KANDIDÁTUSI ÉRTEKEZÉS

Magyar borok biogénamin-tartalmának és azok változásának tanulmányozása, különös tekintettel a hisztamin és a tiramin koncentrációjára

Készítette: Dr. Kállay Miklós

Budapest

1 9 9 1

MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA KÖNYVTÁRA

TARTALOMJEGYZÉK

		Oldalszám
1.	Bevezetés	1
2.	Irodalmi Összefoglalás	3
2.1.	Nitrogéntartalmú anyagok	3
2.2.	Biogén aminok	4
2.2.1.	Biogén aminok képződése	6
2.2.2.	Biogén aminok tulajdonságai	10
2.2.3.	Biogén aminok meghatározása	17
2.2.3.1.	Biogén aminok elválasztása	18
2.2.3.2.	Biogén aminok detektálása	20
	Célkitűzés	33
3.	A borok biogénamin-tartalmának meghatározására szolgáló - rutinmódszerként is alkalmazható - módszerek kidolgozása	34
3.1.	A borok összes biogénamin-tartalmának meghatározása	34
3.2.	Biogén aminok minőségi meghatározása	38
3.3.	Hisztamin meghatározása spektrofluorometriás módszerrel	40
3.4.	A tiramin-tartalom meghatározása	50
4.	A jellemző magyar borvidékek ún. nyersborainak minőségi és mennyiségi feltérképezése a biogén aminok - elsősorban a hisztamin és tiramin koncentráció - szempontjából	62
5.	A biológiai almasavbomlás és a biogén amin képződés összefüggése	72
6.	Borkezelő anyagok hatása a biogénamin-koncentrációra	
6.1.	Kisérletek bentonitokkal	78
6.2.	Kisérletek aktívszenekkel	81
7.	A biogén aminok szerepe a pezsgőgyártásban	84
8.	Forgalomban lévő palackozott borok hisztamin- és tiramin-koncentrációja	88
	Összefoglalás	91
	Irodalomjegyzék	

1. BEVEZETÉS

Az élelmiszerek nitrogén-tartalmú vegyületeinek vizsgálata során egyre nagyobb figyelmet érdemelnek az ún. biogén aminok. A központi idegrendszer működéséhez alapvetően szükséges aminok, egyes rákkeltő valamint pszihotikus állapotot létrehozó anyagok iránt a borászatban is érdeklődés mutatkozik.

Magyarországon az élvezeti cikkek csoportjába tartozó italok között a bor, mint erjesztett ital fontos szerepet tölt be. A bor az érett szőlő levéből, a mustból erjedés útján készül. Az erjedés során a főreakció mellett számos mellékreakció is végbemegy, kialakítva a borra jellemző összetételt. A táplálkozásélettani szerepet, a baktericid, antiszeptikus hatást biztosító vegyületek nem egy "alkoholos oldat"-ot képeznek, hanem egy élő, állandó változásban lévő rendszert hoznak létre.

Bortermelésünk a hazai fogyasztás mellett export kötelezettségeinknek is eleget tesz. Hazánk a Világ első tíz borexportáló állama közé tartozott, s a hazai szőlő- borgazdaság továbbélésének fontos feltétele az exportképesség megtartása.

Az egyre szűkülő piac az élező versenyben szükségessé teszi a minőségi termelés során a magyar bortörvény maximális betartását, valamint a kész borok minőségének megőrzését.

Az egyre szigorúbb piaci feltételek megkövetelik a bor összetételének, alkotórészeinek ismeretét, ugyanis sokszor analízisek"adásvételét"jelenti egy üzlet lebonyolítása.

A magyar borok nitrogéntartalma általában nagyobb, mint a külföldi boroké, ezért különösen fontos a bor nitrogént tartalmazó vegyületeinek, így a biogén aminoknak gyors, pontos minőségi és mennyiségi meghatározása, boraink ilyen szempont szerinti feltérképezése.

2. IRODALMI ÖSSZEFOGLALÁS

2.1. Nitrogéntartalmú anyagok

A bor kialakulásában rendkivül nagy szerepe van a nitrogéntartalmú anyagoknak: a tisztulás, a betegségekre való hajlam, az illatanyag kifejlődése mind függ a benne lévő nitrogén mennyiségétől, a nitrogéntartalmú vegyületek összetételétől (5).

A bor nitrogéntartalmú anyagai 94-98 %-ban szerves vegyületek: a mustban lévő ammóniumsókat az élesztő felhasználja. A szerves kötésben lévő nitrogénvegyületek az erjedés 2-4. napján kb. 70 %-os csökkenést szenvednek, majd az erjedés befejeződése után a holt élesztők autolizise miatt koncentrációjuk ismét növekszik.

Az erjedés után a seprővel a nitrogéntartalmú vegyületek egy része eltávozik, azonban a seprőn hagyott bor esetében az élesztő önemésztése folytán elbomlott fehérjékből a keletkezett aminosavak a borba diffundálnak (pl. klasszikus pezsgőgyártáskor a buké kialakulása).

A must nitrogéntartalmú anyagaiból az élesztők hatására magasabb rendű egy- és kétértékű alkoholok (a must aminosavainak átalakulási termékei), ketonsavak, aldehidek és aminok keletkeznek.

Ezek a vegyületek alkotják a bor ún. erjedési aromaanyagait. A bor nitrogéntartalmú anyagainak legnagyobb része aminosavakból és foszforwolframsavval lecsapható komponensekből áll, az amin-nitrogén aránya az összes nitrogéntartalom 15-30 %-a (6).

2.2. Biogén aminok

A biogén amin megnevezés sokrétű, jellegben és kémiai szerkezetben eltérő alifás, aromás és heterociklusos tagokat egyaránt tartalmazó vegyületcsoportot takar. Jellemzőjük, hogy kis móltömegű lebomlási termékek, melyek kisebb-nagyobb mértékben bázikusak, mikroorganizmusok, növényi és állati szervezetek anyagcserefolyamatai során keletkeznek, (1, 2, 3).

A biogén aminok a fehérjékkel, azok építőköveivel, az aminosavakkal állnak szoros kapcsolatban. Egyes magasabb rendű növényekben, mint alkaloid prekurzorok jelentkeznek egyes biogén aminok. Régebbi irodalmi adatok, de egyes újabbak is (71) hullaméregként, rothadási termékként említik e vegyületeket. Az elnevezés több szempontból pontatlan, az általában kevésbé mérgező anyagok /állatkisérletek alapján a kadaverin és putreszcin esetében 1,6 - 1,7 g/kg az LD_{50}értéke (1,4/, keletkezésének csak az egyik lehetséges módja a rothadás. A szervezet számára létfontosságú anyagok tartoznak ebbe a vegyületcsoportba, melyek a szervezet védekező és alkalmazkodó mechanizmusában, a keringési és idegrendszerben (tiamin, adrenalin, stb.) játszanak szerepet.

Az I. táblázatban foglaltam össze a lényegesebb aminokat, feltüntetve származásukat, funkcióikat és tulajdonságaikat (2,8).

I. Táblázat

Aminosav	Amin	Funkció, tulajdonság előfordulás
ARGININ	putreszcin	poliamin szintézis
	spermin	kapcsolódás RNS-hez
	spermidin	
ASZPARAGINSAV	β-alanin	CoA-szintézis
GLUTAMINSAV	γ-amino-vajsav	ingerületátvitel
HISZTIDIN	hisztamin	szöveti hormon
		Urtica urene
	ergotionein	simaizom-összehúzó
LIZIN	kadaverin	Pisum sativum
TIROZIN	epinefrin	hormon
	norepinefrin	neurotranszmitter
	tiroxin	hormon
	tiramin	szöveti hormon
		Hordeum sativum
	adrenalin	hormon
TRIPTOFÁN	triptamin	szöveti hormon
		Acacia-féleségek
	szerotonin	vazakonstriktor

2.2.1. Biogén aminok képződése

A biogén aminok vizsgálata a fehérjék lebomlása során lejátszódó folyamatok felderítésével indult, ma azonban már nagyon sok területen folyik a kutatás: a táplálkozás fiziológiát a tiramin, hisztamin, triptamin, szerotonin tipusú vasoaktív vegyületeknek a normál és kóros anyagcserében betöltött szerepe foglalkoztatja elsősorban. A különböző tipusú elmebajok biokémiai alapjainak vizsgálata a gyógyászatban, az orvosi biokémiában is az aminokra, képződésükre, metabolizmusukra irányította a figyelmet.

A biogén aminok képződésének lehetséges formái (1,3):

- nitrogénmentes anyagcseretermékek (aldehidek, ketosavak, ketonok) aminálása;
- nitrogéntartalmú anyagok metilezése;
- nagy molekulatömegű vegyületek nitrogéntartalmú részének hidrolízise;
- aminosavak enzimes dekarboxilezése.

A fenti képződési lehetőségek közül az aminosavak dekarboxilezése a legelterjedtebb, leglényegesebb.

Az aminosav-dekarboxileződés révén képződött aminok a következő forrásokból kerülhetnek a magasabb rendű állati és emberi szervezetbe:

- normál metabolizmus termékeiként a szövetekben termelődnek a fehérje anyagcsere során;
- a bélflóra dekarboxilázai hatására képződhetnek: a májban, bélben képződő oxidázok révén lebontódhatnak, így fiziológiai aktivitásuk csökken, vagy felszívódnak, ekkor megjelenhetnek a vizeletben, illetve mérgezéseket okozhatnak;
- gyógyszerrel vagy táplálékkal kerülnek a szervezetbe.

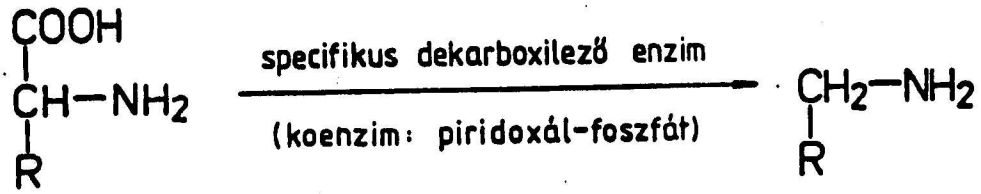
A magasabb rendű állati szervezetekben az aminosav dekarboxilezése nem túl jelentős mértékű, nagy specifikus dekarboxiláz enzim-aktivitással elsősorban mikroorganizmusoknál találkozhatunk. SCHEIBNER (9) az általa vizsgált 105 Salmonella törzs közül több mint 50 %-ánál jelentős lizin és hisztidin dekarboxiláz aktivitásról számol be E.coli, Aerobacter, Salmonella, Shigella, Pseudomonas, Streptococcus, Clostridium, Proteus, Morganella, stb. törzseknél, felhívva a figyelmet arra, hogy a mikroorganizmusok okozta mérgezéseknél a hisztamin és a kadaverin tartalom vizsgálata is lényeges lenne. A higiénés feltételek betartásának ellenőrzéséhez egyes technológiai folyamatoknál jó eszköznek látszanak az aminok, mivel képződésük gyakran a mikroorganizmusok

szaporodása, illetve a dekarboxiláz aktivitás kifejtése számára kedvező, tehát higiénikus szempontból elmarasztalható körülményekre utal.

A biogén aminok tehát az állati és növényi szervezetek, mikroorganizmusok anyagcsere folyamatai során az aminosavak dekarboxileződésével, enzimek hatására jönnek létre leggyakrabban.

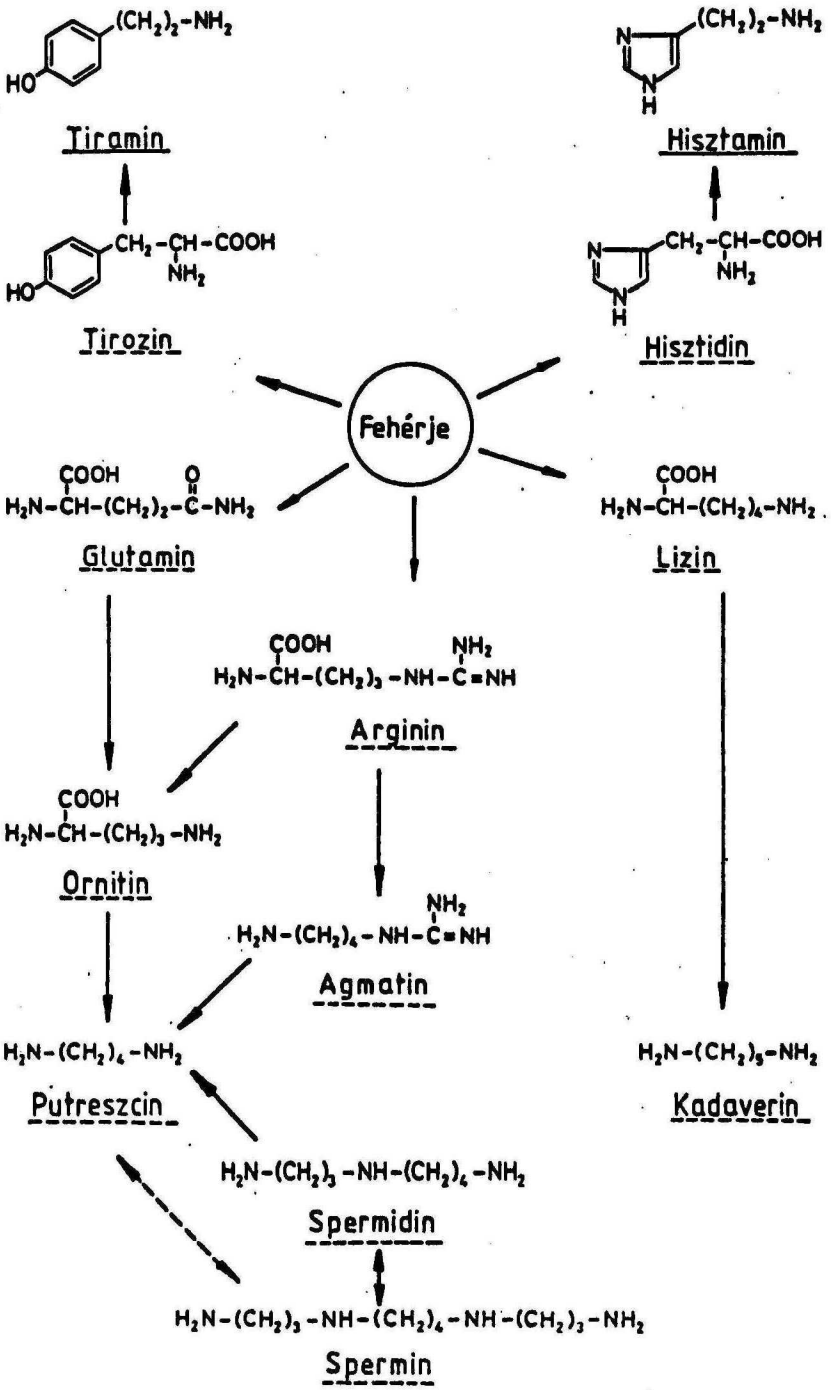
A biogén aminok tehát kis molekulatömegű alifás, aliciklusos vagy heterociklusos szerves bázisok (1,3,4,11).
Az aminosavakból a baktériumok és állati szövetek specifikus aminosav dekarboxiláz enzimjeinek hatására aminok keletkeznek.
A legismertebb dekarboxiláz enzimek:
- hisztidin-, tirozin-, fenilalanin-, ornitin-, glutaminsav-, lizindekarboxilázok.

A reakcióban kofaktorként vesz részt a piridoxál-foszfát, mely segítségével egy Schiff-bázis intermedieren keresztül jön létre az amin vegyület (12, 13). A keletkezés egyszerűsített reakciósémáját az 1.ábra szemlélteti.



1. ábra

A 2.ábra néhány biogén amin kialakulásának útját egyszerűsítve mutatja be.



2. ábra

Az aminképzés savas közegben megy végbe; már enyhén lúgos közegben is oxisavak keletkeznek (14).

Desztillálhatóságuk alapján a biogén aminok két csoportba oszthatók: vízgőzzel az illékony aminok, a nem illékonyak a desztillációs maradékból extrakcióval nyerhetők ki. Az illékonyak közé tartoznak a primer, szekunder és tercier alifás aminok, valamint az aromások közül a benzilamin és a feniletilamin. A nem illékony aminok közé sorolható a kadaverin, putreszcin, tiramin, triptamin és a hisztamin (1,3,15).

2.2.2. Biogén aminok tulajdonságai:

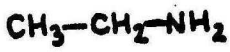
A borban található egyes fontos biogén aminok tulajdonságait, biológiai hatásait az alábbiakban ismertetem.

A leggyakrabban előforduló biogén aminok kémiailag a következők: (2./a. ábra).

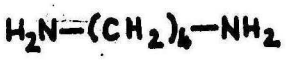
Mivel dolgozatomban elsősorban a borok hisztamin és tiramin koncentrációját, ill. azok változását tanulmányoztam, így ezek tulajdonságait részletesebben ismertetem. Érdekességképpen a triptaminról szólva megállapítható, hogy főleg származékai révén lehet jelentős élettani szerepe. Származékai közül legjelentősebb a szerotonin, amelyet a vérnyomás szabályozásban közreműködő egyik hormonként először az emberi vérből különítették el.

A BOROKBAN LEGGYAKRABBAN ELŐFORDULÓ BIOGÉN AMINOK

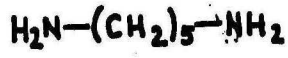
etilamin



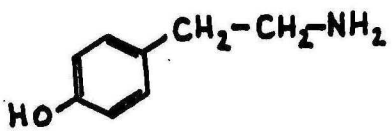
putreszcin
/diamino-bután/



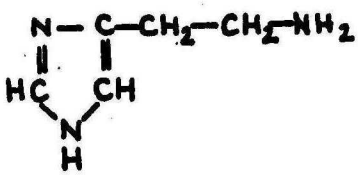
kadaverin
/1,5-diamino-pentán/



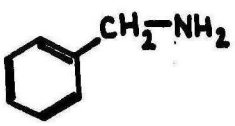
tiramin
/p-hidroxifenil-
-etilamin/



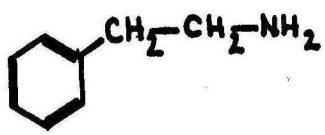
hisztamin
/p-imidazolil-
-etilamin /



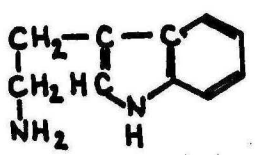
benzilamin



feniletilamin



triptamin
/B-indolil-etilamin/



2/a. ábra

A szerotonin az élőlények világában igen elterjedt: előfordul a vérlemezkékben, nyálmirigyekben, az emésztőcsatorna szöveteiben, halak izomszöveteiben, darazsak, skorpiók, egyes varangyok mérgében, sőt még növényekben (pl. banánban) is kimutatták. Nemcsak az emlősök vérnyomás-szabályozásában van szerepe, más biológiai funkciója is van, valószínű, hogy az agyműködés folyamatába is bekapcsolódik.

HISZTAMIN

A hisztamin a hisztidin nevű aminosavból a hisztidin-dekarboxiláz enzim hatására keletkezik (lásd 3. ábra), a szervezet valamennyi szövetében, a testnedvekben megtalálható. A szervezetbe a táplálékkal jut be, vagy ott szintetizálódik.

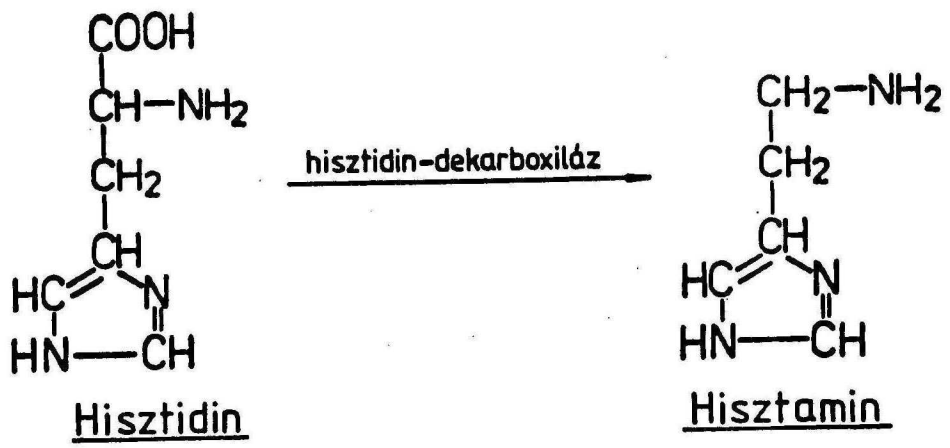
A hisztamin a sejtekben kötött állapotban van, különösen sok hisztamint tartalmaznak az ún. hízósejtek. A szervezetet ért behatásokra hisztamin és rajta kívül még más, több tekintetben hasonló hatású mediátor anyagok szabadulnak fel és jellegzetes, esetleg súlyos tünetekkel kisért reakciót okoznak.

A hisztamin felszabadulását kiváltó okok főleg külső eredetűek és igen változatosak. Ilyenek: a szervezetbe bekerült anyagok, ún. allergének, melyek ellenanyag, reagintermelést váltanak ki, s a kettő reakciójakor szabadul fel a hisztamin (allergiás, anafilexiás reakció).

Számottevők az egyes vegyszerek, gyógyszerek által kiváltott allergiás reakciók. Fizikai hatások, mechanikai-, hő- és sugárártalom is okozhat hisztaminfelszabadulást.

A hisztamin jellegzetes helyi hatása a bőrön a kapillárisok tágítása következtében beálló bőrvörösség, valamint az érfalak permeábilissá válása miatt a szövetekbe kiáramló plazma okozta duzzanat. A hörgők simaizmát a hisztamin összehúzza és asztmaszerű rohamokat okoz. Fokozza a mirigy szekréciót, különösen a gyomornedv- és a gyomorsósav-elválasztást.
A helyi hatáson kívül a hisztamin általános tüneteket is okoz: fejfájás, hányinger, rossz közérzet.

A hisztamin nagyobb koncentrációban méreg, gyulladáskeltő hatású, fontos szerepe van a sokkos állapot kialakulásában. Állatokon végzett kisérletek eredményei arra engednek következtetni, hogy a sérüléskor a szövetekből felszabaduló hisztamin és hisztaminszerű anyagok okozzák a sokkot (17).



Hisztidin Hisztamin

3. ábra

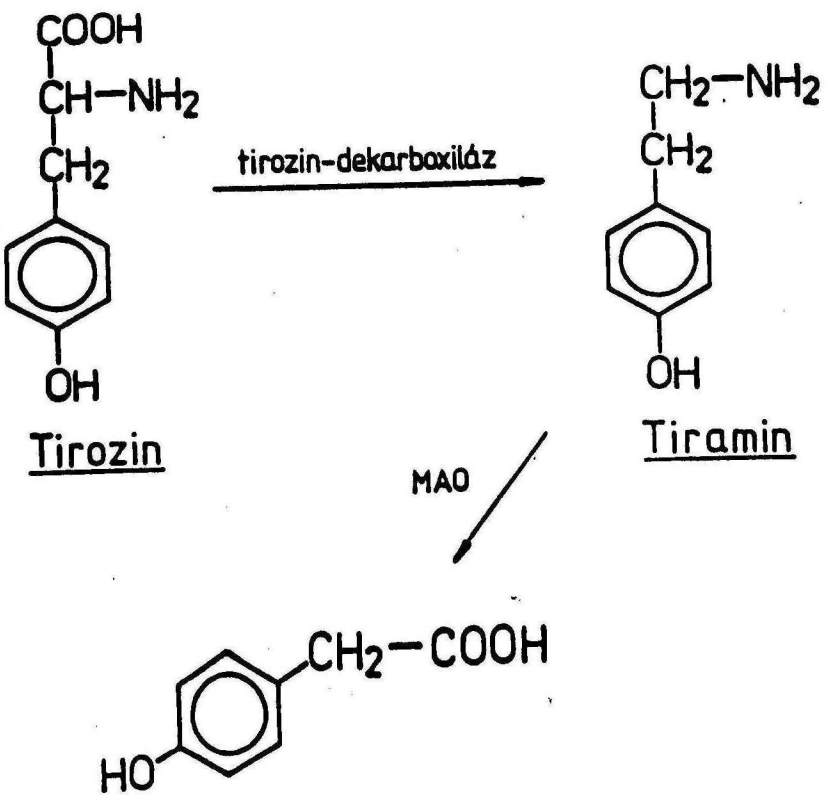
A hisztamin okozza az ún. makrella-mérgezést, melynek klasszikus tünetei az émelygés, hányinger, hányás, gyomortáji-fájdalom, erős fejfájás, nehéz légzés, bőrelváltozások, csalánkiütés, az arc kipirosodása, szomjúság érzés, az ajkak duzzadása (18.)
Egy étkezés alatt kb. 70-100 mg hisztamint kell elfogyasztani ahhoz, hogy a hisztamin mérgezés klinikai tünetei kialakuljanak (19).

A borban a must erjedésekor az L-hisztidin aminosavból a PEDIOCOCCUS CEREVISIAE mikroorganizmus közreműködésével keletkezik (16). A bor malolaktikus fermentációja során, melyet a LEUCONOSTOC DENOS mikroorganizmus végez további aminosav-amin átalakulással - mint mellékreakcióval - lehet számolni.
Ez azért fontos, mert ha a bor hisztamin koncentrációja nagyobb mint 5 mg/dm^3, akkor 0,5 dm^3 ital elfogyasztása is fejfájással járhat.

A hisztamin, mint biogén amin, a legtöbb borban jelen van, a vörös borokban általában nagyobb mennyiségben.
Meghatározása nemcsak toxikus volta miatt érdekes, hanem azért is, mert a monoamino-oxidáz (MAO) gyógyszeres inhibiciója esetén - ami alkohol jelenlétében különösen veszélyes - krónikus mérgezést okozhat (13, 20).

TIRAMIN

A tiramin a tirozin nevű aminosav dekarboxileződése során keletkezik a tiramin-dekarboxiláz hatására (1,2,12) , mely folyamat egyszerűsített alakját a 4. ábra mutatja.



4. ábra

A tiramin toxikus hatását számos kutató mellett ASSATOR és munkatársai (21) is tanulmányozták, akik megállapították, hogy az ún. "sajtmérgezés" egy olyan aminnal, a tiraminnal van összefüggésben, mely a monoamino-oxidáz (MAO) enzim hatására a szervezetben lebomlik.

A tiramin vérnyomást növelő természetes szénvegyület, melyet először rothadó húsból izoláltak (3).
Később megtalálták az anyarozsban és még néhány növényben. Anyaméhkontraháló hatása miatt a gyógyászatban is alkalmazzák (3).

Az ételek tiramin tartalma szokásos esetben nem jelent problémát, mivel lebomlása a bélfalban és a májban megtalálható MAO hatására már a béltraktusban megkezdődik. A toxikus hatás akkor jelentkezik, amikor a MAO-inhibitort (MAOI) tartalmazó gyógyszerekkel kezelt beteg tiramint tartalmazó ételt, italt fogyaszt. Ebben az esetben a tiramin lebomlása nem történik meg, nem keletkezik a fiziológiailag hatástalan 4-hidroxifenilecetsav, a tiramin a vérkeringésbe bekerülve hipertenziós effektust okoz, melynek következménye az ún. migrén (21).

HORWITZ és munkatársai a MAOI-ral kezelt betegeken vizsgálták a tiramin hatását. Megállapításuk szerint akár már 20 g sajttól (konc.: 6 mg/g) is jelentős vérnyomásnövekedés lép fel (21).

A tiramin tehát a vérnyomást növeli a szabad noradrenalineken keresztül a szimpatikus idegvégződésekben.

A tiramin koncentrációja az élelmiszerekben igen eltérő. Sajtokban a 2000 µg értéket is elérheti, míg borokban a 25 µg/g értéket érik csak el: a borok tiramin tartalma viszonylag csekélynek mondható (22). Figyelemre méltó a természetes tiramin tartalom a banán, a málna, a szilva és a paradicsom esetében (22).

2.2.3. Biogén aminok meghatározása

A biogén aminok vizsgálata és meghatározása viszonylag későn, a 19. század végén kezdődött. A kezdetben egységesen méregként kezelt aminokról alkotott kép a meghatározási módszerek finomodásával differenciálódott. Míg a kutatás kezdeti szakaszában a fehérje lebomlás során lezajló kémiai folyamatok tisztázása, egyes élelmiszer mérgezések vizsgálata volt az amin kutatás fő mozgatója, napjainkban azonban a szövet és sejtnedv vizsgálatok révén neurokémiai, gyógyászati és élelmiszer-higiénés jelentősége válik egyre jellemzőbbé.

A fő probléma a komplex biológiai mintákból a zömmel vízoldható biogén aminok kinyerése és a náluk általában több nagyságrenddel nagyobb mennyiségű egyéb nitrogéntartalmú anyagtól való elválasztás.

A biogén aminok első izolálási módszere a rosszul oldódó sók, illetve kettős sók formájában való lecsapás volt, általában foszfor-wolframsavval, pikrinsavval. Kálium-bizmut-jodid (DRAGENDORF-reangens), REINECKE-só használatakor bizonyos frakcionálás is lehetővé vált. Egy komplex-amin vizsgálathoz 2-3 kg mintára volt szükség.

A kromatográfiás módszerek fejlődése lehetővé tette, hogy ma fluorimetriás módszer felhasználásával akár nmol-nál kisebb mennyiséget detektálhassunk.

A biogén aminok meghatározására azok sokfélesége miatt nincs olyan általános, egyszerű módszer, amely lehetőséget adna a mintában lévő összes amin meghatározására. Minden meghatározó módszer csak megfelelő előzetes szeparálás után lehetséges.

2.2.3.1. Biogén aminok elválasztása

Az irodalomban leírt előkészítési műveletek többsége a szilárd fázisból történő feltárásokra vonatkozik. A leggyakrabban extrakciós és oszlopkromatográfiás szétválasztást alkalmaznak. Az első lépés minden esetben homogenizálással egybekötött kilúgozás, az így kapott oldatból folyadék-folyadék extrakcióval vonják ki a biogén aminokat. A szétválasztási koefficiens növelésére sók (Na_2CO_3, NaCl) adagolását végezték.

Oszlopkromatográfiás módszerrel ioncserélő technika alkalmazásával dolgozott LERKE és BELL (24): először a higított mintát és acetát puffert vittek fel az oszlopra, majd desztillált vízzel mosták át és a keresett hisztamint híg sósavval eluálták.

Napjainkban a leginkább elfogadott AOAC-eljárás (25) oszlopkromatográfiás elválasztást, homogenizációt, semlegesítést, szűrést és számos extrakció végrehajtását követeli, valamint pontos detektálást, így kevéssé használható.

Az oszlopkromatográfiás lépés hosszadalmassága miatt az extrakciós elválasztással próbálkoztak.

TAYLOR és LIEBER (19) extrakciós eljárása során a homogenizálás és melegítés után metanolt adott a rendszerhez, 15'-ig 60°C-os fürdőben tartotta, utána centrifugálta az oldatot,vízzel higította.

EDMUNDS és EITENMILLER (18) szintén extrakciós módszerrel dolgozott: itt perklósavas homogenizálás és centrifugálás után butanolos majd NaCl-dal telített NaOH-os kezelés után centrifugáltak. A butanolos fázist újra NaCl-dal telített NaOH-dal rázták össze, majd a butanolos fázisból sósavas n-heptánnal történő keverés és ismételt centrifugálás után a savas fázisból határozták meg az aminokat.

Az elválasztási műveletek környezeti tényezőivel, a hőmérséklet hatásával, a tárolási idővel több szerző is foglalkozott. TAYLOR és munkatársa (19) különböző koncentrációjú Na_2CO_3 - hozzáadásával megállapította, hogy a szétválasztási koefficiens telített Na_2CO_3 hozzáadásakor a legnagyobb. Kipróbálták különböző sók hatását, de úgy találták, hogy a szétválasztási koefficiens a már használt nátrium-karbonát hozzáadásakor a legnagyobb. A NaOH koncentrációjának a 1N NaOH-ot találták a legmegfelelőbbnek. Vizsgálták különböző oldószerek hatását a szétválasztásra: a n-butanol bizonyult a legszelektívebb szétválasztószernek.

EMUNDS és munkatársa (18) a hőmérsékleti hatást és a tárolási időt figyelte a hisztamintartalom, valamint a dekarboxilezés aktivitásának függvényében, elsősorban halak esetében. Szerintük összefüggés van a hisztamin tartalom és az izmok hisztidin tartalma között, de nem arányos a hisztidin veszteséggel, illetve az egyes fajok nem egyformán reagálnak a tárolási időre és a hőmérsékletre.

2.2.3.2. Biogén aminok detektálása

Az elválasztás után a megtisztított minta biogén amin tartalmának meghatározására sokféle lehetőség van.

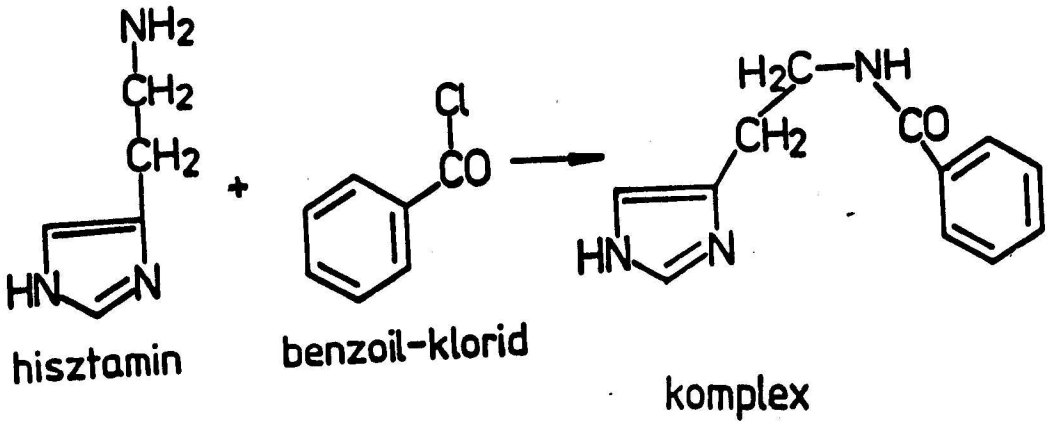
A biogén aminok szabad NH_2-csoportját viszonylag könnyen reakcióba lehet vinni, ezt használják ki a következő módszerek:

Az aminok kimutatására az egyik legalkalmasabb reagens a ninhidrin, mely az aminokkal (aminosavakkal, polipeptidekkel és a fehérjékkel is) jól észlelhető reakciót ad (48, 49). A reakció során az α-helyzetű amin-csoport oxidálódik, a ninhidrin redukálódik. A keletkező β-iminek hidrolizálódnak, a szabaddá vált ammónia a ninhidrin reakciós termékével a molekula átrendeződése után kékes-lila termékké alakul (25). A kapott kékes-ibolya termék abszorbanciája spektrofotométeren mérhető, összes amin tartalom meghatározására alkalmazható. Vékonyrétegkromatográfiás előhívószerként az elválasztott több komponensű elegy alkotórészeinek minőségi meghatározására is alkalmas.

Az aminok egyéb spektrofotometriás reagenseinek száma igen nagy, ezek közül néhány fontosabb képviselő:

1-fluor - 2,4-dinitrobenzol (26, 27), 1,2-naftokinon-4-szulfonsavas nátrium (28,29,30), p-dimetilamino-benzaldehid (31), p-dimetilaminofahéjaldehid (32,33,34), 9-klór-akridin (35), acetilaceton + formaldehid (36), p-benzokinon (37).

A benzoil-klorid aminokkal, így pl. a hisztaminnal reagáltatva kapott vegyülete (5. ábra) UV-abszorbanciát mutat a 220-270 nm-es tartományban (50).



5.ábra

A biogén aminok fluorimetriás meghatározása szintén gyakorlattá vált. Az érzékeny meghatározás azon alapszik, hogy a biogén amin megfelelő körülmények között fluorimetriás amin-reagenssel komplexet képez, mely rendelkezik fluoreszceins tulajdonsággal. A származékképzés általában az elválasztás után történt (egy komponens meghatározása), azonban a folyadék-kromatográfia keverékek származékképzését is lehetővé teszi az elválasztás előtt.

A fluorimetriás származékképzés fajtáit SEITZ (38) a következők szerint csoportosította:

1./ Olyan reakciók, amelyek kiterjedt aromás elektronrendszer képződéséhez vezetnek;

2./ Olyan reakciók, amelyek megváltoztatják a szubsztituens jellegét és ezáltal egy nem fluoreszkáló szerkezetet fluoreszkálóvá alakítanak át:

3./ Komplexképzési reakciók, amelyek kötetlen elektronokat kötnek meg és ezáltal nem fluoreszkáló szerkezetet fluoreszkálóvá tesznek;

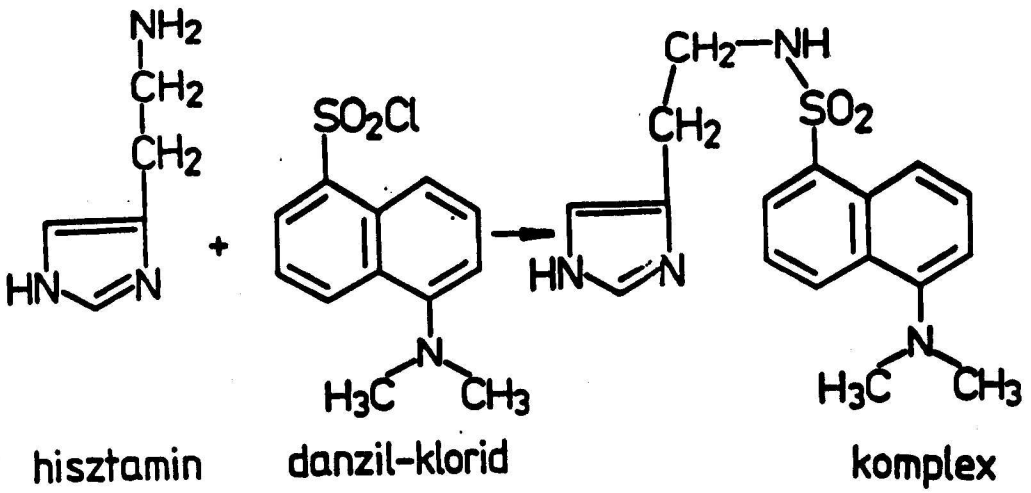
4./ Olyan reakciók, amelyek a nehézatomos szerkezetet disszociációra bírják, ezáltal a nem fluoreszkáló szerkezet azzá válik.

A leggyakrabban használt fluorimetriás amin reagenseket a II. táblázatban foglaltam össze:

II. Táblázat

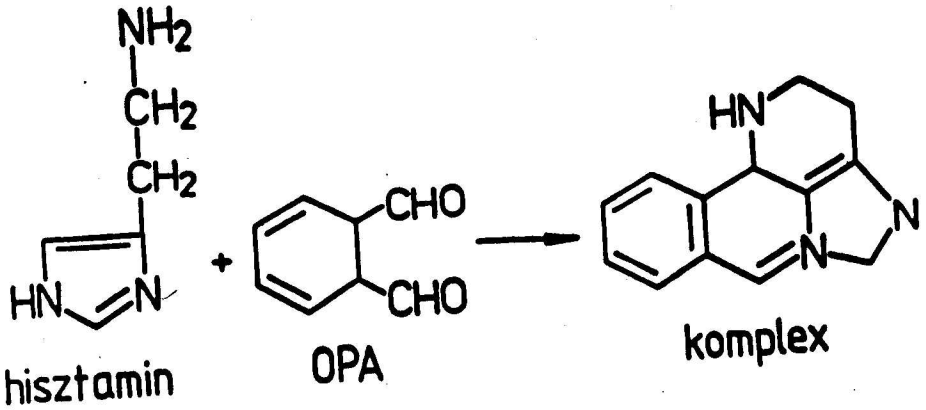
Reagens	gerj. nm	em. nm	Irodalmi hivatkozás
4-klór-7-nitrobenzo-furazan	436	535	(39,40)
1,2-naftokinon-4-szulfon-savas nátrium	366	410	(41)
acetilaceton+formaldehid	405	510	(42,43)
denzil-klorid	366	510	(44,45)
o-ftálaldehid	340	455	(46,53)
o-diacetilbenzol	366	430	(40)
ninhidrin + aldehid	395	485	(47)
fluorescamin	390	475	(51,52)

Hasonló eredményre jutunk, ha danzil-kloridot használunk acilezőszerként, az itt kapott vegyület (6.ábra) fluoreszkáló, melyet akár vékonyréteg kromatográfiával, akár spektrofluorimetriásan, de nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás elválasztásnál is jól lehet detektálni (44, 45, 54).



6.ábra

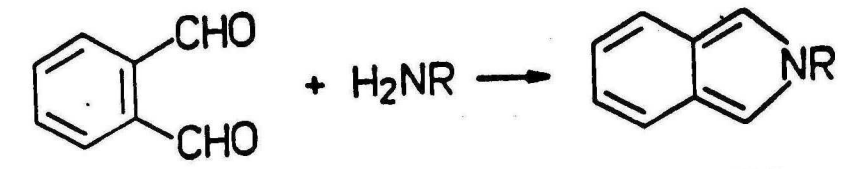
Az egyik legérzékenyebb módszert SHORE (55) írta le, mely eljárás lényege, hogy hisztamint o-ftálaldehiddel reagáltatva fluoreszkáló komplex keletkezik (7.ábra).



7.ábra

A keletkezett vegyület nagy érzékenységgel spektrofluorimetriásan detektálható.

A biogén aminok o-ftálaldehiddel (OPA) képzett vegyületei egy más kötési lehetőséget mutatnak DAVIS (53), SUBDEN és munkatársaik (56), illetve SCHUSTER és HAECKER (57) közleményeiben (8. ábra)



o-Ftáldialdehid
(OPA)

λ_{UV}: 338 nm
λ_{ex}: 340-360 nm
λ_{em}: 430-460 nm

8. ábra

2.2.4. Borok biogén amin tartalma

Borok biogén amin tartalmának vizsgálatával az 1960-as években kezdtek foglalkozni. A bor összetevőinek kutatásához vékonyréteg- és papírkromatográfiát, ioncserés és extrakciós elválasztástechnikát alkalmaztak, illetve a közelmúltban kezdték a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiát felhasználni.

DREWS és munkatársai (61) szerint a borok metilamin koncentrációja 4-5 mg/dm^3, a tiraminé 0,3-0,6 mg/dm^3.

DRAWERT (58) 1965-ben jelezte: legalább 20-25 féle primer, szekunder, tercier amin, diaminok vannak a borban, köztük metilamin, etilamin, n- és i-propilamin, n- és i-butilamin, 2-feniletilamin, pirrolidin, dimetilamin, benzilamin, putreszcin, triptamin és tiramin.

Az élelmiszerek biogén amin tartalmának meghatározása közben megnőtt az érdeklődés a borok biogén amin tartalma iránt: MARQUARDT és WERRINGLOER (59) különböző állatkisérletek során arra a következtetésre jutott, hogy a szájon át adagolt hisztamin az alkohol jelenlétében mérgező hatást fejthet ki.

MAYER és munkatársa (60) szerint figyelembe kell venni az alkoholos italokban jelen lévő acetaldehid tartalmat is. Ez az anyag inhibitorként is működhet, így gátolja a mono-aminooxidáz enzim működését.

PUPPUTI és SUOMALAINEN (15) a borban található ártalmas biogén aminok nagy részét bentonitos derítéssel eltávolította, de utóéréskor újra termelődhetnek az aminok. Technológiai problémát jelent, hogy a bentonitos kezelés vörös borok esetén erős színveszteséget okozhat.

A hisztamin koncentrációját 0-20 mg/dm^3-nek adta meg MAYER és munkatársai (62), míg a tiramin koncentráció 7-25 mg/dm^3, a kadaveriné 2-5 mg/dm^3, a putreszciné 7-10 mg/dm^3 volt különböző borokban (63).

SCHNEYDER vizsgálatai szerint (64) a mustban nem lelhető fel hisztamin, míg a borban akár 30 mg/dm^3 is lehet a koncentrációja.
A fehér borban általában 1 mg/dm^3, a vörös borban ennek többszöröse is lehet az amin koncentrációja.

PECHANEK és munkatársai (65) 19 vörös bort vizsgáltak meg, melyből öt nem tartalmazott hisztamint, míg az általa vizsgált 12 fehérborból csak 3-ban találtak hisztamint.

OUGH (67) kaliforniai borok hisztamin tartalmát határozta meg anion-, majd kationcserélő gyantán szétválasztott mintán, melyből a hisztamin meghatározásához OPA fluoreszcens módszert alkalmazott. A kaliforniai borok hisztamin tartalma 0,1 és 15 mg/dm^3 között változott.

SEN (68) élelmiszerek és italok tiramin tartalmát vizsgálta. A tiramint etilacetátos extrakcióval vonta ki a mátrixból és savas közegben α -nitrozó - β - naftollal fluorimetriás mérésre alkalmas vegyületet hozott létre. A tiramin tartalom kanadai söröknél 6,46 -11,22, asztali boroknál és pezsgőknél 0,2 - 0,6, olasz boroknál 0,4 - 0,6 mg/dm^3 között mozgott.

INGLES (69) és munkatársai szintén élelmiszerek és italok biogén amin tartalmát határozták meg.

A hisztamin, tiramin, 2-feniletilamin, putreszcin és kadaverin tartalomra irányult vizsgálatok az italoknál igen kis értékeket adtak: 0 - 1,5 mg/dm^3 közötti értékeket határoztak meg. A méréseket fluorescaminos származékképzéssel, ion-cserélő kromatográfiával végezték.

BATTAGLIA és FRÖCHLICH (16) hisztamint határozott meg borban. A kimutatási határ 0,2 mg/dm^3 volt, a származékot dansilkloriddal alakították ki, az analízist gradiens elúcióval HPLC-vel végezték.

OUGH és munkatársai (66) két új illékony amint határoztak meg borban trifluoroecetsav-anhidrides származékképzés segítségével: a dietil és α - amil aminokat.

ALMY (70) és munkatársai eddig nem azonosított két új illékony amint határoztak meg borból: az 1-pirrolin és a 4,5-dimetil- 1,3-dioxolone- 2-propanamin trifluoroacetamiddal képzett vegyületeit GC-MS technikával azonosították.

WOIDICH (71) és munkatársai 16 osztrák és három külföldi vörös bor, valamint 12 osztrák fehérbor putreszcin, hisztamin, kadaverin, 4-azaheptametiléndiamin, spermin, tiramin és feniletilamin koncentrációját mérték meg aminosav analizátorral.

RIVAS-GONZALO (72) és munkatársai négy spanyol vörös bor tiramin tartalmát mérték, a kapott értékek 0,1-1,3 mg/dm^3 között változott.

DROZ és TANNER (74) fordított fázisú gradiens elúciós HPLC-elválasztással biogén amin-OPA komplexeket vizsgált.

SCHWEDT (75) szintén fordított fázisú HPLC-eljárással dolgozott, a borban is előforduló biogén aminokat OPA-val képzett vegyületeit UV-detektorral és ún. reakció-detektorral analizálta.

ZAPPAVIGNA (76) és munkatársa 64 különböző bor hisztamin, tiramin és etanolamin koncentrációját mérte. Egyes mintákban 2-feniletilamin, putreszcin nyomokat is találtak.

BOS (77) és munkatársai élelmiszerek és italok putreszcin, kadaverin, hisztamin, spermidin, spermin, agmatin, tiramin és feniletilamin tartalmát vizsgálták. A méréseket automata aminosav analizátorral végezték OPA-es fluoreszcens komplexet képezve. A kapott koncentráció-értékek igen nagy határok között mozognak.

ZEE (78) és munkatársai kanadai, francia, német, olasz, portugál, spanyol és amerikai italok biogén amin tartalmát vizsgálták. A vörös borok hisztamin, putreszcin, tiramin tartalma közel azonos volt (5 - 5,7 mg/dm^3), kadaverin 0,66 mg/dm^3 koncentrációban volt jelen, a fehérbor esetében hasonló értékek nem szerepeltek, de mindegyik komponensből kevesebbet mutattak ki.

BAUCOM (79) és munkatársai New York állam borainak biogén amin tartalmát automata aminosav analizátorral mérték. A kapott értékek között szokatlanul nagy a kadaverin koncentrációja: 11,6 és 37,3 mg/dm^3.

SUBDEN (73) és munkatársai a kanadai borok hisztamin tartalmát mérték fordított fázisú, izokratikus elúciós HPLC-val, UV-tartományban detektálva az OPA-biogén amin komplexet.

UMAGAT és munkatársai (80) OPA-es származékképzést követően gradiens elúciós, fordított fázisú HPLC-ás módszerrel, fluorimetriás detekcióval mérték aminok koncentrációját.

SUBDEN (56) és munkatársa hisztamin-OPA komplex vizsgálatát végzi izokratikus elúcióval és UV-tartományban (200 illetve 220 nm).

BUTEAU és munkatársai (81) vörös bor biogén amin tartalmát vizsgálták. Származék-képzőként dansil-klorid, fluorescamin és OPA szerepelt, az elválasztás fordított fázisú nagyteljesítményű folyadékkromatográfiával, gradiens elúcióval történt, fluorimetriás detektálással.

MAYER és PAUSE (82) aminosavak mellett húsz biológialag aktív amint mutattak ki, OPA-komplexek formájában, gradiens elúciós HPLC-eljárással és fluorimetriás detektálással. Munkájuk során a származékképzést UMAGAT és munkatársai (80) által használt származékképzést alkalmazták.

CILLIERS és VAN WYK (83) Dél-afrikai borok hisztamin és tiramin tartalmát vizsgálta, különböző baktérium kultúrát adva musthoz, úgy találták, hogy a vörösborok hisztamin tartalma a pH növekedésével emelkedik, míg a tiramin tartalom pH 3,6 - 3,7 között ér el maximumot.

DESSER és munkatársai (84) szőlő, must és bor 1,3-diamino-propán, putreszcin, hisztamin, kadaverin, spermidin és spermin tartalmát vizsgálták.

OUGH és DAUDT (85) a fermentáció és a tárolási hőmérséklet függvényében vizsgálta szőlő és bor illékony amin tartalmát.

FRÖCHLICH és BATTAGLIA (86) dansil-klorid származék képzésével HPLC-ás módszerrel, fluorimetriás detektálással vizsgálta 100 vörös bor (kb. 60 % svájci és kb. 40 % külföldi) hisztamin tartalmát. A zömében (73 %) 0-3 g/dm^3 hisztamint tartalmazó borok mellett találtak 21-24 (2 %), 24-27 (2 %) és 27-30 mg/dm^3 hisztamint tartalmazó bort (1 %) is.

LEHTONEN (87) danzil-klorid származék-képzéssel, gradiens elúciós HPLC-ás elválasztással és UV- valamint fluorimetriás detektálással határozott meg aminokat borokban. A szerző francia, magyar, olasz, spanyol és jugoszláv vörös és francia, magyar, olasz, német fehér borok amin tartalmát ismerteti.

MAYER és PAUSE (88) osztrák borok hisztamin tartalmát határozta meg. A vizsgált minták száma 286 volt, melyből 119 fehér, 167 vörös bor volt. A minták többségében (98 fehér és 103 vörös bor) 1 mg/dm^3-nél kisebb hisztamin koncentrációt mértek.

DESSER és BANDION (89) biogén aminok (1,3-diaminopropan, putreszcin, hisztamin, kadaverin, spermidin, spermin) koncentráció változását követik bentonitos kezelést követően.

Az irodalmi források között feltünően sokban szerepel az o-ftálaldehides komplex-képzéses módszer. Az eljárás előnye a nagy érzékenység és a jó elválasztás melletti specifikusság.
A komplex-képzési reakció körülményei a fenti forrásoknál eltérőek.

CÉLKITŰZÉS

Jóllehet számos tudományos közlemény foglalkozik a magyar borok N-tartalmú vegyületeinek vizsgálataival, a biogén aminok ilyen irányú feltérképezése még nem történt meg.

Az előzőekben említett élettani hatás, kereskedelmi megfontolások mellett boraink finomabb kémiai összetételének megismerése szempontjából sem elhanyagolhatók az erre vonatkozó vizsgálatok.

A fentiek értelmében tehát a következők kidolgozására törekedtem:

- Az irodalmi adatok segítségével a gyakorlat számára is alkalmazható analitikai módszer adaptálása, kidolgozása.
- A jellemző magyar borvidékek ún. nyersborainak minőségi és mennyiségi feltérképezése a nem illó biogén aminok -elsősorban a hisztamin és tiramin koncentráció- szempontjából.
- A biológiai almasavbomlás és a biogénaminképződés összefüggése.
- Borkezelések hatása a biogén amin -elsősorban hisztamin és tiramin- koncentrációra.
- Biogén aminok szerepe a pezsgőgyártásban.
- Forgalomba kerülő palackozott borok hisztamin és tiramin koncentrációja.

3. A borok biogénamin-tartalmának meghatározására szolgáló -rutinmódszerként is alkalmazható- módszerek kidolgozása

Az irodalomban található módszerek túlnyomó része szilárd anyagból történő meghatározásra vonatkozik. Sokkal bonyolultabb a helyzet a bor esetében, ahol folyékony halmazállapotban a N-tartalmú anyagok teljes skálája előfordul, a fehérjéktől a peptideken át az aminosavakig, ill. az aminokig mindegyik vegyület egyidejűleg megtalálható. Így tehát - mint a borászati analitika egyéb területén is - elsőrendű feladat az aminok elkülönítése, azaz a megoldandó feladat elválasztástechnikai probléma.

Az aminok meghatározásához tehát azok elkülönítése szükséges. A lehetséges, ajánlott módszereket kipróbálva, illetve azokat célszerűen módosítva az alábbi módszereket dolgoztam ki:

3.1. A borok összes biogénamin-tartalmának meghatározása

Mivel a folyadék-folyadék extrakciós eljárások sajnos nem szelektívek az aminokra nézve, így egy olyan módszert kerestem, amely lehetővé teszi az összes biogénamin-tartalom meghatározását, azaz az aminosavak és a természetes színanyagok zavaró hatását kiküszöböli. Elgondolásom szerint a borminta liofilezése után megfelelő szelektívitású oldószer alkalmazásával ez elérhető.

Az aminosavak vizes közegben jól oldódnak, azonban ha abszolutizált szerves oldószert alkalmazunk, csak az aminok oldódnak ki.

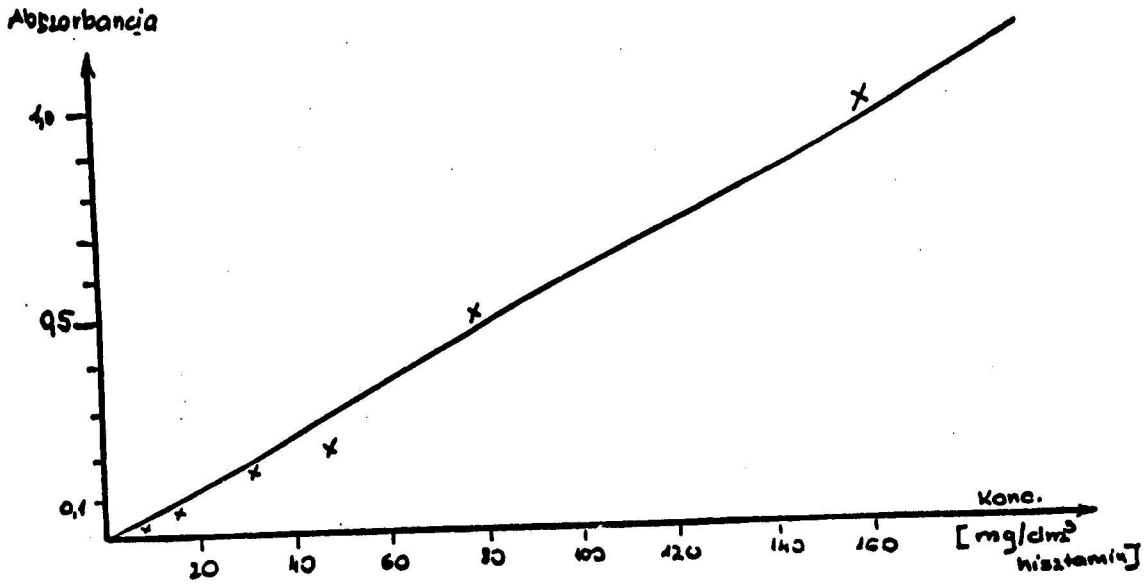
A szerves oldószerek közül különböző C-atomszámú, egyértékű alkoholokat próbáltam ki, melyek közül az absz. n-butanol bizonyult a legjobbnak.

Az alkalmazott módszer tehát a következő volt:

- 8 cm^3 bormintához 0,8 cm^3 1 mól dm^3-es NaOH-oldatot adunk,
- az így előkészített mintát liofilezzük előre beállított program szerint (esetünkben 48 órán át),
- a kész mintára 8 cm^3 absz. n-butanolt öntünk két részletben. A kioldás elősegítésére a rendszert üvegbottal keverjük,
- a szilárd részek elválasztását centrifugálással végezzük. A rendszert 1500/perc fordulatszámmal centrifugáljuk. Erre a nagy teljesítményre azért volt szükség, hogy a lebegő apró részecskéket is leválasszuk,
- mivel az absz. n-butanol vízzel korlátoltan elegyedik, a továbbiakban használt reagensek pedig vizes oldatok, az extraktumot 10 cm^3-ra egészítem ki absz. metanollal, így a detektálási lépéseknél a rendszer nem válik szét két fázisra,
- az így kapott oldatot használhatjuk fel a meghatározásra. (Ebből az oldatból a későbbiekben ismertetendő módszerekkel természetesen a hisztamin és a tiramin meghatározható.)

2 cm^3 borextrakthoz 1 cm^3 ninhidrin-reagenst adunk (12,6 g Na-acetát x 3 H_2O + 2,5 cm^3 jégecet + 2,0 g ninhidrin + metilcelloszolv 25 cm^3 vízben és 75 cm^3 etanolban oldva), majd 30 percig forró vízfürdőn melegítjük és etanollal 10 cm^3-re töltjük fel.

Az abszorbanciát 570 nm-en mérjük. A kalibrációs egyenest standard hisztaminoldatokkal vettük fel. (9.ábra)



9. ábra

Talán magyarázatot igényel az absz. butanol használata. A vízzel vagy esetünkben a borral történő összerázáskor a szerves oldószerbe az átelegyedett vizes fázissal nemcsak az aminok, hanem egyéb N-tartalmú vegyületek is átjutnak, így az összes biogénamin-meghatározást zavarják.

Liofilezett mintánál pedig a víztartalmú - nem absz. -butanol esetén úgy jelentkezik, hogy a szárazanyagból a butanolban lévő víz old ki pld. aminosavakat, melyek az aminoknál gyakorlatilag nagyságrenddel nagyobb koncentrációban lévén, azok együttes koncentrációjának meghatározását - legalábbis a fentebb említett módszerrel - zavarják.
(Nem zavarnak azonban a későbbiekben ismertetendő módszerek alkalmazásakor.)

Az összes biogén amin tartalom meghatározásának hibájára vonatkozólag is végeztem méréseket. 1982-es évjáratú "Egri kékfrankos" bort használtam.

A mért értékek:

Minta szám	Abszorbancia	Koncentráció mg/dm^3 hiszt.
1.	0,155	42,50
2.	0,115	35,00
3.	0,100	32,50
4.	0,151	42,50
5.	0,128	37,50
6.	0,130	38,75
7.	0,119	36,25
8.	0,123	36,25

Az átlagos koncentráció 37,66 mg/dm^3 hisztamin, (a koncentrációkat mg/cm^3 hisztamin értékben fejeztem ki.)

A szórást és a 90 %-os konfidencia intervallumot a hisztamin tartalom számolásánál leírt módon végeztem.
A szórás 3,50-nek adódott. Ennek alapján az intervallum:

$$F < 34,16 < \mu < 41,16 > = 0,9$$

Az összes biogén amin tartalmat 6,7 %-os relatív hibával tudtam meghatározni egyszeri extrahálás után.

3.2. Biogén aminok minőségi meghatározása

Az egyszerű minőségi analízishez legkézenfekfőbb a vékonyréteg-kromatográfia alkalmazása. A bormintából történő extrakcióra itt is szükség van; vagy az előzőekben ismertetett, vagy a későbbiekben leirandó módszerek valamelyikével nyert mintát FIXION kationcserélő rétegen kromatografáljuk a következők szerint:

A kifejlesztőszer összetétele:

18,3 g	citromsav-monohidrát
134,0 g	NaCl
260,0 cm^3	1 mólos NaOH-oldat

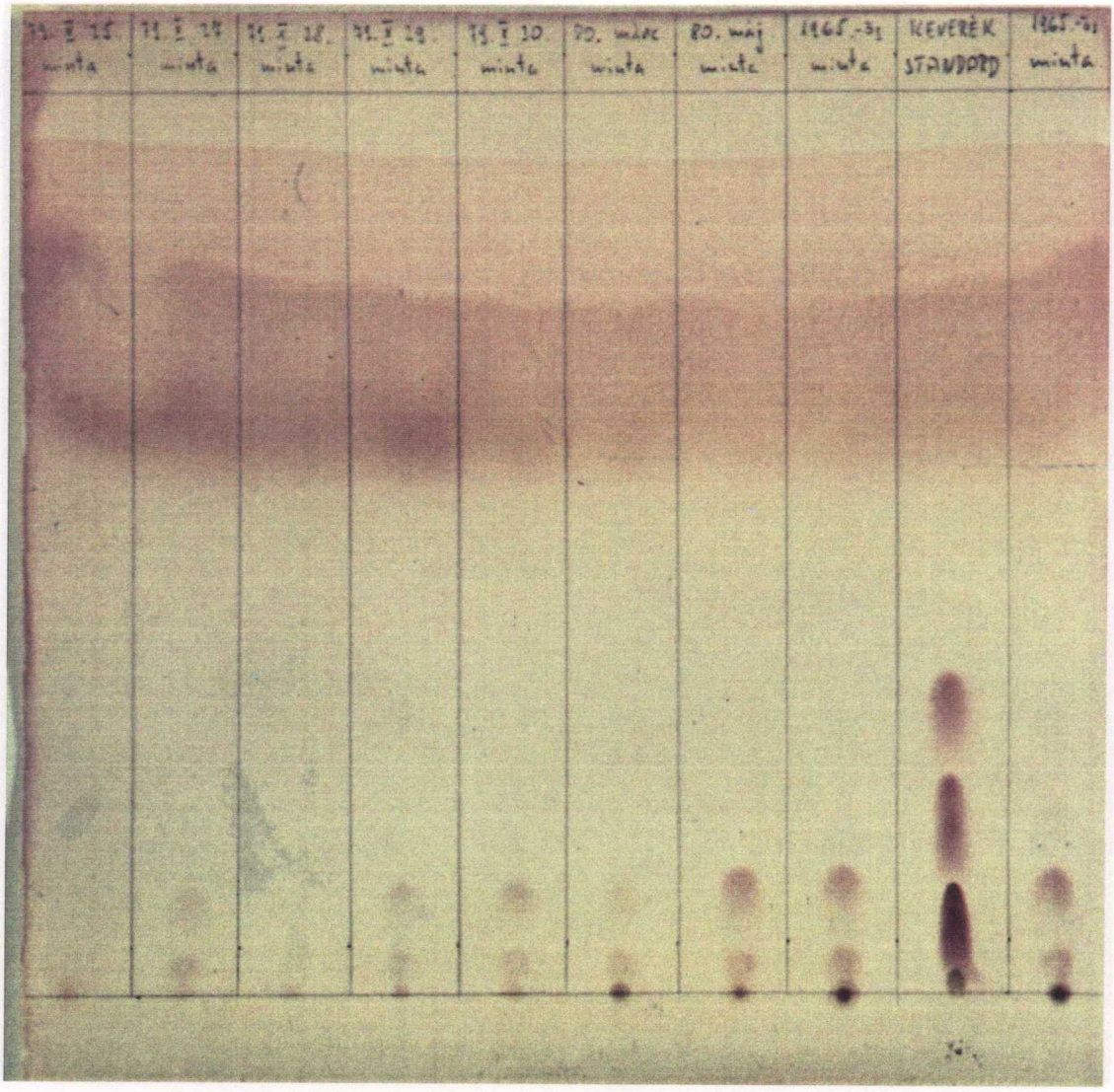
1000 cm^3-re deszt.vízzel feltöltve, majd a pH-t HCl-el 6-ra állítva.

A futtatás ideje: 4 - 5 óra

Előhívás: 0,5 %-os acetonos ninhidrin-oldat.

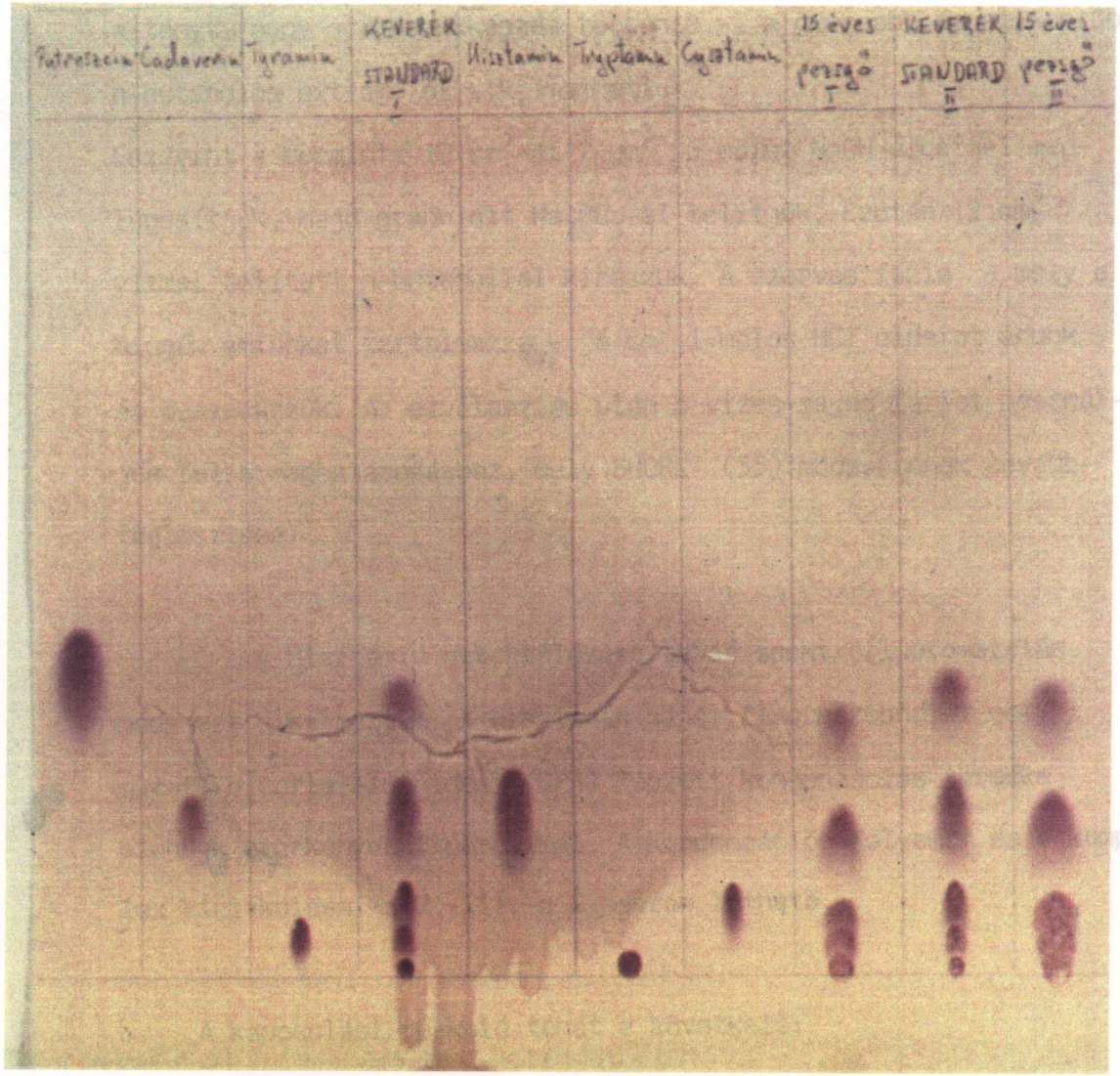
Az elválás sorrendje a startvonaltól kezdve:

feniletinamin, etanolamin, triptamin, szerotonin, tiramin, hisztamin, putreszcin, kadaverin (10.,11.ábra).



10. ábra

Biogén aminok változása a pezsgő erjedése során



11. ábra

Az érlelés hatása a pezsgő biogén amin tartamára

3.3. Hisztamin meghatározása spektrofluorometriás módszerrel

A pontos meghatározáshoz a 3.1. pontban leírtak szerinti extrakciót alkalmaztam. Rutinméréseknél - figyelembe véve azt a tényt, hogy származékképzés történik - a gyorsabb és egyszerűbb n-butanolos extrakciót alkalmazhatjuk.
Eszerint a borminta 10 cm^3-ét 2 cm^3 5 mólos NaOH-oldattal meglúgosítjuk, majd granulált Na_2CO_3-al telítjük. Ezután 12 cm^3 vízzel telített n-butanollal kirázzuk. A szerves fázis - mely a biogén aminokat tartalmazza - 6 cm^3 1 mólos HCl oldatot adunk és összerázzuk. Az elválasztás után a vizes-savas fázist használjuk fel a meghatározáshoz, mely SHORE (55) módszerének továbbfejlesztése.

A hisztamin detektálására tehát spektrofluorometriás módszert alkalmaztam. A hisztamin saját fluoreszcenciát nem mutat, ortoftalaldehiddel (OPA) képzett kondenzációs terméke azonban érzékenyen fluoreszkál. A kondenzációs folyamat és a komplex kialakulása a 7. ill. a 8. ábrán látható.

A kapcsolási reakció tehát a következő:

4 cm^3 hisztamin-oldathoz (a későbbiekben az előkészített bormintához) 0,8 cm^3 1 mól/dm^3-es NaOH oldatot adunk (pH=11-12), ezután 0,2 cm^3 1 %-os OPA oldatot pipettázunk hozzá (OPA -oldat: 0,1 g OPA-t 10 cm^3 metanolban oldunk); 4 perc reakcióidő eltelte után 0,4 cm^3 3 mól/dm^3-es sósavoldatot mérünk hozzá. (pH=1-2.)

A következő lépés a gerjesztési és az emissziós spektrum felvétele volt. Párhuzamosan vakpróbát is készítettem, amikor a hisztamin oldat helyett desztillált vizet mértem be, a többi lépés nem változott.

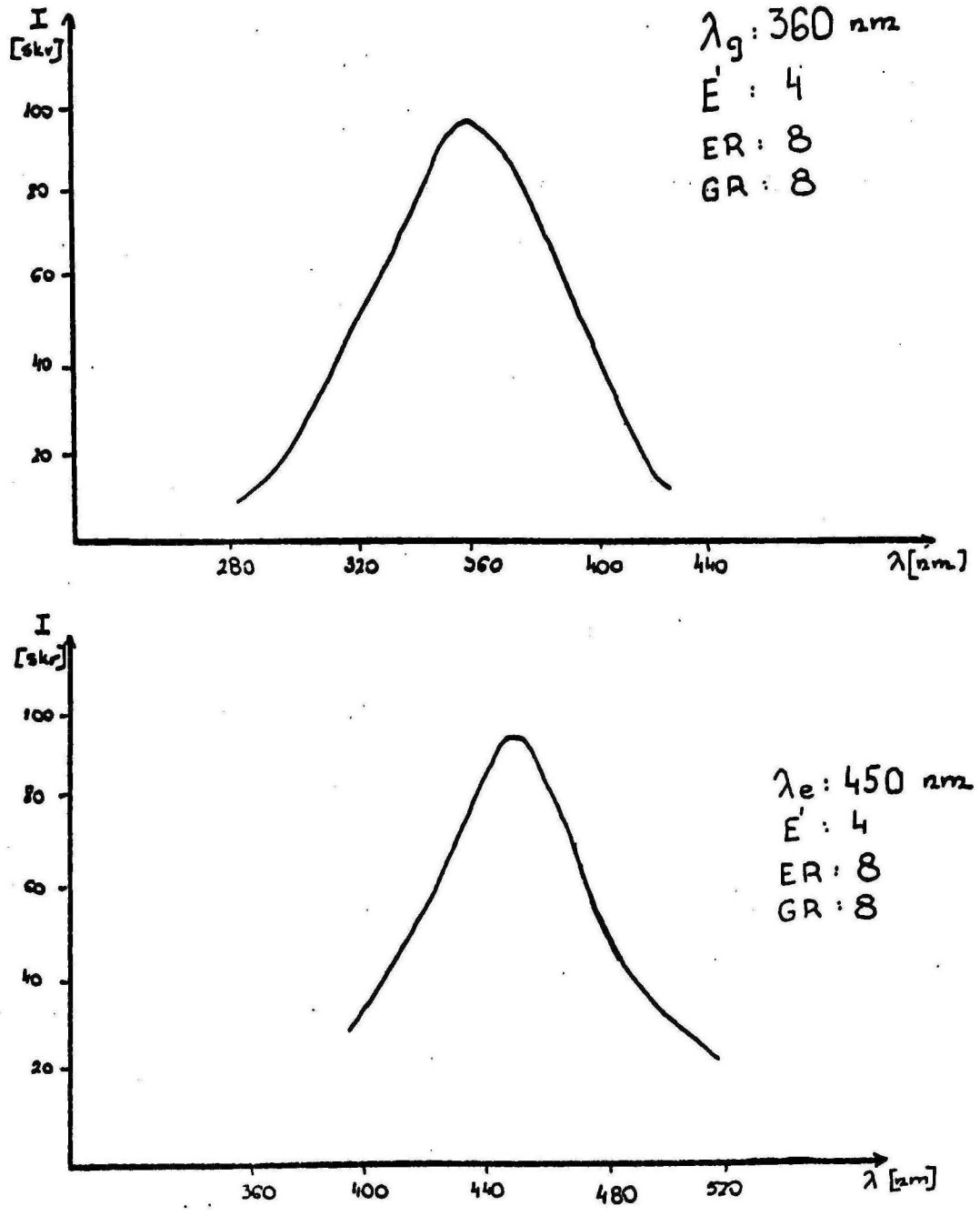
Méréseim során vizsgáltam az intenzitás idő szerinti változását, valamint az anionok hatását az intenzitás stabilitására. Ezt úgy végeztem el, hogy az átsavanyítást HCl helyett H_2SO_4 oldattal végeztem.

Hisztamin standardok alkalmazásával felvettem a kalibrációs egyenest, ahol az intenzitás változását mértem a hisztamin koncentráció függvényében.

A standard hisztamin oldatokkal történt kisérletek után a bormintából készült oldattal végeztem el a reakciót. Felvettem a gerjesztési és emissziós spektrumokat is.

A standard hisztamin oldatról felvett emissziós és gerjesztési spektrum a 12. ábrán látható.
Az ábrákon lévő rövidítések magyarázata:

λg = gerjesztési hullámhossz
λe = emissziós hullámhossz
É = a mérőműszer érzékenységi fokozata
ER = emissziós rész
GR = gerjesztési rés.

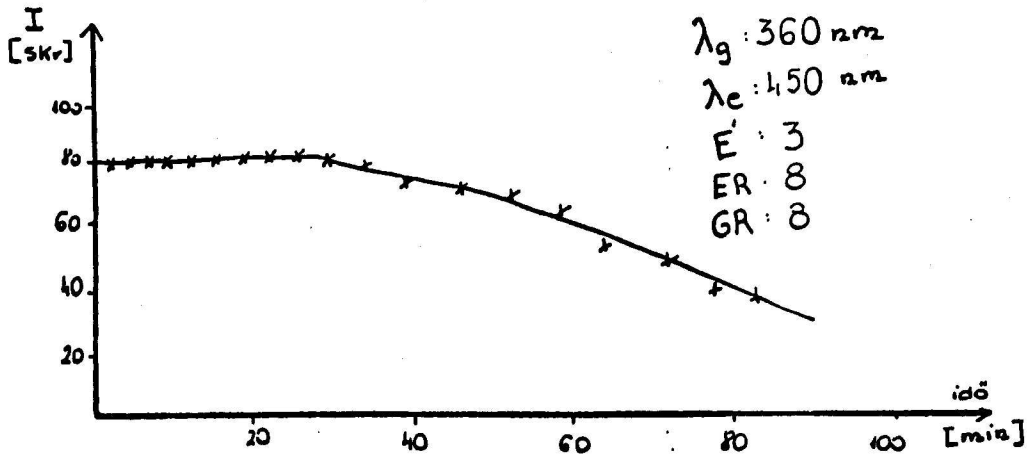


12. ábra

A standard hisztamin oldat gerjesztési és emissziós spektruma

Megfigyelhető, hogy a gerjesztési maximum 360 nm, az emissziós maximum pedig 450 nm-en van.
Ezek az értékek megegyeznek az irodalomban SHORE (55) által közölt adatokkal.

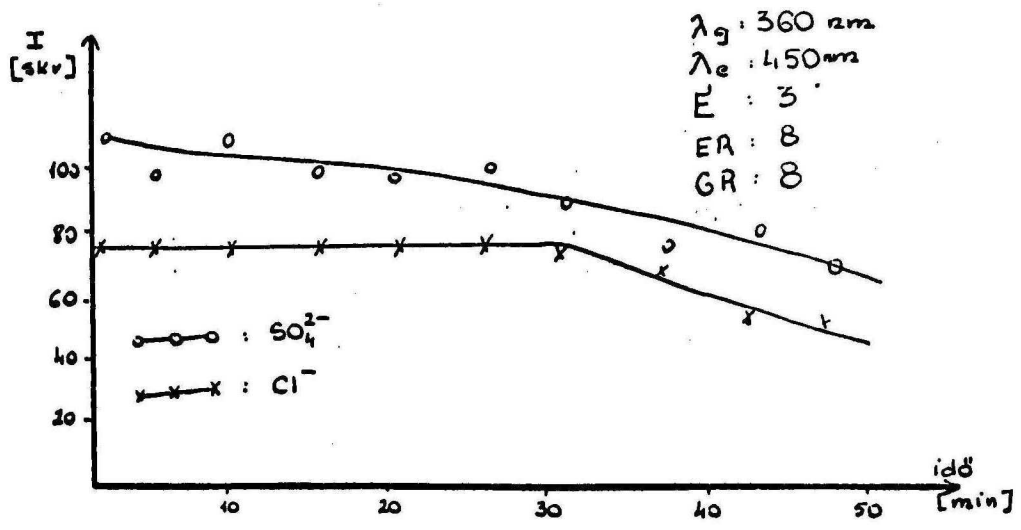
A 13. ábra az intenzitás változását mutatja az idő függvényében. Az ábra alapján látható, hogy a fluoreszkáló vegyület kb. 30 percig stabil, ezután az intenzitás csökken. Ebből következik, hogy a reakció elvégzése után 30 percen belül el kell végezni a mérést, különben hamis eredményt kapunk.



13. ábra

A spektrofluorometriás intenzitás változása az idő függvényében

A 14. ábra a sósavas (1) és kénsavas (2) savanyítás után felvett intenzitásokat ábrázolja az idő függvényében



14. ábra

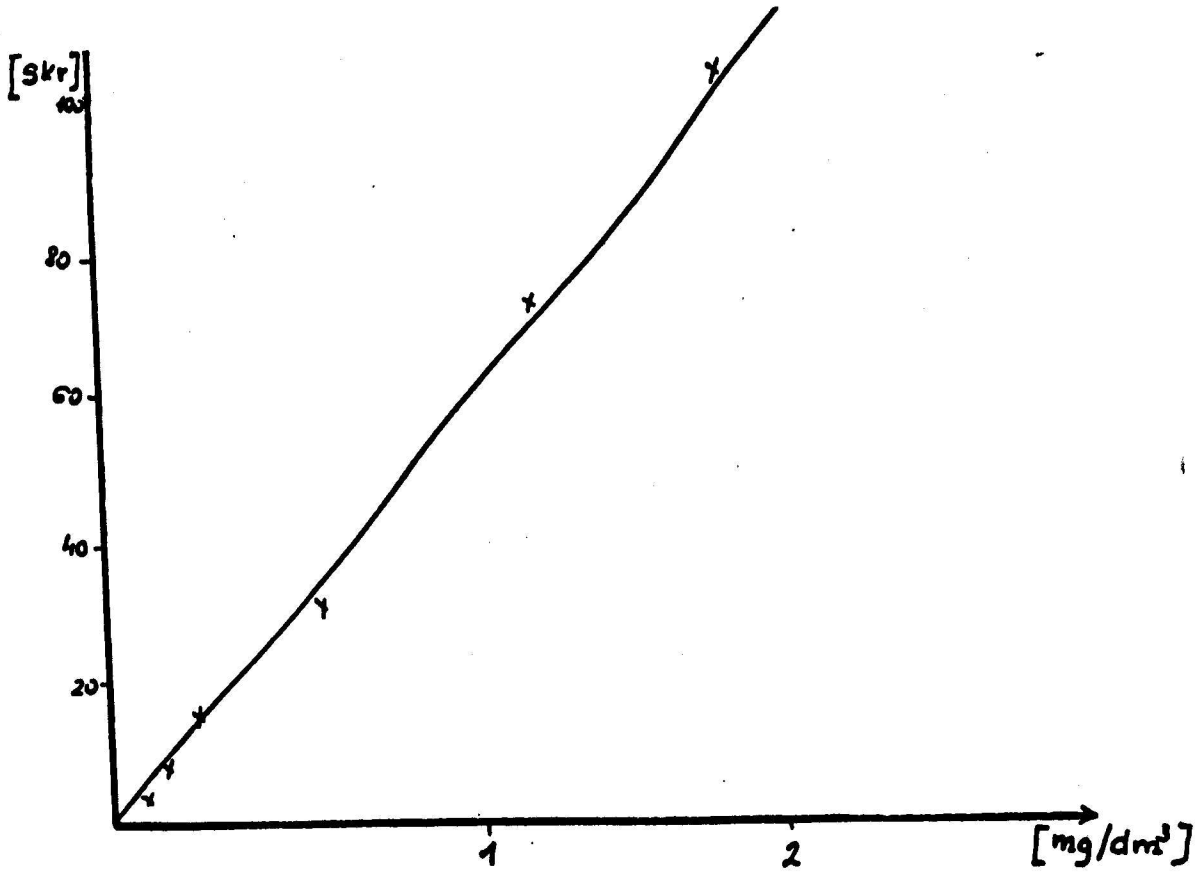
Az anionok hatása a spektrofluorometriás intenzitásra

Mivel a SO^{2-}_4-ionok hozzáadása (kénsavas savanyítás) nem növelte meg jelentősen a stabilitást, ezért a továbbiakban sósavoldattal végeztem a savanyítást.

A 15. ábrán a standard hisztamin-oldatokkal felvett kalibrációs diagram látható.

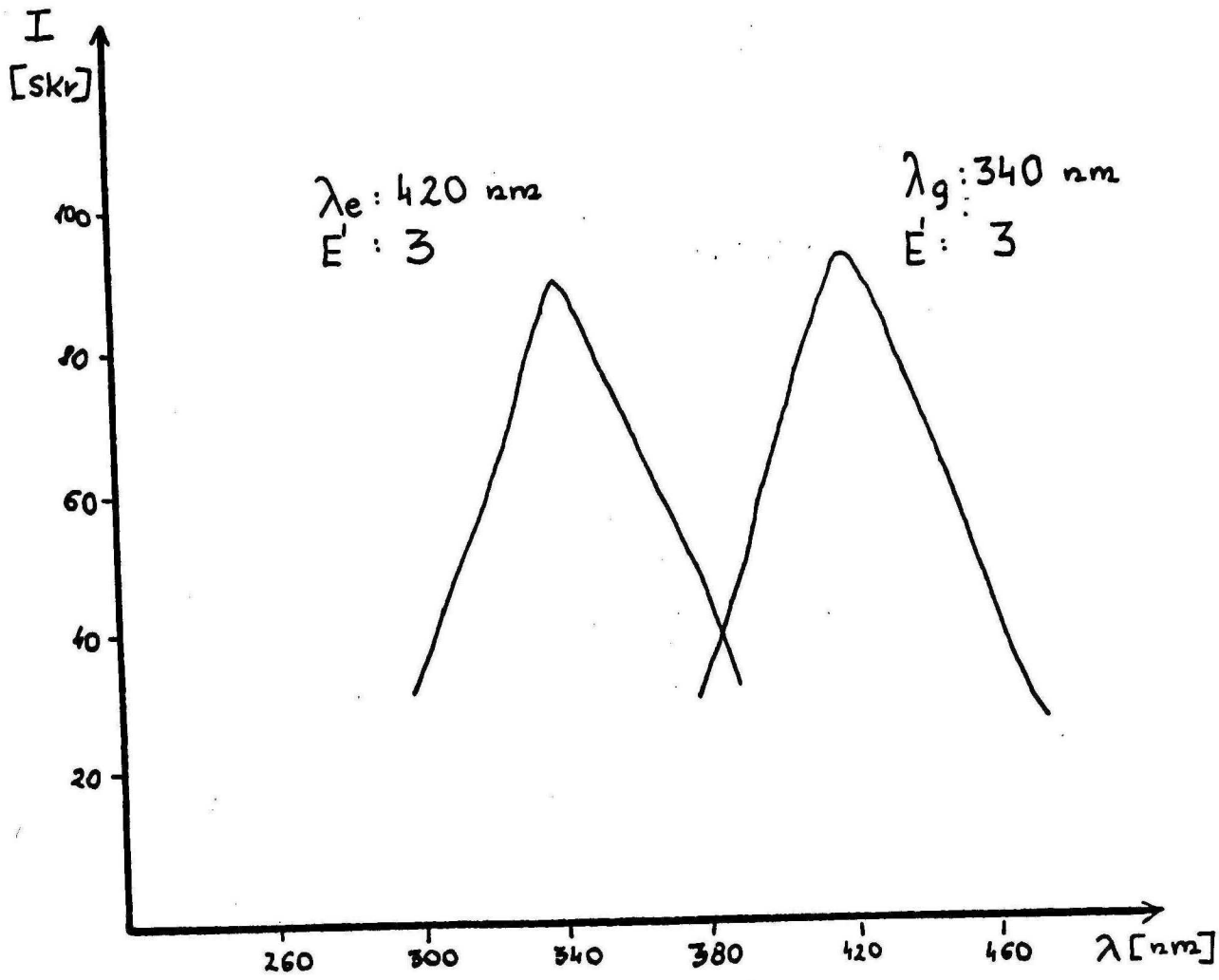
Az egyenes a mérési pontokra a legkisebb négyzetek módszerének felhasználásával illesztettem.

A 16. ábrán a borextrakt gerjesztési és emissziós spektruma látható.



15. ábra

Kalibrációs egyenes a hisztamin koncentráció méréséhez



16. ábra

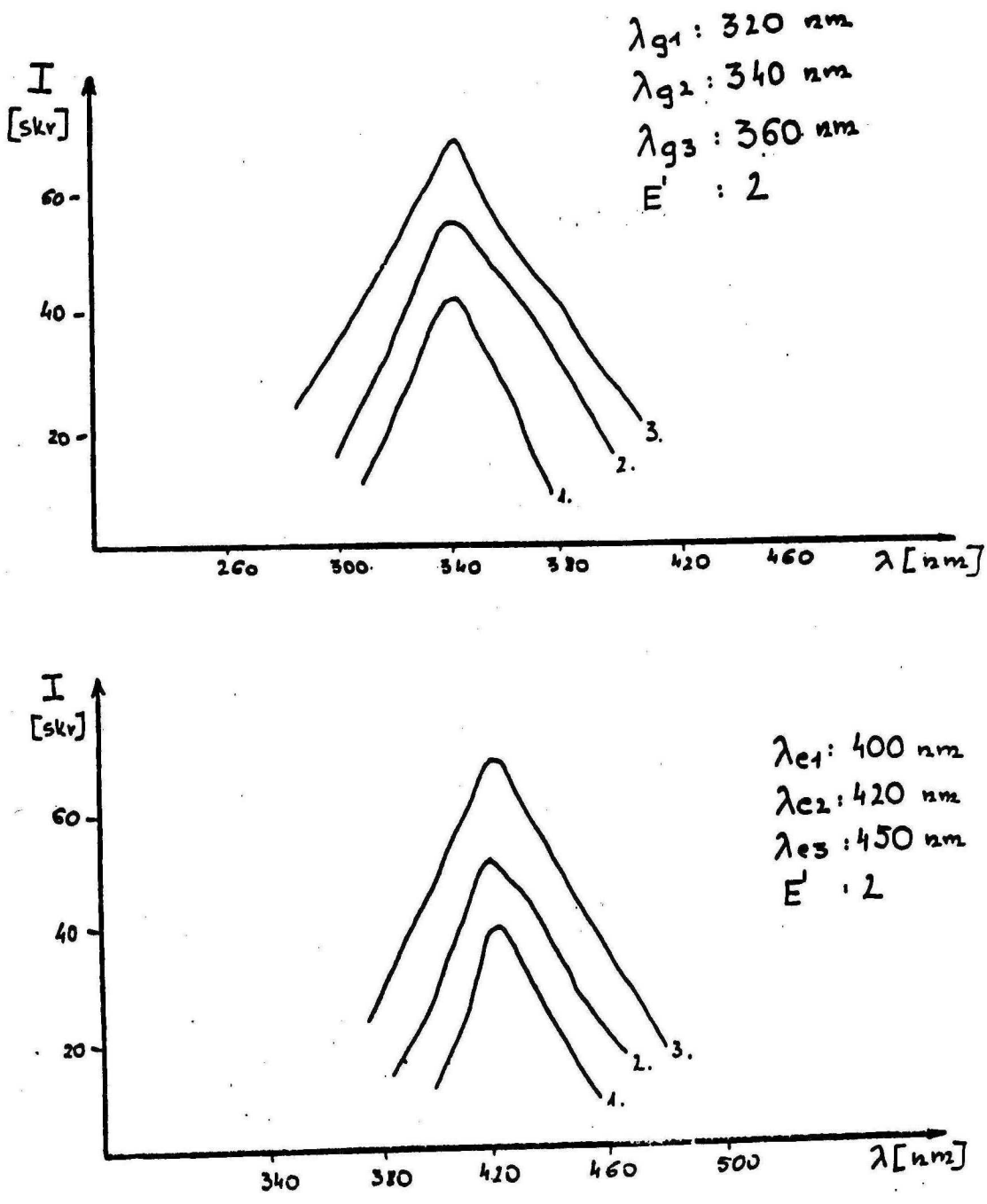
A borextrakt gerjesztési és emissziós spektruma

Megfigyelhető, hogy a gerjesztési maximum 340 nm, az emissziós maximum pedig 420 nm. Ez nem egyezik meg a standard hisztamin oldattal mért értékekkel.

Annak eldöntésére, hogy a hullámhossz eltolódást más, a rendszerben jelenlevő fluoreszkáló vegyület okozza-e, standard hisztamin oldatot adtam a rendszerhez, és újra felvettem a gerjesztési spektrumot egy adott emissziós hullámhossznál és az emissziós spektrumot különböző gerjesztési hullámhosszaknál. Ez látható a 17. ábrán.

Mivel a maximum helye nem változott az emissziós spektrumban a gerjesztési hullámhossz változtatásával, csak az intenzitásban mutatkozik különbség, megállapítható, hogy nincs jelen más fluoreszkáló vegyület, a mért érték a hisztamintól származik. Azonban ez azt jelenti, hogy a sorozat-mérések során a standard addició módszerét kell alkalmazni. Az eltolódást a spektrumban első közelítésben környezeti hatásnak tekinthetjük.

A hisztamin tartalom meghatározását 340 nm gerjesztési és 420 nm emissziós hullámhosszon végeztem, standard addiciót alkalmazva.



17. ábra

Borminta gerjesztési és emissziós spektruma standard hisztamin oldat hozzáadása után

A módszer hibáját 1982-es évjáratú "Egri Kékfrankos" vörös borból határoztam meg:

A mért értékek:

Minta szám	Intenzitás	Koncentráció (mg/dm^3)
1	6	0,05
2	11	0,0875
3	8	0,075
4	8	0,075
5	13	0,1125
6	12	0,100
7	11	0,0875

Az átlagos koncentráció: 0,084 mg/dm^3.

A szórás számolása a következő összefüggés szerint történt:

$$S^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

ahol: x_i = aktuális koncentráció mg/dm^3,

$\bar{x}$ = a mért értékek átlagos koncentrációja mg/dm^3,

n = a minták száma,

S = pedig a szórás.

Jelen esetben a szórás 0,02-nek adódott. Kiszámoltam a 90 %-os konfidencia intervallumot t- eloszlásra:

$$\alpha = 0,1; \quad \sqrt{} = n-1=6; \quad t_{\alpha/2} = 1,943; \qquad (24)$$

$$P\left\langle x - t_{\alpha/2}\, S/\sqrt{n} < \mu < x + t_{\alpha/2}\, S/\sqrt{n} \right. = 0,9$$

$$P\left\langle 0,069 < \mu < 0,098 \right\rangle = 0,9$$

Méréseim alapján a relatív hiba 17 %-nak adódott egyszeri extrakció után.

3.4. A tiramin-tartalom meghatározása

A tiramintartalom detektálása is spektrofluorometriásan történt. A paraszubsztituált fenolok - így a tiramin is - α -nitrozo - β -naftollal jellegzetes sárga színű fluoreszkáló vegyületet adnak híg salétromsavas közegben. (18.ábra).

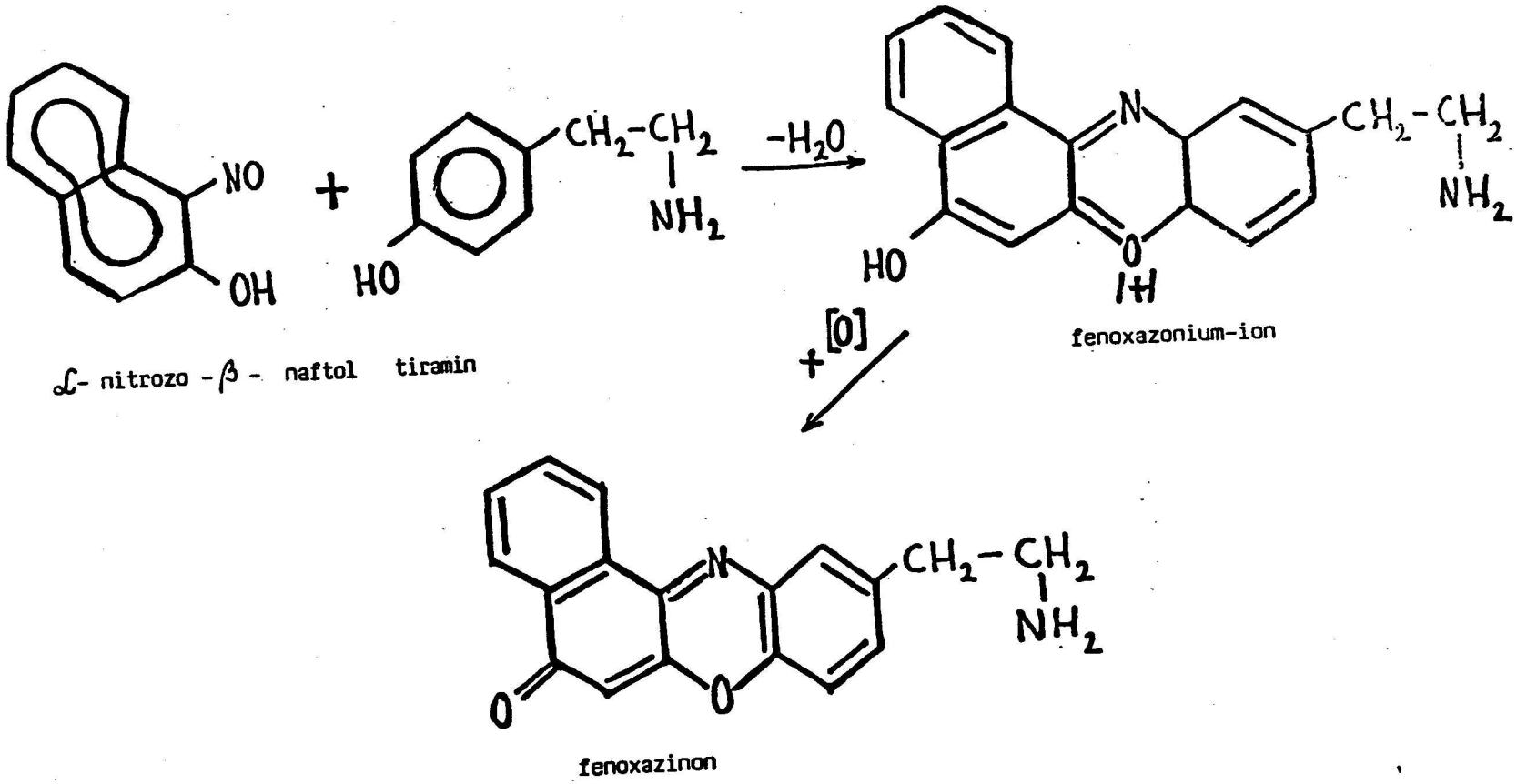
A kapcsolási reakció a következő:

- 5 cm^3 borextrakthoz 1 cm^3 0,1 %-os alkoholos α -nitrozó β -naftolt és 1 cm^3 1 mól/dm^3-es HNO_3-oldatot (amely 2,5 %-ban tartalmazza a $NaNO_2$ 2 %-os oldatát) adtam;
- a keveréket homogenizáltam és 60 $\pm$ 5 ^oC-on állni hagytam egy órán keresztül;
- a reakcióidő letelte után a mintát szobahőmérsékleten tartottam, majd a reagens feleslegét 10 cm^3 1,2 diklór-metánnal extraktáltam.

  Felvettem a standard oldat és a borextrakt gerjesztési és emissziós spektrumát, majd a kalibrációs egyenest.

  A gerjesztési maximum 465, az emissziós maximum 565 nm-nél adódott. (19. ábra)

A relatív hiba vizsgálatánál a hisztamin meghatározásnál tapasztaltakhoz hasonló eredményeket kaptam.



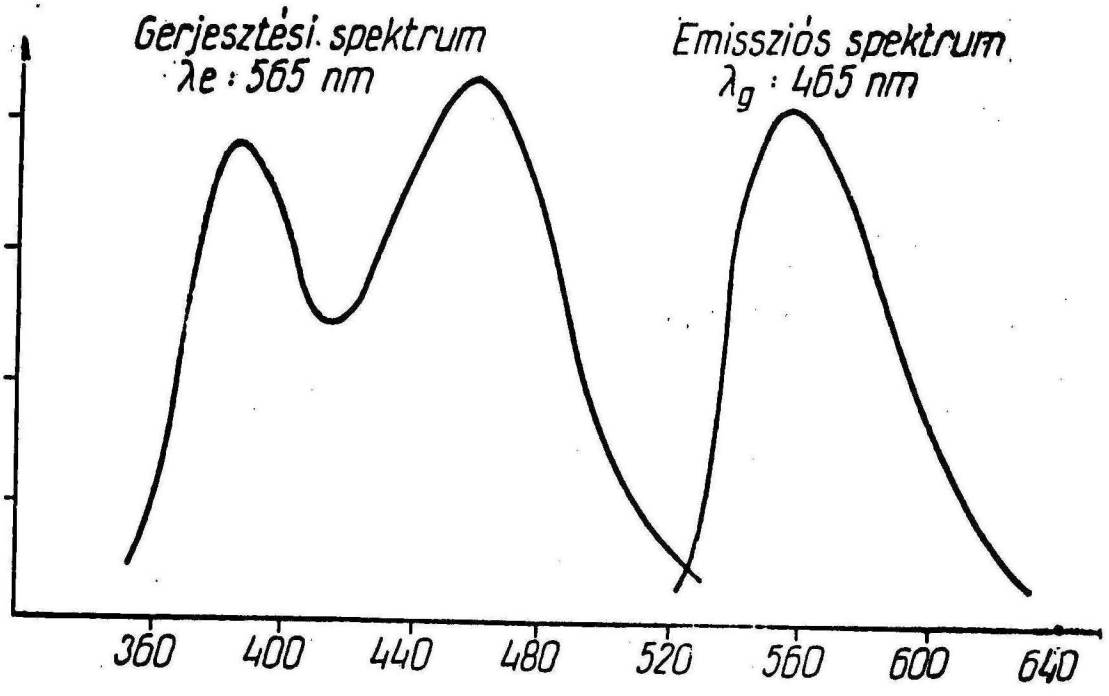
ℒ- nitrozo -β- naftol tiramin

fenoxazonium-ion

fenoxazinon

λ_{ex} = 465 nm
λ_{em} = 565 nm

18. ábra A tiramin reakciója ℒ-nitrozo -β- naftollal



19. ábra

3.5. Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) alkalmazása a biogén aminok meghatározására

A HPLC-s módszerek mind a minőségi, mind a mennyiségi analízisben jelentős szerepet játszanak.

Az irodalomban legtöbb esetben fluorometriás detektálást ajánlanak, de nem kizárt az UV-abszorbancia mérése diódasoros detektorral.

E helyt nem cél a HPLC mint analitikai módszer, illetve berendezései ismertetése, a továbbiakban tehát csak a konkrét módszer ismertetésére ill. kritikájára szorítkozom.

Az aminok HPLC-s vizsgálatához az előzőekben már ismertetett módszerhez hasonlóan a következő extrakciót végeztem:

A borminta 5 cm^3-ét 1 cm^3 5 mólos NaOH-val meglúgosítottam, majd granulált Na_2SO_3-mal telítettem. Ezután 6 cm^3 vízzel telített n-butanollal kiráztam. A szerves fázis 3 cm^3-ét 3 cm^3 1 mólos HCl-oldattal extraháltam, majd az elválasztás után a vizes-savas fázist használtam fel a származék-képzéshez.

Az OPA-komplex előállítása:

2 cm^3 mintaoldathoz 0,8 cm^3 1 mólos NaOH-t majd 0,2 cm^3 OPA-reagenst, és 4 perc reakcióidő után 0,4 cm^3 3 mólos HCl-t adtam. Az így kapott oldatot, mely kb. 30 percig stabil, használtam a mérésekhez.

Az OPA-reagens összetétele:

20 mg OPA
20 µl merkaptoetanol
5 cm^3 acetonitrilben oldva.

a reagens hűtőszekrényben 2 hétig eltartható!

Kromatográfiás körülmények:

Készülék HP 1050 tip. HPLC-berendezés diódasoros UV-detektorral

Kolonna: 200x4,6 mm, 5 µm ODS-Hypersil

Mozgófázis: A : metanol 52 %

B : víz 48 %

Hőmérséklet: 40 ^{o}C

FLOW: 0,8 cm^3/perc

Detektálás: 220/20 nm

ref.: 580/40 nm

Felhasznált standardok:

hisztamin

tiramin

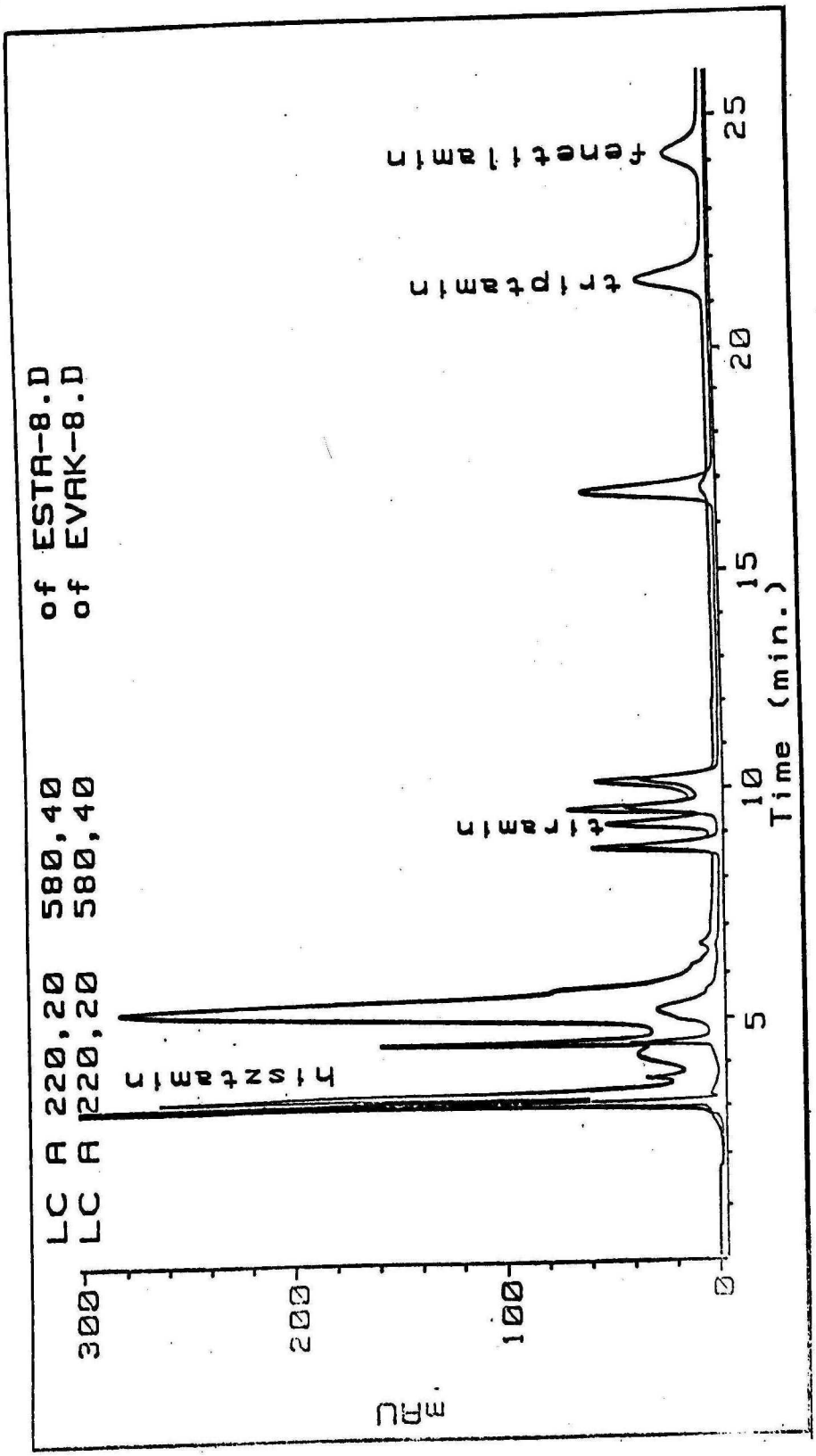
triptamin

feniletilamin.

A pontosabb elemzés érdekében un. szendvics módszerrel (egy anyag több helyre adagolása a jobb keveredés érdekében) mértem be a jó elválasztást adó paraméterek ismeretében a reagenseket. A standard kromatogrammot a 20. ábra mutatja.

A 21-25. ábrák különböző borminták HP 1050-es készüléken rutinszerűen vizsgált hisztamin ill. tiramin koncentráció-meghatározást mutatják.

A továbbiakban a lehetőségek figyelembe vételével végeztem a kisérleti célkitűzésekhez szükséges méréseket. A HPLC ill. spektrofluoremtriás mérés eredményei statisztikai értékelés alapján összevethetők.



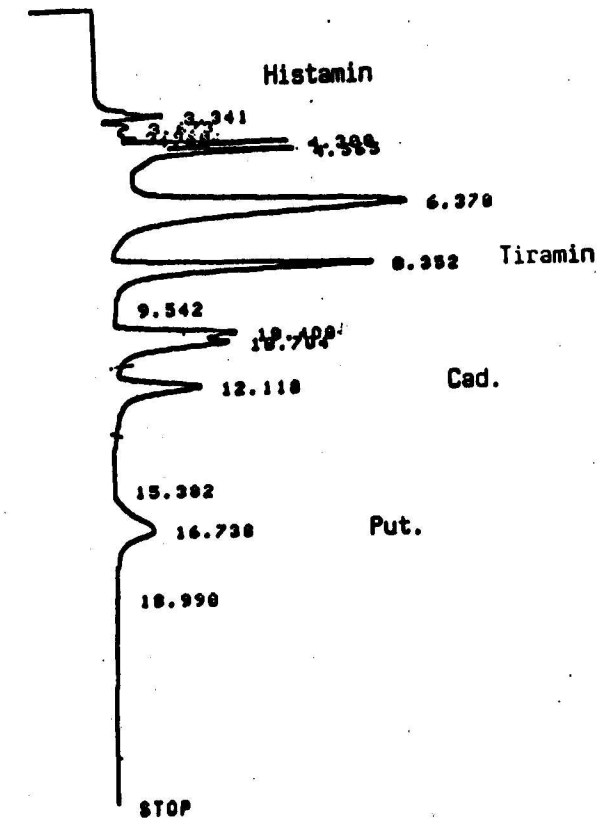
20. ábra Standard oldat kromatogramja HP 1050 tip.készülékben

TOTAL AREA=1.3561E+07
MUL FACTOR=1.0000E+00

* LIST: LIST
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 50.402
ATT 2^ = 6
CHT SP = 0.5
AR REJ = 1000000
THRSH = 1
PK WD = 0.04

* RUN 0 7 JAN 1, 1981 07:15:48
START



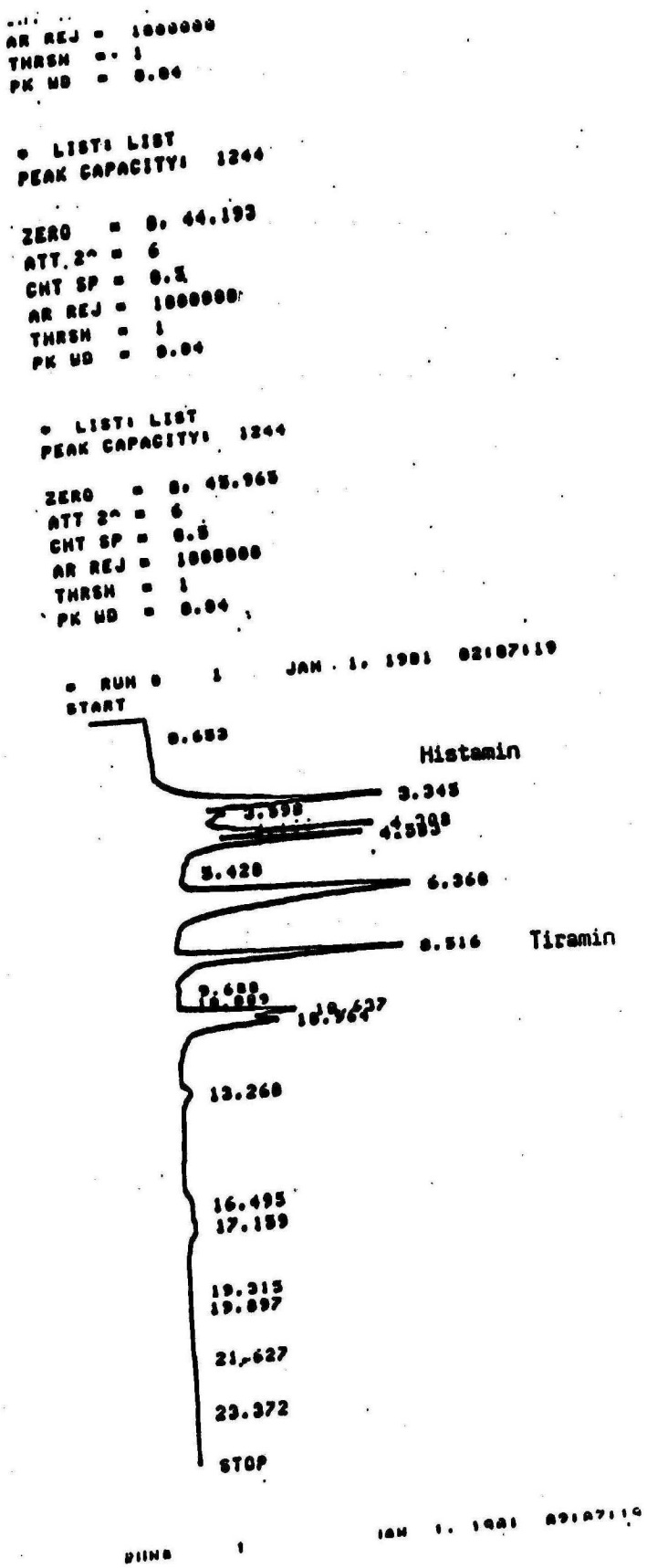
RUN0 7 JAN 1, 1981 07:15:48

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
6.378	5203283	BP	.575	40.73443
8.352	2542086	PB	.306	19.90724
10.480	1088723	PV	.273	8.52318
10.784	1451503	VV	.388	11.36324
12.118	1278942	VV	.457	10.01233
16.738	1208337	VP	.941	9.46959

TOTAL AREA=1.2774E+07
MUL FACTOR=1.0000E+00

21. ábra Kékfrankos (1989) bor kromatogramja HP 1050-es készüléken



22. ábra Zalagyöngye (1989) bor kromatogramja HP 1050-es készüléken

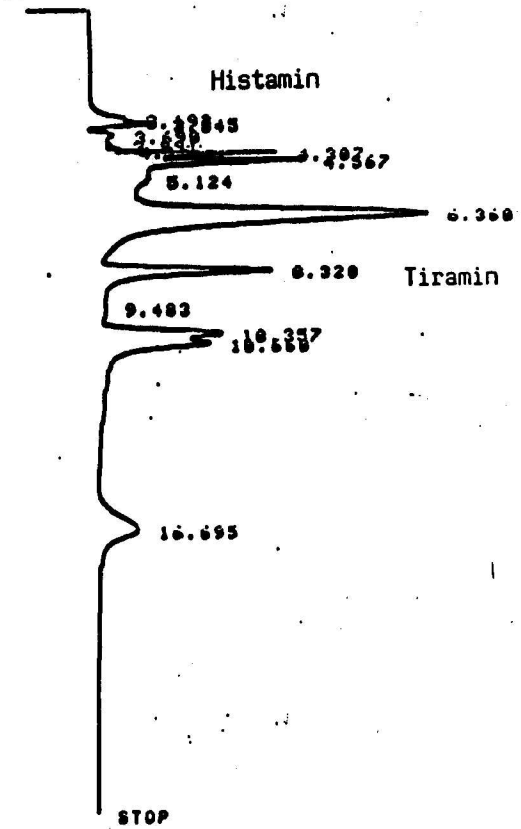
3.433	17683120	SHB	.120	72.43098
6.369	5624080	TVV	.589	23.03654
10.726	1106551	VV	.362	4.53249

TOTAL AREA=2.4414E+07
MUL FACTOR=1.0000E+00

* LIST: LIST
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0, 50.505
ATT 2^ = 6
CHT SP = 0.5
AR REJ = 1000000
THRSH = 1
PK WD = 0.04

* RUN # 6 JAN 1, 1901, 06:45:27
START



RUN# 6 JAN 1, 1901 06:45:27

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
4.567	1547281	VV	.227	11.40974
6.368	6873389	VV	.648	50.68475
8.328	1620958	VB	.296	11.95304
10.357	1056473	PV	.274	7.79049
10.660	1300523	VV	.376	9.59013
16.695	1162436	VV	.904	8.57187

23. ábra Hárslevelű (1988.) bor kromatogramja HP 1050-es készüléken

AREA%

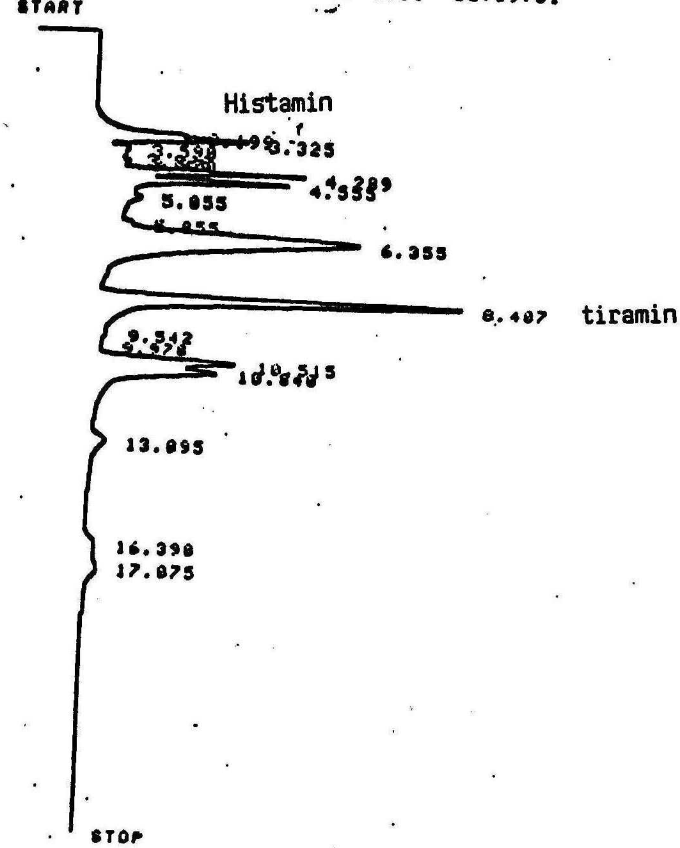
RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
3.345	2614758	BV	.332	17.86382
4.308	1112908	VV	.149	7.60330
4.583	1527546	VV	.217	10.43607
6.360	4797107	VV	.365	32.77342
8.316	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
10.[illegible]37	1176292	[illegible]	.281	8.03533
10.904	1281156	VV	.361	8.75276

TOTAL AREA=1.4637E+07
MUL FACTOR=1.0000E+00

* LIST: LIST
PEAK CAPACITY: 1244

ZERO = 0. 50.402
ATT 2^ = 6
CHT SP = 0.5
AR REJ = 1000000
THRSH = 1
PK WD = 0.04

* RUN # 2 JAN 1, 1901 02:39:31

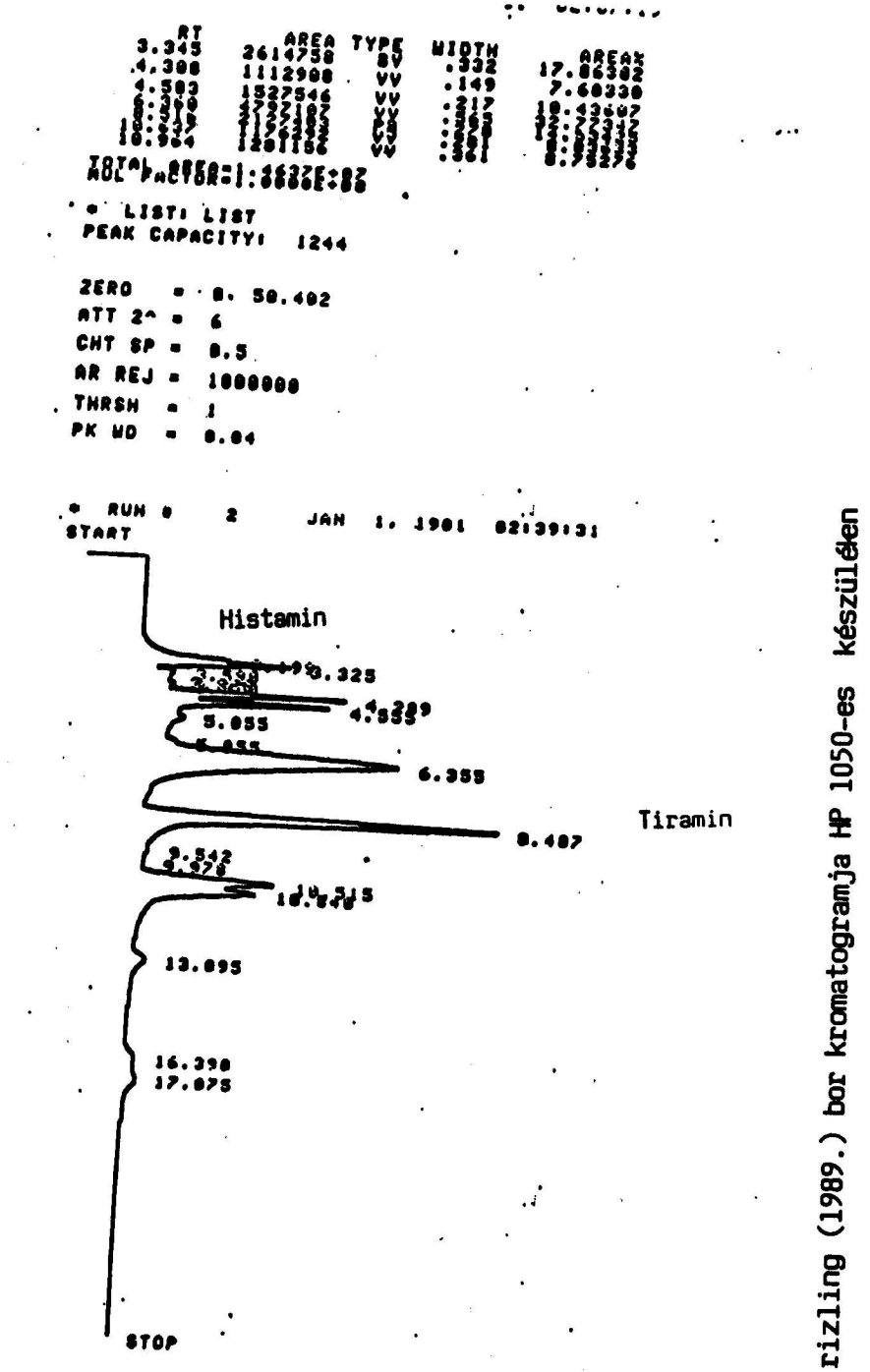


24. ábra Egri Bikavér (1986.) kromatogramja HP 1050-es készüléken

RUN# 2 JAN 1, 1901 02:39:31

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
4.289	1059739	VV	.159	8.125[illegible]
4.555	1190065	VV	.194	9.12[illegible]
6.335	5085373	VV	.608	38.9917[illegible]



25.ábra Olasz rizling (1989.) bor kromatogramja HP 1050-es készüléken

4. A jellemző magyar borvidékek un. nyersborainak minőségi és mennyiségi feltérképezése a biogén aminok -elsősorban a hisztamin és tiramin koncentráció - szempontjából

Munkám során kettős cél vezérelt, egyrészt adatokat kívántam szerezni a magyar borok finomabb összetételét képező biogén aminokról, másrészt vizsgálni kívántam a jellegzetes magyar borvidékekről származó szőlőfajták fajtatiszta, kezeletlen borait a fentiek szempontjából.
Nem tartottam célszerűnek mind a 21 borvidék külön tárgyalását, hanem azokat kissé egységesítve, az ország földrajzi adottságait figyelembe véve, az alábbi felosztást választottam:

- Badacsony és vidéke
- Alföld
- Villány-Siklós
- Eger és környéke.

Véleményem szerint a közölt tárgyalási mód lehetővé teszi a tájegységek szerinti értékelést, mivel az említett földrajzi környezet több borvidéket is magában foglal.

A borok kiválasztása véletlenszerűen történt, de követelmény volt a fajtatiszta kezeletlen állapot, valamint az, hogy nagyobb tételben (legalább 100 hl-es nagyságrendben) álljanak rendelkezésre.

Eszerint 3 évjáraton (1981, 1982 és 1983) keresztül vizsgáltam a borok biogénamin koncentrációját, összetételét, elsősorban a hisztamin és a tiramin szempontjából.

Arra kerestem választ, hogy

- milyen aminok fordulnak elő a vizsgált borokban,
- milyen az átlagos koncentráció,
- van-e különbség a borvidékek,szölőfajták és évjáratok között.

Ahhoz, hogy az említett három évjáratban kapott eredményeket kellőképpen értékelhessük, szükségesnek mutatkozik azok rövid jellemzése.

1981.év

Az analitikai adatok részletes ismertetését mellőzve megállapítható, hogy a borok minősége közepes, vagy jó közepes minőségű, az időjárási tényezőknek megfelelően alakult. Kémiai összetételük általában megfelelő, kedvező, kivéve a savtartalmat, ill. a pH-értéket, amely szerint a borok lágyak.
Az állóképességet tekintve a borok barnatörésre nem hajlamosak, hidegre a szokottnál jóval érzékenyebbek. A borok legtöbb esetben rosszul szűrhetők, de jól deríthetők, a szükséges szabad SO_2-szint könnyen kialakítható.

1982.év

A borok jó közepes minőségűek, kémiai összetételük normálisnak mondható, a savtartalom átlagos. A borok melegpróbára érzékenyek, amely a magasabb fehérjekoncentrációra utal. Barnatörésre nem hajlamosak, ugyancsak csekély a borkő-kiválási hajlam is. A borok tipikusan kénfalók, a technológiailag indokolt szabad SO_2-szint csak egy magasabb összes SO_2-koncentráció mellett alakítható ki.

1983.év

Az évjárat borai igen jó minőségűek. Problémát okoz a borok alacsony savtartalma, amely várhatóan tovább csökken. Fontos a gondos kénezés és az igényes borkezelés.

A három évjárat rövid, sematikus ismertetése jól jellemzi az átlagos magyar évjáratokat, egyben lehetővé teszi azt, hogy általánosíthassunk a borok biogénamin-koncentrációját illetőleg.

A kiválasztott szőlőtermő területek rövid jellemzése:

BADACSONYI BORVIDÉK

A Balaton északi részén, vulkanikus hegyek lejtőjén terül el, az egyik legnedvesebb borvidékünk. Legjelentősebb szőlőhegyeinek - Badacsony-hegy, Szent-György-hegy, Szigliget-hegy- déli lejtőin teremnek a borvidék legkitünőbb borai.

A borvidék éghajlata nem szélsőséges, enyhe. A déli lejtők mikroklimája, részben a Balaton víztükrének hatásaként, a szőlőtermesztésre kedvező. A vulkanikus eredetű hegyek alapközete a bazalt, amelyet pannonhomok, agyag és löszréteg borít.
A borvidék legfontosabb fajtája az Olaszrizling, elterjedt fajták a Zöldszilváni, a Szürkebarát, a Rizlingszilváni, a Furmint és a Kéknyelű.

VILLÁNY-SIKLÓSI BORVIDÉK

A legdélibb fekvésű borvidékünk, 2100 hektár szőlő-termelő területtel. Éghajlatára a hosszú tenyészidő, a nagyobb hőösszeg és a napsütéses órák száma jellemző. Talaja főleg vörös agyagés lösz.

Az utóbbi években gyorsan fejlődő borvidék, elsősorban kiváló minőségű vörösboraival szerezte hírnevét, de nevezetesek és kedveltek az itt termelt fehérbor-szőlőfajták is. A borvidék legelterjedtebb fajtája az Oportó, de több száz hektáron termelnek Kadarkát és Kékfrankost is. A fehérbor-szőlőfajták közül az Olaszrizling áll az első helyen, de jelentős a Bánáti rizling és a Hárslevelű területi aránya is.

A villányi vörösborok rendszerint mélyvörös színűek, tüzesek és extraktdúsak, kellemes bársonyosak és mérsékelt savtartalmúak.
A fehérborok is tüzesek, testesek és zamatanyagokban gazdagok.

EGRI BORVIDÉK

A bortermelés központja Eger, szőlőterülete 3300 hektár. Egerben a riolit-tufa-közetbe vájt pincékben a borok jól fejlődnek.

A borvidék éghajlata elsősorban a fehérbor-szölőfajták számára kedvező, de a jó évjáratokban kék borszölőfajtákból jó minőségű vörösborok készíthetők. A talaj mészben szegény, nyirokkal kevert, erősen kötött barna agyag.

A borvidéken eredetileg csak vörösbort termeltek, de ma már a borvidék legelterjedtebb fehérbor-szölőfajtája az Olaszrizling és a Leányka. Ezekből a fajtákból testes, tüzes, kissé lágy pecsenyeborok készülnek. Vörösbor-szölőfajtái közül legelterjedtebb a Kékfrankos, a Kadarka és az Oportó.

ALFÖLDI BORVIDÉK

Árubor- termelésünknek átlagosan 60-65 %-át ez a borvidék adja. Ennek következtében jelentősége a belföldi borellátásban és borexportban igen nagy.
Az Alföld éghajlata szélsőséges, jellemzője az aszályos, perzselő nyár és a hideg zord tél. E borvidéken a talaj jórészt immunin, filaxéramentes homok, amely szinte kizárólag szölő- és gyümölcstermesztéssel hasznosítható. A talajvíz általában magasan található.

Az alföldi borvidéken a legelterjedtebb borszölő-fajta a mintegy 37000 hektáron termesztett Kadarka, amelyből ritkán készíthető mélyszínű vörösbor. A legtöbb évben csak élénk piros színű, rozébor készítésére alkalmas. A Kövidinkát 23000, az Ezerjót 8600 és az Olaszrizlinget 6900 hektáron termesztik. Jelentős területen termelnek még Kékfrankost, Furmintot és Leánykát.

A sovány homoktalajon termelt alföldi borok - főként a szárazabb, csapadékszegény években - kisebb extrakt-tartalmúak,mint a hegyvidéki borok. Rendszerint kevesebb az aroma és zamatanyag-tartalmuk is.

Borfajták:

Badacsony	Ezerfürtű Szürkebarát Jubileum Rajnai Rizling
Alföld	Jubileum Olasz rizling Zenit Kékfrankos
Villány-Siklós	Olasz rizling Tramini Cabernet franc Kékfrankos Oportó
Eger	Leányka Zenit Kékfrankos Merlot Zweigelt

A bormintákat a 3. fejezetben ismertetett módszerekkel vizsgálva az alábbiak állapíthatók meg:

1./ A borminták mindegyikében kimutatható a hisztamin, tiramin, a triptamin, a feniletilamin, a putreszcin és a kadaverin.

2./ A III., IV. és V. táblázat adatait elemezve megállapítható, hogy a vizsgált évjáratok, borvidékek és szőlőfajták között ilyen szempontból nem tehető különbség.
Nem törvényszerű, de általában nagyobb a vörös borok hisztamin ill. tiramin-koncentrációja, ez azonban nem szőlőfajta, hanem a technológia, ill. egyéb tényezők következménye is lehet.

3./ Amennyiben a vizsgált borfajtákat jellemzőnek fogadjuk el, a magyar borok hisztamin-koncentrációja 0,170 - 2,500 mg/dm^3, tiramin-koncentrációja pedig 0,290 - 1,380 mg/dm^3 szélsőértékek között mozog.

Ez jóval alacsonyabb a hisztaminra megállapított 10 mg/dm^3 határértéknél.

III. Táblázat

Az 1981-es évjárat vizsgált borainak hisztamin és tiramin koncentrációja

Borvidék	Fajta	Hisztamin mg/dm^3	Tiramin mg/dm^3
BADACSONY	Ezerfürtű	0,195	0,880
	Szürkebarát	0,910	0,880
	Jubileum	0,610	0,620
	Rajnai Rizling	0,753	0,570
ALFÖLD	Jubileum	2,100	0,760
	Olasz rizling	1,085	0,900
	Zenit	1,010	0,760
	Kékfrankos	0,850	0,680
VILLÁNY-SIKLÓS	Olasz rizling	0,210	0,620
	Tramini	0,280	1,380
	Cabernet	0,610	0,790
	Kékfrankos	0,690	0,690
	Oportó	0,950	0,790
EGER	Leányka	1,500	0,480
	Zenit	0,810	0,290
	Kékfrankos	1,650	0,770
	Merlot	0,790	0,500
	Zweigelt	2,100	0,460

IV. Táblázat

Az 1982-es évjárat vizsgált borainak hisztamin és tiramin koncentrációja

Borvidék	Fajta	Hisztamin mg/dm^3	Tiramin mg/dm^3
BADACSONY	Ezerfürtű	0,320	0,810
	Szürkebarát	0,710	0,580
	Jubileum	0,730	0,610
	Rajnai rizling	1,320	0,800
ALFÖLD	Jubileum	1,250	0,680
	Olasz rizling	1,850	0,920
	Zenit	2,400	0,680
	Kékfrankos	2,500	0,990
VILLÁNY-SIKLÓS	Olasz rizling	0,190	0,810
	Tramini	0,336	0,980
	Cabernet	0,580	0,750
	Kékfrankos	0,780	1,150
EGER	Leányka	1,950	0,570
	Zenit	1,140	0,510
	Kékfrankos	1,000	0,810
	Merlot	0,990	0,650
	Zweigelt	1,110	0,390

V. Táblázat

Az 1983-as évjárat vizsgált borainak hisztamin és tiramin koncentrációja

Borvidék	Fajta	Hisztamin mg/dm^3	Tiramin mg/dm^3
BADACSONY	Ezerfürtű	0,230	0,715
	Szürkebarát	0,460	0,630
	Jubileum	0,700	0,595
	Rajnai Rizling	0,990	0,853
ALFÖLD	Jubileum	1,130	0,711
	Olasz rizling	0,410	0,895
	Zenit	1,855	0,650
	Kékfrankos	0,250	0,890
VILLÁNY-SIKLÓS	Olasz rizling	0,211	0,850
	Tramini	0,350	0,880
	Cabernet	0,435	0,730
	Kékfrankos	0,240	0,990
E G E R	Leányka	0,249	0,510
	Zenit	1,055	0,600
	Kékfrankos	0,252	0,790
	Merlot	0,174	0,595
	Zweigelt	0,935	0,415

5. A biológiai almasavbomlás és a biogénaminképződés összefüggése

A dekarboxiláz - enzimrendszer az élesztők alkotórésze is, így az erjedés alatt a szőlő, ill. must aminosavaiból biztosan képződik valamilyen koncentrációban biogén amin. A megfigyelések szerint azonban a tejsavbaktériumok (Lactobacillus-ok) tevékenysége következtében mintegy melléktermékként az L-almasav L-tejsavvá történő alakítása során az aminosavak biogén aminokká történő dekarboxilezése is megtörténik.

A biológiai almasavbomlás, vagy malolaktikus erjedés (MLF) fontos biológiai beavatkozási lehetőség a borok - elsősorban a vörösborok - minőségének javításában. Egyelőre inkább spontán játszódik le; gátlása csak indirekt módon kivitelezhető (kénezés, membránszűrés), beindítására azonban kisérleti célokra már előállítottak olyan tejsavbaktérium-tenyészeteket, melyekkel a biológiai savszabályozás a szelektált élesztőkkel végzett irányított erjesztéshez hasonlóan folytatható le.

A biológiai almasavbomlás mikrobiológiai szempontok szerinti ismertetése nem tartozik a dolgozat tárgykörébe, ugyancsak nem foglalkoztam az MLF és a biogén aminok képződésének mikrobiológiai hátterével. Célom az volt, hogy a vizsgált borok esetében nyomon kövessem az MLF lejátszódását, ill. ezzel párhuzamosan a biogénamin-koncentráció változását.

Az MLF lejátszódását az L-almasav és az L-tejsav enzimatikus mérésével, (Boehringer-Mannheim UV test) az összes biogénamin, ill. hisztamin és tiramin koncentrációját a már ismertetett módszerekkel végeztem. A vizsgálathoz az 1981-es évjárat borait használtam, a méréseket 1982. decemberében is elvégezve. A kapott eredményeket a VI.és VII. táblázat tartalmazza.

A táblázatok adatait vizsgálva megállapítható, hogy bizonyos mértékű almasavbomlás mindegyik borban lejátszódott (lásd: almasav-, tejsav koncentrációk), ezzel párhuzamosan emelkedett az összes biogénamin, ill. a hisztamin és tiramin koncentráció is.

A vizsgálat tárgyául szolgáló borokat semmilyen borkezelésnek nem vetettük alá, arra azonban ügyeltünk, hogy olyan körülmények között tároljuk őket, amelyek a borbetegségeket nem teszik lehetővé. Célom volt, hogy az MLF spontán lejátszódjon úgy, hogy a borok egyéb jelentős változást ne szenvedjenek.

A közölt analíziseket 1983-ban is elvégeztem, de érdembeli változásokat nem tapasztaltam, tehát az MLF-el párhuzamosan végbemenő biogénamin-képződés nagyrészt az első évben lejátszódik.

Megállapítható, hogy az aminképződés vörösborokban nagyobb mértékű, ez azonban magyarázható azzal, hogy vörösborokban gyakoribb és kívánatosabb az MLF lejátszódása.

Fontos tényező, hogy a biológiai almasavbomlás okozta aminképződés nem okoz a megengedett határérték feletti hisztaminkoncentrációt.

Ugyancsak lényeges megemlíteni, hogy a fentiekből következően nem létezik olyan bor, amelyben lejátszódott a biológiai almasavbomlás és nem tartalmaz biogén amint, ezen belül hisztamint.

VI. Táblázat

1981-es évjáratú borok 1981. decemberében mért biogénamin-koncentrációi

Borvidék	Borfajta	Összes biogén amin mg/dm^3	Hisztamin mg/dm^3	Tiramin mg/dm^3	L-almasav g/dm^3	L-tejsav g/dm^3
Badacsony	Ezerfürtű	15,82	0,195	0,880	3,310	0,220
	Szürkebarát	25,81	0,910	0,880	0,950	2,170
	Jubileum	20,30	0,610	0,620	2,840	1,350
	Rajnai rizling	41,00	0,753	0,570	4,900	0,209
ALFÖLD	Jubileum	55,40	2,100	0,760	3,150	0,880
	Olaszrizling	28,10	1,085	0,900	3,010	0,610
	Zenit	40,20	1,010	0,760	3,930	0,320
	Kékfrankos	18,90	0,850	0,680	3,680	0,950
VILLÁNY-SIKLÓS	Olaszrizling	20,60	0,210	0,620	3,210	0,610
	Tramini	55,60	0,280	1,380	0,810	2,860
	Cabernet	40,80	0,610	0,790	0,570	2,690
	Kékfrankos	18,90	0,690	0,690	0,660	4,640
	Oportó	25,00	0,950	0,790	0,570	2,150
EGER	Leányka	30,50	1,500	0,480	3,900	2,500
	Zenit	32,80	0,810	0,290	2,130	0,480
	Kékfrankos	50,60	1,650	0,770	3,260	0,260
	Merlot	43,40	0,790	0,500	3,870	1,830
	Zweigelt	20,30	2,100	0,460	2,360	0,930

VII. Táblázat

1981-es évjáratú borok 1982. decemberében mért biogénamin-koncentrációi

Borvidék	Fajta	Összes biogén amin mg/dm³	Hisztamin mg/dm³	Tiramin mg/dm³	L-almasav g/dm³	L-tejsav g/dm³
BADACSONY	Ezerfürtű	25,82	0,200	1,110	2,126	1,153
	Szürkebarát	39,37	1,500	1,220	0,662	2,690
	Jubileum	26,25	0,810	0,650	2,835	1,345
	Rajnai rizling	38,93	1,200	0,750	3,969	0,737
ALFÖLD	Jubileum	76,57	2,430	1,130	1,020	2,470
	Olaszrizling	38,07	1,800	1,550	1,610	2,880
	Zenit	52,50	1,740	1,380	1,210	2,400
	Kékfrankos	25,37	1,110	1,400	1,500	2,930
VILLÁNY-SIKLÓS	Olaszrizling	27,57	0,390	0,715	1,210	2,010
	Tramini	64,32	0,318	1,760	0,656	3,580
	Cabernet	50,70	0,780	0,900	0,318	3,880
	Kékfrankos	24,07	0,950	0,740	0,520	4,930
	Oportó	30,18	1,290	0,880	0,378	4,180
EGER	Leányka	38,50	2,580	0,610	3,780	2,979
	Zenit	40,25	1,659	1,100	0,741	2,851
	Kékfrankos	69,57	2,780	1,770	0,567	3,395
	Merlot	57,50	1,710	1,800	1,937	4,579
	Zweigelt	26,25	3,600	1,320	0,520	2,562

6. Borkezelő anyagok hatása a biogénamin-koncentációra

Miután MARQUART 1963-ban felhívta a figyelmet a borok hisztamin-tartalmára, egyidejüleg igény merült fel - főleg egészségügyi szempontból - annak csökkentési lehetőségeinek vizsgálatára is. (59).

A különböző tisztító műveletek közül azok jöhetnek számításba mint aminokat csökkentő tényezők, amelyek során valamilyen adszorpciós hatás érvényesül. Így a bentonitokat mind fehérjestabilizáló - szereket, illetve az aktívszén-készítményeket próbáltam ki.

Dolgozatomban nem térek ki a bentonitos derítés és az aktívszenes kezelés elméleti és gyakorlati tárgyalására, csak az amincsökkentés vizsgálatára irányuló kisérletek ismertetésére szorítkozom.

Felhasznált anyagok:

BENTONITOK	1./	BW 200	
	2./	DERITON	
	3./	NAKALIT	
	4./	NEODER IBS	
AKTÍVSZENEK	1./	GRANUCOL FA	(szintelenítő)
	2./	GRANUCOL BI	(ízjavító, szintelenítő)
	3./	GRANUCOL GE	(szagtalanító, illatkorrigáló)

Az említett anyagok kiválasztásában az motivált, hogy kereskedelmi forgalomban beszerezhetők, és a gyakorlatban alkalmazottak legyenek.

A kezelésekhez egy Olaszrizling (1985-ös évjárat, hisztamin: 0,420 mg/dm^3, tiramin: 0,79 mg/dm^3 és egy Kékfrankos (1985-ös évjárat, hisztamin: 0,59 mg/dm^3, tiramin: 0,98 mg/dm^3 bort használtam.

Annak érdekében, hogy az amincsökkentő hatást szemléletesebben vizsgálhassam, a borokba hisztamint ill. tiramint /FLUKA p./ adagoltam, így a kiindulási koncentrációk a következők voltak:

Bor megnevezése	Hisztamin mg/dm^3	Tiramin mg/dm^3
Olasz rizling	11,0	9,0
Kékfrankos	11,5	9,5

6.1. Kisérletek bentonitokkal

A vizsgált borokat laboratóriumi körülmények között 40, 80 és 120 g/hl-es bentonit-adagokkal a szokásos módon derítettem, majd a tisztulás után a mintákat dekantáltam és szűrtem. Ezekből határoztam meg a tiramin és hisztamin koncentrációkat. /A derítési sorozatokat háromszoros ismétlésben végeztem el, a közölt adatok átlagértékek. A kapott eredményeket a VIII. táblázatban láthatjuk.

VIII. Táblázat

Bentonitos kezelés hatása a hisztamin és tiramin koncentrációra Olasz rizling borban

Bentonit g/hl		Hisztamin mg/dm^3		Tiramin mg/dm^3	
BW-200	0	11,0	(o)	9,0	(o)
	40	4,8	(56)	8,5	(6)
	80	3,8	(65)	8,1	(10)
	120	1,8	(84)	7,2	(20)
DERITON	0	11,0	(o)	9,0	(o)
	40	5,7	(48)	8,9	(1)
	80	5,0	(55)	8,9	(1)
	120	2,5	(77)	8,2	(9)
NAKALIT	0	11,0	(o)	9,0	(o)
	40	5,8	(47)	9,0	(o)
	80	5,6	(49)	8,9	(1)
	120	2,4	(78)	8,4	(7)
NEODER IBS	0	11,0	(o)	9,0	(o)
	40	5,5	(50)	8,7	(3)
	80	4,8	(56)	8,3	(8)
	120	2,3	(79)	7,5	(17)

Megjegyzés: A koncentrációk mellett zárójelben a csökkenés %-os mértéke szerepel.

IX.Táblázat

Bentonitos kezelés hatása a hisztamin- és tiramin koncentrációra Kékfrankos borban

Bentonit g/hl		Hisztamin mg/dm^3		Tiramin mg/dm^3	
BW-200	0	11,5	(o)	9,5	(o)
	40	7,0	(39)	9,4	(1)
	80	4,5	(61)	9,5	(o)
	120	3,0	(74)	9,0	(5)
DERITON	0	11,5	(o)	9,5	(o)
	40	7,7	(33)	9,4	(1)
	80	4,6	(60)	9,3	(2)
	120	4,0	(65)	8,9	(6)
NAKALIT	0	11,5	(o)	9,5	(o)
	40	7,9	(31)	9,5	(o)
	80	4,6	(60)	9,4	(1)
	120	4,5	(61)	9,0	(5)
NEODER IBS	0	11,5	(o)	9,5	(o)
	40	7,5	(35)	9,5	(o)
	80	5,2	(55)	9,5	(o)
	120	3,8	(67)	9,2	(3)

Megjegyzés: A koncentrációk mellett zárójelben a csökkenés %-os értéke szerepel.

A VIII. és IX. táblázat adataiból a következő megállapításokat tehetjük:

- A bentonitos derítés csökkentő hatással van a hisztamin-koncentrációra, ugyanakkor hatástalan a tiraminra nézve.

- A vizsgált bentonitok csökkentő hatása azonos mértékűnek tekinthető.

- Valamivel magasabb csökkentést kaptam fehérborban mint vörösben, ez valószínűleg az eltérő finomösszetétellel magyarázható.

- A gyakorlatban alkalmazott bentonitok hisztamin-csökkentő hatása az általában még elfogadott 80 g/hl-es adagolásnál átlagosan 60 %-os, a még esetenként használt 120 g/hl-nél pedig 80 %-osnak adódott.

6.2. Kisérletek aktívszenekkel:

Az ismertetett aktívszeneket a gyakorlati felhasználás gyakoriságát figyelembe véve csak fehérborban vizsgáltam, 5, 10, 50 és 100 g/hl-es adagokat alkalmazva laboratóriumi körülmények között. A kapott eredményeket a X. sz. táblázat tartalmazza.

X. Táblázat

Aktívszenek hatása a hisztamin és tiramin-koncentrációra Olasz rizling borban

Aktívszén g/hl		Hisztamin mg/dm^3		Tiramin mg/dm^3	
GRANUCOL FA	0	11,0	(o)	9,0	(o)
	5	2,0	(82)	1,8	(80)
	10	1,0	(91)	1,1	(88)
	50	0,0	(100)	0,5	(95)
	100	0,0	(100)	0,0	(100)
GRANUCOL BI	0	11,0	(o)	9,0	(o)
	5	2,2	(80)	1,7	(81)
	10	0,6	(95)	1,2	(87)
	50	0,0	(100)	0,3	(97)
	100	0,0	(100)	0,0	(100)
GRANUCOL GE	0	11,0	(o)	9,0	(o)
	5	1,7	(85)	1,8	(80)
	10	0,6	(95)	0,9	(90)
	50	0,0	(100)	0,5	(95)
	100	0,0	(100)	0,0	(100)

Megjegyzés: A koncentrációk mellett zárójelben a csökkenés %-os mértéke van feltüntetve.

A X. sz. táblázatot vizsgálva a következőket mondhatjuk:

- Az aktívszenek nagymértékben csökkentik mind a hisztamin, mind a tiramin koncentrációt.

- A szintelenítésre használatos dózisok (50 g/hl-től) teljes "mentesítést" eredményeznek, az inkább csak korrekciókra, vagy együtterjesztésre használt adagok (5-10 g/hl) átlagban 90 %-os csökkentést okoznak.

- A vizsgált tipusok közül talán a GRANUCOL GE emelkedik ki (85 %-os csökkentés hisztaminra 5 g/hl-es adagolás esetén) valószínűleg azért, mert a legnagyobb belső felülettel rendelkezik.

Összességében mind a bentonitos, mind az aktívszenes kezelés ilyen irányú alkalmazásáról el kell mondani, hogy az alkalmazott koncentrációk, a borok egyéb, érzékszervi szempontból lényeges alkatrészeinek (pl. aromaanyagok, színanyagok, stb.) is csökkentik. Technológiai szempontból talán az ún. együtterjesztés tűnik a legenyhébb beavatkozásnak. Ennek során a mustba erjesztés előtt adagolt bentonit ill. szénkészítmény az élesztő enzimrendszere által termelt aminokat távolítja el, a későbbiekben így csak a biológiai almasavbomlás során képződött vegyületekkel kell számolnunk.

7. A biogén aminok szerepe a pezsgőgyártásban

Ismert tény, hogy a pezsgőgyártás során a bor újraerjesztése történik meg. Az érlelés során az elhalt élesztősejtek feltáródnak - autolizálódnak - anyagcseretermékeiket a pezsgőbe bocsátják, ezzel kialakítják az ún. klasszikus illat- és ízjellemzőket. A folyamat kémiai jellemzése régóta foglalkoztatja a kutatókat. Legkézenfekvőbbnek a fehérjék aminosavvá történő átalakulásának vizsgálata mutatkozott, szignifikáns különbséget azonban a tankpezsgő és a klasszikus pezsgő aminosav-összetételében nem sikerült kimutatni.

Mivel a bort egy élő, állandóan változó biokémiai rendszernek kell tekintenünk, az aminosavak az enzimtevékenység következtében bizonyos mértékig aminokká kell hogy alakuljanak.

Azt vizsgáltam tehát, hogy van-e különbség a pezsgőgyártás különböző fázisaiban, illetve az eltérő készítési idejű - és természetesen eltérő technológiájú - tankpezsgő és klasszikus pezsgő biogénamin-koncentrációjában.

A vizsgálatok elvégzéséhez Chardonnay mustot választottam, ebből bort erjesztettem, majd a tisztító műveletek elvégzése után pezsgősítettem "Ay és Eperney" pezsgőélesztőt használva.

A vizsgálatok időpontjai a következők voltak:

1. 1979. X. 25. (töltőbor)
2. 1979. X. 26.
3. 1979. X. 27.
4. 1979. X. 28.
5. 1979. X. 29.
6. 1979. X. 30.
7. 1979. XI. 1.
8. 1980. III.25.
9. 1980. V. 30.
10. 1982. V. 22.

További összehasonlításként mértem egy 1964-es évjáratú - a vizsgálat időpontjában 15 éves - pezsgő összes biogénamin, ill. hisztamin-koncentrációját.
Az eredményeket a XI. sz. táblázat mutatja.

Ha megfontoljuk a XI. sz. táblázat adatait, a következő megállapításokat tehetjük:

- Az erjedés alatt az aminok koncentrációja csökken, majd később ismét nő. Erre magyarázat lehet az, hogy az élesztők a zajos erjedés alatt a töltőborban meglévő biogén aminokat mint N-forrást elfogyasztják, a továbbiakban azonban az élesztő enzimtevékenysége révén a koncentráció ismét növekszik.

- Szignifikáns különbség mutatkozik az erjedés befejeztével, illetve a további érlelés során mért koncentrációk között. A közel három éves seprőntartás nagyságrenddel magasabb biogénamin-koncentrációt mutat a féléves pezsgőhöz képest. Az 1964-es évjáratú pezsgőben mért adat az érlelési idő szerepét a koncentráció emelkedésében méginkább alátámasztja.

- Figyelmet érdemel az előzetes várakozásommal ellentétben alacsonynak adódó hisztamin-koncentráció. A második erjedés alatt ugyanis a boroknál magasabb hisztamin-koncentrációra számítottam.

Összefoglalva tehát megállapítható, hogy a biogénamin-koncentráció mértéke kémiai jelzőszáma lehet a tank- és klasszikus pezsgőgyártás által adott termék megkülönböztetésének.

Ha a szó szoros értelmében vesszük a két technológia időigényét, megállapítható, hogy a 10 mg/dm^3 összes biogénamin-koncentráció alatti értékek a tankpezsgőre, az e felettiek pedig a palackban érlelt pezsgőkre jellemzőek.

A teljesség kedvéért meg kell jegyeznem, hogy abban az esetben, ha a legújabban alkalmazott technológiák szerint a tankban erjesztett pezsgőket is 6-9 hónapig a tankban a seprővel együtt érlelik, a klasszikus értelemben vett tank- és hagyományos technológia között a biogénamin-koncentráció szerint sem lehet különbséget tenni.

XI. Táblázat

Biogénamin-koncentrációk a pezsgőkészítés során

Mérés ideje	Hisztamin mg/dm^3	Összes biogénamin mg/dm^3
1979.X.25.	0,12	9,90
1979.X.26.	0,32	3,27
1979.X.27.	0,43	2,61
1979.X.28.	0,29	3,39
1979.X.29.	0,11	3,92
1979.X.30.	0,10	4,10
1979.XI.1.	0,26	4,81
1980.III.25.	0,24	3,97
1980.V.30.	0,31	9,63
1982.V.22.	0,57	19,34
1964-es évjáratú pezsgő 1980-ban vizsgálva:	0,89	37,15

8. Forgalomban lévő palackozott borok hisztamin- és tiramin-koncentrációja

Dolgozatom befejezéseképpen statisztikus jelleggel a kereskedelmi forgalomból származó borok hisztamin- ill. tiramin koncentrációjáról szeretnék számot adni.

Az előzőekben használt borok kisérleti, tehát nem forgalmi borok voltak, jóllehet olyan tételekből származtak, amelyek a szokásos borászati technológiai folyamatok után kereskedelmi forgalomba kerültek.

Ebben a részben tehát a "valóságot" szeretném ismertetni.
Az eredmények az elmúlt években - 1990-ig - végzett vizsgálatokból származnak.

Egészségügyi megfontolások szerint az 5 mg/dm^3 feletti hisztamin ill. tiramin-koncentrációk az olyan borok kategóriájába tartoznak, melyek tartós fogyasztása - természetesen érzékenységtől függően - kellemetlen tüneteket, pl. másnaposság - okozhatnak, a 10 mg/dm^3 pedig az a határ, mely a Közös Piac elírásai között szerepel a hisztamin koncentrációjára nézve.

A véletlenszerűen kiválasztott 45 borminta alapján (XII.sz. táblázat) megállapítható, hogy a forgalomba kerülő magyar borok ezeket a határértékeket nem lépik túl, sőt el sem érik azokat.

XII. Táblázat

Forgalmi borok hisztamin- és tiramin koncentrációja

(borok évjárata: 1983-1989. év)

Borminta	Évjárat	Hisztamin mg/dm^3	Tiramin mg/dm^3
Szekszárdi ó vörös	1988	1,11	0,65
Szekszárdi Pinot Noir	1987	0,98	0,80
Badacsonyi Kéknyelű	1989	0,38	0,27
Somlói Juhfark	1988	0,57	0,70
Csopaki Olasz rizling	1989	0,48	0,55
Tihanyi Merlot	1988	0,95	0,87
Badacsonyi Szürkebarát	1989	0,37	0,29
Boglári Tramini	1988	0,44	0,35
Boglári Olasz rizling	1989	0,51	0,65
Szárazhegyi Zöld Veltelini	1989	0,39	0,35
Mátraalji Chardonnay	1988	0,55	0,60
Helvéciai Szürkebarát	1989	0,25	0,46
Helvéciai Nagyburgundi	1988	0,77	0,85
Hajósi Merlot	1987	1,10	0,95
Hungarian Cabernet Sauvignon	1987	1,25	1,10
Hajósi Cabernet	1987	0,95	0,90
Szigetcsépi Tramini	1989	0,43	0,55
Kiskőrösi Kékfrankos	1986	0,87	0,57
Kiskőrösi Zweigelt	1987	0,89	0,77
Móri Chardonnay	1988	0,57	0,65
Móri Rizlingszilváni	1989	0,23	0,17
Soproni Kékfrankos	1989	0,59	0,60
Badacsonyi Szürkebarát	1989	0,32	0,10
Somlói Furmint	1988	0,42	0,25
Csopaki Olasz rizling	1989	0,22	0,17

Borminta	Évjárat	Hisztamin mg/dm^3	Tiramin mg/dm^3
Csongrádi Cabernet	1989	0,88	0,30
Csongrádi Kékfrankos	1989	0,78	0,47
Pusztamérgesi Rizling	1989	0,55	0,32
Egri Bikavér	1984	1,58	0,88
Egri Bikavér	1985	1,34	0,73
Egerszóláti Olasz rizling	1986	0,70	0,58
Ászári Rizling	1979	0,77	0,39
Etyeki Olasz rizling	1989	0,43	0,50
Solti Tramini	1983	0,87	0,80
Solti Merlot	1986	1,05	0,75
Kecskeméti Olasz rizling	1988	0,25	0,10
Villányi Zweigelt	1988	0,90	0,53
Villányi Cabernet	1988	1,45	0,95
Villányi Merlot	1989	1,03	0,63
Csopaki Sauvignon blanc	1988	0,99	0,70
Csopaki Szürkebarát	1988	0,73	0,33
Verpeléti Muskotály	1989	0,47	0,27
Verpeléti Olasz rizling	1989	0,19	0,20
Debrői Hárslevelű	1989	0,29	0,43
Villányi Kékoportó	1989	0,77	0,63

ÖSSZEFOGLALÁS

Élelmiszereink - így a borok - finomabb összetételének megismerte - tése mind tudományos, mind technológiai szempontból fontos feladat. Sokszor ezeken túlmutatnak azok a nemzetközi kereskedelmi előírások, amelyek úgymond analízisek adás-vételére vonatkoznak; csak azért írnak elő bizonyos határértékeket, hogy ezel időleges előnyökhöz jussanak. A borok biogénamin-koncentrációjára - így a hisztaminra - is a fentiek vonatkoznak.

Mivel Magyarországra, a magyar borokra és boripari termékekre eddig ilyen átfogó felmérés nem történt, kandidátusi értekezésem tárgyául választottam az alábbiakat:

- Analitikai módszer kidolgozása a biogén aminok - elsősorban a hisztamin és a tiramin meghatározására.
- A jellemző magyar borvidékek minőségi és mennyiségi feltérképezése a biogén aminok - elsősorban a hisztamin és tiramin - koncentrációja szempontjából.
- A biológiai almasavbomlás és a biogénamin-képződés összefüggése,
- Borkezelések hatása a biogén amin - elsősorban a hisztamin és tiramin - koncentrációra,
- A biogén aminok szerepe a pezsgőgyártásban,
- Forgalomba kerülő palackozott borok hisztamin és tiramin koncentrációja.

Vizsgálataim az 1981-83-as évjáratokra, ill. az 1990-ig terjedő időszak boraira vonatkoztak.

Az előbbiekben említett felmérések az egyszeri fejtett, ún. nyersbor állapotra vonatkoznak, amikoris elsőrendű követelmény volt a borok származási és fajtatisztasága, valamint az a tény, hogy legalább 100 hl-es tételnagyságot képviseljenek.

A célkitűzésekre választ keresve, vizsgálataim szerint az alábbiak adódtak:

1./ A biogén aminok analitikai meghatározása folyékony fázisból nem egyszerű probléma. A borban ugyanis egymás mellett található a fehérje, a peptid, az aminosav és az amin, így az egyszerű detektálási módok - amelyen az N-tartalmú vegyületekre jellemzőek - közvetlenül nem alkalmazhatók.

Kidolgoztam az aminok elválasztását az egyéb N-tartalmú vegyületektől. E szerint a minta liofilezése, majd absz. n-butanol használata, - mint extraháló szer- ad kielégítő eredményt. Így lehetőség adódik az összes biogénamin-koncentráció spektrofluorometriás meghatározására ninhidrines színképzés után.

A hisztamin meghatározását OPA-val történő származékképzés után spektrofluorometriásan végeztem. A kidolgozott módszer szerint a gerjesztési maximum 360, az emissziós maximum pedig 450 nm-en van.

A tiramin-tartalom meghatározását ugyancsak spektrofluorometriásan α-nitrozó - β - naftollal történő származékképzés után végeztem el. A gerjesztési maximum 465 nm, az emissziós maximum 565 nm-nek adódott. Módszert dolgoztam ki az aminok együttes meghatározására HPLC alkalmazásával.

2./ - Megállapítottam, hogy az általam vizsgált borokban a hisztamin, a tiramin, a triptamin, a kadaverin, a feńil-etilamin és a putreszcin fordult elő.

- Megállapítható, hogy a borvidékek, szölőfajták, évjáratok (1981-83) között a tárgy szempontjából nincs szignifikáns különbség.

- A vörös borokban általában magasabb a hisztamin ill. tiramin koncentrációja, ez azonban egyéb - pl. biológiai almasav-bomlás, stb. - tényezők következménye.

- Méréseim szerint a magyar borok hisztamin koncentrációja 0,170-2,500 mg/dm^3 szélsőértékek között mozog. Ezek alacsonyabbak a megállapított határértékeknél.

3./ A biológiai almasavbomlás (MLF) és az aminképződés összefüggését vizsgálva megállapítottam, hogy az MLF mindig együtt jár a biogén aminok - így a hisztamin és a tiramin - koncentrációjának emelkedésével. Ez vörös borokban gyakoribb és nagyobb mértékű, mivel ezekben gyakoribb a biológiai savbomlás lejátszódása is.

Nem létezik tehát olyan bor, amelyben lejátszódott a biológiai almasavbomlás és nem tartalmaz hisztamint.
Fontos tényező, hogy az MLF aminkoncentráció-növekedés nem okoz határérték feletti hisztamin-koncentrációkat.

4./ A különböző bentonitok és aktívszenek hatását elemezve megállapítottam, hogy a bentonitok 80 g/hl-es adagolás mellett átlagosan 60 %-os, 120 g/hl -es adagolás mellett pedig átlagosan 80 %-os hisztamin-csökkenést eredményeznek, míg a tiraminra nézve hatástalanok.

Az aktívszenek 5-10 g/hl-es dózisban átlagosan 90 %-os hisztamin- és tiraminkoncentráció-csökkenést okoznak, az ennél nagyobb adagolás után az említett vegyületek nem mérhetők.

5./ A biogén aminok szerepét vizsgálva a pezsgőgyártásban megállapítottam, hogy az aminok koncentrációja jellemző lehet az egyes gyártási technológiákra. Eszerint a palackban erjesztett és érlelt termékek biogénamin-koncentrációja adott esetben nagyságrendileg is magasabb lehet a tankpezsgőénél, ez azonban a seprőntartás, ill. az érlelés függvénye!

Fontos tényező, hogy a "kétszeres erjedés" ellenére a hisztamin-koncentráció nem magasabb a normál borokban található értéknél.
Általánosságban kimondható, hogy a 10 mg/dm^3 alatti összes biogén-amin-koncentrációk a tankpezsgőre, az e fölöttiek a "klasszikus" pezsgőre jellemzőek.

6./ Végezetül 45 különböző forgalomban lévő palackozott borminta hisztamin és tiramin koncentrációját határoztam meg. A zömmel 1986-89-es évjáratú borok hisztamin-koncentrációja az 1 mg/dm^3 alatt marad, és csak néhány esetben - érlelt vörös borok - lépik túl az 1 mg/dm^3-t néhány tizeddel. A tiramin-koncentráció minden esetben az 1 mg/dm^3 alatt maradt.

Értekezésemmel egyrészt boraink finomszerkezetének eddig nem vizsgált vegyületeiről igyekeztem számot adni, másrészt a kapott adatokkal a magyar borászatot - áttételesen a magyar borkereskedelmet - segíteni.

Úgy tünik, hogy a biogénamin - így a hisztamin és tiramin - koncentráció miatt nem forog kockán boraink piacképessége, exportálhatósága.

IRODALOMJEGYZÉK

1./ Guggenheim, M.: Die biogenen Amine.....
Verlag S. Karger, Basel-New York, 1951.

2./ Elődi, P.: Biokémai
Akadémia Kiadó, Budapest, 1980.

3./ Bruckner, Gy.: Szerves kémia
Tankönyvkiadó, Budapest, 1974.

4./ Lasztity, R.: Az élelmiszerbiokémia alapjai
Budapest, Mezőgazdasági Kiadó, 1981.

5./ Kádár, Gy.: Borászat
Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1982.

6./ Cordonnier, F.:
Bull. O.I.V. 39. (1966.) 1475.

7./ Kajtár, M.: Változatok négy elemre
Gondolat, Budapest 1984.

8./ Gombkötő, G.-Sajgó, M.: Biokémia
Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1985.

9./ Scheibner, G.:
Z.ges. Hygiene und ihre Grenzgebiete
14, 3. (1968.) 204.

10./ Tarján, V., Jánossy, G.:
Közegészségügy, 9. (1977.) 3.

11./ Tarján, V., Jánossy, G.:
Nahgrung 22, 3. (1978.) 285

12./ Kállay, M., Bajnóczy, G., Nedelkovits, J.:
Borgazdaság, 4. (1981.) 145.

13./ Kállay, M., Bajnóczy, G., Nedelkovits, J.,
Bódyné-Szalkai, M.:
Borgazdaság, 1. (1984.) 27.

14./ Telegdy-Kováts, L., Holló, J.:
Élelmezési iparok I.
Tankönyvkiadó, Budapest, 1957.

15./ Puputti, E., Suomalainen, H.:
Mittel. Klost. 19. (1969.) 184.

16./ Battaglia,R., Fröchlich, D.:
J. High Resolut. Chrom. 1, 2. (1976.) 100.

17./ Saly, K.:
Élet és Tudomány 37. (1982.) 116.

18./ Edmunds, W.I., Eitenmiller, R.R.:
J.Food Sci 40. (1975.) 516.

19./ Taylor, S.L., Lieber, E.R.:
J. Food Sci. 43. (1978.) 246.

20./ Marine, A.:
Circ. Farm. 258. /1978.) 43.

21./ Assator, A.M., Levi, A.J., Milne, M.D.:
Lancet 2. (1963.) 733.

22./ Lovenberg, V.:
J. Agr. Food Chem. 22. (1974.) 23.

23./ Nagy Krisztina:
Borok biogénamin tartalmának vizsgálata, Budapest, 1982.

24./ Lerke, P.A., Bell, L.D.:
J. Food Sci. 41. (1976.) 1282.

25./ Szekeres, L.: Szerves kémia
Tankönyvkiadó, Budapest, 1967.

26./ Mannich, C.:
Arc.Pharmaz. 273. (1960.) 97.

27./ Dubin, D.T.:
J. Biol. Chem. 235. (1960.) 783.

28./ Pesez, M., Bartos, J.:
Ann. Pharm. Franc. 27.

29./ Goldstein, H., Genton, G.:
Helv. Chim. Acta 20. (1937.) 1413.

30./ Blau, K., Robson, W.:
Chem. Ind. (London) 424. (1957.).

31./ Pesez, M., Petit, A.:
Bull. Soc. Chim. Ff. 122. (1947.).

32./ Pesez, M., Bartos, J.:
Bull. Soc. Chim. Fr. 3802. (1966.).

33./ Strell, M., Reindl, S.:
Arzneimittel-forsch. 11. (1961.) 552.

34./ Kato, K., Umeda, M., Tsubota, S.:
J. Pharm. Soc. Japan 24. (1964.) 116.

35./ Stewart, J.T., Shaw, T.D., Ray, A.B,:
Anal. Chem. 41. (1969.) 360.

36./ Pesez, M., Bartos, J.:
Ann. Pharm. Fr. 15. (1957.) 467.

37./ Saad S.M. Hassan, Íškander, M.L., Nashed, N.E.:
Talanta 32. 4. (1985.) 301.

38./ Seitz, R.:
CRC Crit. Rev. in Anal. Chem. 13.(1980.) 367.

39./ Chos.P.B., Whitehouse, M.W.:
Biochem. J. 108. (1968.) 155.

40./ Bartos, J., Pesez, M.:
Talanta 19. (1972.) 93.

41./ Pesez, M., Bartos J.:
Ann. Pharm, Fr. 27. (1969.) 161.

42./ Belman, S.:
Anal. Chim. Acta 29. (1963.) 120.

43./ Pesez, M., Bartos, J.:
Talanta 14. (1967.) 1097.

44./ Pesez, M., Bartos, J.:
Talanta 16. (1969.) 331.

45./ Seiler, N., Wiechmann, M.:
Z. Anal. Chem. 220. (1966.) 109.

46./ Roth, M.:
Anal. Chem. 43. (1971.) 880.

47./ Samejima, K., Dairman, W., Udenfriend, S.:
Anal. Biochem 42. (1971.) 222, 237.

48./ Ruhemann, S.:
J. Chem. Soc. 97, (1910.) 1438, 2025.

49./ Ruhemann, S.:
J. Chem. Soc. 99. (1911.) 792.

50./ Remond, I. W., Tseng, A.:
J. Chromatogr. 170.

51./ Samejima, K., Kawase, M., Sakamoto, S., Okada, M., Endo, Y.:
Anal. Biochem. 76. (1976.) 392.

52./ Samejima, K.:
J. Chromatogr. 96. (1974.) 250.

53./ Davis, P.T., Gehrke, C.W., Gehrke, C.W.Jr., Cunningham, T.D., Kuo, K.C., Gerhardt, K.O., Johnson, H.D., Williams, C.H.:
Clin. Chem. 24. (1978.) 1317.

54./ Davis, B.A.:
J. Chromatogr. 151. (1978.) 252.

55./ Shore, P.A.:
Methods in Enzymol. 17. (1971.) Pt.B. 842.

56./ Subden, R.E. Brown, R.G., Noble, A.C.:
J. Chromatogr. 116. (1978.) 310.

57./ Schuster, R., Haecker, W. :
Application Note, Hewlett-Packard, (1987.).

58./ Drawert, F.:
Vitis 5. (1965.) 127.

59./ Marquardt, P., Werringloer, J., :
Wein-Wissenschaft. 20. (1965.) 260.

60./ Mayer, K., Pause, G. :
Mitt. Lebensm. unters. Hyg. 60. (1969.) 230.

61./ Drews, B., Just, F. m. Drews, H.:
Brauerei, Viss. Bel. 11. (1958.) 169.

62./ Mayer, K., Pause, G., Vetsch, K.:
Mitt. Rebe und Wein 21. (1971.) 278.

63./ Pause, G., Mayer, K.:
Wein Wissenschaft 27. (1972.) 174.

64./ Schneyder, J.:
Mittelungen 5. (1972.) 313.

65./ Pechanek, U., Woidich, H., Fannhauser, W.F., Blaichev, G.:
Ernanrung 2. (1980.).

66./ Ough, C.S., Daudt, C:E., Cromwell, E.A.:
J. Agric. Food Chem. 19. (1971.) 241.

67./ Ough, C.S.:
J. Agric. Food Chem. 19. (1971.) 241.

68./ Sen, N.P.:
J. Food Sci. 34. (1969.) 22.

69./ Ingles, D.L., Back, J.F., Gallimore, D., Tindale, R., Shaw, K.:
J. Sci. Food Agric. 36. (1985.) 402.

70./ Almy, J., Ough, C. S., Crowell, E.A.:
J.Agric. Food Chem. 31. (1983.) 913.

71./ Woidich, H., Pfannhauser, W., Blaicher, G., Pechanek,
Mitt. Klosterneuburg 30. (1980.) 27.

72./ Rivas-Gonzalo, J.C., Santos-Hernandez, J.F., Marine-Font, A.:
J. Food Sci. 48. (1983.) 417.

73./ Subden, R.E., Duitschaever, C., Kaiser, K., Noble, A.C.:
Am. J. Enol. Vitic. 30.1. (1979.) 19.

74./ Droz, C., Tanner, H.:
Schweiz. Z. für Obst- u. Weinbau 119. 75-77.

75./ Schwedt, G.:
Analytica Chimica Acta 92. (1977.) 337.

76./ Zappavigna, R., Cerutti, G.:
Lebensm. - Wiss. u. Technol. 6., 4., (1973.) 151.

77./ Bos, K. D., Verbeek, C., Schrey, A., van Dokkum. W., Slump, P.:
Voedingsmiddelentechnologie 19. 19. (1986.) 157.

78./ Zee, J.A., Simard. R.E., L'Heureux, L., Tremblay, J.:
Am. J. Enol. Viti. 34. 1. (1983.) 8.

79./ Baucom, T.L., Tabacchi, M.H., Cottrell, T.H.E., Richmond, B.S.:
J. Food Sci. 51. 5. (1986.) 1376

80./ Umagat, H., Kucera, P., Wen, L.-F.:
J. Chomatogr. 239. (1982.) 463.

81./ Buteau, C., Duitschaever, C.L., Ashton, G.C.:
J. Chromatogr. 284. (1984.) 201.

82./ Mayer, K., Pause, G.:
Lebensm.-Wiss u. Technol. 17. (1984.) 177.

83./ Cilliers, J.D., Van Wyk, C.J.:
S. Afr. J. Enol. Vitic. 6., 2. (1985.) 53.

84./ Desser, H., Bandion, F., Klaering, W.:
Mitt. Klosterneuburg 31. (1981.) 231.

85./ Ough.C.S., Daudt, C.E.:
Am. J. Enol. Vitic. 32. 3. (1981.) 185.

86./ Fröhlich.D., Battaglia, R.:
Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 71. (1980.) 38.

87./ Lehtonen, P.:
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 183. (1986.) 177.

88./ Mayer, K., Pause, G.:
Schweiz. Z. Obst. u. Weinbau 118. (1982.) 723.

89./ Desser, H., Bandion, F.:
Mitt. Klosterneuburg 35. (1985.) 16.

90./ Gerutti, G., Martignoni, P., Volenterio, G.,
Zappavigna, R.:
Riv. Vitic.Enol 26. (1973.) 234.

91./ Lafon-Laforurcade, S.:
Conaiss, Vigne Vin., 9. (1975.) 103.

92./ Cerutti, G., Finoli, C., Peluzzi, S., Vecchio,A.:
Monatschn Brauwiss., 38. (1985.) 296.

93./ Cerutti, G., Cassa, W., Finoli, C., Vecchio, A.:
Vignevini, 12. (1986.) 35.

94./ Cerutti, G., Margheri, G., Bongini, F.:
Vignevini, 11. (1987.) 39.

95./ Vidal-Caron, M.C., Codeny-Salcedo, R., Marine-Font, A.:
Am. Journal of Enol. and. Vitic., 42. 2. (1991.) 145.

96./ Callul, M., Marcé, R.M., Fabregas, J., Borrull, F.:
Chromatographia, 31. (1991.) 133.