพื้นหลัง (Background approximation) ก่อนทำการประมวลผลหากความส่องสว่างของภาพไม่ทั่วถึงกัน

การประมาณค่าพื้นหลัง (Background approximation) จะวิเคราะห์กราฟในสามมิติที่เหมาะสมที่สุดกับความสว่างของพื้นหลังในตำแหน่งที่กำหนดไว้และใช้สำหรับการปรับแก้ความสว่างของทั้งรูป

เพื่อเริ่มการประมาณค่าพื้นหลัง (Background approximation) ให้เลือก **Background approximation** จากแถบ **Edit** แผนที่แสดงความสว่างของโครมาโทแกรมสร้างขึ้นในรูปสี่ประติมากรรมหรือในรูปโครมาโทแกรม (สามารถเลือกชนิดของรูปในการดูได้) จะปรากฏขึ้นบนหน้าจอ

ให้ใส่เครื่องหมายประมาณ 10-30 จุดลงบนแผนที่ในตำแหน่งซึ่งไม่มีจุดหรือตำหนิใดโดยการคลิกที่ปุ่มด้านซ้ายของเมาส์ โดยสามารถเอาเครื่องหมายที่ไม่ต้องการออกได้โดยการคลิกที่ปุ่มด้านขวาของเมาส์

คลิกปุ่ม **Calculate Background** เพื่อเริ่มการคำนวณ (อาจใช้เวลาประมาณหนึ่งนาทีขึ้นกับความไวของเครื่องหากมีการทำเครื่องหมายไว้หลายตำแหน่ง) คลิก **Correct Background** เพื่อทำการปรับแก้สี

หากพอใจกับผลที่ได้ให้คลิก **Ok** เพื่อใช้ภาพที่ได้จากการปรับแก้สีในการประมวลผลต่อไป

แต่หากต้องการใช้ภาพเดิมให้คลิกปุ่ม **Restore Image**

คลิกปุ่ม **Cancel** เพื่อยกเลิกการปรับแก้ทั้งหมดและปิดหน้าต่างการประมาณค่าพื้นหลัง

### 7.4 การกำหนดสเกลภาพ (Setting image scale)

ในการคำนวณหาระยะของสารที่เคลื่อนที่จากจุดเริ่มจำเป็นจะต้องมีการระบุระยะที่แท้จริงบนแผ่นที่แอลซีและใส่ค่าดังกล่าวลงในภาพในตำแหน่งที่เหมาะสม

คลิก **Scale** ในเมนู **Edit** หรือกดแป้น **Ctrl+D** จากนั้นให้ลากเส้นระหว่างจุดสองจุดที่ทราบระยะห่างที่แน่นอน ใส่ค่าดังกล่าวลงในกล่องกำหนดสเกลภาพ (Image Scale Setting box)

หลังจากที่กำหนดสเกลภาพแล้ว ระยะทางที่สารเคลื่อนที่บนแผ่นจะไปแสดงในรายงานผล (อ่านบทที่ 11.2) ในหน่วยนี้ มิลลิเมตรหรือเซนติเมตร

## 8 การจัดเตรียมแถว (Tracks arrangement)

ต้องเปลี่ยนเข้าสู่โหมด **Tracks** ก่อนการจัดเตรียมแถว

### 8.1 การตั้งตำแหน่งเส้นเริ่ม (Start) และเส้นฟรอนท์ (Front)

เส้นเริ่มและเส้นฟรอนท์จะปรากฏเป็นขึ้นเป็นเส้นสีแดงและน้ำเงินหลังจากเข้าสู่โหมด **Tracks** โดยสามารถเลื่อนเส้นดังกล่าวขึ้นลงได้โดยกดปุ่มที่เมาส์ด้านซ้าย

### 8.2 การจัดเตรียมแบบแมนวอล

การคลิกที่พื้นที่บนโครมาโทแกรมตรงบริเวณที่ไม่มีแถวใดอยู่จะทำให้เกิดการสร้างแถวใหม่ขึ้นโดยอัตโนมัติ การสร้างแถวใหม่สามารถทำได้โดยการเลื่อนเมาส์ไปอยู่ที่จุดกึ่งกลางของจุด (spot) พร้อมทั้งกดคลิกที่โครมาโทแกรมโดยการกดปุ่มที่เมาส์ทางด้านซ้าย

### 8.3 การค้นหาแถวแบบอัตโนมัติ

การจัดเตรียมแถวโดยอัตโนมัติช่วยให้สามารถหาแถวต่าง ๆ ทั้งหมดที่อยู่บนโครมาโทแกรมได้ในเวลาเดียวกันและกำหนดขอบของแต่ละแนวแถวได้

เพื่อการจัดเตรียมแถวโดยวิธีนี้ ควรเริ่มโดยการใช้เมาส์วงรอบพื้นที่ครอบคลุมบริเวณจุดที่ต้องการวิเคราะห์ หน้าต่าง **Track Search Results** จะปรากฏขึ้นพร้อมทั้งมีเส้นซึ่งกำหนดแนวของแต่ละแถวที่จะใช้สำหรับการคำนวณต่อไปคลิกภายในหน้าต่างนี้โดยเลื่อนเมาส์พร้อมกับกดปุ่มทางซ้ายเพื่อใช้ในการเลื่อนเส้นประสีขาขึ้นลงให้ได้ความสูงที่เส้นนี้คาดทับพีคต่าง ๆ ที่ต้องการวิเคราะห์ จากนั้นปล่อยเมาส์ คลิก **Ok**

### 8.4 การจัดเตรียมแถวแบบสม่ำเสมอ

ใช้คำสั่ง **Regular Tracks** ในเมนู **Tracks** เพื่อที่จะกำหนดแนวแถวต่าง ๆ ให้มีระยะห่างและความกว้างของแต่ละแถวพอ ๆ กัน

สามารถกำหนดจำนวนแถวที่มีความกว้างของแต่ละแถว และตำแหน่งของแนวแถวด้านซ้ายสุดและขวาสุด ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในหน้าต่าง **Regular tracks arrangement** จะได้รับการบันทึกและเก็บไว้ใช้โดยอัตโนมัติ จึงอาจใช้ค่าเหล่านี้ในการประเมินผลของแถวบนโครมาโทแกรมแผ่นอื่นด้วยขนาดและตำแหน่งเดียวกันได้

### 8.5 การเปลี่ยนระยะเส้นขอบแถว

ในการวิเคราะห์ผลของแถวหนึ่ง ๆ เส้นแนวตั้งที่กำหนดแนวแถวควรมีระยะตำแหน่งที่ใกล้กับขอบของจุดต่าง ๆ ที่ปรากฏในแถวนั้นให้ได้มากที่สุดแต่ไม่ควรทับอยู่บนจุดใด ๆ ของแถวนั้นหรือจุดบนแถวอื่น การเคลื่อนที่แนวเส้นขอบนี้สามารถทำได้โดยการใช้เมาส์ช่วย โดยการเลื่อนเมาส์เพื่อให้ลูกศรไปขึ้นบนเส้นที่ต้องการเลื่อนจนได้เป็นหัวลูกศรแบบสองหัว จากนั้นกดเมาส์ปุ่มด้านซ้ายเพื่อเลื่อนเส้นขอบดังกล่าวไปยังตำแหน่งที่ต้องการ

เพื่อการเลื่อนตำแหน่งให้มีความถูกต้องมากขึ้นสามารถทำได้โดยการใช้แป้นบนคีย์บอร์ดที่เป็นลูกศรสำหรับเลื่อนไปทางซ้ายและขวา (**Left** และ **Right** arrow) เส้นขอบสุดท้ายซึ่งได้รับการเลื่อนโดยการใช้เมาส์จะเลื่อนไปโดยการที่ใช้แป้นลูกศรบนคีย์บอร์ด และหากต้องการเลื่อนตำแหน่งของอีกเส้นให้กดแป้น **Ctrl+Tab** และใช้แป้น **<** และ **>** ในการเปลี่ยนความกว้างของแถว

## 8.6 การโหลดและบันทึกข้อมูลการจัดเตรียมแถว

ให้ใช้คำสั่ง **Save tracks** ในเมนู **tracks** หรือคลิก **Ctrl+F12** หากต้องการบันทึกข้อมูลการจัดเตรียมแถวที่ปรากฏไว้ใช้สำหรับการวิเคราะห์ภาพอื่น และให้ใช้คำสั่ง **Arrange tracks** หรือ **Ctrl+F11** เพื่อที่จะปรับเปลี่ยนข้อมูลการจัดเตรียมแถวนภาพใหม่

## 9 การกำหนดค่าความเข้มพื้นหลัง

### 9.1 ลักษณะทั่วไป

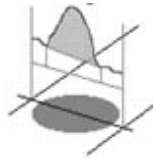
ในการประมวลผลและหาพีคที่ปรากฏอยู่ในแต่ละแถว โปรแกรมซอร์บฟิล ทีแอลซี วีดีโอเดนสิโตมิเตอร์จะทำการสร้างกราฟความสว่างไปตามความยาวของแถว แต่ละแถวจะได้รับการสแกนไปในแนวนอน โดยความสว่างของแต่ละแถวจะคิดจากความเบี่ยงเบนของความสว่างพิกเซลที่อยู่บนเส้นนี้กับความสว่างของพื้นหลัง

### 9.2 การกำหนดค่าความเข้มพื้นหลังสำหรับแต่ละแนวแถว (for each track line)

ความเข้มพื้นหลังสำหรับแต่ละแถวที่กำลังทำการสแกนคำนวณจากความแตกต่างเฉลี่ยของความเข้ม (mean significance of Intensity) ของพื้นที่สองบริเวณทางด้านซ้ายสุดและขวาสุดของแต่ละแถวที่กำลังทำการสแกน โดยสามารถปรับเปลี่ยนค่าความสูงและความกว้างของพื้นที่ดังกล่าวได้ที่ **Width/Height spin boxes** ในเมนู **Options** พื้นที่ดังกล่าวนี้ควรอยู่ในบริเวณซึ่งไม่มีจุดของสารใด ๆ ปรากฏ วิธีนี้เป็นวิธีหลักที่ใช้ในการกำหนดค่าความเข้มของพื้นหลัง โดยทั่วไปแล้ววิธีนี้ใช้วิเคราะห์โครมาโทแกรมที่มีพื้นหลังค่อนข้างสว่างและสะอาด

### 9.3 การคำนวณค่าความเข้มของแนวแถวโดยไม่ใช้ค่าความสว่างของพื้นหลัง (without using background brightness)

ความเข้มพื้นหลังสำหรับแต่ละแถวที่กำลังทำการสแกนคิดจากพื้นที่สี่เหลี่ยมของรูปสูงสุดในกราฟความสว่าง



วิธีนี้เหมาะสำหรับวิเคราะห์โครมาโทแกรมที่มีพื้นหลังค่อนข้างสว่างสกปรกและโครมาโทแกรมที่มีคุณภาพค่อนข้างต่ำ

### 9.4 การกำหนดค่าความเข้มพื้นหลังสำหรับทั้งภาพ (for the whole image)

ความเข้มพื้นหลังคิดจากความเข้มเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่เลือกและใช้สำหรับการประเมินผลในทุกแถว โดยหลักแล้ววิธีนี้เหมาะสำหรับภาพของแผ่นที่มีการส่องสว่างเท่าเทียมกันทั้งแผ่น อ่านบทที่ 6.5 สำหรับรายละเอียดเพิ่มเติม วิธีนี้ใช้สำหรับวิเคราะห์จุดหรือแถบพร้อมไปกับการใช้เครื่องมือ background approximation (อ่านบทที่ 7.3 สำหรับรายละเอียดเพิ่มเติม)

## 10 การหาพีคในแต่ละแถว

### 10.1 วิธีเริ่มการประเมินผลในแต่ละแถว

เริ่มโดยการเลือกไปที่โหมด **Tracks** (อ่านบทที่ 6.4) เลือกแถวที่ต้องการวิเคราะห์โดยการคลิกที่ภาพโครมาโทแกรมยังบริเวณที่มี โชนของจุดต่าง ๆ อยู่โดยการใช้ปุ่มทางซ้ายมือบนเมาส์ จากนั้นให้เลือกคำสั่ง **Process track** จากเมนู **Tracks** หรือปุ่ม ดังกล่าวบนหน้าต่างหลัก หรือแป้น **F9** เพื่อการประเมินแถวดังกล่าว

### 10.2 หน้าต่างแสดงค่าผลการประเมินแถว (Track evaluation results)

หน้าต่างแสดงค่าผลการประเมินแถวจะปรากฏขึ้นหลังจากทำการประเมินแต่ละแถว ซึ่งในหน้าต่างนี้จะประกอบไปด้วย รายละเอียดดังนี้ ได้แก่ แถบเมนู แถบเครื่องมือ โชนแสดงภาพของแต่ละแถว กราฟโครมาโทแกรม และปุ่มแสดงผลสามปุ่ม หน้าต่างแสดงค่าผลการประเมินแถวนี้สามารถทำงานได้ในโหมดต่าง ๆ 5 โหมด ดังต่อไปนี้

### 10.3 เส้นกำหนดความไว (Sensitive threshold) – การหาพีคแบบอัตโนมัติ

เลือกคำสั่ง **Sensitivity Threshold** จากเมนู **Mode** หรือปุ่มดังกล่าวบนหน้าต่างหลัก หรือแป้น **Ctrl+Q** เพื่อเข้าสู่การทำงานของ โหมดนี้

การกดปุ่มเมาส์ทางซ้ายมือพร้อมไปกับการเคลื่อนเมาส์ในบริเวณของภาพโครมาโทแกรมจะทำให้ขีดกำหนดความไวหรือ **Sensitivity Threshold** (ซึ่งแสดงเป็นเส้นแนวนอนสีแดง) เคลื่อนที่ไปยังตำแหน่งที่ต้องการ ซึ่งการเคลื่อนที่ของเส้นดังกล่าว อาจใช้แป้นบนคีย์บอร์ด (**Up** และ **Down**) หรือตัวเลื่อนบนหน้าต่างนี้

จุดต่าง ๆ ที่อยู่แถวที่มีความสูงของพีคสูงกว่าขีดกำหนดความไวจะนำมาใช้ในการประเมินผล

### 10.4 การตั้งตำแหน่งเส้นขอบพีคและยอดพีคแบบแมนวอล

หากต้องการปรับปรุงความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดขึ้นได้ในระหว่างค้นหาพีคแบบอัตโนมัติ ให้ใช้โหมดการทำงานดังนี้ เส้นขอบ ซ้าย (**Left border**) ยอด (**Top**) และเส้นขอบขวา (**Right border**)

เมื่อเลือกเข้าสู่โหมดต่าง ๆ ดังกล่าวนี้ การกดปุ่มเมาส์ทางซ้ายมือพร้อมไปกับการเคลื่อนเมาส์ในบริเวณของภาพโครมาโทแกรม ทำให้เกิดการเลื่อนของเส้นของซ้าย/ขวา (เส้นแนวตั้งสีเขียว) หรือ ส่วนยอดของพีค (เส้นสีฟ้า) ไปยังตำแหน่งตามต้องการ การ เลื่อนตำแหน่งของเส้นดังกล่าวยังอาจใช้แป้นบนคีย์บอร์ด (**Up** และ **Down**) หรือตัวเลื่อนบนหน้าต่างนี้

การเลือกพีคสามารถทำได้โดยการกดแป้น **Alt+Left** หรือ **Alt+Right** หรือปุ่มลูกศรในแถบเครื่องมือเมื่ออยู่ในโหมดนี้

ทั้งนี้หากเปลี่ยนขีดกำหนดความไว (**Sensitivity Threshold**) การตัดแปลงต่าง ๆ ในโหมดนี้จะหายไป พีคทั้งหมดจะถูกสแกน และกำหนดใหม่โดยอัตโนมัติ

### 10.5 การเพิ่มและการเอาพีคออก

คำสั่งการเพิ่มและการเอาพีคออกสามารถทำได้ในโหมด **Left border**, **Top** และ **Right border**

คำสั่ง **Add peak** จะเพิ่มพีคเข้าสู่ทางด้านซ้ายของพีคที่ปรากฏ

คำสั่ง **Delete peak** จะลบพีคที่กำลังเลือกไว้

คำสั่ง **Delete all peaks but chosen** จะลบพีคทั้งหมดยกเว้นพีคที่เลือกไว้

คำสั่งต่าง ๆ ดังข้างต้นสามารถเลือกได้จากปุ่มต่าง ๆ บนแถบเครื่องมือในหน้าต่างแสดงค่าผลการประเมิน

### 10.6 การดูโพรไฟล์ของแถวในครอสโมด (Cross mode)

การคลิกปุ่มเมาส์ทางด้านซ้ายบนโซนต่างในภาพของแถว โพรไฟล์ของความสว่างของตำแหน่งที่คลิก แต่เมื่อปล่อยมือโพรไฟล์ดังกล่าวจะหายไป ทั้งนี้หากเปลี่ยนเข้าสู่ครอสโมด **Cross** กราฟแสดงโพรไฟล์ดังกล่าวจะปรากฏขึ้นจนกระทั่งเปลี่ยนเข้าสู่โหมดอื่น

### 10.7 การดูโครมาโทแกรมของแถว

การเลือก **Chromatogram** ในเมนู **Examination** ในหน้าต่าง **Track Evaluation** จะใช้ในการตรวจสอบโครมาแกรมในรูปแบบตั้งต้นและแบบที่ผ่านการปรับเรียบ

กราฟสองรูปจะปรากฏขึ้น สีแดงหมายถึงกราฟของโครมาโทแกรมเดิม สีน้ำเงินหมายถึงกราฟของโครมาโทแกรมที่ผ่านการปรับเรียบ

การคลิกที่ปุ่ม **All Spine Types** ในแถบเครื่องมือจะแสดงกราฟทั้งหมดที่ได้จากการปรับเรียบโดยค่าต่าง ๆ

หากต้องการขยายแต่ละส่วนของกราฟ ให้กดปุ่มเมาส์และวงรอบบริเวณที่ต้องการขยาย

หากต้องการเลื่อนกราฟ ให้ลากโดยการกดปุ่มเมาส์ด้านขวา

### 10.8 วิธีการประเมินผลในแถวต่อไป

คลิกปุ่ม **Next** ในหน้าต่าง **Track Evaluation** ซึ่งหมายถึงการยอมรับการประเมินผลของแถวดังกล่าวและกำลังจะทำการประเมินผลในแถวต่อไป

## 11 การประเมินหาความเข้มข้นของสารในแกว

### 11.1 หลักการประเมินค่า

หากทุกพีคในแกวสามารถมองเห็นได้และนำมาวิเคราะห์ รวมทั้งหากสารที่ทำกรวิเคราะห์มีคุณลักษณะทางเคมีใกล้เคียงกัน จะสามารถคำนวณหาร้อยละของสัดส่วนของสารที่มีอยู่ในแกวนั้น ๆ ได้ (โดยประมาณ)

ปริมาณร้อยละของสารขึ้นกับพื้นที่ของพีค (สำหรับพีคที่แยกออกจากกันโดยสมบูรณ์) หรือความสูงของพีค (สำหรับพีคที่ไม่แยกจากกัน) ผลการวิเคราะห์ที่ได้จะแสดงในหน้าต่าง **Track Evaluation Results**

### 11.2 การสร้างและการพิมพ์รายงานผลการประเมิน (Evaluation report)

หน้าต่าง **Track Evaluation Results** สามารถเรียกได้จากหน้าต่างหลัก (**Main Window**) ของโปรแกรมหรือจากเมนูในหน้าต่าง **Track Evaluation**

คุณสมบัติและค่าต่าง ๆ ที่ได้จากการวิเคราะห์แกวจะปรากฏในหน้าต่างนี้ ได้แก่

- ค่า **Rf**
- **Traveling Distance** ระยะจากจุดเริ่มของแต่ละจุด (**L**) อ่านบทที่ 7.4 สำหรับการกำหนดสเกลของภาพโครมาโทแกรม
- **Areas** ของพีค (**S**) และยังแสดงในรูปร้อยละของสัดส่วนของพื้นที่แต่ละพีคเมื่อเทียบกับพื้นที่รวมทั้งหมด (**%S**)
- **Height** ของพีค (**H**) และยังแสดงในรูปร้อยละของสัดส่วนของความสูงแต่ละพีคเมื่อเทียบกับความสูงของพีครวมทั้งหมด (**%H**)
- **Substance Name** จะระบุไว้ในส่วน **Peak Description**

ข้อมูลเกี่ยวกับแกวจะระบุไว้ในส่วน **Additional Description**

กดปุ่ม **Report** เมื่อต้องการพิมพ์รายงาน

รายงานจะประกอบด้วยกราฟแสดงความเข้มแกว (Track Intensity Graph) ตารางแสดงค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ (**Rf, L, S, %S, H, %H** และรายละเอียดเกี่ยวกับพีค) และรายละเอียดเกี่ยวกับแกว

## 12 ผลการประเมินแถว (Track evaluation results)

เลือกคำสั่ง **Results (Ctrl+F9)** จากเมนู **Tracks** หรือปุ่มที่แถบเครื่องมือบนหน้าต่างหลักของโปรแกรม เพื่อเปิดหน้าต่าง **Evaluation Results/Calculation of Concentration** หน้าต่างนี้จะแบ่งออกเป็น 3 ตาราง ซึ่งสามารถเลือกโดยการคลิกที่หัว

### 12.1 ผลการวิเคราะห์ของทุกแถว

เลือกแถบ **Rf & S** เพื่อดูข้อมูลดังต่อไปนี้ของพีคที่ผ่านการวิเคราะห์

Rf สัดส่วนของระยะทางที่จุดของสารเคลื่อนที่ต่อระยะทางที่เส้นพรอนท์

S พื้นที่ของจุด

H ความสูงของพีค

กดแป้น **Ctrl+Ins** เพื่อสำเนาข้อมูลในส่วนที่เลือกไปอยู่ในคลิปบอร์ดซึ่งสามารถนำไปแปะบน MS Excel ข้อมูลที่ต้นสามารถนำไปใช้ในการคำนวณทางสถิติอื่น ๆ ต่อไปได้

หากต้องการพิมพ์ผลการวิเคราะห์ให้กดปุ่ม **Report** กรอกข้อมูลในส่วนต่าง ๆ ในหน้าต่าง Report parameters (ชื่อผู้ปฏิบัติการ ชนิดของแผ่นที่แอลซี สารที่ต้องการวิเคราะห์ และรายละเอียดอื่น ๆ) กดปุ่ม **Print**

โปรแกรมจะทำการพิมพ์รายงานผลการวิเคราะห์ซึ่งมีรายละเอียดประกอบด้วย หัวรายงานแสดงรายละเอียดต่าง ๆ เกี่ยวกับโครมาโทแกรม ภาพโครมาโทแกรมที่มีเครื่องหมายระบุอยู่บนจุดในแต่ละแถว รายงานผลการประเมินแถวและพีคของแต่ละแถว (อ่านบทที่ 11.2 เกี่ยวกับรายงานผลการประเมินแถว)

### 12.2 การเลือกพีคเพื่อการประเมินค่าเชิงปริมาณ

เมื่อเลือกแถบ **Selection** โครมาโทแกรมจะปรากฏขึ้นซึ่งมีจุดสีแดงระบุตำแหน่งของจุดที่จะนำไปวิเคราะห์ผล กดปุ่ม **Peaks** หากต้องการซ่อนหรือแสดงจุดระบุตำแหน่งดังกล่าว

หากต้องการคำนวณหาความเข้มข้นของสารในตัวอย่าง ให้ทำการเลือกกลุ่มของจุดที่ต้องการนำมาคำนวณผล การเลือกจุดดังกล่าวทำได้โดยการคลิกในโครมาโทแกรมและเลื่อนลูกศรในแนวเส้นตั้งโดยการกดที่ปุ่มบนเมาส์ด้านซ้ายค้างไว้จนกระทั่งเห็นจุดสีแดงที่ตำแหน่งพีคต่าง ๆ ในแนวนอนที่ต้องการนำมาวิเคราะห์เปลี่ยนเป็นจุดสีเขียว ค่า Rf ของจุดเหล่านี้จะแสดงอยู่ใต้

ภาพโครมาโทแกรม การเลือกจุดที่ต้องการนำมาวิเคราะห์ยังสามารถทำได้โดยการคลิกโดยตรงที่จุดสีแดงที่ต้องการ

หลังจากเลือกจุดที่ต้องการนำมาวิเคราะห์แล้ว ต่อมาต้องทำการระบุว่าจุดใดเป็นสารมาตรฐานและจุดใดเป็นตัวอย่าง โดยการคลิกเมาส์ที่ค่า Rf ของแต่ละจุดที่แสดงอยู่ใต้โครมาโทแกรม หากกดแล้วตัวเลขเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินแสดงว่าระบุให้จุดนั้นเป็นสารมาตรฐาน หากเป็นสีแดงหมายถึงสารตัวอย่าง

คลิก **Calculate Concentration** เพื่อทำการคำนวณผล

### 12.3 กราฟ

คลิกที่ **Graph** เพื่อดูและพิมพ์โครมาโทแกรมของทุกแถว

## 13 การคำนวณเชิงปริมาณเพื่อหาความเข้มข้นของสารในตัวอย่าง

### 13.1 วิธี External standard method

วิธีนี้ใช้ในการหาปริมาณของสารในตัวอย่าง โดยต้องทราบน้ำหนัก (หรือปริมาตร) ที่แน่นอนของสารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ เพื่อนำมาใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารในตัวอย่างนั้นโดยเทียบเป็นสัดส่วนของน้ำหนักสารต่อน้ำหนักของตัวอย่าง การหาปริมาณของสารในตัวอย่างอาศัยการคำนวณจากกราฟมาตรฐาน (calibration graph) ซึ่งสร้างระหว่ปริมาณของสารในสารมาตรฐานกับพื้นที่หรือความสูงของพีคที่แต่ละจุด การคำนวณดังกล่าวข้างต้นจะดำเนินการโดยอัตโนมัติ เมื่อจะทำการคำนวณให้เลือกแถบ **Selection** จะปรากฏหน้าต่าง **Evaluation Results / Calculation of Concentration** ให้เลือกกลุ่มของจุดที่ต้องการนำมาใช้ในการคำนวณ (ดูบทที่ 12.2)

### 13.2 การระบุปริมาณสารมาตรฐาน (Standards) และตัวอย่าง (Samples)

กรอกข้อมูลในกล่องข้อความของตาราง **Sample**

กรอกข้อมูลในกล่องข้อความของตาราง **Standards**

เลือกประเภทของการถดถอย (regression) โดยเลือกชนิดการถดถอยเชิงเส้น (linear regression) หากปริมาณของสารมาตรฐานใกล้เคียงกันมาก นอกนั้นควรเลือกเป็นแบบการถดถอยแบบยกกำลังสอง (square regression)

### 13.3 การคำนวณเชิงปริมาณ

คลิกปุ่ม Calculate กล่องข้อความแสดงรายละเอียดเกี่ยวกับความเข้มข้น (Concentration list box) และปริมาณสาร (Substance Quantity)-กราฟแสดงพื้นที่พีค (Peak are graph) จะปรากฏขึ้น

ผลการคำนวณของความเข้มข้นจะระบุด้วยเครื่องหมาย '\*' หากปริมาณของตัวอย่างในจุดมีน้อยกว่าปริมาณน้อยสุดของสารมาตรฐานหรือมากกว่าปริมาณมากที่สุดของสารมาตรฐาน

ในกรณีที่ใส่สารมาตรฐานเพียงจุดเดียว จะทำได้แค่การประมาณหาค่าของความเข้มข้นของสารในตัวอย่างเท่านั้น

สามารถเปลี่ยนชนิดของสมการถดถอยได้และปริมาณสารต่าง ๆ ได้ในกล่องข้อความ และทำการคลิกปุ่ม **Calculate**

หากต้องการขยายแต่ละส่วนของกราฟ ให้กดปุ่มเมาส์และวงรอบบริเวณที่ต้องการขยาย

หากต้องการเลื่อนกราฟ ให้ลากโดยการกดปุ่มเมาส์ด้านขวา

คลิก **Print** เพื่อเตรียมรายงาน

### 13.4 รายงานผลการคำนวณเชิงปริมาณ

กรอกข้อความต่าง ๆ ที่ต้องการลงในหน้าต่าง Report parameters และคลิกปุ่ม Print

รายงานที่ได้จะประกอบด้วยหัวตารางซึ่งมีรายละเอียดเกี่ยวกับโครมาโทแกรม ภาพแผ่น กราฟแสดงผลการคำนวณ ผลการวิเคราะห์และอื่น ๆ ที่ต้องการแสดงรายละเอียด

## 14 คุณสามารถช่วยเราได้อย่างไร

เนื่องจากภาษาอังกฤษมิใช่เป็นภาษาประจำชาติ คู่มือการใช้โปรแกรมฉบับภาษาอังกฤษจึงอาจมีข้อบกพร่อง หากผู้อ่านท่านใดมีความสามารถ โปรดช่วยปรับปรุงภาษาดังกล่าว

ทั้งนี้หากผู้อ่านสามารถแปลคู่มือการใช้ ซอร์บิลซอฟต์แวร์ และระบบการช่วยเหลือ (help system) เป็นภาษาอื่นได้ จะได้รับส่วนลด 50% ในการสั่งซื้อซอร์บิล ทีแอลซี วีดีโอเดนสิโตมิเตอร์ ซอฟต์แวร์

หากมีข้อสงสัยอื่นใด โปรดติดต่อหน่วยสนับสนุนได้ที่ [support@sorbfil.com](mailto:support@sorbfil.com)