

TDK-DOLGOZAT

Kopolimerek karakterizálása gél permeációs kromatográfia és neurális háló alkalmazásával



BENEDEK MÁTÉ BENJÁMIN

Vegyész MSc

II. évfolyam

Témavezető: Dr. Nagy Tibor
egyetemi adjunktus

Debreceni Egyetem, TTK, Alkalmazott Kémiai Tanszék

Lezárva: 2023. január 10.

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés.....	1
1.1. Problémafelvetés.....	1
1.2. Célkitűzés.....	2
2. Irodalmi áttekintés	3
3. Az alkalmazott módszerek elméleti háttere.....	5
3.1. Gél permeációs kromatográfia (GPC)	5
3.2. Mátrix segített lézeres deszorpció-ionizáció – repülési idő tömegspektrometria (MALDI-TOF MS).....	5
3.3. Mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR)	6
3.4. Neurális hálók	7
4. Kísérleti körülmények	8
4.1. Felhasznált vegyszerek	8
4.2. Neurális háló	9
4.3. MALDI-TOF MS.....	10
4.4. GPC.....	10
4.5. NMR	11
5. Eredmények.....	12
6. Összefoglalás	20
7. Summary.....	21
8. Köszönetnyilvánítás	22
9. Irodalomjegyzék	23

1. Bevezetés

1.1. Problémafelvetés

Ahogy a kémia más területein, úgy a polimerkémiaiban is szükségszerű a makromolekulák méretének és tömegének az ismerete a különböző fizikai és kémiai tulajdonságok felderítéséhez, megismeréséhez. A polimerizációs reakciók jellegéből fakadóan azonban a molekulaláncok mérete eltérő, ezáltal molekulatömegük egy Gauss-görbét mutató molekulatömeg-eloszlásból számított átlagos molekulatömeggel adható meg. Az azonos monomeregységekből álló, ezáltal homogén összetételű homopolimerekkel szemben a különböző monomeregységekből felépülő kopolímerek esetén a helyzet bonyolultabb, ugyanis azok összetétele is hatással van a tárgyalt vegyületek tulajdonságaira. Ezen fizikai és kémiai tulajdonságok megismeréséhez tehát elengedhetetlen a kopolímerek átlagos molekulatömegének, molekulatömeg-eloszlásának, összetételének és a monomerek eloszlásának meghatározása. A gél permeációs kromatográfia (GPC) vagy méretkizárásos kromatográfia (SEC) széles körben alkalmazott eljárás polimerek molekulatömegének meghatározására, ám kopolímerek esetében felhasználásának nehézségeit az jelenti, hogy az egyes molekulákat a hidrodinamikai sugaruk alapján választja el egymástól, ami viszont nemcsak a molekulatömegtől függ, hanem a kopolímerek kémiai összetételétől, az ismétlődő egységek tömegarányától és azok szekvenciájától az adott makromolekulán belül. Ezáltal előfordulhat, hogy az eltérő molekulatömegű, összetételű kopolimer frakciók együtt eluálódnak. [1] A hidrodinamikai sugár továbbá függ az elválasztás során használt oldószertől is. Ahhoz, hogy a kopolimer rendszereket jellemezni tudjuk, kapcsolatot kellene teremtenünk az oldószer polaritása, a molekulatömeg, az összetétel és a hidrodinamikai paraméterek között. Az adatok értelmezése gyakran mérhetetlen időt és energiát igénylő feladat, ezért kezdenek egyre inkább előtérbe kerülni az olyan automatizált, számítógép által elvégzett elemzések, mint a mesterséges intelligencia és a neurális háló alkalmazása, amely gyakorlatilag egy olyan gépi tanulást jelent, ahol az alkalmazott szoftverek emberi beavatkozás nélkül keresik meg és fedezik fel a különböző adathalmazok közötti összefüggéseket. Ennek eléréséhez ezért először már ismert rendszerek ismert és korábban bizonyított összefüggéseit kell felmutatni, hogy azok alapján tudjuk a mesterséges intelligenciának „feltanítani” az önálló adatelemzést.

1.2. Célkitűzés

Mivel a kopolimerek összetétele és molekulatömege is széles határok között változik, ezért a polimerek általános vizsgálatára használt analitikai módszerek alkalmazása nehézkes, például gél permeációs kromatográfia (GPC) esetében nem áll rendelkezésre standard polimer, így csak korlátozottan alkalmazható kopolimerek molekulatömegének meghatározására. A GPC-vel kapott molekulatömeg függ az oldószer polaritásától, amely függés alkalmas lehet a szerkezeti információk meghatározására, habár ezen összefüggések nem ismertek. A mesterséges intelligencia azonban olyan kapcsolatok, összefüggések feltárására alkalmas, melyek más módszerekkel nem deríthetők fel. Célunk egy olyan neurális háló létrehozása volt, amely különböző gél permeációs kromatográfiás mérések eredményeit felhasználva tudja meghatározni a vizsgált kopolimereknek nemcsak az átlagos molekulatömegét, de összetételét is. Ehhez a mesterséges intelligenciát fel kellett tanítanunk a molekulatömegre és összetételre vonatkozó adatok megadásával, melyeket egyéb más módszerekkel, például tömegspektrometriával és mágneses magrezonancia spektroszkópiával határoztunk meg.

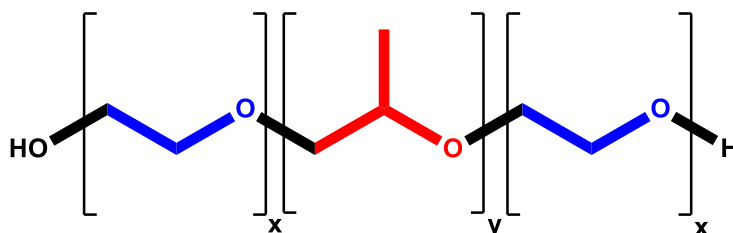
2. Irodalmi áttekintés

A kopolimerek szerkezetüket és funkciójukat tekintve is egy nagyon sokoldalú részét képezik a makromolekuláris kémiának, azon belül is kiemelkedőek a blokk kopolimerek. A hidrofób és hidrofíl blokkokból álló amfifil makromolekulák micellaképzési tulajdonságokkal is rendelkezhetnek, ezen tulajdonságukat pedig számtalan területen alkalmazzák a nemionos felületaktív anyagoktól a kozmetikumokon és habzágátló szereken át egészen a gyógyszeriparig, mint hatóanyag-hordozók stb. [2] [3] [4] [5]

Az egyre szélesedő felhasználási körök következtében az előállítás és karakterizálása ezeknek a komplex polimerrendszereknek egyre nagyobb figyelmet kapott az utóbbi években. Manapság már különböző összetételbeli kívánalmakat kielégítő funkcionális blokk kopolimerek állíthatók elő olyan kontrollált vagy élőgyökös polimerizációs technikákkal, mint például ATRP (atom transfer radical polymerization), SFPR (stable free-radical polymerization) vagy RAFT (reversible addition-fragmentation chain transfer). [6] [7] [8] [9] [10] A tárgyalt funkcionális anyagok fejlesztése azonban nemcsak az újdonsült szintézismódszereket jelenti, hanem a polimerek, illetve kopolimerek karakterizálását is. A cél tehát megérteni az összefüggéseket az egyes kopolimerek szerkezete és tulajdonsága között, ami ezeknek a rendszereknek minél pontosabb és átfogóbb karakterizálást is magába foglalja. [11] Azonban pont a kopolimerek változatos összetétele és szerkezete miatt azok elemzése kihívást jelent. Jellemzésükhöz általában a molekulatömeget, a kémiai összetételt és a szerkezetet szokták megadni, valamint további részletek ismerete hozzájárul a pontosabb értelmezéshez. Az általánosan alkalmazott módszerek önmagukban nem elegendőek mindezen információk szolgáltatásához. A tömegspektrometria lehetőséget teremtené ehhez hasonló komplex rendszerek vizsgálatára, azonban az adatok feldolgozása például a számtalan m/z csúcs miatt adatbányászatot vagy speciális szoftvercsomagokat igényel. [12] [13] Olyan egyéb módszerek, mint a viszkozimetria és az NMR alkalmasak ugyan bizonyos polimerjellemzők megismerésére, de ezek csak átlagos értékeket szolgáltatnak a kopolimerek tulajdonságaira vonatkozóan. Polimerek karakterizálására az egyik legáltalánosabban használt eljárás a bevezetőben már említett gél permeációs kromatográfia, amelynek azonban kopolimerekre nézve korlátai is vannak. Habár egy több detektorral rendelkező GPC-készülék megoldást jelenthetne a koelúció problémájára eltérő összetételű és tömegű kopolimerek esetében, ilyenkor az ismétlődő egységeknek is eltérő detektorjelet kellene adniuk. Az a tény azonban, hogy az GPC-s elválasztás alapját képező hidrodinamikai sugár a kopolimerek összetételétől is függ az előnyünkre is válhat. Ez azt jelenti, hogy különböző elúciós módszerek alkalmazása más és más

eredményeket ad ugyanazon kopolimerekre, amelyek között így különbség tehető az összetételüktől és molekulatömegüktől függően. Az összefüggések feltérképezésére alternatív megoldást jelenthetnek az olyan módszerek, mint a gépi tanulás és a mesterséges intelligencia alkalmazása, amelyek által rejtett összefüggések fedezhetők fel összetett rendszerek adathalmazában anélkül, hogy modellt kellene alkotnunk vagy programot kellene fejlesztenünk. [14] A gépi tanulás egyik változatát jelentő neurális hálókat a kémián belül számtalan területen alkalmazzák a molekulamodellezéstől kezdve az analitikai kémián át egészen a kísérlettervezésekig és a gyógyszerfejlesztésekig. [15] [16] [17] [18] [19]

Vizsgálatainkhoz ún. poloxamer kopolimereket használtunk, melyek polietilén-oxid (PEO) és polipropilén-oxid (PPO) egységekből felépülő blokkszerkezetű kopolimerek b-PEO-b-PPO-b-PEO, illetve reverz esetben b-PPO-b-PEO-b-PPO összetételű láncokkal.



1. ábra: Normál szerkezetű PEO-PPO-PEO poloxamer kopolimer

3. Az alkalmazott módszerek elméleti háttere

3.1. Gél permeációs kromatográfia (GPC)

A gél permeációs kromatográfia makromolekulák vizsgálatára alkalmas elválasztástechnikai módszer. A módszer segítségével könnyen nyerhetők például polimermolekulák molekulatömegére és molekulatömeg-eloszlására vonatkozó információk. Napjainkban a különböző polimerek analíziséhez elengedhetetlen módszer, nagyrészt egyszerűségének és gyorsaságának köszönhetően. A mérés elve az, hogy a polimermolekulák egy porózus tölteten haladnak keresztül, mely állófázisa nem alakít ki kölcsönhatást a vizsgálandó anyaggal. Tehát az elválasztás nem az állófázishoz való affinitáson alapszik, hanem kizárólag a méretük alapján válnak el a molekulák. A legnagyobb méretű molekula eluálódik a legkisebb elúciós idővel. Egy GPC-kromatográfiás készülék felépítését tekintve hasonló egy hagyományos HPLC-készülékhez, melynek főbb részei az eluentároló, a gázmentesítő, a pumpa, az injektor, a kolonna és a detektor. A leggyakrabban alkalmazott detektortípus a differenciál refraktométer (RI), az UV abszorpciós detektor vagy a differenciál viszkoziméter, valamint alkalmazzák még a fényszóródás mérésen alapuló detektorokat is. Az eluens kiválasztása során fontos szempont a detektorral való kompatibilitás. Leggyakrabban alkalmazott eluens az *N,N*-dimetil-formamid, a tetrahidrofurán (THF), valamint poláris komponensek vizsgálatára a víz. Ezen eluensek például kis törésmutatójuk révén jól használhatók RI-detektorral, de kis UV elnyelésüknek köszönhetően UV abszorpciós detektorral is kompatibilisek.

3.2. Mátrix segített lézeres deszorpció-ionizáció – repülési idő tömegspektrometria (MALDI-TOF MS)

A MALDI egy lágy ionizáción alapuló tömegspektrometriai módszer, amely során a mintához egy segédanyagot, ún. mátrixot adunk. A mátrix alkalmazása azt a célt szolgálja, hogy a lézerfény energiájának jelentős részét ez az anyag nyeli el, ezáltal közvetve ionizálva a vizsgálandó komponenseket, melyek a kíméletesebb ionizációnak köszönhetően kevésbé fragmentálódnak, mintha közvetlenül a lézerrel sugároznánk be őket. Egy tömegspektrometriás készülék legfontosabb egységei a mintabeviteli rendszer, az ionforrás, a detektor és az adatfeldolgozó rendszer. MALDI készülék esetében leggyakrabban repülési idő analízist alkalmaznak. Ebben egy gyorsító feszültség hatására az ionok töltésükkel arányos kinetikus energiára tesznek szert, sebességük csak tömegüktől függ. Ezáltal a töltött részecskék a repülési

csőben tömegük szerint különülnek el, és különböző időben érik el a detektort (a kisebb tömegű ionok hamarabb, a nagyobbak később). A repülési idő az ionforrás–detektor távolságtól, a gyorsító feszültségtől és a fajlagos tömegtől függ. Egy MALDI-TOF rendszer legnagyobb előnyei, hogy meglehetősen nagy moláris tömegű molekulák vizsgálatára is alkalmas (10^5 - 10^6 g/mol), továbbá az analizátor gyors működése mellett az ionok detektálása impulzusszerű, ami az érzékenységet növeli. [20]

3.3. Mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR)

Az NMR napjaink egyik legszélesebb körben elterjedt szerkezetfelderítő módszere, mely az atommagok impulzusmomentumán alapszik. A páratlan proton- és/vagy neutronszerű atommagokat erős mágneses térbe helyezve azok mágneses momentuma kétféle állást vehet fel: a külső mágneses tér irányával megegyező parallel (alapállapotú magok), illetve az azzal ellentétes antiparallel (gerjesztett állapotú magok). Ezek energiaszintje különböző, különbségük a rádiófrekvenciás hullámhossz-tartományba esik, és a külső mágneses tér erőssége mellett csak az anyagi minőségre jellemző giromágneses együttható értékétől függ. Rádiófrekvenciás hullámmal besugározva az anyagot az alapállapotú magokat gerjeszthetjük, az abszorbeált hullám frekvenciája megegyezik az atommagok precessziós mozgásából származó ún. Larmor-frekvenciával. Egy NMR-rel történő vizsgálat tulajdonképpen a gerjesztés után emittált elektromágneses sugárzás intenzitásának mérésén alapszik. Az atommagok azonban az őket körülvevő elektronok számának és távolságának a függvényében az alkalmazott mágneses tértől mindig kisebbet érzékelnek, ez az ún. kémiai árnyékolás. Kémiai eltolódás (δ) alatt az árnyékolt magok rezonanciafrekvenciájának (f) a különbségét értjük egy referenciaanyagéhoz képest, ami kvázi a nem árnyékolt mag rezonanciafrekvenciájának feleltethető meg (f_0). [21]

$$\delta = \frac{f-f_0}{f_0} \cdot 10^6 \quad (1)$$

Az NMR-spektrumban az egyes csoportok kémiai eltolódása függ azok kémiai környezetétől. Legáltalánosabb módszer a ^1H -NMR – ennek egyik oka, hogy az NMR-aktív magok közül a protonnak a legnagyobb a giromágneses együtthatója. A ^1H -NMR mérések könnyen kvantitatívvá tehetők azáltal, hogy a csúcsok területi integrálértéke a csoportban található protonok számával arányos. Ezt a jelenséget használtuk ki az egyes kopolimerek összetételének a meghatározásakor az etilén-oxid és propilén-oxid egységek vizsgálatával.

3.4. Neurális hálók

A neurális hálók egy mesterséges intelligencia részét képező gépi tanulási módszert jelentenek. Egy biológiai idegrendszerhez hasonlóan ezeket is neuronok alkotják, amelyeket azonban nem programoznak – a processzorokkal ellentétben – hanem feltanítanak. A különbséget az jelenti, hogy míg előbbiek esetében az algoritmust mi adjuk meg egy utasítássorozat által a számítógépnek, addig a neurális háló esetén az összefüggés ismeretlen, annak a meghatározása a szoftver feladata. Ezt úgy érhetjük el, hogy a feltanítás során megadjuk a célértékeket, valamint kellő számú bemeneti adatot, amelyeket a mesterséges intelligencia addig súlyoz az általa feltárt összefüggések használatával, amíg a legjobb egyezést kapja az előzőleg betáplált kimeneti értékekhez képest. [22]

4. Kísérleti körülmények

4.1. Felhasznált vegyszerek

A homo- és kopolimerek egy része a BASF (Ludwigshafen, Németország) nagylelkű felajánlásai voltak – az (A) jelzéssel ellátott kopolimerek 2006-ban érkeztek, míg a többi 2021-ben. A többi, általunk vizsgált polimer a Merck (Darmstadt, Németország) és a Fluka (Buchs) vállalatoktól kerültek beszerzésre. Az egyes polimerekre (32 darab kopolimer és 8 darab homopolimer) vonatkozó információkat az *1. táblázat* tartalmazza. Az egyes oldószerek, mint a metanol, az acetonitril (ACN), a dimetil-formamid (DMF), a tetrahidrofurán (THF) és a dimetil-szulfoxid (DMSO) a VWR International (Leuven, Belgium) cégtől kerültek beszerzésre. A vizet Direct-Q berendezéssel tisztítottuk (Millipore; Molsheim, Franciaország).

1. táblázat: A vizsgálatokhoz felhasznált polimerek listája

Ssz.	Név	Gyártó	Szekv.	Ssz.	Név	Gyártó	Szekv.
1	L35	Merck	PEO-PPO-PEO	21	PE6100	BASF	PEO-PPO-PEO
2	17R4 (A)	BASF	PPO-PEO-PPO	22	RPE1720	BASF	PPO-PEO-PPO
3	L64	Merck	PEO-PPO-PEO	23	PE6200	BASF	PEO-PPO-PEO
4	PE/P84	Merck	PEO-PPO-PEO	24	PE8100	BASF	PEO-PPO-PEO
5	L121	Merck	PEO-PPO-PEO	25	RPE1740	BASF	PPO-PEO-PPO
6	31R1 (A)	BASF	PPO-PEO-PPO	26	RPE2520	BASF	PPO-PEO-PPO
7	RPE1720 (A)	BASF	PPO-PEO-PPO	27	RPE3110	BASF	PPO-PEO-PPO
8	PE3500 (A)	BASF	PEO-PPO-PEO	28	PE10100	BASF	PEO-PPO-PEO
9	RPE1740 (A)	BASF	PPO-PEO-PPO	29	PE9400	BASF	PEO-PPO-PEO

10	PE4300 (A)	BASF	PEO- PPO-PEO	30	PE10400	BASF	PEO- PPO-PEO
11	RPE2525 (A)	BASF	PPO- PEO-PPO	31	PE10500	BASF	PEO- PPO-PEO
12	PE6100 (A)	BASF	PEO- PPO-PEO	32	PE6800	BASF	PEO- PPO-PEO
13	PE8100 (A)	BASF	PEO- PPO-PEO	33	PEG3400	BASF	PEO
14	PE6120 (A)	BASF	PEO- PPO-PEO	34	PEG8000	BASF	PEO
15	P123	Merck	PEO- PPO-PEO	35	PEG6000	Merck	PEO
16	F68	Merck	PEO- PPO-PEO	36	PEG6000	Fluka	PEO
17	F127	Merck	PEO- PPO-PEO	37	PPG900	BASF	PPO
18	PE6400	BASF	PEO- PPO-PEO	38	PPG1000	Merck	PPO
19	PE3100	BASF	PEO- PPO-PEO	39	PPG2000	BASF	PPO
20	PE4300	BASF	PEO- PPO-PEO	40	PPG2000	Merck	PPO

4.2. Neurális háló

A neurális hálón alapuló modellezéshez a *MATLAB Neural Network Toolbox 2020b* verzióját használtuk (The MathWorks, Inc, Natick, MA, USA). Két ún. „feed-forward” hálózatot készítettünk („ANN_1” és „ANN_2”) rejtett neuronokkal és kimeneti neuronokkal. A hálókat a Bayes-tételen alapuló algoritmussal tanítottuk fel. A bemeneti adatok véletlenszerűen lettek szétosztva a feltanításhoz és az azt követő teszteléshez 90:10 arányban. A hálóknak a hatékonyságát átlagos négyzetes eltéréssel (MSE), illetve Pearson-féle korrelációs együtthatóval (r) jellemeztük. Az optimalizálás a rejtett neuronok számának változtatásával történt (1–15), azaz ha ezek számának a növelése nem eredményezett jobb hatékonyságot,

akkor a kisebb neuronszámú de hatékonyabb modell került alkalmazásra. Egy háló által jószolt kimeneti érték pontosságát az egész adattartományra az alábbi érték átlagának kiszámításával adtuk meg: $\text{abs}(1 - \text{jószolt érték/kísérletileg meghatározott célérték}) \times 100$. Az egyetlen kivételt az *ANN_1* kimeneti EO% értéke jelenti, ahol a pontosság a különbségek átlagát jelenti a kísérleti és a jószolt érték között (mivel az *ANN_1* módszerben homopolimerek is vannak, amik 0-val való osztást eredményeztek volna).

4.3. MALDI-TOF MS

Méréseinket egy *Autoflex Speed MALDI-TOF MS* készüléken hajtottuk végre (Bruker Daltonik, Bremen, Németország). Lineáris és reflektrom módot is alkalmaztunk. Előbbi esetben a két ionforrás feszültsége 19,5 kV és 18,3 kV volt; utóbbi esetben az ionforrások 19 kV és 16,65 kV, míg a reflektrom feszültségei 21 kV és 9,55 kV voltak. A tömegspektrométer egy szilárdfázisú lézerrel van felszerelve (355 nm). A kalibrációhoz polietilén-glikolt és polipropilén-glikolt használtunk. Mátrixnak transz-2-[3-(4-terc-butilfenil)-2-metil-2-propilidén]malonitrilt (DCTB) alkalmaztunk, míg ionizálónak nátrium-trifluoracetátot (NaTFA). A mintaoldó metanol volt. A mátrix koncentrációja 20 mg/ml, a mintáké 10 mg/ml, míg az ionizálós 5 mg/ml volt rendre 25:2:1 keverési arányban, amiből 0,5 µl lett a MALDI-lemez felületére cseppentve.

4.4. GPC

A gél permeációs kromatográfias méréseinkhez egy *Waters Alliance e2695* szeparációs modult használtunk, detektáláshoz Waters 2414 törésmutató-detektort (Waters Corp., Milford, MA, USA). Három különböző eluent és módszert alkalmaztunk. Az első esetben az eluens DMF volt (1 ml/perces áramlási sebesség, 45 °C, 45 perces mérési idő), a kolonnák pedig Styragel HR 6, Ultrastyrigel 10^4 Å, Ultrastyrigel 10^3 Å (300x7,8 mm, Waters, Milford, MA, USA). A második esetben THF/DMSO/piperidin (94/5/1 V/V%) volt az eluenselegy (0,5 ml/perces áramlási sebesség, 40 °C, 35 perces mérési idő); kolonnák: Styragel HR 0,5; 1; 2 és 4 (300x4,6 mm, Waters, Milford, MA, USA). A harmadik esetben ACN/víz (60/40 V/V%) volt az eluenselegy (0,48 ml/perces áramlási sebesség, 40 °C, 48 perces mérési idő); kolonnák: két darab PolySep-GFC-P 3000 volt egymás után (300x7,8 mm, Agilent, California, USA). Minden GPC-s módszer kalibrációjához polietilén-glikolt használtunk, az ezekre vonatkozó adatokat a

2. táblázat tartalmazza. A mintákat az eluens(elegy)ben oldottuk, és 0,45 mikronos fecskendőszűrőn szűrtük a méréseket megelőzően. A koncentráció minden minta esetében ~10 mg/ml volt.

2. táblázat: A GPC-mérésekhez felhasznált standardok adatai

Név	M_n (g/mol)	Gyártó
PEG600	610	BASF
PEG1000	1030	BASF
PEG1500	1420	BASF
PEG2000	2000	Merck
PEG3350	3330	Merck
PEG4000	4210	BASF
PEG6000	6400	BASF
PEG8000	8690	Merck
PEG35000	34820	Fluka

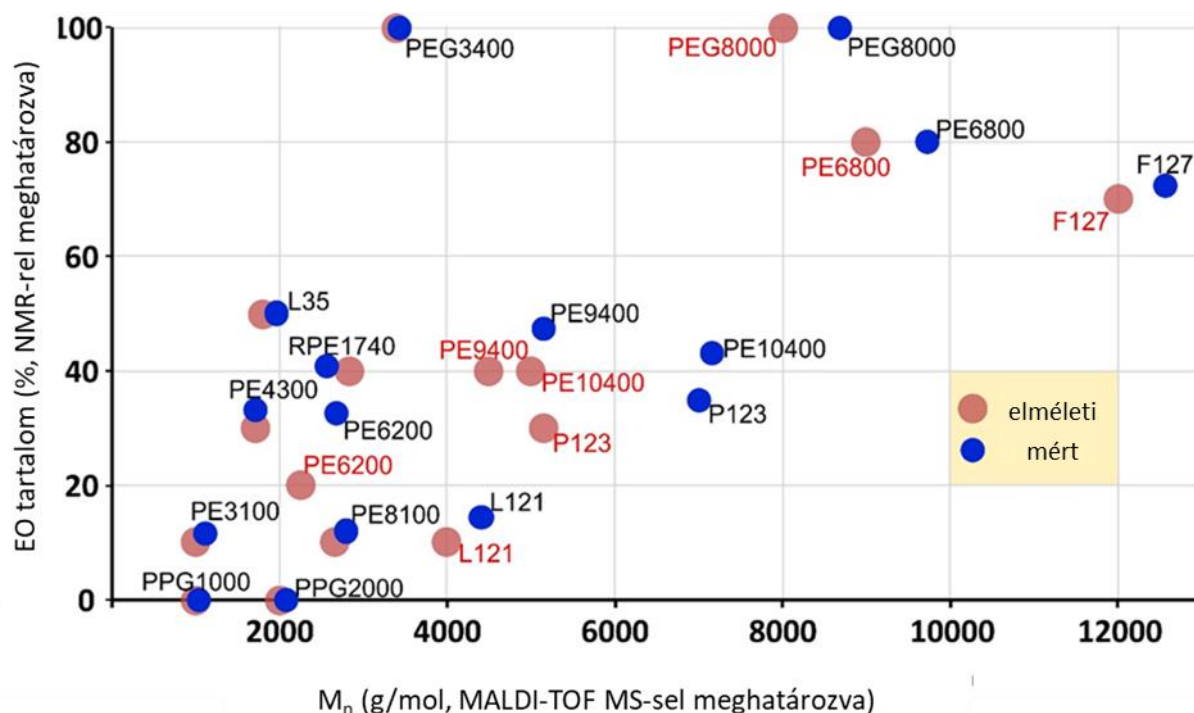
4.5. NMR

NMR-méréseinket egy *Bruker Avance II 500 MHz*-es (Bruker Daltonic, Bremen, Németország) készüléken végeztük (5 mm-es z-gradiens TXI mágnes). A kvantitatív 1D ^1H NMR-spektrumok 300 K-en lettek felvéve egyszeres scannel, 90° -os besugárzási impulzussal, 14,97 ppm széles tartományban 32768 pontban összesen. A Fourier-transzformáció előtt egy 0,3 Hz-es vonalszélesítő exponenciális függvényt alkalmaztunk. Az adatok feldolgozásához, az alapvonal-korrekcióhoz és a kapott csúcsok kiintegrálásához Bruker TopSpin szoftvert használtunk.

5. Eredmények

Célunk tehát egyrészt az összefüggések felderítése volt a különböző gél permeációs kromatográfias mérések eredményei, valamint az egyéb módszerekből származó molekulatömegre és összetételre vonatkozó adatok között; másrészt a gyártó által megadott elméleti értékek „ellenőrzése” is. A cél eléréséhez a következő hipotézist állítottuk fel: a kopolimerek hidrodinamikai sugara függ a GPC-s mérések során alkalmazott eluensek minőségétől, összetételétől.

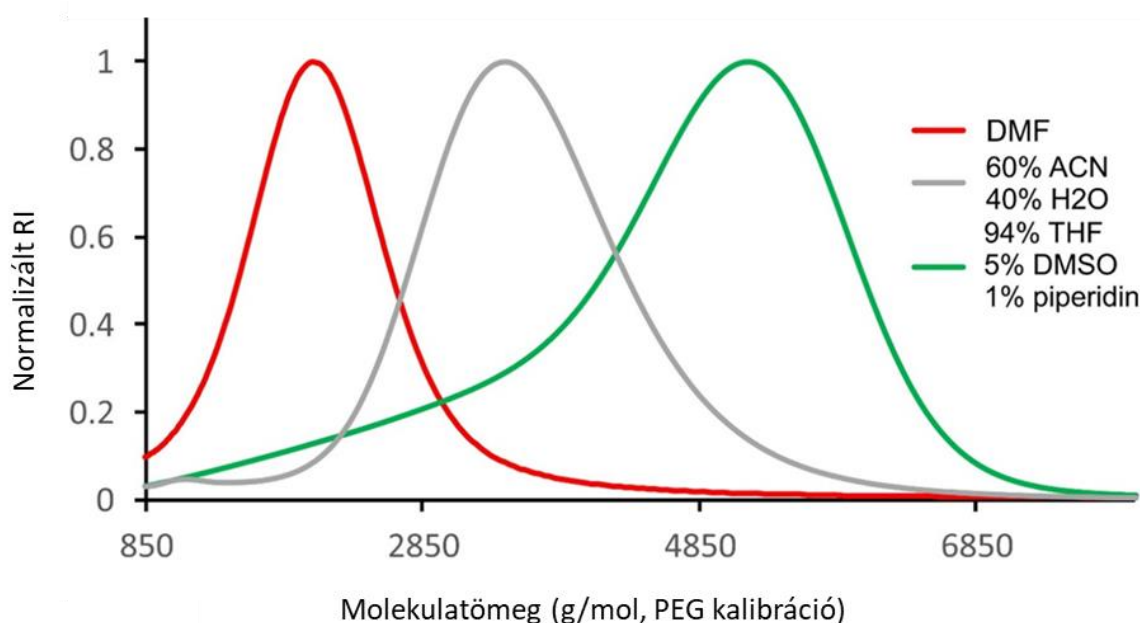
A gyártó által megadott elméleti értékekre vonatkozó feltevésünket igazolja a 2. ábra, ami az általunk mért M_n és EO% értékeket mutatja be 16 darab véletlenszerűen kiválasztott polimer esetében, továbbá a gyártó által megadott adatokat ugyanezekre vonatkozóan. Ahogy az megfigyelhető, a mért értékek (kék pontok) sok esetben különböznek az elméleti adatoktól (piros pontok). Az a tény már korábban bizonyítást nyert, hogy már egy kis összetételbeli változás is nagy eltérést okoz az egyes kopolimerek (pl. aggregációs) tulajdonságaiban. [23] Ez még inkább indokoltta teszi egy megbízható karakterizálás fontosságát a várt értékek ellenében.



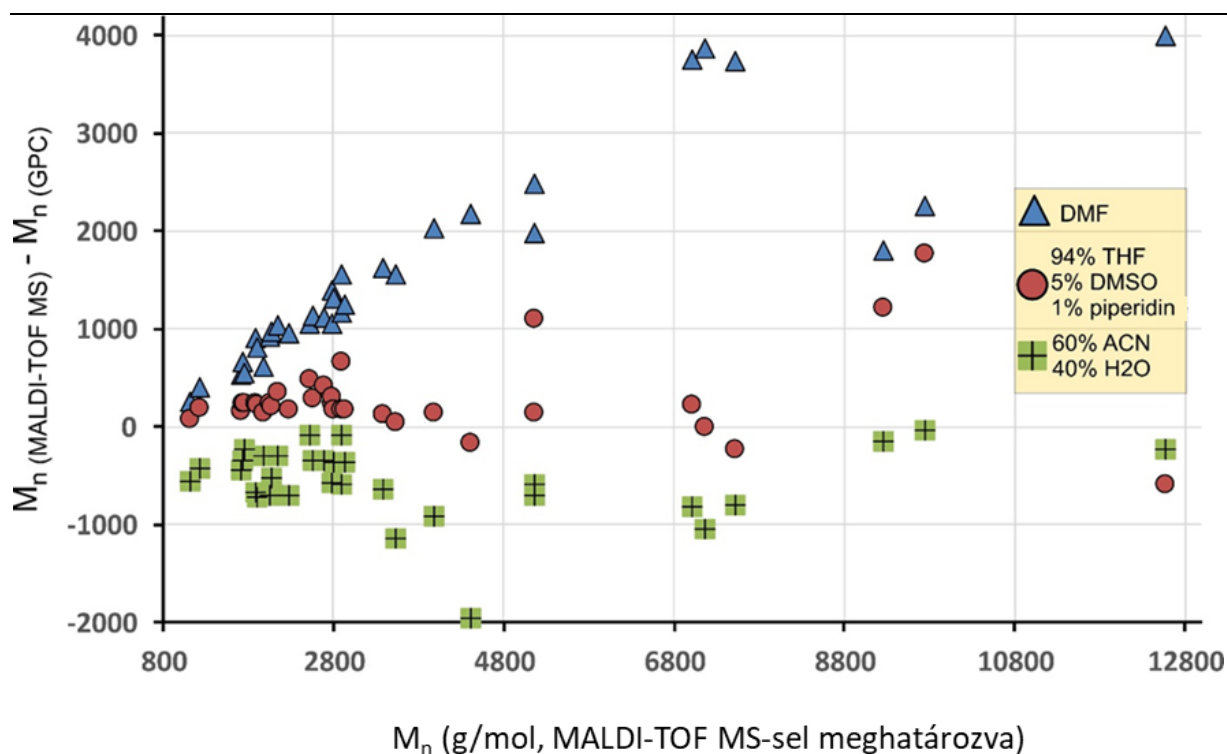
2. ábra: Az M_n számátlag-molekulatömeg és a %-os etilén-oxid tartalom 16 poloxamer esetében (előbbi MALDI-TOF, míg utóbbi NMR spektroszkópia által meghatározva).

A 3. ábra a kb. 3500 g/mol molekulatömegű és 10% EO-tartalmú Pluronic RPE3110 reverz szerkezetű triblokk poloxamer molekulatömeg-eloszlását mutatja három, különböző eluenssel végzett GPC-mérés esetében. Az ábrán szembejövő, hogy a görbék csúcsa akár több ezer g/mol

egységgel is eltérhet az alkalmazott eluenstől függően ugyanazon kopolimer esetében, ami bizonyítja, hogy egy kopolimer hidrodinamikai sugara nagymértékben függ az adott módszer során alkalmazott oldószer polaritásától. Itt kell megjegyezni, hogy néhány kopolimer esetében azok GPC-kromatogramja bimodális eloszlást mutatott, azonban ezek a bizonyítottan szennyeződések mindössze elhanyagolható eltérést okoznak a főkomponenshez képest. [24] A 4. ábrán pedig a MALDI-TOF MS-sel és a különböző GPC-mérésekkel mért M_n értékek különbsége látható az egyes eluensek esetén. A GPC-s mérésekhez PEG-et használtunk kalibrációként. Mindezekből az következik, hogy a GPC-kromatogramok eluensek polaritásától való függése információt szolgáltat az egyes kopolimerek molekulatömeg-eloszlásáról és szerkezetéről. Célunk egy olyan neurális háló felépítése volt, melynek bemeneti adatait a GPC-s mérésekkel kapott értékek jelentenék, míg a kimeneti adatok a kopolimerek molekulatömegére és összetételére vonatkozó információkat szolgáltatnának.

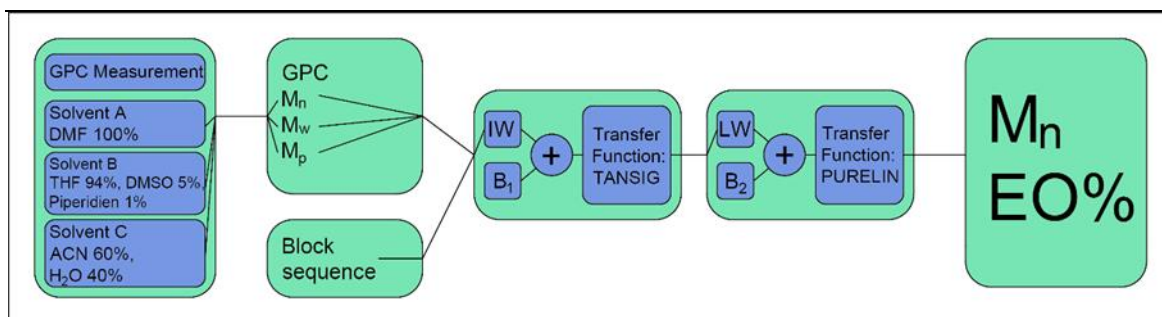


3. ábra: Az RPE3110 poloxamer GPC-kromatogramjai különböző eluensek alkalmazása esetén. A molekulatömeg a retenciós időknél alapján lett kiszámítva, amely kalibrációhoz PEG standardokat alkalmaztunk.



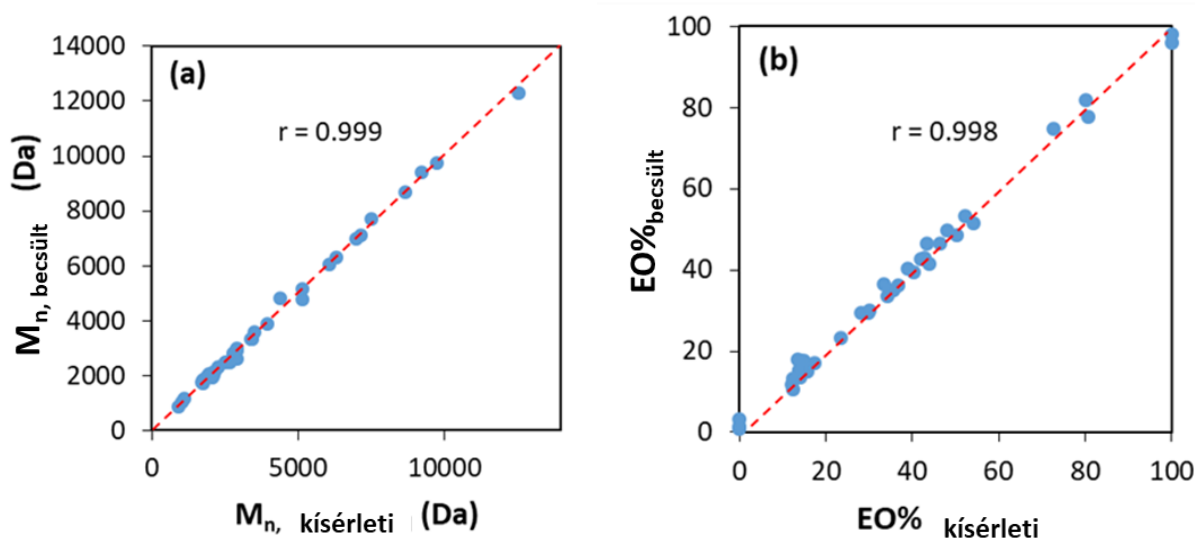
4. ábra: A MALDI-TOF MS-sel és a különböző, PEG-kalibrációt alkalmazó GPC-rendszerekkel mért számátlag-molekulatömeg értékek különbségei az egyes kopolimerek esetében.

Az első módszer esetében 40 darab polimert vizsgáltunk, melyeknek a számátlag-molekulatömege (M_n) 1000 és 12500 g/mol között változott, továbbá az etilén-oxid tartalmuk (EO%) is eltérő volt. Az M_n értékeket MALDI-TOF tömegspektrometriás módszerrel határoztuk meg, míg az egyes minták EO%-os értékét NMR spektroszkópiával (ezeket az adatokat használtuk a neurális háló feltanításához és teszteléséhez). Egy kétszintű „feed-forward” neurális hálót építettünk (*ANN_1*) három rejtett neuronnal és két kimeneti neuronnal (5. ábra). A hálónak összesen tíz bementi változója van, amelyek a számátlag-molekulatömeg (M_n), a tömegátlag-molekulatömeg (M_w) a legvalószínűbb molekulatömeg (M_p) mindhárom különböző eluens(elegy) esetén, illetve a tizedik egy olyan jelzés, hogy az adott poloxamer reverz szerkezetű-e (PPO-PEO-PPO) vagy sem (PEO-PPO-PEO). A kimeneti értékeket a becsült számátlag-molekulatömeg (M_n) és az etilén-oxid tartalom (EO%) jelentik. A célnak a MALDI-TOF MS-sel és az NMR-rel kapott M_n és EO% adatokat állítottuk be. Mindezen polimerjellemzőket a *Függelék 1. táblázata* tartalmazza.



5. ábra: ANN_1 elnevezésű 10-3-2 felépítésű neurális háló M_n és EO% meghatározására.

A neurális háló feltanításához, validálásához és teszteléséhez 40 darab polimer GPC, MALDI-TOF MS és NMR adatait használtuk fel. A 6. ábra a számátlag-molekulatömegek és az EO%-os értékek összehasonlítását mutatja a kísérletileg meghatározott és a háló által becsült adatok között.



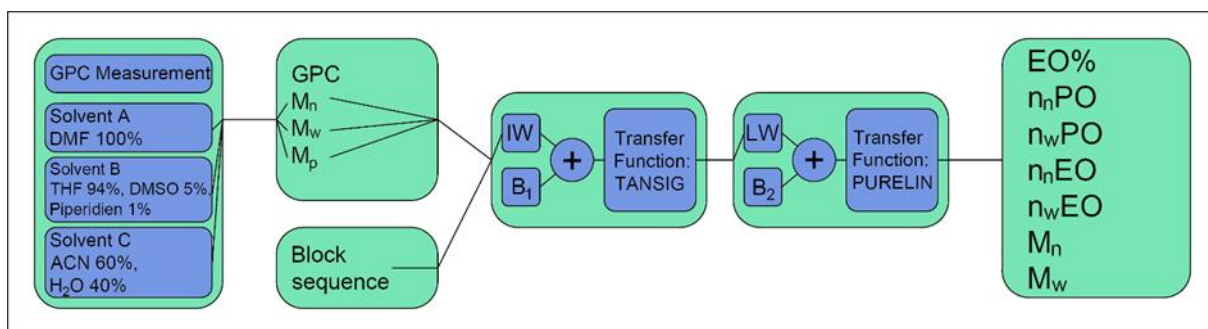
6. ábra: M_n és EO% értékek összehasonlítása a kísérletileg mért (rendre MALDI-TOF MS-sel és NMR-rel meghatározva) és az ANN_1 neurális háló által becsült eredmények között.

Amint az a 6. ábrán is látható, a mért és a becsült adatok közötti korreláció nagyon nagy, különösen az M_n értékek esetén; a Pearson-féle korrelációs együtthatók $r = 0,999$ és $r = 0,998$ rendre az M_n és EO% értékekre. Továbbá az is megállapítható, hogy az ANN_1 neurális háló által becsült értékek az átlóra esnek, ezzel nagy pontossággal megadva az adott kopolimer számátlag-molekulatömegét. Az EO% értékek is meglehetősen közel esnek az átlóhoz, ezáltal nagy pontosságot jelezve.

A neurális háló általi becslés helyessége számszerűsíthető is, ahogy azt a 3.2. fejezetben már említettem. A becsült M_n és EO% értékek pontossága rendre 2,6 és 1,7% (utóbbi a mért és a

becsült adatok közötti átlagos eltérést jelenti). A mért és a becsült M_n és EO% adatok között a páros T-próba sem mutatott szignifikáns különbséget ($p = 0,54$ és $p = 0,26$ rendre).

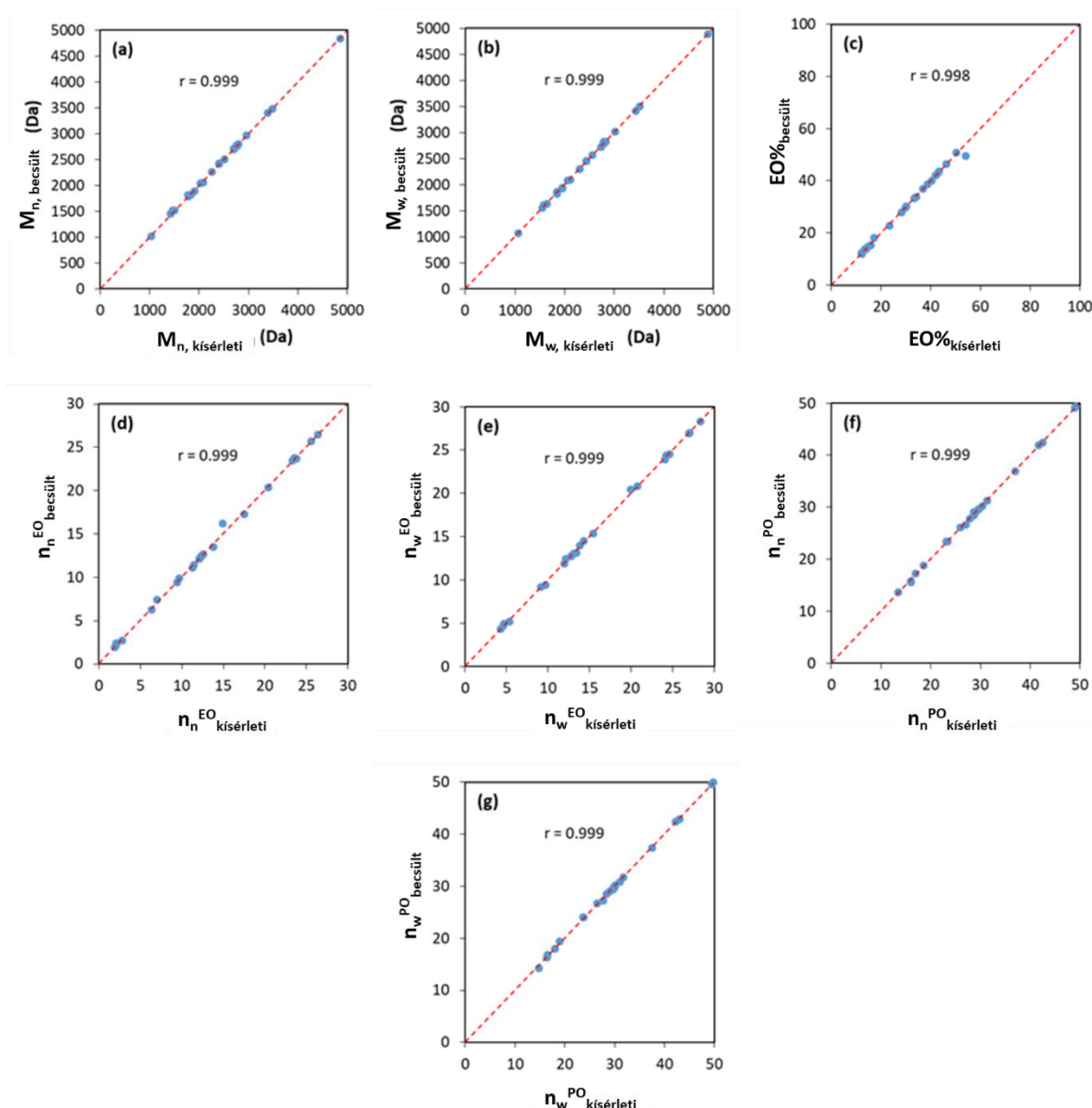
A második méréssorozatban 23 darab, maximum 5000 g/mol számátlag-molekulatömegű polimert vizsgáltunk. Az alacsonyabb tömegtartomány által lehetőségünk nyílt a kopolímerek szerkezetének még átfogóbb karakterizálásra MALDI-TOF tömegspektrometriával és egy nemrégiben kifejlesztett adatfeldolgozó algoritmussal, ami a kopolímerek tömegspektrumában jelen lévő egyes specieszek relatív előfordulásának meghatározására ad lehetőséget. [23] Az M_n és M_w molekulatömeg-átlagok mellett meghatároztuk továbbá az etilén-oxid (EO) és propilén-oxid (PO) ismétlődő egységek átlagos számát (n_n^{EO} és n_n^{PO}) és tömegét (n_w^{EO} és n_w^{PO}). Az átlagos EO-tartalmat (EO m/m%) NMR-rel határoztuk meg. Meg kell említeni, hogy egyes kopolímerek tömegspektrumának kiértékelése nem minden esetben volt rutinfeladat, ugyanis például a nagyszámú m/z csúcsok gyakran átfedtek egymással, vagy izobár szerkezetet mutattak. Valójában ez is egyfajta motiváció volt részünkről, hogy egy olyan neurális hálót hozzunk létre, a csupán GPC-s eredmények által is lehetőséget teremtsen a kopolímerek széleskörű karakterizálásra. Az ANN_2 neurális háló feltanításához és teszteléséhez az M_n , M_w , n_n^{EO} , n_n^{PO} , n_w^{EO} , n_w^{PO} és EO% értékeket használtuk fel.



7. ábra: A kopolímerek részletes karakterizálására szolgáló 10-5-7 felépítésű ANN_2 neurális háló.

A 7. ábra az ANN_2 elnevezésű neurális háló felépítését mutatja. Ennek a kétszintű, „feed-forward” neurális hálónak öt darab rejtett neuronja és hét darab kimeneti neuronja van. Az ANN_1-hez hasonlóan ennek a hálónak is tíz darab bemeneti értéke van, amelyek a három különböző GPC-s eluensrendszerben mért M_n , M_w és M_p értékek, továbbá hogy az adott kopolimer normál vagy reverz szerkezetű-e. A rejtett neuronok számának a meghatározását a 3.2. fejezet tartalmazza. Az ANN_2 célértékei a MALDI-TOF MS-sel meghatározott M_n , M_w , n_n^{EO} , n_n^{PO} , n_w^{EO} és n_w^{PO} értékek voltak, továbbá az NMR-rel meghatározott EO%-os tartalom. Az ANN_2 feltanításához, validálásához és teszteléséhez 23 darab kopolimer GPC, MALDI-TOF MS és NMR adatait használtuk fel 1000 és 5000 g/mol tömegtartományban. Az ANN_2

paramétereit a *Függelék 2. táblázata* tartalmazza. A 8. ábra a kísérletileg meghatározott és a háló által becsült adatok közötti összefüggéseket mutatja.



8. ábra: M_n , M_w , n_n^{EO} , n_n^{PO} , n_w^{EO} , n_w^{PO} és $EO\%$ értékek összehasonlítása a kísérletileg mért és az ANN_1 neurális háló által becsült eredmények között.

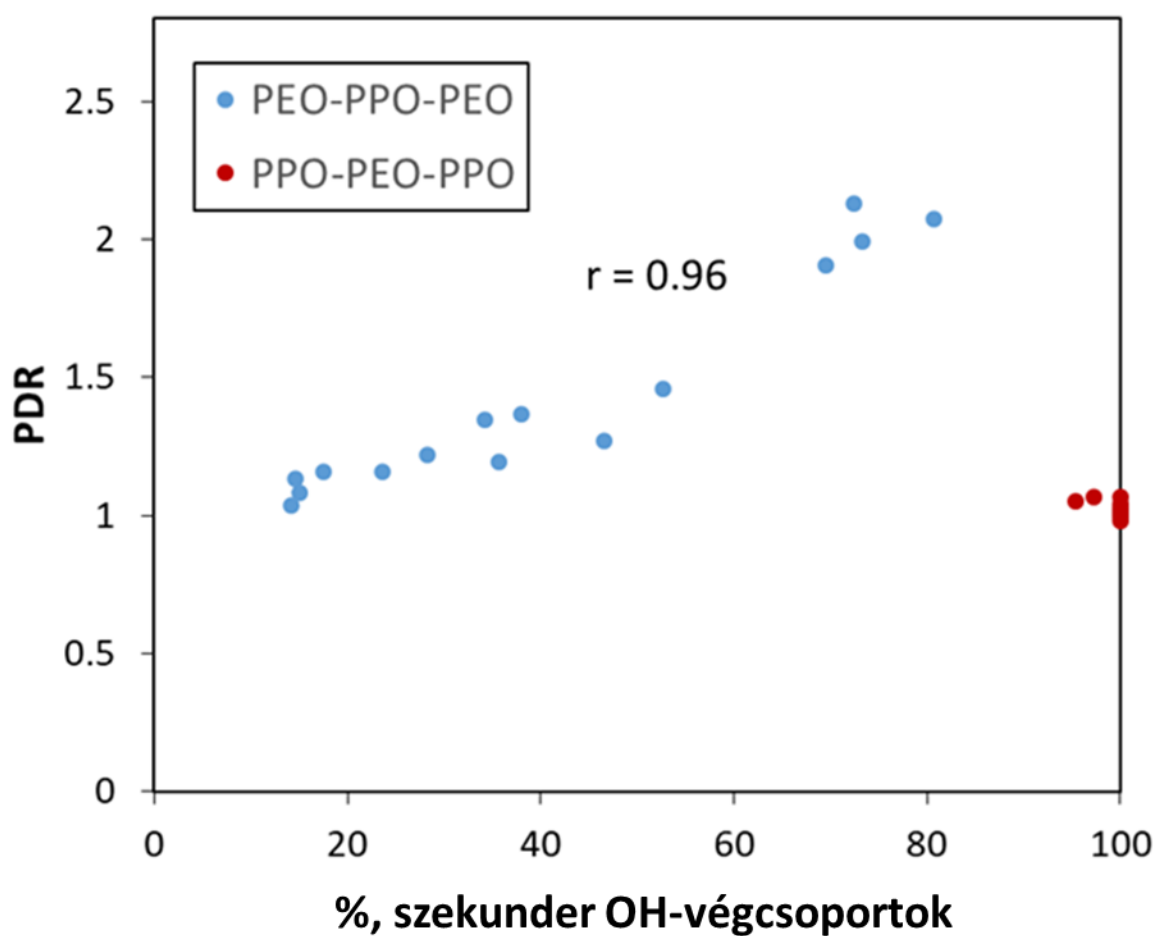
Amint az a 8. ábrán is látható, a kísérletileg meghatározott és a becsült eredmények közötti összefüggés kiváló, a Pearson-féle korrelációs együttható $r = 0,999$ (és $r = 0,998$ az $EO\%$ értékek esetében). Továbbá az is szembetűnő, hogy az ANN_2 pontossága nagyon magas, mivel az általa becsült értékek az átlóra esnek. A validálási adatokat a 3. táblázat tartalmazza.

3. táblázat: Az ANN_2 háló validálási adatai. A becslés pontossága mellett (lásd 3.2. fejezet) r Pearson-féle együttható a korreláció, míg p a páros T-próbára vonatkozó érték a kísérletileg mért és a becsült adatok között.

	M_n	M_w	EO%	n_n^{EO}	n_w^{EO}	n_n^{PO}	n_w^{PO}
r	0.999	0.999	0.998	0.999	0.999	0.999	0.999
Pontosság (%)	0.8	0.6	1.6	2.2	1.1	0.7	0.8
p	0.44	0.56	0.29	0.22	0.47	0.71	0.97

Ahogy azt a 3. táblázat is mutatja, a számszerűsített validálási adatok az ANN_2 nagymértékű megbízhatóságára utalnak, a pontosságra vonatkozó értékek 3% alatt vannak (egyes esetekben 1% alatt), míg a páros T-próbák nem mutatnak szignifikáns különbséget a mért és a becsült adatok között.

Egy korábban megjelent publikációban bemutatásra került egy új, kopolimerek jellemzésére szolgáló mennyiség, a komonomerek polidiszperzitási aránya (PDR), ami az ismétlődő egységek polidiszperzitási indexeinek arányát jelenti. [23] Jelen esetben a PDR kiszámítása EO/PO blokk kopolimerekre vonatkozóan a következő: $PDR = PDI_{EO} / PDI_{PO}$, ahol $PDI_{EO} = n_w^{EO} / n_n^{EO}$, míg $PDI_{PO} = n_w^{PO} / n_n^{PO}$. Ahogy az a közleményben is olvasható, a PDR alapján megjósolható diblokk szennyezők jelenléte egy triblokk kopolimerben, például ha PDR kisebb, mint 1, akkor az diblokkok jelenlétére utal PEO-PPO-PEO poloxamerekben. Ezekből eredően vizsgálatainkra is kiterjesztettük a PDR alkalmazási körét, mert a neurális hálón alapuló módszerünk képes az olyan kopolimerek jellemzésére szolgáló mennyiségek meghatározására, mint az n_n^{EO} , n_n^{PO} , n_w^{EO} és n_w^{PO} csupán GPC-mérések által kapott eredményekből. A 9. ábra a szekunder OH-végekre vonatkozó százalékos tartalom és a GPC–neurális hálóval meghatározott PDR értékek közötti korrelációt mutatja, ugyanis mindkét mennyiség PEO-PPO blokkok jelenlétére utal PEO-PPO-PEO kopolimer mintákban. Mindazonáltal az ábráról az is megállapítható, hogy a PPO-PEO-PPO kopolimerekben közel 100%-os jelenléttel rendelkező szekunder OH-csoportok jó közelítéssel a $PDR = 1$ értékkel egyeznek meg, amiből a PPO-PEO diblokkok hiánya következik.



9. ábra: A PDR-értékek és a szekunder OH végcsoportok jelenléte közötti korreláció. Előbbi a GPC-ANN_2 módszer által lett meghatározva, míg utóbbi NMR spektroszkópiával. r a Pearson-féle korrelációs együttható.

6. Összefoglalás

A gél permeációs kromatográfia egy általánosan használt eljárás polimerek és kopolimerek tömeganalíziséhez, azonban olyan fontos információkat, mint például kopolimerek szerkezeti összetétele, nem tud szolgáltatni. Azonban, ahogy azt az előző oldalakon tárgyaltam, létrehoztunk egy gél permeációs kromatográfián és neurális hálók alkalmazásán alapuló módszert a kopolimerek részletes karakterizálásra. Ennek alapját különböző polaritású eluensekkel végzett GPC-mérések jelentették. Mesterséges neurális hálókat fejlesztettünk ki a párhuzamos GPC-s mérések során kapott adatok feldolgozására, valamint a kopolimerek molekulatömegének és kémiai összetételének meghatározására. A neurális hálók célértékeit MALDI-TOF tömegspektrometriával és NMR spektroszkópiával kaptuk. GPC-ANN módszerünket különböző poloxamerek, azaz polietilén-oxid (PEO)-polipropilén-oxid (PPO) blokk-kopolimerek elemzésével demonstráltuk. Két darab neurális hálót is létrehoztunk. Az első (*ANN_1*) szélesebb tömegtartományban (1000 Daltontól 12500 Daltonig) működik, míg a második, pontosabb mesterséges neurális háló (*ANN_2*) több kimeneti értéket produkál. Az *ANN_2* így szám szerint hét darab, polimerekre jellemző paramétert tud megjósolni, nevezetesen két átlagos molekulatömeget, a tömeg%-os etilén-oxid tartalmat és az ismétlődő egységek átlagos számát (négy darab paraméter). A kísérletileg meghatározott és a megjósolt kimeneti értékek korrelációja rendkívül magas, általában $r = 0,999$. A neurális hálók pontossága nagyon meggyőző, mindkét verzió 3% alatti pontossággal jósolta meg a számátlag-molekulatömeget (M_n). Munkánk legfőbb előnye, hogy a GPC, MALDI-TOF MS és ^1H -NMR által kapott adatainkat tartalmazó adatbázis bármikor elérhető és bővíthető további kísérleti eredményekkel, valamint a neurális hálók tömegtartománya és pontossága is tovább javítható. Az összes mért adat és Excel-dokumentum nyilvánossá tehető, ami lehetővé teszi a kifejlesztett neurális hálók közvetlen gyakorlati alkalmazását, például egy három GPC módszerrel lement poloxamer további injektálások és egyéb mérések nélkül karakterizálható. Továbbá a bemutatott módszer könnyen alkalmazható más, különböző szerkezetű kopolimerek jellemzésére is. Akár egy olyan alkalmazás és adatbázis is létrehozható, ahol egy kollektív adathalmaz teszi elérhetővé a kopolimerek elemzését.

7. Summary

Gel permeation chromatography is a commonly used technique for mass analysis of polymers and copolymers, but it cannot provide important information such as the structural composition of copolymers. However, as discussed in the previous pages, we have established a method based on gel permeation chromatography and neural networks for the detailed characterisation of copolymers. This was based on GPC measurements with eluents of different polarities. Artificial neural networks were developed to process the data obtained from parallel GPC measurements and to determine the molecular weight and chemical composition of the copolymers. The target values of the neural networks were obtained by MALDI-TOF mass spectrometry and NMR spectroscopy. Our GPC-ANN method was demonstrated by the analysis of different polyoxamers, namely polyethylene oxide (PEO)-polypropylene oxide (PPO) block copolymers. We also generated two neural networks. The first one (*ANN_1*) operates over a wider mass range (from 1000 Daltons to 12500 Daltons), while the second, more accurate artificial neural network (*ANN_2*) produces more output. *ANN_2* can thus predict a total of seven polymer-specific parameters, namely two average molecular weights, the average weight fraction of ethylene oxide unit and the average number of repeating units (four parameters). The correlation between the experimentally determined and predicted output values is extremely high, usually $r = 0.999$. The accuracy of the neural networks is very impressive – both versions predicting the number-average molecular mass (M_n) with an accuracy of less than 3%. The main advantage of our work is that the database containing the data obtained by GPC, MALDI-TOF MS and ^1H -NMR is readily available and can be extended with additional experimental results, and the mass range and accuracy of the neural networks can be further improved. All measured data and Excel documents can be made public, allowing direct practical application of the developed neural networks, for example, a polyoxamer weighed by three GPC methods can be characterized without further injections and other measurements. Furthermore, the presented method can be easily applied to characterize other copolymers with different structures. It is even possible to create an application and a database where a collective data set is available for the analysis of copolymers.

8. Köszönetnyilvánítás

Ez a dolgozat nem jöhetett volna létre témavezetőm, Dr. Nagy Tibor egyetemi adjunktus nélkül, akinek hálás vagyok minden téren belém fektetett bizalmáért.

Köszönöm továbbá Róth Gergő egyetemi tanársegédnek és Dr. Timári István egyetemi adjunktusnak rendre a neurális hálók megalkotásában és az NMR-mérések kivitelezésében nyújtott segítségüket.

A munka az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-21-2-II-DE-227 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.

Továbbá köszönet illeti a következő pályázatokat a munka során nyújtott anyagi segítségért: NKFI FK-132385, valamint GINOP 2.3.3-15-2016-00021, amelyek az Európai Unió támogatásával és az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósultak meg.

9. Irodalomjegyzék

- [1] D. Held, P. Kilz; *Chemistry Teacher International*; 2021; **3**; 77–103
- [2] M. Yokoyama; *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*; 1992; **9**; 213–248
- [3] Q. T. H. Shubhra, J. Tóth, J. Gyenis, T. Feczko; *Polymer Reviews*; 2014; **54**; 112–138
- [4] P. Zarrintaj, J. D. Ramsey, A. Samadi, Z. Atouf, M. K. Yazd, M. R. Ganjali, L. M. Amirabad, E. Zangene, M. Farokh, K. Formela, M. R. Saeb, M. Mozafari, S. Thomas; *Acta Biomaterialia*; 2020; **110**; 37–67
- [5] A. M. Bodratti, P. Alexandridis; *J Funct Biomater*; 2018; **9**; 1–24
- [6] A. Herberg, X. Yu, D. Kuckling; *Polymers*; 2019; **11**; 678
- [7] K.-A. Hansen, J. P. Blinco; *Polym. Chem.*; 2018; **9**; 1479–1516
- [8] S. Perrier; *Macromolecules*; 2017; **50**; 7433–7447
- [9] N. J. Treat, H. Sprafke, J. W. Kramer, P. G. Clark, B. E. Barton, J. R. de Alaniz, B. P. Fors, C. J. Hawker; *J. Am. Chem. Soc.*; 2014; **136**; 16096–16101
- [10] G. Gody, R. Barbey, M. Danial, S. Perrier; *Polym. Chem.*, 2015; **6**, 1502–1511
- [11] C. Zhang, M. W. Bates, Z. Geng, A. E. Levi, D. Vigil, S. M. Barbon, T. Loman, K. T. Delaney, G. H. Fredrickson, C. M. Bates, A. K. Whittaker, C. J. Hawker; *J. Am. Chem. Soc.*; 2020; **142**; 9843–9849
- [12] T. Nagy, Á. Kuki, M. Zsuga, S. Kéki; *Anal. Chem.*; 2018; **90**; 3892–3897
- [13] S. Crotty, S. Gerişlioğlu, K. J. Endres, C. Wesdemiotis, U. S. Schubert; *Anal Chim Acta*; 2016; 932
- [14] J. Moon, D. Q. Gbadago, G. Hwang, D. Lee, S. Hwang; *Computers & Chemical Engineering*; 2022; **158**; 107637
- [15] J. Gasteiger; *ChemPhysChem*; 2020; **21**; 2233–2242
- [16] J. Behler; *Angew Chem Int Ed Engl*; 2017; **56**; 12828–12840
- [17] L. B. Ayres, F. J. V. Gomez, J. R. Linton, M. F. Silva, C. D. Garcia; *Anal Chim Acta*; 2021; 1161
- [18] M. Meuwly; *Chem. Rev.*; 2021; **121**; 10218–10239
- [19] S. Ekins, A. C. Puhl, K. M. Zorn, T. R. Lane, D. P. Russo, J. J. Klein, A. J. Hickey, A. M. Clark; *Nat Mater*; 2019; **18**; 435–441
- [20] <http://tamop412a.ttk.pte.hu/files/kemia7/www/ch09s02.html>
- [21] <http://www.biofizika.aok.pte.hu/data/2019/0227/056/NMR%20e%CC%81s%20ESR%20Spektr%20trozsko%CC%81pia%20handout.pdf>

[22] https://hu.wikipedia.org/wiki/Neur%C3%A1lis_h%C3%A1l%C3%B3zat

[23] G. Róth, T. Nagy, Á. Kuki, M. Hashimov, Z. Vonza, I. Timári, M. Zsuga, S. Kéki;
Macromolecules; 2021; **54**; 9984–9991

[24] W. Batsberg, S. Ndoni, C. Trandum, S. Hvidt; *Macromolecules*; 2004; **37**; 2965–2971

Függelék

Függelék 1. táblázat: Az ANN_1 elnevezésű neurális háló bemeneti paraméterei, valamint a mért és a becsült molekulatömeg és kémiai összetétel.

No.	Name	GPC									MALDI	¹ H NMR		ANN_1 (becsült)	
		DMF			THF/DMSO/pip			ACN:H ₂ O			M _n	EO%	Prim. OH %	M _n	EO%
		M _n	M _w	MP	M _n	M _w	MP	M _n	M _w	MP					
1	L35	1348	1570	1538	1816	1960	1981	2208	2378	2480	1963	50.4	82.5	2042	48.7
2	17R4	1733	2030	2020	2726	2870	2856	3482	3750	3981	2892	42.0	0.0	2898	42.6
3	L64	1674	1948	2023	2750	3003	3080	3267	3605	3894	2925	38.8	84.9	3008	40.4
4	PE/P84 ^b	3174	3877	4340	5007	5400	5298	4759	5548	6151	5155	46.3	85.8	5165	46.5
5	L121	2228	2786	2966	4582	5098	5170	6386	6606	6892	4407	15.8	64.3	4813	14.9
6	31R1	1960	2160	2109	3480	3671	3636	4429	4965	5461	3517	17.3	0.0	3577	17.1
7	RPE1720 ^a	1104	1233	1138	1790	1971	2058	2248	2673	3186	2143	29.9	4.7	2149	29.5
8	PE3500	1199	1405	1241	1518	1744	1825	1788	2138	2295	1749	54.1	71.7	1822	51.5
9	RPE1740 ^a	1469	1719	1834	2030	2261	2391	2421	2875	3368	2519	43.4	0.0	2478	46.5
10	PE4300 ^a	1074	1217	1013	1501	1661	1694	1927	2214	2375	1735	36.8	62.0	1734	36.2
11	RPE2525 ^a	1100	1217	1128	1858	2001	2031	2441	2782	3125	2067	30.1	2.7	2088	30.1
12	PE6100 ^a	982	1080	896	1653	1808	1857	2370	2727	3091	1885	12.4	27.6	1931	10.6
13	PE8100 ^a	1335	1549	1453	2233	2582	2736	2662	3479	4142	2895	13.5	47.4	2619	18.1
14	PE6120 ^a	1095	1223	1108	1667	1815	1851	2432	2760	3094	1896	12.3	26.7	1956	13.3
15	P123 ^b	3252	4177	4808	6781	7273	7272	7806	8029	8371	7004	35.6	92.5	7004	34.9
16	F68	7450	8472	9309	8039	9328	9836	7932	9212	10044	9249	80.7	100.0	9417	77.8
17	F127 ^b	8573	9979	11270	13158	13988	13796	12803	13184	13521	12560	72.7	100.0	12310	74.7
18	PE6400	1721	1958	2002	2470	2686	2724	3164	3460	3629	2778	40.3	85.4	2702	39.4
19	PE3100	850	906	639	1032	1081	1063	1626	1738	1790	1110	14.7	19.3	1161	17.7
20	PE4300	1174	1332	1239	1547	1653	1648	2070	2264	2397	1707	34.2	65.8	1760	33.7
21	PE6100	1111	1232	1145	1795	1892	1868	2595	2864	3136	2040	12.0	30.5	1989	11.6
22	RPE1720	1319	1482	1508	2102	2211	2200	2845	3143	3451	2274	28.2	0.0	2306	29.3
23	PE6200	1562	1820	1871	2263	2453	2483	2689	3126	3434	2676	33.4	76.4	2497	36.3
24	PE8100	1472	1695	1724	2612	2762	2755	2783	3382	4084	2787	13.6	53.5	2813	15.2
25	RPE1740	1425	1599	1608	2266	2392	2391	2783	3073	3361	2556	42.9	0.0	2482	43.0
26	RPE2520	1382	1551	1540	2529	2680	2693	3128	3602	4149	2771	23.4	0.0	2767	23.2
27	RPE3110	1762	1909	1924	3256	3459	2458	3377	4211	5201	3379	14.0	0.0	3330	13.6

28	PE10100	1940	2369	2589	3823	4055	4015	4763	5019	5423	3964	14.1	62.7	3899	17.5
29	PE9400 ^b	2672	3427	3799	4045	4795	5078	5866	5998	6098	5150	48.0	96.4	4784	49.8
30	PE10400 ^b	3302	4659	5823	7170	7521	7430	8024	8249	8408	7160	43.8	96.2	7114	41.4
31	PE10500 ^b	3775	5196	6565	7750	8123	8016	8361	8673	8740	7510	52.1	100.0	7720	53.1
32	PE6800	7486	8704	9682	7967	9591	10277	7517	9202	10472	9736	80.2	100.0	9735	81.8
33	PEG3400	2731	3358	3644	3043	3200	3235	3012	3231	3302	3431	100	100.0	3311	98.0
34	PEG8000	6919	8517	9519	7585	8429	8814	7651	8261	8666	8689	100	100.0	8668	102.3
35	PEG6000	5047	5606	5756	5437	5837	5891	5115	5551	5735	6052	100	100.0	6045	103.5
36	PEG6000	4972	5704	6061	5433	6024	6294	5268	5860	6283	6311	100	100.0	6317	95.9
37	PPG900	513	534	<400	834	865	843	1457	1556	1596	904	0.0	0.0	853	0.7
38	PPG1000	527	550	430	998	1042	1036	1648	1748	1819	1032	0.0	0.0	1029	1.3
39	PPG2000	829	907	881	1768	1859	1834	2600	2960	3350	2079	0.0	0.0	1939	-3.3
40	PPG2000	852	939	902	1926	2036	2007	2854	3132	3358	2093	0.0	0.0	2014	3.3

^a 2006-ban kapott minták.

^b Bimodális eloszlást mutató minták.

Függelék 2. táblázat: Az ANN_2 elnevezésű neurális háló paraméterei.

Name	EO% (¹ H NMR)	n _n PO (MS)	n _w PO (MS)	n _n EO (MS)	n _w EO (MS)	M _n (MS)	M _w (MS)
PE3100	14.7	16.1	16.5	2.0	4.3	1037	1068
PE4300	34.2	18.5	19.0	9.4	13.4	1510	1584
PE4300 ^a	36.8	16.9	18.0	9.6	13.8	1423	1548
PE3500 ^a	54.1	13.5	14.9	14.9	20.7	1460	1651
PE6100 ^a	12.4	28.8	29.7	2.1	4.6	1782	1845
PE6120 ^a	12.3	28.6	29.7	2.1	4.6	1772	1847
L35	50.4	16.0	16.4	20.4	24.6	1845	1955
RPE2525 ^a	30.1	25.9	26.5	11.5	12.1	2030	2064
RPE1720	28.2	29.3	30.0	12.3	13.1	2265	2300
RPE1740 ^a	43.4	23.3	23.8	23.6	24.1	2413	2439
RPE1740	42.9	23.2	23.6	23.8	24.2	2412	2437
PE6200	33.4	29.7	30.1	17.5	19.9	2513	2559
RPE2520	23.4	37.0	37.5	12.2	12.8	2703	2734
PE6400	40.3	28.6	29.0	23.3	27.0	2706	2775
PE8100	13.6	41.7	42.2	7.0	9.7	2752	2790
PE8100 ^a	13.5	42.4	43.0	6.4	9.1	2764	2810

L64	38.8	31.3	31.7	25.5	28.4	2961	3016
31R1	17.3	49.2	49.7	13.8	14.3	3483	3515
L121	15.8	73.7	74.0	12.5	15.4	4849	4886
PE6100	12.0	30.4	31.1	2.8	5.3	1911	1955
RPE1720 ^a	29.9	27.0	27.7	11.3	12.0	2081	2121
17R4	42.0	27.8	28.4	26.4	27.0	2797	2824
RPE3110	14.0	49.0	49.5	12.1	12.8	3394	3427
PE84	46.3	59.4	61.3	36.3	38.3	5065	5107

^a 2006-ban kapott minták.