



# АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ ПОИСК НАНОЧАСТИЦ НА ИЗОБРАЖЕНИЯХ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕЙРОННОЙ СЕТИ

## AUTOMATED SEARCH FOR NANOPARTICLES IN THE PROBE MICROSCOPE IMAGES USING A NEURAL NETWORK

О.В.Синицына<sup>1</sup>, науч. сотр., (ORCID: 0000-0003-3381-6156), М.М.Воробьев<sup>1</sup>, вед. науч. сотр., (ORCID: 0000-0000-0003-1312-7599), И.В.Яминский<sup>1,2,3,4</sup> д.ф.-м.н., проф. физического и химического факультетов МГУ имени М.В.Ломоносова, вед. науч. сотр. ИНЭОС РАН, директор Центра перспективных технологий, (ORCID: 0000-0001-8731-3947) / yaminsky@nanoscopy.ru

O.V.Sinityna<sup>1</sup>, Researcher, M.M.Vorob'ev, Leading Researcher, I.V.Yaminskiy<sup>1,2,3,4</sup>, Doct. of Sci. (Physics and Mathematics), Prof. of Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments, Director of Advanced Technologies Center, Leading Sci. of INEOS RAS

DOI: 10.22184/1993-8578.2021.14.5.276.280

Получено: 8.08.2021 г.

Использование автоматизированного поиска объектов в зондовой микроскопии дает ряд серьезных преимуществ: высокую скорость обработки данных; минимизацию влияния экспериментатора на процесс измерений; возможность увеличить объем данных, используемых для анализа. В данной работе на примере данных атомно-силовой микроскопии белковых наночастиц мы показали, что для поиска наночастиц, размеры которых сравнимы с уровнем шума, более точный результат дает алгоритм с использованием нейронной сети, тогда как более крупные наночастицы более точно выделяет пороговый алгоритм.

There are a number of important advantages that can be obtained by using automated search for objects detected by the probe microscopy, such as a high rate of data processing, minimization of experimentalist's influence on the measurement process and a possibility to enlarge the data volume to be processed. It has been shown in this work that for the search for nanoparticles, which dimensions are comparable to a noise level, the more accurate result is achieved by a neural network algorithm based on protein nanoparticles data processing which was obtained using the atomic force microscopy while the larger nanoparticles are more precisely distinguishable by the threshold algorithm.

### ВВЕДЕНИЕ

Сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ) является одним из основных методов исследования нанообъектов. К основным преимуществам СЗМ следует отнести: высокое пространственное разрешение, возможность

построения трехмерной карты поверхности, получение информации о локальных физико-химических свойствах поверхности и закрепленных на ней объектах [1]. Внедрение подходов, использующих искусственный интеллект, позволит повысить информативность

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки "Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН)", Москва, Россия / A.N.Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds of Russian Academy of Sciences (INEOS RAS), Moscow, Russia.

<sup>2</sup> МГУ имени М.В.Ломоносова, физический и химический факультеты, НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ Москва, Россия / Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments, A.N.Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow, Russia.

<sup>3</sup> ООО НПП "Центр перспективных технологий", Москва, Россия / Advanced Technologies Center, Moscow, Russia.

<sup>4</sup> ООО "Энергоэффективные технологии", Москва, Россия / Energy Efficient Technologies.

методов СЗМ и уменьшить влияние экспериментатора на процесс анализа данных, приводящее к серьезному искажению результатов даже для рутинных измерений [2].

В настоящее время алгоритмы искусственного интеллекта достаточно редко используются в СЗМ [3, 4]. Одной из трудностей является необходимость сбора массива экспериментальных данных для тренировки алгоритмов. Алгоритмы искусственного интеллекта могут использоваться в СЗМ для поиска объектов на изображении и получения количественной информации об их микроструктуре. Простые пороговые алгоритмы поиска в случае малых размеров объектов часто дают неудовлетворительные результаты.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящей работе мы применили алгоритм обработки данных с использованием нейронной сети для поиска белковых наночастиц на изображениях атомно-силовой микроскопии (АСМ) и анализа их распределения по размерам. Использовали программное обеспечение "ФемтоСкан Онлайн" [5] для обработки данных АСМ и выделения объектов с помощью порогового алгоритма и Gwyddion [6] для поиска объектов с помощью нейронной сети.

На рис.1 показано АСМ-изображение белковых наночастиц, нанесенных на поверхность слюды из водного раствора и высушенных

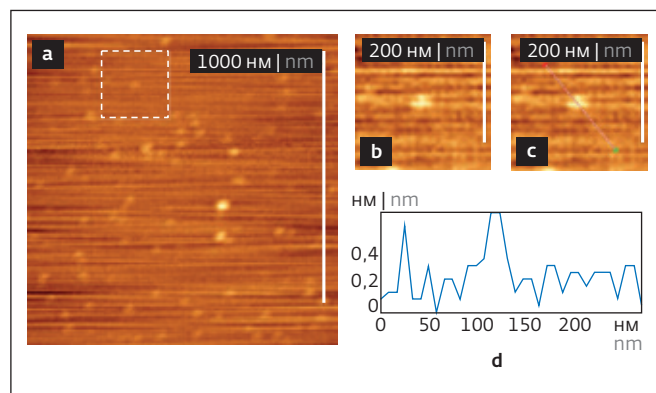


Рис.1. а – изображение белковых наночастиц на поверхности слюды; б – увеличенный фрагмент изображения; с – с линией сечения; d – профиль сечения

Fig.1. a – images of the protein nanoparticles on the mica surface; b – enlarged fragment of the image; c – image with a cross line; d – cross profile

на воздухе [7]. Изображение получено с помощью микроскопа "ФемтоСкан" (Центр перспективных технологий) в полуконтактном режиме сканирования. На приведенном профиле поверхности видно, что высота наночастицы сравнима с уровнем шума, который составляет 0,3 нм. Мы предполагаем, что в данном случае уровень шума определяется наличием на поверхности низкомолекулярных компонент, осажденных на слюду из раствора.

### INTRODUCTION

One of the main methods to study the nanoobjects is a scanning probe microscopy (SPM). The basic advantages of SPM are: a high spatial resolution, the ability to construct a three-dimensional surface map, and receipt of information about the local physical and chemical properties of the surface and fixed objects on it [1]. Implementation of a concept that uses artificial intelligence makes it possible to get more information received by SPM method, and reduce the

experimentalist's influence on the data processing which can lead to significant distortion of the results even when making routine measurements [2].

Currently the artificial intelligence algorithms are quite rarely used in SPM [3, 4]. One of the main difficulties is the need to collect massive experimental data to test the algorithms. Artificial intelligence algorithms can be useful in SPM to search for the objects in the images and acquisition of their quantitative information of the microstructure. Simple

threshold searching algorithms in the case of small objects usually produce insufficient results.

### RESEARCH METHODS

In this work, we applied the data processing algorithm using a neural network to search for the protein nanoparticles in the images obtained by the atomic force microscopy (AFM), and analyze their size distribution. Use was made of the FemtoScan Online software [5] for AFM data processing and isolation of the objects

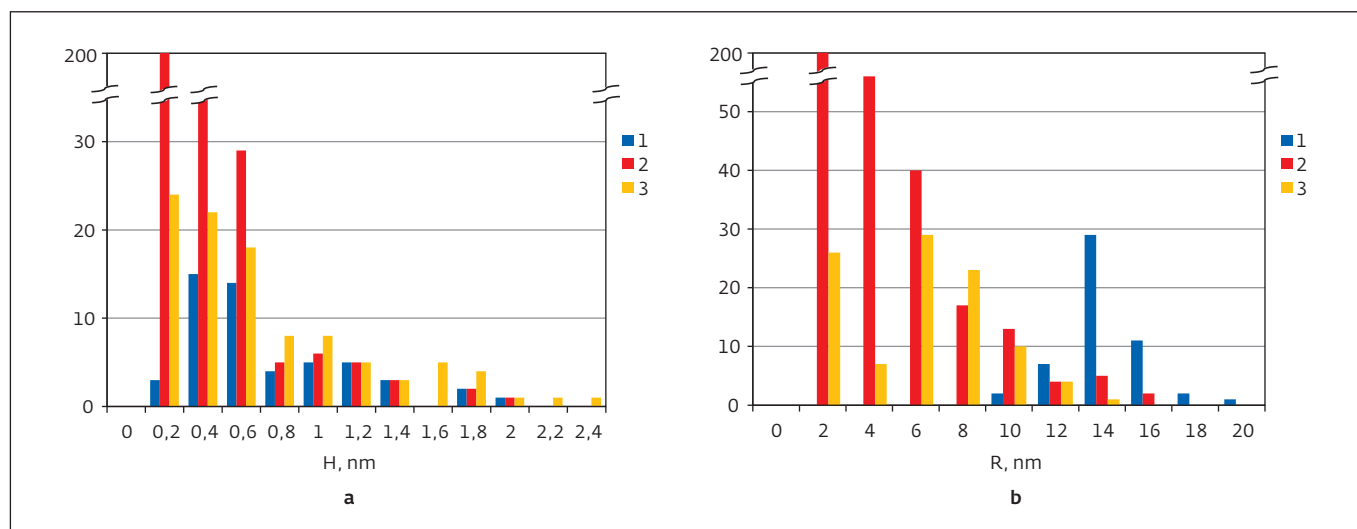


Рис.2. Распределение белковых наночастиц по размерам: а – максимальная высота частиц; б – радиус диска с эквивалентной площадью; 1 – ручное выделение объектов; 2 – пороговый метод поиска частиц; 3 – выделение объектов с использованием нейронной сети

Fig.2. Distribution of the protein particles by sizes: a – maximum size of particles; b – disk radius of the equivalent area; 1 – manual isolation of the objects; 2 – threshold method to search for particles; 3 – isolation of the objects using a neural network

Результаты сравнения ручного подхода и методов автоматического определения размеров белковых наночастиц представлены на рис.2. Анализировались максимальная высота частиц и радиус диска с площадью, эквивалентной площади, занимаемой частицей. Нейронная сеть, реализованная в программе Gwyddion, использовалась для удаления фона между частицами, после которого применялся пороговый метод выделения

объектов. При ручном подходе контуры каждой частицы описывались эллипсом.

При наличии шума, сравнимого с размерами частиц, применение порогового метода поиска приводит к существенному искажению распределения частиц по размерам в области малых высот и радиусов из-за ошибочного выделения областей поверхности, не содержащих наночастиц или некорректного выделения контура объектов. Применение

applying the threshold algorithm and Gwyddion [6] to search for the objects with the aid of a neuron network.

An AFM image of the protein nanoparticles applied onto the mica surface from the water solution and dried in air [7] is shown in Fig.1. The image was obtained with the aid of a FemtoScan microscope (Advanced Technologies Center) in a semi-contact scanning mode. The particle height is comparable to a noise level, which is 0.3 nm, as it was seen on the indicated surface profile. We suppose that in this case the noise level is dependent

on the low-molecular components deposited onto mica from the solution.

The results of a comparison of manual approach and automated methods of protein nanoparticles sizes detection are presented in Fig.2. Analyzed are the maximum height of the particles and disk radius of the area that is equivalent to the area occupied by one particle. The neural network, realized in Gwyddion software, was used to eliminate the background between particles, thereafter the threshold algorithm was applied. In the manual approach, contours of each

particle were described by an ellipse.

If a noise level is comparable with the size of the particles, application of the threshold method leads to significant distortion of the particle size distribution in the small heights and radii area because of wrong detection of the surface fields, which do not contain nanoparticles, or due to incorrect isolation of the contours of the objects. Use of the neural network to eliminate the background can significantly reduce the number of "false" particles and construct contours more

17-Я СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ ВЫСТАВКА

ТОЧНЫЕ ИЗМЕРЕНИЯ — ОСНОВА КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ

# MetroExpo'2021

18–20 октября



## ТЕМАТИКА ВЫСТАВКИ:

МЕТРОЛОГИЯ  
ИЗМЕРЕНИЯ  
ИСПЫТАНИЯ И АНАЛИТИКА  
ДИАГНОСТИКА И КОНТРОЛЬ  
ПРОМЫШЛЕННАЯ АВТОМАТИЗАЦИЯ

## В РАМКАХ РОССИЙСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОЙ НЕДЕЛИ

Синергия 6-и выставок  
19.000 посетителей  
600 участников  
Экспозиция 17.000 м<sup>2</sup>

ВК «ВЭТСТРОЙ ЭКСПО»  
Телефон: +7 (495) 937-40-23  
E-mail: [metrol@expoprom.ru](mailto:metrol@expoprom.ru)  
[www.metrol.expoprom.ru](http://www.metrol.expoprom.ru)





нейронной сети для удаления фона позволяет значительно снизить количество "ложных" частиц и более точно выделить контур объекта. Однако в области больших высот, где размер частиц значительно больше величины шума, более точным оказывается пороговый метод. Это может быть связано с тем, что только треть частиц имеет высоту более 1 нм и распределение по размерам для них крайне неоднородно, поэтому для тренировки нейронной сети количества крупных частиц недостаточно. Следует отметить занижение значений радиуса диска с эквивалентной площадью для автоматических методов выделения контура наночастиц (рис.2б).

### ВЫВОДЫ

Методы зондовой микроскопии дают высокое пространственное разрешение, но во многих случаях наблюдается лишь сравнительно малая площадь поверхности, и накопить большой массив данных не удастся, вследствие износа зонда или временных ограничений. Результаты работы показывают, что в такой распространенной в практике ситуации для повышения качества автоматического поиска наночастиц следует использовать комбинацию порогового алгоритма для крупных частиц и нейронную сеть для частиц, размеры которых сравнимы с уровнем шума.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 21-58-10005) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Voigtländer B. Scanning Probe Microscopy. Atomic Force Microscopy and Scanning Tunneling Microscopy; Springer-Verlag GmbH: Berlin, 2015.
2. Nečas D., Klapetek P. Study of user influence in routine SPM data processing. Measurement Science and Technology 27 (2017) 034014.
3. Sacha G.M., Varona P. Artificial Intelligence in Nanotechnology. Nanotechnology 24.45 (2013): 452002.
4. Miller H., Zhou Z., Shepherd J., Wollman A.J.M., Leake M.C. Single-molecule techniques in biophysics: a review of the progress in methods and applications. Reports on Progress in Physics, 81, 2 (2017) 024601.
5. Яминский И., Филонов А., Сеницына О., Мешков Г. Программное обеспечение "Фемто-Скан Онлайн". НАНОИНДУСТРИЯ. 2016. № 2. С. 42-46.
6. Nečas D., Klapetek P. Gwyddion: an open-source software for SPM data analysis. Central European Journal of Physics 10 (2012) 181-188.
7. Vorob'ev M.M., Sinitsyna O.V. Degradation and assembly of  $\beta$ -casein micelles during proteolysis by trypsin. International Dairy Journal, 104 (2020) p. 104652.

*Декларация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в данной статье.*

precisely. However, in the big heights area, where the particle sizes are much greater than the noise level, the threshold method yields more accurate results. It can be due to the fact that just one-third number of the particles has a height of more than 1 nm, and distribution of sizes for them is extremely inhomogeneous, therefore, application of the neural network is not reasonable because of the number of big particles is not enough for its training. It is necessary to point out a downgrading of the radius of the disk having the

equivalent area in case when the automated methods for isolation of the nanoparticle contours are used (see Fig.2b).

### CONCLUSIONS

The probe microscopy methods ensure a high spatial resolution but in many cases only a relatively small surface area is observed, and a large data array is not possible due to the wear of the probe or time limitations.

The results of the work show that in such a common practical situation, when it is required to upgrade quality of the automatic search for nanoparticles, it is necessary to

use a combination of a threshold algorithm for large particles and a neural network for those particles which dimensions are comparable to noise level.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The study was completed with the financial support of the RFBR (grant No. 21-58-10005) and Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation. ■

*Declaration of Competing Interest. The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.*



a Hyve event

Международная  
выставка оборудования,  
сырья и технологий  
для фармацевтического  
производства

23-26  
НОЯБРЯ  
2021

Россия, Москва  
МВЦ «Крокус Экспо»

ПОЛУЧИТЕ  
БЕСПЛАТНЫЙ БИЛЕТ  
НА САЙТЕ  
ПО ПРОМО-КОДУ:

**pha21print**

pharmtech-expo.ru  
+7 (495) 799-55-85  
pharmtech@hyve.group



Реклама