

SZAKDOLGOZAT

Kinczel Csaba

2023



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Élelmiszeripari Méréstechnika és Automatizálás Tanszék

Borbetegségekhez köthető vegyületek NIR módszerrel való kimutathatósága

Kinczel Csaba

BUDAPEST

2023

*Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet*

Szak neve: BSc Biomérnöki

Modul neve: Alkalmazott biotechnológia

Modul szerinti tanszék: Mikrobiológia és Alkalmazott Biotechnológia Tanszék

Szakedolgozat készítés helye: Élelmiszeripari Méréstechnika és Automatizálás Tanszék

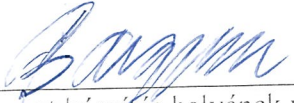
Hallgató:

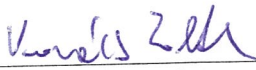
Kinczel Csaba


A szakedolgozat címe: Borbetegségekhez köthető vegyületek NIR módszerrel való kimutathatósága

Konzulensek: Dr. Kovács Zoltán, Dr. Bázár György

Beadás dátuma: 2023.05.03


szakedolgozat készítés helyének vezetője
(Dr. Baranyai László)


konzulens
(Dr. Kovács Zoltán)


modul szerinti tanszék vezetője
(Dr. Nguyen Duc Quang)

Tartalomjegyzék

Tartalom

1. Bevezetés	1
2. Célkitűzés.....	2
3. Irodalmi áttekintés	3
3.1. Borok kultusza és kémiája	3
3.1.1. A bor történelme Magyarországon	3
3.1.2. A borok kémiai összetétele	5
3.1.3. Borhibák és borbetegségek	7
3.1.4. Bővebben a 4-etil-fenolról, 4-etil-gvajakolról és Ecetsavról.....	10
3.2. Közei infravörös spektroszkópia	11
3.2.1. A közei infravörös spektroszkópia alapjai.....	11
3.2.2. A közei infravörös spektroszkópia széles körű alkalmazása	13
4. Anyag és módszerek	15
4.1. Minták előkészítése	15
4.1.1. 4-etil-fenol (4EF) és 4-etil-gvajakolos (4EG) minták előkészítése	15
4.1.2. Ecetsavas minták előkészítésének menete:	17
4.2. Minták mérése NIR spektroszkóppal	20
4.3. Minták kiértékeléséhez használt program	22
5. Eredmények	23
5.1. A 4-etil-fenol és a 4-etil-gvajakol kimutatása	23
5.2. Az ecetsav kimutatása	28
6. Összefoglalás	36
Irodalomjegyzék.....	37
Köszönetnyilvánítás	40

1. Bevezetés

Hazánkban a boroknak rendkívül nagy történelme és tradíciója van. Mindenki hallott már a Tokaj, Balatonboglár és Balaton-felvidéki borvidékekről és az onnan származó borokról, hogy csak néhányat említsen az ember. A borok viszont évről évre változnak. Többek között nagyban függ a minőségük az aktuális szezonban termett szőlő minőségétől, amiből a bor készül, tehát a borszőlő érésénél az időjárástól, környezeti körülményektől. A bor minőségét jelentősen befolyásolják továbbá a fermentáció körülményei is. Ezért is szokás évjáratokhoz is kötni a borok minőségét, nem csak szőlőfajtahoz és földrajzi helyhez/borvidékhez. Ezek miatt a változók miatt is fontos, hogy gyorsan és pontosan lehessen az elkészült bor minőségét jellemezni, minél objektívebb módon.

A bor egy rendkívül összetett ital, és esetenként tartalmazhat olyan vegyületeket is, amelyek borban íz- és illathibát okoznak. A borhibát idegen vegyületek okozzák, a borbetegségeket pedig mikroorganizmusok és azok anyagcsere folyamatai okozzák. Amikor a borhiba vagy borbetegség kialakult, könnyű kimutatni, mivel már érzékszervi vizsgálattal is észlelni lehet. Viszont amíg korai stádiumban van a kialakulása, addig nehéz detektálni, illetve jellemzően csak drága analitikai vizsgálatokkal lehetséges. A közeli infravörös spektroszkópia (NIRS) olyan vizsgálati technika, amely korábbi eredmények alapján alkalmas különböző borhibák és borbetegségek kimutatására.

A NIRS technológia hatalmas előnye, hogy roncsolásmentes, gyors és alkalmazása nem igényel vegyszert vagy oldószert. Manapság már rengeteg helyen használnak NIRS technológiát az élelmiszeriparban, mivel minimális mintaelőkészítést igényel, fel lehet használni gyártási folyamatban alapanyag, köztes termék és végtermékek minőség meghatározására is. Mivel nem igényel a technológia vegyszereket vagy oldószert, ezáltal nem is keletkezik veszélyes hulladék, tehát a technológia környezetbarát. A NIRS technológia alkalmas minőségi és mennyiségi analízisre, a megfelelő adatbázis és matematikai modellek rendelkezésre állása esetén. A minőségi elemzéseknél például azt tudjuk mérni, hogy mennyire hasonló az egyik bor a másikhoz, míg a mennyiségi értékelésnél valamely minőségi paraméter becslése történhet.

A NIRS technológia előnyeikhez tartozik továbbá, hogy manapság már léteznek kézi készülékek is, amelyekkel egyszerű a mérést kivitelezni akár laboratóriumon kívül is.

A NÉBIH által kiadott „Borászati termékek hatósági kontrolljával kapcsolatos” kiadványban felsorolás jelleggel szerepel a NIR mint mérési módszer a műszeres analitikai mérések között. Tehát a NIR spektroszkópiát már ma is használják borminősítésre. Illetve egy másik publikált borászati analitikáról szóló kiadványban is megjelenik a NIR mint borminősítéshez használt módszer, ahol főleg mennyiségi meghatározásra használják. Itt meg is van említve a fő előnye, miszerint gyors és nem igényel mintaelőkészítést (Murányi & Oldal, 2012; NÉBIH, 2017).

A szakdolgozatban azt vizsgáltam, hogy milyen hatékonysággal alkalmazható a NIRS módszer egyes íz- és illathibát okozó komponensek, mint ecetsav, 4-etil-gvajakol és 4-etil-fenol kimutatására.

2. Célkitűzés

A borhibák vagy borbetegségek kimutatásához gázkromatográfiai vagy folyadékkromatográfiai vizsgálat szükséges. Ezek a módszerek idő- és vegyszerigényesek. Illetve a gáz- és folyadékkromatográf berendezései nem hordozhatók, tehát csak laboratóriumokban lehet elvégezni a vizsgálatokat.

A szakdolgozatban célul tűztem ki a közeli infravörös spektroszkópia (NIRS) alkalmazhatóságának vizsgálatát néhány a borban íz- és illathibát okozó vegyület kimutatására vonatkozóan. Ez a módszer azért lenne kedvező, mert minimális mintaelőkészítéssel lehet megvizsgálni a bort, akár a pincészetben.

Összefoglalva: a szakdolgozat célja, hogy feltérképezze a borbetegségek által kialakult vegyületek NIRS technika segítségével történő kimutatási lehetőségeit. Illetve ezekből az adatokból modellt felállítani és ezen a modellen keresztül vizsgálni a borokat. Az egyszerűség kedvéért a szakdolgozatban 3 vegyület kimutathatóságát vizsgáltam meg, az ecetsav, 4-etil-fenol és 4-etil-gvajakol.

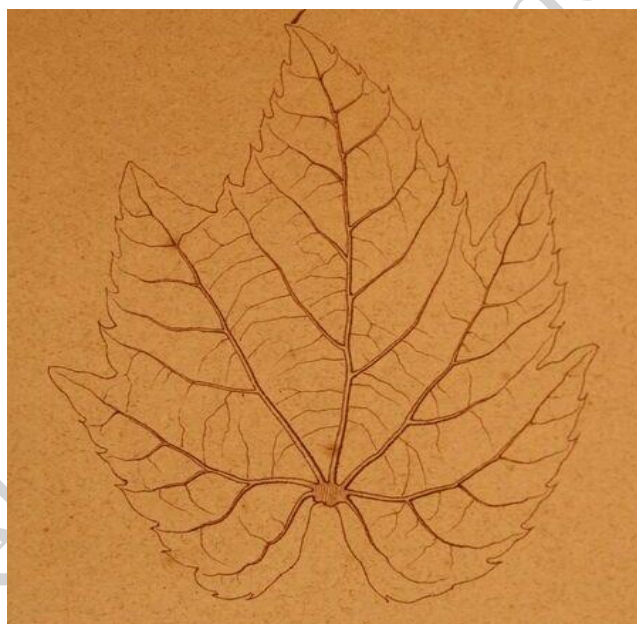
3. Irodalmi áttekintés

A következő két alfejezetben a borokhoz kapcsolódó történelmi áttekintést és a borhibákat, borbetegségeket, illetve a közeli infravörös spektroszkópiát fogom áttekintő jelleggel bemutatni.

3.1. Borok kultusza és kémiája

3.1.1. A bor történelme Magyarországon

Paleontológiai kutatások kimutatták, hogy a Kárpátmedencében voltak őshonos szőlők. Például a *Vitis silvestris* levelének megkövült lenyomatát megtalálták hazánk területén (Kozma, 1995). Eger körül a kiségedi palából úgyszintén előkerült egy szőlőlevél lenyomat, ami a „*Vitis hungarica*” levél lenyomata volt. Ez a faj a „*Vitis silvestris*” fajhoz áll közel a lenyomatból ítélve. Megtalálták a „*Vitis tokajensis*” levelének megkövült lenyomatát is (Andreánszky, 1951). A tokajensis levelének rajza az **1.ábrán** látható.



1. ábra *Vitis tokajensis* (Stur Von D., 1867)

Időszámításunk után 600 körül a Kazár Kaganátus tagjaként telepedett meg a hét magyar törzs, ahol megismerték az akkori bor készítésének mivoltát. Erről a nyelvünkben, a török eredethez köthető szavak árulkodnak, mint például a szőlő (solo), bor (sarap) és szűr (süzgeç) (Kozma, 1995).

A vallásban is fellelhető a bor mint motívum, például a keresztény vallásban a vörösbor Jézus vérének jelképezi. A keresztény vallásra tért magyarság ezáltal még jobban kötődött a borhoz (Kozma, 1995). Szent Istvánt feltehetőleg 1001-ben koronázták meg, és ezután

fokozatosan hittérítőket hívott hazánkba, és ő maga is prédikációkat tartott. Tehát 1001 után a vallás szempontjából is nagy szerepet játszott a bor, ami még jobban kihangsúlyozta a bor fontosságát a magyar kultúrában. (Karácsonyi, 1904)

A szőlő termesztés 1301-ig rohamos léptékben terjedt. Ebben az időben alakultak ki a borvidékek, szőlőhegyek, a XIII. században meghatározott irtható erdős területekből. A XIII. század végén pedig már megjelentek a bor minőségének leírására szolgáló jelzők, mint például vörösbor, fehérbor, édes csemegebor (Kozma, 1995).

Ebben az időben nagyrészt bort fogyasztottak víz helyett, mivel az alkoholtartalma megakadályozta a benne levő kórokozók szaporodását. A megecetesedett borokat vízzel keverték, ebben az esetben pedig az ecettartalom segített a víz eltarthatóságában.

A középkor után, 1526-ban a Mohácsi csata elvesztése után a 160 éves török hódoltság alatt a bor és szőlőkultúra fejlődése megtorpant, a törökök előszeretettel fosztogatták a borospincéket és égették fel a szőlősöket. Ennek hatására visszaesett a szőlőtermelés és mind a borok exportja, mind a saját felhasználásra kerülő bor mennyisége jelentősen lecsökkent (Kozma, 1995). Ebben az időszakban megfogalmazták az első törvényt a borok eredetiségére vonatkozóan illetve, ez volt az 1655. évi XXXI. törvény (Mészáros, 2023). A szőlőtermesztő és bortermelő lakosságot megtizedelték. Ezután csak a XVIII. században kezdődött újra a szőlő és bortermelés nagyobb mértékben, miután a törökök uralma alól felszabadult a magyarság (Kozma, 1995). Ebben az időben a szőlőtermelés kétharmada a Zalában volt megtalálható, pontosabban a Balaton-felvidéki részén, és más nyugati régiókban mint Pozsony, Sopron illetve Buda körül is. Az engedély nélküli csaposok és a támogatóik súlyos bírságokat kaptak és szegényfára jutottak (Rohály et al., 2003).

Ezek után II. Rákóczi Ferenc szabályozásokat adott ki a szőlőbeli munkák menetére, bérezésének egységesítésére. Illetve felosztotta a szőlőföldeket, ezáltal a több gondoskodást igénylő szőlőfajokat is tudták termesztetni. Ebben az időben kezdődtek meg az első újítások a bortermelésben is. A kezdetleges présgépek sok helyen megjelentek, de volt, ahol még lábbal taposták a szőlőt, illetve igaz, hogy drága volt, de a hordókon a vasabroncs is kezdett elterjedni, a megbízhatósága miatt. Ezek mellett a Kuruc kormány bevezette a borok minőségére vonatkozó osztályozását. Azt mondhatjuk, hogy ez volt az első minőségre és

egységesítésre hozott szabályozást, még ha nem is a modern értelemben vett szabályozásról beszélünk (Kozma, 1995).

Komáromi János (1692-1761) a bor jótékony tulajdonságairól és a gyógyászati jelentőségéről készített doktori értekezést. Főként a Sopron és a környéki szőlőfajták és az azokból készült borok jótékony hatását ismertette. Ezt követően többen is írtak a borokról és azok jótékony tulajdonságairól, így tovább nőtt a borok kedveltsége (Kozma, 1995). A XIX. század elején a mezőgazdasági könyvek már tartalmazták a szőlőtermesztés és borkészítés folyamatait magyar nyelven (Kozma, 1995). 1826-ban Goldinger Jakab, egy ács Budafokon megépítette az első két csavaros szőlőprést az országban (Rohály et al., 2003).

Az elkövetkezendő időkben viszont ismét egy hatalmas probléma ütötte fel a fejét, a filoxéravész, másnéven gyökér tetű vész. A filoxéra Észak-Amerikából érkezett Európába, majd később hazánkba is elértek a kártevők. Ezelőtt az ugyanúgy Észak-Amerikából érkező lisztharmat pusztította a szőlőket, amit főként bordói lével kezeltek, ami oltott mész és rézgalic keveréke volt. Jóval később a két világháború között az értékesítési válság miatt szabályozták a bor termelésének mennyiségét (Kozma, 1995).

A második világháború után sok radikális rendelet született a szőlőtermesztés és a borkészítés ágazataiban, főként az 1949-körüli években meghozott intézkedések, amik a szőlészet/borászat reformosítására/korszerűsítésére vonatkoztak. 1975 után már kialakultak a borvidékek és a jellegzetes és sajátos borkultúra (Kozma, 1995; Mészáros, 2023)

Nagyvonalakban ezek a történelmi események alkották a mai borkultúrát, a borról kialakult képet, és ezeknek a tükrében lehet a borok tradícióját megismerni. Rengeteg különböző fajta szőlő létezik, ez rendkívül széles kínálatot eredményez borok terén. Mind különböző kémiai összetétellel.

3.1.2. A borok kémiai összetétele

A bor egy valódi és kolloid alkoholos-vizes oldat. Az analitikai módszerek fejlődésével egyre több és több alkotóeleme került azonosításra. Számokkal kifejezve, egészen a μg -tól a 100g-ig változhat 1 liter borban a komponensek mennyisége a fő összetevőket adó vízen és alkoholon kívül. Az érzékszervi jellemzők kialakításában a legkisebb mennyiségben lévő komponens is nagy befolyással lehet (Kállay, 2010).

Igen fontos ezeknek a boroknak a minőségi és mennyiségi ismerete, mivel ezek határozzák meg az érzékszervi jellegét az itálnak. Ezen minőségi és mennyiségi jellemzők ismeretében lehet a borokat kategóriákba sorolni. Ha ismerjük az összetételt, akkor képet kaphatunk a borban lejátszódó kémiai és fizikai folyamatokról. Ezek ismeretében befolyásolni tudjuk a végtermék jellegét, hogy a legjobb minőségű bort tudjuk elkészíteni. (Kállay, 2010).

Azt viszont érdemes szem előtt tartani, hogy a borok folyamatosan változnak, tehát időben az összetételük nem állandó. Úgy is mondhatjuk, hogy a borok élnek, nem biológiai értelemben, hanem abban az értelemben, hogy folyamatos változás megy bennük végbe (Hajós, 2017). Még ha nagyon lassan is, a borok palackozott állapotban is változnak összetételükben. Emiatt nem lehet egy végleges összetételről beszélni. A változásnál beszélhetünk fejlődő, vagy visszafejlődő szakaszcsoportokról. A csúcspont is változik aszerint, hogy ki fogyasztja, tehát a fogyasztó ízlése szerint, a bor fajtájától és a felhasználás céljától is. A csúcspont azt az állapotot képviseli, ahol a bor a lehető legnagyobb élvezeti értékkel rendelkezik, emiatt relatív, hogy mit nevezünk csúcspontnak, fejlődő vagy visszafejlődő szakaszcsoportnak (Kállay, 2010).

A bor alkotórészeinek különböző csoportosítási módjai lehetnek. Például az alkotórész származása szerint, itt arra kell gondolni, hogy a borkészítés melyik szakaszában keletkezett az adott összetevő. Ezek a szakaszok a szőlő érése, erjesztés és a bor érlelése. Vegyük példának a cukrokat, amik a szőlő érésénél keletkeznek. A csoportosítás történhet az érzékszervi jelleg kialakításának fontossága szerint vagy kémiai szempontból is. A következő táblázatban a boralkotók kémiai szempont szerinti csoportosítása látható (Kállay, 2010).

1. táblázat Borok vegyületei (Kállay, 2010)

Vegyület csoport	Példák
Alkoholok	etil-alkohol; metil-alkohol; propil-alkohol; glicerin
Cukrok	D-glükóz; D-fruktóz; L-arabinóz
Szerves savak	borkősav; almasav; citromsav; tejsav
Fenolos vegyületek	vanillin; antocianin; kumarin; flavén-2
Nitrogéntartalmú anyagok	amidok; aminosavak; peptonok; fehérjék; etil-karbamát
Pektinek és poliszacharidok	pektin; galaktánok; arabánok
Aromaanyagok	fahéjaldehid; vanillin; damascenon; polifenolok
Ásványi anyagok	kloridok; szulfátok; foszfátok; kálium; nátrium; kalcium
Vitaminok	B1; B2; B5; B12; folsav; E vitamin; Biotin

3.1.3. Borhibák és borbetegségek

Csakúgy mint a borok vegyületeit, a bor élvezeti értékét rontó hatásokat is több féle képen csoportosíthatjuk. Az egyik csoportosítás az, hogy a bor készítés melyik szakaszából eredeztethető a hiba, illetve, hogy mit okoz. Ilyenek a szőlőfajtából eredeztethető borhibák, vagyis aroma hibák. Az erjedés, vagyis mikrobiológiai folyamatok során keletkező hibák vagy ízhibák, illetve a tárolás során nem kívánatos szennyeződések vagy érlelés során borba került anyagok szerint (Kállay, 2010). A másik csoportosítási módja ezekben egyszerűbb, ez a NÉBIH által kiadott tájékoztatóban szereplő csoportosítás. Itt borhibákra és borbetegségekre osztják ezeket az élvezeti értéket csökkentő elváltozásokat. A borhibákba a fizikai-kémiai úton létrejött hibákat sorolják, a borbetegségekhez pedig a valamilyen mikroba, gomba/penész okoz (NÉBIH, 2023). Véleményem szerint mindkét csoportosítás ismerete szükséges, illetve a teljes megértéshez mindkét csoportosítás az alábbiakban ismertetésre kerül, kezdve a két nagy csoportosítással. Majd a folyamatbeli származással zárva, ismertetve a hibákat okozó vegyületeket is.

2. táblázat Borhibák/Borbetegségek (NÉBIH, 2023)

Borhibák	Borbetegségek
Feketetörés	Barnatörés
Fehértörés	Ecetesedés
Zavarosodás	Virágosodás
Seprőíz	Tejsavas erjedés
Dugóíz	Egéríz
Zöldíz	Nyúlósodás
Faíz	Záptojásszag
Szorbátíz	Lóistállószag

Borhibák

A borhibák valamilyen folyamatbeli hibából származnak, tehát nem mikroorganizmus által termelt vegyület okozza, hanem más idegen anyag bekerülése okoz. Ezt a név is mutatja bor”hiba”.

Feketetörés: A vas oldhatatlan csapadékként kiválik, olyan borokban jelenhet meg amik savszegények

Fehértörés: Szintén a vas okozza savszegény borokban, de itt fehér csapadékként válik ki

Zavarosodás: Utóerjedésnél fordul elő, de ez csak ideiglenes, és nagyon fiatal boroknál fordul elő

Seprőíz: Olyan boroknál fordul elő aminek gyenge a minősége, illetve ha a pince hőmérséklete túl magas

Dugóíz: A nem megfelelő minőségű palackozott boroknál fordul elő, ha a dugó rossz minőségű

Zöldíz: A nem megfelelő érettségű szőlőből készített borokra jellemző, fanyar fűhöz hasonló ízt kölcsönöz a boroknak

Faíz: Új hordók által kölcsönzött íz, ami folyamatos használat alatt tompul

Szorbátíz: Erjedésgátlóként adagolt kálium-szorbát íze, édesborok hibája lehet, ha nem megfelelő az adagolás

(NÉBIH, 2023)

Borbetegségek

A borbetegségeket valamilyen mikroorganizmus által termelt vegyület okoz, vagy maga a mikroorganizmus. Itt is a név erre utal, miszerint bor”betegség”-ről beszélünk.

Barnatörés: Azokat a borokat veszélyezteti, amik nem megfelelő minőségű, penészes/rothadt szőlőből készülnek, aszalt gyümölcs illat jellemzi

Ecetessedés: A bor levegővel érintkezve, magas hőmérsékleten az ecetsav baktériumok jelenlétében megecetesedik, savanyú íz és borecetre emlékeztető illat jellemzi

Virágosodás: Alacsony sav és alkohol tartalmú borok betegsége, vékony fehér hártya képződhet a bor felszínén ami későbbiekben felszakadozhat és a borba süllyedhet

Tejsavas erjedés: 28C° felett a must erjedésénél jöhet létre. A bor opálos, íze émelyítő lesz

Egéríz: Alacsony sav és alkohol tartalmú borok betegsége ez is, egér vizeletre vagy esetenként még ízre is emlékeztet

Nyúlósodás: Alacsony sav és alkohol tartalmú boroknál baktérium okozta betegsége, ahol a bor olajszerűvé válik, jellegtelen ízt kap

Záptojásszag: A kénezés során a hordóban maradó elreagálatlan kén okozhatja amiből kén-hidrogén képződik mikroorganizmusok hatására

(NÉBIH, 2023)

Ezek a borbetegségek és borhibák többségében kezelhetők, vagy esetekben megelőzhetők.

3. táblázat Borhibák/Borbetegségek folyamatbeli származás alapján

Aromahibák	Ízhibák	Idegen anyagok hibái
szamócaíz	ecetíz	dugóíz
ribizliíz	savanyúkáposzta-íz	keroziníz
rókaíz	Böckser	penészíz
burgonya-, zöldpaprikaíz	egéríz	korai/nem tipikus öregedési íz
orvosságíz	orvosságíz	
	lóistállóíz	

A **3.táblázatban** az aromahibák szőlőfajból eredhetnek, míg az ízhibák mikrobiológiai folyamatból erednek, az idegen anyagok hibáit valamilyen technológiai folyamat során a borba kerülő, nem szőlő vagy bor eredetű anyag okoz. (Kállay, 2010) Tehát az Aromahiba a szőlőfajtából ered, ami nem mondható se borbetegségnek, se borhibának, az ízhibák általában borbetegségek és az idegen anyagok hibái általában borhibák.

Szamócaíz: Olyan szőlőkből készült boroknál tapasztalható, amik gombarezisztensek. A hibát a furaneol nevű aromás vegyület okozza

Burgonyacsíra-, zöldpaprikaíz: Ez ugyan az mint az előzőleg tárgyalt fűíz vagy zöldíz. Ezt a hibát a 2-alkil-3-metoxipirazinok okozzák

Orvosságíz: Illékony fenolos vegyületek okozzák ezt a hibát. Név szerint 4-vinil-fenol; 4-vinil-gvajakol; 4-etil-gvajakol; 4-etil-fenol. Főleg a Vinil-fenol okoz orvosságízt.

Ecetíz: Már tárgyalva volt az előző felsorolásban, az ecet okozza, amit az ecetsav baktérium termel.

Böckser: Emlegetik „Bakszag”-ként is (szerintem ez a hiba megegyezik a záptojásszaggal). Kénezt boroknál fordul elő vagy olyan boroknál aminek a szőlőjét lisztharmat ellen permetezték kén tartalmú növényvédőszerrel. Okozója a kén-hidrogén és etil-merkaptán.

Egéríz: Előzőleg már tárgyalva lett ez a hiba, a hibát a tetrahidropiridinek okozzák

Lóistállóíz: A nagy mennyiségű 4-etil-gvajakol okozza ezt a lóistállóíz szagot

Dugóíz/penészíz: előzőleg volt tárgyalva, összetett hiba. Nem lehet egyetlen vegyületet mondani ami kialakítja ezt a hibát, mivel több vegyület is képes rá. A mikrobák és szabad klór jelenléte okozza együttesen

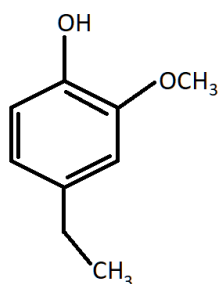
Keroziníz: A hibát okozó vegyület a 1,1,6-trimetil-1,2-dehidronaftalin (TDN) ez a karotin bomlásából származik

A korai öregedési íz: A 2-amino-acetofenon vegyület okozza ezt a hibát. A szőlő szárazságnak vagy valamilyen környezeti stressznek kitétele okozhatja ezt a hibát (Kállay, 2010)

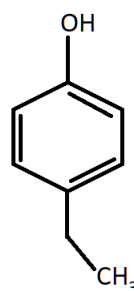
3.1.4. Bővebben a 4-etil-fenolról, 4-etil-gvajakolról és Ecetsavról

Ebben a fejezetben bővebben tárgyaljuk az általunk vizsgált borbetegségeket okozó vegyületeket. Ezzel is érvelve, hogy miért pontosan ezekkel foglalkozunk.

A 4-etil-fenol (**3.ábra**) és 4-etil-gvajakolt (**2.ábra**) a *Brettanomyces dekkera* nevű élesztő által termelt vegyületek. Ezek felelősek a bor kellemetlen mellékízének kialakításáért, amit lóistállószagként jellemeznek többek között. Fontos megjegyezni, hogy nagyon kis mennyiségben, 620µg/L alatt pozitívan hozzájárulnak a bor aromájának kialakításában, viszont ez érték felett borbetegséget okoznak. Ez a két vegyület a leggyakoribb okozója a borbetegségeknek világszerte (Caboni et al., 2007).



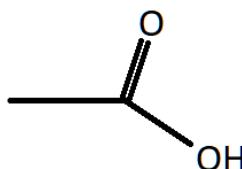
2. ábra 4-etil-gvajakol



3. ábra 4-etil-fenol

Az etánsavat, vagy másnéven ecetsavat (**4.ábra**) ecetsav baktériumok és élesztők termelik (Pastorkova et al., 2013). Fontos megemlíteni az illékony savasságot, az illékony savasság vizsgálata egy rutin ellenőrzés a borok romlásának ellenőrzésére. A legnagyobb szerepet itt az ecetsav játssza, viszont az összes gőzdesztillációval elválasztható sav is ide

tartozik (Zoecklein et al., 1995). Tehát az ecetsav egy indikátora a borromlásnak/borbetegségnek.



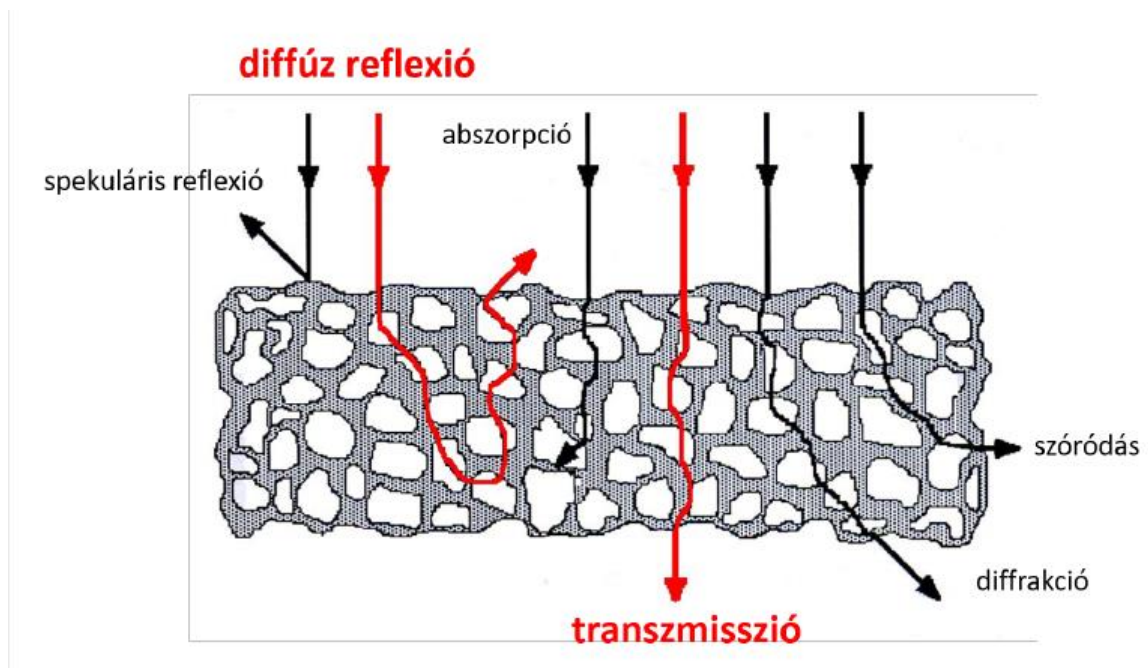
4. ábra Ecetsav

A fenolos és szerves vegyületek tartalmaznak C-H és O-H kötések, ezért a közeli infravörös spektroszkópia alkalmas lehet a kimutatásukra.

3.2. Közeli infravörös spektroszkópia

3.2.1. A közeli infravörös spektroszkópia alapjai

A spektroszkópiában az anyagot elektromágneses kölcsönhatások segítségével vizsgáljuk. Különböző elektromágneses sugárzás hatására más és más információkat nyerhetünk az anyagtól. Ahogy a különböző hullámhosszú fény kölcsönhatásba lép az anyaggal, történhet abszorpció, transzmisszió, spekuláris reflexió, szóródás és diffúz reflexió (Gauglitz & Moore, 2014). A NIR spektroszkópia a O-H, C-H, N-H, S-H kötések tartalmazó molekulák vizsgálatára alkalmas (Benes, 2021). A fény terjedési útjának különböző lehetséges változatait láthatjuk a **5. ábrán**.



5. ábra Elektromágneses sugárzás kölcsönhatásai (Benes, 2021)

Mint ahogy az fent említésre került, a közeli infravörös fény tartományában végezzük a vizsgálatot, ami 780 és 3000 nm-között van (Kakkar, 2015). Ez szakirodalomról szakirodalomra változik, van olyan forrás amelyben 700 nm-re teszi az egyik határát és 2500 nm-re teszi a másik határát a NIR tartománynak.

	γ -rays	X-rays	UV	Visible	IR	MW	Radio
λ (nm)	1.0×10^{-3}	1.0×10^{-1}	1.0×10^1	$(4.0-7.8) \times 10^2$	3.0×10^5	1.0×10^9	1.0×10^9
ν (Hz)	3.0×10^{20}	3.0×10^{18}	3.0×10^{16}	$(7.5-3.8) \times 10^{14}$	1.0×10^{12}	3.0×10^8	3.0×10^8
E (kJ ml ⁻¹)	1.2×10^8	1.2×10^6	1.2×10^4	$(3.0-1.5) \times 10^2$	4.0×10^{-1}	1.2×10^{-4}	1.2×10^{-4}
$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹)	1.0×10^{10}	1.0×10^8	1.0×10^6	$(2.5-1.3) \times 10^4$	3.3×10^1	1.0×10^{-3}	1.0×10^{-3}

	Far UV	Near UV	Vis	Near IR	Mid IR	Far IR
$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹)	10^6	5×10^4	2.5×10^4	1.28×10^4	3333	333
λ (nm)	10	200	400	780	3000	3×10^5

6. ábra Elektromágneses sugárzás spektrumai (Kakkar, 2015)

Fontos megemlíteni a NIR spektroszkópiával kapcsolatban, hogy roncsolásmentes technika, valamint beépíthető folytonos rendszerekbe. Rendkívül széleskörű felhasználási módjai vannak a technikának. Főleg a roncsolásmentesség miatt egyre felkapottabb mind a gyógyszer-, mind az élelmiszeriparban. A népszerűségéhez az is hozzájárul, hogy manapság már hordozható formában is elérhető NIR spektroszkóp ami egyszerűen szállítható a vizsgálat helyszínére. (Gauglitz & Moore, 2014)

A NIR spektroszkópia igen sok összetevő kimutatására alkalmas, viszont nem önmagában. Ez abból adódik, hogy a NIR technika kalibrálást igényel. A NIR-hez szorosan kapcsolódik a többváltozós statisztikai elemzés is. Általában több száz minta szükséges egy gyakorlati szempontból megbízható kalibráláshoz.

A NIR spektroszkópia alkalmas minőségi és mennyiségi meghatározásra is. A minőségi meghatározásnál, például fajta vagy hely szerinti csoportosításnál nem feltétlen szükséges mennyiségi analitikai módszer. A mennyiségi meghatározásnál viszont szükséges egy mennyiségi analitikai módszer alkalmazása is, mivel a vizsgálat során kapott adatokat az adatbázisban szereplő mintákkal hasonlítjuk össze.

3.2.2. A közeli infravörös spektroszkópia széles körű alkalmazása

Rengeteg iparágban értek el sikereket a NIR spektroszkópia alkalmazásával. Az élelmiszeriparban már készültek tanulmányok a NIR spektroszkópia alkalmazásáról, a következő részben ezek kerülnek bemutatásra. Ezeknek a fényében választottam a NIR mérési technikát.

2020-ban készült egy tanulmány a sertéshús kimutatására más hústermékekben, amely során a NIR technika és a többváltozós elemzés kombinációjával értek el eredményeket. A vizsgálatuk során kiderült, hogy a legkisebb disznóhús koncentráció amit ki lehet mutatni 100%-os pontossággal az 10% sertéshús volt a különböző darálthús termékekben. Fontos hozzátenni, hogy a kimutatást az tette lehetővé, hogy a sertéshús más spektrum mintázatot adott a vizsgálat során mint más húsfajták. Ez valószínűleg annak volt köszönhető, hogy más volt a sertéshús kémiai összetétele. Itt az izomban lévő zsírsavak típusára, illetve az izom közti zsírokra kell gondolni (Mabood et al., 2020).

Úgyszintén 2020-ban készült tanulmányban teafélék összehasonlítására használtak NIR technikát. Itt hasonlóan a mi kísérletünkhöz, a teában kis mennyiségben előforduló komponensek kimutatását célozták meg, mint a koffein és egyéb különböző hatású molekulák. 360 mintából dolgoztak, sárga, fekete, zöld és oolong teákat vizsgáltak, mindegyik teafajtából 90 mintával. Metanolos extrahálással vonták ki a teából a komponenseket, tehát egy folyadék oldatot vizsgáltak. A tanulmány végén megállapították, hogy alkalmas a NIR technika a katechinek, koffein és theanin kimutatására, illetve reális adatokat kaptak (Wang et al., 2021).

A szőlészetben és borászatban is folytak már kísérletek és tanulmányok a NIR spektrométer felhasználását illetően. Következő példákban ezekből fogok bemutatni néhány esetet.

Egy 2019-ben publikált tanulmányban a mustban és boralapban a kalcium meghatározását szerették volna elérni NIR spektroszkóppal. Azért volt fontos, mivel gyöngyöző borokban tilos 80 mg/L-nél több kalciumionnak jelen lennie. Itt az atomabszorpciós spektrofotométert szerették volna kiváltani. 98 boralap és 60 must mintát vizsgáltak. Azért volt ez fontos, mivel a gyöngyöző boroknál a sejteket alginát ágyon vannak rögzítve, és a kalcium aggregálná ezeket. A kísérletben 1100-2300 nm közötti NIR spektrumokat rögzítettek, viszont csak az 1200-2200 nm közötti adatokat használták fel, mivel a két szélén magas alapzaj volt, amik zavarták a mérést. Meghatározták, hogy alkalmas a kalcium kimutatására a NIR spektrométer, viszont hozzátették, hogy a boralapokban nagyobb pontossággal tudták kimutatni a kalciumot, mint a mustban (Véstia et al., 2019).

2014-ben a polifenolos vegyületek kimutatására szerették volna felhasználni a NIR spektrofotometriát, igaz, ebben a tanulmányban nem kizárólag a közeli infravörös tartományban mértek, hanem az UV-VIS-NIR tartományban, ami az UV és a látható fény tartományát is magába foglalja. A polifenolos vegyületek kimutatása azért volt fontos, mert jótékony hatásuk van az emberi szervezetre az antioxidáns hatásuk miatt, illetve nagy szerepük van a bor színének kialakításában. A tanulmányban 190 és 2500 nm között vették fel a borok spektrumát. Azt állapították meg, hogy a NIR régióban láthatóak voltak eltérések a borok között, ne kisebbek, mint a UV-VIS régiókban. A tanulmány konklúziójából kiderül, hogy az UV-VIS-NIR technika alkalmas volt a polifenolos vegyületek kimutatására, viszont egyes esetekben a származási hely befolyásolta a kimutathatóságot (Martelo-Vidal & Vázquez, 2014).

Egy 2008-as tanulmányban használtak VIS és NIR spektrofotometriát borok eredetvizsgálatára. A tanulmányban Ausztráliából, Új-Zélandról és Európából (Németországból és Franciaországból) származó Rizling borokat vizsgáltak. Ebben a tanulmányban, mint ahogy a szakedzőzetemben, főkomponens analízist és részleges legkisebb négyzet (PLS) regressziót alkalmaztak a borok ország szerinti elkülönítésére. A

NIR spektrumokban a C-H és O-H kötések abszorbanáciája dominánsan megjelenik. Ezek a kötések korrelálnak a bor fenolos jellegével, illetve a szerves vegyületeivel. A tanulmány eredményeként megállapították, hogy a borokat sikeresen el lehet különíteni a módszerrel országok alapján (Liu et al., 2008).

Több területen is használtak már NIR spektrofotometriát az élelmiszeriparban. A borászatban is rengeteg példa van rá, ahol a bor eredetét vagy valamilyen beltartalmi jellemzőjét próbálták meghatározni. A borhibákat és borbetegségeket főként szerves vegyületek okozzák, amik kimutatására alkalmas a NIR spektroszkóp.

4. Anyag és módszerek

4.1. Minták előkészítése

Elsősorban modelloldatokban próbáltuk kimutatni NIR technikával a borbetegséghez köthető 4-etil-fenol és 4-etil-gvajakol molekulákat. Ezután a kapott spektrumok adatait Savitzky-Golay módszerrel simítottuk, illetve többszörös szórás-korrekciót hajtottunk végre. Az így kapott spektrumokat ezután vizsgáltuk 1100 és 1850 nm között, főkomponens analízissel és PLS regresszióval. Az ecetsavval szennyezett bormintákat is ily módon vizsgáltuk.

4.1.1. 4-etil-fenol (4EF) és 4-etil-gvajakolos (4EG) minták előkészítése

A **4.táblázatban** és **5.táblázatban** látható 4-etil-fenolos és 4-etil-gvajakolos mintákat az alábbi módszer szerint állítottuk elő. A legkisebb koncentrációt a humán érzékelési küszöb határozta meg (Csikor et al., 2018; Summerson et al., 2021).

Itt az íz- és illathibát okozó vegyületet okozó anyagokat (4EF és 4EG) külön-külön hígítási sorban készítettük el, három különböző féle víz-alkohol eleggyel (3%-6%-12%). A törzsoldatot úgy készítettük, hogy 200 mg/l koncentrációjú legyen mindkét hibát okozó vegyületre nézve. Ezután 6 darab 250 ml-es mérőlombikokba pipettáztuk a következő mennyiségeket a törzsoldatokból: 0,25-0,5-1-2,5-5-10 ml. A lombikokat a megfelelő V/V%-os alkohol-víz oldatokkal állítottuk jelre. Például az F_4EF_120 nevű mintánál a 200 mg/l koncentrációjú 4-etil-fenol oldatból 10 ml-t pipettáztunk a 250 ml-es mérőlombikba, és jelre töltöttük 12 V/V%-os etilalkohollal. Ezáltal az oldatok koncentrációi a táblázatban látható értékek lettek. Az elkészült mintákat ezután 50 cm³-es mintatartó csövekbe helyeztem. A többi mintánál is hasonlóan jártam el. A mintaelőkészítés után, mérésig -20 °C-on tároltuk a mintákat. Az alábbi, **7.ábrán** láthatóak a 4-etil-fenolos és 4-etil-gvajakolos minták.



7. ábra. 4-etil-fenol és 4-etil-gvajakol minták

Kinczel Csaba Szar

Az alábbi táblázatokban a 4-etil-fenol (**4. táblázat**) és a 4-etil-gvajakol (**5.táblázat**) mintáit láthatjuk.

4. táblázat 4-etil-fenol minták

Minta név	Alkohol V/V%	4-etil-fenol
A_4EF_030	3	0,2 mg/l
B_4EF_030	3	0,4 mg/l
C_4EF_030	3	0,8 mg/l
D_4EF_030	3	2 mg/l
E_4EF_030	3	4 mg/l
F_4EF_030	3	8 mg/l
A_4EF_060	6	0,2 mg/l
B_4EF_060	6	0,4 mg/l
C_4EF_060	6	0,8 mg/l
D_4EF_060	6	2 mg/l
E_4EF_060	6	4 mg/l
F_4EF_060	6	8 mg/l
A_4EF_120	12	0,2 mg/l
B_4EF_120	12	0,4 mg/l
C_4EF_120	12	0,8 mg/l
D_4EF_120	12	2 mg/l
E_4EF_120	12	4 mg/l
F_4EF_120	12	8 mg/l

5. táblázat 4-etil-gvajakol minták

Minta név	Alkohol V/V%	4-etil-gvajakol
A_4EG_030	3	0,2 mg/l
B_4EG_030	3	0,4 mg/l
C_4EG_030	3	0,8 mg/l
D_4EG_030	3	2 mg/l
E_4EG_030	3	4 mg/l
F_4EG_030	3	8 mg/l
A_4EG_060	6	0,2 mg/l
B_4EG_060	6	0,4 mg/l
C_4EG_060	6	0,8 mg/l
D_4EG_060	6	2 mg/l
E_4EG_060	6	4 mg/l
F_4EG_060	6	8 mg/l
A_4EG_120	12	0,2 mg/l
B_4EG_120	12	0,4 mg/l
C_4EG_120	12	0,8 mg/l
D_4EG_120	12	2 mg/l
E_4EG_120	12	4 mg/l
F_4EG_120	12	8 mg/l

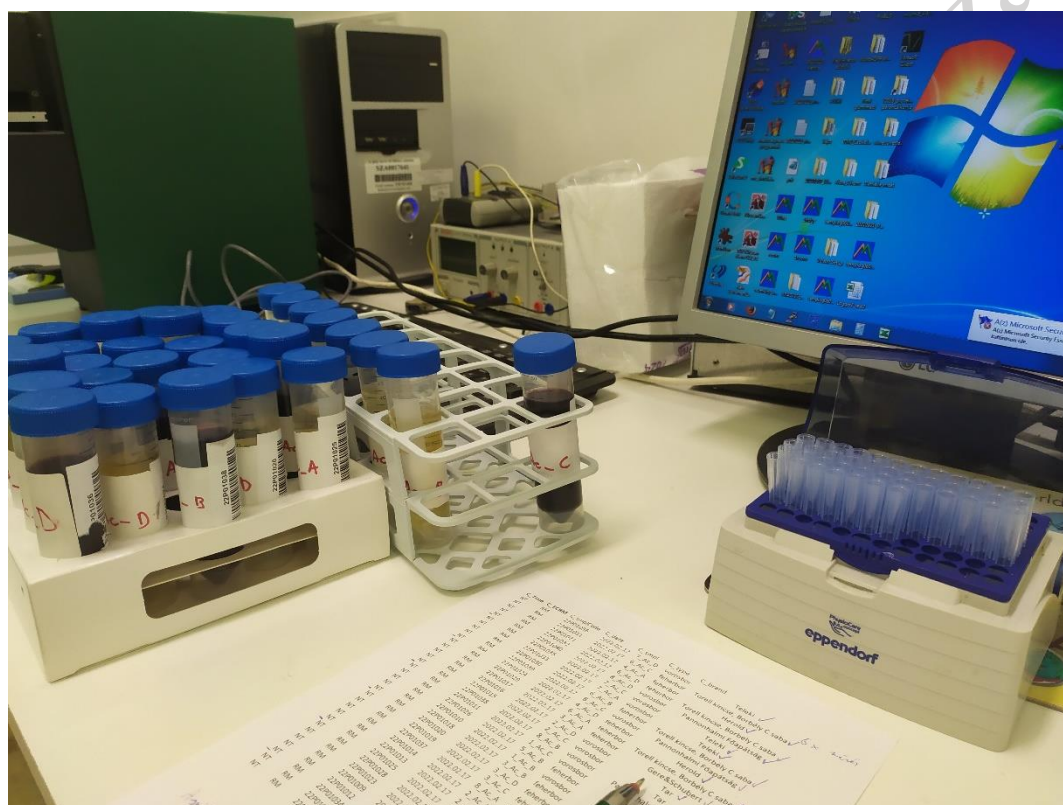
4.1.2. Ecetsavas minták előkészítésének menete:

A **6.táblázat** foglalja össze a vizsgálat alá vont ecetsavval szennyezett bormintákat. A bormintákhoz adagolt ecetsav koncentrációkat úgy választottuk ki, hogy a legalacsonyabb szennyezés a humán érzékelési küszöböt képviselje.

A felhasznált ecetsav tiszta ecetsav volt, tehát jégecetet használtunk a minták elkészítéséhez.

A borbetegséget okozó ecetsavat kétféle vörös- (cabernet frank, pinot noir) és kétféle fehérborhoz (chardonnay, olaszrizling) kevertünk, a párok egyike villányi, másik pannonhalmi bor volt. A borokat kereskedelmi forgalomból szereztük be. Minden keverési sorhoz kettő palack bort használtunk fel. Egy adott koncentráció eléréséhez az alábbi leírás szerint 200 ml bort használtunk, minden keverési sorban három szennyezési koncentrációt alkalmaztunk és a tiszta bort is vizsgáltuk (0 g/l - 0,25 g/l - 0,5 g/l - 1 g/l). Összesen 16 palack bort dolgoztunk fel. Ecetsavból 14 g került felhasználásra.

Az 1_Ac_B minta esetében 0,25 g ecetsavat mértünk be, melyet Villányi Cabernet Frank borral 100 ml-es mérőlombikban jelig töltöttünk, majd az elegyet mágneses keverővel 3 percig kevertük. Az elegyből 10 ml-t tiszta 100 ml-es mérőlombikba mértünk, melyet azonos borral jelig töltöttünk. A kapott koncentráció így 0,25 g/l lett. A többi minta vonatkozásában hasonlóan jártunk el, tehát a C mintánál 0,5 g ecetsavat, a D mintánál pedig 1 g ecetsavat mértünk be. Ezeket a mintákat mérésig fagyaszttva, -20 fokon tároltuk 50 cm³-es talpas centrifugacsőben. Az ecetsavas bormintákat a **8.ábrán** láthatjuk a mintatartó állványban. Látható, hogy fehérborral és vörösborral is dolgoztunk.



8. ábra A vizsgált ecetsavas borminták

Az alábbi táblázatban (6.táblázat) látható az összes ecetsavval szennyezett és tiszta borminta felsorolva.

6. táblázat Ecetsavas Borminták

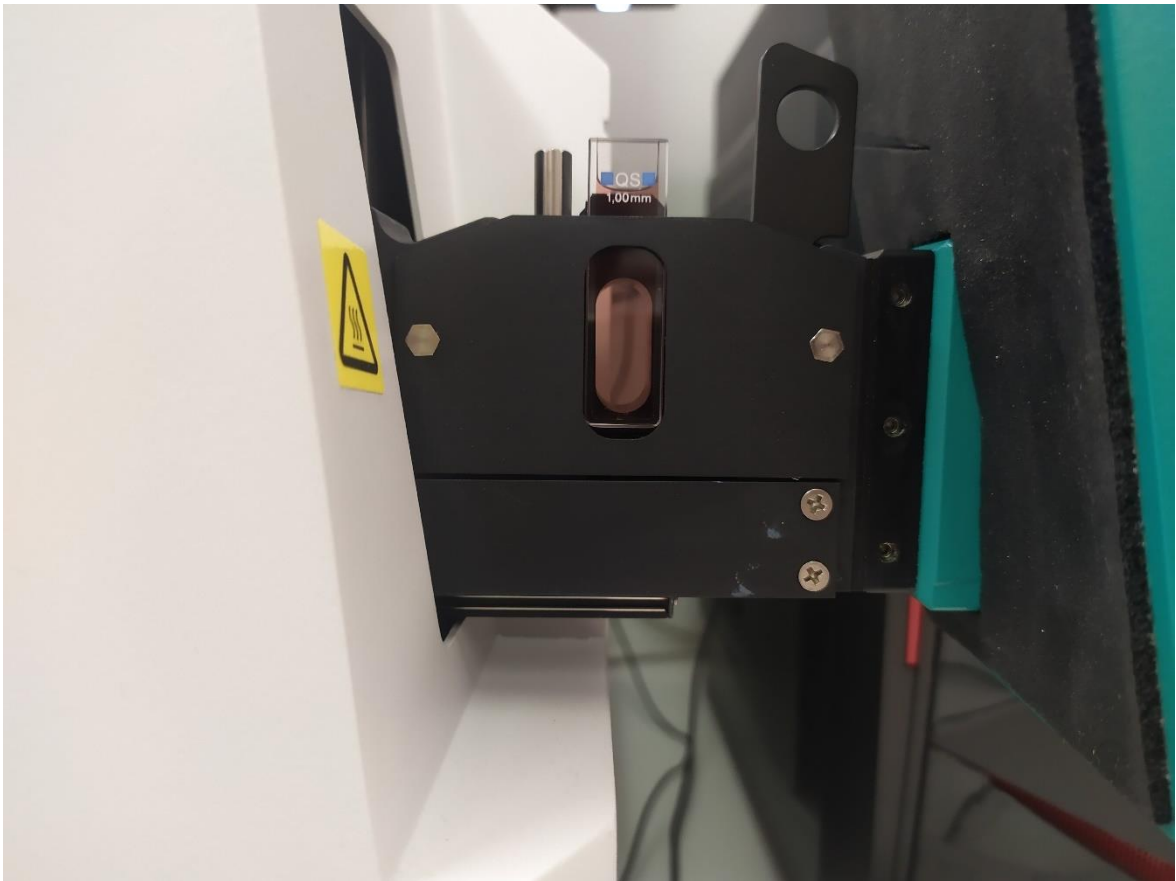
Minta név	Borfajta	Borászat	Szőlő fajta	Termelő	Évjárat	Ecetsav konc.
1_Ac_A	vörösbor	Teleki	Cabernet Frank	Villányi	2019	0 g/l
1_Ac_B	vörösbor	Teleki	Cabernet Frank	Villányi	2019	0,25 g/l
1_Ac_C	vörösbor	Teleki	Cabernet Frank	Villányi	2019	0,5 g/l
1_Ac_D	vörösbor	Teleki	Cabernet Frank	Villányi	2019	1 g/l
2_Ac_A	vörösbor	Tar	Cabernet Frank	Pannonhalmi	2017	0 g/l
2_Ac_B	vörösbor	Tar	Cabernet Frank	Pannonhalmi	2017	0,25 g/l
2_Ac_C	vörösbor	Tar	Cabernet Frank	Pannonhalmi	2017	0,5 g/l
2_Ac_D	vörösbor	Tar	Cabernet Frank	Pannonhalmi	2017	1 g/l
3_Ac_A	fehérbor	Gere&Schubert	Chardonnay	Villányi	2021	0 g/l
3_Ac_B	fehérbor	Gere&Schubert	Chardonnay	Villányi	2021	0,25 g/l
3_Ac_C	fehérbor	Gere&Schubert	Chardonnay	Villányi	2021	0,5 g/l
3_Ac_D	fehérbor	Gere&Schubert	Chardonnay	Villányi	2021	1 g/l
4_Ac_A	fehérbor	Herold	Chardonnay	Pannonhalmi	2018	0 g/l
4_Ac_B	fehérbor	Herold	Chardonnay	Pannonhalmi	2018	0,25 g/l
4_Ac_C	fehérbor	Herold	Chardonnay	Pannonhalmi	2018	0,5 g/l
4_Ac_D	fehérbor	Herold	Chardonnay	Pannonhalmi	2018	1 g/l
5_Ac_A	fehérbor	Gere	Olaszrizling	Villányi	2021	0 g/l
5_Ac_B	fehérbor	Gere	Olaszrizling	Villányi	2021	0,25 g/l
5_Ac_C	fehérbor	Gere	Olaszrizling	Villányi	2021	0,5 g/l
5_Ac_D	fehérbor	Gere	Olaszrizling	Villányi	2021	1 g/l
6_Ac_A	fehérbor	Torell kincse, Borbély Csaba	Olaszrizling	Pannonhalmi	2019	0 g/l
6_Ac_B	fehérbor	Torell kincse, Borbély Csaba	Olaszrizling	Pannonhalmi	2019	0,25 g/l
6_Ac_C	fehérbor	Torell kincse, Borbély Csaba	Olaszrizling	Pannonhalmi	2019	0,5 g/l
6_Ac_D	fehérbor	Torell kincse, Borbély Csaba	Olaszrizling	Pannonhalmi	2019	1 g/l
7_Ac_A	vörösbor	Teleki	Pinot Noir	Villányi	2018	0 g/l
7_Ac_B	vörösbor	Teleki	Pinot Noir	Villányi	2018	0,25 g/l
7_Ac_C	vörösbor	Teleki	Pinot Noir	Villányi	2018	0,5 g/l
7_Ac_D	vörösbor	Teleki	Pinot Noir	Villányi	2018	1 g/l
8_Ac_A	vörösbor	Pannonhalmi Főapátság	Pinot Noir	Pannonhalmi	2020	0 g/l
8_Ac_B	vörösbor	Pannonhalmi Főapátság	Pinot Noir	Pannonhalmi	2020	0,25 g/l
8_Ac_C	vörösbor	Pannonhalmi Főapátság	Pinot Noir	Pannonhalmi	2020	0,5 g/l
8_Ac_D	vörösbor	Pannonhalmi Főapátság	Pinot Noir	Pannonhalmi	2020	1 g/l

4.2. Minták mérése NIR spektroszkóppal

A minták mérését Metrohm NIRSystem, NIRS XDS RapidLiquid Analyzer készülékkel végeztük. Illetve a minták mérési sorrendjét egy excel által randomizált táblázat szerint mértük le, ezáltal a környezeti változások hatását minimalizáltuk, mint például a hőmérsékleti változások. Mivel a minták -20 fokon voltak tárolva az egyéb vizsgálatok érdekében, a NIRS-szel való mérés előtt kivettük őket a fagyasztóból és megvártuk amíg 25°C-ra melegedtek, így a minták hőmérséklete se befolyásolta a mérést. Mérés előtt homogenizáltuk a mintákat rázással, hogy az esetleges fagyás miatti koncentráció különbségek ne okozzanak hibát a mérésben. A mintákat rendszereztük, hogy a mérés folyamatát megkönnyítsem magamnak. Az első mérés (Környezeti kontroll minta), desztillált vízzel készült, aztán minden ötödik minta után mértünk környezeti kontrollt.

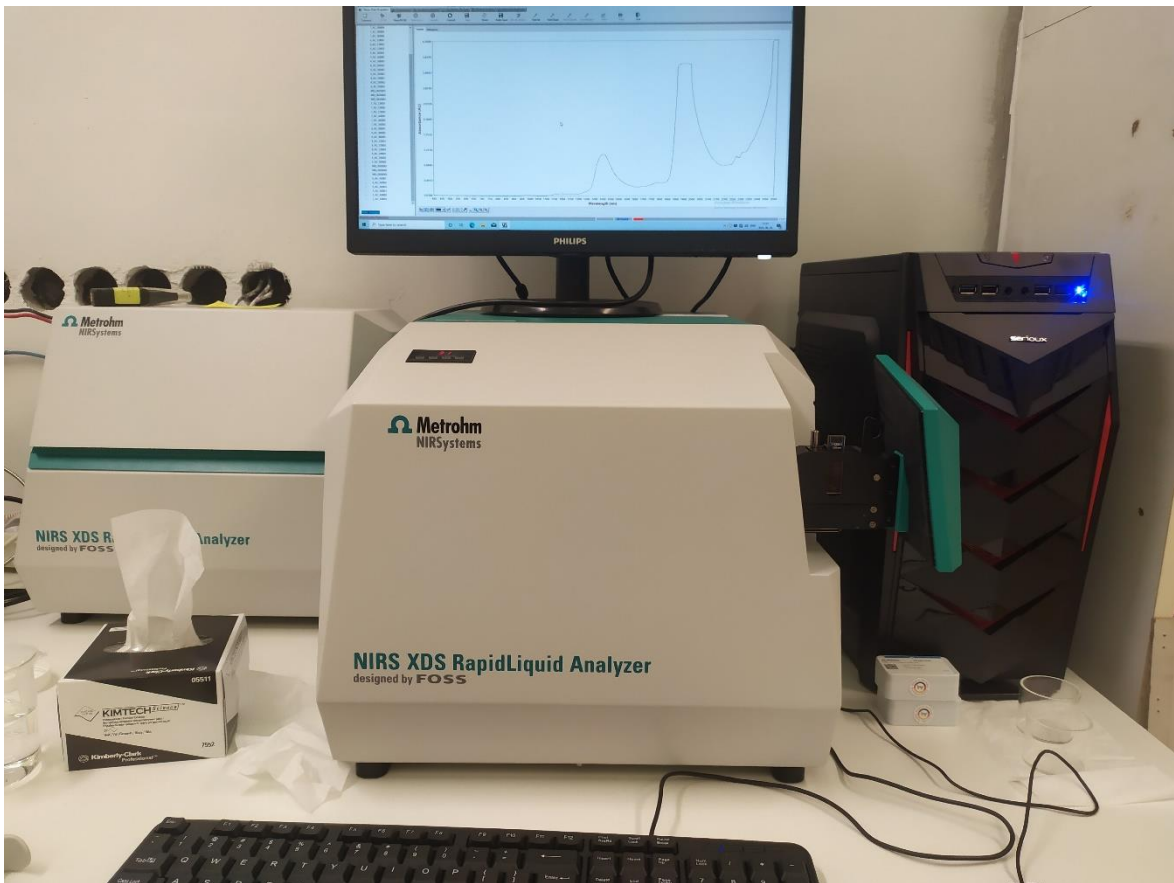
A **9.ábrán** látható egy borminta a küvettába töltve, a készülék mintatartójában, a **10.ábrán** jobban látni, hogy hol helyezkedik el a gépen a mintatartó. A mérésekhez 1 mm úthosszú kvarc küvettát használtam.

A mintákat a küvettába pipettával juttattuk be, minden minta váltásánál többször átmostuk a küvettát desztillált vízzel, ezután a friss mintával. A **10.ábrán** látható Kimberly-Clark puha papírtörővel töröltünk le bármilyen nedvességet a küvetta külsejéről. Ez a lépés azért volt fontos, mert a küvetta külsején lévő nedvesség mérési hibához vezethet, illetve azért ezt a fajta papírtörőt használtuk, mert más papírtörő szétesik és apró papír darabokat hagyhat a küvetta felületén ami szintén mérési hibához vezetne.



9. ábra Mérésre betöltött borminta

A mintákat háromszor mértük le egymás után. A **10.ábrán** látható a monitoron egy minta lemért spektruma. A minták spektruma rendkívül hasonló volt a víz spektrumához, érthetően, mivel a bornak a legnagyobb komponense a víz. Ahogy azt az irodalmi áttekintésben is említettem, nem szükséges további vegyszer a minták méréséhez, tehát a bor és alkoholos 4-etil-fenol és 4-etil-gvajakol mintákat egyből lehet mérni.



10. ábra NIRS készülék

4.3. Minták kiértékeléséhez használt program

Az ecetsavas és 4-etil-fenol, 4-etil-gvajakol mintáit külön mértük le, így ezeknek az adatai 1-1 fájlban kaptuk meg. Ezek után az R-studio nevű statisztikai programmal dolgoztuk fel a nyers adatokat. Az R-studio egy széleskörű statisztikai program, ami megkönnyítette a kiértékelést.

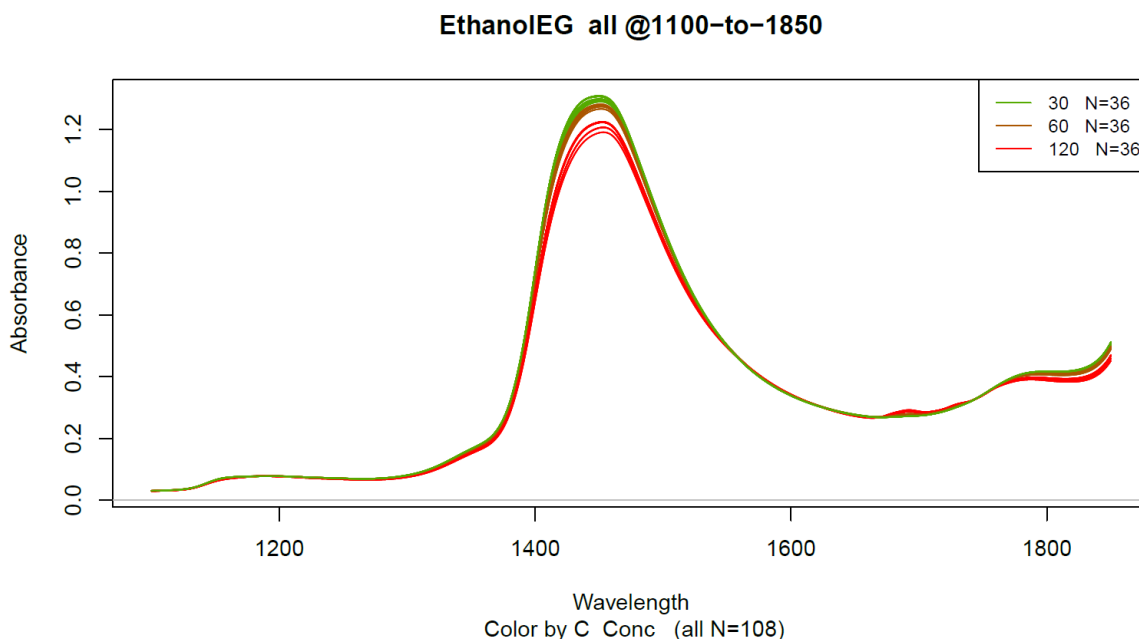
Ahhoz, hogy használni tudjam az R-studiot, el kellett sajátítanom bizonyos szinten az R programnyelvet. A program képes statisztikai számításokat elvégezni, illetve az adatokat képes megjeleníteni grafikusan, amiket PDF fájlba ment le. Ezt a statisztikai programot ingyenesen le lehet tölteni a weboldalukról, tehát hatalmas segítséget nyújtott a munkám során.

5. Eredmények

A következő két alfejezetben a 4EG és 4EF által szennyezett modell oldatokon, majd az ecetsavval szennyezett borokon végezett vizsgálatokat mutatom be.

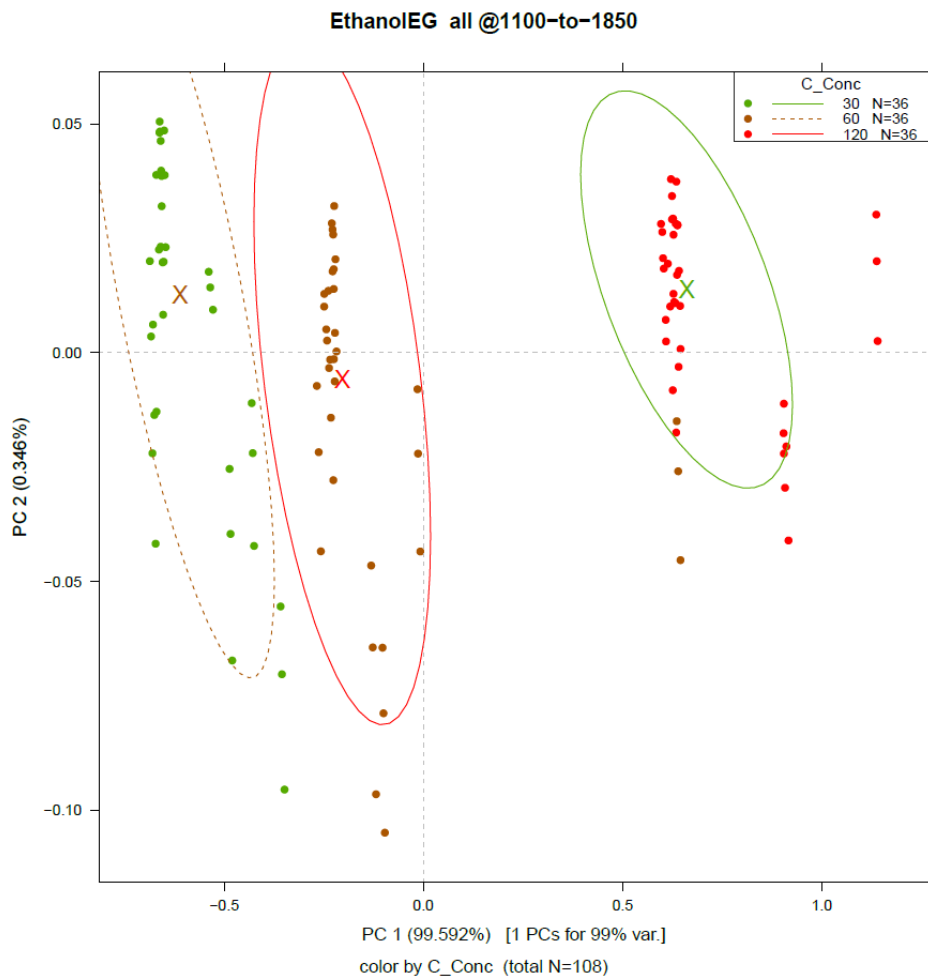
5.1. A 4-etil-fenol és a 4-etil-gvajakol kimutatása

Az ecetsav kimutatáshoz hasonlóan dolgoztam fel az adatokat, először a hullámhossz tartományt csökkentettem le, hogy megszüntessem a spektrum két végén lévő erősen zajos adatokat **11.ábra**.



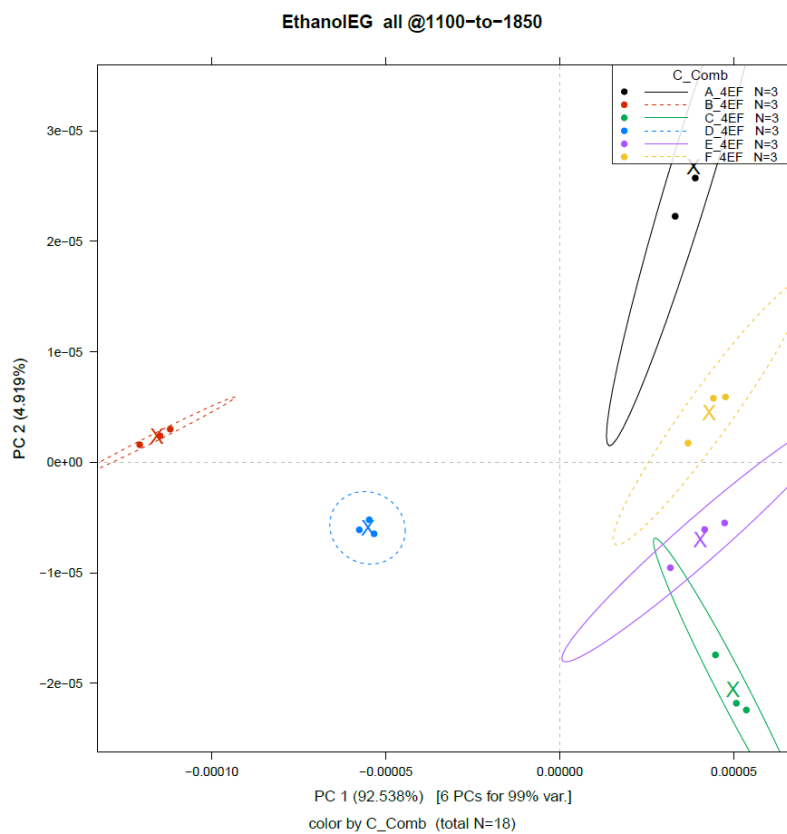
11. ábra 4EF és 4EG minták spektruma 1100 és 1850 nm között, Savitzky-Golay simítás és többszörös szórás-korrektúra elvégzése után (etanol koncentráció szerint színezve, (30: 3 V/V%, 60: 6 V/V%, 120: 12 V/V%))

Látni, hogy spektrumonként is elkülönülnek a különböző minták, az alkohol térfogatszázaléka alapján 3 V/V%-tól 12 V/V%-ig. Ezek nem csak spektrumukban, de főkomponens analízis alapján is szép, elkülönülő csoportokat alkotnak. A **12.ábra** szemlélteti ezt.

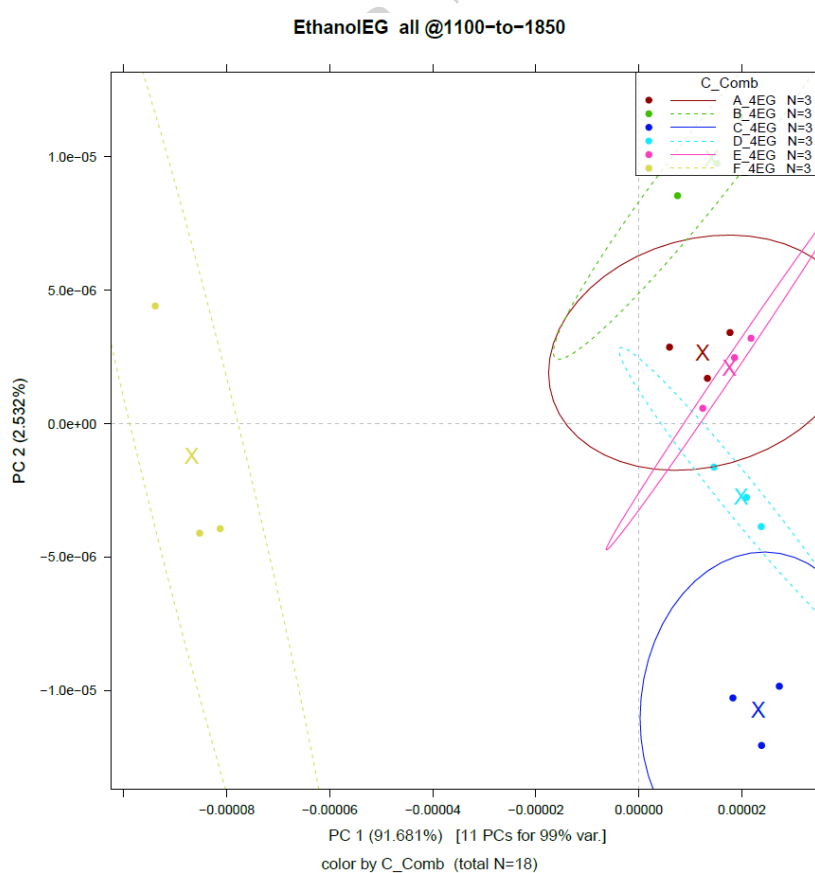


12. ábra A minták csoportosulása főkomponens analízis során, pontok (minták) alkohol koncentráció szerint színezve (30: 3 V/V%, 60: 6 V/V%, 120: 12 V/V%)

Kifejtésben főként a 12 V/V%-os oldatokra koncentrálok a továbbiakban, mivel az áll a legközelebb a borok alkohol tartalmához. A következő ábrákon a 4-etil-gvajakol és 4-etil-fenol főkomponens analízise látható, a 12 V/V%-os alkoholos oldatban. Mivel itt két különböző íz- és illathibát okozó vegyületet vizsgáltunk, három különböző alkohol tartalmú oldatban, kevesebb adat áll rendelkezésünkre, ugyan úgy háromszor mértünk le egy mintát mint az ecetsav mérésénél. Látható is a **13.ábrán** és **14.ábrán**, hogy kevesebb munkapontunk van, viszont a párhuzamos mérések szép csoportokat alkotnak.

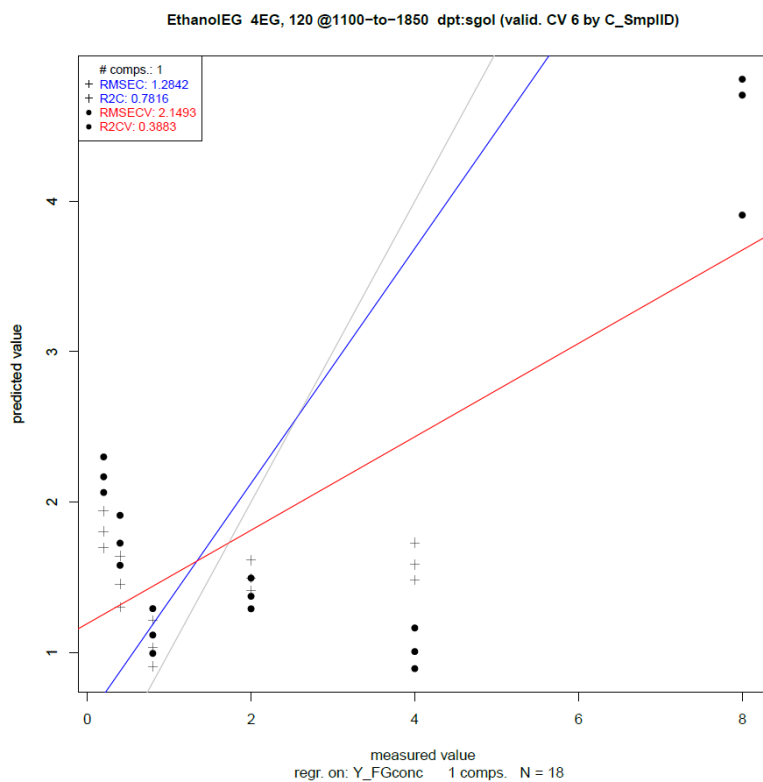


13. ábra Külön a 12 V/V%-os oldatban lévő 4-etil-fenol minták főkomponens analízise (pontos minta megnevezés jobb felül)

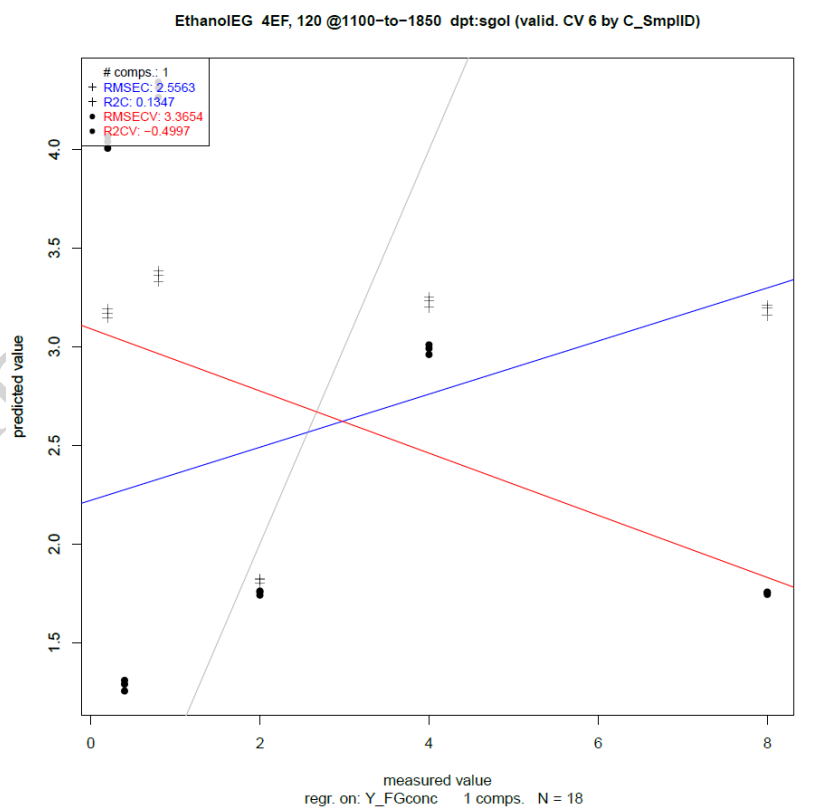


14. ábra Külön a 12 V/V%-os oldatban lévő 4-etil-gvajakol minták főkomponens analízise (pontos minta megnevezés jobb felül)

A következő lépésben PLS regressziót végeztem a 4-etil-gvajakol és 4-etil-fenol koncentráció becslésére 12 V/V%-os mintákon, amik a **15.ábrán** és **16.ábrán** láthatóak.

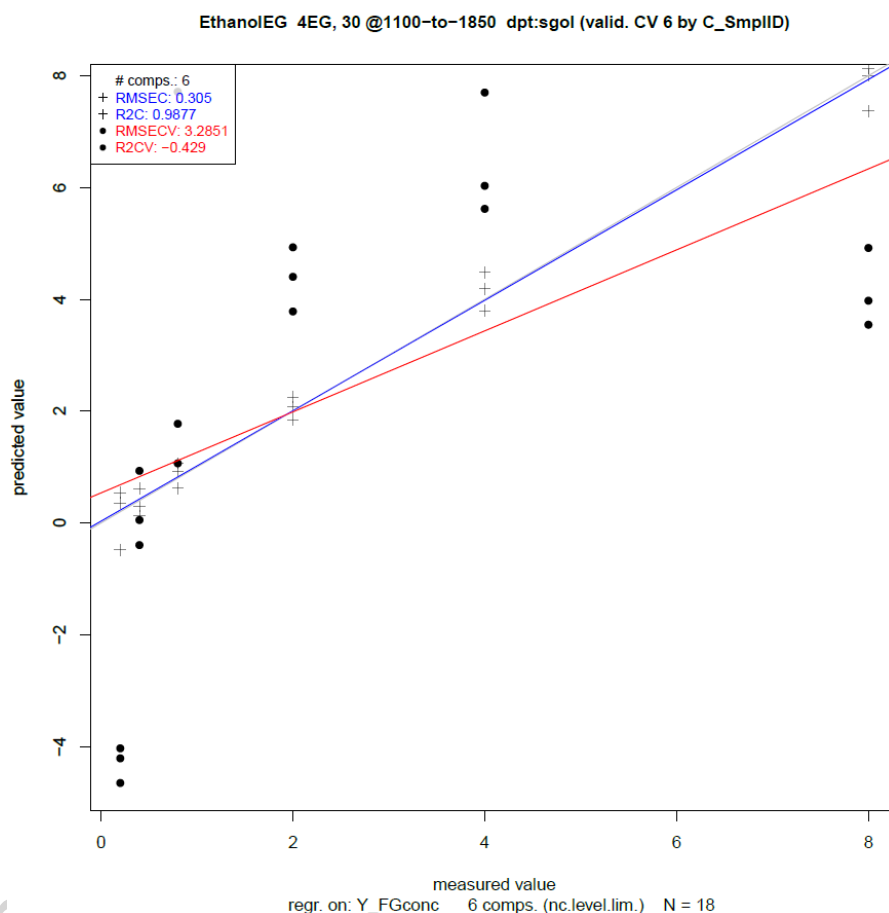


15. ábra A 4-etil-gvajakol 12 V/V%-os mintáinak PLS regressziója



16. ábra A 4-etil-fenol 12 V/V%-os mintáinak PLS regressziója

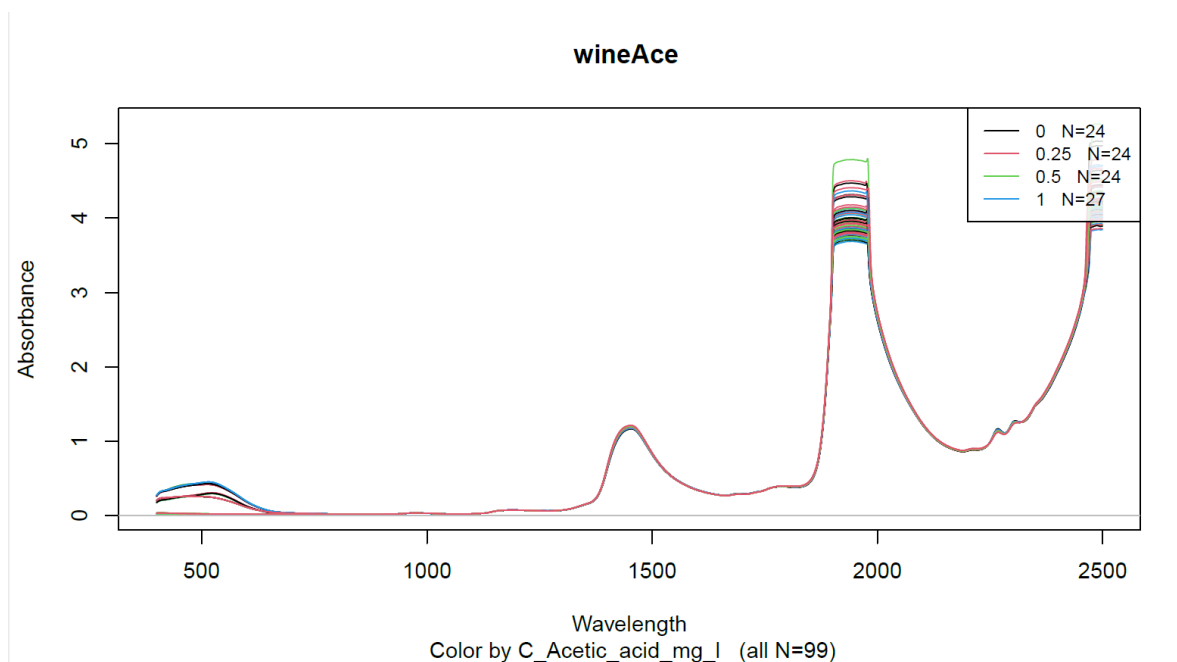
Ahogy az a grafikus megjelenítésen is látszik, ennél a kiértékelésnél a determinációs együttható nem közelíti meg az 1-et, tehát a modell nem mutat jó illeszkedést, nem alkalmas a vizsgált vegyületek pontos meghatározására. Ezzel szemben nem feltétlen mondhatjuk azt, hogy a közeli infravörös spektroszkópiával nem lehet kimutatni ezt a borbetegséghez köthető vegyületet, jelen eredményekből, csak azt lehet biztosan állítani, hogy kevés adatunk állt rendelkezésre a modell pontos felállításához. Sajnos a kisebb V/V%-os oldatoknál sem kaptunk ígéretesebb eredményt. A legjobb 4-etil-gvajakol kalibráció a **17.ábrán** látható, azonban a keresztvalidációban ez a modell is nagyon gyengén teljesített.



17. ábra A 4-etil-gvajakol 3 V/V%-os mintáinak PLS regressziója

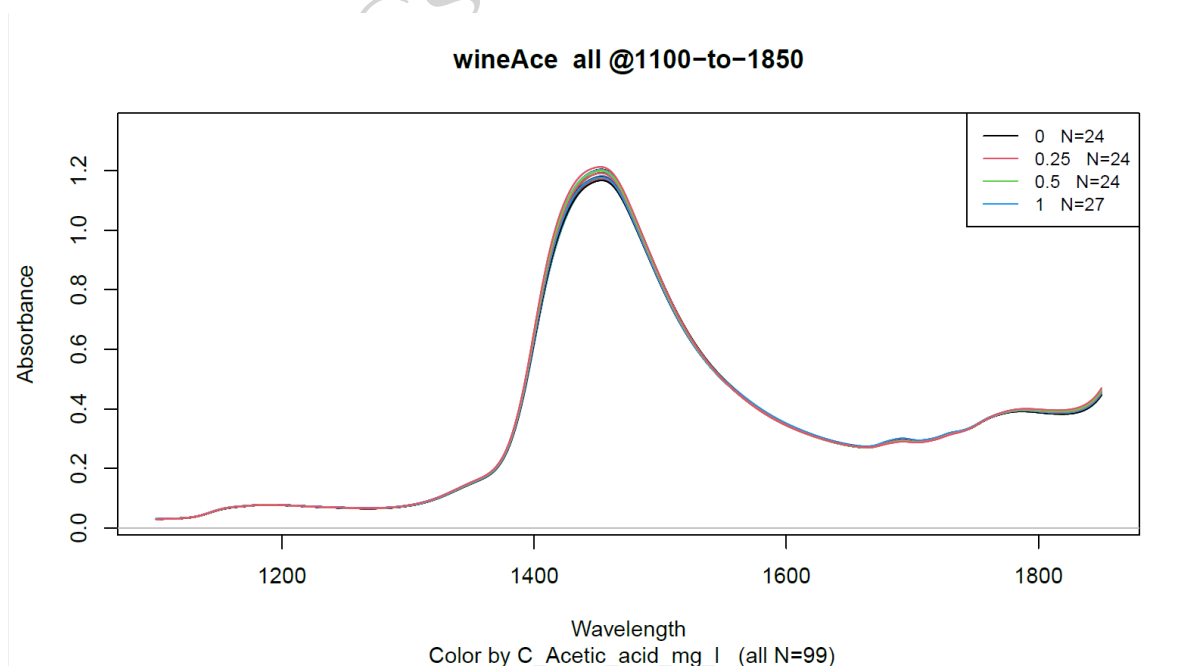
5.2. Az ecetsav kimutatása

A tiszta és ecetsavval szennyezett borminták nyers spektrumait a **18.ábra** szemlélteti.



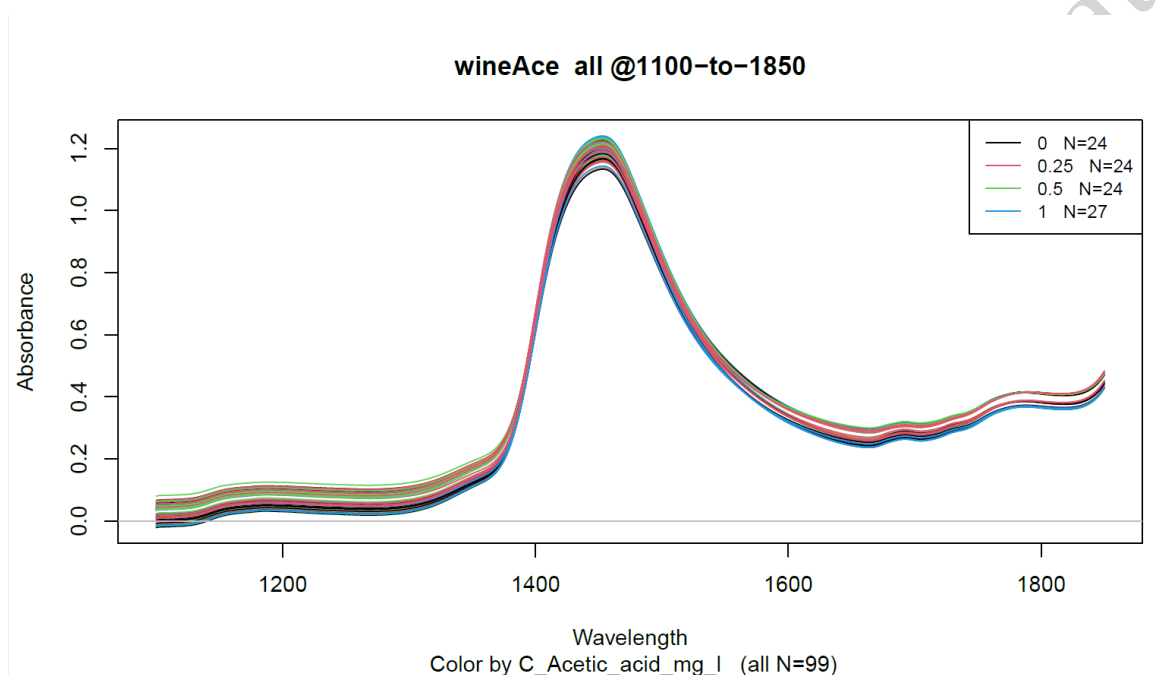
18. ábra Tiszta és ecetsavval szennyezett borminták nyers NIR spektrumai a 400-2500 nm-es hullámhossztartományban, spektrumok ecetsav koncentráció szerint színezve (0: 0 g/l; 0,25: 0,25 g/l; 0,5: 0,5 g/l; 1: 1 g/l)

Ahogy azt a **(18.ábra)** spektrumokon látni, a közeli infravörös tartomány két szélén igen zajos a jel, még az azonos minták párhuzamos méréseinél is nagy eltérések vannak a 2000 nm-hez közeli hullámhosszon. Emiatt a probléma miatt ebben az esetben is csak az 1100 nm és 1850 nm közötti adatokkal dolgozunk **(19.ábra)**.



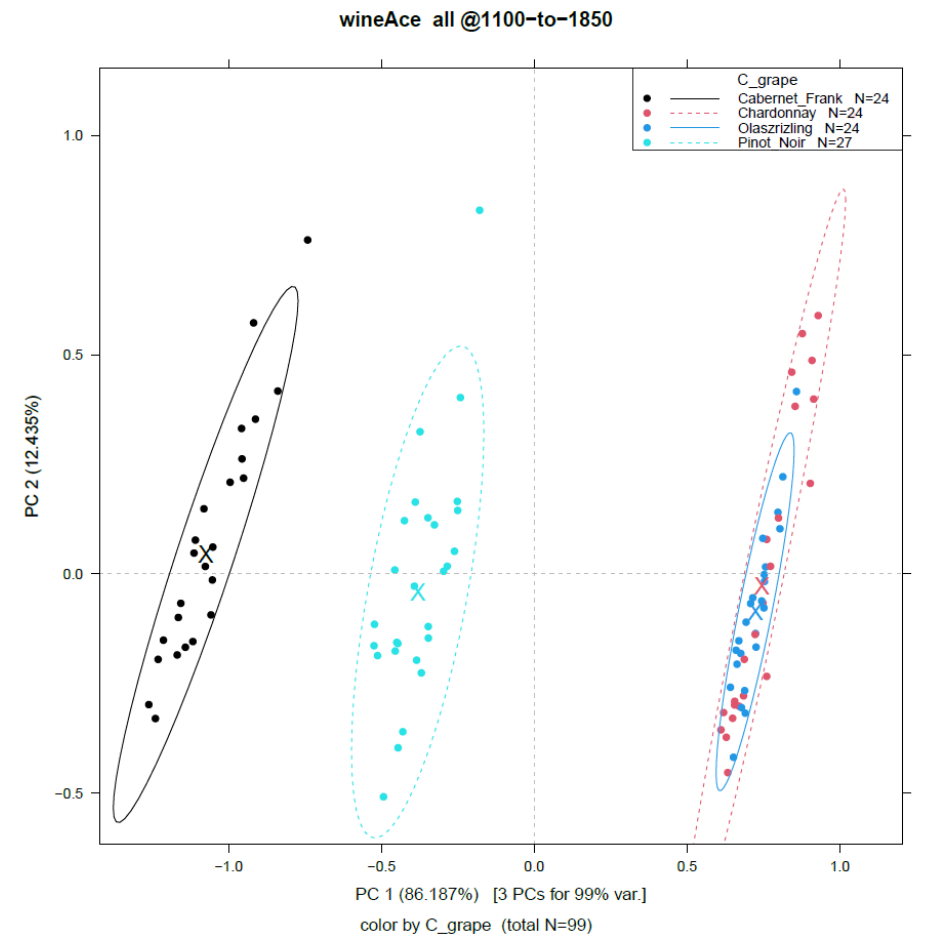
19. ábra Tiszta és ecetsavval szennyezett borminták nyers NIR spektrumai a 1100-1850 nm-es hullámhossztartományban spektrumok ecetsav koncentráció szerint színezve (0: 0 g/l; 0,25: 0,25 g/l; 0,5: 0,5 g/l; 1: 1 g/l)

Ahogy a **19.ábrán** látni, így, hogy lecsökkentettük a hullámhossz tartományt, kivágtuk a vizsgálandó spektrumból az erősen változó adatokat, amik hibát eredményeztek volna. Ezután eltávolítottuk a minták közül a környezeti kontroll mintákat. Miután ezt megtettük, a spektrumot kétféle kezelésnek vetettük alá, az egyik a „Savitzky-Golay simítás”, ami a spektrumunkat simítja, így kevesebb lesz a zaj az adatainkban. Ezután elvégeztük a többszörös szórás-korrekción (MSC)-t ami összerendezi a spektrumokat, megszünteti a spektrumok egymáshoz viszonyított eltolódását. A **20.ábrán** látható, hogy mennyire szép elkülönülés alakul ki a minták között.



20. ábra A tiszta és ecetsavval szennyezett minták spektruma 1100 nm és 1850 nm között, Savitzky-Golay simítás és többszörös szórás-korrekción után spektrumok ecetsav koncentráció szerint színezve (0: 0 g/l; 0,25: 0,25 g/l; 0,5: 0,5 g/l; 1: 1 g/l)

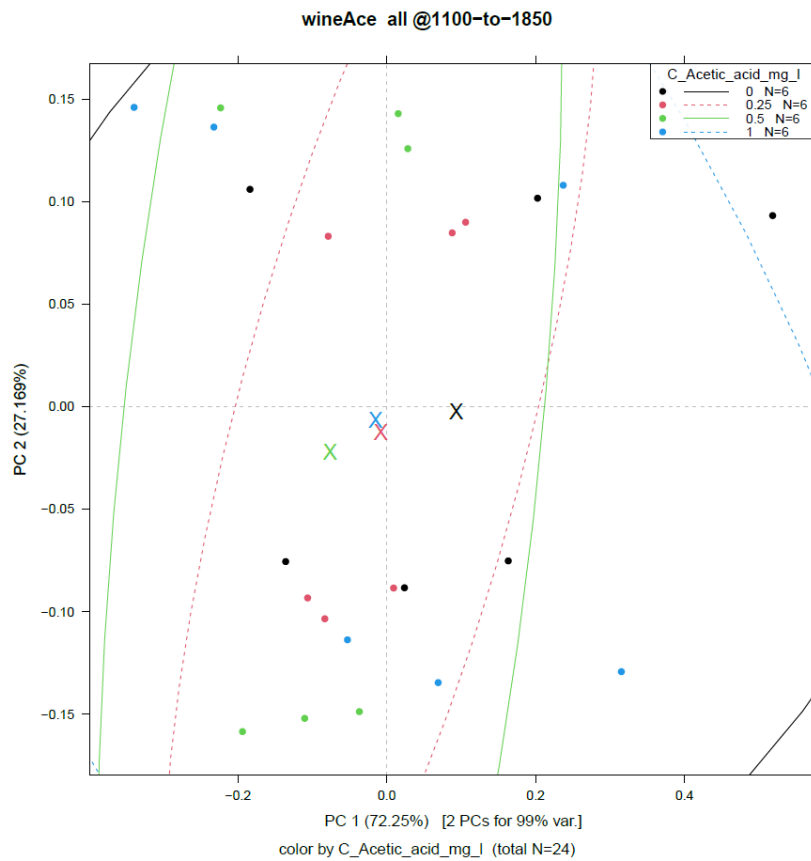
Miután a spektrumokat kezeltem, a következő lépésként főkomponens analízist (PCA) készítettem az adatokkal, eleinte az összes adattal készítettem egy főkomponens analízist, viszont itt még túlságosan sok változó volt, mivel 8 különböző borral dolgoztunk, ami nem lenne túlságosan nagy probléma, de a 8 bor 4 különböző szőlőből készült, mindegyik külön-
külön évjárat és más-más termelőtől volt. A **21.ábrán** látható a PCA eredménye.



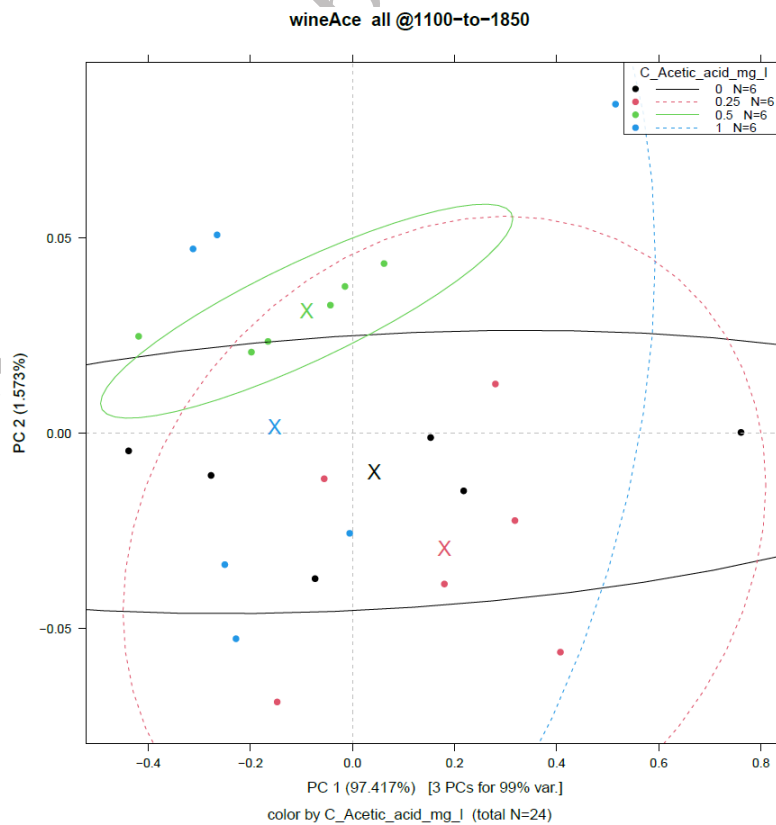
21. ábra Tiszta és ecetsavval szennyezett borminták NIR spektrumainak, az 1100-1850 nm-es hullámhossztartományban végzett főkomponens elemzés eredménye borfajták szerinti színezéssel

Ahogy azt a **21.ábra** mutatja, a főkomponens analízis segítségével nagyon szépen elkülönülnek a szőlőfajták, illetve a 8 fajta borból le lehet szűkíteni 4 fajta borra, hiába a gyártó különböző, a szőlőfajták külön csoportokat alkotnak. Illetve azt is látni, hogy a fehérbor és vörösbor is szépen elkülönül. A jobb oldalon lévő kék és piros csoport a fehérborokhoz tartozik, a baloldalon lévő fekete és cian csoport pedig a vörösborokhoz tartozik. Így vizsgálhatjuk az ecetsav tartalmat a különböző szőlőből készült borokban. Ezáltal több adatból is dolgozhatunk, illetve logikus, hogy nem egy-egy évjáratnak vagy pincészetnek a boraira határozzuk meg a kimutathatósságot. Ahogy az előzőekben említettem, minél több adat áll rendelkezésünkre, annál pontosabb a módszer, értelmetlen lenne, ha minden évjáratra új adatbázist kellene létrehozni. Tehát a szőlőtípusok boraira szűkíttem le a vizsgálatot.

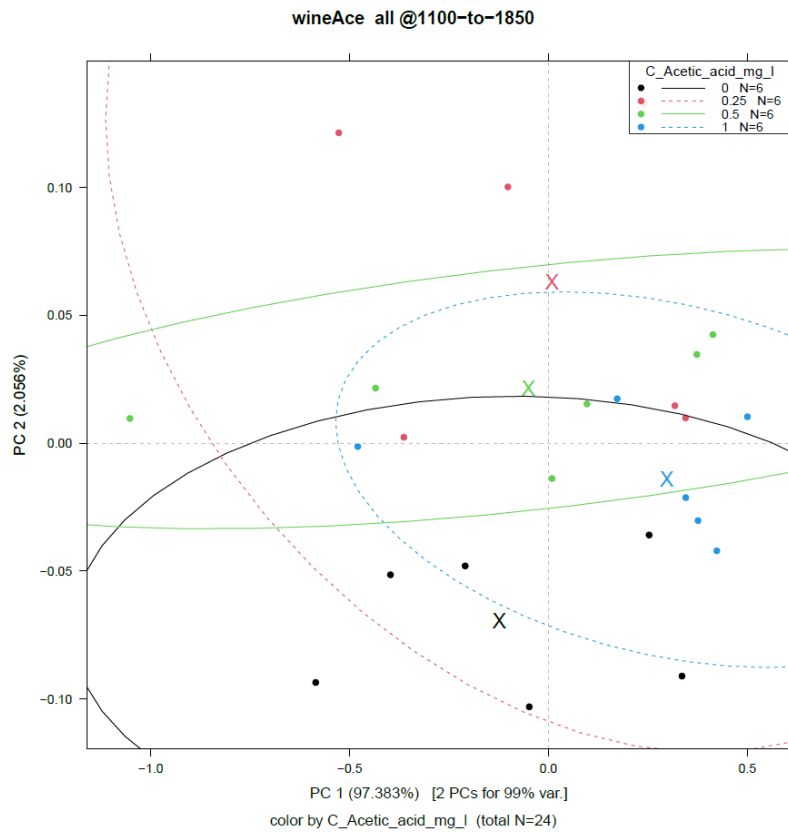
A következő lépésben, ugyanúgy főkomponens analízist fogok elvégezni, a különböző borokra, és az ecetsav koncentrációk szerint próbálok csoportokat létrehozni. A **22.ábra** (Olaszrizling), **23.ábra** (Cabernet Frank), **24.ábra** (Chardonnay) és **25.ábra** (Pinot Noir).



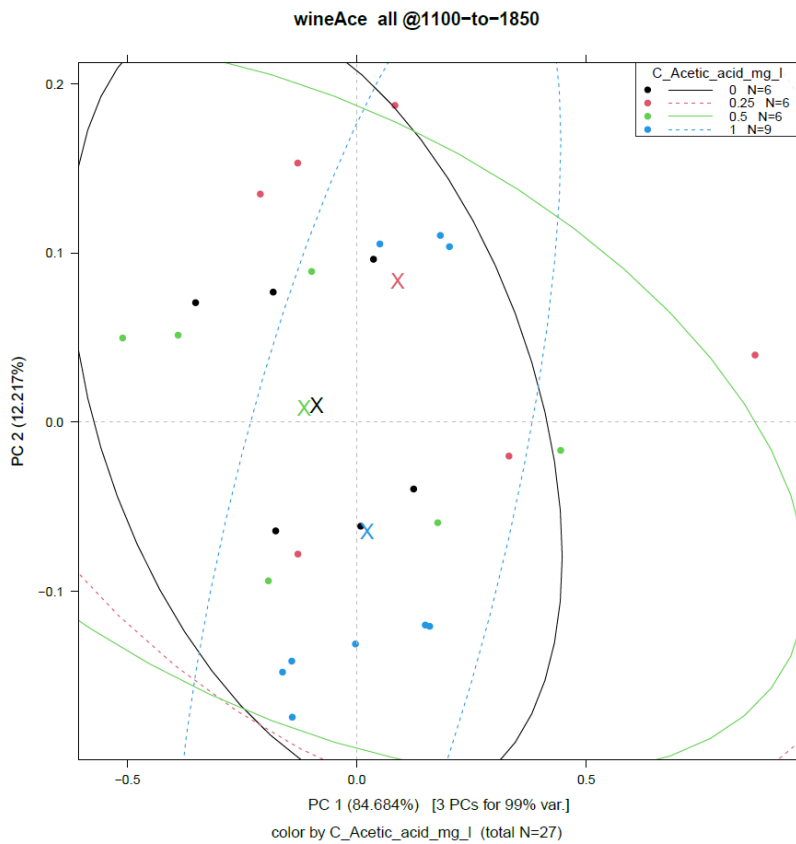
22. ábra Olaszrizling borminták főkomponens elemzése, ecetsav koncentráció szerinti színezéssel (0: 0 g/l; 0,25: 0,25 g/l; 0,5: 0,5 g/l; 1: 1 g/l)



23. ábra Cabernet Frank borminták főkomponens elemzése, ecetsav koncentráció szerinti színezéssel (0: 0 g/l; 0,25: 0,25 g/l; 0,5: 0,5 g/l; 1: 1 g/l)

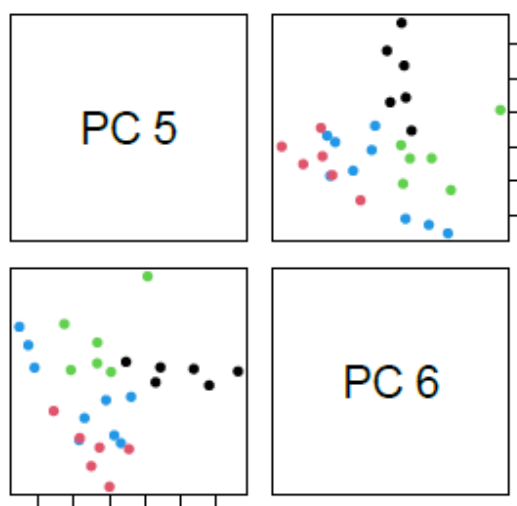


24. ábra Chardonnay borminták főkomponens elemzése, ecetsav koncentráció szerinti színezéssel (0: 0 g/l; 0,25: 0,25 g/l; 0,5: 0,5 g/l; 1: 1 g/l)



25. ábra Pinot Noir borminták főkomponens elemzése, ecetsav koncentráció szerinti színezéssel (0: 0 g/l; 0,25: 0,25 g/l; 0,5: 0,5 g/l; 1: 1 g/l)

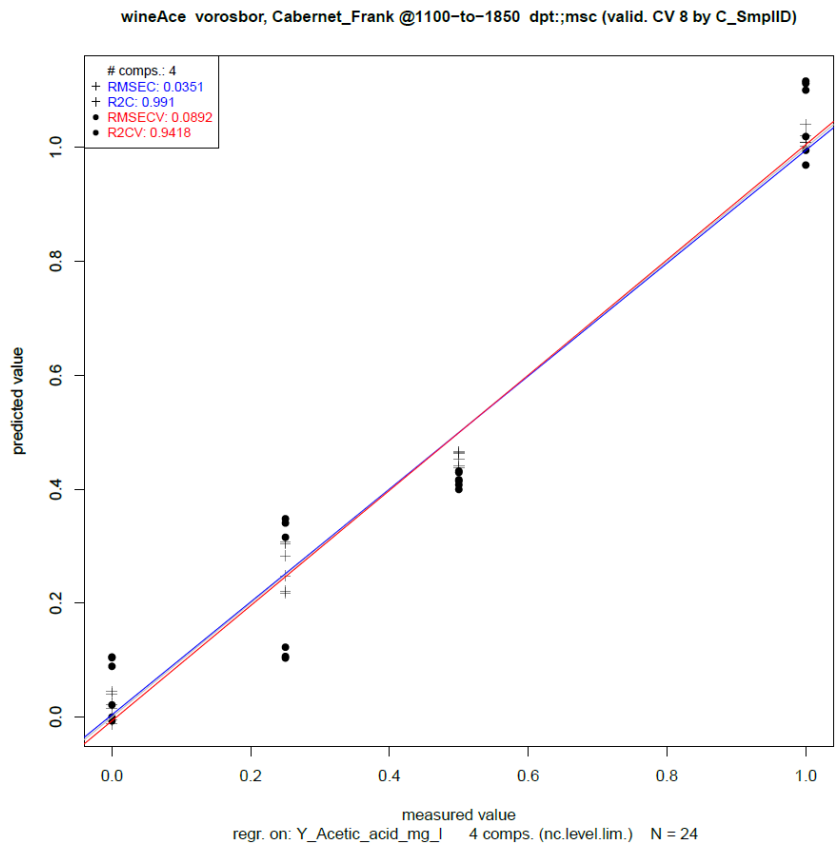
Ezek az ábrák látni, hogy nincs olyan egyértelmű csoportképzés, mint a szőlőfajták esetében (21. ábra). Mindazonáltal, ezek a képek csak az első és második főkomponens szerint képzett csoportokat mutatják, tehát ezek az eredmények nem igazolják, hogy nincs összefüggés az ecetsav koncentráció változása és a spektrális értékek változása között. A 26. ábra a Pinot Noir 5. és 6. főkomponense szerinti csoportosulást mutatja, amin látható koncentrációk szerinti csoportosulás, még ha nem is élesen.



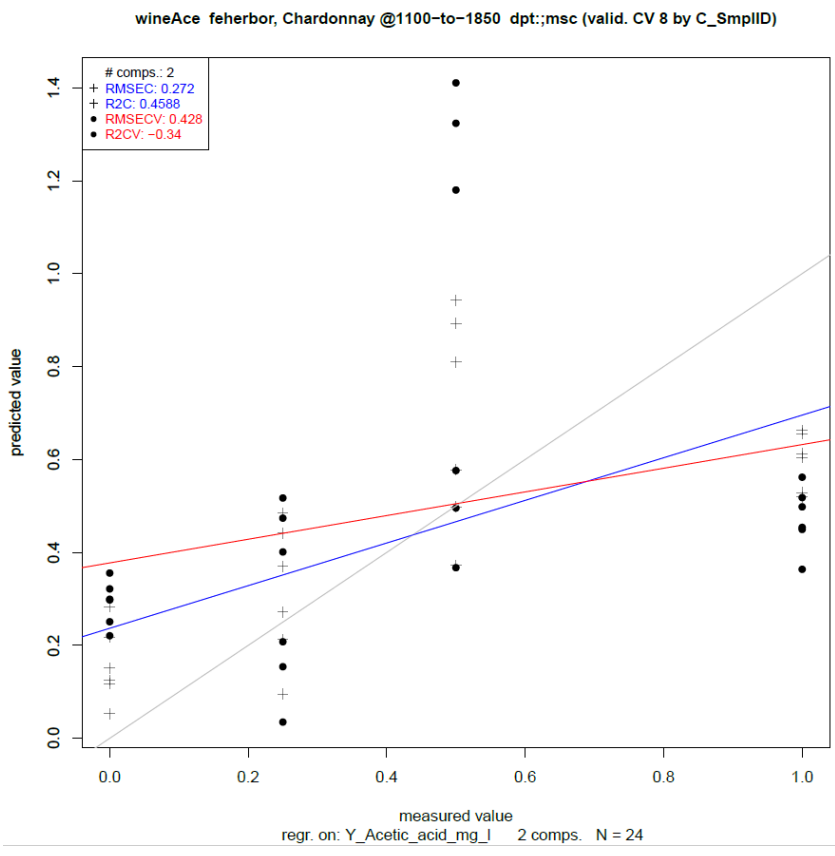
26. ábra Pinot Noir 5-6 főkomponens szerinti csoportosulás, ecetsav koncentráció alapján színezve (fekete: 0 g/l; piros: 0,25 g/l; zöld: 0,5 g/l; kék: 1 g/l)

A többi szőlőfajtából készült bornál is hasonló csoportosulásokat figyelhetünk meg, a magasabb főkomponensekre nézve.

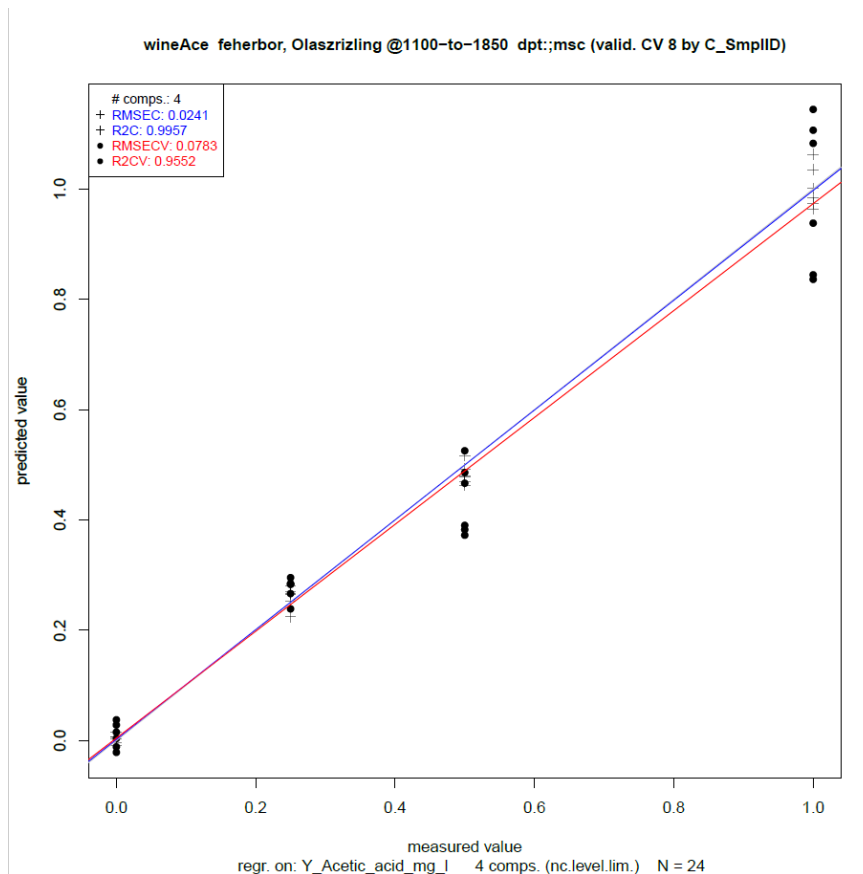
A főkomponens elemzések után láthattuk, hogy még ha nem is élesen elkülönülve, de alkotnak csoportokat a különböző koncentrációjú ecetsavas minták. Ezt követően az alkoholos oldatoknál alkalmazottakhoz hasonlóan PLS regressziót hajtottunk végre a különböző szőlőfajták borain az ecetsav koncentráció NIRS alapú becslhetőségének megállapítására. Ezek láthatók a következő ábrákon.



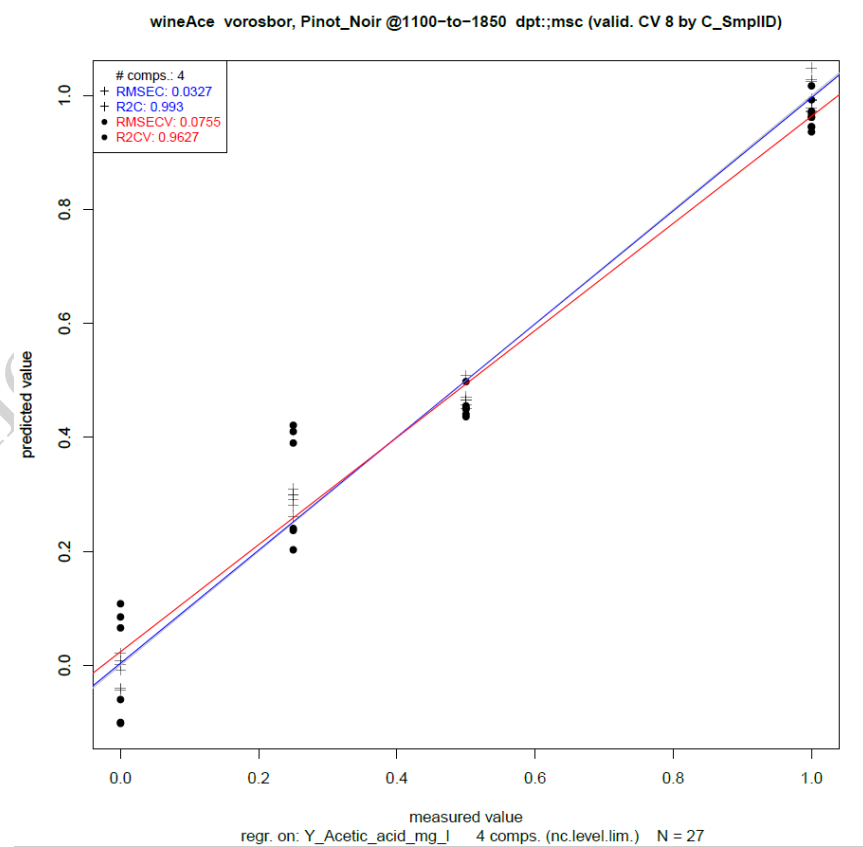
27. ábra Cabernet Frank borminták PLS regressziója ecetsav becslésre



28. ábra Chardonnay borminták PLS regressziója ecetsav becslésre



29. ábra Olaszrizling borminták PLS regressziója ecetsav becslésre



30. ábra Pinot Noir borminták PLS regressziója ecetsav becslésre

A **28.ábra** (Chardonnay) kivételével, mindegyik bornál 1-hez közeli a determinációs együttható értéke, ami a kapott modell kapcsolatának szorosságát mutatja az ecetsav becslésre vonatkozóan. Az RMSE az átlagos becslési hibát mutatja. Tehát a **27.ábra** (Cabernet Frank) bormintánál 0,0890 g/l az átlagos becslési hiba, míg a **29.ábra** (Olaszrizling) mintánál 0,0785 g/l és **30.ábra** (Pinot Noir) esetében 0,0755 g/l a becslési hiba. A Chardonnay esetében több ok miatt is kaphattunk gyengébb becslésre alkalmas modellt, többek között a minták számából adódóan lehet pontatlan a modell, illetve az is lehetséges, hogy a Chardonnay boroknál a mátrix jobban megnehezíti a mérést ecetsavra nézve. Másodlagosan az is elképzelhető, hogy valamilyen mérési hiba történt, de ez minimális, mivel minden bormintát együtt mértem, és a többi bor esetében szép eredmények születtek.

6. Összefoglalás

A piaci igények és gazdasági szempontok miatt gyors, egyszerű és költséghatékony kimutatási módszerekre van szükség az élelmiszerek minősítésében. Főleg a borászatban, aminek nagy történelmi és szellemi értéke van, fontos, hogy ismerjük a bor minőségét. Léteznek már egyszerű, hordozható közeli infravörös spektroszkópok, tehát a lehetőség adott, hogy ezt a már széleskörben használt, vegyszert nem igénylő technikát borok hibáit okozó vegyületek kimutatására használjuk.

A szakdolgozat készítése során arra a következtetésre jutottam, hogy a közeli infravörös spektroszkópia alkalmas lehet ecetsav kimutatására borokban. Több mérés szükséges a módszer pontosításához, mivel a módszer annál pontosabb, minél több adat áll rendelkezésére. Azt is sejtetik az adatok, hogy ugyan azon szőlőfajtákból készült borok, még ha nem is azonos évjáratúak, képezhetnek egy adatbázist.

A 4-etil-fenol és 4-etil-gvajakol borbetegségekhez köthető vegyületeket jelen adatokra alapozott NIRS alapú modellekkel nem lehetett nagy pontossággal becsülni alkoholos-vizes oldatokban. Mindazonáltal érdemes lenne leszűkíteni az alkohol tartalmat a borok átlagos alkohol tartalmához közeli mintákra és több adatpontból dolgozni.

Irodalomjegyzék

- Andreánszky, G. (1951): Adatok a hazai harmadkori flóra ismeretéhez.
- Benes, E. (2021). Közeli infravörös spektroszkópia alapjai (Korszerű analitikai módszerek előadás anyag).
- Caboni, P., Sarais, G., Cabras, M., & Angioni, A. (2007). Determination of 4-ethylphenol and 4-ethylguaiacol in wines by LC-MS-MS and HPLC-DAD-fluorescence. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(18), 7288–7293. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf071156m>
- Csikor, Z., Pusztai, É., & Barátossy, G. (2018). Statistical evaluation of 4-ethylphenol and 4-ethylguaiacol concentrations to support sensory evaluation of “Brett character” of wines: A proposed threshold. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 62(4), 450–456. DOI: <https://doi.org/10.3311/PPch.12857>
- Gauglitz, G. (Günter), & Moore, D. S. (2014). *Handbook of spectroscopy*. Wiley-VCH
https://books.google.com/books/about/Handbook_of_Spectroscopy.html?hl=hu&id=WhaKAwAAQBAJ
- Hajós, G. (2017): Kémiai Panoráma 18. Szám, 20–28. http://real-j.mtak.hu/11295/1/KamiaiPanorama_No18.pdf
- Kakkar, R. (2015): *Atomic and molecular spectroscopy : basic concepts and applications*. 415. Cambridge university press
https://books.google.com/books/about/Atomic_and_Molecular_Spectroscopy.html?hl=hu&id=aMnSCQAAQBAJ
- Kállay, M. (2010): *Borászati kémia (Á. Wenzky & L. Balog, Eds.)*. Mezőgazda Kiadó.
- Karácsonyi, J. (1904). *Szent István király élete*. Szent-István-Társulat.
- Kozma, P. (1995). *A szőlő- és borkultúra története Magyarországon (Á. Aranyossy & J. Balla, Eds.)*. Magyar Bor Akadémia-Mezőgazda Kiadó.
- Liu, L., Cozzolino, D., Cynkar, W. U., Damberg, R. G., Janik, L., O'Neill, B. K., Colby, C. B., & Gishen, M. (2008). Preliminary study on the application of visible-near infrared spectroscopy and chemometrics to classify Riesling wines from different countries. *Food Chemistry*, 106(2), 781–786. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.015>
- Mabood, F., Boqué, R., Alkindi, A. Y., Al-Harrasi, A., al Amri, I. S., Boukra, S., Jabeen, F., Hussain, J., Abbas, G., Naureen, Z., Haq, Q. M. I., Shah, H. H., Khan, A., Khalaf, S. K., & Kadim, I. (2020). Fast detection and quantification of pork

meat in other meats by reflectance FT-NIR spectroscopy and multivariate analysis. *Meat Science*, 163. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108084>

- Martelo-Vidal, M. J., & Vázquez, M. (2014). Determination of polyphenolic compounds of red wines by UV–VIS–NIR spectroscopy and chemometrics tools. *Food Chemistry*, 158, 28–34. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.02.080>
- Mészáros, G. (2023). A magyar bor története. <https://bor.hu/a-magyar-bor-tortenete>
- Murányi, Z., & Oldal, V. (2012): *Borászati Analitika*. Eszterházy Károly Főiskola
- NÉBIH. (2023). Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Borásza és Alkoholos Italok Igazgatóság. <https://portal.nebih.gov.hu/-/borhibakrol-es-borbetegsegekrol>
- NÉBIH, B. és A. I. I. (2017). Borászati termékek NÉBIH kiadványok. https://portal.nebih.gov.hu/documents/10182/1166172/Boraszati_termek_2017.pdf/b7cc9c20-1c67-84de-b85f-00972b869180
- Pastorkova, E., Zakova, T., Landa, P., Novakova, J., Vadlejch, J., & Kokoska, L. (2013). Growth inhibitory effect of grape phenolics against wine spoilage yeasts and acetic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 161(3), 209–213. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.12.018>
- Rohály, G., Mészáros, Gabriella., Nagymarosy, A., & Lengyel, P. (2003). *Terra benedicta : the land of Hungarian wine : Tokaj and beyond*. 247. Akó https://books.google.com/books/about/Terra_Benedicta.html?hl=hu&id=ktHJtgAACAAJ
- Stur Von D. (1867). *Beiträge zur Kenntniss der Flora, der Süßwasserquarze, der Congerien- und Cerithien-Schichten im Wiener und ungarischen Becken.*: Vol. XVII.
- Summerson, V., Viejo, C. G., Pang, A., Torrico, D. D., & Fuentes, S. (2021). Review of the effects of grapevine smoke exposure and technologies to assess smoke contamination and taint in grapes and wine. In *Beverages* (Vol. 7, Issue 1, pp. 1–21). MDPI AG. DOI: <https://doi.org/10.3390/beverages7010007>
- Véstia, J., Barroso, J. M., Ferreira, H., Gaspar, L., & Rato, A. E. (2019). Predicting calcium in grape must and base wine by FT-NIR spectroscopy. *Food Chemistry*, 276, 71–76. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.09.116>
- Wang, Y., Li, M., Li, L., Ning, J., & Zhang, Z. (2021). Green analytical assay for the quality assessment of tea by using pocket-sized NIR spectrometer. *Food Chemistry*, 345, 128816. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.128816>

- Zoecklein, B. W., Fugelsang, K. C., Gump, B. H., & Nury, F. S. (1995). Volatile Acidity. Wine Analysis and Production, 192–198. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4757-6978-4_11

Kinczel Csaba Szakdolgozat

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom a konzulenseim, név szerint Dr. Kovács Zoltán és Dr. Bázár György irányába, akik odaadó munkájukkal támogatták a kutatásom sikerességét és szakdolgozatom létrejöttét. Valamint biztosították a dolgozatom elkészüléséhez szükséges eszközöket!

Ezen túl szeretnék köszönetet mondani az Élelmiszeripari Méréstechnika és Automatizálás Tanszék dolgozóinak.

Minden tanáromnak hálás vagyok, akik tanítottak az évek folyamán, és az átadott tudásukkal lehetővé tették, hogy egy szakmai hangvételű szakdolgozatot képes legyek összeállítani.

Kinczel Csaba Szakdolgozat

NYILATKOZAT

A szakdolgozatnyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Kinczel Csaba
A Hallgató Neptun kódja: KEOEIQ
A dolgozat címe: Borbetegségekhez köthető vegyületek NIR
módszerrel való kimutathatósága
A megjelenés éve: 2023
A konzulens tanszék neve: Élelmiszeripari Méréstechnika és Automatizálás
Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, s az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a Záróvizsgabizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe.

Kelt: Budapest 2023 év 5 hó 3 nap



Hallgató aláírása
Kinczel Csaba

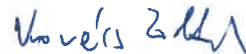
KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

Kinczel Csaba (hallgató Neptun azonosítója: KEOEIQ) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A szakdolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem²

Kelt: Budapest 2023 év 5 hó 2 nap



Belső konzulens
Dr. Kovács Zoltán

¹ A megfelelő aláhúzendó.

² A megfelelő aláhúzendó.