

УДК 543.635
УДК 528.854

EDN [ARTKSO](#)

Применение машинного обучения для определения суммарного содержания антиоксидантов методом CUPRAC

А.А. Дамзина^{1,2*}, А.С. Бондарчук¹

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36, Томск, 634050, Россия

² Томский промышленно-гуманитарный колледж, ул. Мичурина, 4, Томск, 634049, Россия

*E-mail: anna.damzina@yandex.ru

Аннотация. В работе предлагается подход к уменьшению времени, затрачиваемого на измерение аналитического сигнала получаемых полиметакрилатных матриц, и расчёт суммарного содержания антиоксидантов в пересчёте на вещество-стандарт. Так как традиционный способ определения суммарного содержания антиоксидантов методом CUPRAC с использованием прибора спектрофотометра требует значительных затрат времени и предполагает наличия дорогостоящего оборудования. Применение системы технического зрения, основанной на моделях нейронной сети, позволяет менее чем за секунду осуществлять обработку изображений, содержащих полиметакрилатную матрицу после контакта с раствором антиоксиданта. В статье представлены новые архитектуры свёрточной и полносвязной нейронных сетей, в том числе основанные на уже существующих архитектурах и являющихся их модификацией. Для обучения разработанных архитектур был создан набор данных, содержащий в себе изображения и аннотации 80 различных полиметакрилатных матриц. Сформированный набор данных состоит из 800 изображений размером 512x512 пикселей, который был разделён на 503 изображения обучающей выборки и 297 для тестовой выборки. В результате обучения искусственных нейронных сетей и их объединения в разработанном алгоритме системы технического зрения удалось на тестовой выборке данных определить с точностью 42.4% численное значение суммарного содержания антиоксидантов в пересчёте на заданное вещество-стандарт.

Ключевые слова: суммарное содержание антиоксидантов, метод CUPRAC, полиметакрилатная матрица, нейронная сеть, система технического зрения, обработка изображений.

Application of machine learning to determine the total antioxidant content using the CUPRAC method

A.A. Damzina^{1,2*}, A.S. Bondarchuk¹

¹National Research Tomsk State University, Lenin str., 36, Tomsk, 634050, Russia

²Tomsk Industrial and Humanitarian College, Michurina str., 4, Tomsk, 634049, Russia

*E-mail: anna.damzina@yandex.ru

Abstract. The work proposes an approach to reducing the time spent on measuring the analytical signal of the resulting polymethacrylate matrices and calculating the total content of antioxidants in terms of the standard substance. Since the traditional method of determining the total content of antioxidants using the CUPRAC method using a spectrophotometer requires a significant amount of time and requires expensive equipment. The use of a technical vision system based on neural network models makes it possible to process images containing a polymethacrylate matrix after contact with an antioxidant solution in less than a second. The article presents new architectures of convolutional and fully connected neural networks, including those based on existing architectures and those that are their modification. To train the developed architectures, a dataset was created containing images and annotations of 80 different polymethacrylate matrices. The generated data set consists of 800 images of 512x512 pixels in size, which was divided into 503 images for the training set and 297 for the test set. As a result of training artificial neural networks and combining them in the developed algorithm of the technical vision system, it was possible to determine the numerical value of the total antioxidant content in terms of a given standard substance using a test data sample with an accuracy of 42.4%.

Keywords: total antioxidant content, CUPRAC method, polymethacrylate matrix, neural network, vision system, image processing.

1. Введение

Известно, что метод CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) является широко применяемым и экспрессным методом для определения суммарного содержания антиоксидантов (Σ АО). Данный подход основан на восстановлении Cu(II) в комплексе с неocupроином (Nc) антиоксидантами (АО), что приводит к образованию комплексного соединения желтого цвета, максимум поглощения которого определяют с использованием прибора спектрофотометра при $\lambda = 450$ нм. Максимум поглощения полученного комплекса $\text{Cu(I)} - \text{Nc}$ соответствует суммарному содержанию антиоксидантов, которое чаще всего определяют по градуировочной зависимости для вещества-стандарт ($X_{\text{ст}}$) и выражают как количество $X_{\text{ст}}$, например, в виде аскорбиновой, галловой кислоты или тролокса.

При этом большой интерес представляет реализация метода CUPRAC с использованием твердых носителей. В проведенной ранее работе [6] индикаторная система $\text{Cu(II)} - \text{Nc}$, иммобилизованная в полиметакрилатной матрице ($\text{Cu(II)} - \text{Nc} - \text{ПММ}$) уже использовалась для определения суммарного содержания антиоксидантов в соковой продукции. Т.е. для реализации такого подхода необходимо измерение аналитического сигнала (оптической плотности) получаемых полиметакрилатных матриц (ПММ) $\text{Cu(II)} - \text{Nc} - \text{ПММ}$ после контакта с раствором вещества-стандарт или анализируемого реального образца на приборе спектрофотометре с последующим расчетом суммарного содержания антиоксидантов по градуировочной зависимости для вещества-стандарт с использованием программы MSExcel, что требует значительных временных затрат для химика-аналитика (50-60 минут).

2. Постановка задачи (Цель исследования)

В данной работе представлен альтернативный подход к измерению аналитического сигнала получаемых полиметакрилатных матриц и расчёту суммарного содержания антиоксидантов в пересчёте на вещество-стандарт. Данный подход заключается в применении системы технического зрения (СТЗ), основанной на алгоритмах машинного обучения для обработки изображения, содержащего полиметакрилатную матрицу после контакта с раствором АО. Результатом обработки, предлагаемой СТЗ, является численное значение суммарного содержания антиоксидантов в пересчёте на заданное вещество-стандарт. Целью данного

исследования является уменьшение времени, затрачиваемого на получение и обработку сигнала Cu(I)-Nc-ПММ.

3. Методы и материалы исследования

3.1. Приготовление колориметрического сенсора и определение Σ АО

Приготовление колориметрического сенсора осуществляли аналогично работе [6]. Для определения суммарного содержания АО в градуированные пробирки вместимостью 15 см³ помещали 0,5 мл буферного раствора, добавляли 0-4 мл рабочего раствора восстановителя (антиоксиданта) органической природы, доводили объем до 5 см³ бидистиллированной водой. Таким же образом определяли Σ АО в реальных образцах. Растворы перемешивали и опускали туда модифицированные полиметакрилатные матрицы (Cu(II)-Nc-ПММ), ставили на вибромеханический смеситель на 20 мин. Далее вынимали пластинки, подсушивали между листами фильтровальной бумаги и измеряли оптическую плотность (A) при $\lambda = 450$ нм. После чего строили градуировочный график зависимости A от концентрации для вещества-стандарта, получали уравнение градуировочной зависимости и рассчитывали суммарное содержание АО в реальных образцах, подставляя вместо y в уравнение градуировочной зависимости для X_{ст} аналитический сигнал пробы. Схема определения суммарного содержания АО с использованием ПММ представлена на рисунке 1.

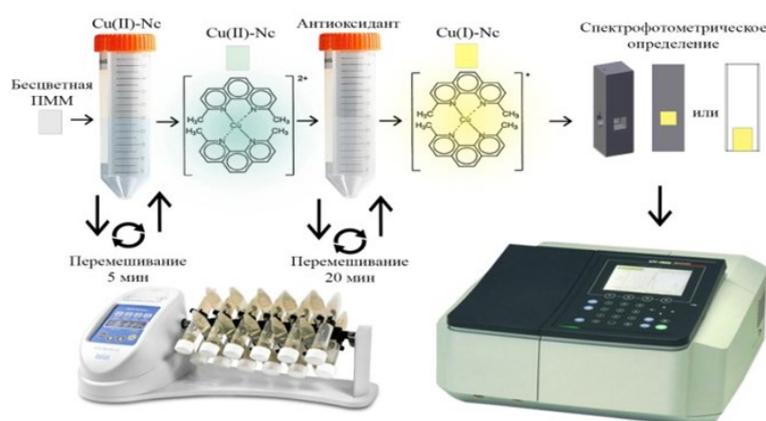


Рисунок 1. Схема определения суммарного содержания АО с использованием индикаторной системы Cu(II)-Nc, иммобилизованной в ПММ.

3.2. Алгоритм работы системы технического зрения

Разрабатываемая СТЗ предназначена для сокращения времени определения Σ АО методом CUPRAC с использованием индикаторной системы Cu(II)-Nc, иммобилизованной в ПММ. Для создания эффективной СТЗ принято решения о применении методов машинного обучения, а именно, осуществление обработки изображений с помощью искусственных нейронных сетей. Схематическое представление алгоритма работы, разрабатываемой СТЗ изображено на рисунке 2.

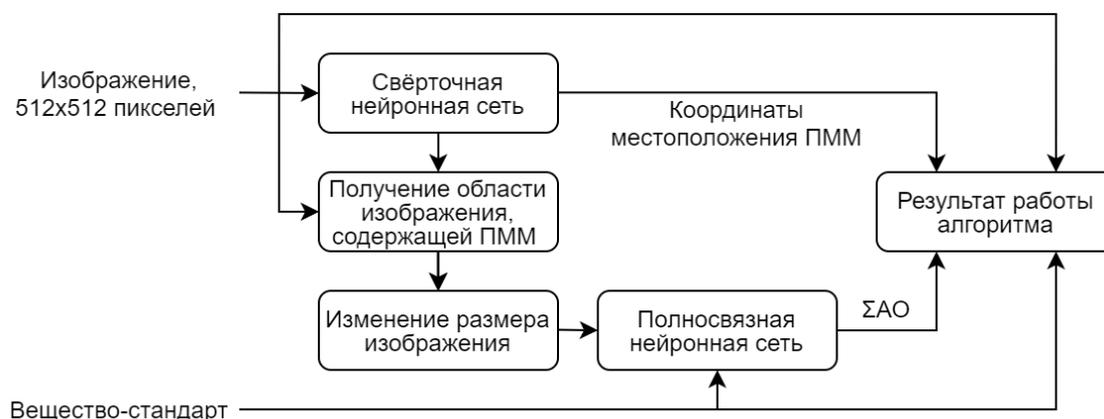


Рисунок 2. Схема алгоритма работы системы технического зрения.

Свёрточная нейронная сеть системы технического зрения предназначена для решения задачи детекции полиметакрилатной матрицы на изображении. Полученные на выходе свёрточной нейронной сети координаты позволяют получить из исходного изображения его часть, содержащую анализируемый объект. После чего размер полученного изображения объекта преобразуется к размеру 50×50 пикселей и подаётся на полносвязную нейронную сеть вместе с информацией о том какое вещество-стандарт интересует пользователя СТЗ. Полносвязная нейронная сеть предсказывает значение суммарного содержания антиоксидантов в пересчёте на заданное вещество-стандарт и выводит его на экран пользователя.

3.3. Набор данных для обучения.

Перед обучением искусственной нейронной сети был сформирован датасет, содержащий в себе 800 изображений размером 512×512 пикселей. При формировании датасета использовались данные о 80 различных полиметакрилатных матриц. На каждом изображении присутствует одна анализируемая полиметакрилатная матрица. Все

изображения были аннотированы таким образом, что в файле аннотации для каждого изображения содержится следующая информация:

- 1) Координаты местоположения полиметакрилатной матрицы на изображении.
- 2) Вещество-стандарт на которое осуществлялся пересчёт Σ АО.
- 3) Значение концентрации вещества-стандарта для данной полиметакрилатной матрицы.

При этом аннотация изображений осуществлялась с помощью программы CVAT, в которой размечались местоположения ПММ на изображениях.

В результате полученный датасет был разделён на обучающую и тестовую выборку состоящие из 503 и 297 изображений соответственно.

3.4. Архитектура свёрточной нейронной сети

Детекция ПММ осуществлялась с помощью свёрточной нейронной сети, представляющей собой модификацию ResNet-18 [2]. ResNet-18 (Residual Network, «остаточная сеть») — нейронная сеть с архитектурой, состоящей из 18 слоёв. Архитектура данной сети содержит четыре фрагмента по два «остаточных» блока, с двумя слоями свёртки в каждом блоке, за которыми следуют слой average pooling и полносвязный слой. Основным элементом ResNet — Residual-блок (остаточный блок) с shortcut-соединением, через которое данные проходят без изменений. Residual-блок представляет собой несколько свёрточных слоёв с активациями, которые преобразуют входной сигнал x в $F(x)$. Схематическое представление архитектуры ResNet-18 продемонстрировано на рисунке 3.

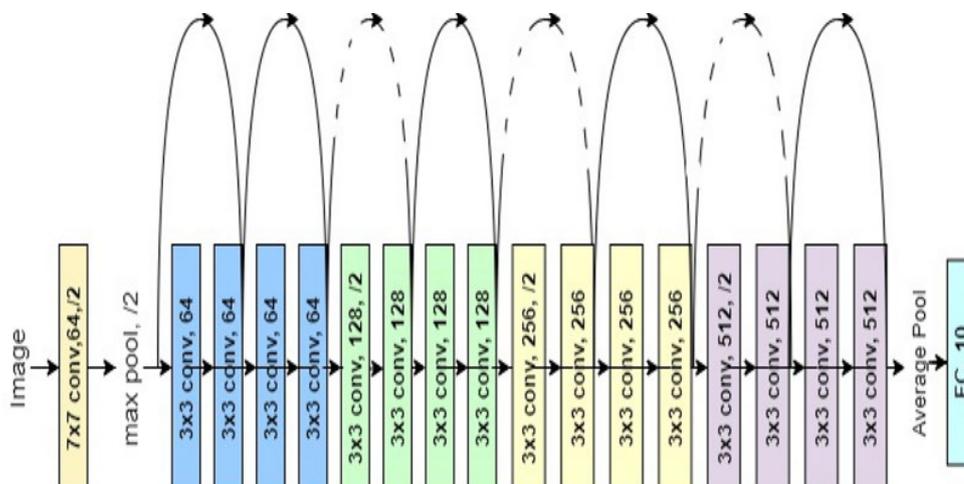


Рисунок 3. Схематическое представление архитектуры ResNet-18.

Для применения в разрабатываемой СТЗ, архитектура ResNet была модифицирована путём замены последнего полносвязного слоя сети на следующую последовательность слоёв:

- 1) Свёрточный слой с ядром 3×3 , преобразующий карту признаков из 512 каналов, в карту признаков из 1024 канала.
- 2) Свёрточный слой с ядром 3×3 , с преобразованием 1024 канала в 2048
- 3) Свёрточный слой с ядром 3×3 , с сохранением количества каналов.
- 4) Слой max pooling, с шагом 2 и расширением карты признаков на один пиксель по краям.
- 5) Свёрточный слой с ядром 5×5 , с сохранением количества каналов.
- 6) Полносвязный слой из 512 нейронов.
- 7) Полносвязный слой из 4 нейронов.

Между промежуточными слоями архитектуры применялись нормализация и функция активации Relu [3]. На выходе последнего полносвязного слоя использовалась сигмоидная функция активации [3]. Первые слои, принадлежащие оригинальной архитектуре ResNet-18, были предобучены на массивной базе данных аннотированных цветных изображений ImageNet [2]. Разработанная свёрточная нейронная сеть, представляющая собой модификацию ResNet-18, предназначена для предсказания 4 значений координат рамки окружающей объект интереса на изображении. Первые два значения являются координатами x и y верхнего левого угла ограничивающей рамки, следующие значения отражают информацию о ширине и высоте рамки соответственно.

Обучение свёрточной нейронной сети осуществлялось с применением оптимизатора Radam, параметр learning rate (начальная скорость обучения) составлял – 0,001, параметр weight decay (штраф к функции потерь) – 0,0001. С помощью планировщика обучения с коэффициентом gamma равным 0,98 скорость обучения уменьшалась экспоненциально за 350 эпох (циклов). В качестве функции потерь использовалась среднеквадратичная ошибка (Mean Squared Error, MSE) [5]. После обучения нейросети на тестовых изображениях был рассчитан показатель точности average precision (AP) [7], с перекрытием IoU (Intersection over union) между предсказанной и истиной областями не менее 50 %. Данный показатель составляет 88 %, что говорит о высокой точности детекции ПММ на изображении.

3.5. Архитектура полносвязной нейронной сети

Участок изображения, содержащий только объект интереса, вырезается из изображения по координатам ограничивающей рамки, полученным в результате работы свёрточной нейронной сети СТЗ. После преобразования этого участка в изображение размером 50×50 пикселей, осуществляется обработка полученного изображения полносвязной нейронной сетью [1]. Разработанная полносвязная нейронная сеть предназначена для предсказания Σ АО в расчёте на заданное вещество-стандарт. Архитектура разработанной нейронной сети представлена на рисунке 4.

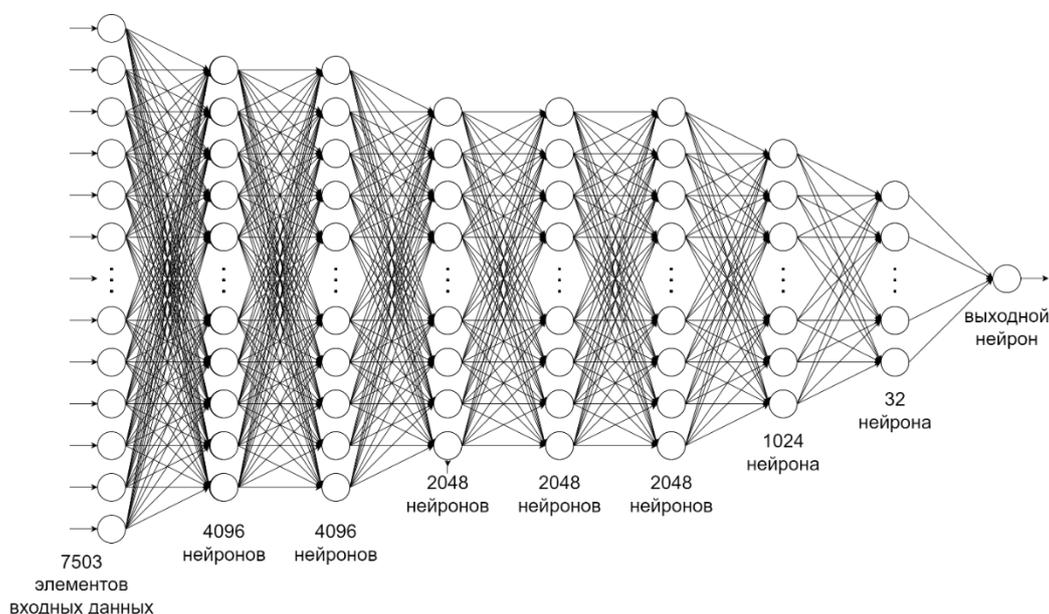


Рисунок 4. Архитектура полносвязной нейронной сети.

На вход нейронной сети подаётся изображение и закодированная в виде бинарного вектора информация о выбранном пользователем веществе-стандарте. Изображение преобразуется в одномерный массив, содержащий 7500 элементов, и объединяется с 3 значениями бинарного вектора вещества-стандарта. После чего значения подаются на первый полносвязный слой, состоящий из 4096 нейронов. Следующий слой также имеет 4096 нейронов. За ним следуют три полносвязных слоя каждый из которых содержит 2048 нейронов, один полносвязный слой из 1024 нейрона, один полносвязный слой из 32 нейронов и в завершении последний слой с одним нейроном. Между промежуточными слоями архитектуры также применялись нормализация и функция активации Relu. На выходе последнего нейрона применялась только функция активации Relu.

Обучение осуществлялось на изображениях ПММ, которые были получены вырезанием участков исходных изображений по размеченным в процессе аннотирования координатам. Вместе с изображением во время обучения из аннотации на нейронную сеть подавалась информация о веществе-стандарте. В качестве функции потерь использовалась сумма среднеквадратичной ошибки и симметричного среднего процента отклонения (SMAPE – Symmetric Mean Absolute Percentage Error). Ошибка рассчитывалась между предсказанием нейронной сети и значением концентрации вещества-стандарта, которое взяли из аннотации к изображениям. В процессе обучения использовался оптимизатор Radam с параметром learning rate – 0,001 и параметром weight decay – 0,1. Коэффициент gamma планировщика обучения был равен 0,993, а скорость обучения уменьшалась экспоненциально в течении 1500 эпох.

Расчёт точности, разработанной полносвязной нейронной сети, осуществлялся следующим образом: для каждого предсказания рассчитывалась относительная погрешность от истинного значения записанного в файле аннотации. Затем производился расчёт процента предсказаний на тестовой выборке с погрешностью меньшей чем 20%, данные предсказаний засчитывались как верные.

В результате, точность верных предсказаний на тестовых изображениях была рассчитана равной 51%, что указывает на недостаточное количество используемых данных для обучения или на неверный выбор параметров обучения и архитектурных особенностей используемой нейронной сети.

4. Полученные результаты

Разработанный алгоритм системы технического зрения предназначен для определения Σ АО с пересчётом на вещество-стандарт по изображению, на котором присутствует полиметакрилатная матрица, полученная после контакта с раствором АО. Точность работы алгоритма рассчитывалась также, как и для полносвязной нейронной сети, и после осуществления детекции и прогнозирования искусственными нейронными сетями Σ АО определялась верно для 42,4 % тестовых изображений. Пример обработки тестового изображения алгоритмом представлен на рисунке 5. На данном рисунке изображена ПММ, соответствующая концентрации вещества-стандарта равной 1,2 мг/л.

Как видно результаты детекции и предсказания для рассматриваемого прецедента приближены к истине с приемлемым уровнем отклонения. В качестве примера, на

рисунке 6 продемонстрировано неверное предсказание для ПММ соответствующей концентрации вещества-стандарта равной 0,2 мг/л.

Обучение, а также расчёты функциональных и временных характеристик представленных алгоритмов производились на персональном компьютере со следующими характеристиками: процессор Intel(R) Core(TM) i9-9880H с тактовой частотой 2.30 ГГц; 32 Гбайт оперативной памяти; видеокарта NVIDIA Geforce RTX 2080. Среднее время обработки одного изображения размером 512×512 пикселей алгоритмом системы технического зрения составляет 0,02 секунды. Таким образом, СТЗ способна работать в реальном времени, обрабатывая 48 кадров в секунду.

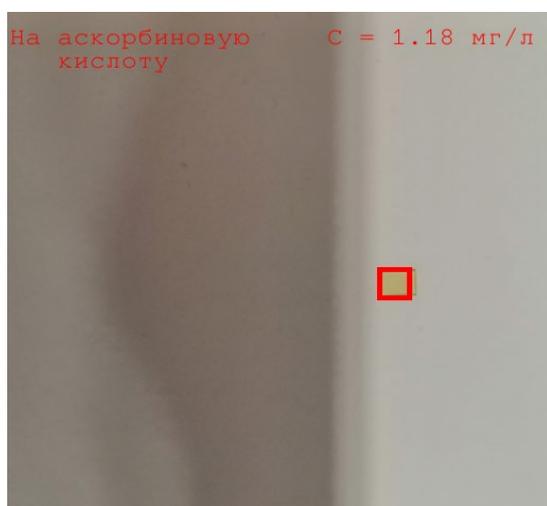


Рисунок 5. Результат работы алгоритма СТЗ с верным предсказанием Σ АО.

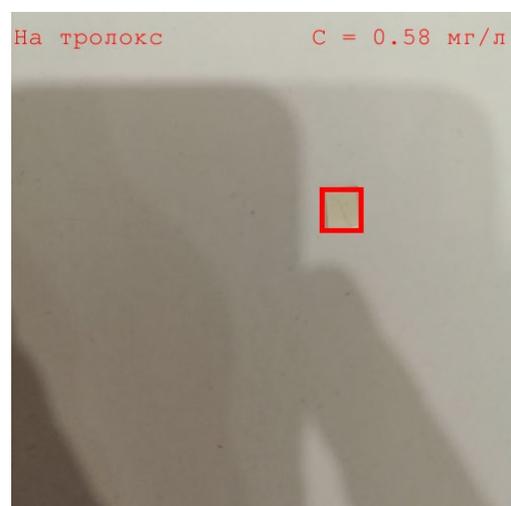


Рисунок 6. Результат работы алгоритма СТЗ с неверным предсказанием Σ АО.

5. Выводы

Работа над предлагаемым алгоритмом всё еще продолжается. Для повышения эффективности и качества его работы планируется пополнять обучающую и тестовую выборки, а также оптимизировать параметры обучения и архитектуры используемых искусственных нейронных сетей. Скорость работы предлагаемого алгоритма и простота его использования позволят уменьшить время получения и обработки сигнала Cu(I)-Nc-ПММ, и избавить от необходимости приобретения специализированного дорогого оборудования.

Список литературы

1. Гафаров Ф.М. Искусственные нейронные сети и приложения: учеб. пособие / Ф.М. Гафаров, А.Ф. Галимянов. – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2018. – 121 с
2. ImageNet: A large-scale hierarchical image database / Deng J., Dong W., Socher R. [et al.] // 2009 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition. – 2009. – P. 248-255
3. Dubey S.R. Activation functions in deep learning: A comprehensive survey and benchmark / S.R. Dubey, S.K. Singh, B.B. Chaudhuri // Neurocomputing. – 2022. – № 503. – P. 92-108
4. He K. Deep residual learning for image recognition / K. He, X. Zhang, S. Ren, J. Sun // Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition. – 2016. – P. 770-778
5. Reddy S.V.G. Optimization of deep learning using various optimizers, loss functions and dropout / S.V.G. Reddy, K. Thammi Reddy, V. Valli Kumari // International Journal of Recent Technology and Engineering. – 2018. – № 4s2. – P. 448-455
6. Saranchina N.V. Determination of antioxidant capacity of medicinal tinctures using cuprac method involving Cu(II) neocuproine immobilized into polymethacrylate matrix / N.V. Saranchina, A.A. Damzina, Y.E. Ermolaev [et al.] // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2020. – № 240. – P. 118581
7. Zhang E. Average Precision / E. Zhang, Y. Zhang // Encyclopedia of Database Systems. – 2009. – P. 192-193