



1949

**Algoritmusok és neurális hálók alkalmazása kopolimerek
összetételének feltérképezésére**

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés

a szerző neve: Róth Gergő

a témavezető neve: Dr. Nagy Tibor

DEBRECENI EGYETEM

Természettudományi és Informatikai Doktori Tanács

Kémia Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2024

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Természettudományi és Informatikai Doktori Tanács Kémia Tudományok Doktori Iskola K/4 programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem természettudományi doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

Nyilatkozom arról, hogy a tézisekben leírt eredmények nem képezik más Ph.D. disszertáció részét.

Debrecen, 2024.

.....

a jelölt aláírása

Tanúsítom, hogy Róth Gergő doktorjelölt 2020- 2024 között a fent megnevezett Doktori Iskola K/4 programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Nyilatkozom továbbá arról, hogy a tézisekben leírt eredmények nem képezik más Ph.D. disszertáció részét.

Az értekezés elfogadását javasolom.

Debrecen, 2024.

.....

a témavezető aláírása

Algoritmusok és neurális hálók alkalmazása kopolimerek összetételének feltérképezésére

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a kémia tudományágban

Írta: Róth Gergő okleveles vegyészmérnök

Készült a Debreceni Egyetem Kémia Tudományok doktori iskolája
(K/4 programja) keretében

Témavezető: Dr. Nagy Tibor

Az értekezés bírálói:

Dr.

Dr.

A bírálóbizottság:

elnök: Dr.

tagok: Dr.

Dr.

Dr.

Dr.

Az értekezés védésének időpontja: 2024

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom Dr. Nagy Tibornak az Alkalmazott Kémiai Tanszék docensének a kutatási témám vezetéséért, és hogy bármikor fordulhattam hozzá szakmai segítségért. Továbbá köszönet illeti a türelméért, az önzetlen segítségért és a jó hangulat megteremtéséért a munka során.

Köszönettel tartozom Dr. Kéki Sándor egyetemi tanárnak az Alkalmazott Kémiai Tanszék vezetőjének, amiért lehetővé tette számomra a kutatást és a nagyfokú szakmai segítségét. Köszönöm Dr. Kuki Ákosnak a munkám során nyújtott szakmai segítségét, és hogy hozzá is bármikor fordulhattam a kérdéseimmel. Köszönöm Dr. Zsuga Miklós professzor emeritusnak a támogatását és hasznos tanácsait.

Nem utolsó sorban, köszönöm a feleségemnek, Róth-Kiss Anna Ágnesnek, hogy mindig türelemmel és megértéssel fordult felém.

Köszönöm Dr. Timári Istvánnak és Dr. Hashimov Mahirnak, Vonza Zsófiának, Nagy Annának és Benedek Máténak a méréseiket és közreműködésüket a kutatásomban.

Szeretnék továbbá köszönetet mondani az Alkalmazott Kémiai Tanszék minden dolgozójának a szakmai támogatásukért és a jó légkörért, amit a munkahelyen teremtettek.

Hálával tartozom a családomnak, hogy türelemmel és támogatással fordultak felém a tanulmányaim során.

A dolgozatom elkészítéséhez köszönöm a támogatást a GINOP-2.3.3-15-2016-00021, TKP2020-NKA-04, GINOP-2.3.3-15-2016-00004 és NKFI FK-132385 pályázatoknak és projekteknek, amelyek az Európai Unió támogatásával és az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósultak meg.

Tartalom

1. Bevezetés	1
2. Irodalmi áttekintés	4
2.1. Kopolimerek	4
2.1.1. Általános polimer jellemzők	5
2.1.2. Poloxamerek	7
2.1.3. Polimerek tömegspektrometriája	9
2.1.4. Mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR)	11
2.1.5. Gél permeációs kromatográfia (GPC)	11
2.1.6. Infravörös spektroszkópia (IR)	13
2.1.7. Dinamikus fényszórásmérés (DLS)	13
2.2. Tömegspektrometria (MS)	15
2.2.1. Mátrix segített lézer deszorpció/ionizáció (MALDI)	16
2.2.2. Elektroporlasztásos ionizáció (ESI)	16
2.2.3. Repülési idő analizátor (TOF)	17
2.3. Neurális háló (NH)	20
2.3.1. A neuron a neurális hálózatban	20
2.3.2. Az aktivációs függvények	21
2.3.3. A neurális hálózatok topológiája	22
2.3.4. A neurális hálózatok tanítási algoritmus	23
3. Felhasznált anyagok és módszerek	26
3.1. Felhasznált anyagok	26
3.2. Flash kromatográfiás frakcionálás	28
3.3. MALDI-TOF-MS	29
3.4. Gélpermeációs kromatográfia	29
3.5. ¹H-NMR spektroszkópia	30
3.6. Dinamikus fényszórásmérés (DLS)	30
3.7. Neurális háló (NH)	31
4. Eredmények és értékelésük	32

4.1. Kopolimerek tömegspektrumának részletes elemzése	32
4.1.1. Kopolimerek tömegspektrumai	32
4.1.2. Kopolimer tömegspektrum-elemző algoritmus	34
4.1.3. Az algoritmus eredménye	43
4.1.4. Az elemzésből kapott eredmények értelmezése	50
4.1.5. Az eredmények validálása	54
4.2. Kopolimerek tömegspektrumának adatredukciós elemzése	56
4.2.1. A tömegmaradék-analízis	56
4.2.2. Az adatredukciós algoritmus	61
4.3. Mesterséges intelligencia támogatott gélpermeációs kromatográfiás kopolimer analízis	73
4.3.1. Poloxamerek gélpermeációs mérése	73
4.3.2. A neurális hálók tanítása és eredményességük.....	75
5. Összefoglalás	87
6. Summary	90
Hivatkozások:	95
Függelék	103

Az értekezésben előforduló rövidítések listája:

Rövidítés:	Jelentés:
BM	bemeneti mátrix
DLS	dinamikus fényszórásmérés
EM	eltérés mátrix
EO	etilén-oxid
GPC	gélpermeációs kromatográfia
m/z	tömeg/töltés érték
MALDI	mátrix segített lézer deszorpció ionizáció
MARA	tömegmaradék analízis
MS	tömegspektrometria
Nd:YAG	neodímium dópolt ittrium alumínium granát
NH	neurális háló
NMR	mágneses magrezonancia spektroszkópia
nnA	darabszám számátlag
nwA	darabszám súlyozott számátlag
PDI	polidiszperzitás index
PDR	polidiszperzitás arány
PEO	poli(propilén-oxid)
PO	propilén-oxid
PPO	poli(etilén-oxid)
RM	réteg mátrix
SEC	méretkizárásos kromatográfia
TOF	repülési idő analizátor
VBA	visual basic alkalmazás

1. Bevezetés

Mindennapi életünk egyik legmeghatározóbb eleme lett a polimerek alkalmazása a különféle területeken, a gyógyszerhatóanyag hordozástól kezdve a ruházkodáson és közlekedésen át, egészen az űrkutatásig. Továbbá jelentős területté fejlődött az intelligens polimerek és kopolimerek alkalmazása, akár szenzorként, akár programozott gyógyszerhatóanyag hordozóként, vagy öngyógyuló szerkezeti elemekként. Az említettekkel együtt egyre jelentősebb terület a célzottan tervezett polimerek alkalmazása a különböző egyedi és precíziós problémák megoldására. Így a fejlettebb termelés és kutatás növekvő igényt tart fenn az újabb és pontosabb analitikai eljárások fejlesztésére, melyhez szorosan kapcsolódik a szerkezet és fizikai tulajdonság összekapcsolhatóságának igénye is, valamint az analitikai módszerek integrálása ipari termelés során.

A doktori kutatásom során célom volt a kopolimerek tömegspektrumának analíziséhez új algoritmusok fejlesztése, melyek általánosan alkalmazhatóak, pontos azonosítást és a polimerekre jellemző paraméterek számítását teszik lehetővé, mint például a számátlag és tömegátlag molekulatömeg, de emellett a láncokat alkotó monomerek számáról és azok eloszlásáról is információt nyújtanak. A módszer fejlesztéséhez [poli-(etilén-oxid)]-[poli-(propilén-oxid)] blokkokból felépülő kopolimereket alkalmaztam minta vegyületsaládként, melyek alkalmazási területe igen széleskörű. Felhasználják poliuretán gyártásához, habzásgátlóként, nemionos felületaktív anyagként, de gyógyszerhatóanyag formulázására és sejtfallvédő hatása miatt is alkalmazzák. A felhasználás sokrétűsége miatt nagyon jelentős a kopolimer szerkezetének, összetételének pontos ismerete, mivel az a fizikai tulajdonságait jelentősen

befolyásolja, például a képződő micellák méretét, illetve a sejtfal védelem csak specifikus diblokk szerkezet esetén jelentkezik. Céлом volt továbbá, hogy a kinyert adatokat vizualizáljam is, melyre az összetétel sodródás (composition vagy compositional drift) diagramot terveztem alkalmazni.

A kutatás későbbi részében az első szakaszban fejlesztett általános kopolimer elemző algoritmus egyszerűbb implementálása és egy programozás nélküli, kevesebb számítást igénylő matematikai eljárás előállítása volt a cél, amely egy egyszerű táblázatkezelő alkalmazásban is könnyen megvalósítható. Ennek a kivitelezésére a kutatócsoportunk által kidolgozott tömegmaradék analízist, mint rendezési és azonosítási módszert céloztam meg alkalmazni. Továbbá az adathalmazban fennálló, elemzéshez szükségtelen redundanciát kívántam csökkenteni, illetve bizonyítani, hogy ez az eljárás is teljes értékűen működik az előzővel párhuzamosan. Ezért ebben az esetben is a [poli-(etilén-oxid)]-[poli-(propilén-oxid)] blokk-kopolimer molekulacsaládot alkalmaztam mintákként, illetve ezen kutatási szakasz során is terveztem az adatok vizualizációját, aminek a segítségével könnyen összevethetővé válnak a két különböző módszerből származó eredmények.

Mindezek mellett a tömegspektrometriás mérésekből származó eredmények más mérési módszerrel való összekapcsolhatóságának vizsgálata volt a következő céлом. Ehhez a polimerekre gyakran, de kopolimerek mérésére ritkábban alkalmazott, gélpermeációs kromatográfiás módszert (GPC), és az ipari szinten egyáltalán nem rutinszerű MALDI-TOF-MS által szolgáltatott eredményeket kívántam összekapcsolni. A GPC egy kevesebb energiát és kevesebb szaktudást igénylő ipari környezetben is rutinszerűen használt mérési módszer, míg a MALDI-TOF MS nagy szaktudást és rutint igénylő, költséges technika. A gélpermeációs kromatográfiás módszer azért különösen problémás

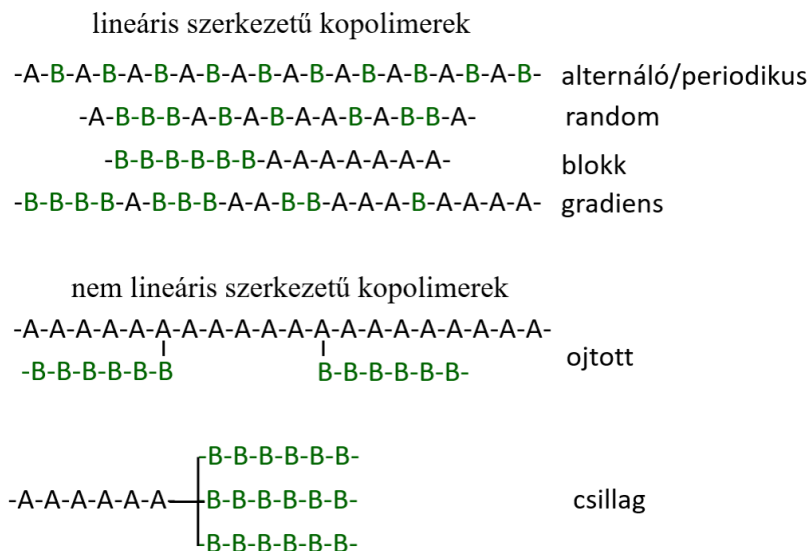
kopolimerek tulajdonságainak mérésére, mivel nem vagy csak nagyon kevés, kellően szűk eloszlású kalibráló kopolimer áll rendelkezésre. Valamint a monomerek eloszlása befolyással lehet a kopolimer láncok hidrodinamikai sugarára, ezáltal a kalibráció igen nehézkes. Továbbá a kinyerhető adatok sokszor csak az átlagos mennyiségekről szolgáltatnak információt. Ezért a (GPC)-(MALDI-TOF-MS) kapcsolat feltérképezése volt a cél, amihez a kutatás során neurális hálózatokat kívántam alkalmazni, amelyekkel egy vektor-vektor empirikus hozzárendelést lehet megvalósítani. Ebben az esetben is a fentebb említett [poli-(etilén-oxid)]-[poli-(propilén-oxid)] blokk-kopolimer polimercsaládot vettem alapul mintának. Fontosnak tartom kiemelni, hogy ezáltal a géelpermeációs kromatográfia felhasználhatósága drasztikusan emelhető és jelentősen több paraméter kinyerésére alkalmazható, kis költség mellett, rutinszerű eljárásként, ipari szinteken is.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Kopolimerek

A kopolimerek olyan polimerek, amelyek kettő vagy több, különböző szerkezetű monomer egységből épülnek fel.

A kész kopolimer szerkezetileg lehet alternáló vagy más néven periodikus, azaz a monomerek rendre váltják egymást. Lehet blokk, amikor a monomerek blokkokat alkotnak és a blokkok váltják egymást. Lehet gradiens, mely esetében a blokkok hossza valamilyen szabályosság szerint a lánc növekedésével nő vagy csökken. Illetve a szerkezet lehet random, mely esetben a monomerek véletlenszerűen követik egymást [1]. Szerkezetük is nagy változatosságot mutat, a kopolimerizáció során lineáris, graft és csillag alakú kopolimerek előállítására is lehetőség van [2, 3]. Az általános szerkezeteket az 1. ábra mutatja be.



1. ábra: Kopolimerek lehetséges szerkezetei

A kész kopolimerek összetétele és szerkezeti tulajdonsága meghatározza a polimer fizikai tulajdonságait és ezáltal a felhasználási területet. Erre kiváló példa a poliuretánok esete, ahol a beépülő di-vagy poli-ol szerkezete befolyásolja a kopolimer tulajdonságát [4]. Ezért ezen összefüggés, illetve a kopolimer szerkezete és kémiai tulajdonságainak ismerete nélkülözhetetlen a mai célzott kémiai problémamegoldás és modern precíziós termelés során [5-7]. A kopolimerek felhasználása igen sokrétű. A termoplasztikus poliuretánok vagy nitril butadién gumik alkalmazhatóak késztermékként, például tömítésre [8]. Továbbá elektromos szigetelésre használható a poli(etilén)-poli(propilén)-gumi [9]. Állatgyógyászatban, mint detergens alkalmazhatóak a poli(etilénoxid)-poli(propilén-oxid) kopolimerek például a szarvasmarhák és juhok esetén puffadás ellen [10] illetve a poli(sztírol)-poli(maleinsav) kopolimer használható detergens mentes közegként lipid kettősréteg membrán szolubilizálásra [11]. Gyártás közti alapanyag lehet a poli(akrilnitril)-poli(butadién)-poli(sztírol) kopolimer mely játékok készítésre [12] és 3D nyomtató szálak gyártására alkalmas [13]. Továbbá a poli(akrilnitril) arány módosításával növelhető az ütésállóság [14]. Alkalmazható még membránszeparátorok előállítására, például poli(sztírol)-poli(4-vinilpiridin), ahol akár egyszerű, bevonatoló eljárásokban gyakran alkalmazott festékszóró pisztoly is lehet a membránt kialakító eszköz [15].

2.1.1. Általános polimer jellemzők

A polimerek jellemzésére több paraméter szükséges, mivel a polimerizációs reakció során nem egyforma lánchosszúságú molekulák keletkeznek, hanem azok statisztikusan képződnek és statisztikusan írhatók le. Ezért általánosan számátlag (M_n) és tömegátlag (M_w) molekulatömeget használnak, illetve ezek aránya kiszámolhatóvá teszi és megmutatja a polimer rendszer

polidiszperzitását, ami a polidsziperzitás index (PDI). A számoláshoz szükséges képletek a következők:

$$M_n = \frac{\sum_{i=0}^{\infty} N_i M_i}{\sum_{i=0}^{\infty} N_i} \quad (1)$$

$$M_w = \frac{\sum_{i=0}^{\infty} N_i M_i^2}{\sum_{i=0}^{\infty} N_i M_i} \quad (2)$$

$$PDI = \frac{M_w}{M_n} \quad (3)$$

ahol M a polimerlánc tömege, N a molekulák darabszáma, i pedig a polimerizáció fok [16].

A rendszer további jellemzésére több különféle molekulatömeget is használnak, melyek z -átlag (M_z) és v -átlag molekulatömeg (M_v). A Z -átlag molekulatömeg ultracentrifugával határozható meg és az alábbi képlettel számolható [17]:

$$M_z = \frac{\sum_{i=0}^{\infty} N_i M_i^3}{\sum_{i=0}^{\infty} N_i M_i^2} \quad (4)$$

Míg v -átlag molekulatömeg meghatározása viszkozimetriás módszerrel történik és matematikailag a kiszámítása az alábbi módon lehetséges:

$$M_v = \left[\frac{\sum_{i=0}^{\infty} N_i M_i^{\alpha+1}}{\sum_{i=0}^{\infty} N_i M_i} \right]^{\frac{1}{\alpha}} \quad (5)$$

ahol az α a Mark-Houwink Index, amely a (6) egyenletben is szerepel [17, 18].

A viszkozitás és a molekulatömeg közt pedig a Mark-Houwink egyenlet teremt kapcsolatot, mely az alábbi:

$$\eta = K M^{\alpha} \quad (6)$$

ahol η a határviszkozitás, K és α pedig Mark-Houwink paraméterek, amik az adott polimerre jellemzőek és kísérletes úton határozhatók meg [18, 19]. Az α paraméter általában a polimer geometriájáról ad információt az adott oldószerben. Míg a K értéke úgy kapható meg, hogy a különböző molekulatömegű polimerek viszkozitásának logaritmusát ábrázoljuk a molekulatömeg logaritmusának függvényében, és az így keletkező többnyire egyenes ordinátával való metszéspontjából számolható [20].

Kopolimerek esetén a fentebb említett paraméterek nem elégségesek, mivel nem hordoznak információt a különböző monomerek láncbéli darabszámáról, és ezáltal a kopolimer fizikai tulajdonságai sem írhatók le megfelelően. Ezért a dolgozatomban a jellemzéshez definiálom a monomerekre vetített számátlag darabszámot és darabszám súlyozott darabszámot, valamint egy új paramétert, ami az előbb említett jellemzők arányairól hordoz információt.

2.1.2. Poloxamerek

A poloxamerek olyan kopolimerek, amelyek etilén-oxid (EO) és propilén-oxid (PO) monomerekből épülnek fel, ahol a monomerek a láncban blokkoként vannak jelen. Általánosan három blokkból épül fel, $EO_xPO_yEO_z$ alakban, ahol x , y , z a láncba beépült darabszámot jelenti. Ezen felül léteznek fordított, úgymond reverz $PO_xEO_yPO_z$ blokkosrendű polimerek is [21]. A későbbiekben a reverz (fordított) szekvenciájú polimereket is poloxamerként fogom nevezni a dolgozatban, az egyszerűbb hivatkozhatóság okán.

Előállításukat tekintve anionos lánc polimerizációval állíthatók elő, lúgos közegben. Az első lépésben a középső blokkot építik fel, majd erre a blokkra a következő lépcsőben polimerizál tovább a másik monomer és alakítja ki a két szélső blokkot [22]. Amennyiben a középső blokk poli(propilén-oxid) (PPO),

úgy az EO beépülése primer hidroxilcsoport megjelenéséhez vezet, amin aztán a további növekedés gyorsabb, mint a PPO blokk másik oldalán lévő szekunder hidroxilcsoport reakciója az EO-dal. Ez azt eredményezheti, hogy a PPO blokknak csak az egyik oldalán épül PEO lánc és úgynevezett diblokk kopolimer képződik, a mindkét oldalon PEO blokkal rendelkező triblokk kopolimer helyett [23].

A poloxamerek alkalmazási területe igen széles. Használják gyógyszerhatóanyag formulázásra, habzásgátlóként, nemionos felületaktív anyagként, illetve felületi feszültség csökkentésre [21, 24-28]. Gyógyászatban a gyógyszerrezisztens tumorsejteknél segíti a hatóanyag bejuttatását a sejtbe úgy, hogy nem befolyásolja hátrányosan az egészséges sejtek hatóanyag felvételét [22]. Hidrogélként gyógyszerhatóanyag hordozásra alkalmas. Például kis mennyiségű nitrogén-monoxid tárolására, mely jelzőmolekulaként viselkedik és serkenti a sebek gyógyulását [29]. Diblokk kopolimerekként a sejtmembrán védelmére alkalmazhatók [30]. A diblokk kopolimer összehasonlítva a triblokk kopolimerrel, azonos átlagos molekulatömeg és azonos monomer összetétel esetén, más micellamérettel rendelkezik [31]. További gyógyászati alkalmazás a poli(tej-ko-glikolsav) és Pluronic F127 immerziós kicsapásával mesterségesen előállított idegi vezeték, ami szemi-permeabilis, átjárható a tápanyagok számára, de visszatartja a szöveti benövéseket és segíti az idegsejtek regenerálódását [32, 33].

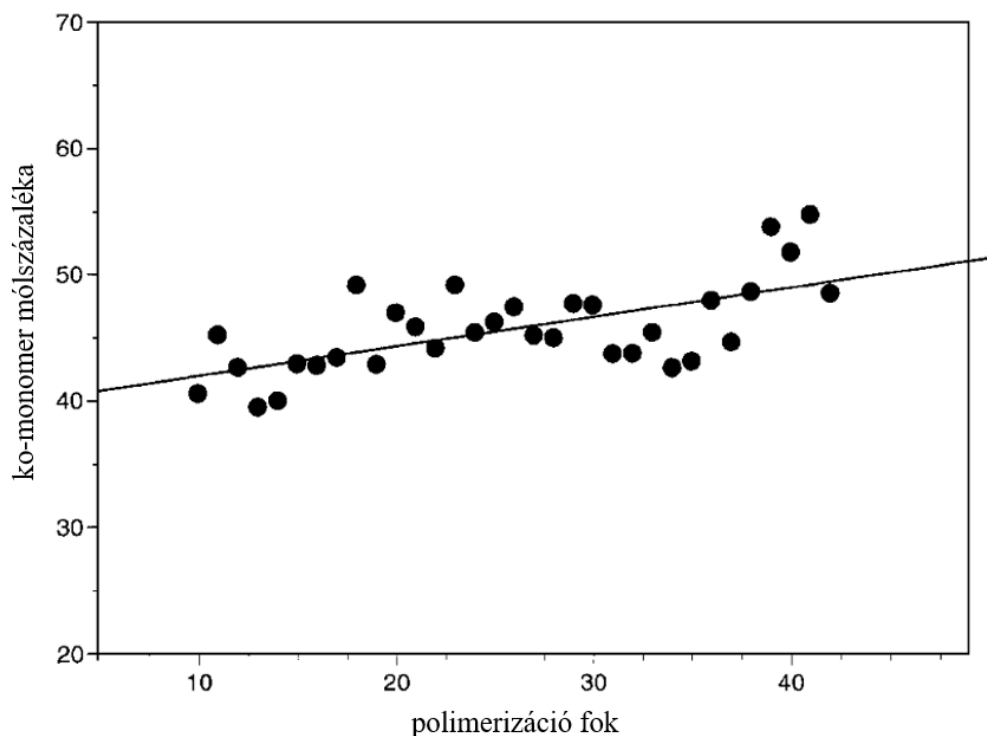
Mint látható, a felhasználási területek lehetősége széles spektrumon mozog, így az poloxamerek elemzése szükséges és azok analitikája sokat kutatott terület.

2.1.3. Polimerek tömegspektrometriája

A polimerek tömegspektrometriás vizsgálata igen jelentős, mivel lehetőség van a rendszer minden egyes alkotó eleméről információt kapni, a különböző hosszúságú láncok külön-külön is vizsgálhatók [34, 35]. Más gyakran alkalmazott módszerek, mint például a mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR), gélpermeációs kromatográfia (GPC), vagy infravörös spektroszkópia (IR), csak átlagos mennyiségeket adnak. Az átlagos molekulatömeg meghatározására, mint ahogy azt a 2.1.1 fejezetben is említettem, egyéb módszerek (viszkozimetria és ultracentrifuga) is rendelkezésre állnak [36].

Homopolimerek esetén a tömegspektrumból, a tömeg/töltés (m/z) különbségekből egyszerű módon megállapítható a láncot alkotó monomer elemi összetétele, illetve ennek ismeretében meghatározható a polimer láncok végcsoportja is. Utóbbi rövidebb láncok esetén jelentős, mivel a végcsoport tulajdonsága meghatározhatja a polimer felhasználási területét. Hosszabb láncok esetén a végcsoport hatása csökken [37], majd elhanyagolhatóvá válik. Tovább emeli a tömegspektrometria jelentőségét, hogy a spektrumban a polimerizációs reakció során keletkező melléktermékek is megjelennek, illetve akár a reakció is követhetővé válik, amennyiben a reakció megfelelő módon adott időközönként mintázható. Fontos kiemelni, hogy a tömegspektrum elemzéséből a 2.1.1. fejezetben bemutatott polimer tulajdonságok egyszerűen kinyerhetők [38], sőt, ezen felül további jelentős paraméterek is számolhatók, melyeket a dolgozat későbbi részében bemutatok. Ezen felül a teljes azonosításból kiszámolható az összetétel sodródás diagram, amely elfogadottan használatos a kopolimerek jellemzésére. Egy példát mutat be a 2. ábra, ahol a

polimerizáció fok függvényében ábrázoljuk az adott ko-monomer móltörtjét [38].



2. ábra: Random szerkezetű poli(butilén-adipát) és poli(butilén-szebacát) összetétel sodródás diagramja [38]

A tömegspektrometriás polimer analízisnek van néhány hátránya is. Ezek közül a legjelentősebb a tömegdiszkriminancia effektus, illetve a különböző polimerizáció fokú láncok ionizációs hatásfoka közötti különbség [39]. Tömegdiszkriminancia esetén a különböző tömegű ionokra az ionoptika, illetve analizátor áteresztőképessége nem azonos, az ionizációs hatásfok pedig függ a kopolimert felépítő monomerek kémiai minőségétől, illetve a láncok hosszától

[40]. Minél szélesebb a polimer eloszlása, ezen jelenségek annál inkább fellépnek [41].

Ezen korlátok figyelembevételével is kijelenthető, hogy a tömegspektrometria egy általánosan jól használható analitikai eljárás polimerek összetételének mérésére.

2.1.4. Mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR)

A mágneses magrezonancia spektroszkópia egy igen gyakran alkalmazott spektroszkópai módszer, mely jelentős szerkezeti információk kinyerésére alkalmazható. Működését tekintve, a vizsgálni kívánt molekulákat mágneses térbe helyezve, azt gerjesztik rádiófrekvenciás hullámokkal, majd a relaxáció során keletkező hullámok frekvencia eltolódásából következtetnek a szerkezetre [42]. Polimerkémiailag szempontból az ^1H -NMR a leggyakrabban alkalmazott módszer. Ebben az esetben a végcsoportok és monomerek asszignációja szükséges, melyből kinyerhető a polimerizáció fok, és ezáltal a számátlag molekulatömeg. Sok esetben a végcsoport azonosítása nehéz és ezért származékképzést alkalmaznak. Ebben az esetben, ellenben a tömegspektrometriás mérésekkel, a polimert alkotó láncokat nem mérhetjük külön-külön. A szerkezeti információkból a kopolimerre jellemző monomer arányok kinyerhetők [43]. Amennyiben származékképzés nem alkalmazható, úgy diffúziós együttható meghatározásával is lehetséges a molekulatömeg meghatározás [44].

2.1.5. Gél permeációs kromatográfia (GPC)

A gél permeációs kromatográfia, más néven méret kizárásos kromatográfia (SEC) egy régóta, rutinszerűen használt analitikai eljárás polimerek

molekulatömegének (hidrodinamikai sugarának) meghatározására [45, 46]. Működését tekintve egy kromatográfiás elválasztás, mely során a gél pórusaiba a kisebb molekulák belépnek és lassabban jutnak át az oszlopon. A nagy molekulák, a nagyobb hidrodinamikai térfogatuk miatt nem tudnak ezekbe a pórusokba behatolni, így az eluens árammal gyorsabban eluálódik, mint a kisebb részecskék. A pórusméret és alak jelentős tényező a kromatográfia során, mely igen kutatott terület és több különböző modellel írható le [47]. A mérés relatív, így megfelelő kalibráció szükséges hozzá, amelyre sok esetben szűk molekulatömeg eloszlású polisztirol standardokat alkalmaznak [48, 49]. A kalibráló görbét általában harmadfokú polinommal közelítik, ahol a molekulatömeget logaritmikusan ábrázolják [50] az elúciós térfogat (gyakran az idő) függvényében. Ezt mutatja be általánosan a 7. egyenlet:

$$\log(M) = a + b * V + c * V^2 + d * V^3 \quad (7)$$

ahol, a, b, c és d konstansok, míg V az eluált térfogat, M pedig a molekulatömeg.

Detektorként alkalmazható törésmutató detektor (RI), viszkozitás mérő detektor, de kapcsolt technikák is vannak, ahol direkt módon tömegspektrométer működhet detektorként [50-52]. A gélpermeációs kromatográfiás mérésből RI detektorral meghatározhatók a M_n , M_w , M_z , M_p illetve PDI értékei, ahol M_p a kromatogramban lévő csúcs maximumához tartozó molekulatömeg.

A GPC hátránya, hogy a kalibrációhoz használt polimer alakja és minősége befolyással van a hidrodinamikai térfogatra. Ezáltal csak egymáshoz hasonló alakú polimerek hasonlíthatók össze megfelelő hatékonysággal [47]. Ezen ok miatt jelentős ennek a kromatográfiás módszernek a fejlesztése, hogy a relatív

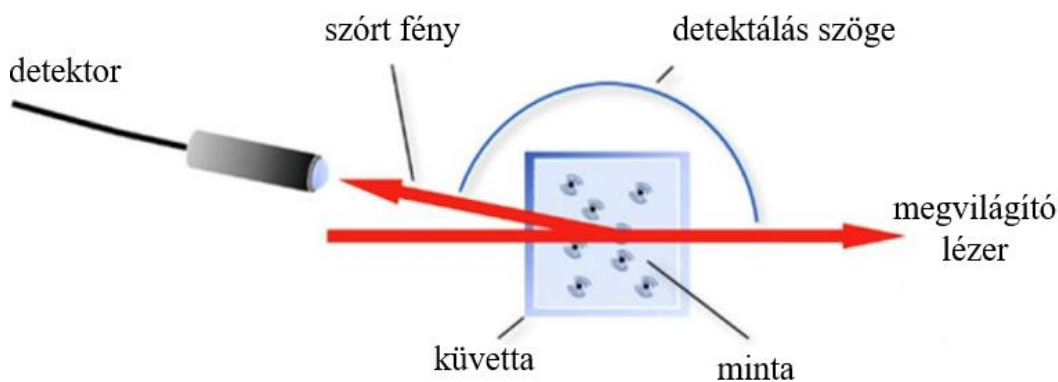
egyszerű és rutinszerű mérési technikával még pontosabb és még több információt szerezzünk a polimerekről [53].

2.1.6. Infravörös spektroszkópia (IR)

Az infravörös spektroszkópia szintén egy gyakran alkalmazott szerkezetmeghatározó módszer, mely során a vizsgálni kívánt mintát infravörös tartományú elektromágneses hullámmal gerjesztik, és a mintán átjutó vagy visszaverődő sugárzást detektálják. Ebben az esetben az abszorbeált fény hullámhosszából lehet következtetni a molekula szerkezetére, mivel az vegyérték és deformációs rezgéseket gerjeszt [54]. Polimerkéimiai szempontból minőségi analízis végzésre van lehetőség, megállapítható a polimert alkotó monomer kémiai összetétele. Bizonyos esetekben, kalibráció mellett, lehetőség van kopolimerek analízisére is, melyből meghatározható a monomerek részaránya. Valamint szintén megfelelő kalibrációval és jól megválasztott modellel meghatározható a számátlag molekulatömeg. Sok esetben problémát jelenthet a rezgések átfedése, esetlegesen oldószerből származó rezgések, illetve a megfelelő kalibráló hiánya [55-57].

2.1.7. Dinamikus fényszórásmérés (DLS)

Dinamikus fényszórás mérés esetén lézer fénnel sugározzák be a mintát, és a részecskékről viaszszóródó fényt detektálják időben. Az időbeli detektálás azért fontos, mivel a részecskék Brown mozgást végeznek, és ezáltal a szórt fény intenzitása fluktuál [58, 59]. A szórt fény detektálásnak a szöge függ a minta tulajdonságaitól, átlátszó és gyengén szóró minták esetén 90°-os szög javasolt. Nagy turbiditású minták esetén a szög változtatásával és a fény polarizálásával nyerhető ki eredmény [60, 61]. A DLS sematikus működését mutatja be a 3. ábra.



3. ábra: DLS sematikus működése [62]

A mért adatok kiértékelése két módon lehetséges. Amennyiben időben történt a detektálás és ez a függvény áll rendelkezésre, akkor autokorrelációs függvényt lehet alkalmazni. Ellenben, ha ennek a függvénynek a Fourier-transzformáltja került rögzítésre, úgy az adatok egy Lorentz-görbét alkotnak és a félérték szélességéből megállapítható a szemcseméret [63]. Dinamikus fényszórás mérés esetén a vizsgálható mérettartomány 0.8-6500 nm.

Polimerkéimiai szempontból a DLS segítségével megállapítható a polimerekből képződő micella mérete, az oldatok felhősödési pontja, amennyiben van ilyen, illetve megfelelő módszerrel a tömegátlag molekulatömeg is [64]. Ezen felül érzékenységéből kifolyólag kiválóan alkalmas a kritikus micellaképződési koncentráció meghatározására is [65].

2.2. Tömegspektrometria (MS)

Napjainkban a tömegspektrometria alkalmazása a modern analitikában szinte megkerülhetetlen. A módszer kiemelkedő érzékenysége és szelektivitása a történelem során nagyban hozzájárult a természettudományok jelentős fejlődéséhez.

A tömegspektrométer olyan műszer, amely molekulák tömegének meghatározására alkalmas, de mérés szempontjából a tömeg/töltés arányt képes mérni. Általánosan öt fő egységből áll, mintabeviteli rendszerből, ionforrásból, tömeganalizátorból, detektorból és adatfeldolgozó egységből. A vizsgálathoz gázfázisú ionokat kell képezni, majd a tömeg analizátor az ionokat tömeg/töltés szerint szétválasztja, mely többféle módon történhet. Ezután az ionokat detektálja a készülék és az adatfeldolgozás utáni eredmény a tömegspektrum, melyen a minta m/z értékei szerepelnek és az adott értékekhez tartozó intenzitásuk [66].

A tömegspektrometriát az elektron tömegének kutatása kapcsán fedezték fel, és a módszert eleinte csak a fizikusok használták [67]. Később a tudomány fejlődésével izotópok megkülönböztethetőségére is lehetőség nyílt, melyet a Manhattan projekt kapcsán is alkalmaztak ^{235}U és ^{238}U esetén [68]. Egészen 1988-ig, a lágy ionizációs technikák megjelenéséig [69], a tömegspektrometria elterjedése korlátolt volt, nagyobb molekulák vizsgálatára nem volt alkalmas. Ezek gázfázisba juttatása nem, vagy csak korlátozottan volt lehetséges, valamint a molekulák a vizsgálat alatt fragmentálódtak [67]. Az új lágyionizációs technikák felfedezése lehetővé tette hőérzékeny és nagy molekulatömegű anyagok MS vizsgálatát, mint például a fehérjék és polimerek. Az analizátorok fejlődése pedig a még pontosabb tömeg mérésére és ezáltal az elemi összetétel

meghatározására nyújtott megoldást [67, 70]. Az irodalmi áttekintés további részében bemutatom a polimerek analíziséhez gyakran alkalmazott ionforrásokat és detektorokat.

2.2.1. Mátrix segített lézer deszorpció/ionizáció (MALDI).

A mátrix segített lézer deszorpció/ionizáció technika esetén, az ionizációt egy lézeres besugárzás idézi elő, ami nem közvetlenül a mintát ionizálja, hanem a mintához kevert mátrixanyag veszi át a lézer fotonok energiáját. A besugárzáskor a mátrix és minta deszorbeálódik a felületről és az elnyelt energia hatására megtörténik az ionizáció. Ezáltal a mintát közvetve ionizáljuk és nem, vagy csak kis mértékben történik fragmentáció. A legtöbb esetben egyszeres töltésű addukt ionok keletkeznek [71]. A MALDI nagy előnye, hogy kiválóan alkalmas nagy molekulatömegű vegyületek vizsgálatára akár 1000000 Da-ig [72]. Mátrixként sokféle vegyület használható, fontos, hogy jól kristályosodjanak, legyenek inerte a vizsgált vegyületekkel szemben és nyeljük el a lézer fotonokat [71]. Polimerek vizsgálata esetén gyakran alkalmazott mátrix például a 2,5-dihidroxibenzoésav (DHB) és a transz-2-[3-(4-tert-butilfenil)-2-metil-2-propenilidén]malononitril (DCTB) [73, 74]. UV lézerként régebben N₂ lézert használtak, jelenleg a Nd:YAG lézerek az elterjedtebbek.

Kopolimerek és polimerek mérésére kiválóan alkalmas, mivel nagy mérési tartománnyal rendelkezik, valamint az egyszeres töltésű ionok keletkezése miatt egyszerűbb tömegspektrumot eredményez.

2.2.2. Elektroporlasztásos ionizáció (ESI)

Az elektroporlasztásos ionizációs technika esetén az ionizálni kívánt minta egy kapillárison keresztül jut be az ionforrásba, ahol a tömegspektrométer bevezető

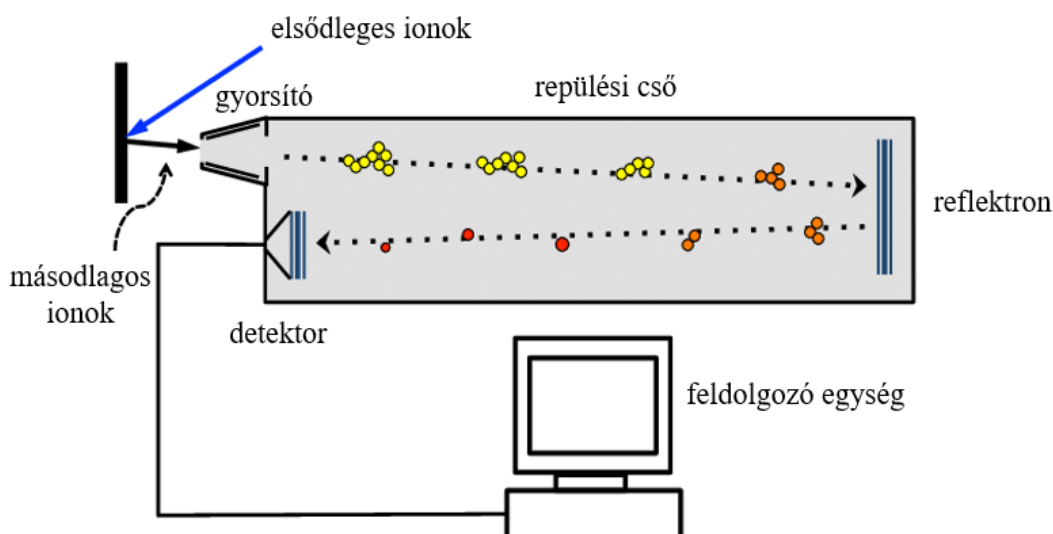
kapillárisa és a porlasztó kapillárisa közé feszültséget kapcsolunk. Ennek hatására töltés halmozódik fel az oldószer cseppek felületén. Az így kialakuló töltött cseppekből az ionforrásban alkalmazott hőmérséklet hatására az oldószer elpárolog, és egyre nagyobb felületi töltéssűrűség alakul ki. Ezekből a cseppekből az ionok képződése kétféle modell szerint lehetséges. Az egyik az ionpárolgási modell, miszerint a párolgás miatt a felületi töltéssűrűség nő, és a Rayleigh határt elérve a taszító erők hatására a cseppből ionok lépnek ki. A másik modell a töltésvisszamaradási modell, ahol a párolgás miatt a töltések visszamaradnak a molekulán, a töltéssűrűség növekedésének hatására kialakul a Taylor kúp, melynek a végéről ionok szakadnak ki [75, 76].

Polimerkéimiai szempontból hátrányos lehet, hogy az ionizáció során többszörös töltésű ionok is keletkeznek, ami komplexé teszi a tömegspektrumot, mivel egy komponens többször is megjelenik illetve, további átfedéseket okozhat.

2.2.3. Repülési idő analizátor (TOF)

A repülési idő analizátor, ahogy a nevéből adódik, az ionforrás által létrehozott ionok tömeg/töltését repülési idejük szerint azonosítja. A TOF voltaképpen egy cső, amiben vákuum van, melybe elektromos térrel juttatják be az ionokat, és azok tömeg/töltés arányaik alapján a különböző repülési sebességük miatt időben szétválnak. A cső végén helyezkedik el egy iondetektor, ami érzékeli a becsapódó ionokat. A bejuttatáshoz használt elektromos tér lehet pulzáló és konstans, de a kitüntetett szempont, hogy az ionokkal közölt energia közel azonos legyen, így az azonos tömegű részecskék repülési ideje közel azonos lesz. A repülési idő a cső hosszával egyenesen (az egyszerűbb TOF esetén), míg a tömeggel gyökösen arányos [77]. Tehát minél hosszabb a cső, annál hosszabb a repülési idő, az ionok egymáshoz képesti távolsága megnő, ami időbeli

szeparációt okoz, ezáltal nagyobb felbontás érhető el. Ennek okán a legtöbb készülékbe úgynevezett refleatron rendszert építenek, amely megnöveli az úthosszt úgy, hogy elektromágneses térrel az ionokat visszatükrözi egy második detektor irányba. A refleatron továbbá szűkíti az azonos tömeg/töltéssel rendelkező részecskék sebesség eloszlását, ami tovább növeli a felbontóképességet [78]. A TOF analízátor működését az 4. ábra szemlélteti:



4. ábra: Repülési idő analízátor sematikus működési modellje refleatron módban [79]

TOF esetén alkalmazható Hadamard transzformált repülési idő analízis is, amely lényegesen növeli a jel zajhoz viszonyított arányát, így a nő a detektálási limit [80]. A TOF analízátor továbbá csatolható másik TOF analízátorral, amivel tandem tömegspektrometriás mérés valósítható meg, illetve kvadrupól technikával is kapcsolható az utóbbi cél elérése érdekében [81-83].

A TOF analizátorral ellátott tömegspektrométerek gyakran alkalmazott megoldások a polimerek mérésére a fentebb említett jó felbontóképesség és alacsony detektálási limit miatt.

2.3. Neurális háló (NH)

A neurális hálózatok olyan matematikai objektumok, melyek többnyire sok műveleti elemből (neuronból) felépülő rendezett topológiájú összekapcsolt rendszerek. Rendelkeznie kell tanulási algoritmussal, valamint előhívási algoritmussal [84-86].

1958-ban mutatta be Frank Rosenblatt az első többrétegű perceptront, mely még nem rendelkezett tanulási algoritmussal [85], majd 1970-ben kidolgozták a hiba-visszaterjesztéses (backpropagation) módszert, amivel a tanítás megvalósíthatóvá vált [87]. Napjainkban a neurális hálózatok alkalmazása igen elterjedt, mint például a népszerű ChatGPT vagy modern szakértői rendszerek [88, 89].

2.3.1. A neuron a neurális hálózatban

A neuron vagy más néven processzáló elem több bemenetű és egy kimenetű elem, mely a bemenet és a kimenet közt általában egy nem lineáris leképezést valósít meg. A leképezést megvalósító függvényt átviteli, aktivációs vagy aktiváló függvénynek nevezik. A neuron rendelkezhet rövid vagy hosszútávú lokális memóriával. A leggyakrabban alkalmazott neuron egyenrangú bemenetekkel rendelkezik és nincs memóriája. Matematikailag az alábbi képlettel írható le:

$$y = f(\sum_{i=0}^N w_i x_i) \quad (8)$$

ahol y a kimenet értéke, x_i a bemeneti adatok, w_i pedig a bemenetekhez tartozó súlyok. Ezt az általános elemet perceptronnak vagy adaline-nak nevezik [85, 86].

2.3.2. Az aktivációs függvények

A neurális hálóban leggyakrabban alkalmazott aktivációs függvények a következők, melyek rétegről rétegre különbözőek lehetnek [90].

Legyen s paraméter a következő:

$$s = \sum_{i=0}^N w_i x_i \quad (9)$$

Így a függvények:

lépcsős függvény:

$$y = \begin{cases} +1 & \text{ha } s > 0 \\ -1 & \text{ha } s \leq 0 \end{cases} \quad (10)$$

lineáris függvény (purelin):

$$y = s \quad (11)$$

telítéses lineáris függvény:

$$y = \begin{cases} +1 & \text{ha } s > 1 \\ s & \text{ha } -1 \leq s \leq +1 \\ -1 & \text{ha } s < -1 \end{cases} \quad (12)$$

egyenirányított lineáris (ReLU) [91]:

$$y = \begin{cases} s & \text{ha } s > 0 \\ 0 & \text{ha } s \leq 0 \end{cases} \quad (13)$$

szivárgó egyenirányított lineáris (Leaky ReLu):

$$y = \begin{cases} s & \text{ha } s > 0 \\ 0.001 * s & \text{ha } s \leq 0 \end{cases} \quad (14)$$

tangens hiperbolikus függvény (tansig):

$$y = \frac{2}{(1+e^{(-2*s)})} - 1 \quad (15)$$

logisztikus függvény (logsig):

$$y = \frac{1}{1+e^{-s}} \quad (16)$$

Léteznek ettől eltérő átviteli függvények, illetve összegzés nélküli neuronok is, amikben az átviteli függvény tipikusan a radiális bázis függvény (radbas)[92]:

$$y = \sum_{i=1}^N w_i e^{-n_i^2} \quad (17)$$

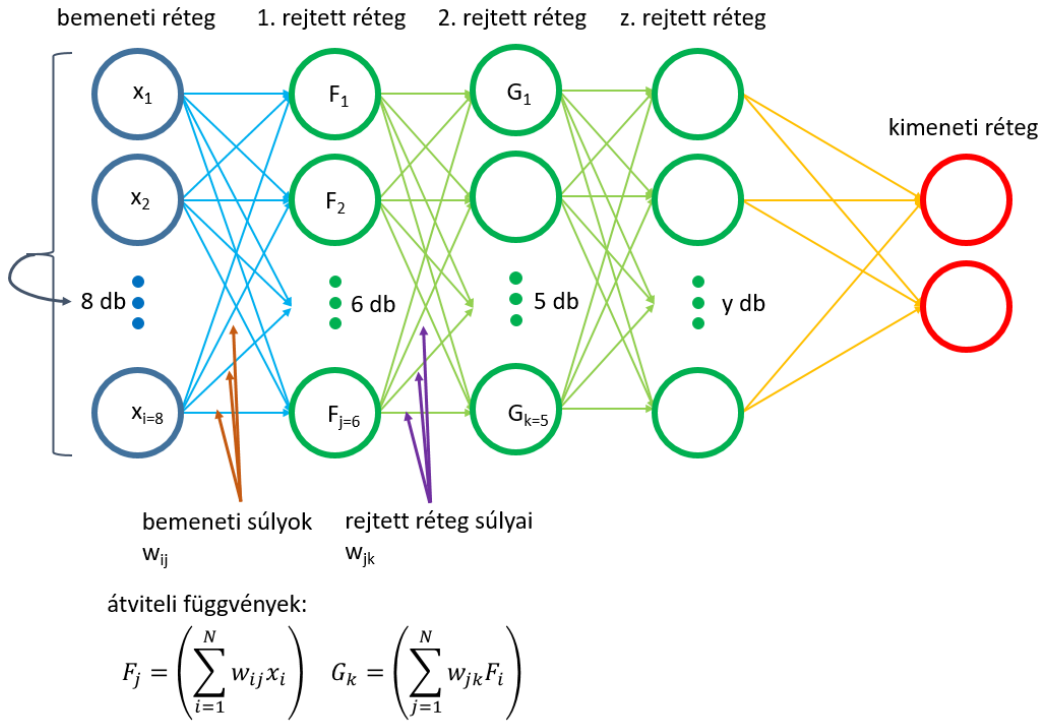
ahol

$$n_i = ||x - x_i|| \quad (18)$$

2.3.3. A neurális hálózatok topológiája

A neuronokból hálózat építhető fel, mely során a processzáló elemeket valamilyen módon összekapcsolják. A kapcsolási sorrend fogja meghatározni a hálózat topológiáját. A kapcsolatok iránya egyirányú, kimenetek általános esetben nem köthetők össze, reprezentálásra általában gráf használható. Topológiai szempontból meg szokták különböztetni a bemeneti és kimeneti réteget, valamint az ezek közt elhelyezkedő rejtett rétegeket [93]. Visszacsatolásra is van lehetőség, mely lehet elemi, azaz a neuron önmagára csatol vissza. Ugyan azon rétegben, de nem önmagára és rétegek közti csatolást laterális csatolásnak nevezzük [94]. Visszacsatolt esetben lehetőség nyílik időfüggő azaz dinamikus modellek készítésére [95]. A visszacsatolás továbbá lokális memóriaként funkcionál, ezáltal a neuron rövid vagy hosszútávú

memóriával rendelkezik [96]. Egy neurális háló általános alakját mutatja be a 5. ábra.



5. ábra: Egy általános, gráffal reprezentált neurális háló nyolc bemenet és kimenet esetén z számú rejtett réteggel, rétegenként különböző számú neuronnal

2.3.4. A neurális hálózatok tanítási algoritmusa

A hálózat tanításához szükséges a tanulási algoritmus, mely általánosan két fő csoportba sorolható, ellenőrzött és nem ellenőrzött [97]. Az ellenőrzött esetben a bemeneti adatokhoz hozzá tartoznak a kimeneti adatok, míg nem ellenőrzött esetben ezek nem állnak rendelkezésre. Mindkét módszernek van jelentősége, utóbbi az adatokban lévő kapcsolatrendszer felderítésére alkalmas, használható

klaszterezésre, autoencoderként, mintafelismerésre, illetve csoportosításra az ellenőrzött tanításhoz. Az ellenőrzött tanulás klasszifikálásra, predikcióra, dinamikus modellek készítésére, illetve regressziós elemzésre is alkalmazható [98-101].

A hálózatok adatpontokra történő tanítására többféle algoritmus alkalmazható, melyek három nagy kategóriába sorolhatók: gradiens alapú, véletlen kereséses alapú és genetikus [102-104]. Néhány példa a gradiens alapú tanítási módszerre: gradiens csökkenés, gradiens csökkenés momentummal, kvázi Newton, Levenberg-Marquardt vagy a Bayes regularizáció [104, 105].

A tanítás hatásfokának mérésére többféle függvényt alkalmaznak, mint például az átlagos négyzetes eltérést, illetve a rendelkezésre álló adathalmaz egy részhalmazát nem használják fel tanításra, hanem validálási adatsorként megtartják. A tanítás során a validáló adathalmaz hibáját mérik, illetve a tanító pontokét. Így a két függvény minimumában lesz optimális a feltanított háló. Ellenkező esetben az adatpontokra túltanítás történhet, mely a validálási adatsor hibájának emelkedéséhez vezet, vagy alultanítás és a hiba túl nagy. A túltanítás elkerülése érdekében egyéb technikaként a tanítási algoritmus korai leállítása is alkalmazható, kisebb tanító adathalmaz esetén [105]. A korai megállításhoz szükséges paraméter az epoch, ami a tanítási adatpontok feldolgozását jelenti. Egy epoch a teljes adathalmaz egyszeri feltanítási ciklusának felel meg. Léteznek nem átlagos négyzetes eltérést alkalmazó hibamérő eljárások is, ezek alkalmazásai az adott feladat típusának függvényében döntendők el [106].

A tanítás során az illesztési algoritmuson kívül célszerű megállapítani a tanulási arányt (learning rate), amivel a feltanítás sebessége növelhető, illetve csökkenthető. Túl magas tanulási arány esetén a feltanított háló nem biztos,

hogy az optimumban van, túl alacsony érték esetén pedig a tanítás hossza nő meg, illetve lokális minimumba kerülhet az illesztés [107].

A neurális hálózatok felépítése, visszacsatolásai, rétegek száma, rétegenkénti neuronok száma, átviteli függvényei, illetve a tanítási algoritmus és paraméterei, amiket a háló konstruktora tud beállítani, hiperparamétereknek szokás nevezni. A tanítás során ezen paraméterek meghatározása a kulcsa egy jól működő neurális hálózatnak [108].

3. Felhasznált anyagok és módszerek

3.1. Felhasznált anyagok

A kutatás során felhasznált ko- és homopolimereket a BASF-től (Ludwigshafen, Németország), a Merck-től (Darmstadt, Németország) és a Fluka-tól (Buchs, Svájc) szereztük be. A polimerek listája az 1. táblázatban található, a gyártói megjelöléssel együtt.

1. táblázat: Felhasznált homo és kopolimerek

Sorszám	Név	Gyártó	Szekvencia	Sorszám	Név	Gyártó	Szekvencia
1	PE6400	BASF	PEO-PPO- PEO	13	PE6100 (A)	BASF	PEO-PPO- PEO
2	PE6400 (L64)	Merck	PEO-PPO- PEO	14	PE6100	BASF	PEO-PPO- PEO
3	RPE1740 (17R4)	Merck	PPO-PEO- PPO	15	PE6200	BASF	PEO-PPO- PEO
4	RPE1740 (A)	BASF	PPO-PEO- PPO	16	L35	Merck	PEO-PPO- PEO
5	RPE1740	BASF	PPO-PEO- PPO	17	PE/P84	Merck	PEO-PPO- PEO
6	RPE3110	BASF	PPO-PEO- PPO	18	L121	Merck	PEO-PPO- PEO
7	RPE3110 (31R1)	Merck	PPO-PEO- PPO	19	PE6120 (A)	BASF	PEO-PPO- PEO
8	PE8100 (A)	BASF	PEO-PPO- PEO	20	P123	Merck	PEO-PPO- PEO
9	PE8100	BASF	PEO-PPO- PEO	21	F68	Merck	PEO-PPO- PEO
10	RPE2520	BASF	PPO-PEO- PPO	22	F127	Merck	PEO-PPO- PEO
11	RPE1720 (A)	BASF	PPO-PEO- PPO	23	PE3500 (A)	BASF	PEO-PPO- PEO
12	RPE1720	BASF	PPO-PEO- PPO	24	PE4300 (A)	BASF	PEO-PPO- PEO

1. táblázat: Felhasznált homo és kopolimerek (folytatás)

Sorszám	Név	Gyártó	Szekvencia	Sorszám	Név	Gyártó	Szekvencia
25	RPE2525 (A)	BASF	PPO-PEO-PPO	42	13 és 14 keveréke	-	PEO-PPO-PEO
26	PE6800	BASF	PEO-PPO-PEO	43	8 és 9 keveréke	-	PEO-PPO-PEO
27	PE3100 (A)	BASF	PEO-PPO-PEO	44	27 és 28 keveréke	-	PEO-PPO-PEO
28	PE3100	BASF	PEO-PPO-PEO	45	10 1. frakciója	-	PPO-PEO-PPO
29	PE4300	BASF	PEO-PPO-PEO	46	10 2. frakciója	-	PPO-PEO-PPO
30	PE10400	BASF	PEO-PPO-PEO	47	10 3. frakciója	-	PPO-PEO-PPO
31	PE10500	BASF	PEO-PPO-PEO	48	15 1. frakciója	-	PEO-PPO-PEO
32	PE10100	BASF	PEO-PPO-PEO	49	15 2. frakciója	-	PEO-PPO-PEO
33	PE9400	BASF	PEO-PPO-PEO	50	PEG1500	Merck	PEO
34	16 és 23 keveréke	-	PEO-PPO-PEO	51	PEG1540	Merck	PEO
35	3 és 5 keveréke	-	PPO-PEO-PPO	52	PEG3000	Merck	PEO
36	3 és 4 keveréke	-	PPO-PEO-PPO	53	PEG3400	Fluka	PEO
37	1 és 2 keveréke	-	PEO-PPO-PEO	54	PEG4000	BASF	PEO
38	6 és 7 keveréke	-	PPO-PEO-PPO	55	PEG6000	Merck	PEO
39	11 és 12 keveréke	-	PPO-PEO-PPO	56	PEG6000	Fluka	PEO
40	4 és 5 keveréke	-	PPO-PEO-PPO	57	PEG8000	BASF	PEO
41	24 és 29 keveréke	-	PEO-PPO-PEO	58	PPG900	BASF	PPO

1. táblázat: Felhasznált homo és kopolimerek (folytatás)

Sorszám	Név	Gyártó	Szekvencia	Sorszám	Név	Gyártó	Szekvencia
59	PPG1000	Merck	PPO	61	PPG2000	Merck	PPO
60	PPG2000	BASF	PPO	62			

Az (A) jelzéssel ellátott polimerek beszerzési éve 2006, míg a többié 2021. A mintaszám növelésének érdekében frakcionálást alkalmaztunk (34-49 minták), melynek a leírása a 3.2 fejezetben található.

A metanolt (MeOH), acetonitrilt (ACN), dimetilformamidot (DMF), tetrahidrofuránt (THF) és a dimetil-szulfoxidot (DMSO) a VWR International-tól (Leuven, Belgium) szereztük be. A mérésekhez felhasznált vizet Direct-Q water system (Millipore, Molsheim, Franciaország) rendszerrel tisztítottam.

3.2. Flash kromatográfiás frakcionálás

A frakcionálás során, ahogy az 1. táblázatban is látszik, a 10. és 15. sorszámú kopolimert frakcionáltam, ugyanazon módszerrel. Az elválasztást Büchi Pure C-810 Flash kromatográffal végeztem, a kolonna Büchi Flash Pure C18 40 µm 40g-os töltet volt. Az elúcióhoz vizet és metanolt használtam, gradiens módszerrel, 85% metanolról kezdve, 100% metanolt elérve, 16 perc alatt. Az áramlási sebesség 45 mL/perc, a gyűjtött frakciók térfogata 15 mL volt. Az előmérések alapján a közel azonos összetételű frakciókat egyesítettem (10. minta esetén 26-32 (45. minta), 33-40 (46. minta), 41-48 (47. minta) frakciók, 10. minta esetén 32-38 (48. minta) és 39-46 (48. minta) frakciók, majd ezeket rotációs vákuumbepárlón bepároltam.

3.3. MALDI-TOF-MS

A méréseket Autoflex Speed MALDI-TOF-MS készülékkel végeztem el (Bruker Daltonik, Bréma, Németország). Lineáris és reflektrom módszerrel is alkalmaztam. Reflektrom mérések esetén az ionforrás első feszültsége 19 kV, a második feszültsége 16.65 kV, a reflektor első feszültsége 21 kV míg a második 9.55 kV volt. Lineáris módban az ionforráson az első feszültség 19.5 kV, míg a második 18.3 kV volt. A tömegspektrométer szilárd fázisú lézerrel volt felszerelve (355 nm). A mérésekhez belső kalibrációt alkalmaztam, ami PEG illetve PPG homopolimer volt. Mátrixként a kutatás első szakaszában 2,5-dihidroxibenzoészavát (DHB), a későbbiekben transz-2-[3-(4-tert-butilfenil)-2-metil-2-propenilidén]malononitrilt (DCTB) alkalmaztam, az ionizáló ágens mindig nátrium-trifluoracetát (NaTFA) volt, metanolban oldva. A koncentrációk a mátrix, a minta és az ionizáló ágens esetén rendre a következők voltak, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml. A keverési arányok 25:2:1. 0.5 µL keveréket vittem fel a MALDI lemezre és levegőn szárítottam be. A MALDI-TOF MS mérések kivitelezésében Dr. Mahir Hashimow és Benedek Máté is közreműködött.

3.4. Gélpermeációs kromatográfia

A gélpermeációs kromatográfiás mérésekhez Waters Alliance e2695 típusú készüléket használtam. A detektáláshoz Waters 2414 törésmutató index detektort alkalmaztam (Waters Corp., Milford, MA, USA). A méréseket három különböző oldószer vagy oldószer elegyben végeztem, mindegyik esetén más módszert alkalmaztam. Az első esetben DMF volt az eluens, a kolonnák Shodex KF-603 és Shodex KF-602.5 (150x6 mm, Showa Denko GmbH, München, Németország), a térfogatáram 0.3 mL/perc, hőmérséklet 42 °C, futási idő 28

perc volt. A második esetben az eluens THF:DMSO:piperidin (94:5:1 V/V%) keveréke volt, a kolonnák Styragel HR 0.5, 1, 2 és 4 (300x4.6 mm, Waters Milford, MA, USA) a térfogatáram 0.5 mL/perc, hőmérséklet 40 °C, futási idő 35 perc volt. A harmadik esetben az eluens ACN:H₂O (60:40 V/V%) keveréke volt, a kolonnák PolySep-GFC-P 3000 voltak (300x7.8 mm, Agilent, Kalifornia, USA), a térfogatáram 0.48 mL/perc, hőmérséklet 40 °C, futási idő 48 perc volt.

Minden méréshez PEG standardet alkalmaztam. A molekulatömegeket MALDI-TOF-MS-el határoztam meg. A mintákat az eluensekben oldottam és szűrtem 0.45 µm méretű szűrővel, a mintakonzentráció 10 mg/mL volt.

3.5. ¹H-NMR spektroszkópia

Az ¹H-NMR méréseket Bruker Avance II 500 MHz spektrométerrel (Bruker Daltonik, Bréma, Németország) végeztem. A kvantitatív 1D ¹H-NMR mérési körülményei a következők, 300 K, 90°-os ¹H excitációs impulzus, 15 s relaxációs idő, spektrum szélesség 14.97 ppm, adatpontok száma 32768, scan-ek száma 1. Az értékeléshez Bruker TopSpin 2.1 és 4.1 szoftvert alkalmaztam. A mintákból 30 mg volt feloldva 600 µL CDCl₃-ban, amihez tízszeres moláris feleslegben trifluorecetsavanhidridet adtam. A mintákat szobahőmérsékleten termosztáltam 20 órán keresztül a mérések előtt. A méréseket Dr Timári István végezte el.

3.6. Dinamikus fényszórásmérés (DLS)

A hidrodinamikus átmérőt és az aggregátumok eloszlását dinamikus fényszórás méréssel állapítottam meg. A mintákat 0.45 µm pórusméretű fecskendő szűrőn szűrtem, a por és egyéb szennyeződések eltávolítása miatt, 5°C-on tároltam 24

órán keresztül, majd mérés előtt 37°C-on termosztáltam 24 órát. A mérőműszer Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Malvern, Egyesült Királyság) volt, mely He-Ne lézerrel (633 nm) volt felszerelve. A méréseket 37 °C-on végeztem, a detektor szöge 173° volt. A Z átlag részecskeméretet és a polidiszperzitás indexet kumuláns analízissel, míg a részecskeméreték intenzitás szerinti eloszlását többszörös exponenciális illesztéssel határoztuk meg.

3.7. Neurális háló (NH)

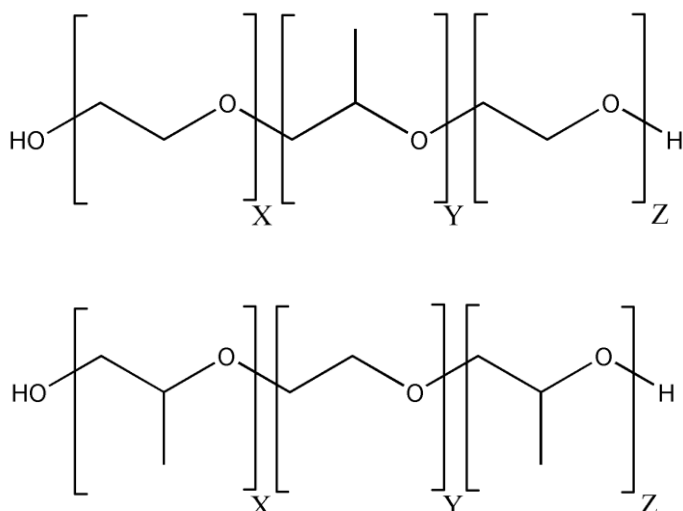
A neurális hálózatokat felügyelt tanítással készítettem el MATLAB 2020b (The MathWorks, Inc., Natick, MA, USA) szoftver segítségével. A hálózatok paramétereinek és tanításának részletes ismertetése a 4.3.2. fejezetben található.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. Kopolimerek tömegspektrumának részletes elemzése

4.1.1. Kopolimerek tömegspektrumai

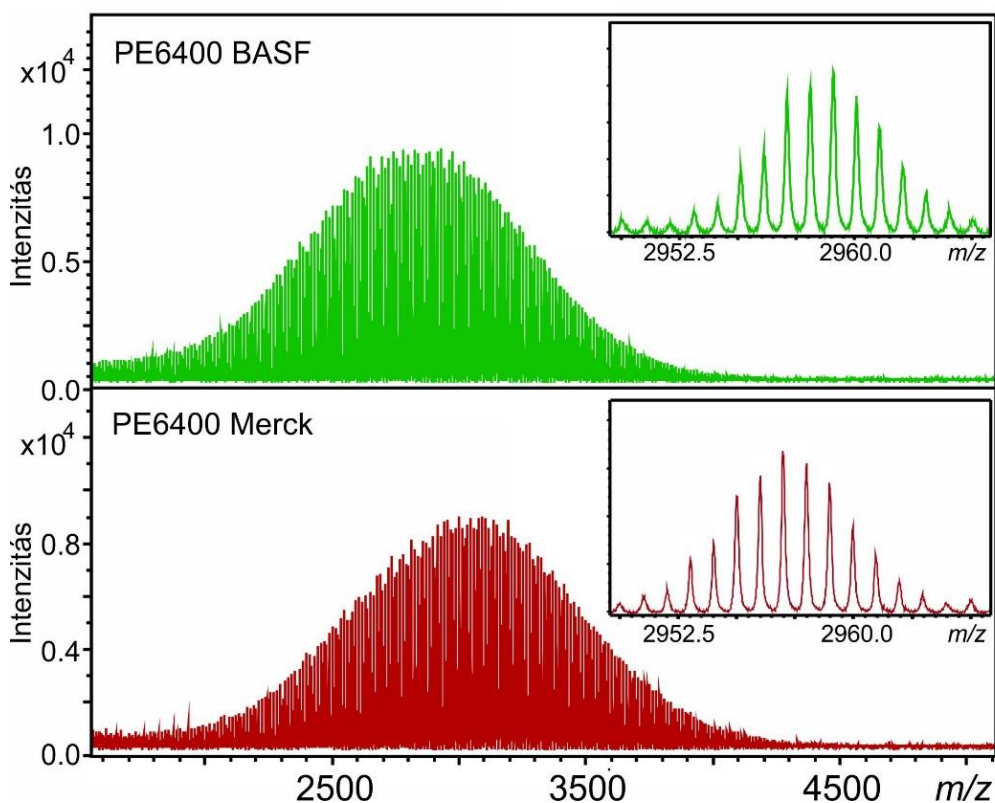
Kutatásom során elsőként a poloxamerek tömegspektrumának elemzése és a spektrumban lévő információk a kinyerése volt a cél, melynek része a két monomerből álló kopolimer tömegspektrumot analizáló, általánosan használható, könnyen kezelhető szoftver fejlesztése. A poloxamerek általános szerkezeti képlete az 6. ábrán látható.



6. ábra: Poloxamerek általános szerkezeti képlete normál (PEO-PPO-PEO) és reverz (PPO-PEO-PPO) blokk kopolimerek

A kitűzött cél elérésének érdekében a tömegspektrumon minden egyes csúcs és ez által a kopolimert alkotó összes komponens azonosítására szükség van, így a polimer jellemző paraméterei számíthatóvá válnak. A 7. ábrán két analóg

poloxamer (**PE6400 BASF (1. minta)** és **PE6400 Merck (2. minta)**) tömegspektruma látható. A későbbiekben ezen két polimer példáján keresztül fogom bemutatni az algoritmust és az abból következő eredményeket. További minták tömeg és ^1H -NMR spektrumai a függelékben találhatók.



7. ábra: MALDI-TOF tömegspektruma a normál (PEO-PPO-PEO) szekvenciájú 40 m/m% EO tartalmú PE6400 BASF (1. minta) és PE6400 Merck (2. minta) polimereknek

Mint ahogyan az a 7. ábrán is látható, a tömegspektrum igen összetett és elemzése nem triviális. Általánosan kopolimerek esetén a fő problémák a következő öt csoportba sorolhatók:

1. A tömegspektrumban nagyon sok csúcs található (a 7. ábrán a PE6400 BASF spektrumán 1543 db), manuális kezelése nagyon sok időt venne igénybe.
2. Izobár komponensek lehetnek és vannak jelen, azaz azonos m/z értékhez több különböző elemi összetételű komponens tartozik.
3. Az izotóp csúcsok is megjelennek számottevő intenzitással, ami miatt tévesen azonosíthatók olyan komponensek, amik gyakorlatilag nincsenek a kopolimerben .
4. Átfedések alakulnak ki a komponensek között, mivel a komponens izotóp csúcsa izobárja lehet másik komponens monoizotópos vagy izotóp csúcsának.
5. Nagy m/z értékeknél a csökkenő felbontás azt eredményezi, hogy nem különíthetők el megfelelően a csúcsok, ezáltal hibás azonosítás következhet be az összecsúszó m/z értékek miatt.

4.1.2. Kopolimer tömegspektrum-elemző algoritmus

A fentebb felsorolt nehézségek megoldására a következőkben egy általam fejlesztett megoldási módszert ismertetek, melynek implementálása Excel-VBA-ban történt. A program öt fő lépésre bontható, mely a következő módon épül fel:

1. A kalibrált tömegspektrum importálása és normalizálása.
2. A lehetséges komponensek kiszámítása.

3. A lehetséges komponensek izotópjainak és azok eloszlásának kalkulációja.
4. A komponensekhez kiszámolt izotópok meglétének ellenőrzése a tömegspektrumban, ezáltal a komponens, mint valós elem lehetőségnek vizsgálata.
5. Az összes komponens intenzitástörtjének meghatározása illesztéssel.

A következőkben a lépések matematikáját mutatom be a megértést segítettően, melynek minden lépése már a programon belül történik.

Az **első lépés** az importálás és normalizálás, ami egy egyszerű Excel táblázatba való adatbeillesztést jelent, majd az intenzitásokból a maximum kiválasztását és az összes intenzitás osztását a maximum értékkel (normalizálás). A beolvasás rugalmas terjedelmű, így nem szükséges definiálni a bemeneti adatszámot.

A **második lépés** a lehetséges komponensek meghatározása. Ehhez definiálnunk kell a kopolimert alkotó monomereket. A szimulációhoz továbbá szükséges a végcsoport és az ionizáló ágens ismerete. Ezek jellemzően rendelkezésünkre állnak. Ennek függvényében az alábbi képlet segítségével kalkulálható ki az m/z érték egyszeres töltés esetén (MALDI ionforrásban jellemzően csak ilyenek képződnek):

$$\frac{m}{z} = M_{ion} + M_{végcsoport} + x * M_A + y * M_B \quad (19)$$

ahol x és y a monomerek darabszámát jelentik az adott komponensben, míg M a molekulatömeget jelent az indexeknek megfelelően.

A rendszert vizsgálva a következő matematikai probléma áll fent. A 19. egyenletnek több lehetséges megoldása is van, úgynevezett diofantikus egyenlet. Formálisan ez azt jelenti, hogy ha ki kell fizetnem 2951 „forintot” és csak 44 illetve 58 „forintos” áll rendelkezésemre, mely kombinációkkal tehetem meg ezt (a 44 és 58 „forintos” a monomerek egészre kerekített tömegének felelnek meg). Az említett egyenletre két ismeretlen esetén létezik több algoritmikus megoldási módszer [109]. Ezek közül a kibővített Euklideszi algoritmust alkalmaztam [110], ami a Rivest-Shamir-Adleman (RSA) titkosítási protokoll részét is képezi [111]. Mivel ebben az esetben x és y értékei csak pozitív egész számok lehetnek, így véges számú megoldása van a 19. egyenletnek, minden egyes m/z értékre. Természetesen a módszer egész számokra igaz, ezért kerekítést kell alkalmazni a spektrum adatain. Ellenőrzésként az algoritmus, ezen részét, a nyers erő módszerével validáltam. Az algoritmust egy rövid példán mutatom be.

Első lépésben a kibővített Euklideszi algoritmussal meg kell keresni a kitüntetett közös osztót a monomerek egészre kerekített tömegében. Az 2. táblázatban a módszer lépésről-lépésre történő számítása látható.

2. táblázat: A kibővített Euklideszi algoritmus megoldása PO és EO monomerek esetén

lépés (i)	$r_{(i-2)}$	$r_{(i-1)}$	r_i	k_i	u_i	v_i
1	58	44	14	1	1	-1
2	44	14	2	3	-3	4
3	14	2	0	-	-	-

A számítás menete az alábbi:

$$r_i = r_{(i-2)} \bmod r_{(i-1)} \quad (20)$$

$$k_i = r_{(i-2)} \setminus r_{(i-1)} \quad (21)$$

ahol $\setminus$ az egészosztást jelenti lefelé kerekítve.

$$u_1 = 1 \quad (22)$$

$$u_2 = -k_2 \quad (23)$$

$$v_1 = -k_1 \quad (24)$$

$$v_2 = 1 + k_1 * k_2 \quad (25)$$

u_i és v_i tovább is számolható, de ezen monomer rendszer esetén erre nincs szükség. A teljesség igénye miatt azonban a számítás a következő:

$$u_i = u_{(i-2)} - k_i u_{(i-1)} \quad (26)$$

$$v_i = v_{(i-2)} - k_i v_{(i-1)} \quad (27)$$

Az eljárásból a kitüntetett közös osztó $f=2$, mely előállítható a következő lineáris kombinációval:

$$(-3) * 58 + (4) * 44 = 2 = f \quad (28)$$

továbbá igaz az alábbi egyenlet:

$$((-3) * 58 + 4 * 44) * \frac{M_i}{f} = M_i \quad (29)$$

ahol

$$M_i = x * M_A + y * M_B \quad (30)$$

Ebből a zárójelet felbontva nyerhető egy megoldás, amit egy példaszámításon mutatok be. Legyen $M_i=2824$ ($\text{EO}_{47}\text{PO}_{13}$ monoizotópos csúcsa egészre kerekítve). Ekkor:

$$\underbrace{\left((-3) * \frac{2824}{2}\right)}_x * 58 + \underbrace{\left((4) * \frac{2824}{2}\right)}_y * 44 = 2824 \quad (31)$$

Ebben az esetben x és y egy megoldása az egyenletnek, habár x értéke negatív, de a kibővített Euklideszi módszer esetén, egy megoldásból kiszámolható a többi, így az alábbi egyenletek adódnak:

$$PO = x = \left((-3) * \frac{2824}{2}\right) + 44 * k \quad (32)$$

$$EO = y = \left((4) * \frac{2824}{2}\right) + 58 * k \quad (33)$$

ahol k egy tetszőleges öttizedre kerekített szám. Ahhoz hogy x és y is pozitív egész szám legyen, az alábbi egyenlőtlenségeknek kell teljesülnie:

$$0 \leq \left((-3) * \frac{2824}{2}\right) + 44 * k \quad (34)$$

$$0 \leq \left((4) * \frac{2824}{2}\right) + 58 * k \quad (35)$$

Ebből algoritmikusan az x és y értéke a k egész szám értékének 0.5-el való változtatásával megkapható, k kezdeti értéke bármelyik egyenlőtlenséget egyenlőségé alakítva kiszámolható. Például:

$$0 = \left((-3) * \frac{2824}{2}\right) + 44 * k \quad (36)$$

$k=96.27$ majd öttizedre kerekítve $k=96$

ha, $k=96$ akkor $x=-9$ és $y=76$ (negatív darabszámú PO monomer)

ha, $k=96.5$ akkor $x=13$ és $y=47$

ha, $k=97$ akkor $x=35$ és $y=18$

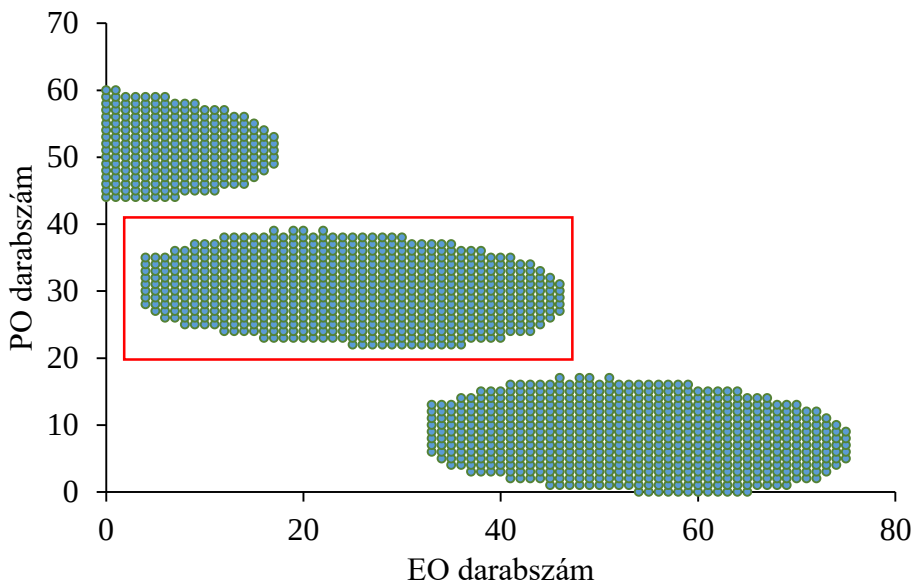
ha, $k=97.5$ akkor $x=57$ és $y=-11$ (negatív darabszámú EO monomer)

A k érték 0.5-el való változtatása a kitüntetett közös osztó miatt szükséges (egész lépés/ f). Amennyiben $f=1$, úgy k változtatása egészenként történik (például más monomerek esetén).

Az előző algoritmus és a legkisebb közös többszörös számítása alapján kijelenthető, hogy EO-PO kopolimer rendszer esetén a -22PO és +29EO monomer csere ($35-13=22$, $18-47=-29$) és fordított csere (+22PO és -29EO) esetén, szinte ugyanaz az m/z érték lesz jelen a spektrumban, ahol az eltérés 0.161. Továbbá, ez a számolás is mutatja, hogy bizonyos m/z értékek esetén több megoldás lehetséges, ami az izobár komponensek megjelenésének a következménye.

Az így megjelenő, nem valós komponensek kiküszöbölésére bevezettem egy előszűrési algoritmust, ahol a már eddig ismerttetett első és második lépés fut le ugyanúgy, majd történik egy manuális ellenőrzés a lehetséges komponenseken. Az ellenőrzés során a komponensek PO darabszámát ábrázoltam az EO darabszám függvényében, ami vizuálisan egy vagy több „felhő”-ként jelenik meg, amelyet a 8. ábra szemléltet. Ebből a lehetséges komponensek csoportjának meghatározása a tört felhők elvetése, valamint a gyártói adatok, illetve további NMR mérési eredmények függvényében lehetséges.

Amennyiben a tömegpontosság és a felbontás megfelelően nagy, úgy az utóbbi szűrési módszerre nincs szükség.



8. ábra PE6400 Merck (2. minta) előszűrési „felhő” diagramja, a pirossal bekeretezett rész a lehetséges EO-PO rendszer intervalluma

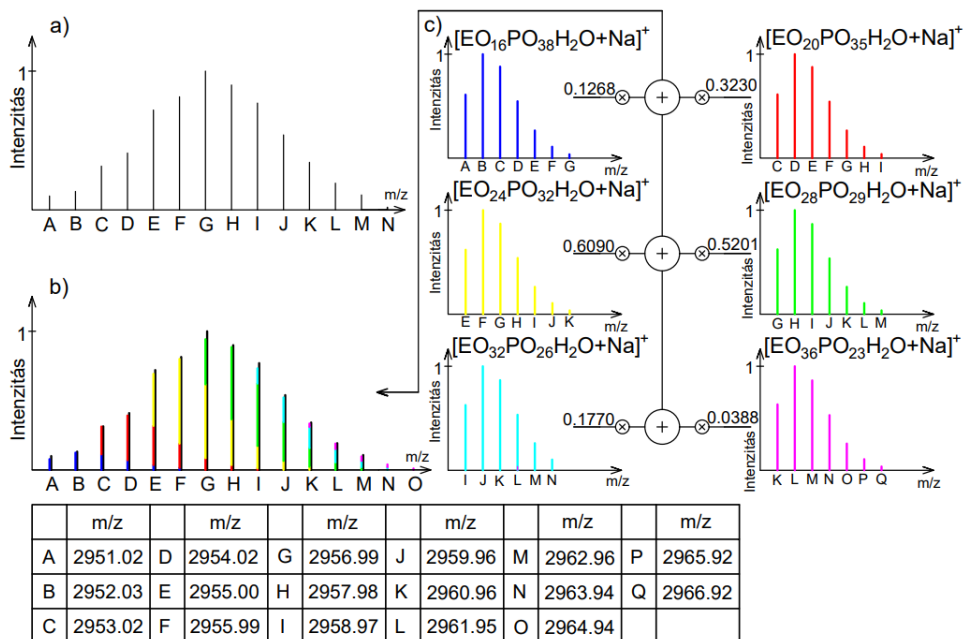
Fontosnak tartom megjegyezni, hogy a szűrési módszer a legtöbb esetben egy eredményt ad vissza, de nagyobb m/z tartomány esetén, mint ahogy a 8. ábrán is látszik, matematikailag több megoldás is lehetséges, ezáltal több megoldása van a spektrumnak.

A **harmadik lépés** a már potenciálisan lehetséges komponensek izotópjainak kiszámítása, melyet az algoritmus külön-külön elvégéz minden elemre, a komponensben található darabszám alapján, polinomiális eloszlást használva, majd ezeket a valószínűségeket konvolálja. A számított eredményeket Bruker Isotope Pattern szoftverrel ellenőriztem.

A **negyedik lépés** egy ellenőrzési lépés, amire azért van szükség, mivel megjelennek az egymással átfedő komponensek. Formálisan ez azt jelenti, hogy az egyik komponens izotóp csúcsa átfed egy másik komponens monoizotópos csúcsával, vagy izotóp csúcsaik fednek át, illetve jelen lennének az izobár komponensek, melyeket már a korábbiakban kiszűrt az algoritmus. A megtalálási kritérium, hogy az adott komponensnek legalább 4 izotóp csúcsa is megtalálható legyen (beleértve a monoizotóposat is) a tömegspektrumban. Ez biztosítja, hogy ne jelenjen meg olyan komponens, ami matematikailag az izotóp csúcsokból számolva a második lépés alapján jelen lehet, de a valóságban nem tartalmazza a polimer. Ahogyan a 9. ábrán is látszik, a kiemelt spektrum részlet esetén a legutolsó komponens az $\text{EO}_{36}\text{PO}_{23}\text{H}_2\text{ONa}^+$ négy izotópja megjelenik, így ezt komponensként azonosítja az algoritmus, de az $\text{EO}_{40}\text{PO}_{20}\text{H}_2\text{ONa}^+$ komponens már nem jelenik meg, mivel csak két izotópja van jelen, habár a monoizotópos csúcsa miatt lehetséges komponensként azonosíthatjuk.

Az **ötödik lépés** az illesztési számítás. A program ekkor a tömegspektrumból rendre kikeres bizonyos csúcscsomagokat, ahol a csoportosítás kritériuma, hogy a spektrum következő m/z értéke ne legyen az előzőnél 1.2 m/z értékkel több. Továbbá a csúcscsomag elemeihez a lehetséges komponenseket hozzárendeli az eljárás, az izotóp eloszlásnak megfelelő intenzitásokkal, és egy arányossági faktorral együtt. A csoportosítás az illesztés gyorsítása miatt, illetve a csomagon belüli átfedések kezelése miatt szükséges. Amennyiben ez nem megvalósítható, például nagyobb m/z tartomány esetén, úgy egyszerre kellene illeszteni az összes csúcsra az összes komponens az átfedések miatt, ami hatalmas számítási kapacitást igényelne. Ezt követően a program az Excel beépített illesztési eljárásával (Solver, nem lineáris ARG), illetve az eltérés követésére a legkisebb

négyzetösszeg módszerével illeszti a komponensek intenzitás törtjeit. Ezt az alábbi, 9. ábra szemlélteti.



9. ábra: Egy csúcs csomagot felépítő komponensek azonosítása és az intenzitások illesztése

Az illesztés formailag azt jelenti, hogy minden komponens rendelkezik egy, a már előbb említett arányossági faktorral, ami a részarányát reprezentálja a csúcscsomagban. Ennek a faktornak, illetve átfedések miatt faktoroknak, az illesztésével számolható ki a komponensek hányada a polimerben. A matematikája a következő, tetszőleges m/z értékre:

$$\begin{aligned} \text{intenzitás}_{\frac{m}{z_i}} &= \\ &= \text{faktor}_A * \text{izotóp intenzitás}_{A_g} + \text{faktor}_B * \\ &\text{izotóp intenzitás}_{B_h} + \dots \end{aligned} \quad (37)$$

Egy példán keresztül bemutatva:

$$\begin{aligned} \overbrace{\text{H csúcs intenzitás}}^{0.8847} &= \overbrace{\frac{0.3230 * 0.1093}{\text{faktorEO}_{20}\text{PO}_{35} * \text{intenzitás}_\text{H} \text{EO}_{20}\text{PO}_{35}}} + \\ &+ \overbrace{\frac{0.6090 * 0.5406}{\text{faktorEO}_{24}\text{PO}_{32} * \text{intenzitás}_\text{H} \text{EO}_{24}\text{PO}_{32}}} + \overbrace{\frac{0.5201 * 1.000}{\text{faktorEO}_{28}\text{PO}_{29} * \text{intenzitás}_\text{H} \text{EO}_{28}\text{PO}_{29}}} \end{aligned} \quad (38)$$

Az illesztési matematika kivitelezését az univerzalitás és az egyszerűség miatt Solverrel oldottam meg, emellett gradienscsökkenés-algoritmussal is megvalósítottam. Az utóbbi esetben több manuális beavatkozást igényelt az illesztés, így ezt nem fejlesztettem tovább. Ha szükséges, a későbbiekben ez a megoldás is alkalmazható.

4.1.3. Az algoritmus eredménye

Az algoritmus eredménye, hogy a tömegspektrumban az összes, adott m/z értékhez rendelhető komponens és ezen komponens részaránya megjelenik eredményként. Tehát például a H csúcs esetén megadható, hogy milyen komponensek, milyen hányadban építik fel.

A polimer jellemzők kiszámolására, a nagy adathalmaz miatt, szintén egy algoritmust készítettem, mely az előzőekben taglalt értékekből kiszámolja a számátlag (M_n) és tömegátlag molekulatömeget (M_w), a polidiszperzitás indexet valamint a monomerek darabszám számátlagát ($n_n^{A,B}$) és darabszámmal súlyozott számátlagát ($n_w^{A,B}$), illetve ezekből a monomerekre jellemző darabszám polidiszperzitás indexet ($PDI^{A,B}$). A számolások a következők:

$$n_n^A = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} \text{intenzitásfaktor}_i^A * n_i^A}{\sum_{i=1}^{\infty} \text{intenzitásfaktor}_i^A} \quad (39)$$

$$n_n^B = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} \text{intenzitásfaktor}_i^B * n_i^B}{\sum_{i=1}^{\infty} \text{intenzitásfaktor}_i^B} \quad (40)$$

$$n_w^A = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} \text{intenzitásfaktor}_i^A * n_i^{A^2}}{\sum_{i=1}^{\infty} \text{intenzitásfaktor}_i^A * n_i^A} \quad (41)$$

$$n_w^A = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} \text{intenzitásfaktor}_i^B * n_i^{B^2}}{\sum_{i=1}^{\infty} \text{intenzitásfaktor}_i^B * n_i^B} \quad (42)$$

$$PDI^A = \frac{n_w^A}{n_n^A} \quad (43)$$

$$PDI^B = \frac{n_w^B}{n_n^B} \quad (44)$$

A jellemzők számszerű bemutatását, a már fentebb említett különböző gyártóktól beszerzett, gyártási paraméterek alapján analóg, PE6400 kopolimerek esetén mutatom be a 3. táblázatban.

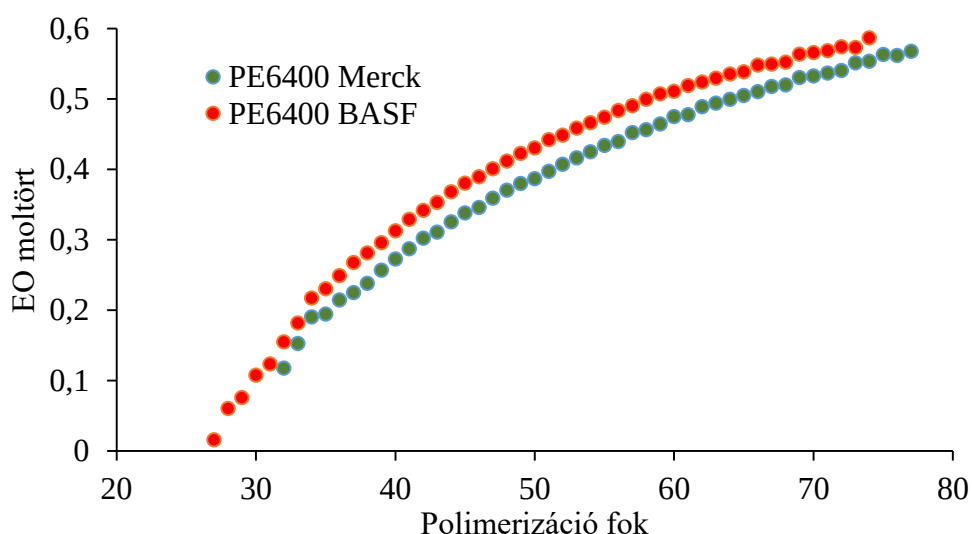
3. táblázat: PE6400 analógok paraméterei a tömegspektrum kiértékelése után

paraméterek	PE6400 BASF (1. minta)	PE6400 Merck (2. minta)
M _n	2710	2920
M _w	2780	2980
PDI	1.03	1.02
w ^{EO}	0.38	0.38
n _n ^{EO}	23.3	24.9
n _w ^{EO}	27.0	27.7

3. táblázat: PE6400 analógok paraméterei a tömegspektrum kiértékelése után (folytatás)

paraméterek	PE6400 BASF (1. minta)	PE6400 Merck (2. minta)
PDI^{EO}	1.16	1.12
n_n^{PO}	28.6	31.2
n_w^{PO}	29.0	31.5
PDI^{PO}	1.02	1.01

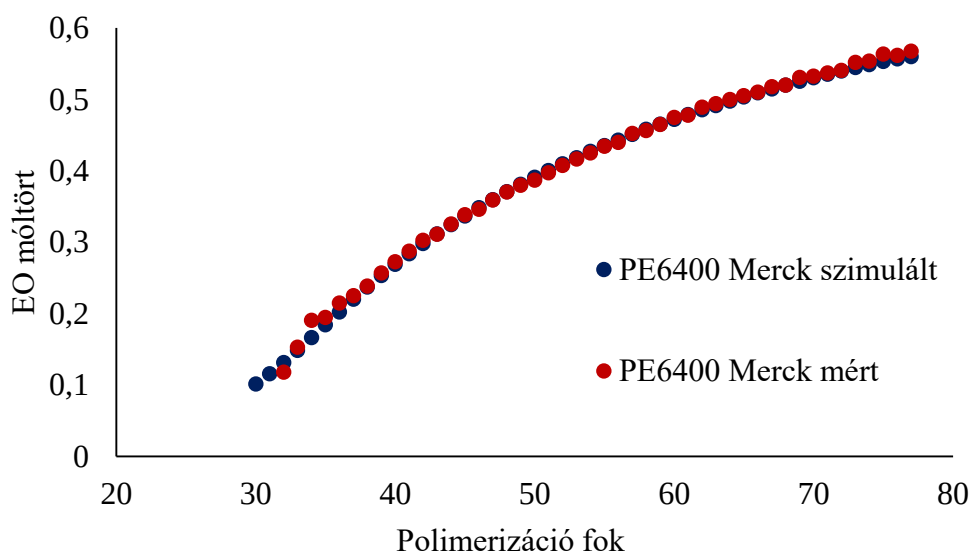
Az adatokból jól látható, hogy a gyártói adatlap alapján azonos kopolimerek különböznek, mind M_n és M_w valamint n_n^{EO} , n_w^{EO} , n_n^{PO} , n_w^{PO} átlagban eltérnek. Az eltérés vizuális megjelenítésére az úgynevezett [112] összetétel sodródás diagramot használtam, ahol az átlagos móltörtet ábrázoltam a polimerizáció fok függvényében, mely az 10. ábrán látható.



10. ábra: PE6400 Merck (2. minta) és PE6400 BASF (1. minta) összetétel sodródás diagramja

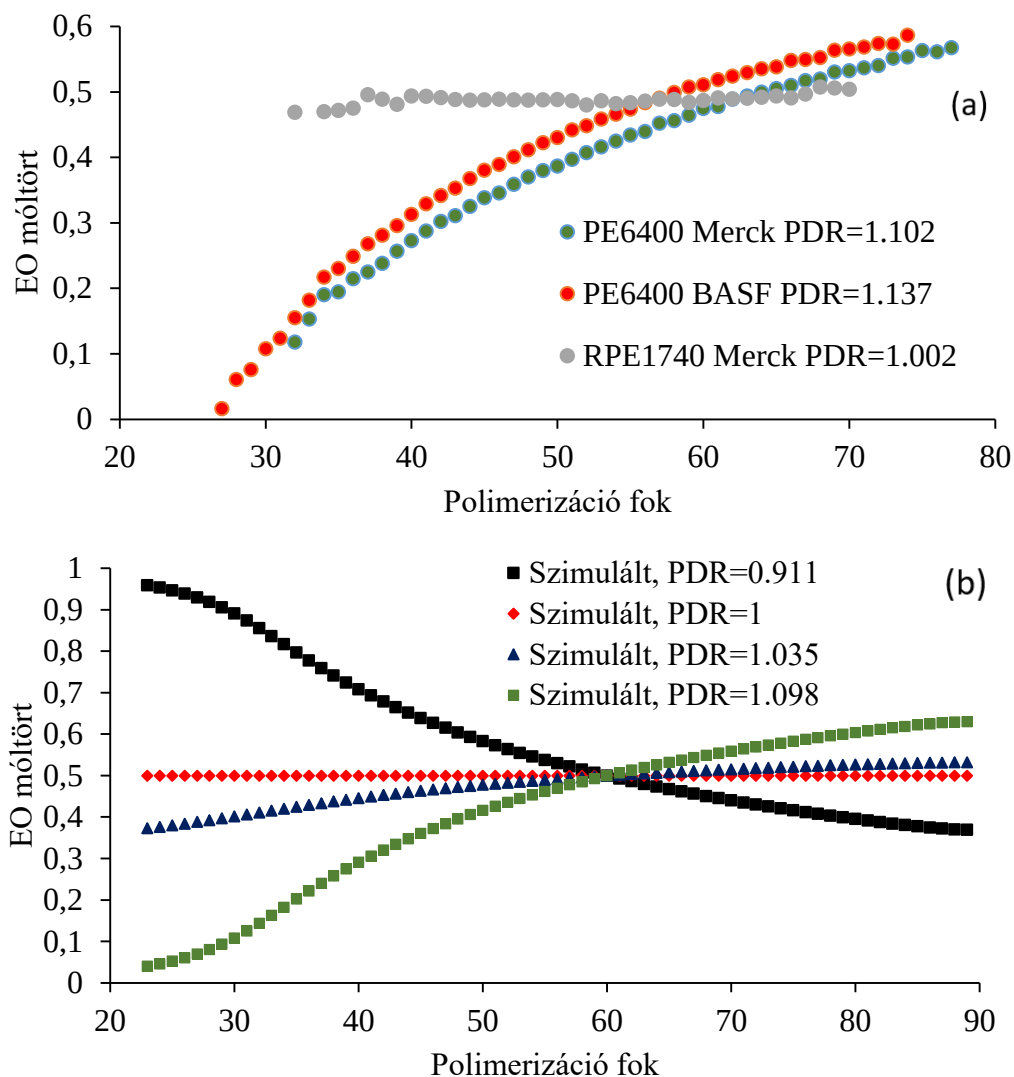
A 10. ábrán a vízszintes eltolódás az EO móltörtjétől függ, a szélessége a polimerizáció fok eloszlásának szélességéről ad információt, az EO móltörtjének szélessége pedig az eloszlásról hordoz adatot. Továbbá a polimerizáció fok növekedésével nő az EO móltörtje, valamint a görbe alakja a kopolimerre jellemző. Az alak értelmezésére több polimer összetétel sodródás diagramját, valamint szimulált spektrumokat is összevetettem.

A szimulációhoz előállítottam a PE6400 kopolimerek tömegspektrumát, ahol a monomerek eloszlását Gauss eloszlással közelítettem, amely poloxamer rendszerekre megfelelőnek mutatkozott. A szimuláció során a teljes spektrumot is elő tudtam állítani, de az összetétel sodródás diagramokhoz erre nem volt szükség. A számítás helyességét a mért és a szimulált adatok azonossága is alátámasztja, melyet a 11. ábrán mutatok be.



11. ábra: PE6400 Merck (2. minta) szimulált és mért összetétel sodródás diagramja

A kutatást folytatva további szimulációk és mérések összetétel sodródás diagramjait állítottam elő, és ezeket össze is vetettem egymással, ezek a 12. ábrán láthatók.



12. ábra: PE6400 BASF (1. minta), PE6400 Merck (2. minta) és RPE1740 Merck (3. minta (17R4)) kopolimerek összetétel sodródás diagramja (a) valamint szimulált driftek (b)

Amint a 12. ábrán is látszik, a driftek alakja egy paramétértől függ, ami a polidiszperzitás arány (PolyDispersity Ratio – PDR). Számolása általánosan a következő képlettel lehetséges:

$$PDR = \frac{PDI^A}{PDI^B} = \frac{n_w^A/n_n^A}{n_w^B/n_n^B} \quad (45)$$

Poloxamerek esetén a PDR a következő:

$$PDR = \frac{PDI^{EO}}{PDI^{PO}} \quad (46)$$

Mint ahogyan a 12. ábra is mutatja, a PDR értékének változása a drift meredekségéről és alakjáról ad információt. Amennyiben a PDR értéke 1, úgy egy vízszintes egyenest kapunk, ha a $PDR > 1$, akkor az A monomer polidiszperzitás indexe nagyobb, mint B polidiszperzitás indexe, ekkor a meredekség pozitív, illetve ha $PDR < 1$, akkor az ellenkező eset áll fent. Általánosan kijelenthető, hogy a $(PDR - 1)$ meghatározza a drift meredekségének irányát. A PEO-PPO-PEO összetételű triblokk kopolimerek esetén a PDR értéke mindig 1 feletti értéknek adódott, tehát az EO polidiszperzitás indexe nagyobb, mint a PO polidiszperzitás indexe. Ebből az következik, hogy az EO eloszlása szélesebb. Ennek okán azt kívántam ellenőrizni, hogy a széles eloszlás fakadhat-e abból, hogy a polimerizáció során a PPO láncnak csak az egyik oldalán épült ki PEO blokk, azaz lehetséges-e a diblokk szennyező jelenléte, ami a fizikai tulajdonságok megváltozását is okozhatja. Ezért, illetve az analízis validálásához további $^1\text{H-NMR}$ méréseket végeztünk.

Az $^1\text{H-NMR}$ mérések eredményei alapján, mint ahogy az a 4. táblázatból is látszik, a számátlag molekulatömeg jó egyezést mutat. Illetve a primer

hidroxilcsoportok százaléka nem 100%, ami azt jelenti, hogy szekunder hidroxilvégcsoport van jelen a polimerben. Ez csak abban az esetben lehetséges, ha a PPO bloknak csak az egyik oldalán van, vagy egyiken sincs PEO lánc, tehát az 6. ábrán az első szerkezeti képletben az X, Z vagy mindkettő értéke nulla.

4. táblázat: MS és ^1H -NMR adatok a PE6400 BASF (1. minta) és PE6400 Merck (2. minta) kopolimerek esetén

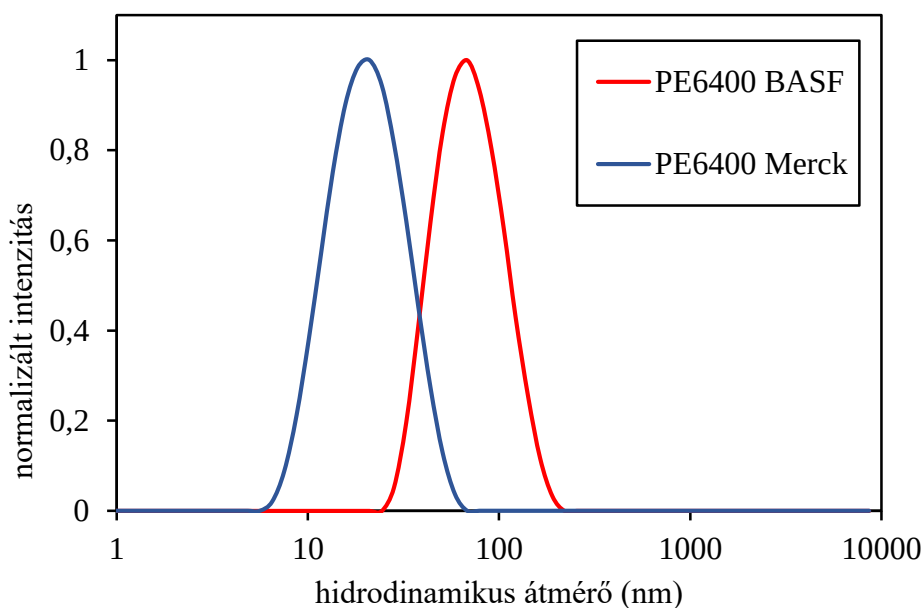
	paraméterek	PE6400 BASF (1. minta)	PE6400 Merck (2. minta)
MS	M_n	2710	2920
	w^{EO}	0.38	0.38
^1H NMR	M_n	2680	2830
	w^{EO}	0.41	0.39
	primer OH végcsoport %	85.4	84.9

Mindezek alapján kijelenthető, hogy az összetétel sodródás diagram, mint vizuális megjelenítési módszer, sok információt hordoz, könnyen megkülönböztethetők vele polimerek. Továbbá kimutatható „diblokk szennyezők” jelenléte, illetve a monomerek eloszlásáról kapunk információt. Ha mindezt számokká egyszerűsítem, akkor az általam bevezetett PDR, mint plusz kopolimer jellemző, bevezetése szükséges a rendszer jellemzéséhez.

4.1.4. Az elemzésből kapott eredmények értelmezése

Mivel az előző pontban a PE6400 kopolimer analógjaiban különbséget fedeztem fel, ezért a polimerre jellemző egyik fő alkalmazási területen vizsgáltam meg, hogy van-e számottevő különbség a kettő között.

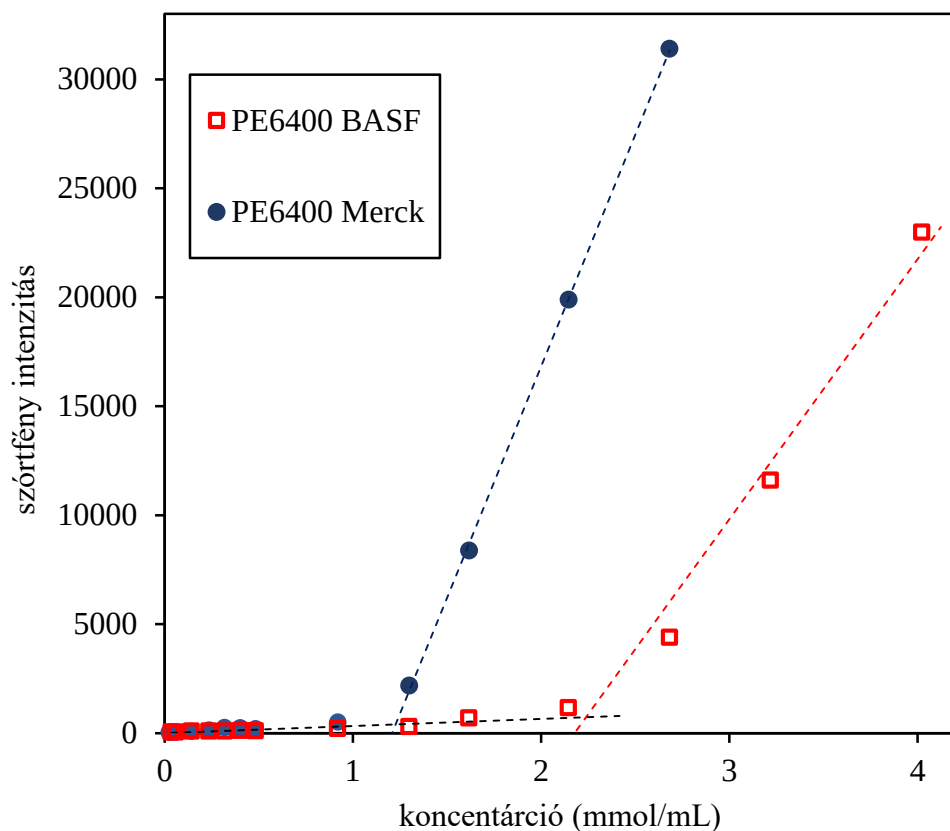
A poloxamerek egyik legfontosabb felhasználási lehetősége a gyógyszerhatóanyag-hordozás, ami okán, a kopolimer aggregációs tulajdonságát vizsgáltam meg [113]. Ehhez dinamikus fényszórás mérést alkalmaztam (DLS), mellyel megvizsgáltam a két polimer (**PE6400 BASF (1. minta)** és **PE6400 Merck (2. minta)**) 1 m/m%-os vizes oldatában a képződő micellák méretét, melyet a 13. ábra szemléltet.



13. ábra: A PE6400 BASF (1. minta) és PE6400 Merck (2. minta) kopolimerek intenzitás súlyozott méreteloszlása 1 m/m%-os vizes oldatban

Az ábrán jól látszik a méretbeli különbség, köztük szignifikáns eltérés tapasztalható ($p < 10^{-5}$). A méréseket a két polimeren nyolcszor-nyolcszor végeztem el, így a z-átlag hidrodinamikai átmérő a **PE6400 BASF (1. minta)** esetén 65.3 nm, ahol a relatív standard deviáció 3.7%, míg a **PE6400 Merck (2. minta)** esetén a z-átlag hidrodinamikai átmérő 18.2 nm és a relatív standard deviáció 6.2%. A DLS polidiszperzitás index (PDI_{DLS}) a **PE6400 BASF (1. minta)** esetén 0.114 és a **PE6400 Merck (2. minta)** esetén 0.206, köztük szintén szignifikáns eltérés tapasztalható ($p = 4 \cdot 10^{-5}$).

Továbbá a kritikus micellaképződési koncentrációt is meghatároztam a DLS segítségével, ahol az időátlagolt szórásintenzitás változását elemeztem különböző koncentrációjú oldatok esetén. Ez az intenzitásmérés a koncentrációtól nem, vagy csak kis mértékben függ [114]. Jelen esetben a vizsgált koncentrációtartományban, a koncentrációváltozás hatása az intenzitásnövekedésre elhanyagolható. Így az intenzitás hirtelen növekedéséhez a micellák megjelenése vezet. Ezt ábrázolja a 14. ábra, melyről a kritikus micellaképződési koncentráció leolvasható.



14. ábra: Időátlagolt szórás intenzitás a koncentráció függvényében a PE6400 BASF (1. minta) és PE6400 Merck (2. minta) esetén

A 14. ábrán jól láthatóak a két polimerhez tartozó kritikus micellaképződéshez tartozó koncentrációk. A **PE6400 Merck (2. minta)** esetén ez 1.2 mmol/mL míg a **PE6400 BASF (1. minta)** esetén 2.2 mmol/mL.

Ezen felül több kopolimer tömegspektrumát is kielemeztem, valamint az analógokat egymáshoz hasonlítottam. Az analízis eredményei az 5. táblázatban találhatóak:

5. táblázat: A lemért és analizált polimerek adatai

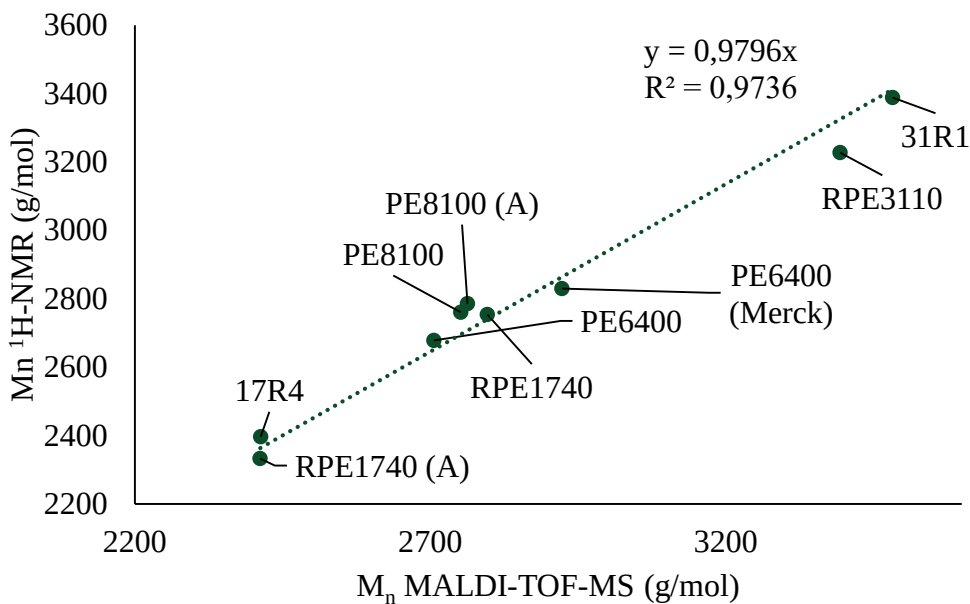
	minta sorszáma	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
MS	M_n	2800	2410	2410	3390	3480	2760	2750
	M_w	2820	2440	2440	3430	3520	2810	2790
	PDI	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.02	1.01
	w^{EO}	0.42	0.44	0.44	0.16	0.18	0.10	0.11
	n_n^{EO}	26.4	23.6	23.8	12.1	13.8	6.4	7.0
	n_w^{EO}	27.0	24.1	24.2	12.8	14.3	9.2	9.7
	PDI^{EO}	1.02	1.02	1.02	1.06	1.04	1.43	1.37
	n_n^{PO}	27.8	23.3	23.2	49.0	49.2	42.4	41.7
	n_w^{PO}	28.4	23.8	23.6	49.5	49.7	43.0	42.2
	PDI^{PO}	1.02	1.02	1.02	1.01	1.01	1.01	1.01
1H NMR	M_n	2750	2400	2330	3230	3390	2790	2760
	w^{EO}	0.42	0.43	0.43	0.14	0.17	0.14	0.14
	primer OH vég- csoport %-ban	0	0	0	0	0	47.4	53.5

Az 5. táblázatból jól látható, hogy a **4-5. BASF** termékek és a **3. Merck** termék egymás analógjai, de a Merck által forgalmazott kopolimer molekulatömegben eltér az **4-5-től**, ami befolyásolhatja a felhasználhatóságát. A **3-4-5** esetén a

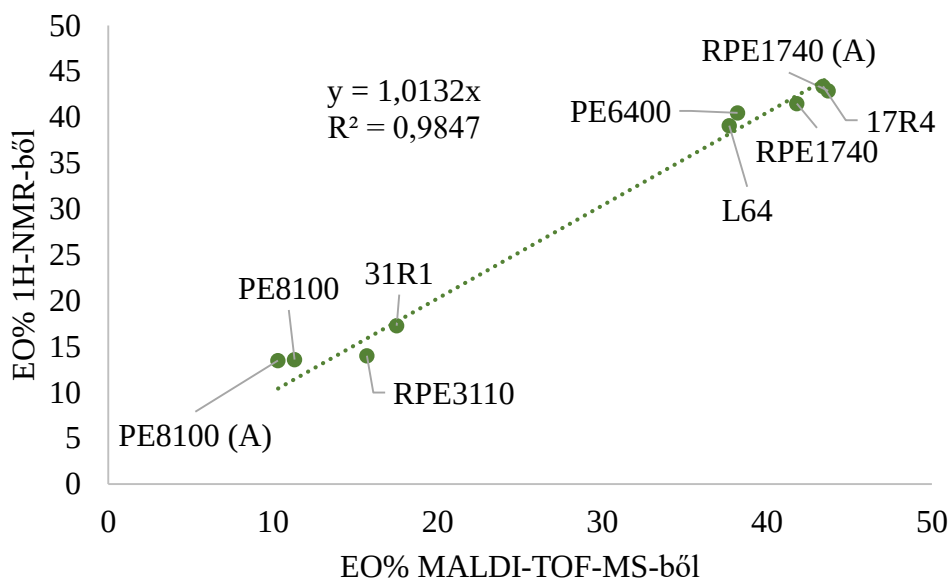
gyártó EO m/m% nem tér el lényegesen. Ellenben a **6-7** minták, esetében 10 m/m% EO tartalom helyett 16 és 18 m/m% adódott az elemzés során, mely szintén hatással lehet a polimerek fizikai tulajdonságára, így azok alkalmazására is.

4.1.5. Az eredmények validálása

Az eredmények validálására ^1H -NMR-ből származó adatokkal vetettem össze a módszer nyújtotta eredményeket, mely a 15. és 16. ábrán láthatóak, az adatokat a Függelék 1. táblázata tartalmazza:



15. ábra: Számátlag molekulatömegek ^1H -NMR mérések alapján a MALDI-TOF-MS-ből származó számátlag molekulatömegek függvényében



16. ábra: ^1H -NMR mérések alapján az EO tartalom százalékosan a MALDI-TOF-MS-ből származó EO tartalom százalékosan függvényében

Mint ahogy a 15. ábrán látható, az ^1H -NMR-ből származó számátlag molekulatömegek (M_n) és az algoritmus segítségével meghatározott számátlag molekulatömegek (M_n) jó egyezést mutatnak. Valamint ugyanolyan jó korreláció olvasható le a 16. ábráról is az EO tartalommal illetően. Tehát kijelenthető, hogy az algoritmust és ezáltal az eredményeit független módszer mérési eredményei validálják (^1H -NMR).

4.2. Kopolimerek tömegspektrumának adatredukciós elemzése

4.2.1. A tömegmaradék-analízis

Mint ahogy a 4.1.1. fejezetben is bemutattam, a kopolimerek tömegspektruma igen sok adatot tartalmaz, mely bizonyos esetekben redundáns. Ezért, illetve az egyszerűbb adatkezelésért, valamint az analízis gyorsítása szempontjából, egy új módszert alkalmaztam a spektrum „tömörítésére” és elemzésére.

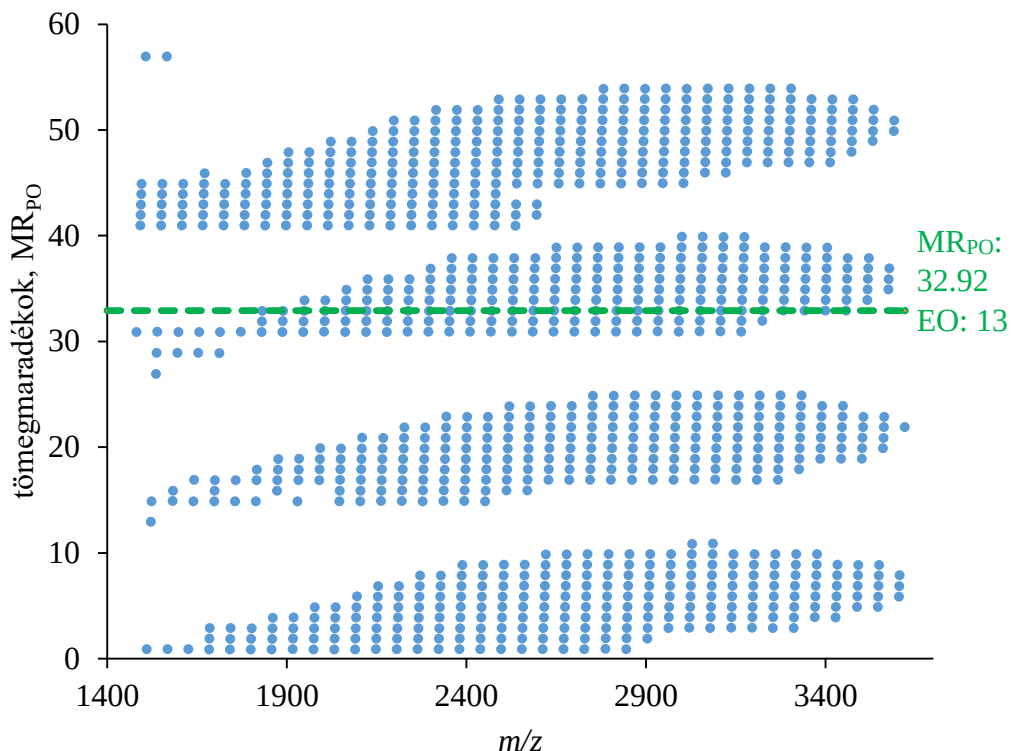
Az új módszerben felhasználtam a kutatócsoportunk által bevezetett tömegmaradék analízist (MARA - MAss-Remainder Analysis), mely a következő egyszerű műveletet takarja [115-119].

A spektrum minden egyes elemén el kell végezni egy maradékos osztást a megfelelően megválasztott osztóval (R , kopolimerek esetében az egyik monomer egység), aminek a maradékát (MR) kell vizsgálni.

$$MR = \frac{m}{z} \bmod R \quad (47)$$

Ezáltal a módszer lényege, hogy egy kitüntetett R paraméter mentén egyfajta rendezést hajt végre a számolás, mivel időközönként újra és újra megjelennek ugyanazon MR értékek, úgynevezett maradékosztályt alkotnak. Formálisan a művelet felcsavarja a számegyenest (az m/z tengelyt) egy kör mentén és a kör azonos pontjaihoz, azonos maradék értékek tartoznak. Hasonlóan, mint az analóg órák esetében, a nap 24 óráját a 12-vel végzett maradékos osztás 12 maradékosztályba sorolja, melyek információt hordoznak az időről. A maradékosztályoknak polimerkémiailag szempontból az a jelentőségük, hogy ezek információt hordoznak a monomerek darabszámát illetően. Ennek a reprezentálására, a maradékokat az m/z értékek függvényében ábrázolva, a 17.

ábrát állítottam elő, ami egy poloxamer (**RPE2520 BASF (10. minta)**) tömegmaradék diagramja.



**17. ábra: RPE2520 (10.minta) poloxamer MR_{PO} diagramja, ahol
R=58.042 (A propilén-oxid monomer molekulatömege)**

Egy példaszámoláson keresztül a művelet, amely az EO₁₃PO₁₀ ($m/z= 1193.76$) komponensre vonatkozik:

$$1193.76 \bmod 58.042 = 32.92 \quad (48)$$

Tehát a $MR_{R=58.042} = 32.92$ értéke a 13 darab EO számnak felel meg. A módszer bemutatásának érdekében a 6. táblázatot készítettem el, amely tartalmazza a 17. ábrán bemutatott kopolimer (**RPE2520 (10.minta)**) zölddel jelölt

komponenseinek monoizotópos m/z értékeit (melyek magukba foglalják a végcsoport és ion tömegét is), valamint a számolt MR értékeket, illetve a csúcsokat alkotó monomerek darabszámait is.

6. táblázat: MARA maradékosztály bemutatása $R=58.042$ esetén

EO (db)	PO (db)	m/z	$MR_{R=58.04187}$
13	14	1425.93	32.92
13	15	1483.97	32.92
13	16	1542.00	32.92
13	20	1774.18	32.92
13	21	1832.22	32.92
13	22	1890.26	32.92
13	26	2122.43	32.92

Ahogy az a 6. táblázatból is látszik, azonos EO darabszám esetén az MR értékek ugyanazok lesznek.

A fentebb bemutatott eredmények alapján az azonosításhoz, egy visszafejtő kódtáblát készítettem és alkalmaztam, ami különböző $MR_{R=58.042}$ értékekhez társítja az EO darabszámot kizárólag monoizotópok esetében. A kódtáblát a 7. táblázat reprezentálja.

7. táblázat: $MR_R=58.042$ EO kódtábla

EO (db)	$MR_R=58.04187$	EO (db)	$MR_R=58.04187$	EO (db)	$MR_R=58.04187$
1	26.98	16	48.92	31	12.81
2	12.97	17	34.90	32	56.83
3	56.99	18	20.89	33	42.82
4	42.98	19	6.87	34	28.80
5	28.96	20	50.90	35	14.79
6	14.95	21	36.88	36	0.77
7	0.932	22	22.86	37	44.80
8	44.96	23	8.849	38	30.78
9	30.94	24	52.88	39	16.77
10	16.93	25	38.86	40	2.75
11	2.91	26	24.84	41	46.78
12	46.94	27	10.83	42	32.76
13	32.92	28	54.85	43	18.75
14	18.91	29	40.84	44	4.73
15	4.89	30	26.82	45	48.76

A kódtábla alapján bármely m/z értékhez (ha monoizotópos) hozzárendelhető az EO darabszám. Ez lehetőséget teremt egy egyszerű, minimális számítási kapacitást igénylő szűrésre. A PO darabszáma ezáltal szintén számolhatóvá válik, amit a következő számolással mutatok be.

$$\frac{m}{z} = 2030.26 \quad (49)$$

$$2030.26 \bmod 58.042 = 56.83 \quad (50)$$

Tehát az EO darabszám a 7. táblázat alapján 32 db. A mérésből fakadhat eltérés az MR értékben, melyet ± 0.05 értékes elfogadással korrigáltam. Ebből a következő képlettel meghatározható a PO darabszáma is:

$$\frac{m}{z} = M_{PO} * db_{PO} + M_{EO} * db_{EO} + M_{H_2O} + M_{Na^+} \quad (51)$$

$$2030.26 = 58.042 * db_{PO} + 44.026 * 32 + 18.011 + 22.989 \quad (52)$$

ebből db_{PO} egészre kerekítés után:

$$db_{PO} = 10 \quad (53)$$

Amennyiben a csúcshoz nem rendelhető monoizotópos tömeg, úgy a MARA módszer, mint szűrő, kiszűri azt, így meg se kell jelenjen azonosítás során.

A fenti példaszámolás alapján a MARA módszer alkalmas a tömegspektrum szűrésére, valamint a komponensek azonosítására a kódtábla segítségével.

Fontosnak tarom megjegyezni, hogy a módszer, a kódtábla alkalmazásával, programozástechnikai szempontból egy összehasonlító műveletet végez, mely hasonlít a nyers erő módszerére, de ennek a módszernek a nagy előnye, hogy

lényegesen kevesebb összehasonlítást szükséges elvégezni, mintha minden egyes lehetséges komponenssel össze kellene hasonlítani a kiválasztott értéket. Továbbá a MARA másik előnye, hogy egyszerűen alkalmazható táblázatkezelő szoftverekkel (pl. Excel) programozási tudás nélkül is.

4.2.2. Az adatredukciós algoritmus

Az adatredukciós algoritmus a következő fő lépésekből áll:

1. A legintenzívebb csúcs kiválasztása
2. MARA módszer alkalmazása a sorozatok azonosítására és a csúcsok kiválasztása
3. Intenzitáskorrekció
4. Polimer paraméterek számítása

A lépések részletesen:

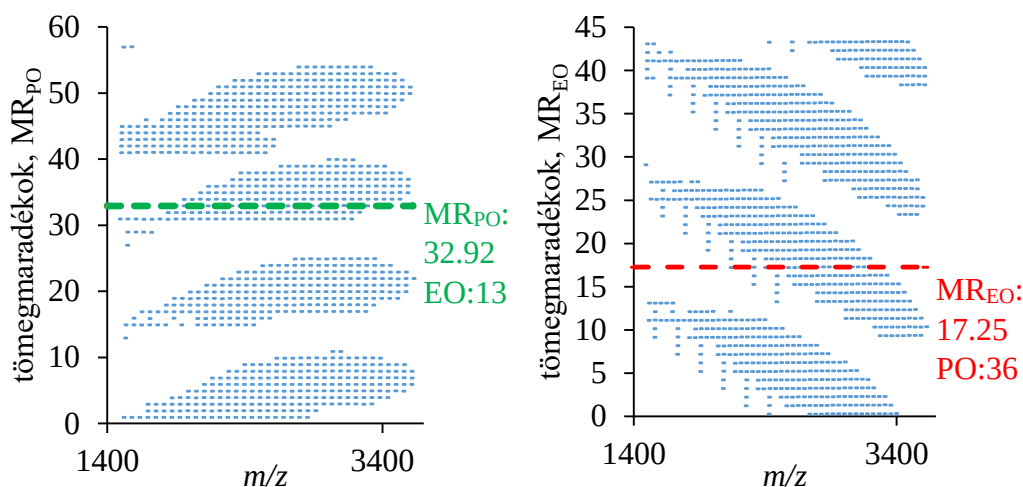
Az első lépés a legegyszerűbb lépés, ki kell választani a legnagyobb intenzitású csúcsot.

A második lépés a MARA alkalmazása ezen csúcs alapján. Mint ahogy azt a 4.2.1. fejezetben bemutattam, ebből kiszámolható a legintenzívebb csúcs EO és PO darabszáma, amennyiben ez monoizotópos. Az elfogadási határérték ± 0.05 MARA érték. Ha a csúcs nem monoizotópos, akkor a csúcstól kisebb m/z értéket kell keresni, ami monoizotópos.

Továbbá a MARA módszerrel egy további szűrést hajtottam végre úgy, hogy rögzítettem a kiválasztott csúcshoz tartozó EO darabszámot és kiszűrtem az

ugyanannyi EO monomert tartalmazó csúcsokat, majd rögzítettem a kiválasztott csúcs alapján a PO darabszámot és kikerestem az azonos PO monomert tartalmazó csúcsokat.

Formálisan ez annyit jelent, hogy a MARA módszert alkalmaztam a teljes spektrumra, először $R=58,042$ esetén, majd $R=44,026$ osztókkal. A legintenzívebb csúcsához tartozó maradékosztályokba tartozó csúcsokat kiemeltem, a többire nem volt szükség. Így a második lépésben leegyszerűsített spektrum már csak 43 darab csúcsot tartalmazott. Az eredeti tömegspektrum (RPE2520 BASF esetén) 1036 darab csúccsal rendelkezik. A kiemelést vizuálisan a 18. ábra mutatja be.



18. ábra: Az RPE2520 BASF tömegmaradék diagramja és a csúcsok kijelölése, zöld esetén fix EO szám, míg a piros esetén fix PO szám

A harmadik lépés azért szükséges, mivel a legintenzívebb csúcsához tartozó m/z érték, attól hogy monoizotópos, még nem biztos, hogy nem fed át másik komponensből származó csúccsal, mint ahogy a 4.1.2 fejezet 9. ábráján is látszik, valamint a kitüntetett közös osztó számításakor is megjelent a 4 darab

EO és 3 darab PO csere. Ez átfedést okoz úgy, hogy az egyik komponens monoizotópos csúcsa átfed a másik komponens harmadik izotópjával.

A korrekciós lépés így a következő módon működik:

Az adott m/z esetén megvizsgáltam a csúcs előtt lévő m/z értékeket, szintén MARA módszerrel, azonosítottam, majd az elemi összetételből és a csúcs/csúcsok intenzitásából kiszámoltam egy polinomiális összefüggéssel, hogy az eredeti vizsgált csúcs hányad része tartozik az előző komponens/komponensekhez, majd ezt az intenzitásból kivontam. Az így visszamaradó érték már valóban a vizsgált csúcshoz tartozik és az ő hányadát reprezentálja.

A jobb érthetőség miatt az algoritmus első három lépését egy példaszámoláson keresztül mutatom be.

Az első lépésből a legintenzívebb csúcsot a 8. táblázat tartalmazza (D jelű csúcs), valamint a példaszámoláshoz szükséges többi csúcsot is.

A legintenzívebb csúcs nem monoizotópos (MARA módszerrel megállapítható, a 7. táblázatban nem található ennek megfelelő maradék érték, $2703.83 \bmod 58.042 = 33.898$), így az előtte lévő m/z értéket vizsgáltam (C jelű csúcs a 8. táblázatban).

A listázott csúcsok tartalmazznak további monoizotópos csúcsot, de azok a számítást a későbbiekben nem befolyásolják, ezért a táblázatban nem rendeltem hozzájuk összetétel értékeket.

8. táblázat: RPE2520 (10. minta) tömegspektrum részletének elemzése

	<i>m/z</i>	intenzitás	MR _{R=58.042}	EO (db)	PO (db)	C (db)	O (db)
A	2700.84	5463	30.908	9	39	135	48
B	2701.84	9619	31.912	-	-	-	-
C	2702.83	28269	32.894	13	36	134	49
D	2703.83	33563	33.896	-	-	-	-
E	2704.82	28423	34.892	-	-	-	-
F	2705.82	17036	35.888	-	-	-	-
G	2706.82	7308	36.887	-	-	-	-
H	2707.82	2535	37.888	-	-	-	-
I	2708.80	938	38.87	-	-	-	-

Az intenzitáskorrekciónak ezek után a következő módon működik.

Az **A** csúcs monoizotópos és az elemi összetétele az alábbi (MARA módszerrel és a monomerek elemi összetételének ismeretében):

A csúcs elemi összetétele= $\text{Na}^+\text{H}_2\text{O}$ ($^1\text{H}_{270}^{12}\text{C}_{135}^{16}\text{O}_{48}$)

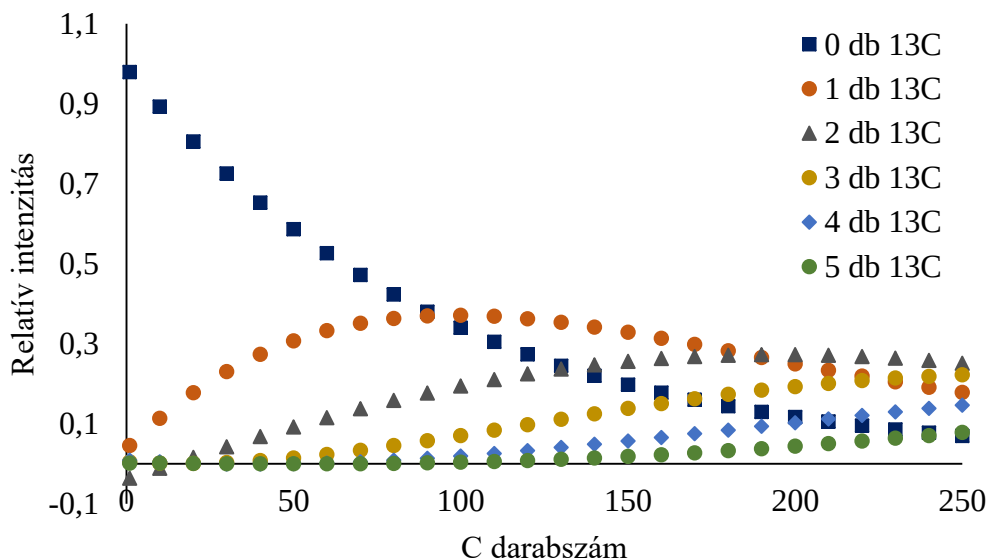
A hozzá tartozó izotóp eloszlás kalkulációja negyedfokú polinomokkal történik, aminek az általános alakja a következő:

$$\text{intenzitás} = x^4 * a_y + x^3 * b_y + x^2 * c_y + x^1 * d_y + e_y \quad (54)$$

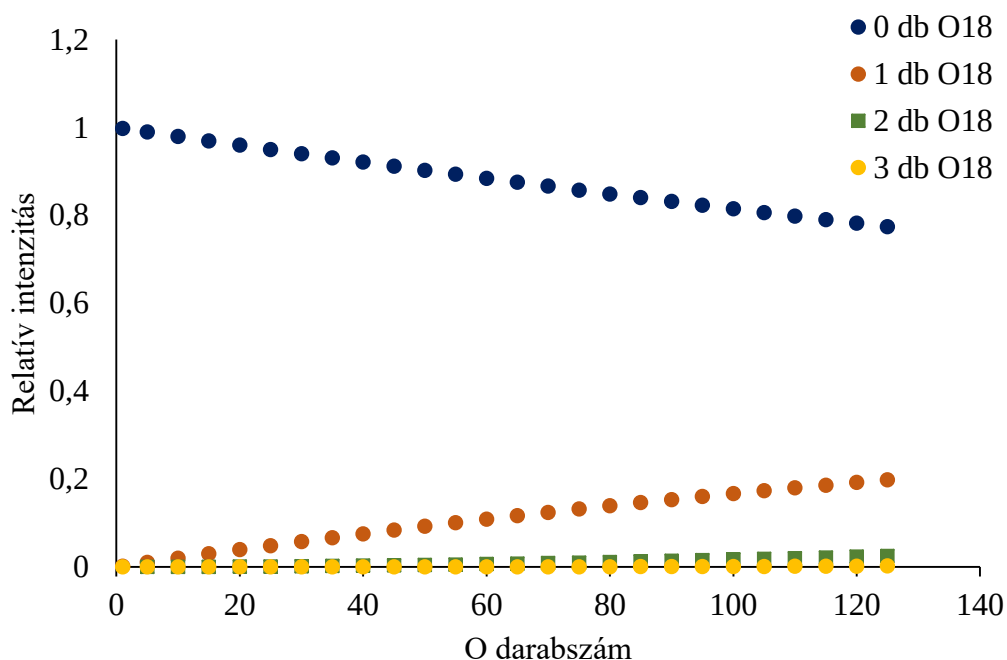
ahol y a következő releváns izotóp darabszámát jelöli, x pedig az elem darabszámát, a , b , c és d konstansok. A polinomiális közelítés a számítási teljesítmény igény csökkentésének szempontjából szükséges és a természetes izotóp eloszlást közelíti.

Továbbá kijelenthető, hogy ilyen tömegtartomány és összetétel esetén a hidrogén izotópjainak megjelenése nem okoz számottevő átfedést, ezért ezzel nem szükséges számolni, csak az oxigén és szén izotópjaival.

A polinomok által számolt részarányok reprezentálására a 19. és 20. ábrát készítettem el, ahol a szén, illetve oxigén darabszám függvényében látható, hogy a megfelelő izotóp csúcsok mekkora részarányt képviselnek az adott összetétel esetén.



19. ábra: A szén izotópok részarányai a darabszám függvényében



20. ábra: Az oxigén izotópok részarányai a darabszám függvényében

A különböző elemek intenzitásának meghatározása a polinomokkal az A csúcs esetén:

$$\begin{aligned} \text{intenzitás}^{12}\text{C}_{135} &= 135^4 * 8.170 * 10^{-11} + 135^3 * (-9.561) * \\ &10^{-8} + 135^2 * 4.424 * 10^{-5} + 135^1 * (-1.004) * 10^{-2} + 9.893 * \\ &10^{-1} = 0.2320 \end{aligned} \quad (55)$$

$$\begin{aligned} \text{intenzitás}^{16}\text{O}_{48} &= 48^4 * 6.631 * 10^{-13} + 48^3 * (-1.425) * \\ &10^{-9} + 48^2 * 2.097 * 10^{-6} + 48^1 * (-2.048) * 10^{-3} + 1.000 * \\ &10^0 = 0.9063 \end{aligned} \quad (56)$$

így az A csúcs intenzitása:

$$\text{intenzitás}A = \text{intenzitás}^{12}C_{135} * \text{intenzitás}^{16}O_{48} = 0.2103 \quad (57)$$

ebből a komponens (EO₉PO₃₉) faktorja, ami hozzáskálázza az intenzitást a tömegspektrumhoz:

$$faktor = \frac{\text{intenzitás}A_{\text{spektrum}}}{\text{intenzitás}A} = \frac{5463}{0.2103} = 25977 \quad (58)$$

A C csúchoz tartozó m/z érték kétféle kombinációval oldható meg ebben az esetben a mérés felbontása mellett:

$$C \text{ csúcs elemi összetétele} = Na H_2O (^1H_{270}^{12}C_{133}^{13}C_2^{16}O_{48}) \quad (59)$$

és

$$C \text{ csúcs elemi összetétele} = Na H_2O (^1H_{270}^{12}C_{135}^{16}O_{47}^{18}O_1) \quad (60)$$

ebből pedig az intenzitások:

$$\begin{aligned} \text{intenzitás}^{12}C_{133}^{13}C_2 &= 135^4 * 6.021 * 10^{-11} + 135^3 * \\ &(-3.436) * 10^{-8} + 135^2 * (-1.678) * 10^{-6} + 135^1 * 2.789 * \\ &10^{-3} - 3.935 * 10^{-2} = 0.2421 \end{aligned} \quad (61)$$

$$\begin{aligned} \text{intenzitás}^{16}O_{48} &= 48^4 * 6.631 * 10^{-13} + 48^3 * (-1.425) * \\ &10^{-9} + 48^2 * 2.097 * 10^{-6} + 48^1 * (-2.048) * 10^{-3} + 1.000 * \\ &10^0 = 0.9063 \end{aligned} \quad (62)$$

így

$$\text{intenzitás}C_1 = \text{intenzitás}^{12}C_{133}^{13}C_2 * \text{intenzitás}^{16}O_{48} = 0.2194 \quad (63)$$

és

$$\begin{aligned} \text{intenzitás}^{12}C_{135} = & 135^4 * 8.170 * 10^{-11} + 135^3 * \\ & (-9.561) * 10^{-8} + 135^2 * 4.424 * 10^{-5} + 135^1 * (-1.004) * \\ & 10^{-2} + 9.893 * 10^{-1} = 0.2320 \end{aligned} \quad (64)$$

$$\begin{aligned} \text{intenzitás}^{16}O_{47}^{18}O_1 = & 48^4 * (-2.589) * 10^{-12} + 48^3 * \\ & 4.268 * 10^{-9} + 48^2 * (-4.197) * 10^{-6} + 48^1 * 2.050 * 10^{-3} + \\ & 1.608 * 10^{-7} = 0.08919 \end{aligned} \quad (65)$$

így

$$\begin{aligned} \text{intenzitás}C_2 = & \text{intenzitás}^{12}C_{135} * \text{intenzitás}^{16}O_{47}^{18}O_1 = \\ & 0.02069 \end{aligned} \quad (66)$$

valamint

$$\text{intenzitás}C = \text{intenzitás}C_1 + \text{intenzitás}C_2 = 0.2401 \quad (67)$$

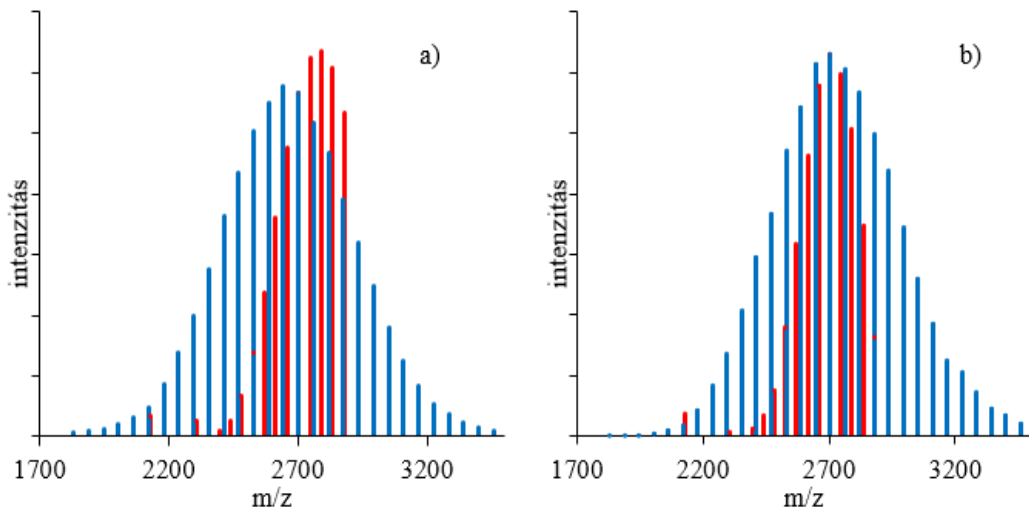
ebből

$$\begin{aligned} \text{intenzitás}C_{\text{spektrum}} = & \text{faktor} * \text{intenzitás}C = 25977 * \\ & 0.2401 = 6237 \end{aligned} \quad (68)$$

A mért intenzitás 28269, ahogy az 8. táblázatból is látszik, ami az átfedő komponensekre vonatkozik. Ebből az előbbi számítások alapján 6237 tartozik az EO_9PO_{39} komponenshez, így $EO_{13}PO_{36}$ komponenshez tartozó intenzitás:

$$\text{intenzitás}EO_{13}PO_{36} = 28269 - 6237 = 19740 \quad (69)$$

Az intenzitás korrekciót a teljes, már szűrt, spektrumra alkalmazva a 21. ábra szemlélteti:



**21. ábra: Az RPE2520 (10. minta) poloxamer szűrt tömegspektruma
intenzitás korrekció előtt (a) és után (b)**

Az előző számolást a különböző, már szűrt és azonosított komponensekre alkalmazva, a tömegspektrum fő sorozatainak részarányai azonosíthatók kevés számítási igény mellett. Az így keletkezett adatokból a kopolimer jellemző paraméterei számolhatók (M_n , M_w , PDI, n_n^{EO} , n_w^{EO} , n_n^{PO} , n_w^{PO} és származtatott mennyiségek), és ezt a kalkulációt valósítja meg a negyedik lépés.

4.2.3. Az új algoritmus eredményének összevetése a teljes elemző algoritmussal

Az új algoritmus eredményeit összevetettem a teljes elemző algoritmus, már ^1H -NMR-el validált mérési eredményeivel, melyeknek az összefoglalása a 9. táblázatban látható.

9. táblázat: Teljes spektrum elemző és az adatredukciós algoritmus eredményeinek összevetése

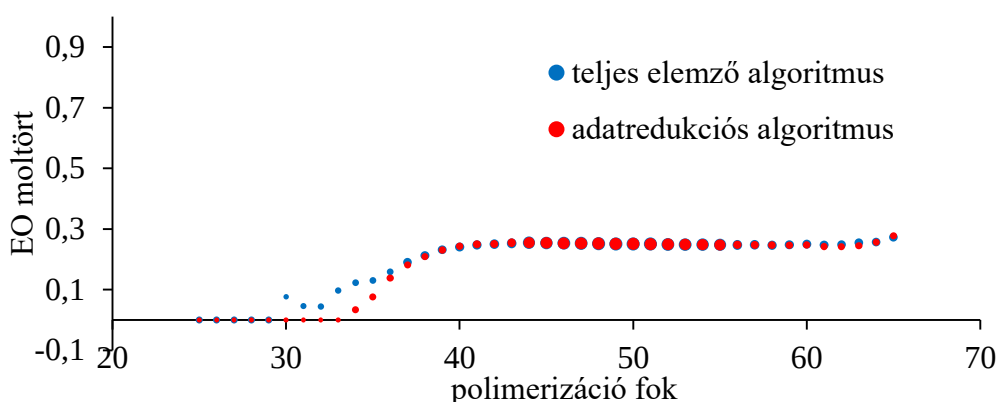
Minta	módszer	M_n	M_w	PDI	m/m% EO	n_n^{EO}	n_w^{EO}	PDI^{EO}	n_n^{PO}	n_w^{PO}	PDI^{PO}
RPE2520 (10. minta)	teljes	2727	2758	1.011	0.207	12.6	13.2	1.05	36.7	37.2	1.01
	redukciós	2678	2694	1.006	0.21	12.7	13.3	1.04	36.6	37.1	1.01
RPE1720 (A) (11. minta)	teljes	2102	2142	1.019	0.241	11.4	12.2	1.06	26.8	27.5	1.03
	redukciós	2082	2102	1.01	0.245	11.7	12.4	1.06	26.7	27.4	1.03
PE6100 (A) (13. minta)	teljes	1801	1863	1.034	0.055	2.2	4.7	2.14	28.6	29.5	1.03
	redukciós	1623	1675	1.032	0.056	2.4	4.6	1.93	27.3	28.3	1.04
PE6100 (14. minta)	teljes	1930	1975	1.023	0.071	3	5.4	1.78	30.2	30.9	1.02
	redukciós	1763	1799	1.02	0.071	3.2	5.4	1.7	29.6	30.6	1.03
RPE1720 (12. minta)	teljes	2291	2324	1.015	0.245	12.5	13.3	1.06	29.2	29.7	1.02
	redukciós	2259	2274	1.007	0.248	12.8	13.4	1.05	29.2	29.9	1.02
PE6200 (15. minta)	teljes	2528	2577	1.019	0.307	17.4	19.8	1.14	29.7	30.2	1.02
	redukciós	2431	2458	1.011	0.309	17.2	19.3	1.12	29.6	30	1.02
RPE1740 (5. minta)	teljes	2445	2468	1.009	0.441	24.1	24.5	1.02	23.1	23.6	1.02
	redukciós	2389	2401	1.005	0.441	24.1	24.6	1.02	22.8	23.3	1.02
RPE3110 (6. minta)	teljes	3440	3471	1.009	0.168	12.9	13.7	1.06	48.7	49.3	1.01
	redukciós	3402	3422	1.006	0.167	12.8	13.4	1.05	48.5	49	1.01

A táblázat adatai alapján az m/m% EO-ra páros t-próbát végeztem, mely szerint az átlagos eltérés nulla ($p=0.49$).

Mint ahogy azt az előző fejezetben már kifejtettem, a kopolimerek összehasonlítására kiválóan alkalmas az összetétel sodródás diagram, ezért ezt az új módszer esetén is alkalmaztam. Ahhoz, hogy a diagramot elő tudjam állítani, az analízisből nyert adatok nem elégségesek, további számításokat igényel a megfelelő paraméterek meghatározása.

A számolás során a két sorozat vektorként fogható fel, a benne lévő komponensek a vektorban elfoglalt pozíciót jelentik, míg az intenzitások az értékeket. A két vektor diadikus szorzataként előállítható a polimerre jellemző intenzitás mátrix, melyhez könnyen hozzá rendelhető az összetétel és így az összetétel sodródás diagram számítása lehetővé válik.

Az így elkészített összetétel sodródás diagramot és az első módszer által számolt összetétel sodródás diagramot összevettem az **RPE2520 (10.minta)** poloxamer esetén, amely a 22. ábrán látható.



22. ábra: RPE2520 (10. minta) összetétel sodródás diagramja a teljes elemző algoritmus, illetve az adatredukciós módszerrel

A diagramon jól látható, hogy a két görbe fedi egymást, illetve az intenzitások nagysága a pontok méretében megjelenik, ami azt erősíti, hogy ahol a legintenzívebbek a tömegspektrum csúcsai, szinte nincs különbség a számított és mért adatok között. Kisebb polimerizáció fok esetén látható némi eltérés, ami abból következik, hogy az ott megjelenő csúcsok intenzitásának deviációja nagyobb.

Továbbá megjegyezném, hogy a 22. ábrán jól látható, hogy az EO móltört mindkét módszer esetén nulla értéket vesz fel kis polimerizáció fokoknál, ami PPO homopolimer jelenlétére utal, és ez kimutatható volt mindkét módszer esetén.

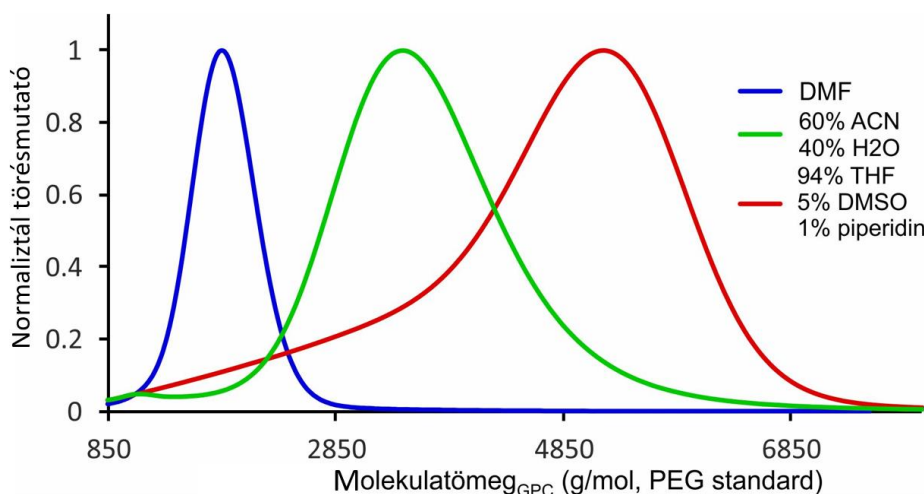
Az 9. táblázat és az 22. ábra adatai alapján kijelenthető, hogy az újonnan fejlesztett adatredukciós algoritmus megfelelő pontossággal használható kopolimerek tömegspektrumának elemzésére.

4.3. Mesterséges intelligencia támogatott gélpermeációs kromatográfiás kopolimer analízis

4.3.1. Poloxamerek gélpermeációs mérése

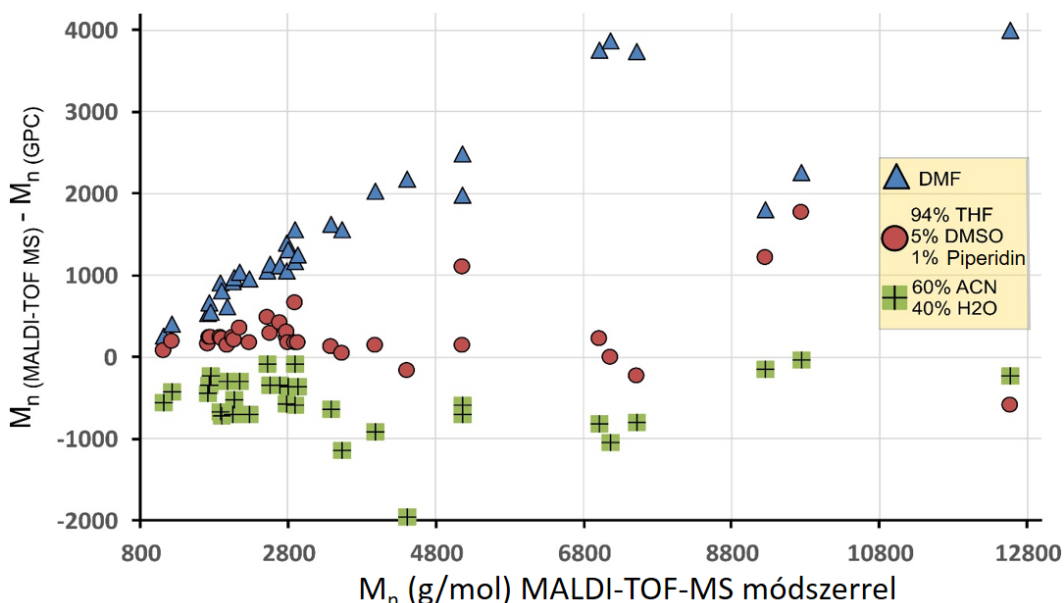
Ahogy a második fejezetben is bemutattam, a homopolimerek ipari elemzésére gyakran alkalmazott módszer a gélpermeációs kromatográfia. Kopolimerek analízisére korlátozott mértékben alkalmazható, pontos molekulatömeg meghatározásra nem alkalmas. Ezért a kutatásom során megvizsgáltam, hogy a poloxamer kopolimerekről hogyan nyerhető ki további információ GPC-s mérések felhasználásával.

A méréseket három különböző oldószerben végeztem, mivel az oldószer befolyásolja a poloxamerek hidrodinamikai átmérőjét, és ezáltal többlet információt hordozhat az adatok összessége a kopolimerről [120]. Az oldószer okozta eltérés, a módszerből fakadóan, molekulatömeg eltérésben jelentkezik, a hidrodinamikai sugár változása miatt, amit a 23. ábra szemléltet.



23. ábra: RPE3110 poloxamer GPC-s kromatogramja különböző oldószerekben

A gélpermeációs mérés során 61 polimert vizsgáltam, melyből 49 kopolimer és 12 homopolimer volt. Az így meghatározott adatokat összevetettem a már a 4.1. és 4.2. fejezetben ismertetett módszerek által szolgáltatott eredményekkel. Valamint a méréseket kibővítettem nagyobb tömegű poloxamerekre, és vizsgáltam a számátlag molekulatömeget, illetve a számátlag molekulatömeg eltérését, melynek az eredménye a 24. ábrán látható.



24. ábra: MALDI-TOF-MS számátlag molekulatömeg és GPC számátlag molekulatömeg különbség a MALDI-TOF-MS számátlag molekulatömeg függvényében különböző oldószerekben mérve

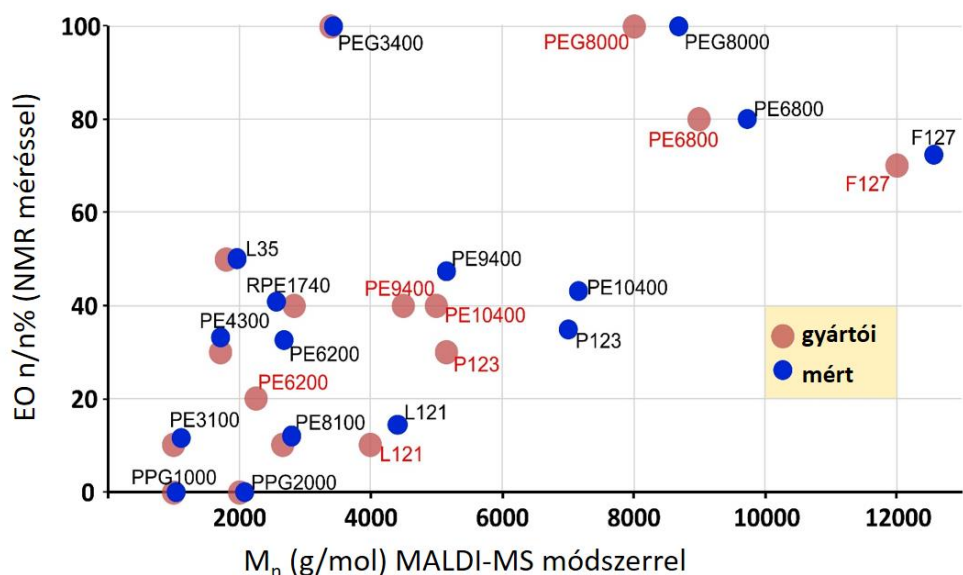
Mint ahogy a 24. ábrán is látható, ha van összefüggés, az mindegyik esetén összetett, ezért az adatokon korrelációs analízist végeztem, melyből megállapítottam, hogy a számátlag molekulatömegek között (GPC M_n és MALDI-TOF-MS M_n) van korreláció ($r_{\text{GPC DMF vs MALDI}}=0.97$, $r_{\text{GPC THF 94\%, DMSO 5\%, Piperidin 1\%}}=0.99$, $r_{\text{GPC ACN 60\%, H}_2\text{O 40\%}}=0.97$).

A kutatásnak nem volt célja egy új fizikai-kémiai alapokon nyugvó modell felállítása, ellenben egy jól használható empirikus modell készítése igen, ami könnyen implementálható. Illetve cél volt maga a modellezési folyamat bemutatása, hogy hogyan nyerhető ki többlet, de rejtett információból hasznos és értelmezhető eredmény. Ilyen típusú modellezésre kiválóan alkalmasak a manapság egyre gyakrabban használt neurális hálózatok.

4.3.2. A neurális hálók tanítása és eredményességük

A neurális háló működését tekintve, mint ahogy azt a második fejezetben is bemutattam, mátrix és aritmetikai műveletek, valamint átviteli függvények kombinációja, amit a háló topológiája határoz meg. A kutatás során arra törekedtem, hogy az általam készített neurális hálók viszonylag egyszerűek legyenek, illetve könnyen implementálhatók maradjanak alapszintű táblázatkezelő (pl.: Excel) alkalmazásokban is.

A jó működéshez megfelelően megválasztott hiperparaméterű neurális hálókra volt szükség mind topológiai szempontból, mind tanítási algoritmus szempontjából. Illetve a tanítási adatsor megfelelő kiválasztása és rendezése is elengedhetetlen. A tanításhoz, a saját analízisen alapuló poloxamer adatokat és jellemzőket használtam fel (MALDI-TOF-MS és ^1H -NMR), mivel a gyártó által specifikált paraméterek szinte minden esetben eltérnek a valós eredményektől. Mindezt a 25. ábra mutatja be, néhány kiválasztott polimer esetén.



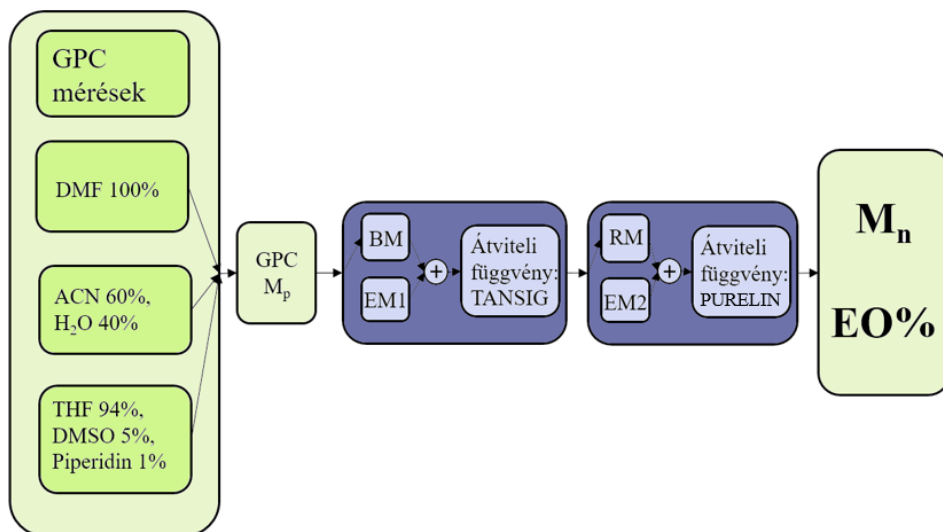
25. ábra: EO m/m% tartalom a számátlag molekulatömeg függvényében a gyártói illetve a mért értékek szerint (16 kiválasztott polimer esetén)

A kutatás során két neurális hálót tanítottam fel a rendelkezésre álló információk alapján, aminek a részletei a következők.

Az első neurális háló (NH-1) bemeneti paraméterei a GPC-s mérések kromatogramjaiból származó M_p értékek voltak, míg kimeneti paraméternek a MALDI-TOF-MS-el mért M_n érték, illetve NMR mérési módszerrel meghatározott EO n/n% tartalom volt. Ebben az esetben a tömegspektrometriás mérésből származó adatok meghatározása lineáris TOF detektálással valósult meg, mivel így nagyobb tömegtartományt tudtam lefedni az NH-1 tanításához. Továbbá, mivel ezen a kibővített tömegtartományon a részletes elemzés nem alkalmazható, az összetétel meghatározása ^1H -NMR-rel valósult meg.

A háló topológiáját tekintve egy rejtett rétegű, előre csatolt, szigmoid átviteli függvényű neuronokat és rétegenként három neuront tartalmazó neurális

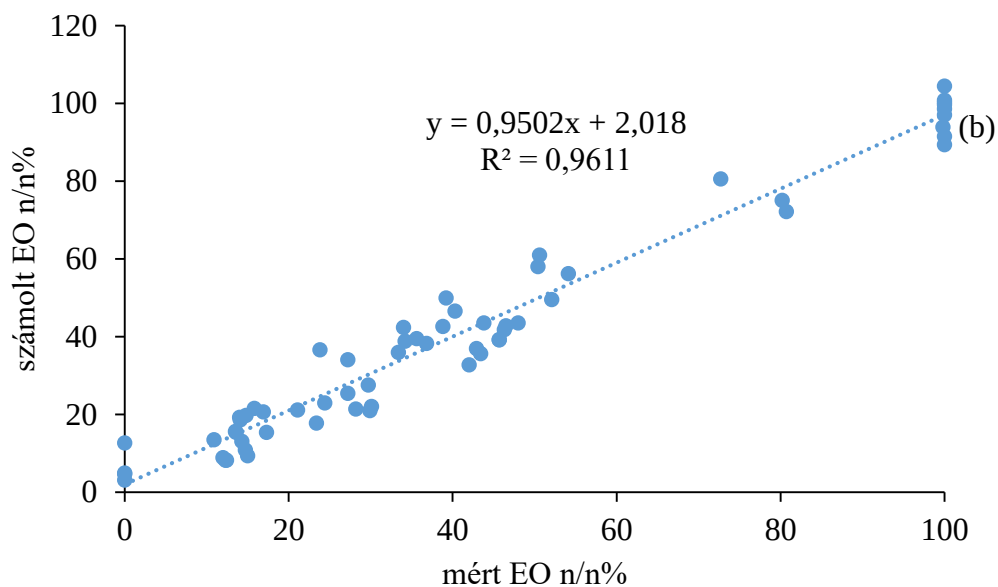
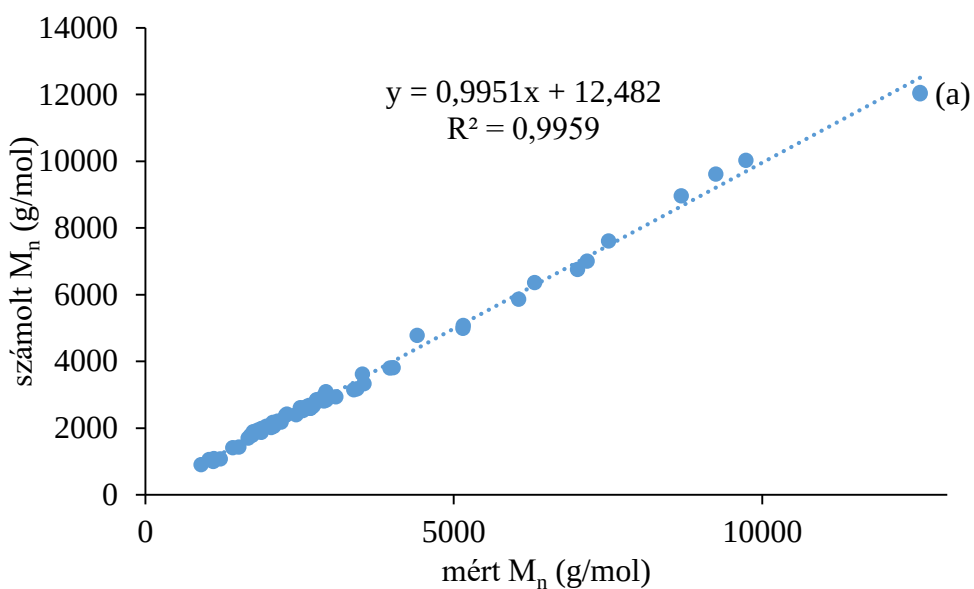
hálózat volt, melyet a 26. ábra szemléltet. A kimeneti neuronok átviteli függvénye lineáris függvény volt.



26. ábra: NH-1 sematikus diagramja

A tanítás során a tanító adatpontok felosztása 90% tanítás, 10% tesztelés arányban történt véletlenszerű kiválasztás alapján. A tanítási algoritmus Bayes-típusú regularizációval valósult meg, 63 epoch alatt. A tanítási folyamat minősítésére az átlagos négyzetes eltérést alkalmaztam.

Az optimális neurális hálózat megvalósításához a hiperparaméterek a rétegszám és a rétegenkénti neuronszám, illetve az átviteli függvények voltak. Az optimum megtalálásához a számolt és a valós adatok különbségének a négyzetösszegét vettem figyelembe. A tanítási hiperparaméter, az adatok egy mintatömbként való kezelése miatt, csak a tanítási algoritmusra terjedt ki. A tanítási adatok a Függelék 2. táblázatában találhatóak. A feltanítás után a neurális háló (NH-1) predikciós képességét a 27. ábra szemlélteti.



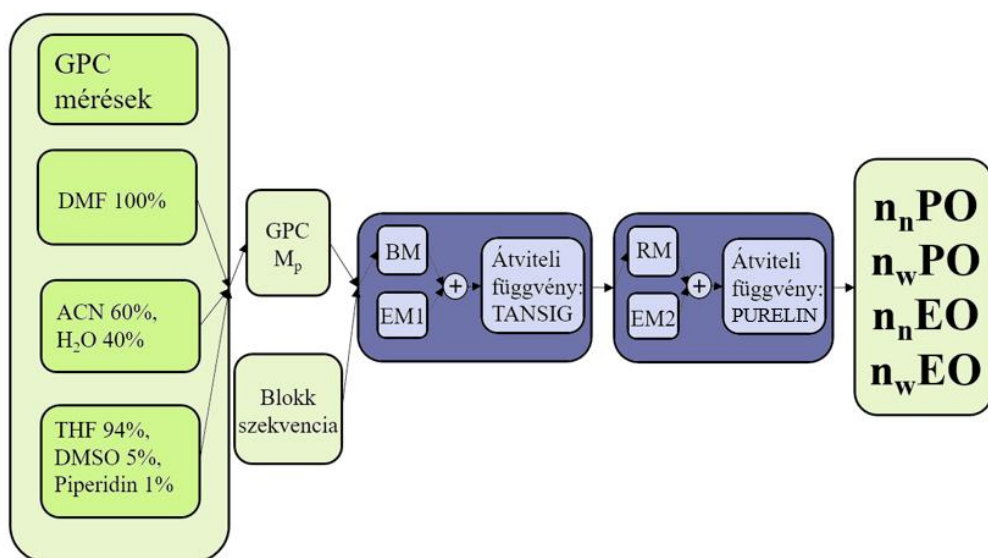
27. ábra: A NH-1 neurális háló által számolt eredmények a valós eredmények függvényében, (a) M_n számolt és mért, (b) EO n/n% számolt és mért

A 24. ábrán jól látható, hogy a számátlag molekulatömeg számított értéke és a mért érték közti korreláció igen magas, illetve a kalkulált eredmények egy, egységnyi meredekségű egyenesre esnek, ami a pontos és precíz alkalmazhatóságot támasztja alá. Az EO n/n% esetén a korrelációs együttható némileg kisebb, és a modellel meghatározott értékek nagyobb szórással rendelkeznek, de elfogadható pontossággal adja vissza ez etilén-oxid tartalmat. A mért és prediktált eredményeken a páros T próba alapján nincs szignifikáns eltérés. Számátlag molekulatömegek próbája esetén a p értéke 0.84, míg az EO n/n% esetén 0.95.

Kijelenthető, a fentebb bemutatott NH-1 alapján, hogy a neurális hálózatok alkalmazhatóak különböző analitikai módszerek összekapcsolására, sőt a hálóval lehetőség nyílik GPC-vel mért spektrumokból az EO n/n% kiszámítására is kielégítő pontossággal, ami az ipar számára olcsó módon (csak GPC-s mérések és Excelben implementálható neurális háló) mérhetővé teszi a késztermék összetételét.

A második háló (NH-2) esetén a kutatás fókuszában a 4.1 fejezetben ismertetett analízis által biztosított információ kinyerhetőségének vizsgálata volt a cél a GPC-s adatokból. Ehhez számolási célnak kiválasztottam az n_n^{PO} , n_w^{PO} , n_n^{EO} és n_w^{EO} értékeket, melyek részletesebb információt adnak a kopolimer eloszlásáról, míg a többi érték az előbb felsoroltakból számolható. Megjegyezném, hogy ebben az esetben a lefedett tömegtartomány kisebb, mivel a részletes karakterizálás csak kevesebb polimer esetén volt lehetséges, ezáltal kevesebb a tanító adatpont. Bementi paraméternek, ahogyan az NH-1 esetén is, a három különböző oldószerben felvett GPC-s kromatogramokból származó M_p értékeket választottam, illetve plusz információként a blokk szekvenciát adtam meg a számolási pontosság javításának céljából.

Az elkészült háló topológiáját tekintve egy rejtett réteggel rendelkező, előre csatolt, a rétegben öt neuront tartalmazó, szigmoid átviteli függvényű neuront tartalmazott. A bemeneti adatok száma négy, a kimeneti szintén négy, a kimeneti függvény lineáris és a NH-2 reprezentációja a 28. ábrán látható.



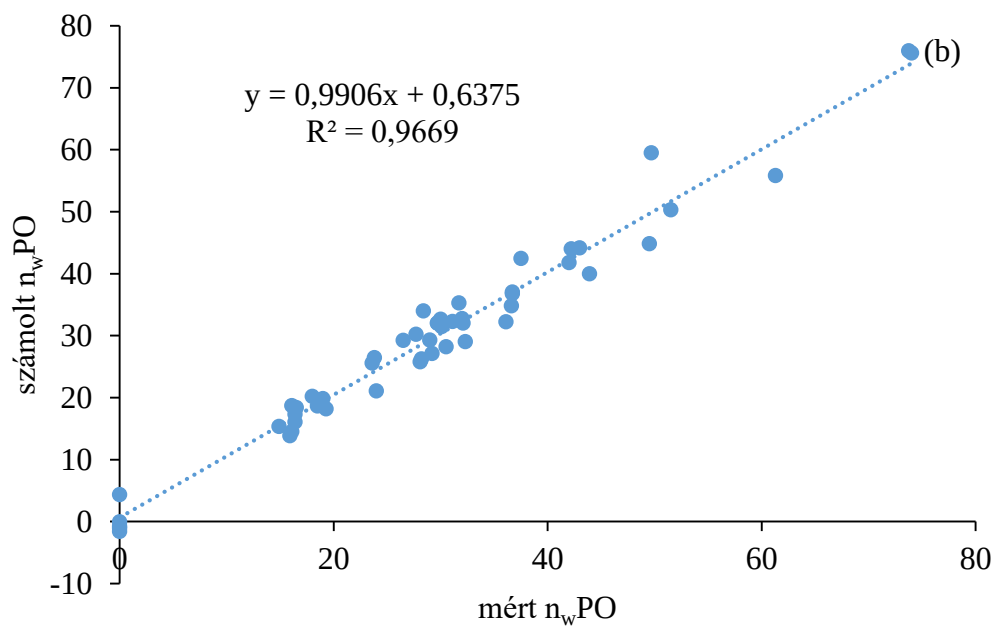
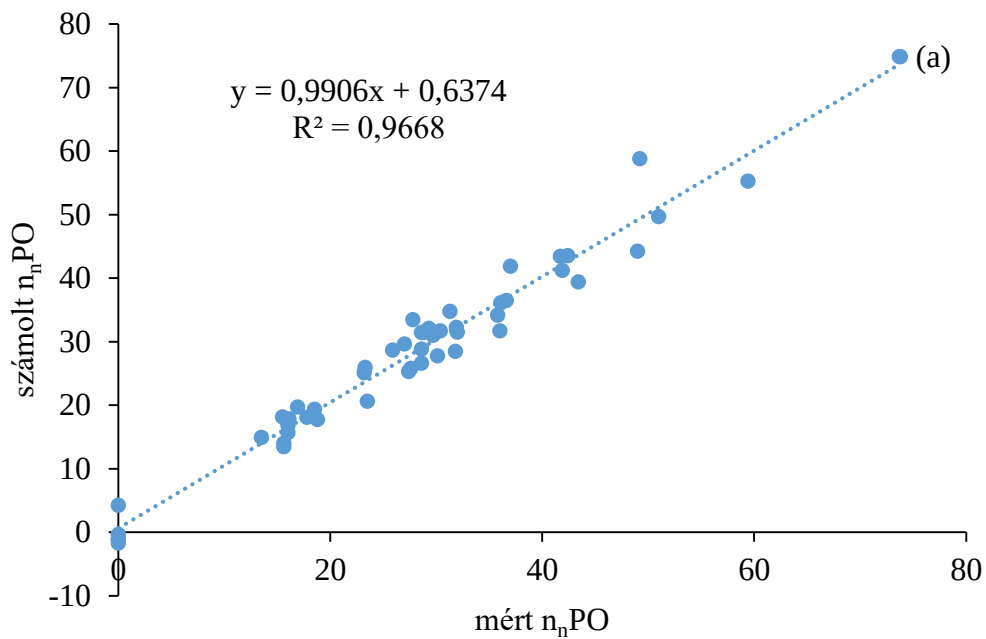
28. ábra: NH-2 sematikus ábrája

A hálózat topológiai hiperparaméterei ebben az esetben szintén a rejtett rétegek száma és a bennük lévő neuronok száma, valamint az átviteli függvények voltak. A tanítási hiperparaméter most is csak a tanítási algoritmusra terjedt ki, azaz optimum elérésének mérésére itt is az eltérések négyzetösszegét használtam és ezt minimalizáltam.

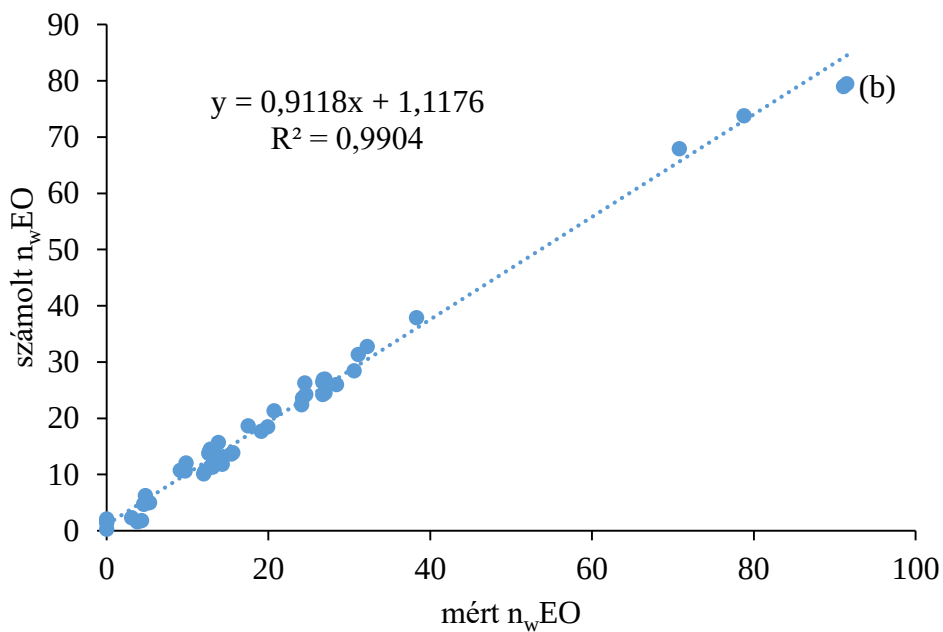
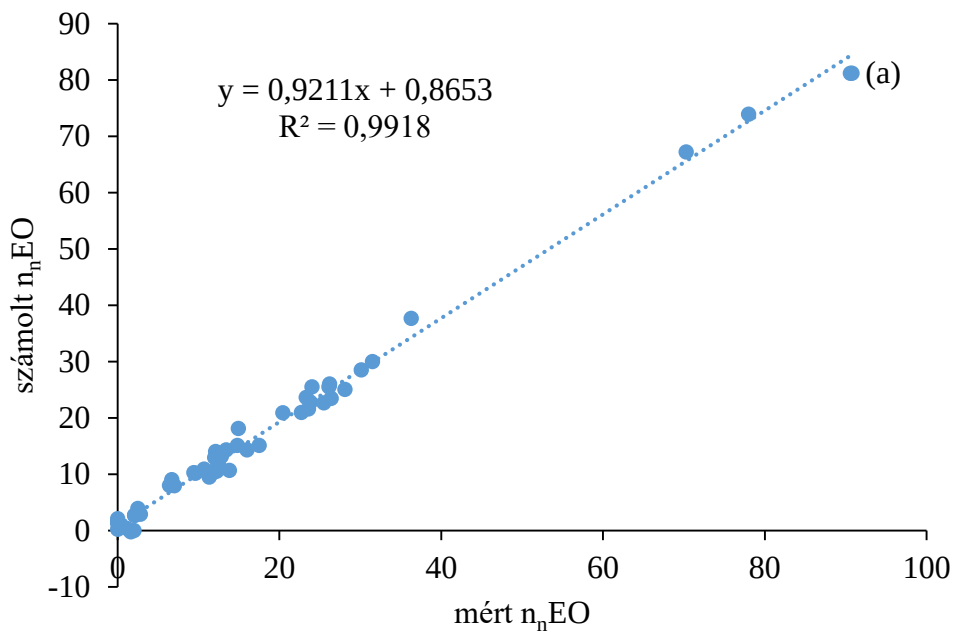
A feltanítás során az adatpontok 90%-át tanításra használtam, 10%-ot pedig a tesztelésre, a felosztást véletlenszerű kiválasztással valósítottam meg. Az adathalmaz 50 polimert tartalmazott, melyből 41 kopolimer és 9 homopolimer volt. A tanítási algoritmus ebben az esetben is Bayes-típusú regularizáció volt,

mely 86 epoch alatt futott le. A tanítási folyamat minősítésére, ahogyan az előző tanítás során is átlagos négyzetes eltérést alkalmaztam. A tanítási adatok a Függelék 3. táblázatában találhatók.

A feltanított háló (NH-2) számítási eredményességét a 29. és 30. ábrák szemléltetik, melyeken a mért és jósolt kimeneti paraméterek láthatóak.



29. ábra: Az NH-2 által számolt n_n^{PO} (a) és n_w^{PO} (b) értékei a mért n_n^{PO} és n_w^{PO} függvényében



30. ábra: Az NH-2 által számolt n_n^{EO} (a) és n_w^{EO} (b) értékei a mért n_n^{EO} és n_w^{EO} függvényében

Ahogy az 29. és 30. ábrákon láthatóak, a számolt eredmények és a mért értékek a közel egységnyi meredekségű egyenesre esnek és jó illeszkedést mutatnak. Továbbá a jósolt és a mért eredményekre korrelációs analízist alkalmaztam, amit a 10. táblázat mutat be.

10. táblázat: A jósolt és a mért eredmények korrelációs elemzése

	M_n	EO%	n_n^{EO}	n_w^{EO}	n_n^{PO}	n_w^{PO}
r	0.988	0.990	0.996	0.995	0.983	0.983
$pontosság$	4.9%	2.3	1.6	1.6	2.2	2.2
p	0.95	0.51	0.09	0.08	0.34	0.35

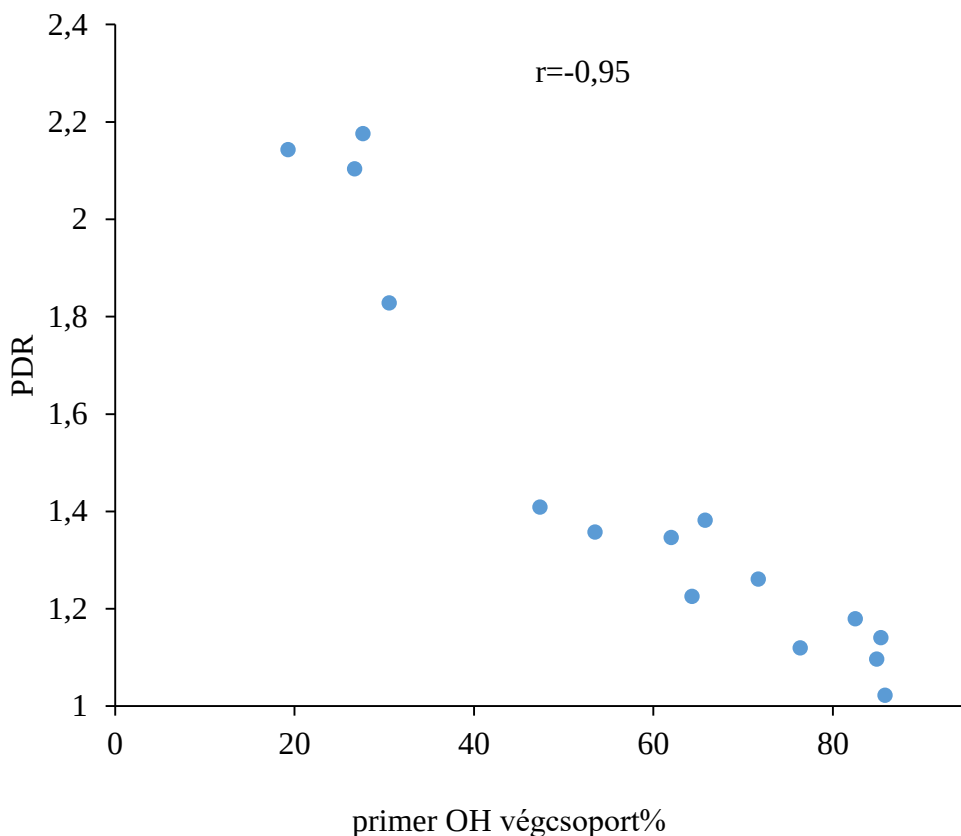
A korrelációs analízisből jól látható, hogy a NH-2 kiválóan alkalmas GPC-s adatokból az n_n^{PO} , n_w^{PO} , n_n^{EO} és n_w^{EO} értékek megállapítására. Valamint bizonyítja, hogy az ilyen módon készített empirikus modell alkalmazható poloxamer rendszerek esetén a különböző módszerekkel meghatározható, de egymással kapcsolatban lévő paraméterek meghatározására, csak egyféle analitikai módszer segítségével.

Fontos megjegyezni mindkét neurális háló esetén, hogy az epoch számok alacsony értéken való tartásával a túltanítást a kis adathalmaz miatt sikeresen elkerültem, ahogy az a tesztadatokból is következik (nincsenek jelentősen kiugró értékek a 27., valamint 29. és 30. ábrákon).

Ezen felül az így számolt adatokból, mint ahogy már említettem és a második háló célja is ez volt, a polidiszperzitás arány (PDR) számolható, ami a polimer eloszlásáról nyújt bővebb információt.

Továbbá kiemelném, hogy az adatok feldolgozás során korrelációt találtam (csak a nem-reverz blokk szekvencia esetén) a primer hidroxilcsoportok

százalékos aránya (ami a diblokk szennyezők jelenlétét bizonyítja) és a NH-2 hálóból is számolható PDR értékek között. Ezen korrelációt a 31. ábra mutatja be.



31. ábra: Polidiszperzitás arány a primer hidroxilcsoportok függvényében

Fontosnak tartom kiemelni, hogy a fentebb bemutatott módszer esetén az összetétel sodródás diagram nem számolható, de a diagram leíró paraméterei kinyerhetők, így az információ a rendelkezésre áll, pusztán GPC-s mérési módszerrel is.

A fentebb bemutatott kapcsolat rávilágít arra, hogy a gélpermeációs kromatográfias módszer lényegesen nagyobb potenciállal rendelkezik a kopolimer analitika terén, a megfelelő matematikai eljárásokkal és módszertannal kombinálva, mint ahogy azt az eddigi kutatási eredmények alapján gondolhatnánk.

5. Összefoglalás

Munkám során eljárásokat dolgoztam ki kopolimerek, azon belül, mint példa vegyületcsalád a poloxamerek, tömegspektrumának elemzésére, melyekkel ezen polimerek részletes elemzése is megvalósítható.

Ehhez fejlesztettem egy új, eddig nem alkalmazott robosztus algoritmust, mely a spektrum minden egyes csúcsát képes azonosítani, hozzárendeli a lehetséges komponenseket, valamint ezek részarányait azonosítja, akár 4000 g/mol-os számtalag molekulatömeg esetén is. A teljesen feldolgozott spektrumból a polimerre jellemző paramétereket kiszámolja (M_n , M_w , n_n^{EO} , n_w^{EO} , n_n^{PO} , n_w^{PO} és származtatott mennyiségek). Az algoritmus megvalósításának nagy előnye, hogy kis számítási teljesítmény mellett, egyszerű táblázatkezelő szoftverbe implementálható és univerzálisan használható. Az algoritmus eredményeinek validálására $^1\text{H-NMR}$ méréseket végeztem, melyek igazolták a módszer helyességét.

A spektrumból kinyert eredmények vizualizációjához és a kopolimerek összehasonlíthatóságához összetétel sodródás diagramot alkalmaztam, ahol a diagram paramétereit értelmeztem, továbbá egy új, az irodalomban eddig nem tárgyalt paramétert vezettem be az ábra alakjának megértéséhez. Az új paraméter a polidiszperzitás arány, aminek a meghatározásához és értelmezéséhez kopolimer spektrum, és ezáltal összetétel sodródás diagram szimulációkat készítettem. Ezeket összevettem a mért eredményekkel, amikkel kiváló egyezést mutattak. Ezen felül összevettem a gyártók adatai alapján analóg kopolimereket, amelyekről bebizonyítottam, hogy összetételük nem azonos, és ezt összetétel sodródás diagramon szemléltettem. Továbbá bemutattam, hogy ez az eltérés a fizikai tulajdonságukban is megjelenik. Ezen

kopolimerek esetében a kritikus micellaképződési koncentrációk, továbbá a micellák méretei is eltérnek. A kutatásom során megállapítottam, hogy az összetétel sodródás görbe alakja és a diblokk szennyezők jelenléte közt összefüggés áll fenn, és ezt a polidiszperzitás arány, valamint a primer hidroxilvégcsoport százaléka közti korreláció is alátámasztja nem reverz szerkezetű poloxamerek esetén. Összességében a spektrumot analizáló algoritmus és az adatok vizualizációjának megvalósítása sikeres volt, melyek kapcsán egy új kopolimereket leíró paramétert is bevezettem.

Az előbbieken említett algoritmust a kutatásom folytatásaként átalakítottam és továbbfejlesztettem, amelyben a kutatócsoportunk által kidolgozott tömegmaradék analízisről bizonyítottam be, hogy kiválóan alkalmas poloxamer tömegspektrumok kiértékeléséhez. Ezen felül, egy új megközelítést alkalmaztam, ahol a spektrumban, csak a legintenzívebb csúcs és a MARA segítségével meghatározott csúcssorozatokból, valamint egy megfelelő intenzitáskorrekciós eljárással számoltam ki a polimer jellemzőket. Következő lépésben ezekből előállítottam az összetétel sodródás diagramot, és összevettem az első módszer által nyújtott eredményekkel. A két módszer eredményei között kiváló egyezést kaptam. Az utóbb fejlesztett eljárás nagy előnye, hogy nem szükséges hozzá programozói tudás, és még egyszerűbben alkalmazható táblázatkezelő szoftverekben, mint az elsőként bemutatott algoritmus, valamint a redukált adathalmazon történő analízis miatt lényegesen gyorsabb is.

A kutatásom későbbi részeként az eddig kinyert és feldolgozott eredményeket kapcsoltam össze gélpermeációs kromatográfiás mérésekkel. Ehhez különböző oldószerekben mért GPC kromatogramokból kinyert M_p értékekből neurális háló alkalmazásával számítottam ki a MALDI-TOF-MS és ^1H -NMR által

szolgáltatott eredményeket. Az elemzéshez két neurális hálót alakítottam ki és tanítottam fel a kopolimerek adataival. Az első háló esetén a kimeneti paraméterek a számátlag molekulatömeg valamint az EO $n/n\%$ volt, míg a második háló esetében a n_n^{EO} , n_w^{EO} , n_n^{PO} , n_w^{PO} értékek. A neurális hálókat Excel táblázatokban is implementáltam a könnyebb kezelhetőség és a poloxamerekre nézve univerzális használhatóság miatt.

A mért és a hálók által számolt eredmények jó egyezést mutattak, kellően precíz és pontos adatokat szolgáltatottak a poloxamerekről. A kutatás ezen részének egyik legfőbb eredménye, hogy a kopolimerekre jellemző, nehezen kinyerhető és a meghatározáshoz nagy szaktudást igénylő, valamint összetett matematikai módszerrel kiszámítható paraméterek egyszerű gélpermeációs mérésekből meghatározhatóvá válnak. Az összekapcsolhatóság lényegesen kitolja a GPC módszer alkalmazhatóságának korlátait, és a kopolimerekre is rutinszerűen alkalmazhatóvá teszi azt, valamint ezáltal a kapcsolat által a kopolimerjellemzők meghatározása olcsó és rutinszerű méréssé tehető, aminek ipari szinten is jelentősége van.

Ezen felül az eredmények alapján kijelenthető, hogy egyszerűbb polimerkémia-rendszerek esetén, megfelelő adathalmaz mellett, a neurális hálók alkalmazhatóak empirikus modellként a polimerek jellemzők meghatározására.

6. Summary

In the course of my work, I dealt with the analysis of the mass spectra of copolymers, including the poloxamers as an example, and the information that can be extracted from the spectra.

For this purpose, I have developed a new and novel robust algorithm, which can identify each peak of the spectrum, assign the possible components, and determine their proportions, even in the case of a number average molecular weight of 4000 g/mol. The algorithm consists of the following steps:

1. Import and normalization of the calibrated mass spectrum
2. Calculation of the possible components
3. Calculate the isotopes of all determined components
4. Checking the presence of component peaks in the mass spectrum
5. Determine the intensity fractions of all compartments using the method of least squares

If multiple possible solutions are considered, step 2. can be used to perform a manual filtration, to clarify the solution. A visualization method was introduced allowing the selection of the proper solution..

From the fully processed spectrum, the algorithm calculates the characteristic polymer parameters, which are the following: M_n , M_w , n_{nEO} , n_{wEO} , n_{nPO} , n_{wPO} and derived properties such as PDI. The great advantage of the method is that it can be implemented in simple spreadsheet software and can be used universally

with little computing power. To validate the results of the algorithm, I performed ^1H -NMR measurements, which proved the efficiency of the method.

For the visualization of the results obtained from the spectrum and the comparability of the copolymers, I used a composition drift diagram. I interpreted the parameters of the diagram, and also introduced a new parameter, to understand the shape of the diagram. The new parameter is the polydispersity ratio (PDR). To define and interpret that, I carried out simulations of the copolymer spectrum and thus the composition drift diagram and compared them with the measured results, with which they showed excellent agreement. The quantity introduced is the ratio of the polydispersity indices of the monomers, which provides information on the shape and slope of the composition drift diagram.

In addition, I compared analogue copolymers based on the manufacturers' data, which I proved to be non-equivalent. Illustrated that findings on the composition drift diagrams, as well as showed that such difference is also reflected in their physical properties. In my case, the critical micelle formation concentration was 1.2 mM and 2.2 mM for the **PE6400 Merck (sample 2)** and **PE6400 BASF (sample 1)**, respectively. Additionally, I also found distinction in the size of the micelles. In the case of **PE6400 BASF (sample 1)** the z-average hydrodynamic diameter was 65.3 nm, while for **PE6400 Merck (sample 2)** was 18.2 nm. DLS measurement technique was applied to determine the size of micelles and CMC values. Furthermore, I discovered correlation between the shape of the composition drift diagram and the presence of diblock impurities. This is supported by the correlation between the polydispersity ratio and the percentage of the primary hydroxyl end group, in the case of poloxamers with a non-reverse structure. Overall, the implementation of the algorithm and

data visualization was successful, in connection with which I also discovered a novel parameter that can help to describe copolymers.

As a continuation of my research, I developed a new algorithm, in which I proved that the the mass remainder analysis (MARA- introduced by our research group) is excellently suitable for the evaluation of copolymer mass spectra (as an example on poloxamers). The MARA method is simply the calculation of the remainder after division, where the components of the copolymers are classified into residual classes. Such a step allows the simple identification of polymerization degree of each monomers. In order to further simplify the copolymer analysis, I tested the application of a reduced dataset for the evaluation of mass spectra. As the first step, I selected the most intense peak and the peak series corresponding to the same remainder classes. The series were filtered by the MARA method. As the next step, the intensities were corrected based on polynomial correction to handle the overlaps. The obtained series and their intensities were applied to calculate the polymer properties. Additionally, I calculated the composition drift diagram from that dataset and compared them to the results provided by the algorithm analysing the complete spectra. Excellent agreement was found between the results of the two methods. The great advantage of the lastly developed method is that it does not require programming knowledge and can be used in a simple spreadsheet software. Even more simply than the algorithm presented first, and due to the analysis on a reduced data set, it is also significantly faster.

As a later part of my research, I analysed the capabilities of gel permeation chromatography for the detailed analysis of copolymers. To do this, I run three independent GPC measurements with different solvents. (100% DMF; 60% ACN, and 40% H₂O; 94% THF, 5% DMSO, 1% Piperidine) applying PEG as

standard for calibration. Applying the results of the detailed analysis with the combination of M_p peaks from GPC neural networks were developed. The GPC data (M_p peaks) were applied as input while the predicted parameters were the data provided by MALDI-TOF-MS and $^1\text{H-NMR}$. I created and trained two neural networks with the copolymer dataset. In the first case, the output parameters were the number average molecular weight and the EO n/n%, which were determined using linear MALDI-TOF-MS and $^1\text{H-NMR}$, respectively. The linear mode and the $^1\text{H-NMR}$ was necessary, because the mass region of the used copolymers were too high to achieve acceptable resolution by MS analysis. In the second case, the n_{EO} , n_{wEO} , n_{PO} , n_{wPO} values were the predicted parameters, for which I used the results of the developed algorithm and added the structure property (revers structure or not) to the input for more precise prediction. In the case of the first network, the number of teaching data points was 61, while in the second case, 50 data points were available. I also implemented the neural networks in Excel spreadsheets, due to easier handling and universal usability for poloxamers.

The measured and calculated results were in good agreement and provided precise and accurate data of the poloxamers, the correlation coefficients are the following for the predicted and measured data: $r_{Mn}=0.988$, $r_{EO\text{ n/n\%}}=0.987$ in the first neural network, and $r_{nnEO}=0.996$, $r_{nwEO}=0.995$, $r_{nnPO}=0.983$, $r_{nwPO}=0.983$ in the second neural network. One of the main results of this part of the research is that GPC results can be converted to valuable copolymer quantities in a simple way, while the detailed characterization of copolymers requires extensive resources. The introduced connectivity pushes the limits of the GPC method and makes it routinely applicable to analyze copolymers. Such a method allows the determination of copolymer parameters that can be made by a cheap and routine measurement, which is also important at the industrial level.

In addition, based on the results, it can be stated that in the case of simpler polymer chemistry systems, with a suitable data set, neural networks can be used as an empirical model to predict the characteristic parameters of polymers.

Hivatkozások:

1. Hagiopol C. Copolymers. Reference Module in Materials Science and Materials Engineering: Elsevier; 2016.
2. Konkolewicz D, Poon CK, Gray-Weale A, Perrier S. Hyperbranched alternating block copolymers using thiol–yne chemistry: materials with tuneable properties. *Chemical Communications*. 2011;47(1):239-41.
3. López-Barrón CR, Brant P, Shivokhin M, Lu J, Kang S, Throckmorton JA, et al. Long-Chain Hyperbranched Comb Block Copolymers: Synthesis, Microstructure, Rheology, and Thermal Behavior. *Macromolecules*. 2018;51(15):5720-31.
4. Huang H, Pang H, Huang J, Yu P, Li J, Lu M, et al. Influence of hard segment content and soft segment length on the microphase structure and mechanical performance of polyurethane-based polymer concrete. *Construction and Building Materials*. 2021;284:122388.
5. Baeza GP. Recent advances on the structure–properties relationship of multiblock copolymers. *Journal of Polymer Science*. 2021;59(21):2405-33.
6. Reis M, Gusev F, Taylor NG, Chung SH, Verber MD, Lee YZ, et al. Machine-Learning-Guided Discovery of ¹⁹F MRI Agents Enabled by Automated Copolymer Synthesis. *Journal of the American Chemical Society*. 2021;143(42):17677-89.
7. Tao L, Byrnes J, Varshney V, Li Y. Machine learning strategies for the structure-property relationship of copolymers. *iScience*. 2022;25(7):104585.
8. Pinedo B, Hadfield M, Tzanakis I, Conte M, Anand M. Thermal analysis and tribological investigation on TPU and NBR elastomers applied to sealing applications. *Tribology International*. 2018;127:24-36.
9. Tefferi M, Li Z, Cao Y, Uehara H, Chen Q. Novel EPR-insulated DC cables for future multi-terminal MVDC integration. *IEEE Electrical Insulation Magazine*. 2019;35(5):20-7.
10. Stanford K, Wang Y, Berg BP, Majak W, McCartney DH, Baron V, et al. Effects of Alcohol Ethoxylate and Pluronic Detergents on the Development of Pasture Bloat in Cattle and Sheep. *Journal of Dairy Science*. 2001;84(1):167-76.
11. Dörr JM, Scheidelaar S, Koorengevel MC, Dominguez JJ, Schäfer M, van Walree CA, et al. The styrene–maleic acid copolymer: a versatile tool in membrane research. *European Biophysics Journal*. 2016;45(1):3-21.
12. Turner A, Arnold R, Williams T. Weathering and persistence of plastic in the marine environment: Lessons from LEGO. *Environmental Pollution*. 2020;262:114299.
13. Żur P, Kołodziej A, Baier A, Kokot G. Optimization of Abs 3D-Printing Method and Parameters. *European Journal of Engineering Science and Technology*. 2020;3(1):44-51.
14. Kim H, Keskkula H, Paul DR. Effect of acrylonitrile content on the toughness of ABS materials. *Polymer*. 1991;32(8):1447-55.
15. Bucher T, Clodt JI, Abetz C, Bajer B, Filiz V. Spraying of Ultrathin Isoporous Block Copolymer Membranes—A Story about Challenges and Limitations. *Membranes*. 2020;10(12):404.

16. Koenig JL. Chapter 1 - Theory of polymer characterization. In: Koenig JL, editor. *Spectroscopy of Polymers* (Second Edition). New York: Elsevier Science; 1999. p. 1-33.
17. Li S. Chapter 12 - Fundamentals of Polymerization Reaction Engineering. In: Li S, editor. *Reaction Engineering*. Boston: Butterworth-Heinemann; 2017. p. 541-98.
18. Ebdon JR. *Introduction to polymers* (second edition) R. J. Young and P. A. Lovell Chapman and Hall, London, 1991. pp. 443, price £16.95. ISBN 0-412-30640-9 (PB); ISBN 0-412-30630-1 (HB). *Polymer International*. 1992;27:207-8.
19. Wagner HL. The Mark-Houwink-Sakurada Equation for the Viscosity of Linear Polyethylene. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. 1985;14(2):611-7.
20. Masuelli M. Mark-Houwink parameters for aqueous-soluble polymers and biopolymers at various temperatures. *J Polym Biopolym Phys Chem*. 2014;2:37-43.
21. Russo E, Villa C. Poloxamer Hydrogels for Biomedical Applications. *Pharmaceutics*. 2019;11(12).
22. Kabanov AV, Batrakova EV, Alakhov VY. Pluronic block copolymers for overcoming drug resistance in cancer. *Advanced drug delivery reviews*. 2002;54(5):759-79.
23. Hsu Y-H, Tsui H-W, Lin S-Y, Chen L-J. The origin of anomalous positive heat capacity change upon micellization of Pluronic triblock copolymer F108 in aqueous solutions: Effect of PEO-PPO diblock impurities. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2016;509:109-15.
24. Mehanna MM, Motawaa AM, Samaha MW. In sight into tadalafil - block copolymer binary solid dispersion: Mechanistic investigation of dissolution enhancement. *International journal of pharmaceutics*. 2010;402(1-2):78-88.
25. Xie Y, Zou H, Xiang H, Xia R, Liang D, Shi P, et al. Enhancement on the wettability of lithium battery separator toward nonaqueous electrolytes. *Journal of Membrane Science*. 2016;503:25-30.
26. Kiss É, Erdélyi K, Szendrő I, Vargha-Butler EI. ADSORPTION AND WETTING PROPERTIES OF PLURONIC BLOCK COPOLYMERS ON HYDROPHOBIC SURFACES STUDIED BY OPTICAL WAVEGUIDE LIGHTMODE SPECTROSCOPY AND DYNAMIC TENSIO-METRIC METHOD. *The Journal of Adhesion*. 2004;80(9):815-29.
27. Marinova K, Dimitrova LM, Marinov RY, Denkov N, Kingma A. Impact of the surfactant structure on the foaming/defoaming performance of nonionic block copolymers in Na caseinate solutions. *Bulg J Phys*. 2012;39.
28. Antunes FE, Gentile L, Oliviero Rossi C, Tavano L, Ranieri GA. Gels of Pluronic F127 and nonionic surfactants from rheological characterization to controlled drug permeation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2011;87(1):42-8.
29. Zarrintaj P, Ramsey JD, Samadi A, Atoufi Z, Yazdi MK, Ganjali MR, et al. Poloxamer: A versatile tri-block copolymer for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*. 2020;110:37-67.

30. Kim M, Haman KJ, Houang EM, Zhang W, Yannopoulos D, Metzger JM. PEO-PPO Diblock Copolymers Protect Myoblasts from Hypo-Osmotic Stress In Vitro Dependent on Copolymer Size, Composition, and Architecture. 2017;18(7):2090-101.
31. Nagarajan R, Ganesh K. Comparison of Solubilization of Hydrocarbons in (PEO-PPO) Diblock versus (PEO-PPO-PEO) Triblock Copolymer Micelles. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1996;184(2):489-99.
32. Oh SH, Lee JH. Fabrication and characterization of hydrophilized porous PLGA nerve guide conduits by a modified immersion precipitation method. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2007;80A(3):530-8.
33. Oh SH, Kim JH, Song KS, Jeon BH, Yoon JH, Seo TB, et al. Peripheral nerve regeneration within an asymmetrically porous PLGA/Pluronic F127 nerve guide conduit. *Biomaterials*. 2008;29(11):1601-9.
34. Binder WH, Pulamagatta B, Kir O, Kurzhals S, Barqawi H, Tanner S. Monitoring Block-Copolymer Crossover-Chemistry in ROMP: Catalyst Evaluation via Mass-Spectrometry (MALDI). *Macromolecules*. 2009;42(24):9457-66.
35. Wilczek-Vera G, Danis PO, Eisenberg A. Individual Block Length Distributions of Block Copolymers of Polystyrene-block-Poly(α -methylstyrene) by MALDI/TOF Mass Spectrometry. *Macromolecules*. 1996;29(11):4036-44.
36. Crotty S, Gerişlioğlu S, Endres KJ, Wesdemiotis C, Schubert US. Polymer architectures via mass spectrometry and hyphenated techniques: A review. *Analytica chimica acta*. 2016;932:1-21.
37. Xia Y, Burke NAD, Stöver HDH. End Group Effect on the Thermal Response of Narrow-Disperse Poly(N-isopropylacrylamide) Prepared by Atom Transfer Radical Polymerization. *Macromolecules*. 2006;39(6):2275-83.
38. Montaudo MS. Mass spectra of copolymers. *Mass Spectrometry Reviews*. 2002;21(2):108-44.
39. Hunt WW, Jr., McGee KE, Streeter JK, Maughan SE. Mass Discrimination in a Time-of-Flight Mass Spectrometer. I. Geometric Mass Discrimination at Magnetic Electron Multiplier. *Review of Scientific Instruments*. 2003;39(12):1793-9.
40. Murgasova R, Hercules DM. Polymer characterization by combining liquid chromatography with MALDI and ESI mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2002;373(6):481-9.
41. Schriemer DC, Li L. Mass Discrimination in the Analysis of Polydisperse Polymers by MALDI Time-of-Flight Mass Spectrometry. 2. Instrumental Issues. *Analytical Chemistry*. 1997;69(20):4176-83.
42. Hore PJ. *Nuclear Magnetic Resonance*: Oxford University Press; 2015.
43. Izunobi JU, Higginbotham CL. Polymer Molecular Weight Analysis by ¹H NMR Spectroscopy. *Journal of Chemical Education*. 2011;88(8):1098-104.
44. Voort P-J, McKay A, Dai J, Paravagna O, Cameron NR, Junkers T. Solvent-Independent Molecular Weight Determination of Polymers Based on a Truly Universal Calibration. *Angewandte Chemie International Edition*. 2022;61(5):e202114536.
45. Ugbohue S. 10 - Testing and quality control of polyolefins. In: Ugbohue SCO, editor. *Polyolefin Fibres*: Woodhead Publishing; 2009. p. 316-40.

46. Lathe GH, Ruthven CRJ. The separation of substances and estimation of their relative molecular sizes by the use of columns of starch in water. *Biochemical Journal*. 1956;62(4):665-74.
47. Wang Y, Teraoka I, Hansen FY, Peters GH, Hassager O. A Theoretical Study of the Separation Principle in Size Exclusion Chromatography. *Macromolecules*. 2010;43(3):1651-9.
48. Grubisic Z, Rempp P, Benoit H. A universal calibration for gel permeation chromatography. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters*. 1967;5(9):753-9.
49. Moore JC. Gel permeation chromatography. I. A new method for molecular weight distribution of high polymers. *Journal of Polymer Science Part A: General Papers*. 1964;2(2):835-43.
50. Podzimek S. Truths and myths about the determination of molar mass distribution of synthetic and natural polymers by size exclusion chromatography. *Journal of Applied Polymer Science*. 2014;131(7).
51. Wyatt PJ. Light scattering and the absolute characterization of macromolecules. *Analytica chimica acta*. 1993;272(1):1-40.
52. Boborodea A, Cleaver G. Fast gel permeation chromatography–mass spectrometry method for polymer and additive analysis. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*. 2017;22(6):490-6.
53. Williams T. Gel permeation chromatography: A review. *Journal of Materials Science*. 1970;5(9):811-20.
54. Zeitler JA, Taday PF, Newnham DA, Pepper M, Gordon KC, Rades T. Terahertz pulsed spectroscopy and imaging in the pharmaceutical setting - a review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2010;59(2):209-23.
55. Vieira RAM, Sayer C, Lima EL, Pinto JC. Closed-Loop Composition and Molecular Weight Control of a Copolymer Latex Using Near-Infrared Spectroscopy. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2002;41(12):2915-30.
56. George G, Hynard N, Cash G, Rintoul L, O'Shea M. Spectroscopic probes for real-time monitoring of polymer modification and degradation reactions. *Comptes Rendus Chimie*. 2006;9(11):1433-43.
57. Todorova D, Oreshkov T. The Average Molecular Weight Determination of Polysulfide Polymers by Using Ir Spectroscopy. *Spectroscopy Letters*. 1999;32(5):773-82.
58. Kaszuba M, McKnight D, Connah MT, McNeil-Watson FK, Nobbmann U. Measuring sub nanometre sizes using dynamic light scattering. *Journal of Nanoparticle Research*. 2008;10(5):823-9.
59. Alexander M, Dalgleish DG. Dynamic Light Scattering Techniques and Their Applications in Food Science. *Food Biophysics*. 2006;1(1):2-13.
60. Kato H, Nakamura A, Kinugasa S. Effects of Angular Dependency of Particulate Light Scattering Intensity on Determination of Samples with Bimodal Size Distributions Using Dynamic Light Scattering Methods. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*. 2018;8(9).

61. Pal A, Holmqvist P, Vaccaro A, Schurtenberger P. Extending depolarized DLS measurements to turbid samples. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2022;627:1-9.
62. Malm A, Corbett J. Improved Dynamic Light Scattering using an adaptive and statistically driven time resolved treatment of correlation data. *Scientific Reports*. 2019;19:13519.
63. Chu B. Laser Light Scattering. *Annual Review of Physical Chemistry*. 1970;21(1):145-74.
64. Stetefeld J, McKenna SA, Patel TR. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophysical Reviews*. 2016;8(4):409-27.
65. Topel Ö, Çakır BA, Budama L, Hoda N. Determination of critical micelle concentration of polybutadiene-block-poly(ethyleneoxide) diblock copolymer by fluorescence spectroscopy and dynamic light scattering. *Journal of Molecular Liquids*. 2013;177:40-3.
66. Paco N, Gabriela G, Edison O. Mass Spectrometry and Its Importance for the Analysis and Discovery of Active Molecules in Natural Products. In: Hany AE-S, editor. *Natural Drugs from Plants*. Rijeka: IntechOpen; 2021. p. Ch. 3.
67. Griffiths J. A Brief History of Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. 2008;80(15):5678-83.
68. Nier AO. Some reminiscences of mass spectrometry and the Manhattan Project. *Journal of Chemical Education*. 1989;66(5):385.
69. Fenn JB. Electrospray ionization mass spectrometry: How it all began. *Journal of biomolecular techniques : JBT*. 2002;13(3):101-18.
70. Li C, Chu S, Tan S, Yin X, Jiang Y, Dai X, et al. Towards Higher Sensitivity of Mass Spectrometry: A Perspective From the Mass Analyzers. *Frontiers in chemistry*. 2021;9.
71. Leopold J, Popkova Y, Engel KM, Schiller J. Recent Developments of Useful MALDI Matrices for the Mass Spectrometric Characterization of Lipids. *Biomolecules* [Internet]. 2018; 8(4).
72. Tanaka K, Waki H, Ido Y, Akita S, Yoshida Y, Yoshida T, et al. Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 1988;2(8):151-3.
73. De Winter J, Deshayes G, Boon F, Coulembier O, Dubois P, Gerbaux P. MALDI-ToF analysis of polythiophene: use of trans-2-[3-(4-t-butyl-phenyl)-2-methyl-2-propenylidene]malononitrile-DCTB-as matrix. *Journal of mass spectrometry : JMS*. 2011;46(3):237-46.
74. Wang Z, Zhang Q, Shen H, Yang P, Zhou X. Optimized MALDI-TOF MS Strategy for Characterizing Polymers. *Frontiers in chemistry*. 2021;9:698297.
75. Wilm M. Principles of Electrospray Ionization. *Molecular & Cellular Proteomics*. 2011;10(7):M111.009407.
76. Ho CS, Lam CW, Chan MH, Cheung RC, Law LK, Lit LC, et al. Electrospray ionisation mass spectrometry: principles and clinical applications. *The Clinical biochemist Reviews*. 2003;24(1):3-12.

77. Wiley WC, McLaren IH. Time-of-Flight Mass Spectrometer with Improved Resolution. *Review of Scientific Instruments*. 2004;26(12):1150-7.
78. Brown RS, Lennon JJ. Mass Resolution Improvement by Incorporation of Pulsed Ion Extraction in a Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Linear Time-of-Flight Mass Spectrometer. *Analytical Chemistry*. 1995;67(13):1998-2003.
79. Johansson P. Characterization of Protein Surface Interaction: Collagen and Osteocalcin 2013.
80. Zare RN, Fernández FM, Kimmel JR. Hadamard Transform Time-of-Flight Mass Spectrometry: More Signal, More of the Time. *Angewandte Chemie International Edition*. 2003;42(1):30-5.
81. Vestal ML, Campbell JM. Tandem Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Methods in Enzymology*. 402: Academic Press; 2005. p. 79-108.
82. Medzihradszky KF, Campbell JM, Baldwin MA, Falick AM, Juhasz P, Vestal ML, et al. The Characteristics of Peptide Collision-Induced Dissociation Using a High-Performance MALDI-TOF/TOF Tandem Mass Spectrometer. *Analytical Chemistry*. 2000;72(3):552-8.
83. Chernushevich IV, Loboda AV, Thomson BA. An introduction to quadrupole–time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*. 2001;36(8):849-65.
84. Hopfield JJ. Neural Networks and Physical Systems with Emergent Collective Computational Abilities. *Proceedings of the National Academy of Science*. 1982;79:2554-8.
85. Rosenblatt F. The perceptron: a probabilistic model for information storage and organization in the brain. *Psychological review*. 1958;65(6):386-408.
86. Widrow B, Hoff ME, editors. Adaptive switching circuits. IRE WESCON convention record; 1960: New York.
87. Linnainmaa S. Taylor expansion of the accumulated rounding error. *BIT Numerical Mathematics*. 1976;16(2):146-60.
88. Bahrammirzaee A. A comparative survey of artificial intelligence applications in finance: artificial neural networks, expert system and hybrid intelligent systems. *Neural Computing and Applications*. 2010;19(8):1165-95.
89. Tan XJ, Cheor WL, Yeo KS, Leow WZ. Expert systems in oil palm precision agriculture: A decade systematic review. *Journal of King Saud University - Computer and Information Sciences*. 2022;34(4):1569-94.
90. Dorofki M, Elshafie AH, Jaafar O, Karim OA, Mastura S. Comparison of artificial neural network transfer functions abilities to simulate extreme runoff data. *International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering*. 2012;33:39-44.
91. Fukushima K. Visual Feature Extraction by a Multilayered Network of Analog Threshold Elements. *IEEE Transactions on Systems Science and Cybernetics*. 1969;5(4):322-33.
92. Sarimveis H, Alexandridis A, Mazarakis S, Bafas G. A New Algorithm for developing Dynamic Radial Basis Function Neural Network Models based on Genetic Algorithms. In: Grievink J, van Schijndel J, editors. *Computer Aided Chemical Engineering*. 10: Elsevier; 2002. p. 949-54.

93. Ibnu CRM, Santoso J, Surendro K. Determining the Neural Network Topology: A Review. Proceedings of the 2019 8th International Conference on Software and Computer Applications; Penang, Malaysia: Association for Computing Machinery; 2019. p. 357–62.
94. Sino N, Nory R, Seno M. Review of Deep Learning Algorithms in Computational biochemistry. Journal of Physics: Conference Series. 2021;1804:012135.
95. Bayuaji R, Ruki Biyanto T. Deflection Prediction of No-Fines Lightweight Concrete Wall Using Neural Network Caused Dynamic Loads. Buildings. 2018;8(4):62.
96. Hochreiter S, Schmidhuber J. Long Short-Term Memory. Neural Computation. 1997;9(8):1735-80.
97. Love BC. Comparing supervised and unsupervised category learning. Psychonomic Bulletin & Review. 2002;9(4):829-35.
98. Buhmann J, Kuhnel H, editors. Unsupervised and supervised data clustering with competitive neural networks. [Proceedings 1992] IJCNN International Joint Conference on Neural Networks; 1992 7-11 June 1992.
99. Carpenter GA, Grossberg S. The ART of adaptive pattern recognition by a self-organizing neural network. Computer. 1988;21(3):77-88.
100. Kramer MA. Nonlinear principal component analysis using autoassociative neural networks. AIChE Journal. 1991;37(2):233-43.
101. Liou C-Y, Huang J-C, Yang W-C. Modeling word perception using the Elman network. Neurocomputing. 2008;71(16):3150-7.
102. Serrano W. Fintech Model: The Random Neural Network with Genetic Algorithm. Procedia Computer Science. 2018;126:537-46.
103. Huang G-B, Zhu Q-Y, Siew C-K. Extreme learning machine: Theory and applications. Neurocomputing. 2006;70(1):489-501.
104. Abdulkadirov R, Lyakhov P, Nagornov N. Survey of Optimization Algorithms in Modern Neural Networks. Mathematics. 2023;11(11):2466.
105. Dubuisson B. NEURAL NETWORKS, GENERAL PRINCIPLES. In: Braun S, editor. Encyclopedia of Vibration. Oxford: Elsevier; 2001. p. 869-77.
106. Cuomo S, Di Cola VS, Giampaolo F, Rozza G, Raissi M, Piccialli F. Scientific Machine Learning Through Physics-Informed Neural Networks: Where we are and What's Next. Journal of Scientific Computing. 2022;92(3):88.
107. Wilson D, Martinez T. The need for small learning rates on large problems 2001. 115-9 vol.1 p.
108. Yang L, Shami A. On hyperparameter optimization of machine learning algorithms: Theory and practice. Neurocomputing. 2020;415:295-316.
109. Faaland B. On the number of solutions to a diophantine equation. Journal of Combinatorial Theory, Series A. 1972;13(2):170-5.
110. Shallit J. Origins of the analysis of the Euclidean algorithm. Historia Mathematica. 1994;21(4):401-19.
111. Rivest RL, Shamir A, Adleman L. A method for obtaining digital signatures and public-key cryptosystems. Commun ACM. 1978;21(2):120–6.

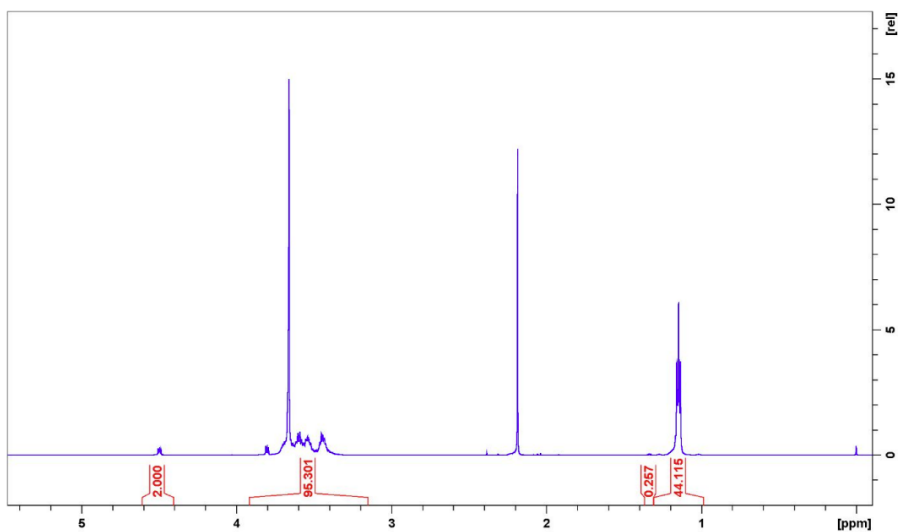
112. Montaudo MS, Adamus G, Kowalczyk M. Bivariate distribution in copolymers: A new model. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 2002;40(14):2442-8.
113. Bodratti AM, Alexandridis P. Formulation of Poloxamers for Drug Delivery. *Journal of functional biomaterials*. 2018;9(1).
114. Kroll P, Benke J, Enders S, Brandenbusch C, Sadowski G. Influence of Temperature and Concentration on the Self-Assembly of Nonionic CiEj Surfactants: A Light Scattering Study. *ACS Omega*. 2022;7(8):7057-65.
115. Nagy T, Kuki A, Roth G, Kzy ZK, Zatalini AB, Nyul D, et al. Characterization of polyacrylamide diblock copolymers by mass spectrometry combined with Mass-remainder analysis (MARA). *Polymer Testing*. 2023;117:107834.
116. Nagy T, Kuki Á, Nagy M, Zsuga M, Kéki S. Mass-Remainder Analysis (MARA): An Improved Method for Elemental Composition Assignment in Petroleomics. *Analytical Chemistry*. 2019;91(10):6479-86.
117. Nagy T, Kuki Á, Zsuga M, Kéki S. Mass-Remainder Analysis (MARA): a New Data Mining Tool for Copolymer Characterization. *Analytical Chemistry*. 2018;90(6):3892-7.
118. Nagy T, Róth G, Kuki Á, Zsuga M, Kéki S. Mass Spectral Filtering by Mass-Remainder Analysis (MARA) at High Resolution and Its Application to Metabolite Profiling of Flavonoids. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(2):864.
119. Nagy T, Kuki Á, Hashimov M, Zsuga M, Kéki S. Multistep Mass-Remainder Analysis and its Application in Copolymer Blends. *Macromolecules*. 2020;53(4):1199-204.
120. Niezen LE, Kruijswijk JD, van Henten GB, Pirok BWJ, Staal BBP, Radke W, et al. Principles and potential of solvent gradient size-exclusion chromatography for polymer analysis. *Analytica chimica acta*. 2023;1253:341041.

Függelék

Tartalom:

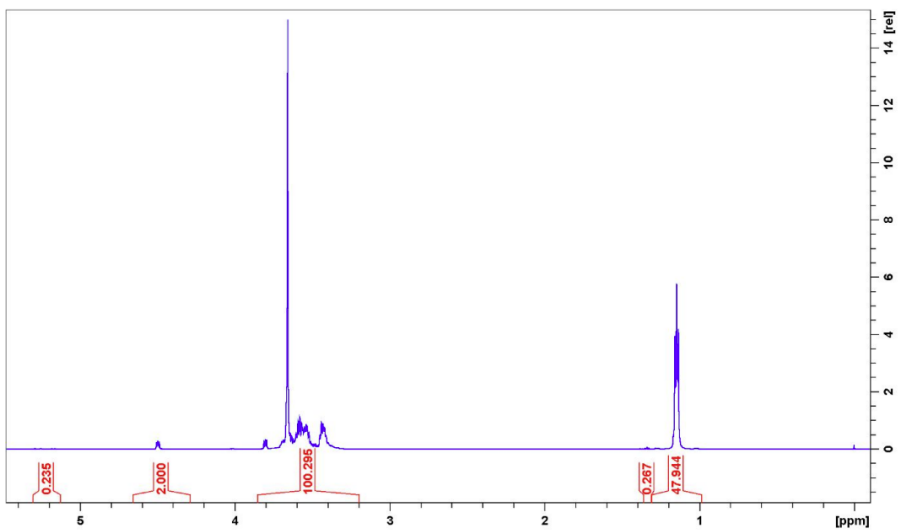
1. minta: PE6400 BASF mérései	104
2. minta: PE6400Merck mérései	104
3. minta: RPE1740 (17R4) mérései	105
4. minta: RPE1740 (A) mérései	106
5. minta: RPE1740 mérései.....	107
6. minta: RPE3110 mérései.....	108
7. minta: RPE3110 (31R1) mérései	109
8. minta: PE8100 (A) mérései	110
9. minta: PE8100 mérései	111
Validáláshoz kapcsolódó adatok:.....	112
Az első neurális háló tanításához használt adathalmaz:	113
A második neurális háló tanításához használt adathalmaz:	116

1. minta: PE6400 BASF mérési



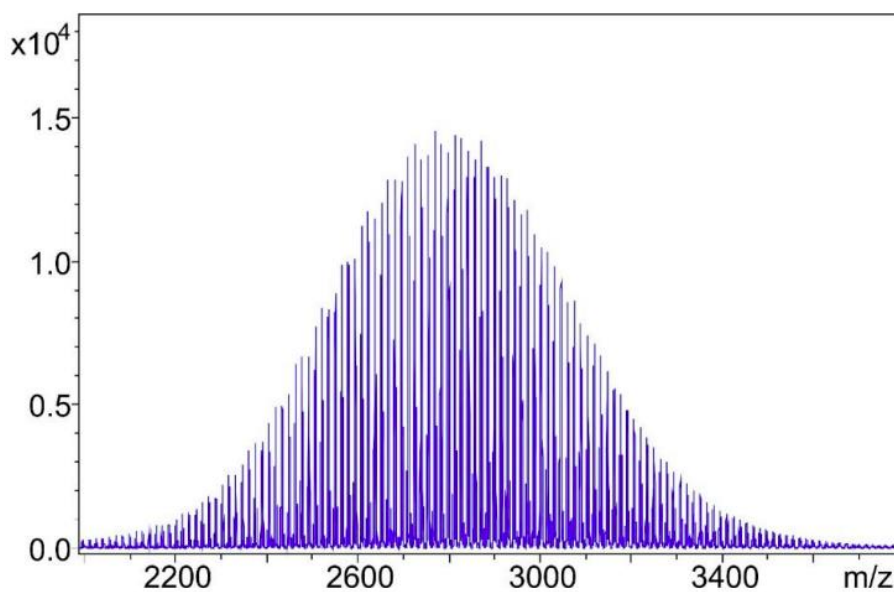
1. ábra: 1. minta PE6400 BASF ¹H-NMR spektruma

2. minta: PE6400Merck mérési

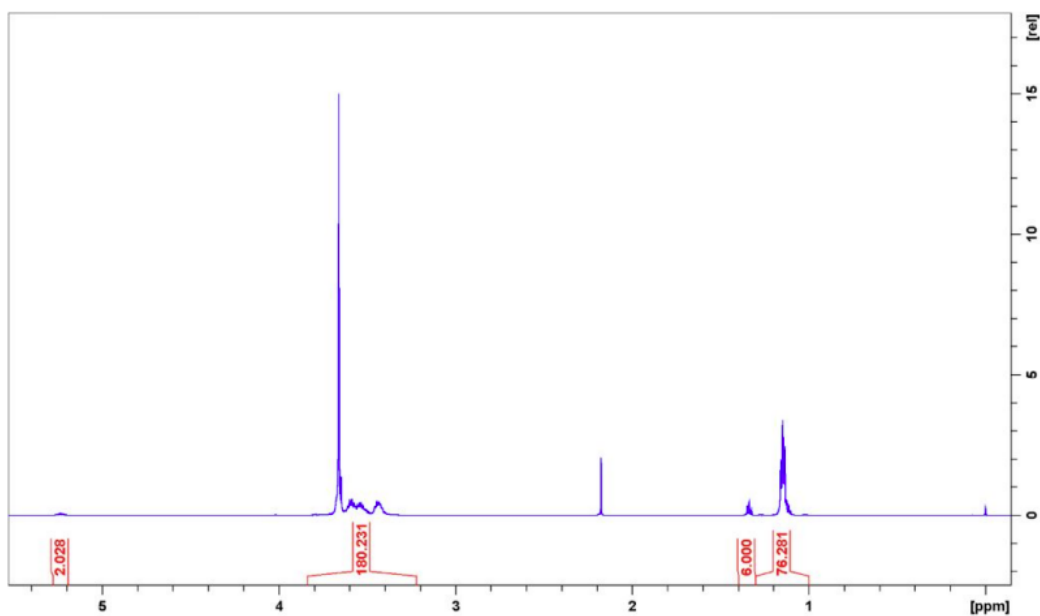


2. ábra: 2. minta PE6400 Merck ¹H-NMR spektruma

3. minta: RPE1740 (17R4) mérései

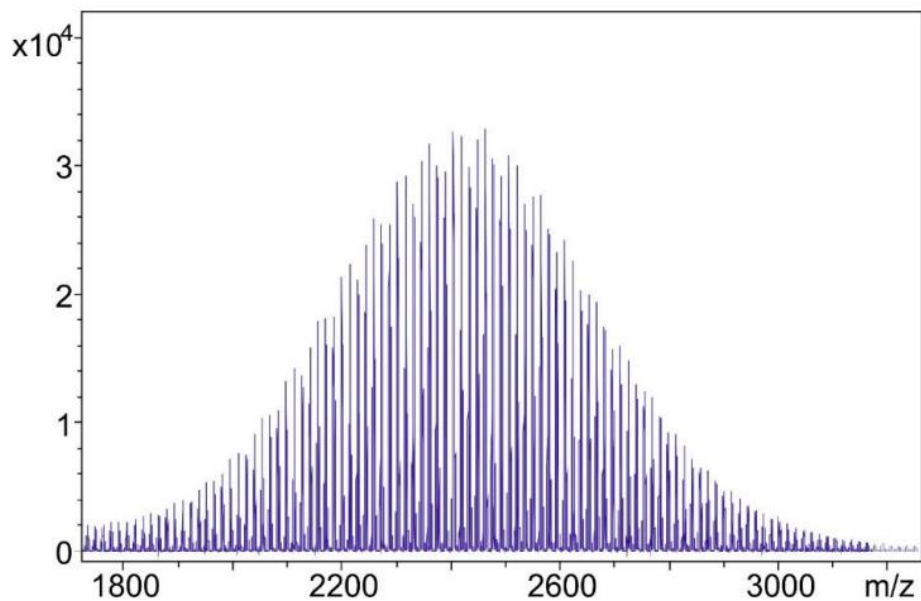


3. ábra: 3. minta RPE1740 (17R4) tömegspektruma

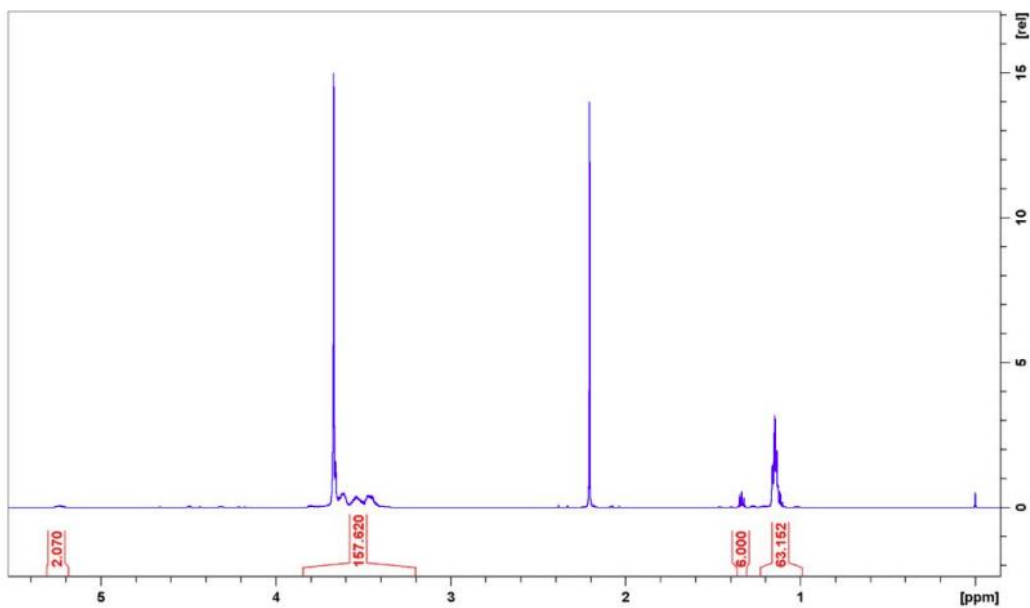


4. ábra: 3. minta RPE1740 (17R4) ^1H -NMR spektruma

4. minta: RPE1740 (A) mérései

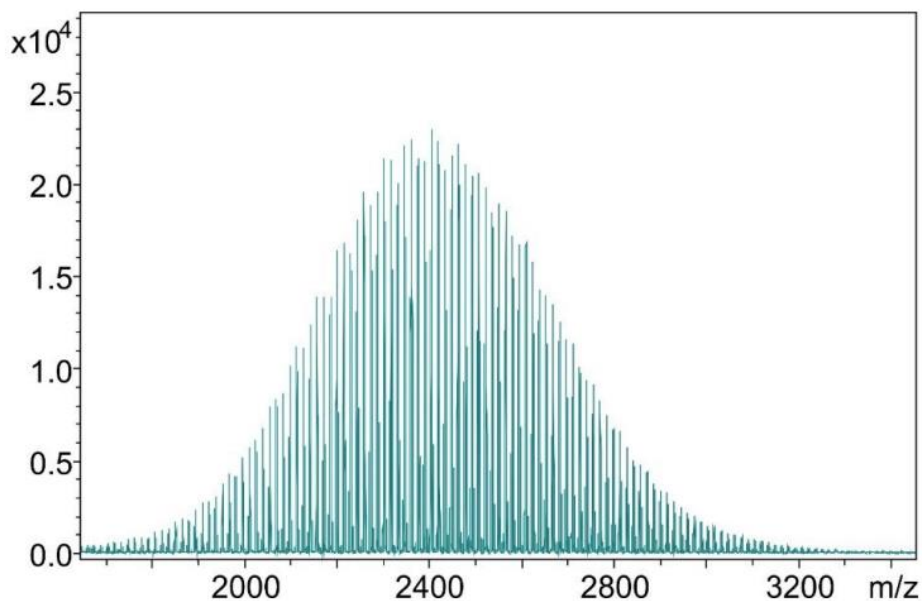


5. ábra: 4. minta RPE1740 (A) tömegspektruma

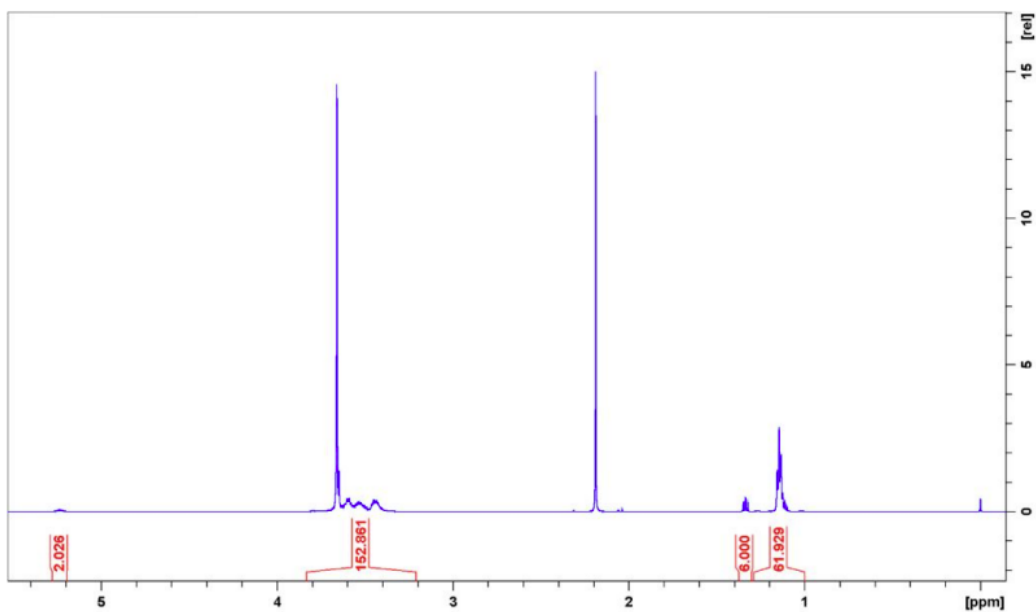


6. ábra: 4. minta RPE1740 (A) ^1H -NMR spektruma

5. minta: RPE1740 mérései

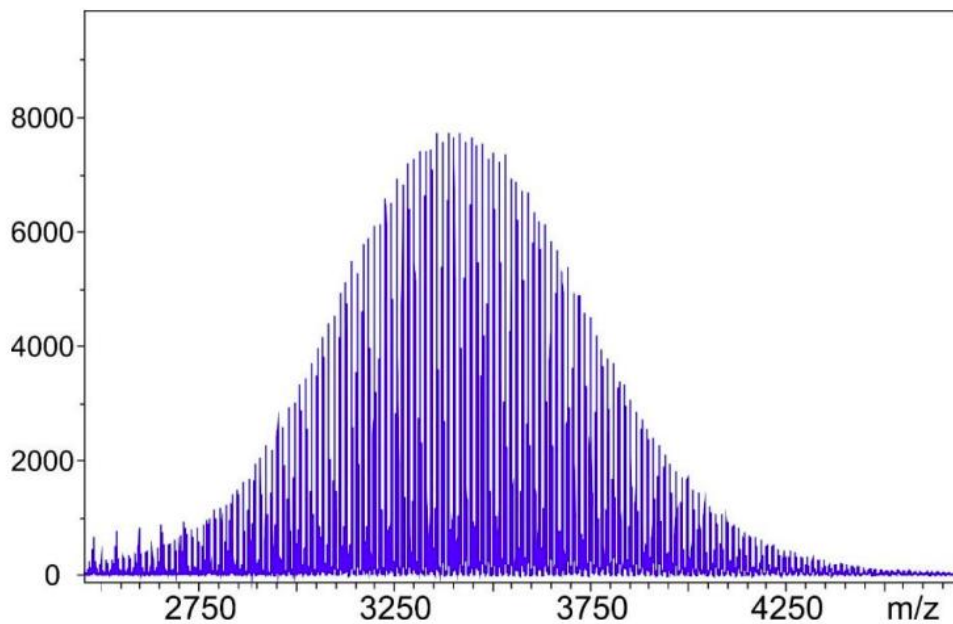


7. ábra: 5. minta RPE1740 tömegspektruma

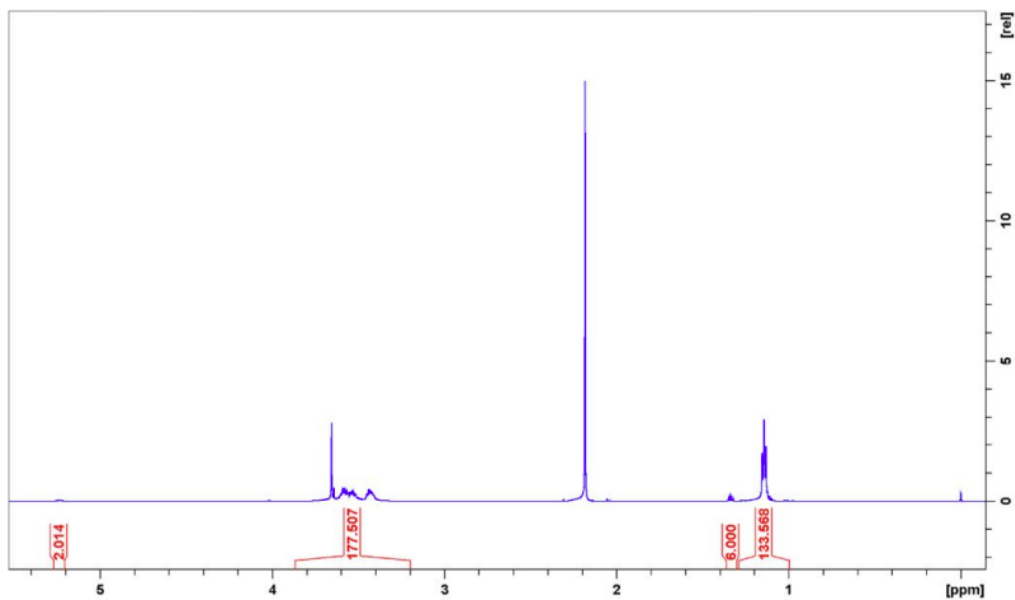


8. ábra: 5. minta RPE1740 ^1H -NMR spektruma

6. minta: RPE3110 mérései

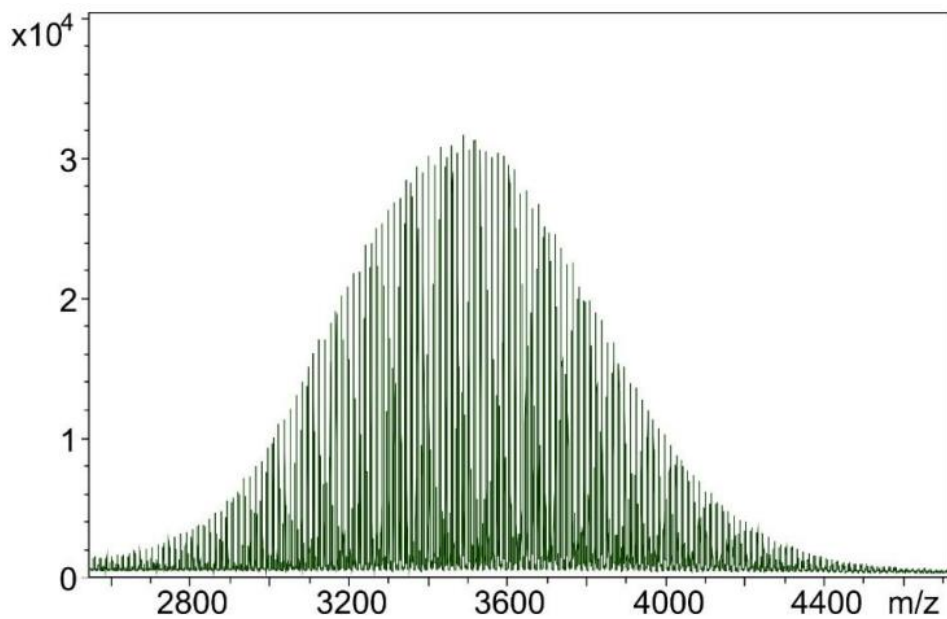


9. ábra: 6.minta RPE3110 tömegspektruma

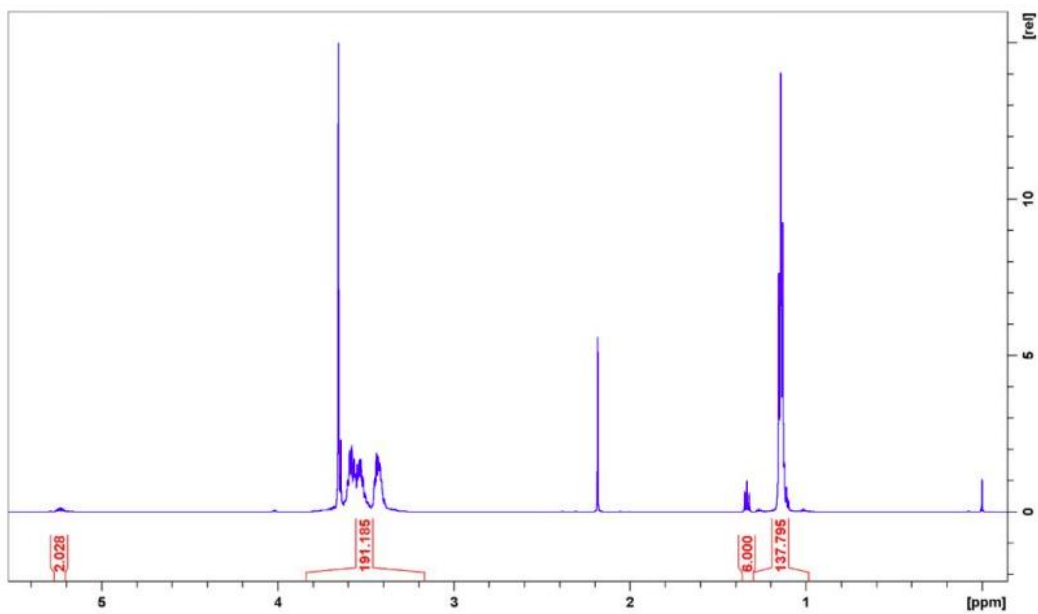


10. ábra: 6.minta RPE3110 ¹H-NMR spektruma

7. minta: RPE3110 (31R1) mérései

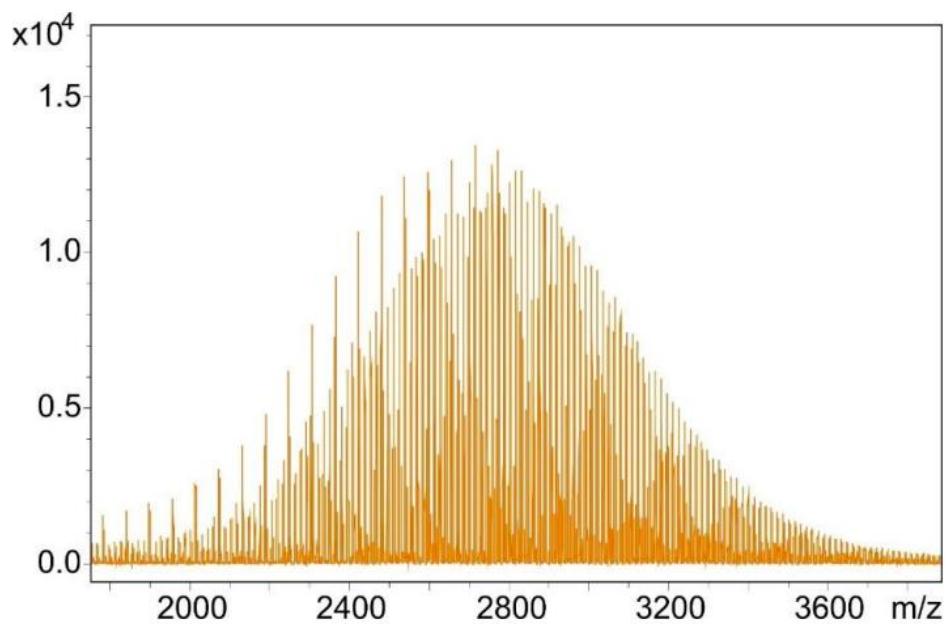


11. ábra: 7. minta RPE3110 (31R1) tömegspektruma

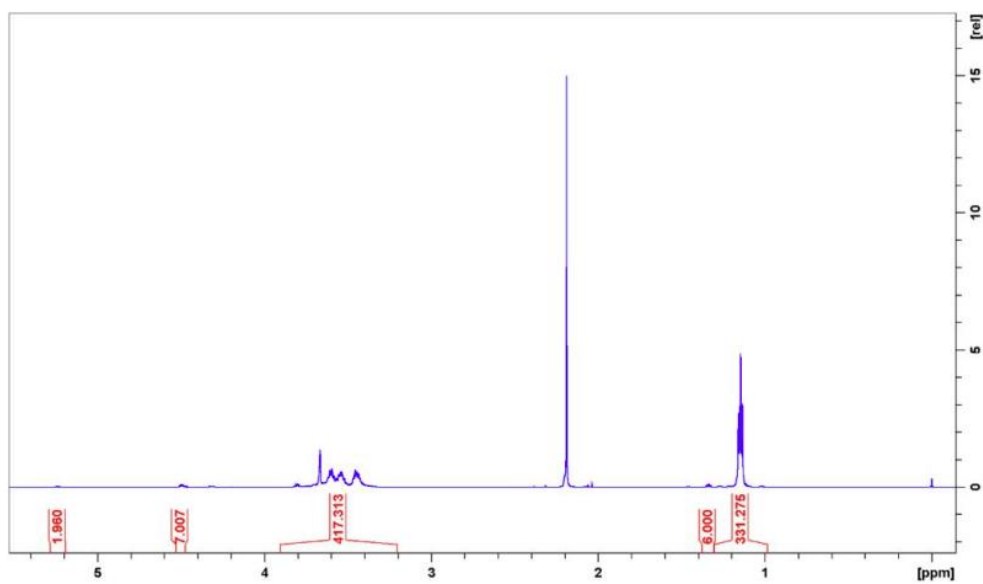


12. ábra: 7. minta RPE3110 (31R1) ^1H -NMR spektruma

8. minta: PE8100 (A) mérései

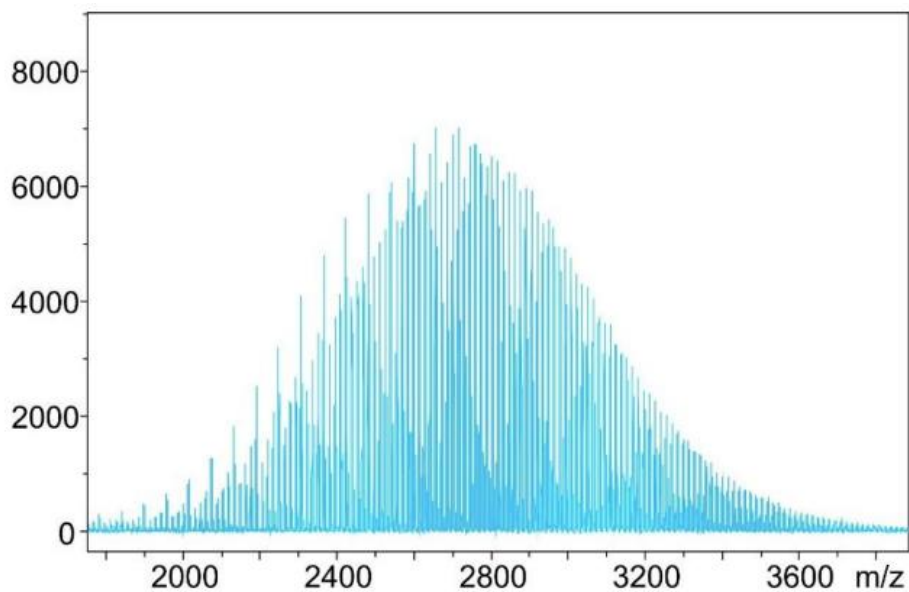


13. ábra: 8. minta PE8100 (A) tömegspektruma

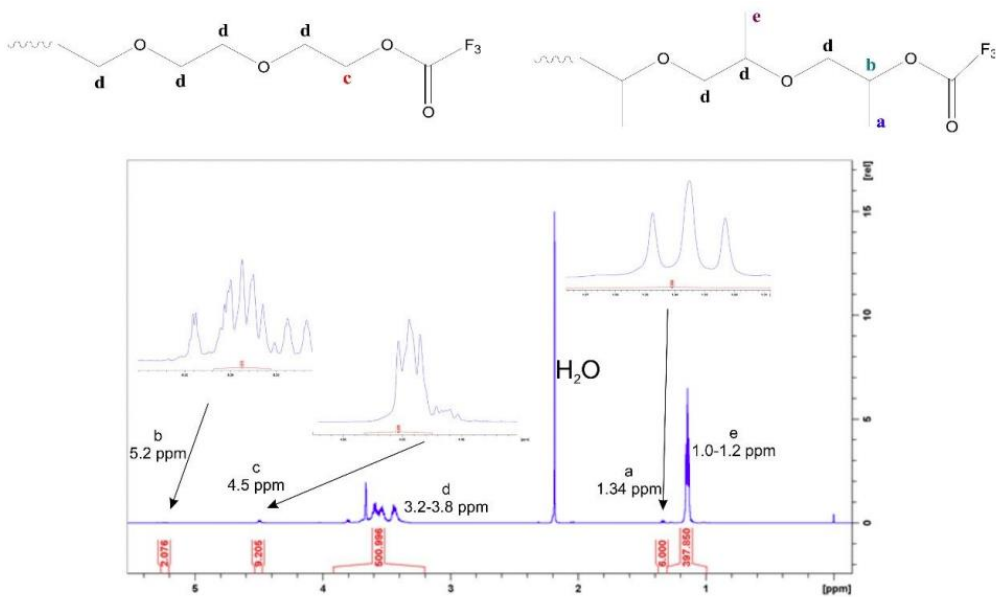


14. ábra: 8. minta PE8100 (A) ^1H -NMR spektruma

9. minta: PE8100 mérései



15. ábra: 9. minta PE8100 tömegspektruma



16. ábra: 9. minta PE8100 ^1H -NMR spektruma asszignációkkal

Validáláshoz kapcsolódó adatok:**1. táblázat: A ^1H -NMR és MALDI-TOF-MS mérésekből származó eredmények:**

Minta sorszáma	Minta neve	MALDI-TOF-MS		^1H -NMR	
		M_n	EO%	M_n	EO%
1	PE6400	2710	38.2	2680	40.3
2	PE6400 (L64)	2920	37.7	2830	38.8
3	RPE1740 (17R4)	2800	41.8	2750	42
4	RPE1740 (A)	2410	43.4	2400	43.4
5	RPE1740	2410	43.7	2330	42.9
6	RPE3110	3390	15.7	3230	14
7	RPE3110 (31R1)	3480	17.5	3390	17.3
8	PE8100 (A)	2760	10.3	2790	13.5
9	PE8100	2750	11.3	2760	13.6

Az első neurális háló tanításához használt adathalmaz:

2. táblázat: Az első neurális háló tanításához használt adathalmaz

		DMF 100%	ACN 60% H ₂ O 40%	THF 94% DMSO 5% Piperidin 1%	MS lineáris	NMR
Minta sor- száma	Minta neve	M _p	M _p	M _p	M _n	EO%
1	PE6400	2090	3630	2720	2780	40.3
2	PE6400 (L64)	2190	3890	3080	2930	38.8
3	RPE1740 (17R4)	1910	3980	2860	2890	42.0
4	RPE1740 (A)	1640	3370	2390	2520	43.4
5	RPE1740	1670	3360	2390	2560	42.9
6	RPE3110	1870	5200	2460	3380	14.0
7	RPE3110 (31R1)	1950	5460	3640	3520	17.3
8	PE8100 (A)	1480	4140	2740	2900	13.5
9	PE8100	1460	4080	2760	2790	13.6
10	RPE2520	1540	4150	2690	2770	23.4
11	RPE1720 (A)	1200	3190	2060	2140	29.9
12	RPE1720	1320	3450	2200	2270	28.2
13	PE6100 (A)	900	3090	1860	1890	12.4
14	PE6100	930	3140	1870	2040	12.0
15	PE6200	1690	3430	2480	2680	33.4
16	L35	1590	2480	1980	1960	50.4
17	PE/P84	3790	6150	5300	5160	46.3
18	L121	2720	6890	5170	4410	15.8
19	PE6120 (A)	900	3090	1850	1900	12.3
20	P123	4710	8370	7270	7000	35.6
21	F68	8670	10040	9840	9250	80.7
22	F127	12040	13520	13800	12560	72.7
23	PE3500 (A)	1440	2300	1830	1750	54.1
24	PE4300 (A)	1160	2380	1690	1740	36.8

**2. táblázat: Az első neurális háló tanításához használt adathalmaz
(folytatása)**

		DMF 100%	ACN 60% H ₂ O 40%	THF 94% DMSO 5% Piperidin 1%	MS lineáris	NMR
Minta sor- száma	Minta neve	M _p	M _p	M _p	M _n	EO%
27	PE3100 (A)	460	1790	1080	1220	14.99
28	PE3100	470	1790	1060	1110	14.7
29	PE4300	1170	2400	1650	1710	34.2
30	PE10400	5150	8410	7430	7160	43.8
31	PE10500	5870	8740	8020	7510	52.1
32	PE10100	2120	5420	4020	3960	14.1
33	PE9400	3820	6100	5080	5150	48.0
34	16 és 23 keveréke	1540	2310	1860	1820	50.6
35	3 és 5 keveréke	1800	3450	2620	2650	45.7
36	3 és 4 keveréke	1770	3390	2580	2600	45.7
37	1 és 2 keveréke	2110	3470	2830	2930	39.2
38	6 és 7 keveréke	1890	4600	3480	3550	16.9
39	11 és 12 keveréke	1270	2960	2150	2200	29.7
40	4 és 5 keveréke	1640	3030	2350	2450	46.5
41	24 és 29 keveréke	1140	2170	1680	1670	34.0
42	13 és 14 keveréke	900	2710	1900	1880	10.9
43	8 és 9 keveréke	1450	3680	2720	2720	14.8
44	27 és 28 keveréke	450	1570	1120	1100	14.3
45	10 1. frakciója	1390	3260	2450	2300	27.2

**2. táblázat: Az első neurális háló tanításához használt adathalmaz
(folytatása)**

		DMF 100%	ACN 60% H ₂ O 40%	THF 94% DMSO 5% Piperidin 1%	MS lineáris	NMR
Minta sor- száma	Minta neve	M _p	M _p	M _p	M _n	EO%
46	10 2. frakciója	1490	3590	2700	2630	24.4
47	10 3. frakciója	1610	3960	2930	2910	21.1
48	15 1. frakciója	1670	3450	2540	2510	27.2
49	15 2. frakciója	1670	3230	2700	2670	23.8
50	PEG1500	1450	1450	1450	1420	100.0
51	PEG1540	1490	1450	1480	1520	100.0
52	PEG3000	2970	3020	3020	3090	100.0
53	PEG3400	3260	3300	3240	3430	100.0
54	PEG4000	3860	3920	3930	4020	100.0
55	PEG6000	6040	5740	5890	6050	100.0
56	PEG6000	6450	6280	6290	6310	100.0
57	PEG8000	9010	8670	8810	8690	100.0
58	PPG900	400	1600	840	900	0.0
59	PPG1000	400	1820	1040	1030	0.0
60	PPG2000	900	3350	1830	2080	0.0
61	PPG2000	890	3360	2010	2090	0.0

A második neurális háló tanításához használt adathalmaz:

3. táblázat: A második neurális háló tanításához használt adathalmaz

		DMF 100%	ACN 60% H2O 40%	THF 94% DMSO 5% Piperidin 1%	rever- zítás	MS reflektoron			
Minta sor- száma	Minta neve	M _p	M _p	M _p	reverz =1	n _{nPO}	n _{wPO}	n _{nEO}	n _{wEO}
1	PE6400	2090	3630	2720	0	28.6	29	23.3	27.0
2	PE6400 (L64)	2190	3890	3080	0	31.3	31.7	25.5	28.4
3	RPE1740 (17R4)	1910	3980	2860	1	27.8	28.4	26.4	27.0
4	RPE1740 (A)	1640	3370	2390	1	23.3	23.8	23.6	24.1
5	RPE1740	1670	3360	2390	1	23.2	23.6	23.8	24.2
6	RPE3110	1870	5200	2460	1	49.0	49.5	12.1	12.8
7	RPE3110 (31R1)	1950	5460	3640	1	49.2	49.7	13.8	14.3
8	PE8100 (A)	1480	4140	2740	0	42.4	43.0	6.4	9.1
9	PE8100	1460	4080	2760	0	41.7	42.2	7.0	9.7
10	RPE2520	1540	4150	2690	1	37.0	37.5	12.2	12.8
11	RPE1720 (A)	1200	3190	2060	1	27.0	27.7	11.3	12.0
12	RPE1720	1320	3450	2200	1	29.3	30.0	12.3	13.1
13	PE6100 (A)	900	3090	1860	0	28.8	29.7	2.1	4.6
14	PE6100	930	3140	1870	0	30.4	31.1	2.8	5.3
15	PE6200	1690	3430	2480	0	29.7	30.1	17.5	19.9
16	L35	1590	2480	1980	0	16.0	16.4	20.4	24.6
17	PE/P84	3790	6150	5300	0	59.4	61.3	36.3	38.3
18	L121	2720	6890	5170	0	73.7	74.0	12.5	15.4
19	PE6120 (A)	900	3090	1850	0	28.6	29.7	2.1	4.6
23	PE3500 (A)	1440	2300	1830	0	13.5	14.9	14.9	20.7

**3. táblázat: A második neurális háló tanításához használt adathalmaz
(folytatás)**

		DMF 100%	ACN 60% H2O 40%	THF 94% DMSO 5% Piperidin 1%	rever- zítás	MS reflektoron			
Minta sor- száma	Minta neve	M _p	M _p	M _p	reverz =1	n _{nPO}	n _{wPO}	n _{nEO}	n _{wEO}
24	PE4300 (A)	1160	2380	1690	0	16.9	18.0	9.6	13.8
25	RPE2525 (A)	1200	3130	2030	1	25.9	26.5	11.5	12.1
27	PE3100 (A)	460	1790	1080	0	15.5	16.1	1.6	3.8
28	PE3100	470	1790	1060	0	16.1	16.5	2.0	4.3
29	PE4300	1170	2400	1650	0	18.5	19.0	9.4	13.4
34	16 és 23 keveréke	1540	2310	1860	0	15.6	15.9	22.7	26.7
35	3 és 5 keveréke	1800	3450	2620	1	27.6	28.2	26.2	26.8
36	3 és 4 keveréke	1770	3390	2580	1	27.4	28.1	26.1	26.7
37	1 és 2 keveréke	2110	3470	2830	0	30.1	30.5	28.1	30.6
38	6 és 7 keveréke	1890	4600	3480	1	51.0	51.5	13.4	13.8
39	11 és 12 keveréke	1270	2960	2150	1	28.6	29.2	12.0	12.6
40	4 és 5 keveréke	1640	3030	2350	1	23.5	24.0	24.0	24.5
41	24 és 29 keveréke	1140	2170	1680	0	18.8	19.3	10.7	15.6
42	13 és 14 keveréke	900	2710	1900	0	31.8	32.3	2.5	4.8
43	8 és 9 keveréke	1450	3680	2720	0	43.4	43.9	6.7	9.8
44	27 és 28 keveréke	450	1570	1120	0	16.0	16.4	1.1	3.1
45	10 1. frakciója	1390	3260	2450	1	32.0	32.1	12.8	13.2

**3. táblázat: A második neurális háló tanításához használt adathalmaz
(folytatás)**

		DMF 100%	ACN 60% H2O 40%	THF 94% DMSO 5% Piperidin 1%	rever- zítás	MS reflektoron			
Minta sor- száma	Minta neve	M _p	M _p	M _p	reverz =1	n _{nPO}	n _{wPO}	n _{nEO}	n _{wEO}
46	10 2. frakciója	1490	3590	2700	1	36.6	36.7	12.6	13.0
47	10 3. frakciója	1610	3960	2930	1	41.9	42.0	12.3	12.7
48	15 1. frakciója	1670	3450	2540	0	31.9	32.0	16.0	19.1
49	15 2. frakciója	1670	3230	2700	0	36.0	36.1	14.8	17.5
50	PEG1500	1450	1450	1450	0	0.0	0.0	30.1	31.1
51	PEG1540	1490	1450	1480	0	0.0	0.0	31.5	32.2
52	PEG3000	2970	3020	3020	0	0.0	0.0	70.3	70.8
53	PEG3400	3260	3300	3240	0	0.0	0.0	78	78.8
54	PEG4000	3860	3920	3930	0	0.0	0.0	90.8	91.5
58	PPG900	400	1600	840	1	15.6	16.1	0.0	0.0
59	PPG1000	400	1820	1040	1	17.8	18.5	0.0	0.0
60	PPG2000	900	3350	1830	1	35.8	36.6	0.0	0.0
61	PPG2000	890	3360	2010	1	36.1	36.7	0.0	0.0