

Метод исследования механизмов трехмерной самосборки коллоидных микрочастиц с применением глубокого обучения

© И.В. Симкин, А.А. Широкова, А.И. Швецов, А.В. Кохановская, П.А. Забавина,
А.А. Бондарева, П.А. Либет, Н.П. Крючков, Е.В. Яковлев

Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана, Москва, Россия
E-mail: vanyasimkin@gmail.com

Поступило в Редакцию 3 мая 2024 г.

В окончательной редакции 15 июля 2024 г.

Принято к публикации 30 октября 2024 г.

Представлен подход к визуализации и анализу трехмерной самосборки микрочастиц в жидкости с помощью лазерной плоскостной микроскопии с последующим восстановлением координат в трех измерениях. Для этого использовалась нейронная сеть YOLOv8. Показано, что предложенный метод постобработки позволяет выявлять характерные особенности картины рассеяния на микрочастицах со средней точностью обнаружения (Mean Average Precision), равной 0.93, и извлекать координаты их расположения в трехмерном пространстве с точностью 20% от диаметра. Этот подход имеет потенциал для контроля процессов самосборки микрочастиц в 3D и является важным для развития новых материалов и технологий, включая 3D-биопечать и микро- и нанофабрикацию.

Ключевые слова: мягкая материя, коллоиды, трехмерная самосборка, плоскостная микроскопия.

DOI: 10.61011/PJTF.2024.24.59432.6616k

Исследование самоорганизации двумерных структур из микро- и наночастиц с помощью внешних управляющих полей является актуальной областью физики конденсированного состояния [1–3]. Открытия в этой области привели к значительным достижениям в материаловедении [4], коллоидной химии [5] и др. Трехмерная самосборка представляет собой развитие двумерной. Исследования процессов, протекающих при трехмерной самосборке, таких как изучение диффузионных процессов в стеклах [6,7], анализ кинетики фазовых переходов [8,9] и т.д., имеют ключевое значение. Они открывают новые перспективы в различных областях. Например, в медицине это может способствовать развитию технологий 3D-биопечати и созданию тканей и органов [10–14], а также формированию сложных трехмерных микро- и наноструктур с уникальными свойствами [15,16].

Разработка способов визуализации трехмерной самосборки микрочастиц открывает новые возможности для регулирования этого процесса. Так, применение плоскостной микроскопии с временным разрешением 30 кадров в секунду позволяет фиксировать динамические процессы самосборки, которые протекают на временном масштабе порядка 10 s (характерное время диффузии микрочастиц в сольвенте), что позволяет исследовать различные механизмы самосборки во внешних управляющих полях с разрешением на уровне отдельных частиц (particle-resolved). Для анализа физических параметров системы и определения их взаимосвязей с воздействием внешнего управляющего поля требуются алгоритмы постобработки, в том числе основанные на методах машинного обучения. Следует отметить, что машинное обучение уже применяется для описания стохастического и нелинейного поведения трехмерных систем самосборки, полученных путем моделирования [17].

Визуализация самосборки экспериментальных трехмерных систем сопряжена с трудностями. Необходимо детектировать частицы синхронно во всем объеме, чтобы не потерять информацию о протекающих процессах. Существуют работы по определению положения частицы на основе голографического анализа коллоидных частиц с использованием теории рассеяния Лоренца–Ми в проходящем свете лазера [18]. Наша схема эксперимента отличается тем, что видеофиксация рассеяния происходит перпендикулярно плоскости распространения лазерного луча. Поэтому для детектирования частиц требуется иной подход.

Схема экспериментальной установки представлена на рис. 1, а. В качестве источника излучения использовался плоскостной лазер с длиной волны излучения $\lambda = 660 \text{ nm}$. Образец представлял собой калиброванные микрочастицы полистирола (PS Microparticles GmbH, Германия, среднеквадратичное отклонение диаметра $0.09 \mu\text{m}$) диаметром $10.55 \mu\text{m}$, диспергированные в растворителе. Массовая доля микрочастиц составила 0.01%. В качестве растворителя была выбрана смесь деионизованной воды и глицерина (массовая доля глицерина 10%). Глицерин добавляли для компенсации плотности растворителя относительно плотности частиц, чтобы уравновесить силу Архимеда и силу тяжести, действующие на частицу.

Был определен порядок проведения эксперимента: 1) суспензия помещалась в кювету; 2) кювета с образцом размещалась в области лазерного излучения (путем перемещения лазерного источника настраивалось расстояние между лазером и образцом таким образом, чтобы образец находился в перетяжке лазерного луча); 3) вертикальное положение области пересечения лазерного пучка с образцом (лазерного слоя) устанавливалось

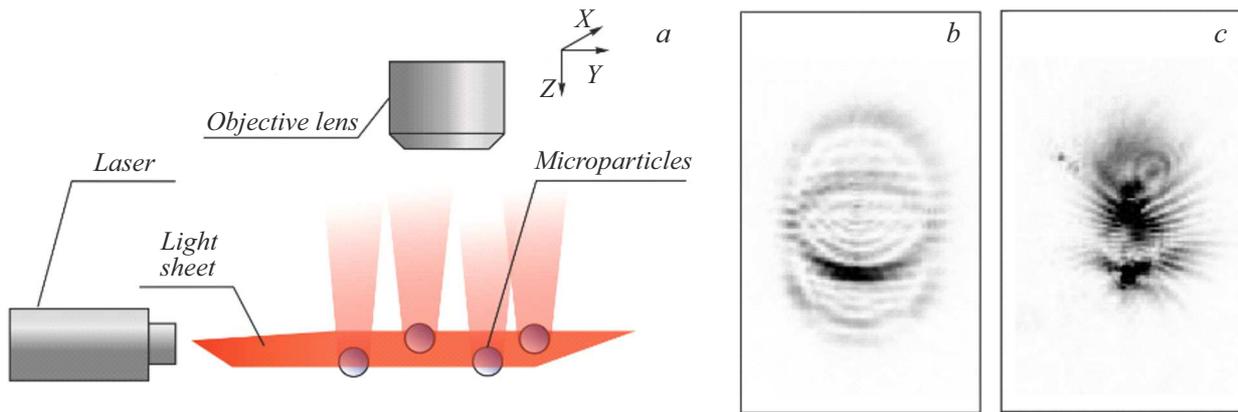


Рис. 1. *a* — принципиальная схема эксперимента плоскостной микроскопии. Плоскость распространения лазерного пучка (плоскость с координатами XY , в которой происходит наблюдение частиц, показана красным) и оптическая ось объектива (координата Z) расположены ортогонально. Цветной вариант рисунка представлен в электронной версии статьи. *b, c* — картины рассеяния лазерного луча на одной и той же частице (цвета инвертированы) ниже (*b*) и выше (*c*) фокальной плоскости камеры.

таким образом, чтобы микрочастица находилась в максимально интенсивной области плоскости распространения лазерного пучка, а именно в плоскости XY , в которой распространяется центральная ось лазерного пучка. Эта плоскость перпендикулярна оптической оси камеры, вдоль которой выбрано направление координаты Z . Вертикальное положение микроскопа также подстраивалось, чтобы микрочастица находилась в фокальной плоскости оптической системы.

Подход к детектированию микрочастиц в объеме основан на том, что лазерный луч при рассеянии на частицах имеет характерную картину рассеяния в зависимости от их положения относительно фокальной плоскости камеры. На рис. 1, *b* показана картина рассеяния ниже фокальной плоскости, на рис. 1, *c* — картина выше фокальной плоскости.

Для детектирования микрочастиц по изображениям рассеяния лазерного луча была обучена нейронная сеть YOLOv8 [19]. Архитектура YOLOv8 включает множество слоев свертки, пуллинга и полносвязных слоев, обеспечивающих высокую точность обнаружения объектов. Тренировочный датасет состоял из 848 изображений (с разрешением 1600×1120 пикселей). Разметка изображений для обучения нейронной сети проводилась вручную с использованием программного обеспечения LabelImg [20]. Мы использовали прямоугольные рамки (bounding boxes) для выделения области картины рассеяния, которые соответствовали различным положениям микрочастиц относительно фокальной плоскости объектива. Обученная нейронная сеть детектирует области картины рассеяния частиц со средней точностью обнаружения (Mean Average Precision), равной 0.93. На рис. 2 представлен результат обучения нейронной сети YOLOv8. Частицы класса „Plus“ (выше фокальной плоскости) отмечены синим цветом, частицы класса „Minus“ (ниже фокальной плоскости) отмечены красным. Координаты X и Y , отвечающие координатам центров ча-

стиц в плоскости детектирования камерой, определялись как координаты центра соответствующей детектируемой прямоугольной области (region of interest).

На основе детектирования нейронная сеть извлекает характерные признаки картины рассеяния, такие как ее размер, форма, положение центра масс. Для определения координаты Z требуется установить соответствие между признаками картины рассеяния и абсолютной координатой. В качестве абсолютных значений координат Z были использованы параметры частиц, полученные из калибровочных замеров.

Серия калибровочных замеров включала в себя 50 замеров на разных положениях лазерного пучка по оси Z . Изначально микрочастица находилась в центре интенсивности лазерной плоскости и в фокальной плоскости оптической системы. В ходе эксперимента изменялось вертикальное положение оптической системы наблюдения при помощи точного позиционера с шагом $5 \mu\text{m}$, т.е. в диапазоне $250 \mu\text{m}$. На каждом шаге проводилась фоторегистрация микрочастицы. Было проведено 20 таких серий по 40 замеров в каждой. По результатам замеров получены визуальные изображения рассеянного на частицах лазерного излучения в зависимости от расстояния от микрочастицы до рабочей плоскости камеры.

В результате калибровочных замеров были собраны данные о зависимости внешнего вида картины рассеянного излучения на микрочастице от ее положения по вертикали вдоль оси Z относительно центра плоскости распространения лазерного пучка и плоскости фокусировки оптической системы камеры, в которой частицы наблюдаются с наибольшей четкостью и точностью (рабочей плоскости оптической системы). Картина рассеяния имеет свою индивидуальность и содержит информацию о пространственном положении частицы по вертикали вдоль оси Z , что использовалось в дальнейшем при разработке метода детектирования частиц,

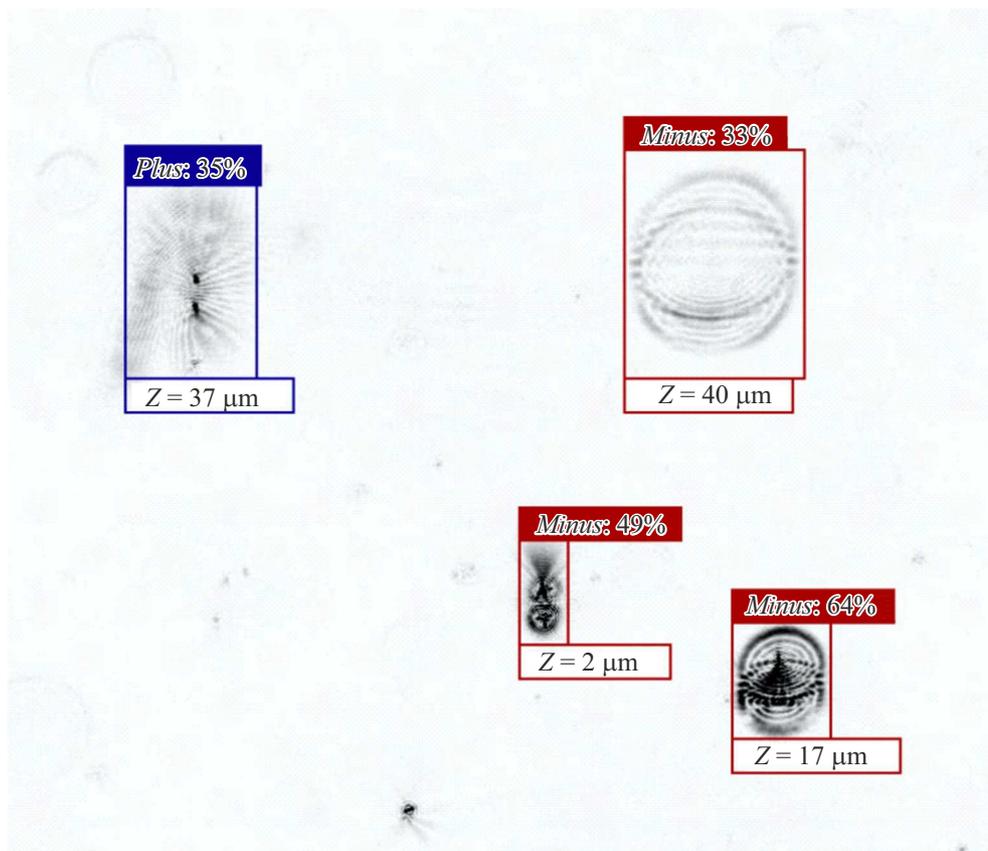


Рис. 2. Результат определения координаты Z коллоидных микрочастиц. Синим цветом отмечены частицы выше фокальной плоскости с надписью „Plus“, красным — частицы ниже фокальной плоскости с надписью „Minus“. Модуль координаты Z центра частиц указан снизу от детектируемых областей. Цветной вариант рисунка представлен в электронной версии статьи.

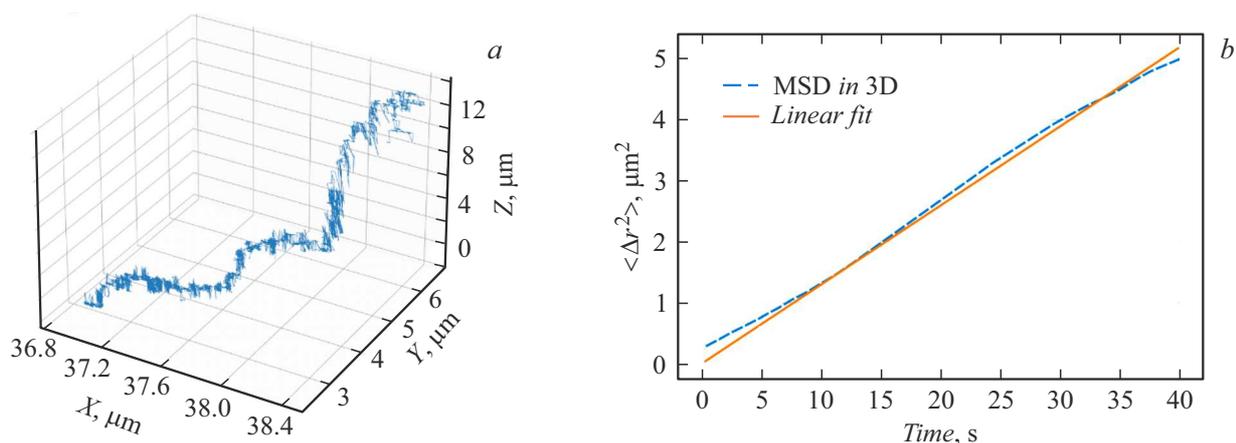


Рис. 3. a — трехмерная траектория коллоидной микрочастицы в сольвенте, восстановленная с помощью алгоритма постобработки. b — вычисленное среднее квадратичное смещение частиц в зависимости от времени наблюдения (штриховая линия) и аппроксимация зависимости линейной функцией (сплошная линия).

определения их координат и построения траекторий микрочастиц.

По полученным координатам частиц (X , Y , Z) были определены их траектории (рис. 3, a). Затем были вычислены среднее квадратичные смещения частиц в сольвенте.

На рис. 3, b штриховой линией показано усредненное среднее квадратичное смещение по 108 частицам, которые свободно распространялись в среде. Сплошной линией на рис. 3, b показана аппроксимация линейной зависимостью $\langle \Delta r^2 \rangle = 4Dt$, где D — коэффициент диффузии.

Согласно аппроксимации, коэффициент диффузии равен $1.18 \cdot 10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}$. Этот результат согласуется с коэффициентом диффузии, вычисленным с помощью формулы Стокса–Эйнштейна:

$$D = \frac{RT}{3\pi\eta\sigma N_A} \approx 1.63 \cdot 10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}, \quad (1)$$

где $R = 8.31 \frac{\text{m}^2 \cdot \text{kg}}{\text{s}^2 \cdot \text{K} \cdot \text{mol}}$ — универсальная газовая постоянная, $T = 293 \text{ K}$ — абсолютная температура, $\eta = 2.49 \cdot 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ — динамическая вязкость сольвента (была определена по формуле динамической вязкости смеси жидкостей, предложенной Аррениусом), $\sigma = 10.55 \mu\text{m}$ — диаметр коллоидной частицы, $N_A = 6.02 \cdot 10^{23}$ — число Авогадро.

Результаты обработки экспериментов, проведенных с дрейфующими микрочастицами в сольвенте, демонстрируют, что наш алгоритм способен восстанавливать координаты частиц (X , Y , Z) вдоль фокальной оси объектива в пределах $\pm 80 \mu\text{m}$.

Возможность контроля и управления процессами самосборки микрочастиц в трехмерном пространстве на уровне отдельных частиц имеет потенциал для дальнейших разработок в области создания новых функциональных материалов, а также для контроля динамики самосборки, создания новых материалов с уникальными свойствами и развития инновационных технологий в области микро- и нанотехнологий.

Финансирование работы

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 22-72-10128) на базе МГТУ им. Н.Э. Баумана.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] N.A. Dmitryuk, L.A. Mistryukova, N.P. Kryuchkov, S.A. Khrapak, S.O. Yurchenko, *Sci. Rep.*, **13** (1), 2815 (2023). DOI: 10.1038/s41598-022-26390-w
- [2] E.N. Tsiok, Y.D. Fomin, E.A. Gaiduk, E.E. Tareyeva, V.N. Ryzhov, P.A. Libet, N.A. Dmitryuk, N.P. Kryuchkov, S.O. Yurchenko, *J. Chem. Phys.*, **156** (11), 114703 (2022). DOI: 114703.10.1063/5.0075479
- [3] E.V. Yakovlev, N.P. Kryuchkov, S.A. Korsakova, N.A. Dmitryuk, P.V. Ovcharov, M.M. Andronic, I.A. Rodionov, A.V. Sapelkin, S.O. Yurchenko, *J. Coll. Interface Sci.*, **608**, 564 (2022). DOI: 10.1016/j.jcis.2021.09.116
- [4] M. Nishizawa, in *Nanocarbons for energy conversion: supramolecular approaches*, ed. by N. Nakashima. Ser. Nanostructure Science and Technology (Springer, Cham, 2019), p. 351–370. DOI: 10.1007/978-3-319-92917-0_15
- [5] C.K. Wong, X. Qiang, A.H. Müller, A.H. Gröschel, *Prog. Polymer Sci.*, **102**, 101211 (2020). DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2020.101211
- [6] V. Carrasco-Fadanelli, Y. Mao, T. Nakakomi, H. Xu, J. Yamamoto, T. Yanagishima, I. Buttinoni, *Soft Matter*, **20** (9), 2024 (2024). DOI: 10.1039/D3SM01320K
- [7] K.A. Rose, M. Molaei, M.J. Boyle, D. Lee, J.C. Crocker, R.J. Composto, *J. Appl. Phys.*, **127** (19), 191101 (2020). DOI: 10.1063/5.0003322
- [8] A. Basu, L.B. Okello, N. Castellanos, S. Roh, O.D. Velev, *Soft Matter*, **19** (14), 2466 (2023). DOI: 10.1039/D3SM00090G
- [9] Y. Li, Q. Fan, X. Wang, G. Liu, L. Chai, L. Zhou, J. Shao, Y. Yin, *Adv. Funct. Mater.*, **31** (19), 2010746 (2021). DOI: 10.1039/D3TC02586A
- [10] K. Yan, K. Zhou, X. Guo, C. Yang, D. Wang, *Surf. Coat. Technol.*, **477**, 130347 (2024). DOI: 10.1016/j.surfcoat.2023.130347
- [11] S. Lantean, I. Roppolo, M. Sangermano, M. Hayoun, H. Dammak, G. Rizza, *Add. Manuf.*, **47**, 102343 (2021). DOI: 10.1016/j.addma.2021.102343
- [12] J.J. Martin, B.E. Fiore, R.M. Erb, *Nature Commun.*, **6** (1), 8641 (2015). DOI: 10.1038/ncomms9641
- [13] Y. Kim, H. Yuk, R. Zhao, S.A. Chester, X. Zhao, *Nature*, **558** (7709), 274 (2018). DOI: 10.1038/s41586-018-0185-0
- [14] M. Wang, J. Liu, R. Deng, J. Zhu, *Fundam. Res.*, in press (2024). DOI: 10.1016/j.fmre.2023.12.018
- [15] S. Li, J. Tang, Y. Liu, J. Hua, J. Liu, *Compos. Sci. Technol.*, **249**, 110493 (2024). DOI: 10.1016/j.compscitech.2024.110493
- [16] C. Liu, X. Feng, S. Liu, G. Lin, Z. Bai, L. Wang, K. Zhu, X. Li, X. Liu, *J. Mater. Sci. Technol.*, **168**, 194 (2024). DOI: 10.1016/j.jmst.2023.06.007
- [17] J. O’Leary, R. Mao, E.J. Pretti, J.A. Paulson, J. Mittal, A. Mesbah, *Soft Matter*, **17** (4), 989 (2021). DOI: 10.1039/D0SM01853H
- [18] M.D. Hannel, A. Abdulali, M. O’Brien, D.G. Grier, *Opt. Express*, **26** (12), 15221 (2018). DOI: 10.1364/OE.26.015221
- [19] G. Jocher, A. Chaurasia, J. Qiu, *Ultralytics YOLOv8 (8.0.0)* [Computer software] (2023). <https://github.com/ultralytics/ultralytics>
- [20] D. Tzatalin, *LabelImg* [Computer software] (2015). <https://github.com/tzatalin/labelimg>