

NIR tartományba emittáló fluoreszcens vegyületek előállítása és szerkezetvizsgálata

Synthesis and structural investigation of NIR emitting compounds

SISA Richárd

richardsisa@gmail.com

Babes-Bolyai Tudományegyetem, Kémia és Vegyészmérnöki kar

Vezető tanára: Dr. BRÉM Balázs

Kivonat

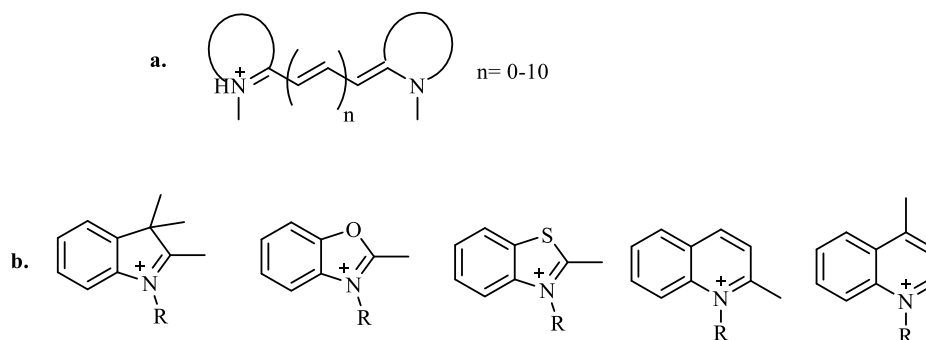
Di-, penta- és heptametin cianin származékok szintézisét különböző eljárásokkal valósítottuk meg, minden vegyület esetében fenil hidrazinból kiindulva. Első lépésként gyűrűzárási reakcióval trimetil indolént állítottunk elő, melyet kvaterner ammónium származékká alakítottunk metil jodid használatával. A tetrametil indolén sokat kondenzációs reakcióba vittük kiterjedt konjugációjú "linker" molekulákat alkalmazva. A dimetin vegyületek esetében a kvaterner ammónium sót aromás aldehidekkel kondenzáltattuk. Az előállított cianin festékek fotofizikai tulajdonságait vizsgáltuk, az oldószer hatást mind az elnyelési mind az emissziós spektrumban tanulmányoztuk.

Kulcsszavak: fluoreszcens vegyületek, NIR tartomány, polimetilén cianin festékek, szolvatokrómia

1. BEVEZETŐ

1.1. Cianin festékek

Azon szerves vegyületek, amelyek szerkezetében egy polimetilén lánc köt össze egy donor és akceptor csoportot polimetilén festékeknek nevezük. Az elektron donor csoport rendszerint olyan heteroatomot tartalmaz, melynek kötésben részt nem vevő/szabad elektronpárja(i) van(nak) például N, S, O; míg az akceptor csoportban egy erős elektronegativitású, sp^2 -es hibridizációjú heteroatom található. Ezen osztályon belül beszélhetünk cianin festékekről, melyekben a donor és akceptor atom egyaránt nitrogén. A két nitrogén tartalmú heterociklusos molekulát összekötő telítetlen lánc hossza 0-tól 10 metilén csoportig változhat^[1] (1. ábra). Ezeket a festékeket a metilén láncon lévő szénatomok száma szerint nevezzük el, például, ha hét C atom köti össze a molekula két végét akkor heptametin cianin festékről beszélünk, ha kettő akkor dimetin cianin festékekkel van dolgunk.



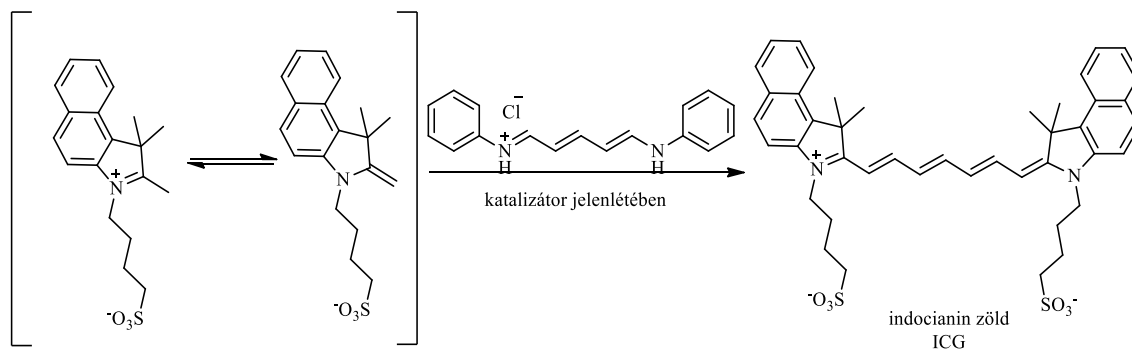
1. ábra

Polimetilén cianin festékek általános szerkezete (a),
A legtöbbet kutatott cianin festékek kiindulási anyagai (b)

2. POLIMETIN CIANIN FESTÉKEK ELŐÁLLÍTÁSA ÉS FUNKCIONALIZÁLÁSA

2.1. Előállítás

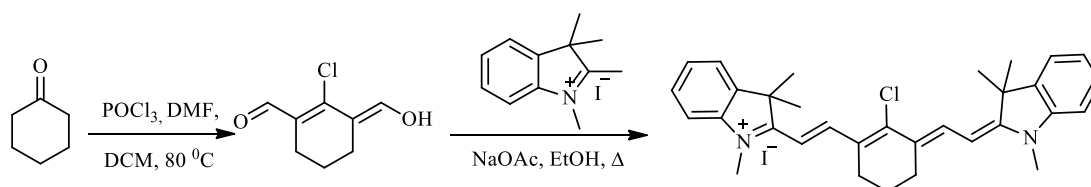
Az utóbbi két évtizedben egy újra felkarolt és sokat kutatott témává vált a 600 és 1200 nm között, azaz a NIR tartományban elnyelő festékek szintézise, a sokoldalú biológiai alkalmazhatóságuknak köszönhetően. A mono- és trimetin festékek előállítására számos módszert dolgoztak ki, a különböző nitrogén tartalmú heterociklusos vegyületek nukleofil jellegének kihasználásával egy telítetlen α, ω -dialdehid^[2], vagy az abból származtatott vegyülettel szemben, katalitikus kondenzációs reakció keretén belül.



2. ábra

Az ICG – indocyanine green/indocianin zöldként – előállítási reakciója

Az ICG egyik hátránya az alacsony emissziós intenzitás, amelyet egy belső konverzió okoz (magasabb energiaállapotból alacsonyabb energiaállapotba való átmenet fotonok kibocsátása nélkül), úgyszintén elmondható, hogy a vegyület alacsony fotofizikai és fotokémiai stabilitással bír. Mindezek ellenére rákos sejtek kimutatására is sikeresen alkalmazták az indocianin zöldet. Több próbálkozás volt az ICG fotokémiai stabilitásának növelésére is. Az egyik ilyen volt Patonay és Sterowski próbálkozása, amely során úgy sikerült stabilabbá tenni egy NIR festéket, hogy egy ciklohexil gyűrűt építettek be a molekula polimetilén „hidjába” (3. ábra) ^{[3] [4]}.

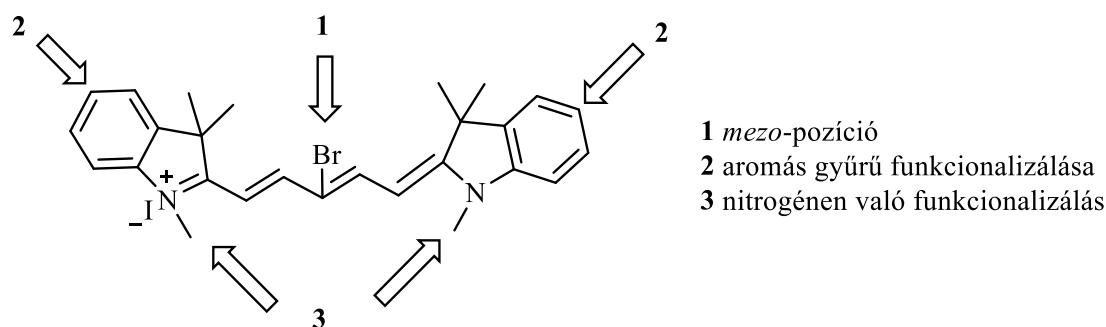


3. ábra

A Patonay és Sterowski által előállított heptametín cianin festék szerkezete

2.2. Polimetin cianin festékek funkcionálizálása

A NIR festékek strukturális sokszínűségét a heterociklus változtatásával érik el a legkönnyebben és a legtöbbször a gyakorlatban. Ebből kifolyólag az ilyen molekulákat három pozícióban lehet a leghatékonyabban funkcionálizálni: az aromás rendszeren, az úgynevezett *mezo*-pozícióban, valamint a heterociklusban részt vevő nitrogén atomon (4. ábra).



4. ábra

A polimetin cianin festékek funkcionálizálható pozíciói.

3. POLIMETILÉN CIANIN FESTÉKEK OPTIKAI TULAJDONSÁGAI

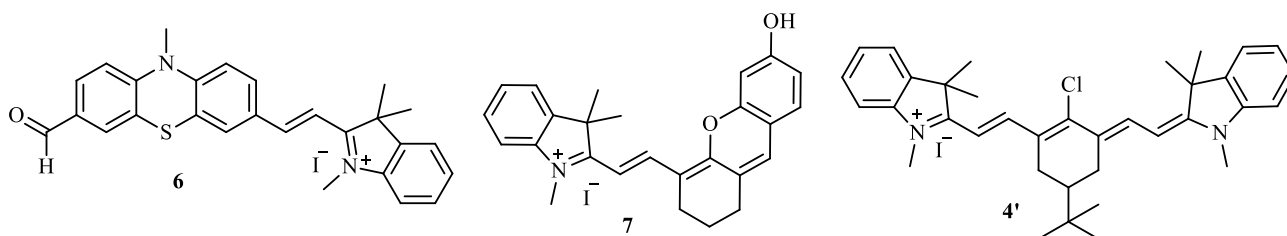
A polimetin festékek abszorpciós és emissziós maximumainak megváltoztatására két főbb módszert alkalmaznak, nevezetesen: a polimetilén „híd” hosszának változtatását, rendszerint minden egyes plusz metilén csoport 100 nm-es hullámhossz eltolódást eredményez és ezek számának a növelése a vegyület stabilitásának a csökkenését is előidézi; valamint saját konjugációval rendelkező funkciós csoportokkal való funkcionálizálást^[5]. Úgyszintén oldószer, valamint pH változtatással is könnyen befolyásolható a színezékek abszorpciós, illetve emissziós maximuma. A *mezo*-pozícióban szekunder vagy tercier aminokat tartalmazó festékek sokkal alacsonyabb hullámhosszon nyelnek el, mint a nem szubsztituált vegyületek, de sokkal intenzívebb fluoreszcenciát, és nagyobb Stokes eltolódással rendelkeznek. Főleg a biológiai alkalmazhatóság szempontjából fontos, hogy az előbb említett eltolódás minél nagyobb legyen, mivel így csökkenthető a háttérzaj, és a biomolekulák sokkal könnyebben jelölhetőek^[6].

4. KUTATÓMUNKA KIVITELEZÉSE, ELÉRT EREDMÉNYEK KIÉRTÉKELÉSE

4.1. A vegyületek szintézise

A kutató munka során cél volt heteroaromás csoportokat tartalmazó polimetin cianin festék előállítás, a vegyületek vízoldékonyságának a növelése, valamint ezen vegyületek fotofizikai tulajdonságainak a tanulmányozása- szolvatokrómia.

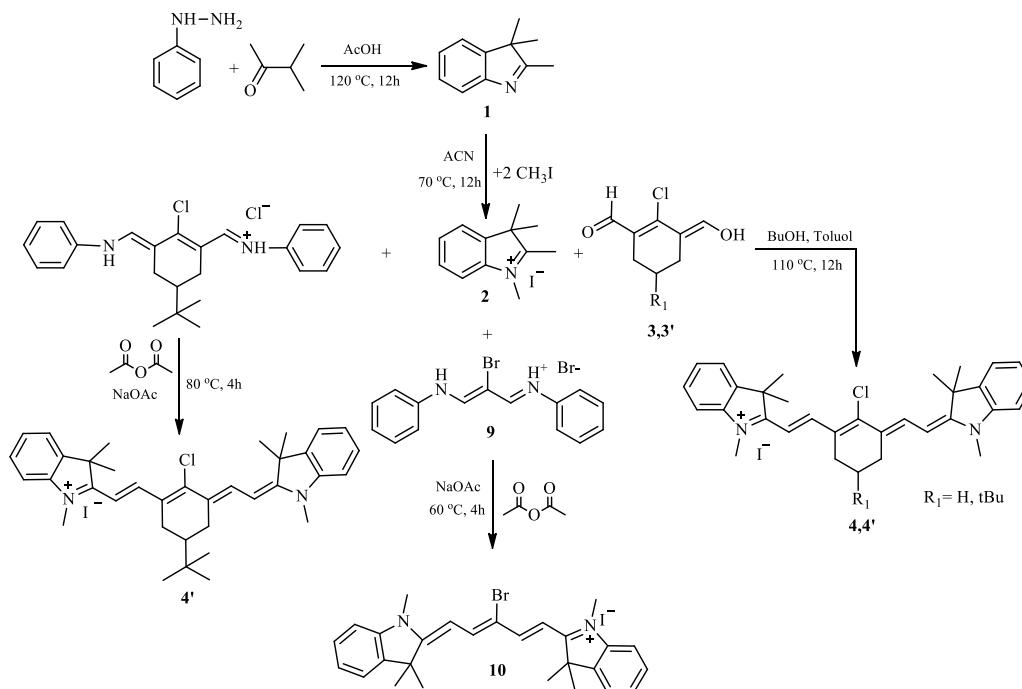
Mindezek alapján az 5. ábrán feltüntetett vegyületeket választottuk célvegyületeknek.



5. ábra

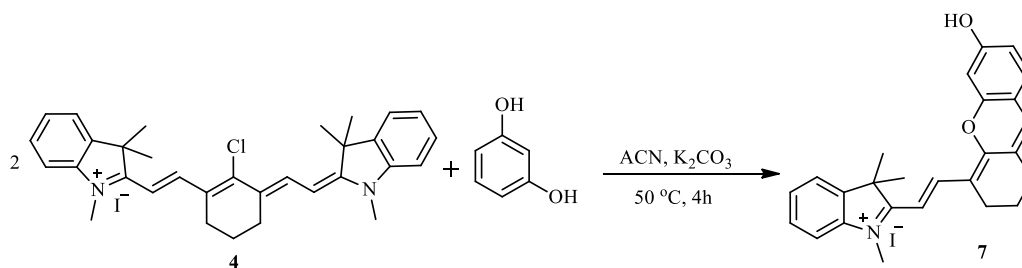
A kitűzött célvegyületek szerkezete és számozása

A 4'-es vegyület szintézisét két különböző szintetikus úton is megvalósítottuk. Első lépésben a 2,3,3-trimetil-indolént (1) állítottuk elő fenil-hidrazin és izopropil-metil-ke-ton kondenzációs reakciójával. Ezt követően egy kvaterner ammónium só (2) képeztünk metil-jodiddal való N-alkilezési reakció során, így próbálva megnövelni a kiinduló- és a célvegyület vízoldékonyságát. A szimmetrikus heptametin cianin festék (4') előállítás érdekében 2-klór-1-formil-3-hidroxitmetilén-5-tercbutil-ciklohexénnel (5') reagáltattunk két ekvivalens 1,2,3,3-tertrametil-indolium-jodiddal, butanol és toluol elegyét használva reakcióközegként (6. ábra).



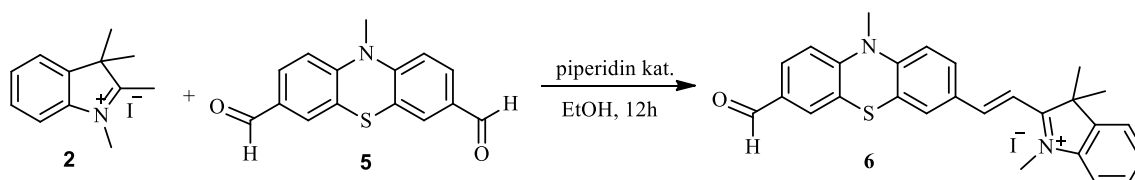
6. ábra
Heptametin származékok és pentametin cianin előállítása

A 7-es célvegyületet a 2-klór-3-(2-(1,3,3-trimetilindolin-2-ilidén)etilidén)ciklohex-1-én-1-il)vinil)-1,3,3-trimetil-3H-indol-1-ium jodid (4) rezorcinnal történő gyűrűzárásával kaptuk acetonitrilben melegítve, bázis jelenlétében (7. ábra).



7. ábra
Dimetylen cianin előállítása heptametylen cianinból

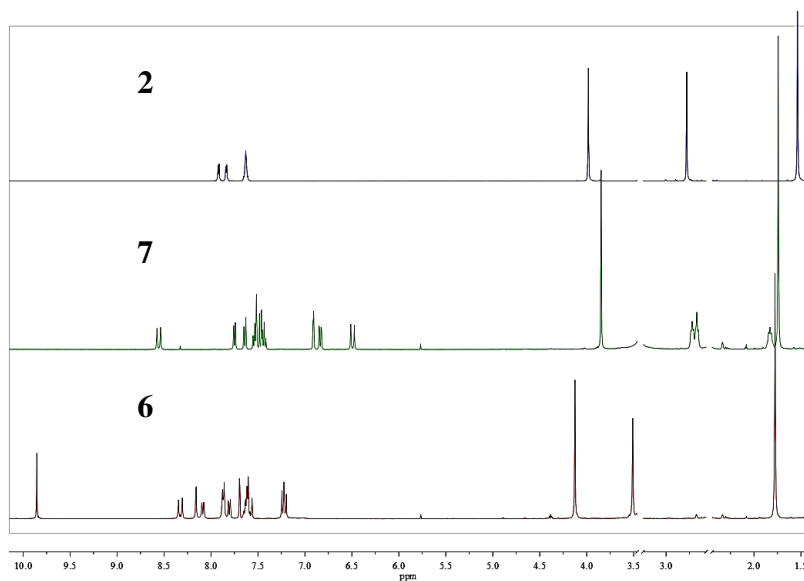
A fenotiazin alapú polimetylen cianin, NIR tartományban emittáló vegyület szintéziséhez több szintetikus lépésben előállított 3,7-diformil-10-metil-fenotiazint használtuk kiinduló anyagként, amelyet 1,2,3,3-tetrametil-indolium-jodiddal (2) reagáltatva, piperidint használva katalizátorként, megkaptuk a fenotiazin alapú dimetylen cianin célvegyületünket (8. ábra).



8. ábra
Fenotiazinil dimetylen cianin szintézise

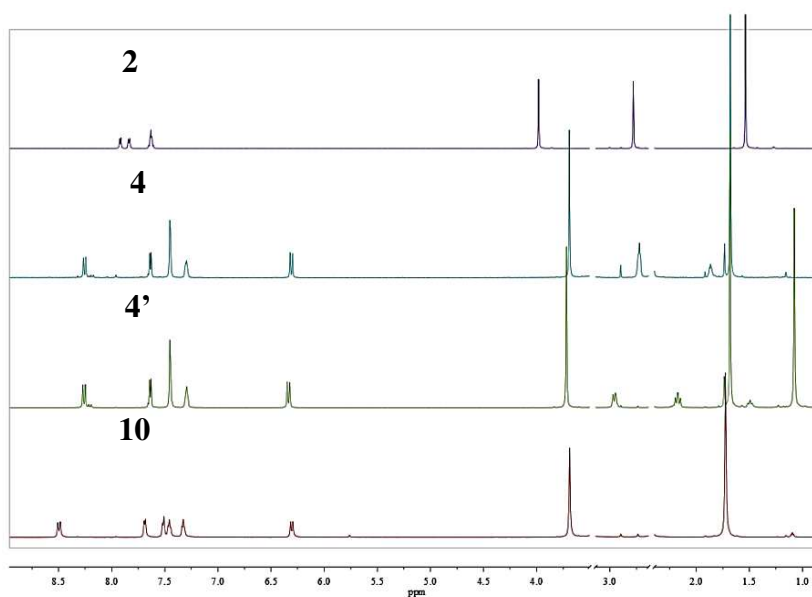
4.2. A vegyületek szerkezetének és fotofizikai tulajdonságainak a vizsgálata

Az előállított vegyületek szerkezetvizsgálata NMR, mono-, és kétdimenziós (^1H , ^{13}C , COSY, HMQC), FT-IR, UV-Vis, fluoreszcencia- illetve tömegspektroszkópiás (HRMS) módszerekkel történt. A **6**-os vegyület proton NMR spektrumában 8,33 ppm-nél az etilén csoport indolén vázhoz közelebbi protonjának a jele, dublettként jelentkezik, csatolási állandója 14 Hz, ami azt bizonyítja, hogy deuterált DMSO oldatban az *E* izomer van jelen (9. ábra).



9. ábra
2, 6, 7 vegyületek ^1H -NMR spektrumai (DMSO- d_6 , 600MHz)

A heptametilén és pentametilén származékok ^1H -NMR spektrumait a 10. ábrán van bemutatva, a kiindulási vegyület (**2**) NMR spektrumával együtt (10. ábra).



10. ábra
2, 4, 4', 10 vegyületek ^1H -NMR spektrumai (DMSO- d_6 , 600MHz)

A **4**, **4'**, **10**-es vegyületekre nagyfokú szimmetria jellemző, ezért az ¹H-NMR-ben alacsony a jelek felhasadásának mértéke. A **4'**-es heptametilén szerkezetében a legárnyékoltabb jelet a tercbutil csoport protonjai adják, 1,07 ppm-nél, a legkevésbé árnyékolt jelet pedig az etilén csoport klórciklohexilhez közelebbi protonja adja 7,25 ppm-nél. Az etilénecsoporthoz közelebbi protonjának a jele 6,34 ppm-nél szintén dublett-ként jelentkezik. Mindkét jel esetében a csatolási állandó 14 Hz.

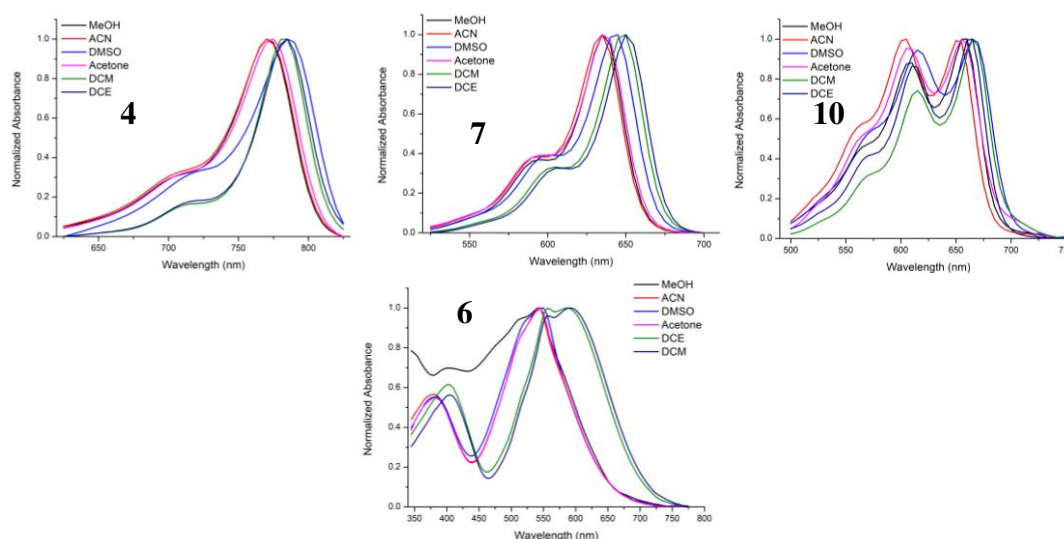
4.3. Fotofizikai tulajdonságok vizsgálata

Az előállított színezékmolekuláknak az abszorpciós és emissziós spektrumát azonos koncentrációban tanulmányoztuk, diklórometán oldószert alkalmazva (1. táblázat).

1. táblázat: Az előállított vegyületek fotofizikai jellemzői (DCM, $1 \cdot 10^{-5}$ M)

Vegyület	$\lambda_{\text{absz}}(\text{nm})$	$\lambda_{\text{em}}(\text{nm})$	$\epsilon (\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$	Stokes eltolódás (cm^{-1})
6	403/585	-	24125	-
4	717/780	802	194150	352
4'	717/781	803	196740	351
7	565/610/660	676/737	72033	359
10	600/650	677/725	212060	614

Szolvatokrómias vizsgálatokat metanolban (MeOH), acetonitrilben (ACN), dimetil-szulfidban (DMSO), acetonban és diklóretánban (DCE) végeztük. A heptametilén ciáninok (**4**, **4'**) esetében az abszorpciós maximum 765 nm-nél jelentkezik, ha oldószerként poláris oldószereket használtunk (MeOH, ACN), a DMSO esetében minimális batokrom eltolódás észlelhető, míg halogénezett oldószerek használata esetén az abszorpciós sáv 15 nm-rel tolódik el a NIR tartomány felé. A pentametilén származékunk (**10**) esetében is ez a tendencia érvényesült. A legnagyobb batokrom eltolódást a fenotiazinil dimetilén származék (**6**) esetében tapasztaltuk (50 nm) (11. ábra).



11. ábra

A **4**, **6**, **7**, **10** polimetilén származékok UV-Vis spektrumai különböző oldószerekben (0,2 mM)

5. KÖVETKEZTETÉSEK

A cél vegyületek szintézisét sikeresen megvalósítottuk, a szerkezetüket különböző szerkezetvizsgálati módszerekkel igazoltuk. Fotofizikai tulajdonságaikat UV-Vis, valamint fluoreszcencia spektroszkópiás mérésekkel vizsgáltunk. Mindezek alapján elmondható, hogy bár az általunk előállított polimetilén cianin festékek kis Stokes eltolódással rendelkeznek, ezek a kiterjedt konjugációval rendelkező festékek kitűnően alkalmazhatóak jelzővegyületként, mivel a moláris abszorptivitásuk kellően nagy. Továbbá sikeresen szintetizáltunk fenotiazin alapú dimetin cianin festéket is (6). A szolvatokrómiás effektusok vizsgálata során kiderült, hogy ezen molekulák mindegyikének eltolható az abszorpciós maximuma a vörös tartomány felé, halogénezett oldószer használatával.

6. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- [1] Patonay G., Salon J., Sowell J., Strekowski L., *Noncovalent Labeling of Biomolecules with Red and Near-Infrared Dyes Molecules*, **2004**, 9, 40–49.
- [2] Strekowski L., Lipowska M., Patonay G., *Facile derivatizations of heptamethine cyanine dyes*, *Synthetic Commun.*, **1992**, 22, 2593–2598.
- [3] Strekowski L., Mason J. C., Lee H., Say M., Patonay G., *Water-soluble pH-sensitive 2, 6-bis (substituted ethylidene)-cyclohexanone/hydroxy cyanine dyes that absorb in the visible/near-infrared regions*, *J. Heterocyclic Chem.*, **2004**, 41, 227–232.
- [4] Mojzych M., Henary M., *Synthesis of cyanine dyes*, *Top. Heterocycl. Chem.*, **2008**, 14, 1–9.
- [5] Fabian J., Nakazumi H., Matsuoka M., *Near-infrared absorbing dyes*, *Chem. Rev.*, **1992**, 92, 1197–1226.
- [6] Lakowicz J. R., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd ed.; Springer, **2009**.

Romániában termesztett borszőlők íz- és aromaanyagainak a tanulmányozása

Study of the flavors and volatile compounds of wine grapes grown in Romania

STELCZNER Norbert

robert.stelczner@stud.ubbcluj.ro

Babes-Bolyai Tudományegyetem, Kémia és Vegyészmérnöki kar

Vezető tanára: Dr. GÁL Emese

Kivonat

Kutatómunkánk során különböző borszőlők folyadék-folyadék extrakcióját végeztük el, amely során a gyümölcs héjából és pépjéből sikeresen azonosítottuk és kvantifikáltuk azon szerves vegyületeket, amelyek a szőlők, valamint a belőle készülő borok ízéért felelősek. Laboratóriumi munkánk során standard vegyületek kalibrációs görbét vettük fel, amelyek alapján a kvantifikálást végeztük. Kidolgoztunk egy gázkromatográfia-tömegspektrometriás analitikai módszert, amellyel a vizsgált szőlő mintákban átlagban mintegy 50 vegyületnek a mennyiségi meghatározását sikerült megvalósítani. Az általunk vizsgált szőlőfajták mindenképpen megtalálhatóak az aromát, illetve ízt biztosító vegyületek, úgy, mint az alkoholok, savak, aldehidek, terpének, meghatározó paraméter az a koncentráció béli különbség.

Kulcsszavak: folyadék-folyadék extrakció, GC-MS, aroma anyagok, szőlő

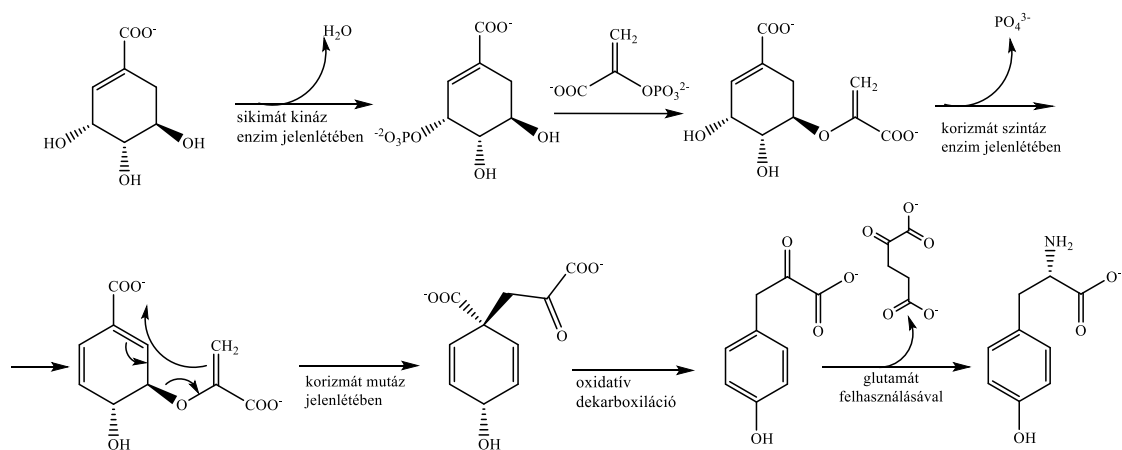
1. BEVEZETŐ

1.2. A szőlő felépítése kémiai szempontból

A szőlő az egyik legrégebb óta termesztett gyümölcs, két nagy csoportra osztható: csemegeszőlő és a bortermelő szőlő (*Vitis vinifera*). Legismertebb felhasználása a borkészítésben van, ezért ennek a csoportnak a tanulmányozása sokkal gyakoribb. A szőlő, és ez által a bor ízét is az aromavegyületek határozzák meg, éppen ezért több kutatást is végeztek és végeznek mai napig, annak érdekében, hogy ezeket a vegyületek elemezzék és meghatározzák szerepüket úgy a szőlő, mint a bor szempontjából. Számos vegyületsaladot azonosítottak, amelyek felelősek a szőlők ízvilágáért. Az észterek és a terpének például a zamatos, virágos karakterhez járulnak hozzá, míg a hat szénatomos aldehidek és alkoholok a zöld leveles aromáért. Ezek mellett a 13 szénatomot tartalmazó aromás vegyületek általában hozzájárulnak a borok és szőlők bogyós, dohány, méz, balsamos és ibolya aromáihoz [1]. A legfontosabb aromavegyületek a gyümölcs bogyópépben és a héjban találhatóak szabad vagy kötött glikozidok formájában, mint a szőlő másodlagos metabolitjai, melyeket kemo-taxonómiai célokból is tanulmányoznak, ugyanis profiljuk jellemző a szőlő különböző fajtáira. A kötött glikozidos aromavegyületek nem illékonyak, ezért közvetlen módon nem járulnak hozzá a szőlő ízéhez, viszont hidrolízissel, a borkészítés során illékony formává alakulnak, így növelve a bor aromás jellegét. A borkészítés során a szőlőben található szabad és kötött vegyületek a borba kerülnek, és a fermentáció során létrejött vegyületekkel együtt alkotják a termék ízvilágát [2]. A gyümölcsben megtalálható vegyületek érzékelhetősége függ a koncentrációtól, tehát nem minden vegyület járul hozzá aktívan a szőlő ízéhez, mivel csak néhány van elégségesen nagy koncentrációban. Annak érdekében, hogy meg tudjuk mérni azt, hogy melyik vegyület milyen mértékben vesz részt a szőlő eszenciájában, bevezették az úgy nevezett „szag-aktivitási értéket”, amely egy arány az adott anyag koncentrációja és szagküszöb-koncentrációja között. A szagküszöb-koncentráció az a minimális koncentráció egy vegyület esetében, amelyet az emberi orr már érezni képes. Egy anyag egyénileg akkor járul hozzá a bor aromájához, amikor ez az érték nagyobb, mint 1 [3], [4].

A szőlőbogyó másodlagos metabolitjaiból származó aromavegyületek, amelyek illékony szerves anyagok, többek között terpének (monoterpének, szeszkviterpének és különböző szénatomszámot tartalmazó aromás vegyületek), a sikiminsavból (1. ábra) nyert származékok (illékony fenolok vagy benzol származékok), 6

szénatomos alifás vegyületek (aldehidek és alkoholok), illékony tiolok, (merkaptánok) és metoxi-pirazinok. A lipoxigenáz enzimmal katalizált zsírsavakból hidroperoxid termékek keletkeznek, melyeket a hidroperoxi-liáz lebontja 6 szénatomos alkoholokká, aldehidekké és észterekké, ezen molekulák az egyik legfontosabb forrásai a szőlő és a bor aroma és íz anyagainak. Ezen vegyületek jelenléte sok külső hatástól függ, ilyen tényezők első sorban a szőlő fajtája, és érettsége, majd az időjárási körülmények, az öntözés, a talajtípus, a napsütés, a hőmérséklet és a földrajzi elhelyezkedés. Ezek mellett pedig nagy befolyással rendelkezik még a szőlőtermesztési tevékenység is, vagyis a levelek eltávolítása, a növekedésszabályozó szerek, az ültetvények elhelyezése, a szabályozott öntözéshiány stb. [5], [6], [7], [8].



1. ábra
| Sikiminsav reakció út

A növekedési periódusban a szőlőfürt klorofilltartalmú növényként viselkedik, vagyis szénhidrátok és ezekből származó szerves anyagok képzésére használja fel a levegő szén-dioxid-tartalmát, a napfény 600-630 nanométer hullámhosszúságú sugarai hatására, amely viszont zsendüléskor megváltozik. Ez a folyamat hirtelen történik és mind a kinézete, mind az összetétele megváltozik a bogyónak. Többek között elveszti klorofilltartalmát és a flavon és antocianin pigmentek hatására színesedni kezd. A szőlőbogyó a növénynek az a része, ahol a cukor felhalmozódik, ezért a cukrok már a virágzáskor elkezdnek beáramolni a bogyóba, bár ekkor még csak lassan, viszont zsendüléskor ez a folyamat jelentősen felgyorsul és a glükóz, illetve fruktóz tartalom akár húszszorosára is nőhet. A bogyó savtartalma az érés folyamán csökken ez a következő folyamatoknak köszönhető: a bogyóban a víztartalom nő, ez által csökkentve a savkoncentrációt, a növény a légzés során lebontja a savakat, illetve a gyökerekből érkező bázisok látszólag lekötik, a legfontosabb szerves savak a borkősav, az almasav és a citromsav.

A szőlő héj kémiai összetételét nézve, legjelentősebb alkotó részei a sárga és vörös pigmentek, azaz a flavonok, amelyek a sárga színért felelős pigmentek, és az antociánok, a vörös pigmentek, ezek általában csak a héjban találhatóak meg, bár ritka esetben a bogyóhús is lehet színes, mint például festőszőlők esetében, valamint az elsődleges aroma anyagok.

A szőlőmag összetételére jellemző: 25-45 % víz, 34-36 % szénhidrát, 10-20 % olaj, 4-6 % cserzőanyag, 4-7 % nitrogén tartalmú vegyület, 2-4 % ásványi anyag, 1% zsírsav, viszont a szőlőmagok legfontosabb fenolos alkotórészei a leukoantocianinok [9].

2. AZ ILLÓANYAGOK EXTRAKCIÓS MÓDSZEREI ÉS HASZNÁLT KROMATOGRÁFIÁS MÓDSZEREK

A szőlő igen nagyszámú és nagyon sokféle szerves származékot tartalmaz, ezért több előkészítési módot is lehet alkalmazni, annak függvényében, hogy milyen célvegyület kimutatása a cél. A minta-előkészítés során a mátrix zavaró hatását a minimálisra kell csökkenteni, a célvegyületeket felszabadítjuk és szeparáljuk. A tiszta minta elkészítése azért hasznos lépés, mert így a szennyeződések nem terhelik feleslegesen az elválasztástechnikai berendezéseket, illetve így biztosítva van a műszerek védelme. A szerves anyagokat a mintából

extrakciós módszerekkel lehet kinyerni. Az extrakció lehet folyadék-folyadék extrakció, szilárd fázison történő extrakció, vagy szilárd fázisú mikroextrakció, stb [10].

A folyadék-folyadék extrakciós módszer előnye, hogy a szerves kivonat egyenesen alávethető kvantitatív analitikai eljárásoknak, mint például gáz- vagy folyadék kromatográfiának. A másik előnye abból fakad, hogy mivel régóta használatos módszer, ezért nagyon nagy irodalom áll rendelkezésre, így könnyebb kiválasztani a szerves oldószert, a megfelelő pH-t és a reagensek koncentrációját. Információt ad arról, hogy ezek hogyan befolyásolják a szelektivitást, illetve a kivonat mennyiségét. Hátránya, hogy főképp a természetes eredetű minták, mint például a szőlő, esetében az elválasztás lassú, és sok a szerves oldószert hulladék termelése során nyerhető analízisra használható minta [11], [12], [13].

A szilárd fázison történő extrakció (Solid Phase Extraction, SPE) a folyadék-folyadék extrakciós módszer helyettesítésére fejlesztették ki. Ez a módszer egyszerre tisztítja és bekonzentrálja a mintát, megfelelő oldószert használata esetén. A célvegyületeket szilárd fázison választjuk el. Megfelelő körülmények között a feloldott minta kölcsönhatásba kerül a szilárd fázissal, melyhez a mintha részecskéi különböző erősséggel kötődnek. Fontos, hogy a szilárd fázis megfelelően legyen megválasztva és egyensúlyban legyen a minta oldószereivel. Ez után a mozgó fázissal (oldószert, eluens) a minta összetevői elválaszthatók egymástól. Ennek a módszernek, SPE-nek, két változata ismeretes. Ez egyik módszer alapjául szolgál, a célvegyületek megkötődése a szilárd fázison, majd a szennyeződések lemosódása az oldószert folyamatos áramoltatása során. Ez után, megváltoztatva az oldószert, egy második lépésbe a célvegyületeket lemoszuk a szilárd fázisról. A másik változatban úgy választjuk meg a szilárd fázist, hogy ahhoz a célvegyületek ne kötődjenek, hanem az oldószertrel távozzanak, míg a szennyeződések visszamaradnak. Az első módszer előnye, hogy a minta térfogata elég nagy lehet, hátránya viszont, hogy több lépésből áll. A második módszer előnye az, hogy mivel csak egy lépésből áll, ezért csak egy oldószertre van szükség, viszont hátrány, hogy a célvegyületek felhígulva lehet csak visszanyerni. Annak ellenére, hogy a módszer egyszerű, a jól kivitelezhetőség érdekében több szempontot is figyelembe kell venni, mint például a megfelelően kiválasztott állófázis fontossága, ennek kapacitása és alkalmazhatósága a minta mennyiségével és koncentrációjával szemben.

A szilárd fázisú mikroextrakció (Solid Phase MicroExtraction, SPME) a szilárd fázison történő extrakció egy határesetének tekinthető. A szilárd fázison történő elválasztása különböző anyagkeverékeknek, oldatok és szilárd anyagok gőzterének elemzésére is alkalmazható. Az SPME legfontosabb eleme az ömlesztett kvarcszál, melynek felületére polimer folyadékfilmet rögzítenek, ez a rögzített állófázis. Ezt bemerítik a mintába állandó kevertetés mellett, majd erre abszorbeálódnak a szerves komponensek. Ezt követően a kvarcszálat a gázkromatográf injektorába helyezik, ahol a szerves komponensek deszorbeálódnak. Ha az oldathoz só adunk és beállítjuk a megfelelő pH-t, azzal felgyorsíthatjuk a komponensek abszorpcióját a kvarcszára.

A módszer előnye, hogy gyorsan előkészíthető vele a minta, nincs szükség oldószertre, nagyon szelektív, illetve kevés mintára van szükség. Mivel a szőlők illóanyagainak vizsgálatára általában gázkromatográfiát használnak, ezért az SPME módszer alkalmazása a minta-előkészítés során széles körben alkalmazott, mivel gyors és pontos kvantitatív analízis végezhető vele.

Az ily módon nyert mintákat kétféle képen lehet analízálni, annak függvényében, hogy milyen vegyületcsalád a célvegyület. A szőlő illóanyagainak elemzésére ajánlott a gázkromatográfiás eljárás, amely estében, ha a detektor szerepét tömegspektrométer tölti be, akkor GC-MS-ről beszélünk. A polifenolok, illetve az antociánok esetében a nagyhatékonyságú fordított fázisú folyadékkromatográfia (RP-HPLC) ajánlott, mivel ezek a vegyületek csökkent illékonysággal rendelkeznek, amely a gázkromatográfia alkalmazásánál alapfeltétel.

3. GYAKORLATI RÉSZ. A SZŐLŐ MINTÁK ELŐKÉSZÍTÉSE ÉS ANALÍZISE

A szüretet követően a mintákat -20°C tároltuk a feldolgozásig. A szőlőbogyók héját és magját elválasztottuk a péptől, majd ezeket külön tárolva. Laboratóriumi analízisnek 4 féle szőlőt használtunk, szeptember második felében a szőlőfürtök teljes érettségi állapotában, a kolozsvári USAMV Mezőgazdasági kar jóvoltából. Miután a minták kiolvadtak, a szőlők héját 48 órán keresztül a következő oldatban kevertettük, Erlenmeyer-lombikokban lezárva, az oldat tartalmazott 5 g/L borkósavat, 2 g/L nátrium-azidot és 10 g/L PVPP-t (polivinil-polipirrolidon), pH-ja pedig 3,2 volt. Két nap elteltével az oldatokat leszűrtem gravitációs szűrést alkalmazva, majd a szűrleteket extraháltam diklórmetánnal és a szerves fázisokat argon gáz alatt elpárologtattam, így megkapva a szabad formában jelen levő illóanyagokat. A mintákhoz végül mindkét esetben 200 μL diklórmetánt adtunk és ezek lettek elemezve GC-MS segítségével. A bogyópépeket kiolvadás után egy órán keresztül kevertettük mágneses keverőn egy 2 g/L-es nátrium-azid oldatban, Erlenmeyer-lombikokban. Ez után 15 percig centrifugáltunk minden oldatot 6000 fordulat/percen, majd 10-10 mL diklórmetánnal extraháltuk

őket és a szerves fázisokat ebben az esetben is elpárologtattuk argon gáz alatt, végül 200 µL diklórmetánt hozzájuk adva lettek elemezve GC-MS használatával.

Az analízis (GC-MS) során a következő paramétereket alkalmaztuk: oszlop a Carbowax típusú (DB WAX) Agilent, 30 m x 0,32 mm ID és 0,50 µm film vastagsága. A hordozó gáz 6,0 He 1.7 mL/min áramlási sebességgel volt használva. A minta injektálási paraméterek: 250°C injektor hőmérséklete, az ion forrás hőmérséklete 220°C, az interface hőmérséklete 250°C. Az oszlop hőmérsékleti programja a következő volt: 40°C (5 min), majd 4°C/min felfűtési sebességgel 220°C (15min). Injektált mennyiség: 1 µl (a fecskendő térfogata 10 µl) Injektálás módja: splitless.

A tömegspektrométer (MS Kvadrupól) analizátor T=230°C, MS ionforrás T=230°C (EI 70 eV), 35–500 m/z scan/s (TIC, MIC).

A következő táblázat összefoglalja, a felhasznált mennyiségeket az adott szőlőfajtából:

1. táblázat A felhasznált minták tömege

A szőlő fajtája	A héj tömege (g)	A pép tömege (g)
<i>Merlot</i>	18,810	17,111
<i>Pinot Noir</i>	18,982	18,219
<i>Shiraz</i>	13,083	59,614
<i>Kadarka (Cadarcă)</i>	19,836	46,488

A GC-MS analízis során a detektor által kapott spektrumokat úgynevezett GC-MS Postrun Analysis program segítségével dolgoztuk fel. A program lehetőséget nyújtott a detektor által kapott jelek integrálására és a kiintegrált jelek azonosítására a NIST147, és 27 adatbázisok alapján.

A szerves anyagok mennyiségi meghatározásának az érdekében kalibrációs görbe elkészítésére volt szükség, ami a külső standard módszerrel történt. Külső standardként a következő vegyületeket alkalmaztuk: 2-feniletanol, etil-dekanoátot, és butirolaktont, és belső standardnak 1-oktanolt használtunk. A kalibrációs görbét 5 pontban vettük fel, öt ismert koncentrációjú standard oldatnak határoztuk meg a területét. A kalibrációs görbe a terület- koncentráció függvénye. A kalibrációs görbék egyenletét 2. táblázat foglalja össze, melyet felhasználva meghatároztuk az azonosított vegyületek koncentrációját.

2. táblázat. A lineáris regresszió adatai.

Standard anyag	Intercept	Slope	R ²	Koncentráció tartomány (ug/L)
<i>Butirolakton</i>	-0,8469	-0,0152	0,9991	30-62000
<i>2-fenil etanol</i>	-0,2280	-0,0320	0,9972	64-12900
<i>Etil dekanoat</i>	-0,2282	-0,0015	0,9954	48-15000
<i>Isoamil alkohol</i>	0,0388	0,00038	0,9971	31-63000

A KAPOTT EREDMÉNYEK KIÉRTÉKELÉSE

Az első minta a Merlot volt, amely a nagy kékszőlő-fajták csoportjába tartozik, a vörösborszőlő-fajták egyike, bogyója nagy, vékony héjú. Ebből a fajtából készült bor sötét vörös, közepesen testes gyümölcsös kissé vaníliás tónusú. A fent leírt minta előkészítés alapján lett feldolgozva, az eredmények a 3-as táblázatban vannak összefoglalva.

3. táblázat. A Merlot szőlő szabad és kötött íz- aroma anyagainak a mennyiségi analízise

Merlot Alkoholok	A héjában, c (µg/L)		A pépben, c (µg/L)
	Szabad formában	Kötött formában	
1-hexanol	13,58±1,35	3,82±0,81	1,25±0,12
3-hexén-1-ol	6,21±0,03	1,40±0,10	-
(E)-2-hexén-1-ol	26,29±0,73	7,54±1,29	1,85±0,01
(Z)-2-hexén-1-ol	0,79±0,16	-	-
2-etil-1-hexanol	6,88±0,14	3,13±0,88	-
terpineol	2,69±0,41	0,50±0,07	-
2-fenil-2-propanol	17,85±0,15	3,77±1,22	-
benzil-alkohol	36,32±0,74	19,94±6,35	4,49±0,07
1-dodekanol	2,23±0,34	-	-
1-hexadekanol	5,84±0,60	-	-
1-eikozanol	4,05±0,57	-	-
2-hexil-1-dekanol	118,39±1,47	-	-
fenil-etil-alkohol	-	1,61±0,80	-
2-butyl-1-oktanol	-	2,54±0,72	-
Savak			
propánsav	-	4,07±0,77	-
hexánsav	12,86±0,005	5,56±2,07	-
2-hexénsav	61,04±0,35	3,30±1,01	-
oktánsav	6,63±0,11	0,91±0,04	-
nonánsav	8,36±0,30	0,93±0,26	-
benzoesav	7,49±0,47	24,73±5,58	-
4-(dodeciloxi)-benzoesav	15,97±1,16	-	-
transz-fahéjsav	136,34±3,36	15,64±7,59	-
tetradekánsav	90,84±5,65	-	-

Az alkoholok, a szerves savak és szénhidrogének nagy része már szabad formában is kimutathatóak, nagy mennyiségben van jelen a 2-hexén-1-ol (Z és E), a benzil alkohol, valamint a 2-hexil-dekanol. A 2-hexén-1-ol (E) jelenléte az irodalmi adatok alapján az α -linolénsav enzimatis, illetve levegő oxigénjének a hatására történő oxidáció terméke. Az 1-hexanol a zöld leveles aromáért felelős alkohol. A C6-os alkoholok, savak, valamint a 2-hexénal úgy szabad, mint kötött formában megtalálhatóak és nagyrészt csak a szőlő héjában.

Sikimin sav származékai is megtalálhatóak úgy kötött, mint szabad formában (benzil-alkohol, vanillin, fahéjsav stb.).

Az előző mintához, Merlot szőlő, képest a Pinot Noir a szerves sav készlete sokkal kifejtettebb, nagyobb mennyiségben és számban vannak jelen úgy kötött, mint szabad állapotban. Az alkoholok esetében megjelenik fenil-etil alkohol, amely egy enyhe rózsás illatot eredményez a szőlőnek, illetve a benzil alkohol, amely egy aromás jelleggel bővíti az aromavilágát. A kötött aldehidek mennyisége számottevően magasabb, mint a Merlot szőlő esetén, amely a must enzimatis erjesztésénél kap nagy szerepet, a bor ízvilágát gazdagítva.

4. táblázat. *A Pinot Noir szőlő szabad és kötött szerves sav anyagainak a mennyiségi analízise*

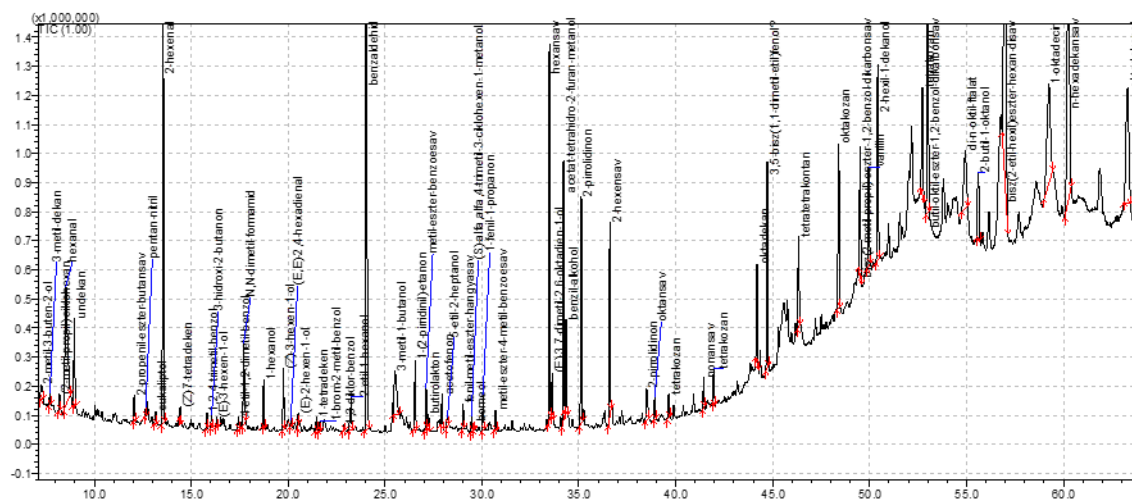
Pinot Noir Savak	A héjában, c (µg/L)		A pépben, c (µg/L)
	Szabad formában	Kötött formában	
hangyasav	1,96±0,31	-	-
ecetsav	-	5,55±0,12	-
propánsav	-	5,71±0,07	-
hexánsav	35,85±3,47	13,59±1,78	-
heptánsav	5,99±2,04	-	-
2-hexénsav	26,21±1,86	10,64±1,31	-
oktánsav	9,20±2,17	1,09±0,12	-
nonánsav	15,96±1,08	1,85±0,25	-
benzoesav	15,11±0,93	4,30±0,98	-
tetradekánsav	23,71±0,48	54,43±34,43	11,77±4,63
n-hexadekánsav	410,75±41,45	-	-
2-hepétnsav	-	0,81±0,21	-
fenil-glioxilsav	-	1,24±0,33	-
4-metil-benzoesav	-	2,99±0,45	-

A Shiraz szőlő esetében a C6-os vegyületek (alkohol, sav, aldehid) úgy a héjban, mint a pépben jelentős mennyiségben megtalálhatóak. Az összes mintához viszonyítva az azonosított alkoholok úgy számban, mint mennyiségben ebben a mintában érik el a legmagasabb értéket. A monoterpének családjához tartozó borneol, fenkol és a nerol a citrusos, üde aromát kölcsönöznek a szőlőnek.

5. táblázat *A Shiraz szőlő szabad és kötött íz- aroma anyagainak a mennyiségi analízise*

Shiraz, Alkoholok	A héjában, c (µg/L)		A pépben c (µg/L)
	Szabad formában	Kötött formában	
2-heptin-1-ol	2,19±0,16	-	-
(Z)-2-pentén-1-ol	1,58±0,23	0,90±0,64	0,49±0,10
1-hexanol	36,04±1,87	13,16±9,18	73,11±16,48
(Z)-3-hexén-1-ol	184,30±10,11	108,09±69,14	0,50±0,15
(E)-2-hexén-1-ol	10,03±0,16	7,41±5,57	72,85±17,12
2-etil-1-hexanol	13,72±0,67	2,29±2,06	-
3-metil-1-butanol	17,49±0,74	-	-
fenkol	2,41±0,06	-	-
2-fenil-2-propanol	16,63±0,87	3,99±2,96	2,74±1,12
benzil-alkohol	55,24±2,85	55,12±38,28	4,73±1,86
2-hexil-1-dekanol	153,73±3,40	-	-
fenil-etil-alkohol	-	5,97±3,71	-
2-fenoxi-etanol	4,32±0,24	3,02±2,46	2,33±0,43
3-metoxi-benzil-alkohol	-	1,63±1,33	-
2,4-hexadién-1-ol	-	-	0,92±0,26
2-etil-4-metil-pentanol	-	-	2,19±0,68

A kadarka szőlő esetén a C6-os vegyületek (alkoholok, savak, aldehidek) mind megtalálhatóak a szőlő héjában kötött és szabad formában. A monoterpének fűszeres üde aromát kölcsönöznek a szőlőnek. A szőlő pépében a többi mintához hasonlóan a legkevesebb íz és aromaanyagot sikerült kimutatni (2. Ábra).



2. ábra

A Kadarka szőlő héjában szabad formában található íz- és aromaanyagok.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

A dolgozatban bemutatott szőlőfajták mindegyike a vörösborszőlők családjába tartozik, mindenik megtalálható Románia területén (Kolozsváron is), száraz és félszáraz boroknak az alapanyagát képezik, amelyek különböző érlelési és tárolási folyamatokat igényelnek.

Az általunk vizsgált héj és pép minták az irodalomban leírt standard módszer alapján lettek elő készítve analízisre.

A GC-MS módszer alkalmasnak bizonyult a szőlők aromakomponenseinek úgy minőségi, mint mennyiségi meghatározására. Ezen módszer segítségével az általunk vizsgált szőlő mintákban átlagban mintegy 50 vegyületnek a mennyiségi meghatározását sikerült megvalósítani. Megfigyelhetjük, hogy minden szőlő fajtaban megtalálhatóak az aromát, illetve ízt biztosító vegyületek (alkoholok, savak, aldehidek, terpének), a koncentráció béli különbség a meghatározó. Mivel ezen szőlőfajták a bor előállításához alapanyagok, a bor érlelésénél fognak a kiemelkedő különbségek megnyilvánulni, alkoholok és savak észtereket képeznek, illetve élesztő erjedéséből származó íz és aromaanyagok jelennek meg.

IRODALOMI HIVATKOZÁSOK

- [1] Yusen Wu, Shuyan Duan, Liping Zhao, Meng Luo, Shiren Song, Wenping Xu, Caixi Zhang, Chao Ma & Shipping Wang, *Aroma characterization based on aromatic series analysis in table grapes*, Scientific Reports, **2016**, 1,4
- [2] Lan, Y-B., Qian, X., Yang, Z-J., Xiang, X-F., Yang, W-X., Liu, T., Zhu, B-Q., Pan, Q-H., Duan, C-Q., *Striking changes in volatile profiles at sub-zero temperature during over-ripening of 'Beibinghong' grapes in Northeastern China*, Food Chemistry, **2016**, 4
- [3] Claudio D'Onofrio, Fabiola Matarese, Angela Cuzzola, *Effect of methyl jasmonate on the aroma of Sangiovese grapes and wines*, Food Chemistry, **2018**, 352, 357
- [4] Alessandro Genovese, Simona A. Lamorte, Angelita Gambuti, Luigi Moio, *Aroma of Aglianico and Uva di Troia grapes by aromatic series*, Food Research International, **2013**, 15-22
- [5] Mihai-Lucian Lung, Doru Pamfil, Natasia Pop, Corina Catana, Simona-Laura Lazar, Simone Giacosa, Fabrizio Torchio, Alessandra Ferrandino, Susana Río Segade, Luca Rolle, *Investigation on Penolic and Aroma Compounds of Table Grapes from Romania*, Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, **2016**, 141
- [6] G. Gutiérrez-Gamboa, M. Carrasco-Quiroz, A. M. Martínez-Gil, E. P. Pérez-Álvarez, T. Garde-Cerdán, Y. Moreno-Simunovic, *Grape and wine amino acid composition from Carignan noir grapevines growing under rainfed conditions in the Maule Valley, Chile: Effects of location and rootstock*, Food Research International, **2017**, 344
- [7] Ju, Y-l., Liu, M., Tu, T-y., Zhao, X-f., Yue, X-f., Zhang, J-x, Fang, Y-l., Meng, J-f., *Effect of regulated deficit irrigation on fatty acids and their derived volatiles in 'Cabernet Sauvignon' grapes and wines of Ningxia, China*, Food Chemistry, **2017**, 4
- [8] Wang Wu, Khalil Úr Rehman Muhammad, Feng Jiao, Tao Jianmin, *RNA-seq based transcriptomic analysis of CPPU treated grape berries and emission of volatile compounds*, Journal of Plant Physiology, **2017**, 155-166

- [9] Ju, Y-l., Liu, M., Tu, T-y., Zhao, X-f., Yue, X-f., Zhang, J-x, Fang, Y-l., Meng, J-f., *Effect of regulated deficit irrigation on fatty acids and their derived volatiles in 'Cabernet Sauvignon' grapes and wines of Ningxia, China*, Food Chemistry, **2017**, 4
- [10] Ivana Tomaz, Nera Huzanic, Darko Preiner, Domagoj Stupic, Zlejkó Andabaka, Edi Maletic, Jasminka Karoglan Kontic and Danijela Asperger, *Extraction Methods of Polyphenol From Grapes: Extractions of Grape Polyphenols*, Polyphenols in Plants (Second Edition), **2019**, 152
- [11] Wang Wu, Khalil Úr Rehman Muhammad, Feng Jiao, Tao Jianmin, *RNA-seq based transcriptomic analysis of CPPU treated grape berries and emission of volatile compounds*, Journal of Plant Physiology, **2017**, 155-166
- [12] Frederick F. Cantwell, Manon Losier, *Comprehensive Analytical Chemistry XXXVII*, Elsevier Science B. V., **2002**, 297-301
- [13] Hui-Hsien Yang, Ewelina P. Dutkiewicz, Pawel L. Urban, *Kinetic study of continuous liquid-liquid extraction of wine with real-time detection*, Analytica Chimica Acta, **2018**, 1-7

IoT adatgyűjtési és elemzési platform a vízellátó infrastruktúra-rendszerek anomáliáinak észlelésére

IoT data collection and analysis platform used for anomaly detection in water supply infrastructure systems

CZAKÓ Zoltán

zoltan.czako@cs.utcluj.ro

Számítástechnikai Tanszék, Kolozsvári Műszaki Egyetem, Kolozsvár, Románia

Vezető tanárok: SEBESTYEN Gheorghe, HANGAN Anca

Kivonat

A vízellátás kritikus közszolgáltatás, amely közvetlen hatással van a lakosság jólétére és biztonságára. A modern vízellátási infrastruktúrák összetett kiberfizikai rendszerek, amelyek fizikai eszközöket (pl. csövek, szivattyúk, tartályok, tisztítóállomások stb.), valamint automatizálási és felügyeleti eszközöket foglalnak magukba. Az ilyen rendszerek fő kihívásai: a minőségi víz folyamatos ellátása, a vízkészletek optimális elosztása és a meglévő erőforrások hatékony felhasználása. Az anomáliák észlelése a vízellátó infrastruktúrákban fontos szempont, amely befolyásolja a teljes rendszer megfelelő működését és biztonságát. Az ilyen infrastruktúrák egyre összetettebbé válásával az anomáliák észlelését automatizált módon kell végrehajtani. Ebben a cikkben egy olyan IoT infrastruktúrát és platformot mutatunk be, amely lehetővé teszi az adatok begyűjtését különböző szenzoroktól és azok automatikus elemzését elősegíti különböző mesterséges intelligencia algoritmusok felhasználásával. Ezen platform segítségével létrehoztunk egy olyan mesterséges intelligencia modellt, amely képes automatikusan detektálni a víz minőségének különböző változásait, melyeket anomáliákként könyvelhetünk el.

Kulcsszavak: IoT, anomáliák, mesterséges intelligencia, vízminőség

1. BEVEZETŐ

Az Internet of Things (IoT) egy bevett irányzat az internetes kommunikáció területén, amelynek célja a szükséges keretrendszerek és technológiák kifejlesztése különböző eszközök internethez való csatlakoztatásához, a szenzoroktól és végrehajtó elemektől kezdve, háztartási gépeken és épületautomatizáláson át az ipari berendezésekig. Az IoT-eszközök már egy ideje hatalmas mennyiségű adatot generálnak, amelyeket a rendszerek, közösségek és egyének viselkedésével kapcsolatos információk kinyerésére, előrejelzések készítésére, döntéshozatal támogatására vagy anomáliák észlelésére használnak. Ekkora mennyiségű adatnál a legfőbb kihívást az eszközazonosítás, adatátvitel, valamint az adatok tárolása és főleg az adatok elemzése jelenti. Nagy mennyiségű tárolókapacitásra, valamint speciális adatmodellekre van szükség, amelyek képesek kezelni ezt a nagy mennyiségű adatot. Nem elég az adatokat feldolgozás és elemzés nélkül tárolni, hiszen elemzés nélkül nincs hozzáadott értékük, elemzés nélkül az adatok értéktelenek. De a nagy mennyiségű nyers adatból hasznos információk kinyerése és elemzése előfeldolgozást és intelligens elemzési algoritmusokat igényel, amelyek időigényesek és sok erőforrást igényelnek.

A víz jelentős erőforrás egy nemzet számára, és kezelése befolyásolhatja egy régió társadalmi-gazdasági fejlődését. A múlt században a földkerekség számos régióját drasztikusan befolyásolta a vízhiány vagy az ivóvíz rossz minősége. A globális felmelegedés súlyosbítja a vízzel kapcsolatos problémákat, és a jövőben ezek a problémák kritikussá válnak. A víz körforgásának minden szakaszában, a begyűjtéstől és kezeléstől az elosztásig és újrahasznosításig komplex kiberfizikai rendszereknek kell biztosítaniuk az egyensúlyt a kereslet és a kínálat között, és garantálniuk kell a nemzeti és nemzetközi szabványoknak megfelelő minőségi paramétereket. Ezek a funkciók megkövetelik a víz fizikai és kémiai paramétereinek monitorozását (különböző szakaszokban), valós idejű módban, valamint manuális vagy automatizált reakciót a rendszer egyensúlyi állapotában bekövetkezett bármilyen változás következtében.

Nagy kihívást jelent a normálisnak tekintett állapottól való bármely eltérés automatizált azonosítása, más szóval az anomáliák észlelése. A rendellenes viselkedés több tényező eredménye lehet: a vízforrások megváltozása (pl. áramlás, minőség), az előkészítési vagy elosztási infrastruktúra hibái (pl. hibás érzékelők vagy aktuátorok, csőszivárgások) vagy rosszindulatú támadások. A vízrendszer anomáliájának hatásai a

lakosság jelentős részének jólétét és egészségbiztonságát befolyásolhatják. Ezért minden incidenst (meghibásodást) a lehető legrövidebb időn belül észlelni kell, és lehetőség szerint automatizált módon helyreállítási intézkedéseket kell indítani.

Az anomáliák észlelése a vízrendszerekben, valamint bármely más kiberfizikai rendszerben nem triviális feladat. Ha emberi közreműködéssel valósul meg, akkor sok éves tapasztalatra, technikai készségekre és néha intuícióra van szükség. Az automatizált rendszerekben az emberi anomáliák azonosítási képességét szabályokkal vagy mesterséges intelligencia modellekkel helyettesíthetik, amelyek képesek azonosítani és megtanulni a szükséges szabályokat. A második megközelítést összetett viselkedésű, többváltozós rendszerek esetén alkalmazzuk. Ebben az esetben nagyon nehéz lenne az egész komplex rendszert szigorúan, szabályok szerint leírni, ezért ember számára az anomáliák detektálása szinte lehetetlenné válik.

Célunk, hogy IoT-szolgáltatásokat építsünk ki adatgyűjtéshez, kezeléshez és elemzéshez a cloud infrastruktúra felhasználásával, hogy támogatást nyújtsunk olyan kutatási projektekhez, amelyek IoT-eszközökről gyűjtenek adatokat, és információkat nyernek ki az anomáliák észleléséhez, előrejelzéséhez vagy döntéshozatali támogatásához. Az IoT szolgáltatás komponenseit úgy terveztük, hogy önállóan teljes megoldásként használhatóak legyenek, vagy nyitott, interoperábilis interfészekon keresztül integrálhatóak más eszközökkel. Platformunkat felhasználtuk egy mesterséges intelligencia modell létrehozására, amely képes automatikusan detektálni anomáliákat az ivóvíz minőségi adatainak felhasználásával.

2. KAPCSOLÓDÓ MUNKÁK

A vízrendszerek anomáliáinak észlelésével számos tanulmány foglalkozott, melyekben a szerzők különböző célokat és megközelítéseket javasoltak. Célként említhetjük a vízminőség-ellenőrzést [1][2][3], az infrastruktúra integritását, a megszerzett adatok helyességét vagy a rosszindulatú támadások észlelését [4][5]. Megoldásként megkülönböztethetünk idősorokhoz kapcsolódó módszereket (pl. regressziós és predikciós módszerek), illetve osztályozáson alapuló módszereket. Az utolsó kategóriában számos mesterséges intelligencia módszert javasoltak a vízrendszer normál és deviáns viselkedésének modellezésére. A gépi tanulási technikákat olyan modell betanítására használják, amely képes azonosítani az anomáliákat az összegyűjtött adatkészletben, off-line módon vagy valós időben.

Számos általános osztályozási módszert sikeresen teszteltek kifejezetten a vízrendszerek anomáliáinak kimutatására. Az [1] cikk szerzői különböző osztályozási módszereket alkalmaznak, mint például döntési fákat, logisztikai modellfákat, véletlenszerű erdőket és Hoeffding fákat, hogy osztályozzák a víz minőségét néhány mért paraméter, például lúgosság, pH-szint és vezetőképesség alapján. A J48 elnevezésű módszer, egy prediktív öntanuló döntési fa (a Weka csomagból kölcsönözve) bizonyult a legnagyobb pontosságúnak, körülbelül 94%-os pontosságot elérve.

A [6] cikkben a szerzők számos gépi tanulási modellt alkalmaztak, például logisztikus regressziót, lineáris diszkriminancia analízist, SVM-et, ANN-t, DNN-t (mély neurális hálózat), RNN-t (ismétlődő neurális hálózat) és LSTM-et (hosszú rövid távú memória), a vízminőségi anomáliák azonosítására egy valós városi vízinfrastruktúrából származó adatkészletben. A szerzők a gépi tanulási technikák mellett bemutatják a bemeneti adatok szűréséhez és előfeldolgozásához szükséges algoritmusokat és megoldásokat a zaj, a hiányzó minták és a valós adatokra jellemző egyéb problémák kiküszöbölésére. Ebben a kísérletben az SVM-modell teljesített a legjobban, a legtöbb valódi pozitívat azonosította, hamis pozitívumot nem generált, és az F1 metrika 0,989 értéket érte el. A fő probléma ebben az esetben az volt, hogy a mért vízminőségi paraméterek (redox, klór, pH, vezetőképesség, zavarosság stb.) önmagukban nem utaltak vízminőségi anomáliára, csak ezek meghatározott kombinációi voltak felismerhetők minőségi incidensek esetén.

A vízminőségi adatok anomáliáinak kimutatására szolgáló másik megközelítést a [7] cikk ismerteti. Itt a szerzők egy kettős időben mozgó ablak módszert javasolnak bizonyos minták valós időben történő felismerésére. A módszer a statisztikai modellek és a lineáris autoregresszió kombinációja. Ebben az esetben az adatokat egy valódi folyó megfigyelőállomásról gyűjtötték. A vízminőségi incidensek észlelése szintén a [7] cikk célja volt. A szerzők 3 modellt, az SVM-et és az ANN két változatát hasonlítják össze, és arra a következtetésre jutottak, hogy az SVM összehasonlítható eredményekkel rendelkezik az ANN módszerekkel, de kevesebb időigénnyel.

Mindezeket az eredményeket elemezve megállapítható, hogy a vízi infrastruktúrák anomáliái nagy pontossággal kimutathatók SVM, ANN, döntési fák, ensemble módszerek, rajoptimalizáló és regressziós modellek vagy ezek kombinációi segítségével. A jó eredmények eléréséhez ezeket a modelleket valós infrastruktúrákból gyűjtött adatokkal kell képezni. Az anomáliák nagyon csekély száma a valós adatokban azonban problémákat okozhat a képzési folyamatban. A korábban bemutatott példákban található legjobb

detektálási algoritmusok nagymértékben függenek a mért paramétereiktől, az anomáliák gyakoriságától és a bemeneti adatok minőségétől.

Ebben a cikkben egy automatikus módszert javasolunk, amely kiválasztja a legjobban teljesítő algoritmust egy adott adatkészlethez. Ez a módszer úgy hangolja a talált algoritmusok hiperparamétereit, hogy maximalizálja az adott valós eset szempontjából fontosnak tartott metrikákat.

Terveztünk egy algoritmust, amely automatikusan kiválasztja a legjobb modellt és behangolja hiperparamétereit emberi beavatkozás nélkül, és az anomália-észlelő platform kiegészítő elemeként implementáltuk. Ez az algoritmus a részecske-raj-optimalizálást kombinálja a szimulált hűtéssel, hogy kizárólag a bemeneti adatok alapján keresse meg a legjobb modellt. Az anomália-észlelési platform (melynek neve AutomaticAI [14]) összetevőjének architektúrája mikroszolgáltatásokként épül fel, és egy felhő-infrastruktúrára van telepítve.

3. A PLATFORM ARCHITEKTÚRÁJA

A cloudon keresztül közzétett IoT-szolgáltatásaink integrálja az IoT-eszközökről származó adatok gyűjtésére, tárolására és elemzésére szolgáló funkciókat. Több összetevőt tartalmaz:

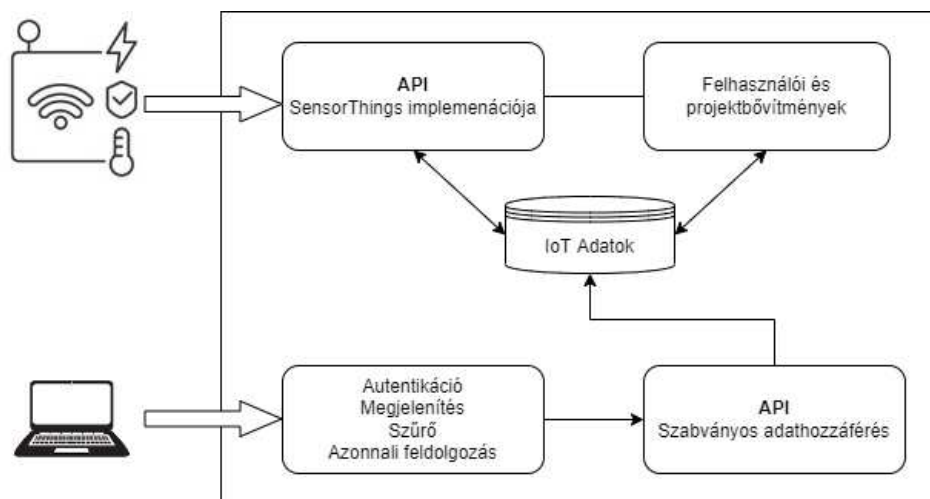
- API adatgyűjtés az internethez csatlakoztatott IoT-eszközökről
- Adat- és adatforrás-kezelési komponens
- Adatfeldolgozás és -elemzési komponens
- Webes felület az IoT-eszközök által gyűjtött adatok elérésére és megtekintésére
- Webes felület adatfeldolgozáshoz és elemzéshez

3.1. Adatgyűjtési és kezelési komponensek

Az adatgyűjtési és kezelési komponensek a következőkért felelősek:

- Adatok lekérése heterogén adatforrásokból, főleg intelligens érzékelőkből, szenzorhálózatokból vagy általános IoT-eszközökből egy webes kéréseket fogadó felületen keresztül;
- Adatforrásokból gyűjtött adatok tárolása;
- Adatkezelés: adatforrások által küldött adatok fogadása, dekódolása és tárolása;
- Adatforrások kezelése: az adatforrások állapotáról információk megőrzése.

Az IoT-eszközök adatokat kapnak a csatlakoztatott érzékelőktől, és továbbítják azokat a cloud-ban telepített adatgyűjtési felületre. Az 1. ábra az IoT-szolgáltatás adatgyűjtési és -kezelési összetevőit mutatja be. Az adatgyűjtést az OGC által definiált SensorThings API [8] szabványos megvalósítása biztosítja, amely lehetővé teszi a HTTP- és MQTT-kéréseket az IoT-eszközökről. Az adatok egy PostgreSQL adatbázisban lesznek tárolva Postgis kiterjesztéssel. A használt adatmodell egy szabványos modell [8], amelyet az OGC határoz meg. Az adatokhoz való hozzáférés szabványos API-n keresztül történik, a felhasználó által kiválasztott konfigurációkon és szűrőkön alapul. Ezen túlmenően az érzékelőktől gyűjtött adatok ezen az API-n keresztül elérhetőek lesznek az ugyanazon szabványnak megfelelő külső alkalmazások számára. A hitelesített felhasználók egy webalkalmazáson keresztül hozzáférhetnek a saját érzékelőikről gyűjtött adatokhoz.

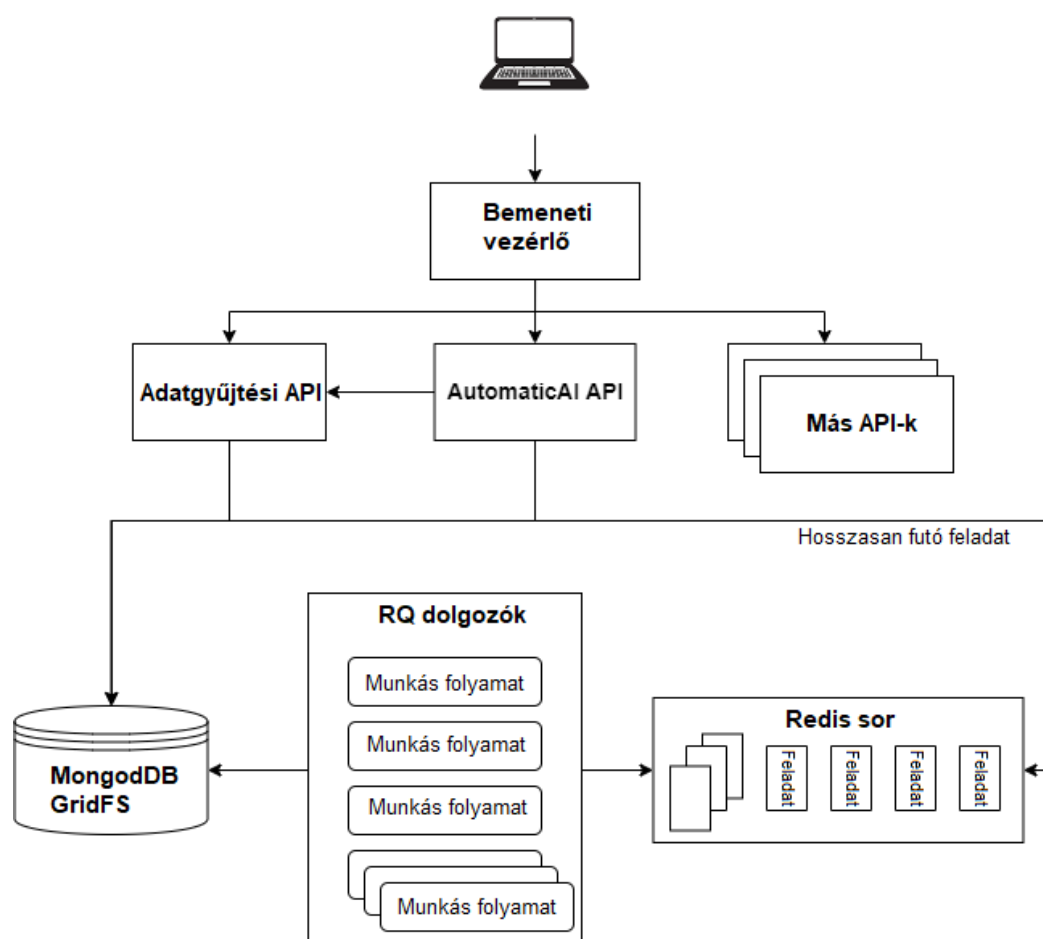


1. ábra. Adatgyűjtési és -kezelési komponensek

3.2. Az adatfeldolgozás és -elemzési komponens

Az adatfeldolgozási és -elemzési komponens az AutomaticAI platformhoz [14] cikkben bemutatott és fejlesztett komponensekre épül. A platform újratervezésére azért volt szükség, hogy a cloud infrastruktúrán keresztül szolgáltatásként elérhetővé váljon. A platform kezdeti komponenseit mikroszolgáltatásokként újracsomagoltuk, és a Dockerrel konténerbe helyeztük. A felhasználói adatok, konfigurációk, felhasználói fájlok és ML modellek egy adatbázisban tárolódnak. A webes felület lehetővé teszi a felhasználók számára az AutomaticAI szolgáltatások elérését, valamint garantálja:

- Adatfájlok feltöltése/letöltése
- Adatok megjelenítése különböző formákban (pl. idősorok, hisztogramok stb.)
- Az adatfeldolgozási és elemzési eljárások lépéseinek sorrendjének meghatározása
- A feldolgozási eredmények megtekintése és mentése
- ML modell beszerzése a kiválasztott adatokhoz, a PSO-SA [12] automatikus kiválasztási mechanizmusának használatával
- Egy korábban megszerzett ML modell újrafelhasználása



2. ábra. Az anomáliák észlelésére szolgáló platform architektúrája

3.3. Anomáliákat osztályozó algoritmusok kiválasztása

Terveztünk egy algoritmust [12], amely automatikusan kiválasztja a legjobb modellt és behangolja hiperparamétereit emberi beavatkozás nélkül, és az anomália-észlelő platform kiegészítő elemeként implementáltuk. Ez az algoritmus a részecskeraj-optimalizálást kombinálja a szimulált hűtéssel, hogy kizárólag a bemeneti adatok alapján keresse meg a legjobb mesterséges intelligencia modellt.

4. KÍSÉRLETEK

A legjobban teljesítő mesterséges intelligencia-algoritmustípus kiválasztására szolgáló automatikus módszerünk [12] és az IoT platformunk tesztelése és értékelése érdekében kutatásunkat a GECCO 2017 [9] adatkészletén végeztük. Ez az adatkészlet több mint 100 000 példát tartalmaz valós adatokra az ivóvíz minőségéről. Az adatkészlet 9 mért attribútumot és egy céloszlopot tartalmaz, mely egy bináris érték, amely azt jelzi, hogy történt-e jelentős változás a vízminőségben vagy sem. A mért attribútumok a következők:

- Tp - a víz hőmérsékletét jelöli Celsius fokban,
- pH - a víz pH-értéke,
- Leit - elektromos vezetőképesség,
- Trueb - a víz zavarossága,
- Redox - Redox potenciál,
- Cl, Cl_2 - klór-dioxid,
- Fm, Fm_2 - Áramlási sebesség.

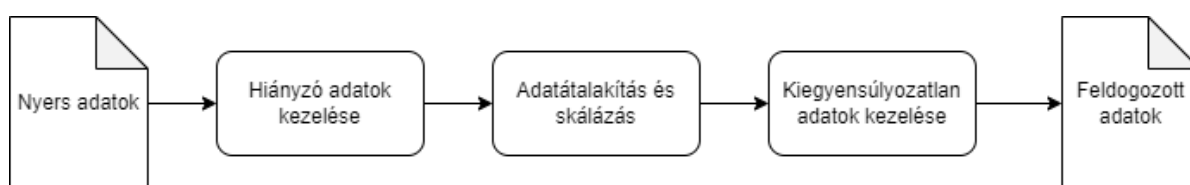
A fent bemutatott értékek nagyon jó vízminőségi mutatók. Például a vízben oldott szilárd anyagok mennyisége határozza meg az elektromos vezetőképességet, tehát ez jó mutatója a víz minőségének. A zavarosság a folyadék relatív átlátszóságának mutatója. A víz zavarossága alapján agyag, iszap, nagyon kicsi szerves és szervetlen anyagok, például mikroorganizmusok mutathatók ki. Ha az ivóvíz pH-járól beszélünk, a pH normál tartománya általában 6,5 és 8,5 között van.

A fő cél ebben az esetben az adatkészlet változásainak/eseményeinek észlelése. Mivel ezek a változások ritkák, az adatkészlet erősen kiegyensúlyozatlan (lásd: 4. ábra, bal diagram), így a probléma anomália-észlelési problémának tekinthető.

4.1. Az adatok előkészítése

Az AI/ML modellek teljesítményének növelése érdekében jó gyakorlat a nyers adatok előfeldolgozása az osztályozási algoritmusok használata előtt. A zaj, a hiányzó adatok stb. negatívan befolyásolhatják az AI-modell teljesítményét.

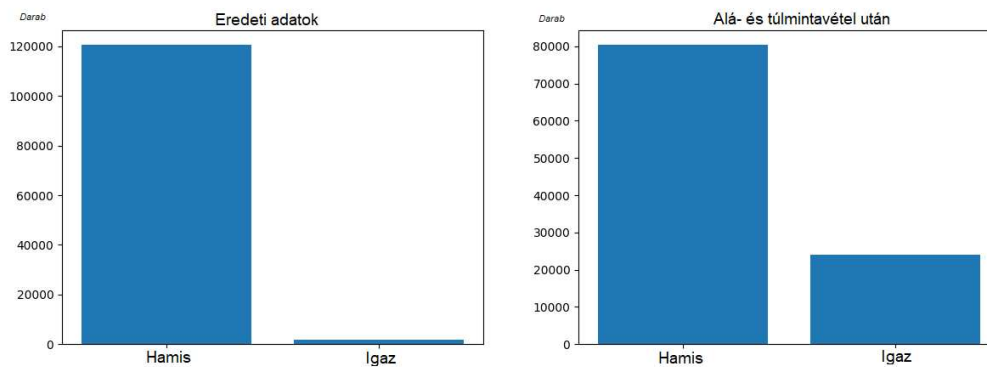
A 3-as ábra azt az adat-előfeldolgozási folyamatot ábrázolja, amelyet az ivóvízminőségi adatkészlet elkészítéséhez használtunk. Mivel az adatkészlet minden oszlopában körülbelül 10 000 hiányzó érték található, feltétlenül szükséges a hiányzó adatok kezelése. Többféle megközelítést is kipróbáltunk, először eltávolítottuk a hiányzó értékeket tartalmazó sorokat, de így túl sok értékes példát veszítettünk el. A következő próbálkozás az volt, hogy az értékeket átlaggal, medián értékkel vagy nullákkal töltöttük ki. A legmegfelelőbb megoldásnak a hiányzó oszlopok nullákkal való kitöltése bizonyult.



3. ábra. Az adatfeldolgozás lépései

Számos algoritmus létezik, például az SVM vagy a Neurális hálózatok, amelyek esetében a különböző oszlopok eltérő skálája negatívan befolyásolhatja a modell teljesítményét. A probléma megoldása érdekében az adatokat különböző transzformációs stratégiákkal átalakítjuk, mint például a min-max skálázás, a [0, 1] intervallumban történő skálázás és a normalizálás. Esetünkben a legjobb eredményeket a [0, 1] intervallumú vagy standard skálázás adta.

Az utolsó lépésben, mivel a bemeneti adatok erősen kiegyensúlyozatlanok, a SMOTE-t (Synthetic Minority Oversampling Technique) [10] használtuk a kisebbségi osztály túlmintavételezésére és a RUID-ot (Random Under-sampling Imbalanced Datasets) [11] használtuk a többségi osztály alulmintavételezésére, így próbálva újra kiegyensúlyozni az adatkészletet. Ezen algoritmusok futtatása után egy közelebbi címkeszámmal rendelkező adatkészletet kaptunk (lásd: 4. ábra).



4. ábra. A túl- és alulminta vétel eredménye (bal diagram - eredeti adatok, jobb diagram – RUID és SMOTE eredménye)

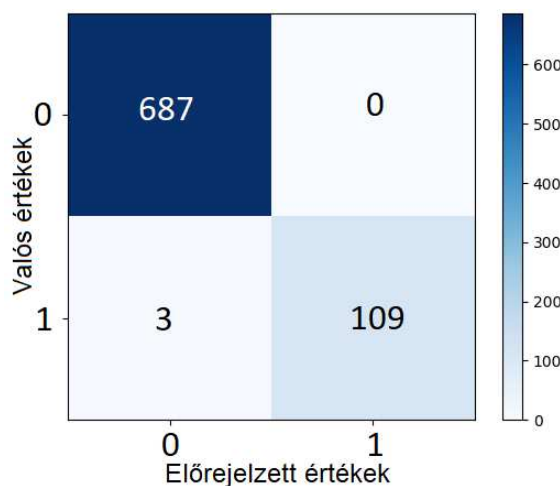
4.2. Kísérleti eredmények

Az előfeldolgozott adatkészletet átadtuk az AutomaticAI platformnak, amely kiválasztotta a legjobb modellt és beállította a hiperparamétereit. A platform különböző algoritmusok összehasonlítására és párhuzamos értékelésére is használható. Több mesterségesintelligencia-algoritmus összehasonlítása után az eredmények az 1-es táblázatban láthatóak.

1. Táblázat. Algoritmusok teljesítménye

ALGORITMUS	F1-MÉRTÉK
RANDOM FOREST	99,93%
EXTRA TREES CLASSIFIER	99,81%
DECISION TREE	99,79%
MLP	99,49%
KNN	99,47%
One-Class SVM	81,46%
SGD CLASSIFIER	50,36%
LOGISTIC REGRESSION	49,66%
PASSIVE AGRESSIVE CLASSIFIER	45,36%
RIDGE CLASSIFIER	37,34%

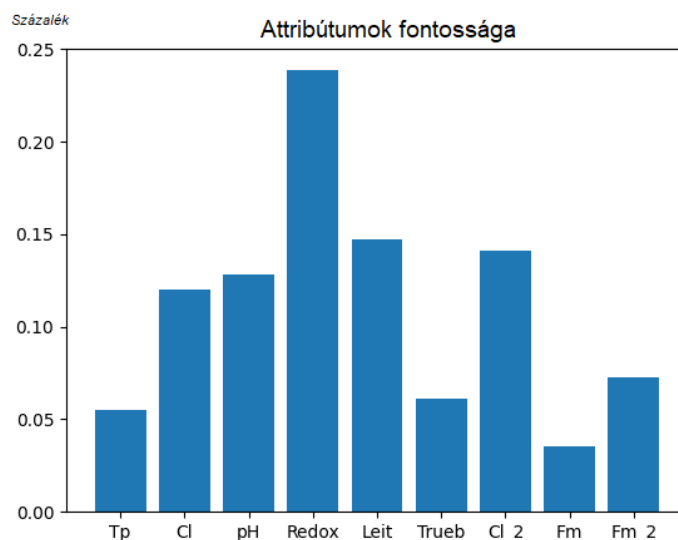
Amint az a 1-es táblázatban látható, a platformnak sikerült automatikusan kiválasztania a modellt és beállítania a hiperparamétereit. A kiválasztott modell a Random Forest volt, 99,93%-os tesztelési F1-mértékkel és 99,49%-os validációs F1-mértékkel (nem látott adatok felhasználásával). A nem látott hitelesítési adatokat használó zavarmátrixa az 5. ábrán látható.



5. ábra. Teszt adatok zavarmátrixa

Számos algoritmus létezik, amelyek hasonló eredményeket értek el, mint például a Random Forest, az Extra Tree osztályozó vagy a döntési fa. Ez normális, mert ezek az algoritmusok nagyon hasonlóak, mindegyik fa alapú ensemble metódus. A Multi Layer Perceptron is magas F1-pontszámot ért el. Ezt a pontszámot úgy kaptuk meg, hogy 9 teljesen összekapcsolt réteget használtunk, 512 csomóponttal kezdve, majd a csomópontok számát 2 hatványával csökkentettük, így a következő rétegekben 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4 ill. végül 2 csomópont két osztály osztályozására. Még ha az MLP Classifier magas f1-pontszámot is ért el, az tanulási idő sokkal hosszabb, mint a Random Forest vagy az Extra Tree Classifier esetében, így összességében ennek a versenynek a győztese a Random Forest lett.

A kiválasztott modell eredményeinek magyarázatához és megértéséhez a jellemzők fontosságát használtuk, amely az egyes jellemzők relatív fontosságát jelzi előrejelzéskor (lásd: 6. ábra). Ahogy ezen az ábrán is láthatjuk, az ivóvíz minőségi anomáliák kimutatásának legfontosabb jellemzője vagy attribútuma a Redox, vagy más szóval az Oxidation Reduction Potential, amely azt jelzi, hogy a víz mennyire fertőtlenített vagy szennyezett az oxidációja és redukciója tulajdonságai alapján. Ez egy nagyon jó mérőszám a vízminőség becsléséhez, ezért minden vízminőség-ellenőrző rendszernek ORP-mérőket kell használnia.



6. ábra. *Attribútumok fontossága*

A jellemzők fontosságának második helyére több attribútumunk van, amelyek nagyon közeli fontossági értékekkel rendelkeznek, például pH, Cl, Cl_2 és Leit. Azért sejtettük ezt az eredményt, mert például a klór-dioxidot (Cl és Cl_2) fertőtlenítőként, valamint szag- és ízszabályozásra használják a vízben és az élelmiszerek higiénijában, így ez jó mutatója lehet a vízminőségnek. A pH-érték is jó mutatója a víz minőségének, mert az ivóvíz pH-értéke 6,5 és 8,5 között kell, hogy legyen. A nagyon alacsony vagy magas pH-érték a víz kémiai szennyezettségét jelezheti. A Leit attribútum a víz elektromos vezetőképessége. A vízben oldott szilárd anyagok mennyisége határozza meg az elektromos vezetőképességet, így ez is jó mutatója a vízminőségnek.

A legkevésbé fontos jellemzők az FM és FM_2 attribútumok. Ez a két attribútum az áramlási sebességet jelzi, ami valójában nem az ivóvíz minőségét jelzi, hanem azt, hogy egy adott időn belül mennyi víz jön ki a csapból. A víz zavarossága szintén alacsony jellemző fontosságú értékkel rendelkezik, ami annak a jele lehet, hogy ez az attribútum redundáns lehet, és kifejezhető az adatkészletben lévő egyéb attribútumok kombinációjával.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

Ebben a cikkben röviden ismertettük anomália-észlelő platformunkat, és részletes áttekintést adtunk az architektúráról. Ezt a platformot használtuk az ivóvízminőség anomáliák észlelésének problémájának megoldására. A probléma megoldására először felállítottunk egy előfeldolgozási folyamatot, amelyben a hiányzó adatproblémát több lehetséges megoldás kipróbálásával kezeltük, az adatokat átalakítottuk, majd

SMOTE és RUID segítségével kezeltük a kiegyensúlyozatlansági adatproblémát az osztályozási modell teljesítményének növelése céljából.

A cikk utolsó részében bemutattuk a kísérleti eredményeket, amelyekben több mesterségesintelligencia-algoritmus típus teljesítményét hasonlítottuk össze, és bemutattuk a platformunk által automatikusan kiválasztott és hangolt modell eredményeit.

Az automatikusan kiválasztott algoritmus jól szemlélteti platformunk teljesítményét, hiszen a hibrid PSO-SA algoritmusunk futtatásával minimális emberi beavatkozással 99%-ot meghaladó F1-mértéket értünk el.

Elismerés / Acknowledgment

Ezt a munkát a román Kutatási és Innovációs Minisztérium, a CCCDI – UEFISCDI 452PED/2020 projektszámú pályázata támogatta a PNCDI III keretén belül.

This work was supported by a grant of the Romanian Ministry of Research and Innovation, CCCDI – UEFISCDI, project number 452PED/2020, within PNCDI III.

IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- [1] C. Gakii, J. Jepakoch, A classification model for water quality analysis using decision tree, European Journal of Computer Science and Information Technology, Vol.7, No.3, pp.1-8, June 2019
- [2] F. Muharemi, D. Logofătu, and F. Leon, Review on general techniques and packages for data imputation in r on a real-world dataset, Springer, 2018
- [3] A. H. Haghiabi, A. H. Nasrolahi, and A. Parsaie, Water quality prediction using machine learning methods, Water Quality Research Journal, 2018
- [4] Q. T. Boon, Secure Water Treatment SWaT, 2015, <https://itrust.sutd.edu.sg/testbeds/secure-water-treatment-swat/>
- [5] T. C. Hock, Water distribution testbed (WADI), 2016, <https://itrust.sutd.edu.sg/testbeds/water-distribution-wadi/>
- [6] F. Muharemi, D. Logofătu and F. Leon, Machine learning approaches for anomaly detection of water quality on a real-world data set, Journal of information and telecommunication, 2019
- [7] J. Zhang, X. Zhu, Y. Yue, and P. W. Wong, "A real-time anomaly detection algorithm/or water quality data using dual time-moving windows", Seventh international conference on innovative computing technology (INTECH), pp. 36–41, 2017
- [8] OGC SensorThingsAPI, <https://www.ogc.org/standards/sensorthings>
- [9] GECCO 2019 Industrial Challenge: Monitoring of drinking-water quality, <http://gecco-2017.sigevo.org/index.html/Competitions.html>
- [10] C. Nitesh, B. Kevin, H. Lawrence, and W. Kegelmeyer, "SMOTE: Synthetic Minority Over-sampling Technique", Journal of Artificial Intelligence Research (JAIR), vol. 16, pp. 321-357, 2002, 10.1613/jair.953
- [11] P. Joseph, K. Taghi, D. David, and N. Amri, "Using Random Undersampling to Alleviate Class Imbalance on Tweet Sentiment Data", pp. 197-202, 2015, 10.1109/IRI.2015.39
- [12] Vacariu L., Hangan A., Mocanu M., Pollution Detection On The Cyberwater Platform, in Environmental Engineering And Management Journal, vol. 14, no. 9, pp. 2043-2050, 2015. ISSN: 1582-9596
- [13] Sebestyen G, Hangan A., Czako Z. and Kovacs G., A taxonomy and platform for anomaly detection, 2018 IEEE International Conference on Automation, Quality and Testing, Robotics (AQTR), Cluj-Napoca, Romania, 2018, pp. 1-6.
- [14] Zoltan Czako, Gheorghe Sebestyen, Anca Hangan, AutomaticAI – A hybrid approach for automatic artificial intelligence algorithm selection and hyperparameter tuning, Expert Systems with Applications, Volume 182, 2021

Aza-dipirrometén színezékek szintézise és fotofizikai vizsgálata

Synthesis and photophysical investigation of aza-dipyrromethane dyes

KISS Etelka

kissetus99@gmail.com

Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Kémia és Vegyészmérnöki kar

Vezető tanára: Dr. BRÉM Balázs

Kivonat

A kutatómunka során számos aza-dipirrometén vegyület szintézise valósult meg, az első lépésként a kiindulási anyagoknak használt kalkonok előállítására került sor. A nitro származékok szintézisét aromás kalkon vegyületekből kiindulva, Michael addíciós reakcióval valósítottuk meg. Az aza-dipirrin váz kialakítására egy kondenzációs reakciót alkalmaztunk. A ligandumot $BF_3 \cdot Et_2O$ komplexáltuk, majd az aza-BODIPY vegyületet tovább funkcionalizáltuk (karbaldehyd és bróm származékká). Az így előállított vegyületek fotofizikai tulajdonságait vizsgáltuk, és tanulmányoztuk különböző oldószerek hatását az abszorpciós maximumra.

Kulcsszavak: NIR-színezékek, aza-Bodipy, fotofizikai tulajdonság, szolvatokrómia

1. BEVEZETŐ

1.1. NIR fluoreszcens molekulák

Az elmúlt pár évben előtérbe került magas hatékonyságú szerves származékok előállítása és biológiai alkalmazása fluoreszcenciás és fotoakusztikus képalkotásban, valamint fototerápiában. A bioapplikáció egy fontos feltétele a mély behatolás, amely könnyen elérhető a közeli infravörös spektrumban abszorbeáló és fluoreszkáló jelzőmolekulákkal [1]. A NIR fluoreszcens molekulák előnyei a minimális háttérzaj (mivel a biomolekulák elnyelése és autofluoreszcenciája a NIR régióban nagyon alacsony), valamint az alacsony fényterhelés [2]. Az eltérő bioapplikációk eltérő fotofizikai tulajdonságokat igényelnek, például a fluoreszcenciás képalkotáshoz a magas kvantum hatásfok előnyös, viszont fotoakusztikus képalkotásban, fototerápiában hátrányos.

Jelenleg a *cianin*, *rodamin* és *bór-dipirrometén komplex* (BODIPY) vegyületek a legígéretesebb szerves anyagok biológiai alkalmazás szempontjából, viszont számos hátránnyal is rendelkeznek.

A cianin festékek például alacsony kvantum hatásfokkal és alacsony fototermális stabilitással rendelkeznek, és nehezen funkcionalizálhatók.

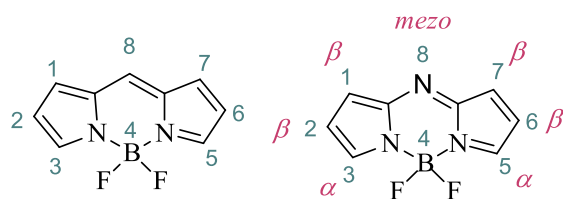
A rodamin színezékeknek ezzel szemben magas a kvantum hatásfokuk, viszont optikailag instabilak.

A BODIPY színezékek jó fotostabilitással és kvantum hatásfokkal rendelkeznek, a BODIPY váz könnyen funkcionalizálható, és ezáltal további kedvező fotofizikai tulajdonságok érhetőek el. A legtöbb BODIPY jelzőmolekula abszorpciós maximuma 700 nm alatt marad, amely kedvezőtlen lehet biológiai alkalmazásokban a korlátozott behatolási hatékonyság miatt. O'Shea és munkatársai 2002-ben írták le elsőként részletesen az aza-bór-dipirrometén váz szintézisét. Az így előállított molekula nemcsak megtartja a kiváló termotabilitását, hanem jelentős vöröseltolódás is jellemzi az abszorpciós és fluoreszcenciás maximumot a BODIPY színezékekhez képest [3]. Az aza-BODIPY váz két, nitrogénen keresztül kapcsolt, konjugált rendszert alkotó pirrol gyűrűből áll.

Ezek a szerkezeti analógok kevésbé népszerűek, mint a BODIPY színezékek, annak ellenére, hogy nagyobb hullámhosszon abszorbeálnak és fluoreszkálnak, vörös eltolódásúak a BODIPY-khez képest (90-100 nm) [4]. Elektron-szegény szerkezetek, alacsony HOMO és LUMO szintekkel, kis tiltott sávval és látható vörös, vagy közeli infravörös spektrumban érvényesülő optikai tulajdonságokkal rendelkeznek [5]. Abszorpciós sávjuk a közeli infravörös spektrumig terjed (300-600 nm között), és a 660-700 nm közötti vörös sávban sugároznak 40%-ot meghaladó kvantum hatásfokkal [6].

A BODIPY vázon levő elektronakceptor csoportok eltérő hatással vannak a fotofizikai tulajdonságokra. Például a nitril csoport bevezetése 8-as pozícióba (1. ábra) vöröseltolódáshoz vezet; a 2-es, 6-os pozícióban a

nitril vagy bróm szubsztituens kisebb hatással van az abszorpció és emisszió hullámhosszra, viszont a kvantum hatásfokot jelentősen befolyásolja. Általában a 8-as pozícióba elektron donor szubsztituens bevezetése nem befolyásolja annyira a fotofizikai tulajdonságokat, míg a 2-es és 6-os pozíciók szubsztitúciója térkitöltő donor funkció csoporttal jelentős vöröseltolódást eredményez, minél kiterjedtebb konjugációt alakít ki a bevezetett szubsztituens, annál erősebbet.



1. ábra
A BODIPY és aza-BODIPY váz

Az aza-dipirrometének 1, 3, 5 és 7-es pozíciókban proximális (α -szubsztituált) és disztális (β -szubsztituált) aril csoportokat tartalmazhat. Ha mindkét proximális aromás csoporton donor atom van, a vegyület négyfogú ligandummá válik ^[7]. A 2-es, 6-os pozíciók elektrofil támadásra alkalmasak, megvalósítható többek között halogénezés, szulfonálás, nitrálás, Vilsmeier-Haack formilezés, vagy palládium-katalizált szén-hidrogén aktiválás ^[8].

2. AZA-BODIPY FESTÉKEK ELŐÁLLÍTÁSA ÉS FUNKCIONALIZÁLÁSA

2.1. Előállítás

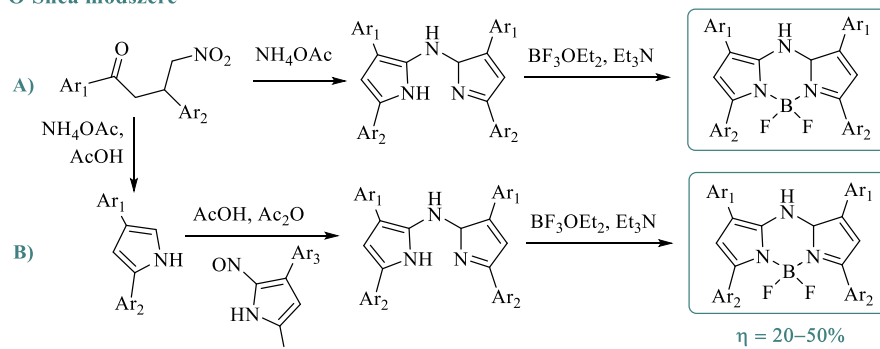
Az aza-BODIPY-k előállítására három általános eljárásról számolnak be (2. ábra).

Elsőként O'Shea és kutatócsoportja írtak le szimmetrikusan és nem szimmetrikusan funkcionizált aza-BODIPY-k előállítását lehetővé tevő módszert ^[3]. A kalkonok nitro-metán adduktjait alakítják ki, reagáltatva ammónium-sóval, majd komplexálva bórt trifluoriddal szimmetrikus aza-dipirrometénekhez jutnak. A módszer előnye, hogy egyszerű, és enyhe reakciókörülmények között véghezvihető; hátránya viszont, hogy a globális konverzió elég alacsony (20–50%).

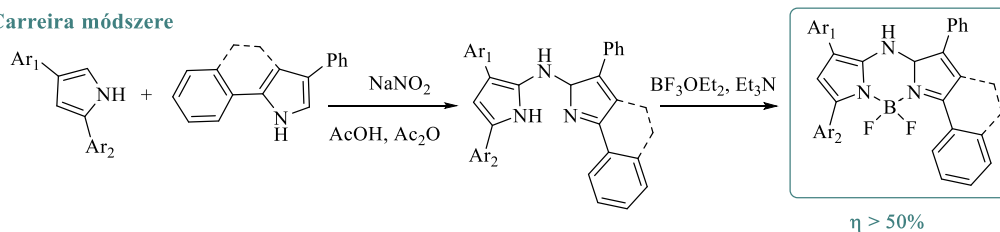
Carreira és munkatársai szubsztituált pirrolszármazékok közvetlen ciklizációját valósították meg. Ezzel a módszerrel nagyobb globális termelést (>50%) tudtak elérni, és kondenzált pirrol vegyületek felhasználása is lehetővé vált, kiterjedtebb konjugációt eredményezve.

Lukyanets és kutatócsoportja egy harmadik eljárásról számoltak be, amelyben ftalonitril és aril-magnéziumbromid közötti Grignard-reakcióval, majd ezt követő komplexálással állítottak elő főként szimmetrikus aza-BODIPY-ket (10–30%) ^[1].

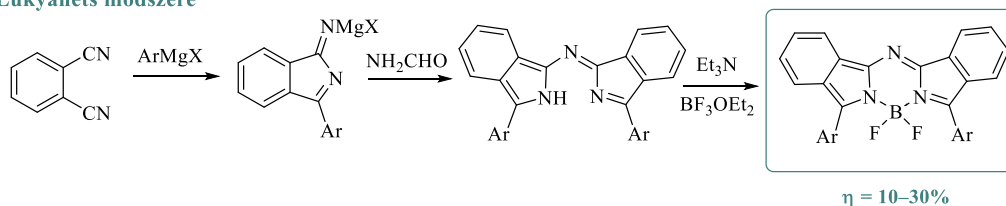
O'Shea módszere



Carreira módszere



Lukyanets módszere



2. ábra
Aza-BODIPY váz szintézise

3. KUTATÓMUNKA KIVITELEZÉSE, EREDMÉNYEK KIÉRTÉKELÉSE

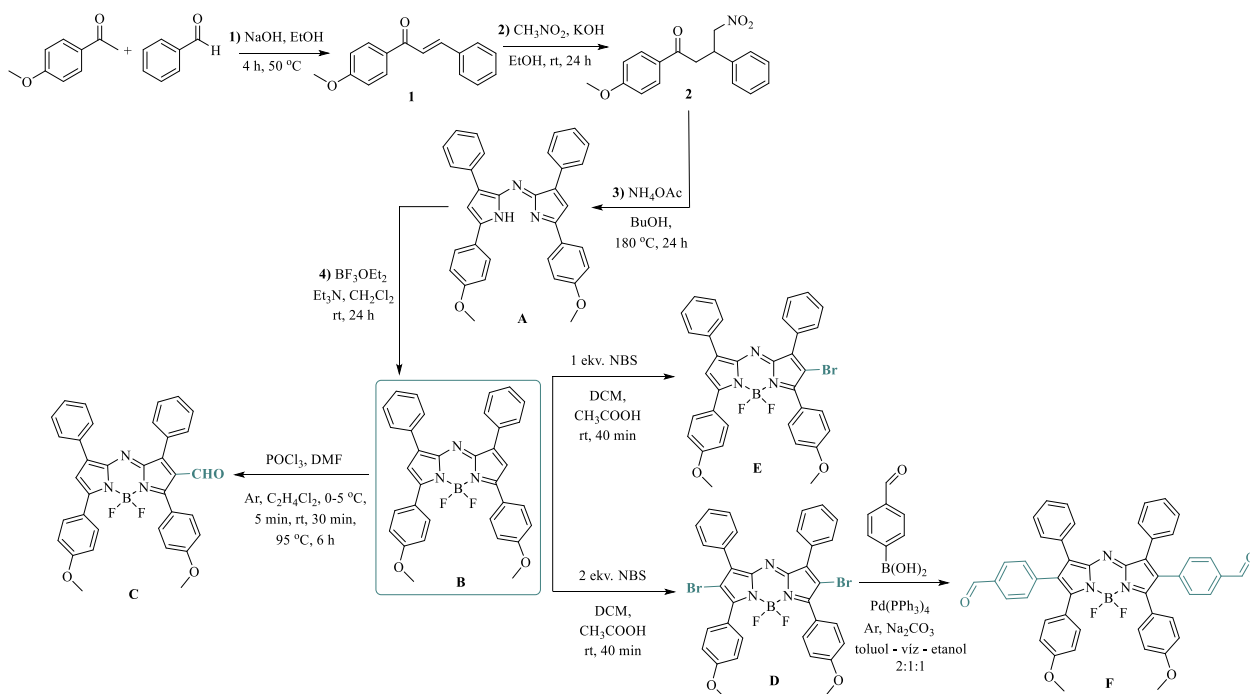
3.1. A vegyületek szintézise

Az alapvegyületet négy lépéses reakciósorozattal állítottuk elő (4. ábra). 1) A kalkont 4-metoxi-acetofenon és benzaldehid Claisen-Schmidt kondenzációjával valósítottuk meg (92%), amelyet 2) nitrometán Michael-addíciója követett (46%). A 3)-as gyűrűzárási lépésben a kiinduló vegyület ammónium-acetáttal butanolban reflux alatt főztük 24 órán keresztül, kék színű szilárd termék keletkezett 36%-os hatásfokkal. A 4)-es lépés a komplexképzés volt, amely bór-trifluorid-eterát hozzáadagolásával valósult meg argon atmoszférában, diklórmétán és trietil-amin elegyében. A fémes csillogású zöld aza-BODIPY vegyület magas termeléssel (89–92%) volt kinyerhető.

Az aza-BODIPY váz kialakításával lehetővé vált különböző funkciós csoportok bevitele a 2-es, 6-os pozíciókba, illetve a fotofizikai tulajdonságokra gyakorolt hatásának tanulmányozása.

A C vegyület előállítását Vilsmeier-Haack formilezési reakcióval valósult meg. A formilező ágensek hozzáadása argon atmoszférában valósult meg, jégfürdővel ellátott gömblombikban. A reakcióelegyhez 30 perc kevertetés után adagoltuk hozzá a kiinduló aza-dipirrometén komplexet 1,2-diklóretánban feloldva, majd hat órán keresztül 95 °C-on kevertettük, és feldolgozást követően közepes hatásfokkal izoláltuk a terméket.

A D és E bromidokat hasonló módszerrel állítottuk elő. A kiinduló anyagot diklórmétán és ecetsav elegyében oldottuk, amelyhez N-bróm-szukcinimidet (NBS) adagoltunk, és kevertettük a reakció végbemenetelig. Vékonyréteg-kromatográfiai vizsgálat alapján a kiinduló anyag mindkét esetben 40 perc után elfogyott. A D dibrómozott vegyület esetében 2 ekvivalens, míg az E vegyület esetében 1 ekvivalens NBS került a reakcióelegybe. A termékeket magas termeléssel tudtuk izolálni, és további tisztítás nélkül felhasználtuk a további reakciókban.

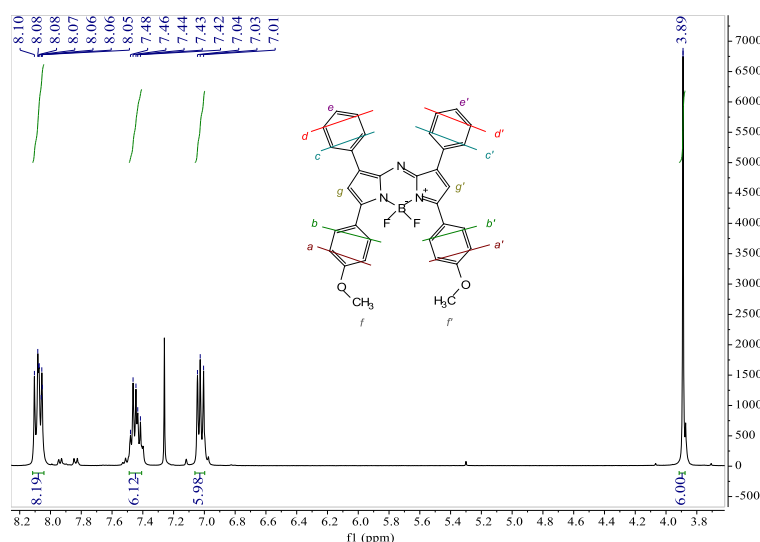


4. ábra
Aza-BODIPY váz funkcionálizálása

Az **F** származék előállítását a **D** vegyület 4-formil-fenil-boronsavval való Suzuki-keresztkapcsolásával valósítottuk meg tetrakis(trifenilfoszfin)-palládium (0) katalizátor (Pd(PPh₃)₄) jelenlétében toluol – víz – etanol elegyben. Argon atmoszférában dolgoztunk, mivel a katalizátorkomplex levegőre érzékeny. A nyers-terméket oszlopkromatográfiai eljárással tisztítottuk.

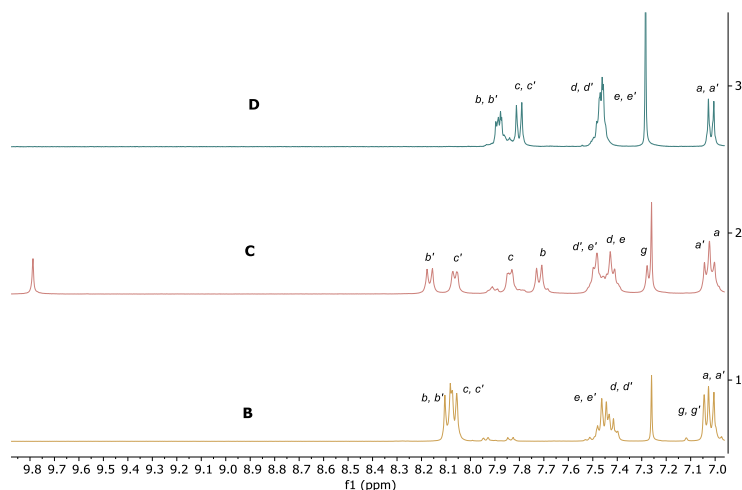
3.2. A vegyületek szerkezetének és fotofizikai tulajdonságainak a vizsgálata

Az előállított vegyületek szerkezetvizsgálata NMR, mono-, és kétdimenziós (¹H, ¹³C, COSY, HMQC), FT-IR, UV-Vis, fluoreszcencia- illetve tömegspektroszkópiás (HRMS) módszerekkel történt. Az **B** vegyület ¹H-NMR spektrumában (5. ábra), a metoxi csoport protonjai (f, f') 3,89 ppm-nél szingletként jelennek meg a spektrumban. A metoxi csoport elektronküldő jellegének köszönhetően az aromás protonok közül az a, a' protonok a legárnyékoltabbak, 7,01–7,04 ppm között adnak jelet. A pirrolikus protonok jelei 7 ppm körül szinglet jelet adnak, a mi esetünkben a g, g' szingletje átfedődik az a, a' aromás protonok dublettjével, amely tripletthez hasonló jelet eredményez. 7,42–7,48 ppm között adnak jelet a monoszubsztituált fenil csoportok protonjai (d, d' és e, e'). A pirrolikus gyűrűkhöz közelebbi protonok az aril gyűrűkön szintén a szakirodalomnak megfelelő eltolódásúak (8,05 – 8,10 ppm között), a kiterjedt konjugáció miatt kevésbé árnyékoltak, és nagyobb eltolódásoknál jelennek meg.



5. ábra
A **B** vegyület $^1\text{H-NMR}$ spektruma (400 MHz, CDCl_3)

A vizsgált aza-BODIPY-k esetében hasonló $^1\text{H-NMR}$ spektrumot kapunk: a formil analóg esetén (**C**) a pirrolikus proton a 6-os pozícióban 7,28 ppm-nél jelentkezik. Mivel nem szimmetrikus származékról van szó, ebben az esetben jól elkülönülnek a fenil csoportok jelei (6 ábra). Az a, a' protonok ebben az esetben két külön dublett jelet adnak, amelyek egymásra tevődnek. A karbonil proton 9,8 ppm-nél szinglet jelet ad. A (**D**) dibrom-származék esetén nincs jele pirrolikus protonnak, amely a reakció sikeres végbemenetelét igazolja.



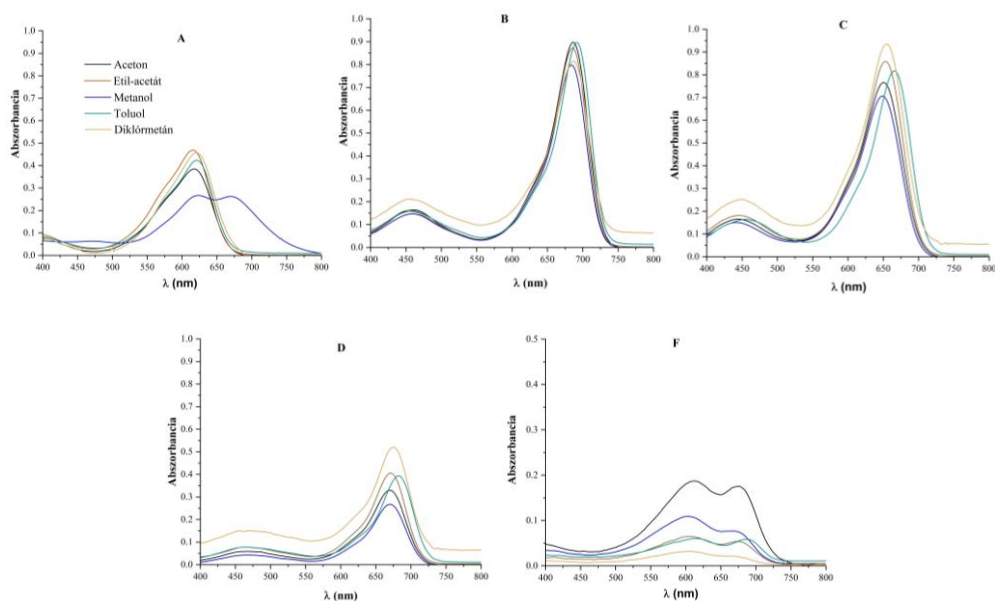
6. ábra
A **B**, **C**, **D** vegyületek $^1\text{H-NMR}$ spektrumainak összehasonlítása (400 MHz, CDCl_3)

3.3. Fotofizikai tulajdonságok vizsgálata

Az **A–F** vegyületek UV-VIS abszorpciós spektrumát diklórmetán ($6 \cdot 10^{-6}$ M) oldatban vizsgáltuk (1. táblázat). Az UV-tartományban (310 és 318 nm között) a $\pi \rightarrow \pi^*$ átmenetre jellemző elnyelési csúcs jelenik meg az **A**, **B**, **C**, **E** vegyületek esetében. Az aza-BODIPY származékok jellegzetes abszorpciós sávja látható tartományban, 654 és 679 nm között található. A ligandumhoz (**A**) viszonyítva a bórdifluorid-komplex (**B**) abszorpciós maximuma 66 nm-es vöröseltolódással jelentkezik.

A 2-es, 6-os pozícióban funkcionális analógok (**C**, **D**, **E**) az alapkomplexhez képest kismértékű hipsokróm eltolódással jelentek meg. A 4-formil-fenil csoportok bevétele a 2-es, 6-os pozíciókba (**F**) 3 nm-es batokróm eltolódást eredményezett a **D** dibrom-származékhoz képest, viszont a **B** alapkomplexhez képest 8

nm-es kékeltolódással jellemezte. A vegyületek abszorpciós spektrumát különböző polaritású oldószerben vizsgáltuk (7. ábra). Az **A**, **B**, **C**, **E** vegyületek esetében metanolban volt legkisebb intenzitása az elnyelési csúcsnak. A **C** és **D** vegyület esetében adott koncentráció mellett a diklórmetánban felvett spektrumhoz viszonyítva a többi szolvensben hipokróm eltolódást észleltünk.



7. ábra

Az **A**, **B**, **C**, **D**, **F** polimetilén származékok UV-Vis spektrumai különböző oldószerekben ($6 \cdot 10^{-6}$ M)

A szolvens polaritás hatására nem volt számottevő a batokróm eltolódás, csak toluolban volt észlelhető 8 – 10 nm-es vöröseltolódás diklórmetánhoz viszonyítva a **C**, **E**, **F** vegyületek esetében.

1. táblázat: Aza-BODIPY származékok abszorpciós maximuma diklórmetánban

Vegyület	λ_{absz} (nm)	ϵ ($M^{-1}cm^{-1}$)	λ_{em} (nm)	Stokes-eltolódás (cm^{-1})
A	318/ 621	58095	–	–
B	313/460/ 687	94527	720	648
C	313/449/ 654	97638	700	1005
D	466/ 675	132823	711	750
E*	310/456/ 678	123283	–	–
F	611/ 679	26325	715	742

*fluoreszcens tulajdonsága nem volt vizsgálva

4. KÖVETKEZTETÉSEK

Négylépéses reakciósorozattal megvalósítottuk a **B** aza-BODIPY alapvegyület szintézisét. A 2-es, 6-os pozíciók funkcionálásával négy származékot (**C**, **D**, **E**, **F**) nyertünk. A nyert vegyületek szerkezetvizsgálatnak céljából 1H -NMR, ^{13}C -NMR, ^{11}B -NMR és ^{19}F -NMR méréseket végeztünk. A fotofizikai tulajdonságok meghatározása érdekében felvettük az abszorpciós és fluoreszcenciás spektrumokat. A 2-es, 6-os pozíciók funkcionálására kismértékű kékeltolódáshoz vezetett. A használt oldószer polaritása nincs számottevő hatással az abszorpciós maximum eltolódására, az intenzitást viszont kis mértékben befolyásolja; a legnagyobb abszorbanca intenzitás diklórmetánban volt tapasztalható. A fluoreszcencia intenzitás a 2-es, 6-os pozíciókban szubsztituálatlan **B** vegyület esetében volt a legnagyobb.

5. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- [1] Shi Z., Han X., Hu W., Bai H., Peng B., Ji L., Fan Q., Li L., Huang W., Bioapplications of small molecule Aza-BODIPY: From rational structural design to: From vivo investigations, *Chemical Society Reviews*, **2020**, 49(21), 7533–7567.
- [2] Jokic T., Borisov S. M., Saf R., Nielsen D. A., Kühn M., Klimant I., Highly photostable near-infrared fluorescent pH indicators and sensors based on BF₂-chelated tetraarylazadipyrrromethene dyes, *Analytical Chemistry*, **2012**, 84(15), 6723–6730.
- [3] Killoran J., Allen L., Gallagher J. F., Gallagher W. M., O'Shea D. F., Synthesis of BF₂ chelates of tetraarylazadipyrrromethenes and evidence for their photodynamic therapeutic behaviour., *Chem. Comm.*, **2002**, 317(17), 1862–1863.
- [4] Priefer R., Griffiths J. R., Ludwig J. N., Skelhorne-Gross G., Greene S. R., Synthesis of Aza-BODIPY Boron Difluoride PDT Agents to Promote Apoptosis in HeLa Cells, *Letters in Organic Chemistry*, **2011**, 8(6), 368–373.
- [5] Jiang R., Yang X., Wu D., Copper(II)-promoted oxidative C-H/C-H cross-coupling for rapid access to aza-BODIPY-indole derivatives with broad optical absorption, *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2017**, 15(33), 6888–6891.
- [6] Amin A. N., El-Khouly M. E., Subbaiyan N. K., Zandler M. E., Fukuzumi S., D'souza F., A novel BF₂-chelated azadipyrrromethene–fullerene dyad: Synthesis, electrochemistry and photodynamics. *Chemical Communications*, **2012**, 48, 206–208.
- [7] Deligonul N., Gray T. G., Azadipyrrromethene complexes of d⁸ metal centers: Rhodium(I), iridium(I), palladium(II), and platinum(II), *Inorganic Chemistry*, **2013**, 52(22), 13048–13057.
- [8] Jiao L., Yu C., Li J., Wang Z., Wu M., Hao E., β-formyl-BODIPYs from the Vilsmeier-Haack reaction, *The Journal of Organic Chemistry*, **2009**, 74(19), 7525–7528.

Tölgymakkból előállított liszt

Flour made from oak acorns

DOBAI Renáta, ERDÉLY Hunor, SALAMON Brigitta

dobairenata@uni.sapientia.ro, erdelyhunor@uni.sapientia.ro,
salamonbrigitta@uni.sapientia.ro

Vezető tanárok: Dr. SZILÁGYI József, Dr. ALBERT Csilla

Kivonat

A kutatás célja, egy alternatív liszt előállítása, melyet tölgymakkból készítettünk. A kutatás során több műveletet is elvégeztünk, melyek közül az egyik kihagyhatatlan lépés az emberi szervezetre toxikus hatású csersav kivonása a tölgymakkból.

Kulcsszavak: tölgymakk, liszt, makkliszt, csersav, alternatív

1. BEVEZETŐ

A nehéz időkben, amikor nem tudtak elég kenyérgabonát termeszteni, az emberek kénytelenek voltak más növényeket, makkot, gyökereket stb. enni, amiket a természet adott nekik. Az új fejlesztéseknek és trendeknek köszönhetően, több üzletben is megtalálható a Távol – Keletről importált makkliszt. A makkliszt különbözik a közönséges búzalisztól, nem készül belőle olyan magas kenyér, de mégis érdemes kipróbálni a különleges ízélmény megismeréséért.

A tölgymakk vitaminokban gazdag (B6, B12), ugyanakkor riboflavint, folsavat, niacint, tiamint, kalciumot, nátriumot, rezet, rostokat, fehérjéket, mangánt, foszfort, magnéziumot és vasat.

Az amerikaiak és kóreaiak körében, zselé és liszt formájában a legkeresettebb.

Problémát jelent a makkliszt esetében, hogy a tölgymakk csersavat ($C_{14}H_{10}O_9 + 2H_2O$) tartalmaz, amely nagy koncentrációban toxikus hatású és keserű ízt ad. Mindez nem jelent túl nagy problémát, mivel a csersav jól oldódik vízben, így könnyen kivonható a tölgymakkból. ([1])

2. A MUNKA MENETE

A makk begyűjtése után, az első lépés a hibás és férges makkok kiválogatása az ép szemek közül, melyet egy szobahőmérsékleten végzett természetes szárítás követ. A feldolgozás első művelete egy kiválóan élezett késsel végzett hámozás.

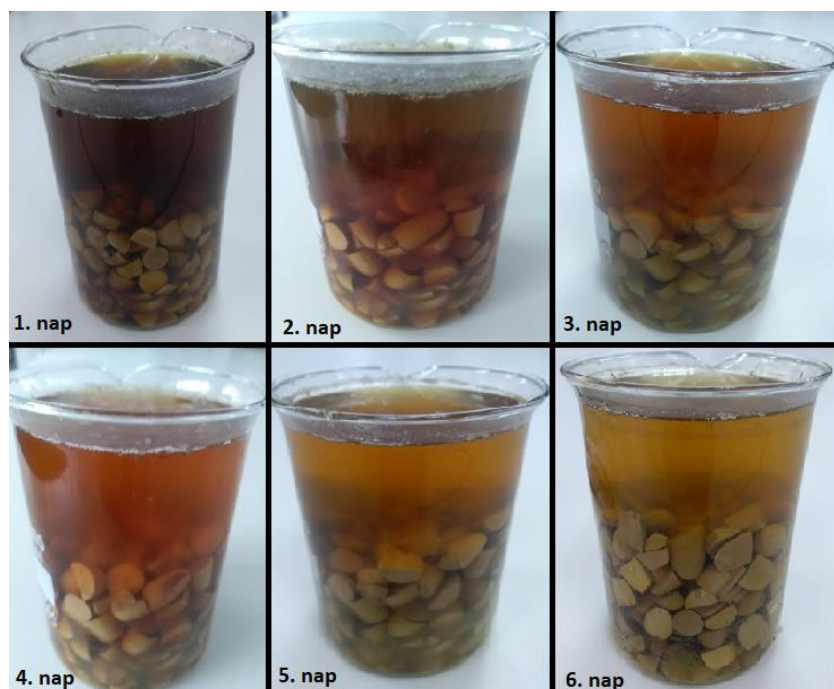


1. kép
Szárított, hámozásra előkészített makk



2. kép
Hámozott makk

A hámozást követően, egy kihagyhatatlan lépés következik: a csersav kivonása a makkból. Ezt a műveletet, áztatással végezték el, melyre egy 5 literes műanyag edényt használtak. Térfogatilag, egy térfogategységnyi makkhoz 2,6 térfogategységnyi vizet használtak. A vizet 6 napon keresztül, minden nap ugyanabban az órában lecserélték. A 3. kép elkészítéséhez, egy 1 literes üvegpoharat használtak, melyben a makk/víz arányt nem változtatták meg. Minden nap a víz lecserélése előtt mintát vettek a makkon levő vízből és a fagyasztóba tették, hogy meg tudják határozni a víz csersav tartalmát. A 3. képet nézve, szabad szemmel is láthatjuk, hogy a napok múlásával egyre tisztább és világosabb lett a víz a makkon.



3. kép
A víz színének változása

A beáztatást egy újabb szárítás követ, melyet egy 116 literes térfogatú, +300 °C-ra melegíthető Binder Fd 115-ös szárítószekrényben végeztek el. A szárítás 60 °C-on történt, 2 napon keresztül.



4. kép
Szárítás a szárítószekrényben



5. kép
Szárított, őrlésre előkészített makk

Az őrlés Rensch ZM 200 típusú malommal történt. A liszt színe sötétebb, mint a búzaliszté, hasonló a teljeskiőrlésű lisztek színéhez.



6. kép
Makkliszt

3. ELÉRT EREDMÉNYEK, KÖVETKEZTETÉSEK

A csersavtartalom mérésére a Folin Ciocalteu módszert alkalmazták ([2]).

Csersav kivonása: 250 g makkra rátöltöttek 650 ml vizet, amelyből naponta mintát vettek és lecserélték. A vizsgálat elvégzéséig a mintákat – 20 °C-on tárolták.

A Folin Ciocalteu módszerrel polifenolokat és taninokat határoztak meg.

Felhasznált anyagok: Folin Ciocalteu reagens (1N), Na₂CO₃ (20%), csersav oldat (0,1 mg/ml).

25 mg csersavat feloldunk 100 ml desztillált vízben, majd hígították 1 : 10 arányban, ezt követően meghatározták a kalibrációs görbét. Az eredményeket az 1. táblázat mutatja.

1.táblázat: Felhasznált reagensek

Kémcső	Csersav oldat (0,1 mg/ml) ml	Desztillált víz ml	Folin Ciocalteu reagens(1N) ml	Na ₂ CO ₃ oldat(20%) ml	Csersav µg
Blanck	0	1	0,25	1,25	0
1	0,1	0,9	0,25	1,25	10
2	0,2	0,8	0,25	1,25	20
3	0,3	0,7	0,25	1,25	30
4	0,4	0,6	0,25	1,25	40
5	0,5	0,5	0,25	1,25	50

1.1. Minták vizsgálata

0,01 ml mintát kiegészítettek 1 ml-ig desztillált vízzel. Hozzáadtak 0,25 ml Folin Ciocalteu reagenst és 1,25 ml nátrium – karbonát oldatot. Összerázták, majd 40 perc után 725 nm hullámhosszon leolvasták az abszorbanancia értékeket.

2.2. Elért eredmények

A kalibrációs görbe egyenlete: $Abs=0,00798*conc-0,01526$.

A korrelációs együttható értéke: 0,9789.

Ezek tekintetében, a 2. táblázat bemutatja a makkból kivont csersav mennyiségét napokra lebontva.

2. táblázat: *Csersav eltávolítása*

Napok száma	Makkból kivon csersav mennyiség g/kg
1	9,606
2	5,226
3	4,940
4	2,730
5	2,262
6	0,780
7	0,543

4. KÖVETKEZTETÉS

A 2. táblázatból következik, hogy az első 3 nap a csersav kivonása intenzívebb volt, mint az azt követő 4 napon, vagyis a művelet 4-5 nap alatt lezajlott.

A tapasztalatok alapján következik, hogy a makkliszt viszonylag könnyen beszerezhető és jól alkalmazható élelmiszerek készítésére. Mi készítettünk palacsintát a lisztből, melynek különleges, de ugyanakkor kellemes íze volt.

5. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- [1] REMETE Farkas László, *Magyaros és tájjellegű kenyerek készítése*, kézirat, Budapest 2016
- [2] MAKKAR, H.P.S., BLUEMMEL, M., BOROWY, N.K., BECKER, K., *Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods*, J. Sci. Food Agric. 61 (1993) 161–165.