

**SZAKDOLGOZAT**

Bolbás Ildikó

Bolbás Ildikó  
2023.

MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

SZŐLÉSZETI ÉS BORÁSZATI INTÉZET

BUDAPEST

Biogén amin koncentráció a csökkentett alkoholtartalmú borokban

Bolbás Ildikó

Szőlész-borász mérnök

Készült a Borászati Tanszéken

Közreműködő tanszék(ek):

Tanszéki konzulens: Steckl Szabina

Konzulens(ek):

Bírálok:

Budapest, 2023. május 9.

*Steckl Szabina*

\_\_\_\_\_  
tanszékvezető/szakirányfelelős

\_\_\_\_\_  
konzulens

## Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	4
2. Célkitűzés.....	5
3. Irodalmi áttekintés .....	6
3.1. Mustok és borok biogén amint összetétele .....	6
3.1.1. A hisztamin jellemzői.....	9
3.1.2. Szerotonin jellemzői .....	11
3.1.3. A tiramin jellemzői .....	11
3.2. A <i>Saccharomyces</i> és nem- <i>Saccharomyces</i> élesztők szerepe.....	12
3.3. Az Alkoholos erjedés .....	14
3.3.1. Tejsav, mint másodlagos erjedési termék.....	15
4. Anyag és módszer.....	16
4.1. Vizsgálati anyag .....	16
4.2. Vizsgálati módszer .....	18
4.3. Kísérleti tematika .....	20
5. Eredmények .....	21
5.1. A titrálhatóság tartalom és pH érték kiértékelése .....	21
5.2. Az almasav, tejsav és borkősav tartalom kiértékelése .....	21
5.3. Az alkoholtartalom kiértékelése.....	23
5.4. A borok maradék cukortartalmának kiértékelése .....	23
5.6. A glicerin koncentráció .....	24
5.7. A vizsgált borok biogén amin tartalma.....	25
5.7.1. A vizsgált borok hisztamin tartalma.....	25
5.7.2 A vizsgált borok tiramin tartalma .....	25
5.7.3 A vizsgált borok szerotonin tartalma .....	26
6. Következtetések .....	27
7. Összefoglalás .....	29
Irodalomjegyzék .....	30
Ábrajegyzék.....	33

## 1. Bevezetés

Hazánkban a borfogyasztás hosszú idő óta nagy népszerűségnek örvend. Az elmúlt két évtizedben egyre inkább előtérbe kerültek a magas élvezeti értékkel bíró, a minőségi fogyasztás irányába mutató termékek. Az egészséges táplálkozással kapcsolatos elvárások is felerősödtek, magukkal hozva a vegán, illetve a természetes módon készült borok iránti keresletet. Ennek egyik oka lehet a környezettudatosabb gondolkodásmód. A vegán életmódra áttérők ma már nem csupán egészségmegőrzési szempontok alapján döntenek így, igyekeznek figyelembe venni a termékek előállításának környezetre tett befolyását is. Ezért a vegán táplálkozás nem feltétlenül jár együtt az élvezeti szerek elhagyásával, viszont megköveteli, hogy az elfogyasztott bármilyen élelmiszer megfeleljen ezen kívánalmaknak.

Másrészt szerepet játszik a civilizációs ártalmak hatására egyre gyakrabban diagnosztizált, bizonyos összetevőkkel szembeni intolerancia. Számos fogyasztó részesíti előnyben a természetes módon, kén hozzáadása nélkül készült borokat, ugyanis egyeseknél - bizonyítottan, vagy sem - a kén bevitel fejfájást, rossz közérzetet okoz. A tudományos fejlődés ma már lehetővé teszi, hogy bizonyos negatív élettani hatások háttérében álló okokat új módszereket igénybe véve tudjunk vizsgálni. Ennek köszönhetően egyre több kutatás áll rendelkezésre a biogén aminokkal, illetve az általuk okozott esetleges káros hatásokkal kapcsolatban. Bár ezek a vegyületek természetes módon megtalálhatók az élő szervezetben, felhalmozódásuk, túlzásba vitt fogyasztásuk egészségügyi problémákat eredményezhet az arra érzékenyeknél.

Érdemes azonban a biogén aminokat egy olyan, szintén feltörekvő borászati termékben vizsgálni, mint a csökkentett alkoholtartalmú bor. Az éghajlatváltozás miatt ugyanis egyre magasabb alkoholtartalmú tételek kerülnek forgalomba, ami csökkentheti a termék élvezeti értékét, illetve egyre több fogyasztó érdeklődik a cukros üdítőitalok helyett az egyébként alkoholos italok alkoholmentesített vagy alacsonyabb alkoholtartalmú változata iránt. A csökkentett alkoholtartalmú borok piaca egyelőre gyerekcipőben jár hazánkban, de vélhetően hamarosan nem csak kísérleti mennyiségben kerülnek majd előállításra.

Szakdolgozatomban kitérek a borok biogén amin tartalmára általánosságban, néhány, borászati szempontból jelentős amin tulajdonságára és képződésük lehetséges formáira. Bemutatom a csökkentett alkoholtartalmú borok előállításának lehetőségeit, továbbá egy kísérleten keresztül ismertetem a csökkentett alkoholtartalmú borok összetételét, kitérve legfőképpen ezen borok a biogén amin tartalmára.

## 2. Célkitűzés

A biogén aminokkal, illetve a borok biogén amin tartalmával kapcsolatban viszonylag széleskörű kutatási anyag áll rendelkezésre, illetve a bor alkoholtartalmának csökkentésére irányuló kísérletek is megfelelően dokumentáltak, azonban a csökkentett alkoholtartalmú borok biogén amin összetételével kapcsolatban nem áll rendelkezésre elegendő publikáció. E mellett nem elhanyagolható szempont megvizsgálni a csökkentett alkoholtartalmú borok egyéb összetevőit sem, amik nagyban befolyásolják a bor élvezeti értékét.

Szakdolgozatom célja a csökkentett alkoholtartalmú borok biogén amin koncentrációjának vizsgálata volt, mellyel a következő kérdésekre kerestem a választ:

- Befolyásolja-e a készítés módja a biogén amin tartalmat? Ha igen, milyen irányban? Az átlagosnál több, vagy kevesebb biogén amin található a csökkentett alkoholtartalmú borokban, különös tekintettel a hisztamin, tiramin és szerotonin mennyiségére?
- Előállítható vajon alacsony alkoholtartalmú bor úgy, hogy megőrizze a normál borok jellegzetességét, és biogén amin szintje az egészségügyi határértéket nem haladja meg?

A biogén amin koncentráció mellett az alkohol csökkentett borok alap- és finomanalitikai paraméterei is mérve lettek.

### 3. Irodalmi áttekintés

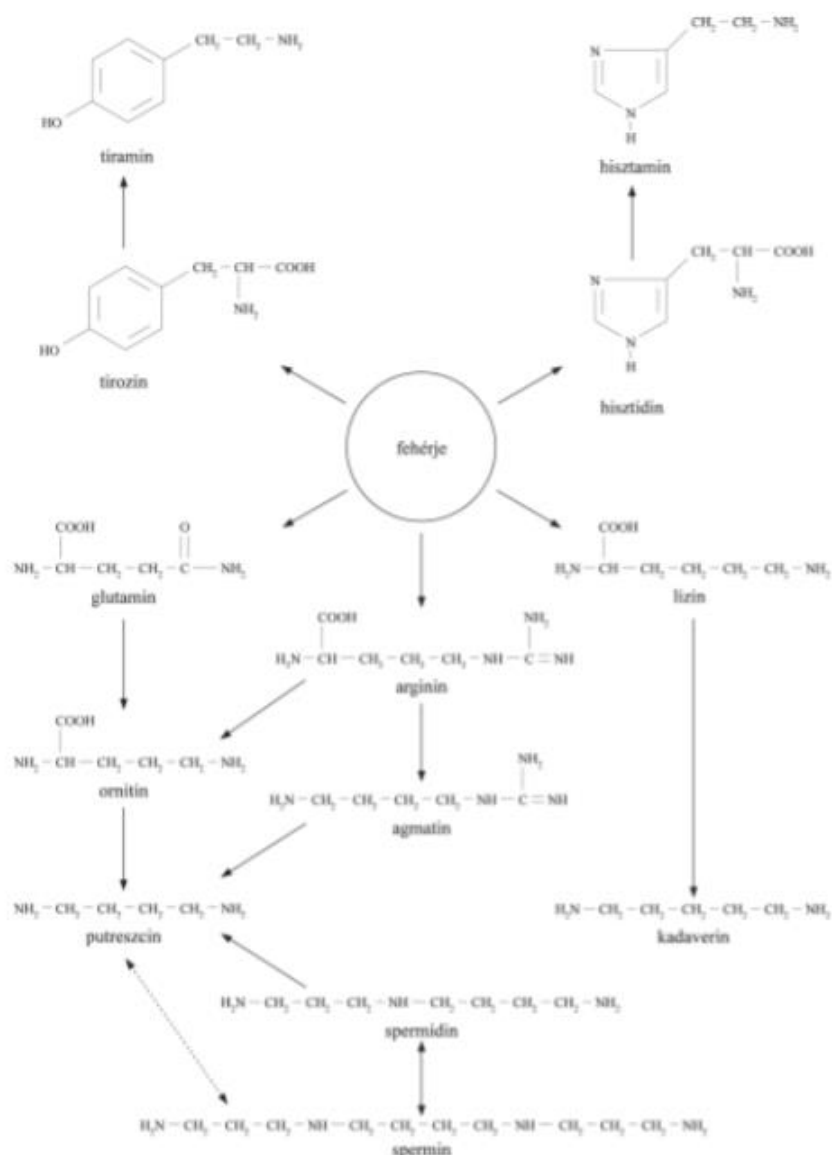
#### 3.1. Mustok és borok biogén amint összetétele

A biogén aminok kis molekulatömegű szerves bázisok. Fermentált élelmiszerekben és italokban képződhetnek baktériumok anyagcseretermékeként, specifikus aminosav dekarboxilázok aktivitása révén, vagy spontán kémiai reakció során. A biogén aminok jelenléte az élelmiszerekben alapvetően a nemkívánatos mikrobiális aktivitás indikátora. Bizonyos biogén aminok magas szintje összefügg az élelmiszerek romlásával vagy hibás előállításával. Általános egyetértés alakult ki azzal kapcsolatban, hogy toxikus hatásuk miatt megengedhetetlen a felhalmozódásuk az élelmiszerekben (Beneduce, et. al. 2010).

Minőségi és mennyiségi szempontból a legjelentősebb biogén aminok az élelmiszerekben és italokban a hisztamin, a tiramin, a putreszcin, a kadaverin és a  $\beta$ -fenil-etil-amin. Ezek a hisztidin, a tirozin, az ornitin, a lizin és a  $\beta$ -fenilalanin dekarboxilációjával keletkeznek (Lonvaud-Funel, 2001., Fernández et. al. 2006., Landete et. al. 2007). Számos élelmiszer-fermentáló tejsavbaktérium képes biogén amint előállítani. A képződő biogén amin mennyiségét és típusát nagymértékben befolyásolja az élelmiszerek összetétele, a mikrobiális flóra és egyéb olyan paraméterek, amik lehetővé teszik a baktériumok növekedését az élelmiszer feldolgozása és tárolása során. Ebből kifolyólag különböző szinteken lehet befolyásolni a tejsavbaktériumok biogén amin termelését az élelmiszer fermentáció alatt: a fermentáció gyakorlatát és a folyamatban szerepet játszó tényezőket is beleértve (Beneduce et. al. 2010).

A biogén aminok képződéséhez szükség van prekursorokra, vagyis aminosavakra, aminosav dekarboxilázzal rendelkező mikroorganizmusok jelenlétére, valamint a növekedésükhöz és a dekarboxilezéshez kedvező körülményekre (Arena et. al. 2008).

A prokarióta sejtekben a biogén amin szintézis fiziológiai szerepe a jelek szerint elsősorban a baktériumok által a savas környezetben való ellenálláshoz használt védelmi mechanizmusokhoz kapcsolódik. A savas stresszre adott válaszként történő biogén amin termelést széles körben tanulmányozták a kadaverin termelésére képes baktériumok kórokozóiiban (Rhee et. al. 2002., Lee et. al. 2007.). A dekarboxiláció, a protonok fogyasztása, valamint az aminok és a  $\text{CO}_2$  kiválasztása révén növeli a túlélést savas stresszkörülmények között, segítve a belső pH helyreállítását (van de Guchte et. al. 2002). A biogén amin termelés az energiaszerzés egyik módját is lehet. A dekarboxiláz-aktivitás, amelyet a tejsavbaktériumok a borfermentáció során előforduló savas környezetben mutatnak, szerepet játszhat az energiatermelés és a savas stressztűrés egy további mechanizmusának biztosításában (Beneduce et. al. 2010).



1. ábra: Biogén aminok képződésének lehetséges formái (Kép: Kállay Miklós, Borászati kémia, 2010.)

Bár a biogén aminok számos biológiai funkció ellátásában fontos szerepet játszanak, de túlzott fogyasztásuk toxikus hatású lehet. Elfogyasztásuk után a kis mennyiségű biogén amin az emberi bélrendszerben az amino-oxidázok (monoamino-oxidázok (MAO) és a diamin-oxidáz (DAO)) hatására fiziológiailag kevésbé aktív formává alakul át. A hisztamin metiltransferázok hatására metilálással, vagy acetilálással is detoxifikálható (Lehane, L. Olley, J. 2000). A magas biogén amin tartalmú élelmiszerek fogyasztása vagy a nem megfelelő méregtelenítés (genetikai okokból, egyes gyógyszerek, vagy az alkohol gátló hatása miatt) azonban ahhoz vezethet, hogy a biogén amin a szisztémás keringésbe kerül, adrenalin és noradrenalin szabadul fel, ami gyomorsavkiválasztást, fokozott szív működést, migrént, tachikardiát, emelkedett vércukorszintet és magasabb vérnyomást vált ki (Beneduce, L. et. al. 2010).

Az olyan másodlagos aminok, mint a putreszcín és a kadaverin szintén reakcióba léphetnek a nitrítel és rákkeltő nitrozaminokat képezhetnek (ten Brink et. al. 1990), és egyes enteropatogének, például az *Escherichia coli* könnyebben megtapad a bélnyálkahártyán a tiramin jelenlétében. Ezek alapján feltételezhető, hogy a biogén amin számos ételmérgezésnek volt a kiváltója, melyek közül a leghírhedtebbeket a hisztamin és a tiramin okozta (Silla Santos, 1996.). Általában az alkoholos italokban a toxikus dózis a hisztamin esetében 8 és 20 mg/l, a tiramin esetében 25 és 40 mg/l között van, míg a fenil-etil-amin esetében már 3 mg/l is okozhat negatív élettani hatásokat (Soufleros et. al. 1998.). A toxikológiai hatások mellett a borban lévő biogén amin tartalom az import és export kereskedelmet is befolyásolhatja, mivel bizonyos országok felső határértékeket állapítottak meg a bor hisztamintartalmára vonatkozóan (Martín-Álvarez et. al. 2006., Smit et. al. 2008).

A borban számos aminot azonosítottak, a vizsgálatok szerint az összkoncentrációjuk a bor minőségétől függően néhány mg/l és kb. 50 mg/l között mozog (Anli, Bayram, 2009., Smit et. al. 2008., Ancin-Azpilicueta et. al. 2008., Landete et. al. 2005.). A bor amintartalmának változatossága a borkészítési eljárás, az idő és tárolási körülmények, az alapanyag minősége és a borászati műveletek során bekövetkező esetleges mikrobiális szennyeződések közötti különbségekkel magyarázható. (Smit et. al. 2008). Az aminosavak természetes módon jelen vannak szőlőben és a bor teljes nitrogéntartalmának mintegy 40%-át teszik ki. A hisztamin és a tiramin, valamint számos illékony amin és poliamin már a szőlőben is megtalálható. A putreszcín és a kadaverin általában a szőlő rossz higiénés körülményeihez kapcsolódik (Leitão et. al. 2005).

A biogén aminokat a borokban különféle tejsavbaktériumok termelik, de csak olyan törzsek, amelyek specifikus anyagcsere utakkal rendelkeznek. Ezek a tejsavbaktériumok az előanyagként szolgáló aminosavakat biogén aminokká alakítják át. A hisztamindekarboxiláz hisztamint, a tirozindekarboxiláz tiramint képez. Általánosságban elmondható, hogy a borokban a tejsavbaktérium fajok által termelt fő biogén aminok a hisztamin, a tiramin és a putreszcín. Ezek közül a putreszcín toxikus hatással van az emberre és negatívan befolyásolhatja a bor ízét, ennek pedig egészségügyi és gazdasági következményei lehetnek (Mangani et. al. 2005).

A borban a kereskedelmi forgalomban kapható *Saccharomyces cerevisiae* törzsek mellett számos őshonos élesztőfaj képes növekedni és alkoholos erjedést végezni. Csak néhány tanulmány született az élesztők általi biogén amin képzéssel kapcsolatban és a legtöbb csak különböző élesztőfajokat hasonlított össze és csak a hisztamint számszerűsítette. Sok szerző számolt be arról, hogy az alkoholos erjedés során a biogén amin koncentrációjának figyelemreméltó növekedése nem volt megfigyelhető. Ebből arra következtek, hogy valószínűleg az élesztők nem felelősek a kereskedelemben kapható vörösborokban található aminok képződéséért. Bizonyos vizsgálatok még a biogén aminok, különösen a putreszcín csökkenéséről is beszámoltak az alkoholos erjedés során, miközben az élesztő dominál, mind a spontán, mind az irányított erjesztéssel készült borok esetében (Granchi et. al. 2005).

A borélesztők biogén amin termelésben betöltött szerepével ellentétben kiterjedt kutatásokat végeztek azzal kapcsolatban, milyen összefüggés van a tejsavbaktériumok és a borban található biogén amin tartalom között (Nannelli et. al. 2008). A borban a biogén amin képződést régen a nem *Oenococcus* törzsekkel hozták



összefüggésbe, hanem például a romlást okozó *Pediococcus* és *Lactobacillus* törzsekkel (Landete et al. 2007). A biogén amin képzésre alkalmas útvonalak jelenlétét azonban az *Oenococcus oeni* törzsekben, a malolaktikus fermentáció elvégzésére leginkább alkalmas fajban is kimutatták. Az *O. oeni* képes jelentősen hozzájárulni a borok teljes biogén amin tartalmához, elsősorban hisztamint termel, és ezen képessége törzsenként változik (Coton et. al. 1998., Guerrini et. al. 2002).

A biogén amin termelésre képes tejsavbaktérium fajok szorosan összefüggenek a borászati eljárásokkal és az erjesztési folyamattal. A borászatoknak saját tejsavbaktérium populációik lehetnek, ami megmagyarázhatja a borokban található biogén amin tartalom különbségeit az egyes régiókban. A biogén amin termelést mindig a *L. brevis*, *L. hilgardii* és ritkábban a *L. plantarum* fajokhoz tartozó törzseknél figyelték meg. Ezenkívül a borokban általánosan megtalálható tejsavbaktériumokon kívül szokatlan borászati tejsavbaktériumokat, például *Enterococcus faeciumot* is azonosítottak tiramintermelőként (Beneduce et. al. 2010).

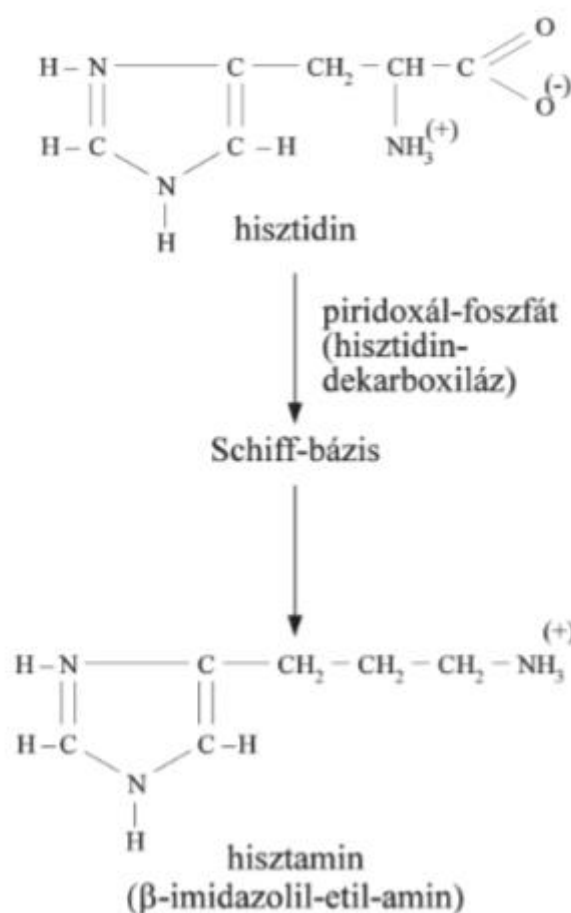
**1. táblázat:** Magyar borok biogén amin összetétele (Kállay, 1996. nyomán - Kállay, 2010.)

Biogén amin	Fehérbor (mg/dm <sup>3</sup> )	Vörösbor (mg/dm <sup>3</sup> )
Kadaverin	NQ - 0,3	NQ - 0,9
Etil-amin	NQ - 0,4	NQ - 0,8
Hisztamin	0,17 - 1,25	0,59 - 2,2
Metil-amin	0,21 - 1,3	0,3 - 0,87
b-fenil-etil-amin	NQ	NQ - 0,78
Putreszcín	0,31 - 1,78	0,45 - 5,49
Szerotonin	NQ - 0,75	NQ - 1,07
Tiramin	0,1 - 1,1	0,3 - 0,95
Triptamin	ND	ND

Összefoglalva elmondható, hogy a magyar borokban hisztamin, tiramin, triptamin, kadaverin, fenil-etil-amin, putreszcín és ritkábban szerotonin található meg. A vörösborokban nagyobb mennyiségű hisztamin és tiramin a biológiai almasavbontás következménye. A hisztamintartalom alacsonyabb a határértékeknél. A malolaktikus fermentáció mindig a biogén aminosavak mennyiségének emelkedését eredményezi, ami vörösborkészítés során jellemzőbb eljárás (Kállay, 2010).

### 3.1.1. A hisztamin jellemzői

A hisztamint (2-[4-imidazolil]etilamin) 1910-ben fedezte fel Henry Hallett Dale és Sir Patrick Playfair Laidlaw, és 1932-ben azonosították gyulladáscsökkentő és allergiás reakciók közvetítőjeként. A hisztamin a hisztidin aminosav dekarboxilációja során képződő biogén aminosav. A szervezet összes szövetében, illetve a testnedvekben is megtalálható kötött állapotban. Legnagyobb mennyiségben a húzósejtekben van jelen. Baktériumok által képződik, vagy táplálkozással is bevitelre kerül. Sajt- és zöldségfélék, halak, kolbászsok, alkoholos italok fermentációja és érlelése során képződnek. A biogén aminosavak közül az emberi egészség szempontjából a hisztamin a legjelentősebb (Maintz, Novak, 2007).



2. ábra: Hisztamin képződése (Kép: Kállay Miklós, Borászati kémia, 2010.)

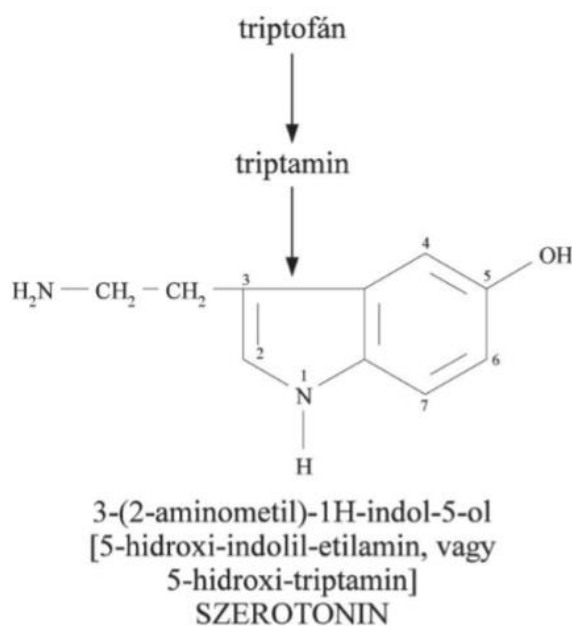
Hízósejtek, bazofilok, vérelemek, hisztaminerg neuronok és enterokromaffin sejtek szintetizálják, ahol intracellulárisan tárolódik, és stimuláció hatására szabadul fel. Számos biológiai reakció hírvivője, a hisztamin váltja ki a hízósejtek degranulációját, ami a szervezetet ért behatások helyén bőrön beálló vörösséget és duzzanatot okoz. Súlyos esetekben erőteljesebb tünetek is jelentkezhetnek. Általában külső eredetű okok váltják ki a felszabadulását, például allergének, amik ellenanyag-reagintermelést váltanak ki. Ennek allergiás, anafilaxiás reakció lehet a következménye. A helyi hatáson kívül okozhat fejfájást, hányingert, rossz közérzetet, simaizomsejt-összehúzódást, értágulatot, erek átteresztőképességének emelkedését, vérnyomásváltozást, aritmiát, és serkenti a gyomorsavkiválasztást

Ezek mellett szerepet játszik az ingerületátvitelben, a normál immunműködés fenntartásában, vérképzésben, sebgyógyulásban, valamint alvás-ébrenlét ritmus fenntartásában. Gyulladáscsökkentő hatása van és fontos szerepe a sokkos állapot kialakulásában. Túlzott koncentrációban azonban negatív élettani hatású, mérgezést vált ki, melynek tünetei között szerepel a hányás, émelygés, szomjúságérzet. 70-100 mg hisztamin egyszerre történő elfogyasztása kell a klinikai tünetek kialakulásához. Amennyiben a borban a hisztamin mennyisége meghaladja az 5 mg/l mennyiséget, 0,5 liternyi ital elfogyasztása fejfájást okozhat.

A legtöbb borban megtalálható, a vörösborokban nagyobb mennyiségben fordul elő, de ez a mennyiség más fermentált élelmiszerekhez képest alacsony. Az ezzel kapcsolatos kutatások léte azzal magyarázható, hogy az élő szervezetben lebontásukat végző monoamino-oxidáz enzimek bizonyos gyógyszerek, illetve az alkohol hatására gátlódik, ezért felhalmozódik a borfogyasztással bevitt mennyiség, ami allergiás tüneteket válthat ki az arra érzékenyekből (Kállay, 2010).

### 3.1.2. Szerotonin jellemzői

Az 5-hidroxi-triptamin vagy szerotonin egy biogén amin, amit leginkább neurotranszmitterként betöltött szerepéről ismernek. Hatással van a központi és a perifériás idegrendszerre, hormonként, ingerületátvivő és sejtostódást segítő anyagként működik (Mohammad-Zadeh, Moses, Gwaltney-Brant, 2008). A vérnyomás szabályozásában közreműködő egyik hormon, melyet először emberi vérben izoláltak. Az élőlények világában elterjedt, megtalálható a vérlemezkékben, nyálmirigyekben, emésztőcsatornai szövetekben, izomszövetekben, bizonyos állatok, mint darazsak, skorpiók, varangyok mérgében, de még növényekben is kimutatták. Az emlősök vérnyomás szabályozó funkcióján kívül bekapcsolódik az agyműködés folyamatába is. Napjainkban pedig az egyik lehetséges gyógyszere a depressziós megbetegedéseknek (Kállay, 2010).



**3. ábra:** Szerotonin képződése (Kép: Kállay Miklós, Borászati kémia, 2010.)

### 3.1.3. A tiramin jellemzői

A tiramin a tirozin aminosav dekarboxileződése során a tiramin-dekarboxiláz hatására keletkezik. Természetes vegyület, mely az élő szervezetre vérnyomás növelő hatással van. Először rothadó húsból izolálták, de anyarozsban és bizonyos növényekben is megtalálható. Általában az ételek tiramintartalma nem jelent

problémát, mivel a szervezetben található mono-aminoxidázok (MAO) már a béltraktusban megkezdik a lebontását. Azonban, amennyiben olyan beteg fogyaszt magas tiramintartalmú élelmiszert, aki MAO-gátlót tartalmazó gyógyszeres kezelés alatt áll, a tiramin bomlása nem történik meg, vérkeringésbe kerülve toxikus hatást fejt ki. Jellemzően antidepresszáns gyógyszerek rendelkeznek MAO-gátló hatással. A borok tiramintartalma nem jelentős, 25 µg/g értékben mutatható ki általánosságban (Kállay, 2010).

### 3.2. A *Saccharomyces* és nem-*Saccharomyces* élesztők szerepe

A borok alkoholtartalmának növekedése szorosan összefügg az éghajlatváltozással. Az utóbbi években világszerte tapasztalható tendencia, hogy a szőlő vegetációs időszaka alatt egyre gyakoribbá váló meleg időszakok megváltoztatják a szőlő kémiai összetételét, növelik a szőlő cukortartalmát, a savtartalom pedig csökken (García et. al. 2020). A teljesen érett szőlőben a magasabb cukortartalom a bor alkoholtartalmának eltolódását okozza (Stockley et. al. 2012). Így az átlagos alkoholtartalom az elmúlt évtizedekben a meleg területeken mintegy 2%-kal (v/v) emelkedett, és nem ritka, hogy 16%-nál (v/v) magasabb alkoholtartalmú borokkal találkozunk (Varela et. al. 2015). A borok túlzottan magas alkoholtartalma megváltoztathatja a borok érzékszervi profilját, növelve a keserűség, a fanyarság és a csípősség érzékelését, elfedve egyes illóanyagokat (Wilkinson, Jiranck, 2013). E mellett a megnövekedett alkoholtartalmú borok káros egészségügyi hatásokat okozhatnak (Stockwell et. al. 2016).

A borok alkoholtartalmának csökkentésére irányuló különböző módszerek közül a mikrobiológiai megközelítések ígéretesek lehetnek a borok érzékszervi jellemzőinek és minőségének megőrzése szempontjából. E mellett jövedelmező és könnyen megvalósítható stratégiák, amelyek nem igényelnek speciális berendezéseket (Ciani et. al. 2016). A *Saccharomyces cerevisiae* borkészítéshez szelektált fő mikroorganizmus. Ez a faj végzi el a cukrok erjesztését, mivel képes magas alkoholkoncentrációt előállítani és tolerálni azt (Andorrà et. al. 2010). A *S. cerevisiae*-vel ellentétben a nem-*Saccharomyces* élesztők általában nem képesek befejezni az erjedési folyamatot, ezért egyidejű vagy késleltetett beoltásra van szükség a cél elérése érdekében (Cominiti et. al. 2011).

A koinokuláció, avagy *Saccharomyces* és nem-*Saccharomyces* élesztőkkel egyidejűleg történő beoltás során mindkét élesztőfajjal egyazon időben oltják be a szőlőmustot, míg a késleltetett beoltás, azaz szekvenálás esetén a starterkultúra valamilyen nem-*Saccharomyces* faj, amire néhány nap elteltével *Saccharomyces* törzset oltanak rá, ezzel biztosítva az erjedés lefolyását.

A borászati szektorban az alacsonyabb alkohol- és illósavtartalommal, valamint összetettebb érzékszervi profillal rendelkező borok iránti kereslet hatására egyre nagyobb érdeklődést váltott ki kutatókból és a piaci szereplőkből a nem-*Saccharomyces* fajok tulajdonságainak bővebb ismerete (Gambetta et. al. 2020). A szőlőből származó vegyületek fontos szerepet játszanak a borok aromajellemzőinek kifejeződésében, azonban az alkoholos erjedés során a borélesztők, beleértve a nem-*Saccharomyces* fajokat is, képesek befolyásolni a bor aromáját azáltal, hogy speciális enzimatis tevékenységük hatással van a másodlagos aromákra, illetve az elsődleges alkotóelemek kémiájára is. Ebből kifolyólag egyre több kutatásban vizsgálják a nem-*Saccharomyces* fajták hatásait (García et. al., 2020.).

### *Torulaspota delbruecki*

Az egyik legtöbbet vizsgált nem-*Saccharomyces* élesztő, a többivel összehasonlítva viszonylag magasabb, 9-10% (v/v) alkoholtűréssel rendelkezik. Igazoltan kevesebb ecetsavat állít elő egy *S. cerevisiae* törzssel együttesen használva (Benito 2018). Enzimaktivitása révén muskotályos borokban jelentősen emeli a linalool mennyiségét (King, Richard Dickinson, 2000), ami virágos aromát, fűszeres citromos tónust eredményez (Baron et. al. 2017). Szekvenciális beoltásban Soave és Chardonnay borokban jelentősen csökkent néhány illóanyag, köztük a 2-fenil-etanol (rózsa illatjegy), az izo-amil-acetát (banán jegy), bizonyos illósavak és vinifenolok mennyisége. Ettől a borokat nagyobb aromás intenzitás és komplexitás jellemzi, mint a monokultúras beoltásnál (Azzolini et. al. 2015).

Egy tanulmány szerint a szekvenciális és koinokulációs beoltás más-más hatással volt a Cabernet Sauvignon illóanyag összetételére. Koinokulációs körülmények között a kevert starterkultúrák magasabb értéket produkáltak 3-metil-1-butanol, 2-fenil-etanol, etil-butanoát és etil-dekanoát tekintetében és csökkentették az illósavak koncentrációját. A szekvenciális beoltás azonban az aroma jelentős javulását eredményezte, mivel több észter, fenil-etil-alkohol és fenil-acetaldehid képződött, ami fokozta a bor gyümölcsös, virágos, édes jellegét (Renault et. al. 2015).

### *Hanseniaspora spp.*

Az utóbbi években széles körben vizsgálták, mivel számos fajának képessége, hogy javítja a borok aromás komplexitását (Mestre et. al. 2019). Képesek növekedni magas cukor, etanol és kén-dioxid tartalom mellett is. Alkoholtermelés szempontjából nem túlságosan hatékonyak, ugyanis 19 g/l elfogyasztott cukor szükséges 1% (v/v) etanol előállításához (Mestre Furlani et. al. 2017). Túlzott mennyiségű ecetsavat állítanak elő, de *S. cerevisiae* és *H. uvarum* törzsek kevert használatával még a tiszta *S. cerevisiae* kultúra által termelnél is kevesebb ecetsav keletkezik (Romano et. al. 2003).

Pozitívan módosíthatja a bor ízét egyes etil- és acetát-észterek növelése, illetve a fenil-etanol és a 3-metil-1-butanol csökkentése révén. Cabernet Sauvignon és Ecolly boroknál erőteljesen módosította a virágos és gyümölcsös jegyeket és az illékony vegyületek mennyiségét. Muskotályos szőlőnél pedig jobban képes volt felszabadítani a linaloolt, geraniolt, nerolt,  $\alpha$ -terpineolt, o-cimenolt és citronellolt, javítva ezzel a bor fajtajellegét (Tempère et. al. 2018).

### *Lachancea thermotolerans*

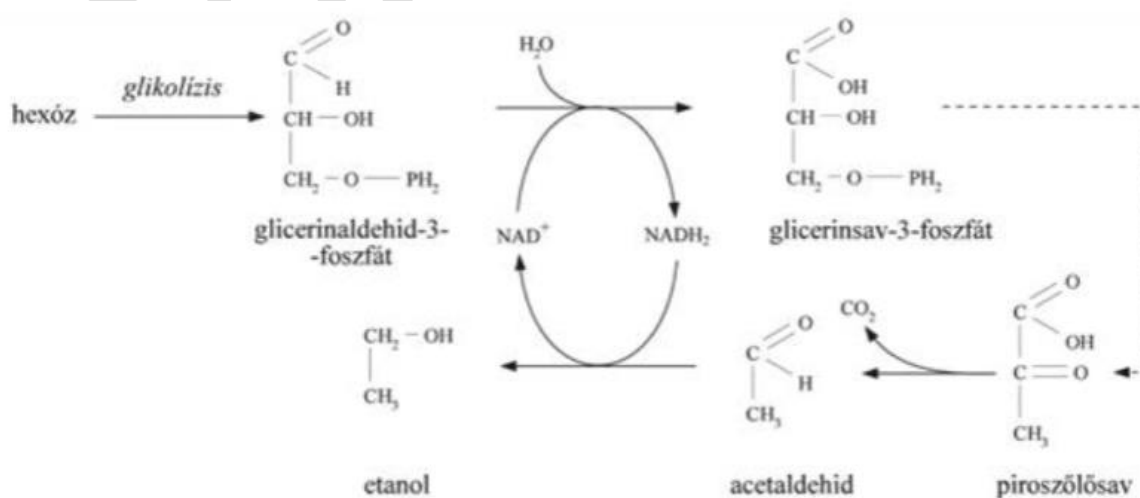
Mindenhol megtalálható élesztő, ami gyakran előfordul a szőlő felületén is (Bagheri, Bauer, Setati, 2015). Alacsony illósvartartalmú borokat képes előállítani, emiatt szívesen használják egyes starterkultúrákban. Fokozott tejsavtermelés jellemzi, ami lehetővé teszi a bor pH értékének természetes szabályozását borkősav hozzáadása nélkül. Mivel a cukrokat tejsavtermelésre használja fel, így hozzájárulhat a borok alkoholtartalmának csökkentéséhez is. Szekvenciális beoltásnál képes nagyobb mennyiségű glicerint termelni (Morata et. al. 2018).

### 3.3. Az Alkoholos erjedés

A különböző növényi szénhidrátok élesztőkkel történő erjesztése az egyik legrégebbi technológiai az emberiség történelmében (Nielsen, (szerk.). 2014). A hagyományos borkészítési folyamat a szőlőn és a pincében természetesen jelenlévő mikroorganizmusok közötti biológiai kölcsönhatás eredménye. Ezek irányítják az alkoholos és a malolaktikus fermentációt. Az alkoholos erjedést elsősorban a *Saccharomyces cerevisiae* fajélesztő végzi. Az egyik legkiemelkedőbb tulajdonsága, hogy képes a cukrokat etanollá és szén-dioxiddá alakítani, valamint a bor érzékszervi jellemzőivel összefüggő másodlagos anyagcseretermékek felszabadulásáért is felelős (Tufariello et. al. 2019.).

A *Saccharomyces cerevisiae* mellett a szőlőmust természetes módon egyéb élesztőnemzetségek és fajok populációit is tartalmazza, melyek különböző mértékben vesznek részt az alkoholos erjedés végrehajtásában. A spontán erjedési folyamatban a kezdeti fázist a különböző nem-*Saccharomyces* élesztőfajok együttműködésének hatása segíti elő, az első szakaszban ezek dominálnak. Jellemzőjük, hogy alacsonyabb fermentatív erővel bírnak. Azonban a végső lépést, miután az alkoholszint eléri a 4%-ot (v/v), a *S. cerevisiae* törzsek dominanciája jellemzi, ugyanis a legtöbb élesztőfaj ezt már nem képes túlélni (Pretorius, 2020.)

A mustban lévő erjeszhető cukrok közül a glükóz és a fruktóz a legjelentősebb. Néhány gramm szacharóz is található benne, de ezt a szőlőből származó invertáz enzim még az erjedés beindulása előtt lebontja. A hexózok alkohollá és szén-dioxiddá alakítása glikolízis révén megy végbe. E folyamat során a glükóz és a fruktóz piroszőlősavvá alakul, amiből végül etanol képződik. A piroszőlősav acetaldehiddé dekarboxileződik, amely  $\text{NADH}_2$  által katalizált reakcióban alkohollá redukálódik. Abban az esetben, ha a  $\text{NADH}_2$  nem oxidálódna újra, a glikolízis leállna, amikor végbemegy az összes  $\text{NAD}$  redukciója, viszont az erjedés folyamata sohasem tiszta alkoholos erjedés, mivel nem mindegyik cukormolekula alakul alkohollá és szén-dioxiddá. Egy részük ettől eltérően glicerin-piroszőlősavas erjedésen megy keresztül. Az így képződött piroszőlősav egy része acetaldehiddé dekarboxileződik, és másodlagos termékek prekuzora lesz (Kállay, 2010).



4. ábra: Az alkoholos erjedés sematikus vázlatja (Kép: Kállay Miklós, Borászati kémia, 2010.)

### 3.3.1. Tejsav, mint másodlagos erjedési termék

A tejsav szintelen, szirupszerű folyadék, ami szabad helyen tárolva képes a levegő nedvességtartalmát összegyűjteni és megkötni, és ezáltal felhígulni. Kellemesen savanyú ízű, vízzel és alkohollal minden arányban keveredik. Aszimmetrikus szénatomja optikailag aktív. Három módosulata létezik, a balra forgató D-tejsav, a jobbra forgató L-tejsav és egy optikailag inaktív forma. A borban a két, optikailag aktív tejsav keveréke található meg. Az alkoholos erjedés során képződik kb. 1 g/l-nyi mennyiségben, így minden bor tartalmazza. A biológiai savcsökkenés során almasavból nagyobb mennyiségű tejsav képződhet különböző baktériumok hatására, bizonyos borbetegségeknél, a cukrok és a borkősav lebontása alatt. Az erjedéstől kezdve állandóan nő a mennyisége akár a malolaktikus fermentáció, akár borbetegségek révén. Ez alól az állandóan kénezett borok képeznek kivételt, ugyanis ezek kénessavtartalma meggátolja a malolaktikus fermentációt, valamint az egyéb bakteriális folyamatokat, ezért az erjedés alatt keletkezett kb. 1 g/l tejsav mennyiség változatlan marad.

A monoszacharidok erjesztése során az élesztők minden esetben kis mennyiségű tejsavat állítanak elő másodlagos termékként. A piroszőlősav egy része nem dekarboxileződik, hanem közvetlenül tejsavvá redukálódik. A folyamatot a tejsav-dehidrogenáz katalizálja. A borélesztők általában D(-)-tejsavat állítanak elő a cukorból. A biológiai almasavbontás során a tejsavbaktériumok az L(-)-almasavból L(+)-tejsavat képeznek. A bor alkoholtartalmának csökkentésére használt speciális, nem-*Saccharomyces* élesztők kevesebb alkoholt állítanak elő, azonban a folyamat során a szokásosnál több tejsav képződhet (Kállay, 2010).

## 4. Anyag és módszer

### 4.1. Vizsgálati anyag

A vizsgálati mintaként szolgáló Generosa szőlő a MATE Szőlészeti és Borászati Intézet, Badacsonyi Kutatóállomásának ültetvényéről származik. A következő bekezdésekben ismertetem a fajta eredetét és néhány fontosabb tulajdonságát szőlészeti és borászati szempontok szerint.

A Piros traminit számos kedvező tulajdonsága miatt magyar szőlőnemesítők is felhasználták keresztezéseikhez. A fajta jó cukorgyűjtő hajlammal, fagyűrővel, jó termékenységgel és korai érésjellemzőkkel rendelkezik, mely tulajdonságokat utódai is magukénak tudhatják. A hazánkban illatos bora miatt kedvelt fajta nagy valószínűség szerint Dél-Tirol területéről terjedt el, nevét pedig a Dolomitok völgyében található Termino kisvárosról kapta.

Magyarországon 1956-ban sorolták az államilag minősített fajták közé a Piros traminit, mely szőlőperonoszpórára és lisztharmatra mérsékelten érzékeny, azonban alacsony termésátlaga és sok zöldmunkaigénye miatt nem telepítik túl gyakran, sűrű lombzat, rövid ízű vesszők és sok hónaljhajítás jellemzi. Hajlamos az önárnyékolásra, páraigényes, de jól tűri a szárazságot. A fürtök géppel könnyen szedhetők, a kézi szüretet fásodó kocsánya megnehezíti. Termése kevés, de kiváló minőségű. A Fűszeres traminitra is jellemzőek ezek a tulajdonságok, kisebb fürtökkel, sárgás rózsaszín bogyókkal. Aromanyagokban gazdagabb, de mérsékeltebb mennyiségű termést hoz. Boruk nagyon fajtajelleges, fűszeres illatú és zamatú, harmonikus, kissé lágy.

Hazánkban a szőlőnemesítők keresztezéshez is felhasználták a Tramini értékeit. A hibridektől rövid tenyészidőt, korai érést, jó rügytermékenységet és minőséget vártak. Főleg azokból a hibridekből születtek kiváló utódok, ahol a keresztezésnél a Piros tramini apafajtaként szerepelt. A későbbi tapasztalatok alapján a rügytermékenység, a téltűrés és a jó cukorképzés az utódfajtákban is érvényesül.





**5. ábra:** Generosa szőlő fürtje (Fotó: Kisfái Ökokert Kft.)

A Generosa azon három fajta közé tartozik, melynek tulajdonságai kiemelkednek a többi közül. Az Ezerjő és Piros tramini keresztezéséből jött létre. Állami minősítését 2004-ben kapta meg. Hazánkban jelenleg közel 1000 hektáron termesztik, de népszerűségének köszönhetően ez a terület folyamatosan növekszik. Rügyei jól tűrik a fagyokat, elviseli a szárazságot. Tőkéi megfelelő egyensúlyt tartanak a hajtásrendszer és terméshozam tekintetében. Ötszögletű levele határozottan karéjos, nyitott oldalöblökkel rendelkezik, melyekben fogak fejlődtek. Zöldmunkaigénye minimális, főleg csonkázásra korlátozódik. Szeptember második felében érik, magas cukortartalommal. Fürttermése átlagosan 14-17 t/ha. Fürtje körülbelül 130, bogyója 1,9 grammot nyom. Nem hajlamos rothadásra és viszonylag nagy lényeredékkel rendelkezik. Neve a rózsaszínű bogyóira utal, melyek az Ezerjóra emlékeztető kellemes savakat és a Traminire jellemző különleges aromaanyagokat tartalmaznak (Dr. Hajdu, 2022)

## 4.2. Vizsgálati módszer

Az alapanalízis a következő vizsgálatokat foglalta magába:

- titrálható savtartalom mérése sav-bázis titrálással,
- pH mérés kombinált üvegelektóddal,
- cukortartalom meghatározása refraktométerrel,
- alkoholtartalom meghatározása a magyar Borkönyv, Borok analízise című fejezetében foglaltak alapján.

Enzimatis mérések:

- L-almasav tartalom meghatározása enzimatis úton (OIV-MA-AS313-11), L-almasav Assay Kittel (Megazyme Inc., USA)
- Glicerín tartalom meghatározása enzimatis úton (OIV-MA-AS312-05), Glycerol Assay Kittel (Megazyme Inc., USA), Dynamica
- Tejsav tartalom meghatározás enzimatis úton (OIV-MA-AS313-07), D-Lactic Acid Assay Kittel (Megazyme Inc., USA)

Spektrofotometriás mérés:

- Borkósav tartalom meghatározása spektrofotometriás úton (OIV-MA-AS313-05B)

Biogén amin tartalom meghatározásának módszere

A biogén aminok meghatározását HPLC készülékkel végeztük. A munka a borminták előkészítésével kezdődött, amiket egy 0,45 µm pórusméretű membránszűrőn keresztül szűrtünk meg. Ezután Borát-puffer kíséretében orto-phtal-aldehiddel (OPA) reagáltattuk. A Borát-puffer elkészítésének módszere: 1 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>-hoz 38 ml desztilláltvizet adtunk, majd 40 g/100 ml-es Kálium-hidroxid oldattal beállítottuk a pH-értéket 10,4-re. Az OPA reagens készítéséhez 45 mg OPA-t 0,5 ml Metanolban oldottunk fel, amihez aztán 0,1 ml Merkaptóetanolt adtunk. A minta, a puffer és az OPA reagens összekeverése után 4 perces reakcióidő elteltével 20 µl-nyi mennyiséget injektáltunk a berendezésbe.

Kromatográfiai körülmények:

Berendezés:	HP 1090 HPLC
Kolonna:	Nukleosil 100 C-18 (250 x 4 mm)
Detektálás:	HP 1046 A Fluorescens detektor
Folyadékáram:	1 ml/min.
Hőmérséklet:	30°C
$\lambda$ : 340 nm	$\lambda$ : 440 nm
Eluens összetétel:	A oldat: 0,08 M Ecetsav
	B oldat: HPLC minőségű Acetonitril

A fordított fázisú kromatográfiai elválasztás hatékonyságát gradiens elúciós technika alkalmazásával növeltük. A gradiens összetételt és időbeli lefutását az 2. táblázat szemlélteti.

**2. táblázat:** Gradiens összetétele és időbeli lefutása

Idő (perc)	A%	B%
3,5	70	30
10	35	65
21	28	72
22	20	80
25	20	80
30	70	30

### 4.3. Kísérleti tematika

A kísérlet beállításához 2021-es évjáratú Generosa szőlőből készült must lett felhasználva. A kísérletet a MATE Badacsonyi Kutató Állomásán lett beállítva. A mustok üzemi körülmények között, 100 l-es, egyenként fűthető, hűthető kistartályban erjedtek ki, a tartályokban állandó 16-17°C-os hőmérséklet biztosítása mellett. Az egyes mustok különböző kezeléseket kaptak. A spontán erjedés és a kereskedelmi forgalomban kapható *Saccharomyces cerevisiae* élesztő mellett egy speciális tulajdonságú élesztőt lett alkalmazva 20 g/hl adagolásban az idő függvényében:

- a must az ülepítést követő 1. napon 20 g/hl speciális vadélesztővel lett beoltva, majd a 2. napon 20 g/hl *Saccharomyces cerevisiae* törzsszel történt ráoltás (1 Oc20+2Sc).
- a must az ülepítést követő 1. napon 20 g/hl speciális vadélesztővel lett beoltva, majd a 3. napon 20 g/hl *Saccharomyces cerevisiae* törzsszel történt ráoltás (1 Oc20+3Sc).
- a must az ülepítést követő 1. napon 20 g/hl speciális vadélesztővel lett beoltva, majd a 4. napon 20 g/hl *Saccharomyces cerevisiae* törzsszel történt ráoltás (1 Oc20+4Sc).
- a must az ülepítést követő 1. napon 20 g/hl speciális vadélesztővel lett beoltva, majd a 5. napon nem történt ráoltás, itt csak a vadélesztő hatása érvényesült (1 Oc20).

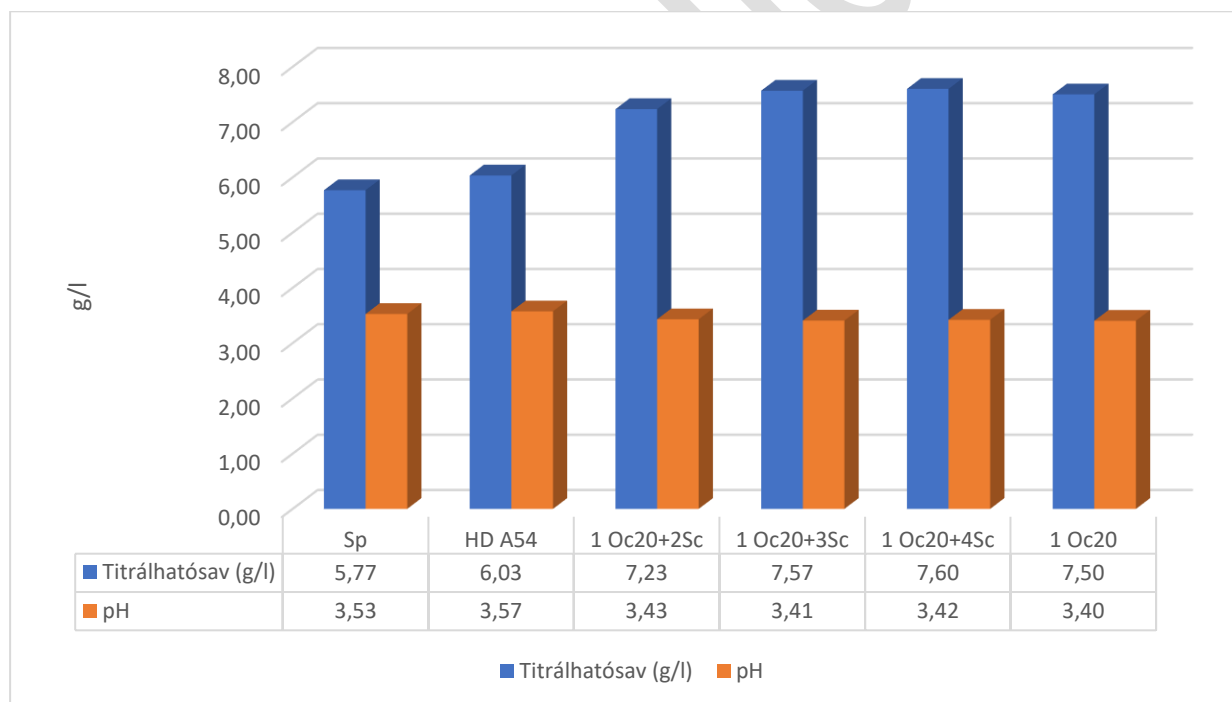
## 5. Eredmények

A diagramok három párhuzamos mérés eredményeinek átlagát tartalmazzák.

### 5.1. A titrálhatóság tartalom és pH érték kiértékelése

A titrálhatóság tartalom 5,77 g/l és 7,6 g/l között alakult. Mért értéke az első napon speciális vadélesztővel, majd a negyedik napon *Saccharomyces cerevisiae* fajélesztővel történt ráoltással erjesztett mintában (1 Oc20+4Sc) volt a legmagasabb, a spontán erjesztéssel készült mintában (Sp) volt a legalacsonyabb. Azoknál a tételeknél, ahol speciális vadélesztőt használtunk, minden esetben magasabb volt a titrálhatóság tartalom, azonban ezen tételek titrálhatóság tartalma között nem mutatható ki jelentős különbség.

A pH érték 3,4 és 3,57 között alakult. Azoknál a tételeknél volt savanyúbb, ahol speciális vadélesztőt használtunk. Ez utóbbi mintáknál szinte megegyező volt, illetve a spontán és a csak *Saccharomyces* minta pH értéke minimális különbséget mutatott. Itt azonban meg kell jegyezni, hogy a 3,5 pH határértéknek számít. Az e feletti mért értékeknél nagyobb a valószínűsége annak, hogy káros tejsavbaktériumok vannak jelen, ami borbetegséget is előidézhet. A titrálhatóság tartalom és pH érték alakulását a 6. ábra szemlélteti.



6. ábra: a vizsgált tételek titrálhatóság tartalma és pH értéke

### 5.2. Az almasav, tejsav és borkősav tartalom kiértékelése

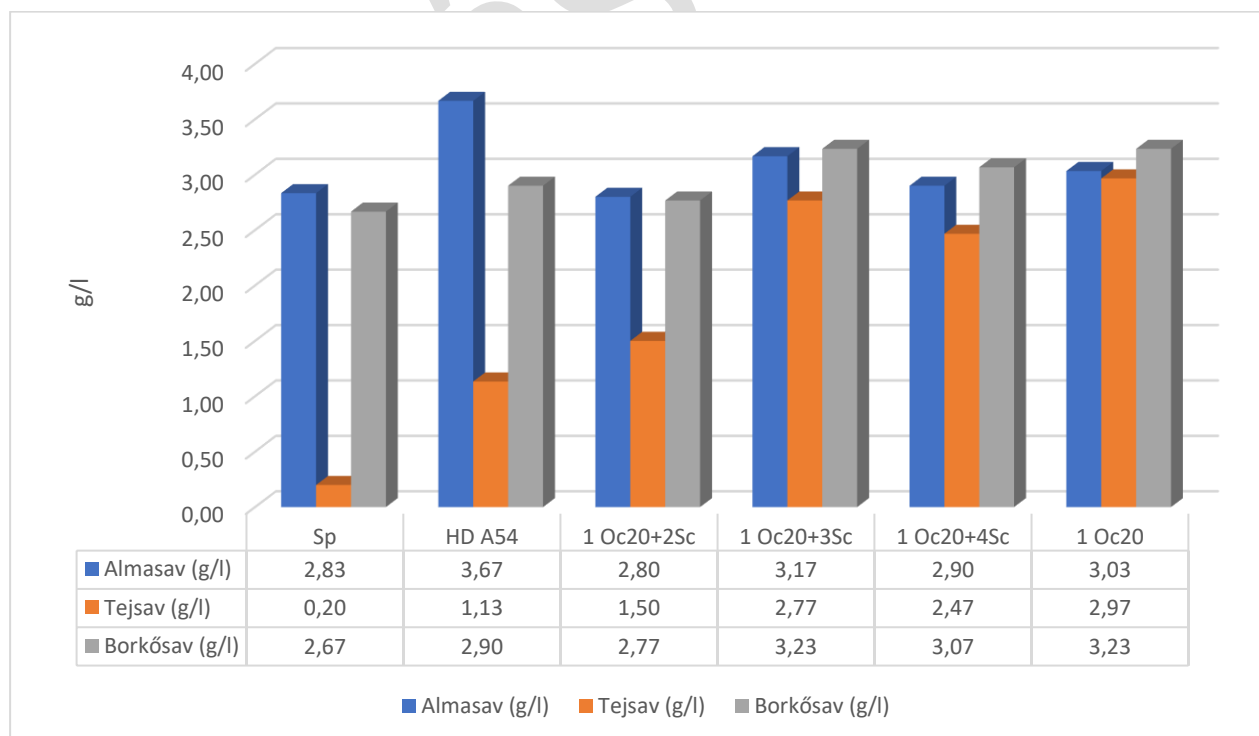
Az almasav tartalom 2,8 g/l és 3,67 g/l között alakult. Értéke az az első napon speciális vadélesztővel, majd a második napon *Saccharomyces cerevisiae* fajélesztővel történt ráoltással erjesztett mintában (1 Oc20+2Sc) volt a legalacsonyabb, a csak *Saccharomyces cerevisiae* fajélesztővel erjesztett mintában (HD A54) pedig a

legmagasabb. A kontrollhoz képest az egyes kezeléseknél nem mutatható ki különbség. Az almasav tartalom az irodalmi adatoknak megfelelő mennyiségben volt mérhető.

A tejsav tartalom 0,2 g/l és 2,97 g/l között alakult. Legkevesebb a spontán erjesztéssel készült mintában (Sp) képződött, ami nem érte el az irodalom által közölt minimális 1 g/l értéket sem. A legmagasabb értéket a csak speciális vadélesztővel erjesztett mintában (1 Oc20) mértük. Azokban a mintákban keletkezett több tejsav, ahol több ideje volt a speciális vadélesztőnek. A kezelés hatása a megnövekedett tejsav koncentrációban mutatkozik meg. A kontrollhoz képest (spontán erjedés) a vadélesztős beoltás hatására magasabb tejsav tartalom volt mérhető.

A borkősav tartalom 2,67 g/l és 3,23 g/l között alakult. Legkevesebb a spontán erjesztéssel készült mintában (Sp), legtöbb pedig az első napon speciális vadélesztővel, majd a harmadik napon *Saccharomyces cerevisiae* fajélesztővel történt ráoltással erjesztett (1 Oc20+3Sc) és a csak speciális vadélesztővel erjesztett (1 Oc20) mintákban képződött. Ugyanakkor a csökkentett alkoholtartalmú borok borkősavtartalma sem tér el a normál borok szakirodalomban leírt értékétől, hiszen a borok borkősavtartalma 1-5 g/l között alakult (Kállay, 2010).

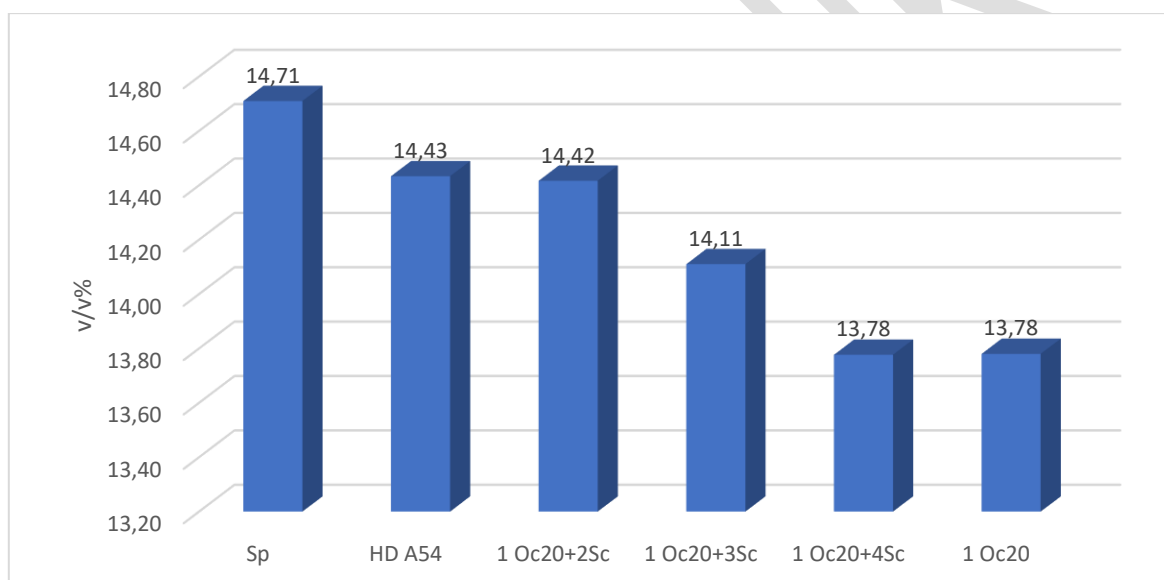
Azokban a mintákban keletkezett több tejsav, ahol hosszabb idő állt rendelkezésére a speciális vadélesztőnek, illetve ahol egyáltalán nem adtunk hozzá *Saccharomyces* fajélesztőt. A fent sorolt savtartalom alakulását a 7. ábra szemlélteti.



7. ábra: a vizsgált tételek almasav, tejsav, borkősav tartalma

### 5.3. Az alkoholtartalom kiértékelése

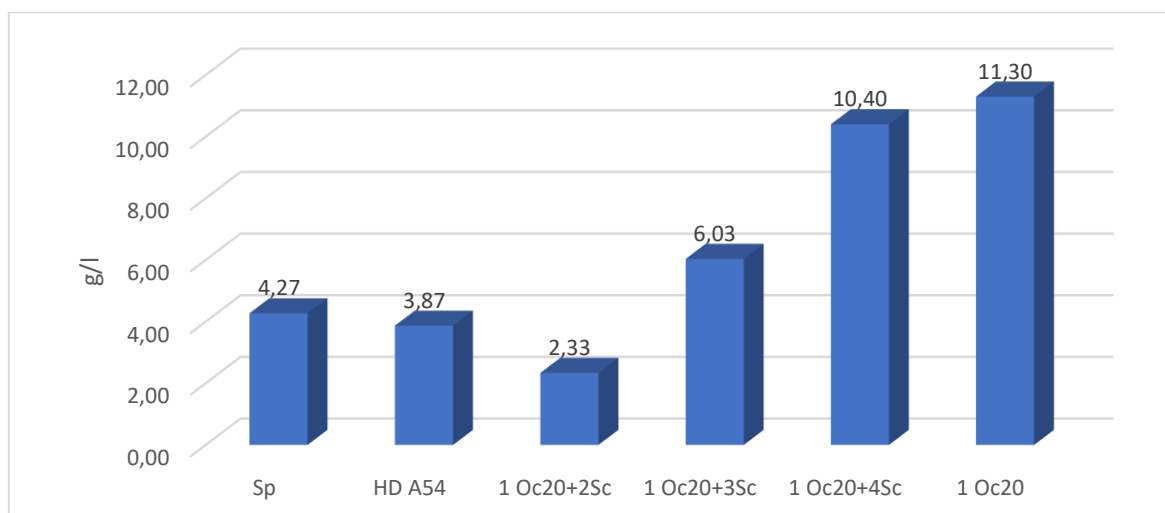
Az alkoholtartalom 13,78 v/v% és 14,71 v/v% között alakult. A spontán erjesztéssel készült tételben (Sp) volt a legmagasabb, az első napon speciális vadélesztővel, majd a negyedik napon *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel történt ráoltással erjesztett (1 Oc20+4Sc) és a csak speciális vadélesztővel erjesztett (1 Oc20) mintákban a legalacsonyabb. A vizsgálat célja elsősorban az alkoholcsökkentés volt. Az első napon speciális vadélesztővel, majd a második napon *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel történt ráoltással erjesztett minta (1 Oc20+2Sc) szinte megegyező alkoholtartalommal bírt, mint a csak *Saccharomyces* fajlesztővel történt erjesztéssel készült (HD A54) tétel. Azokban a tételekben képződött kevesebb alkohol, ahol hosszabb idő állt rendelkezésére a speciális vadélesztőnek, vagyis ahol több idő telt el a ráoltás között, illetve ahol egyáltalán nem adtunk hozzá *Saccharomyces* fajlesztőt. Az alkoholtartalom alakulását a 8. ábra szemlélteti.



8. ábra: Az alkoholtartalom alakulása a különböző kezelések hatására

### 5.4. A borok maradék cukortartalmának kiértékelése

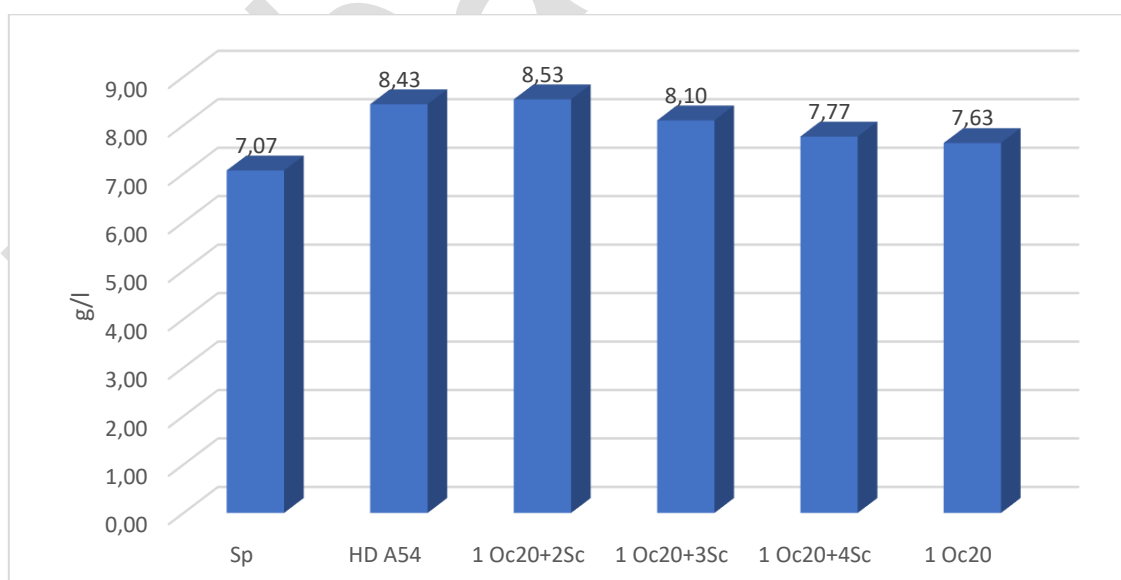
A cukortartalom 2,33 g/l és 11,3 g/liter között alakult. Legkevesebb az első napon speciális vadélesztővel, majd a második napon *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel történt ráoltással erjesztett mintában (1 Oc20+2Sc), legtöbb a csak speciális vadélesztővel erjesztett mintában (1 Oc20) maradt. A spontán és a csak *Saccharomyces* tételek hasonló értéket adtak. Ahogy nőtt a speciális vadélesztő egyedül rendelkezésre álló ideje, úgy több maradék cukortartalom volt mérhető. A cukortartalom alakulását a 9. ábra szemlélteti.



9. ábra: A borok maradék cukortartalma

### 5.6. A glicerín koncentráció

A glicerintartalom 7,07 g/l és 8,53 g/l között alakult. A legkevesebb a spontán erjesztéssel készült mintában (Sp), a legtöbb az első napon speciális vadélesztővel, majd a második napon *Saccharomyces cerevisiae* fajélesztővel történt ráoltással erjesztett mintában (1 Oc20+2Sc) képződött. A glicerín az alkoholos erjedés másodlagos termékeként képződik (Kállay, 2010). A diagramon jól látható, hogy a spontánhoz (kontroll) képest a kezelések hatására megnövekedett glicerintartalom volt kimutatható, ami a speciális vadélesztő egyik hatása. A glicerintartalom alakulását a 10. ábra szemlélteti.



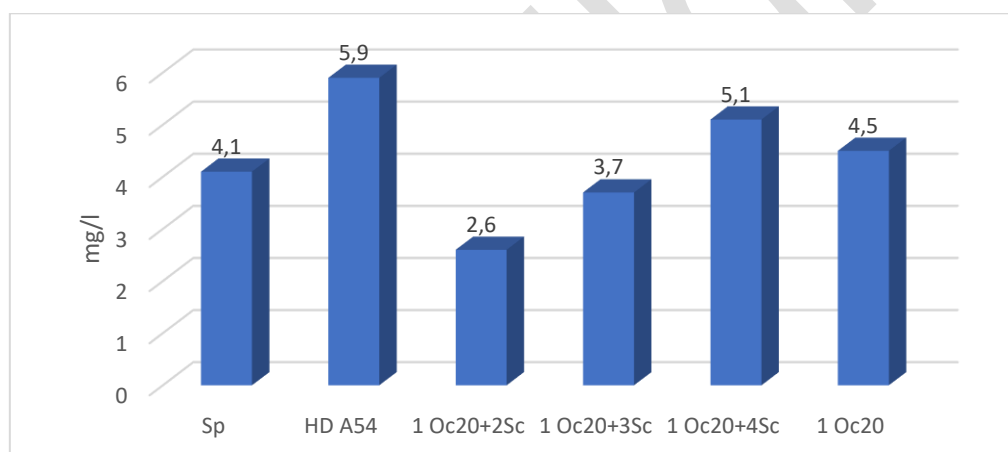
10. ábra: A borokban mért glicerín tartalom



## 5.7. A vizsgált borok biogén aminosav tartalma

### 5.7.1. A vizsgált borok hisztamin tartalma

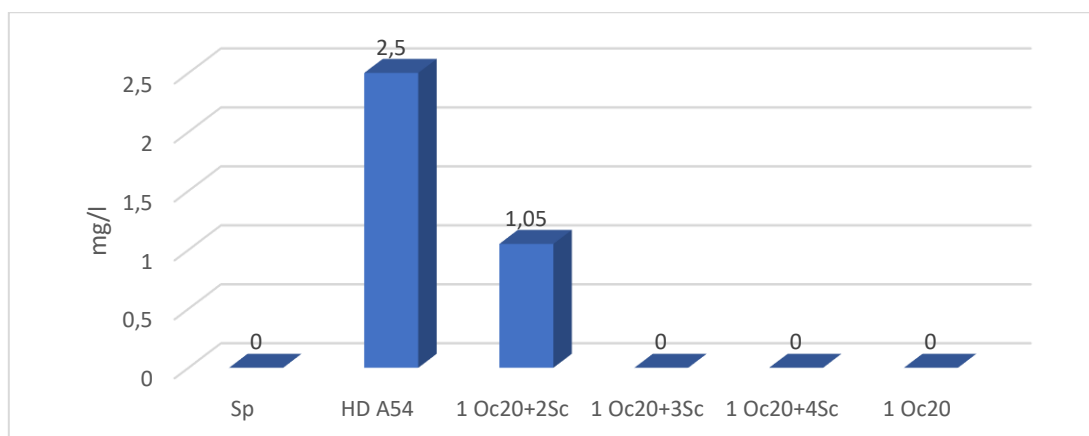
A legmagasabb, 5,9 mg/l hisztamintartalmat a csak *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel erjesztett borban mértük. A legkevesebbet, 2,6 mg/l mennyiséget pedig a az első napon speciális vadélesztővel, majd a második napon *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel történt ráoltással erjesztett borban (1 Oc20+2Sc). A hisztamintartalom az összes mintában meghaladta a hazai szakirodalomban leírt fehérborok átlagos hisztamintartalmát, ami 0,17 - 1,25 mg/l (Kállay, 2010.) között mozog. A hazai szakirodalomban jegyzett 5 mg/l egészségügyi határértéket (Kállay, 2010.) a csak *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel erjesztett minta (HD A54) és az az első napon speciális vadélesztővel, majd a negyedik napon *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel történt ráoltással erjesztett minta hisztamintartalma haladta meg, azonban Svájcban és Ausztriában ezek az értékek is elfogadhatónak számítanak 10 mg/l koncentrációig (Busto et. al., 1996). Az adatokat összevetve a 11. ábra szemlélteti.



11. ábra: a vizsgált borok hisztamin tartalma

### 5.7.2 A vizsgált borok tiramin tartalma

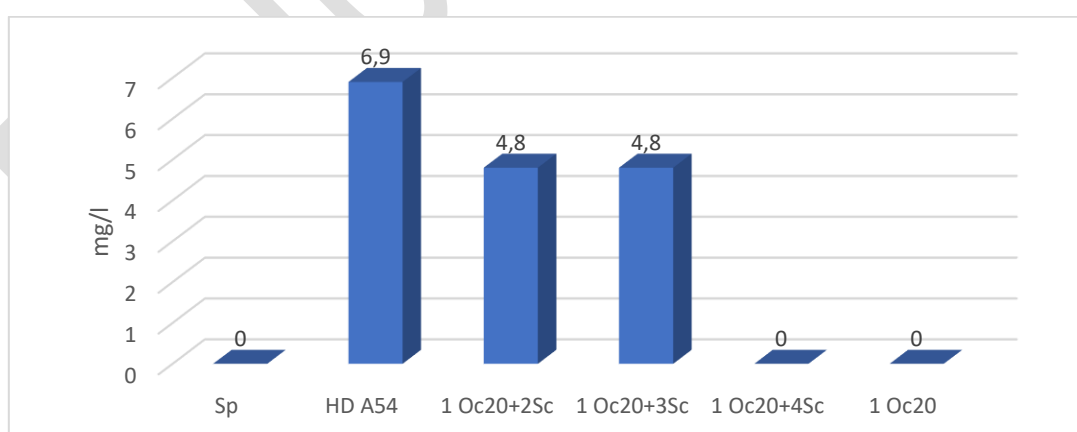
A legmagasabb, 2,5 mg/l tiramintartalmat a csak *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel erjesztett borban (HD A54) 2,5 mg/l, mértük. az első napon speciális vadélesztővel, majd a második napon *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel történt ráoltással erjesztett borban (1 Oc20+2Sc) 1,05 mg/l tiramin volt kimutatható. A többi mintában 0 mg/l tiramintartalom volt. A hazai szakirodalom szerint a tiramin átlagos mennyisége fehérborokban 0,1 - 1,1 mg/l között mozog (Kállay, 2010). Ez az értéket egyedül a csak *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel erjesztett minta eredménye haladta meg. Az adatokat összevetve a 12. ábra szemlélteti.



12. ábra: a vizsgált borok tiramintartalma

### 5.7.3 A vizsgált borok szerotonin tartalma

A legmagasabb, 6,9 mg/l szerotonin tartalmat a csak *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel erjesztett borban (HD A54) mértük. Az első napon speciális vadélesztővel, majd a második napon *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel történt ráoltással erjesztett borban (1 Oc20+2Sc) és az első napon speciális vadélesztővel, majd a harmadik napon *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel történt ráoltással erjesztett borban (1 Oc20+3Sc) megegyezett a mért szerotonin mennyisége. A többi mintában 0 mg/l volt a kapott eredmény. A hazai szakirodalom szerint a szerotonin átlagos mennyisége fehérborokban 0 - 0,75 mg/l között mozog (Kállay, 1996). Ebbe a tartományba esik a spontán erjesztéssel készült tétel (Sp.), az első napon speciális vadélesztővel, majd a negyedik napon *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel történt ráoltással erjesztett tétel (1 Oc20+4Sc) és a csak speciális vadélesztővel erjesztett tétel (1 Oc20) szerotoninintartalma, a többi mintáé jelentősen az átlagos tartalom felett van. Az adatokat összevetve a 13. ábra szemlélteti.



13. ábra: a vizsgált borok szerotonin tartalma

## 6. Következtetések

A speciális vadélesztők hatására magasabb titrálhatóság tartalom képződött az összes mintában, és ezen tételek pH értéke is valamivel savanyúbbnak bizonyult. A speciális vadélesztők hatására harmonikusabb savösszetétel alakult ki, minden esetben több tejsav és kevesebb almasav, valamivel több borkósav képződött.

Az alkoholtartalom tekintetében elmondható, hogy a spontán erjesztéshez (kontroll) képest minden esetben csökkent a speciális vadélesztők hatására. A csak *Saccharomyces* élesztővel erjesztett tétel és az 1 Oc20+2 Sc-nél mért alkohol tartalom szinte megegyezik, ez azzal magyarázható, hogy a vadélesztőnek kevés ideje volt kifejteni a hatását, hiszen a ráoltás között 24 óra telt el. Összességében 0,93 v/v%-os csökkenést sikerült elérni a legmagasabb alkoholtartalmú, spontán erjesztett mintához képest. A sikeres alkohol csökkenés a keletkezett másodlagos erjedési termékek koncentrációjában is észrevehető. Mind a tejsav, mind a glicerin mennyiségében emelkedett értékek voltak kimutathatók a vadélesztős kezelés hatására.

A vizsgált paraméterek közül a cukortartalom alakulása mutatta a legerőteljesebb különbséget az egyes mintáknál. Minél több idő telt el a fajélesztővel történt ráoltás között, annál kevesebb cukrot sikerült alkohollá alakítani, a legmagasabb cukortartalommal pedig az a minta rendelkezett, ahol egyáltalán nem adtunk hozzá fajélesztőt, továbbá ebben az esetben sikerült leginkább csökkenteni az alkohol tartalmat a spontán erjedéshez képest. Összességében elmondható, hogy a kezelés hatására nem az összes cukor erjedt ki alkohollá, ezzel is csökkentve a keletkezett alkoholtartalmat.

Glicerintartalom tekintetében a speciális tulajdonsággal rendelkező vadélesztő hatására a glicerin tartalom esetében növekedés volt kimutatható, azonban még így is a szakirodalomban leírtaknak megfelel a mértéke (6-10 g/l) (Kállay, 2010). A spontán erjedéshez (kontroll) képest a kezelt tételekben a glicerin-piroszólósavas erjedés felé tolódott el a reakció. A kezeléshatás itt úgy mutatkozott meg, hogy az alkoholos erjedés alatt a cukrok egy része glicerin képződésre hasznosult.

A keletkezett tejsav mennyiségéről elmondható, hogy a spontán erjesztett mintához képest, a vadélesztővel kezelt tételekben magasabb koncentrációban volt kimutatható, ami a kezelés hatásának tudható be. Hiszen ebben az esetben is a kezelés hatásának érvényesüléséről beszélhetünk, mert a monoszacharidok erjesztése során az élesztő hatására több tejsav keletkezett.

A biogén amin tartalom szinte az összes tételben meghaladta a szakirodalomban leírt jellemző értéket a fehérborok vonatkozásában. Két mintában a haza szakirodalomban egészségügyi határértékként említett 5 mg/l érték felett képződött. Érdekesség, hogy ebből a magasabb értéket a csak fajélesztővel erjesztett mintában mértük. A mért biogén aminok közül ebben a mintában képződött a legtöbb.

Az alkoholcsökkentett mintákban egy kivételével a biogén aminok mennyisége egészségügyi határérték alatt maradt, vagy egyáltalán nem képződött. A vizsgálat nem terjedt ki a tejsavbaktériumok összetételére az egyes mintákban, azonban azonos helyről, azonos körülmények között erjesztett minták biogén amin összetételében és

mennyiségében mutatott eltérés arra enged következtetni, hogy az élesztő szerepet játszik a biogén aminok előállításában.

A kapott eredmények alapján a második és a harmadik napon fajlesztővel beoltott mintákat gondolom ígéretesnek az élvezeti értékkel bíró csökkentett alkoholtartalmú borok előállítása kapcsán. Általánosságban ezek rendelkeztek a leginkább harmonikus tulajdonságokkal, azonban ez a következtetés további kutatásokat és főként érzékszervi bírálatot igényel.

Borbás István

## 7. Összefoglalás

Az elmúlt időszakban bekövetkezett globális éghajlatváltozás a szőlészeti és borászati ágazatot is kiemelten érinti. Hatással van többek között a szőlőbogyóban kialakuló magasabb a cukorkoncentrációra, ennek következményeként pedig nagyobb alkoholtartalommal rendelkező borok kerülnek forgalomba. Ezen tényezők hatására megváltozó ízprofil és a fogyasztói igények miatt fontos kutatási területté vált a borok alkoholtartalmának csökkentésének lehetősége.

Az alkoholcsökkentett borok készítésekor nem elhanyagolható szempont megvizsgálni, hogy az alacsonyabb alkoholtartalom elérése érdekében módosított borkészítési eljárás milyen hatással lesz az így készült termékekre, hogyan befolyásolja, illetve befolyásolja-e a bor alapvető, és az olyan egyéb, egészségügyi határértékhez is kötött összetevőit, mint a biogén aminok.

Dolgozatomban főként a biogén aminok mennyiségével és összetételével foglalkoztam, leírva szerepüket általánosságban az élelmiszerekben, azon belül a borokban, felsorolva egészségünkre gyakorolt hatásukat és az egészségügyi határértékeket. Kitértem képződésük lehetőségeire és megvizsgáltam a borokban előforduló legjelentősebb biogén aminokat.

Összefoglaltam a csökkentett alkoholtartalmú borok készítésének okait és lehetőségeit, kitérve néhány, jelentősebb speciális vadélesztő fajtára. Bemutatásra került továbbá az alkoholos erjedés folyamata, a másodlagos erjedési termékek közül a tejsav, ami a harmonikus savösszetétel szempontjából a legjelentősebb.

A csökkentett alkoholtartalmú bor előállításához a magyar nemesítők által keresztezéssel előállított Generosa szőlő került felhasználásra. Bemutattam a szőlő eredetét és a fajta fontosabb jellemzőit szőlészeti és borászati szempontok alapján.

A Generosa szőlő mustjából spontán erjedéssel és csak *Saccharomyces cerevisiae* fajlesztővel erjesztett mintákat hasonlítottam össze kélesztett beoltással erjesztett tételekkel, melyek speciális tulajdonságokkal rendelkező vadélesztővel lettek beoltva az idő függvényében. Ezen mintákat savtartalom és összetétel, pH érték, cukor és alkoholtartalom, valamint biogén amin összetétel szempontjából vizsgáltam.

## Irodalomjegyzék

1. Ancin-Azpilicueta, C. et. al. 2008. Current knowledge about the presence of amines in wine. *Crit Rev Food Sci Nutr* 48:257–275
2. Andorrà, I., et. al. 2010. Effect of pure and mixed cultures of the main wine yeast species on grape must fermentations. *Eur. Food Res. Technol*, 231: 215–224.
3. Anli, R. E., Bayram, M. 2009. Biogenic amines in wines. *Food Rev Int* 25:86–102
4. Arena, M. E. et. al. 2008. Factors affecting the production of putrescine from agmatine by *Lactobacillus hilgardii* X1B isolated from wine. *J Appl Microbiol* 105:158–165
5. Azzolini, M., et. al. 2015. G. Contribution to the Aroma of White Wines by Controlled *Torulaspora delbrueckii* Cultures in Association with *Saccharomyces cerevisiae*. *World J. Microbiol. Biotechnol*, 31: 277–293
6. Bagheri, B., Bauer, F.F., Setati, M.E. 2015. The Diversity and Dynamics of Indigenous Yeast Communities in Grape Must from Vineyards Employing Different Agronomic Practices and Their Influence on Wine Fermentation. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 36: 243–251.
7. Baron, M. et. al. 2017. Terpene Content of Wine from the Aromatic Grape Variety ‘Irsai Oliver’ (*Vitis vinifera* L.) Depends on Maceration Time. *Open Life Sci*, 12: 42–50.
8. Beneduce, L. et. al. 2010. Biogenic amine in wines. *Annals of Microbiology* 60: 573–578. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0094-4>
9. Benito, S., 2018. The Impact of *Torulaspora delbrueckii* Yeast in Winemaking. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 102: 3081–3094
10. Busto, O., Guash, J., Borrull, F. 1996. Biogenic amines in wine: a review of analytical method. *J. International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 30. (2). 8-101 p.
11. Ciani, M., et. al. 2016. Non-conventional yeast species for lowering ethanol content of wines. *Front. Microbiol.* 7: 642.
12. Cominiti, F., et. al. 2011. Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiol*, 28: 873–882.
13. Coton, E. et. al. 1998. Histamine-producing lactic acid bacteria in wines: early detection, frequency and distribution. *Am J Enol Viticult* 49:199–204
14. Dr. Hajdu E., 2022. Az illatos Tramini és értékes utódai. *Magyar Mezőgazdaság*. <https://magyarmezogazdasag.hu/2022/12/05/az-illatos-tramini-es-ertekes-utodai>
15. Fernández, M. et. al. 2006. Real time polymerase chain reaction for quantitative detection of histamine-producing bacteria: use in cheese production. *J Dairy Sci* 89:3763–3769
16. Gambetta, G.A., et. al. 2020. The Physiology of Drought Stress in Grapevine: Towards an Integrative Definition of Drought Tolerance. *J. Exp. Bot*, 71: 4658–4676.
17. García, M. et. al., 2020. Sequential Non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces cerevisiae* Fermentations to Reduce the Alcohol Content in Wine. *Fermentation* 2020, 6(2): 60. <https://doi.org/10.3390/fermentation6020060>

18. Granchi, L. et. al. 2005. Production of biogenic amines by wine microorganisms. Bull OIV 78:595–609
19. Guerrini, S. et. al. 2002. Biogenic amine production by *Oenococcus oeni*. Curr Microbiol 44:374–378.
20. Kállay M., Bódy Szalkai (1996): Ammine biogene nei vini ungheresi. Riv. Vitic. Enol., N. 3. 29 -38.
21. Kállay M. 2010. Borászati Kémia, Budapest, Mezőgazda Kiadó Kft. 87., 91-92., 111, 114-115, 118., 131-137.
22. King, A.; Richard Dickinson, J. 2000. Biotransformation of Monoterpene Alcohols by *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspota delbrueckii* and *Kluyveromyces lactis*. Yeast Chichester Engl. 16: 499–506.
23. Landete, J. M. et. al. 2005. Biogenic amines in wines from three Spanish regions. J Agric Food Chem 53:1119–1124
24. Landete, J.M. et. al. 2007. Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine. Food Control 18:1569–1574
25. Lee, Y. H. et. al. 2007. CadC has a global translational effect during acid adaptation in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. J Bacteriol 189:2417–2425
26. Lehane, L. Olley, J. 2000. Histamine fish poisoning revisited. Int J Food Microbiol 58:1–37
27. Leitão, M. C. et. al. 2005. A survey of biogenic amines in commercial Portuguese wines. Food Control 16:199–204
28. Lonvaud-Funel, A. 2001. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. FEMS Microbiol Lett 199:9–13
29. Maintz, L., Novak, N. 2007. Histamine and histamine intolerance. The American Journal of Clinical Nutrition, 85/5: 1185–1196. <https://doi.org/10.1093/ajcn/85.5.1185>
30. Mangani, S. et. al. 2005. Putrescine accumulation in wine: role of *Oenococcus oeni*. Curr Microbiol 51:6–10
31. Martín-Álvarez, P.J. et. al. 2006. Influence of technological practices on biogenic amine contents in red wines. Eur Food Res Technol 222:420–424
32. Mestre Furlani, M.V., et. al. 2017. Selection of Non-*Saccharomyces* Yeasts to Be Used in Grape Musts with High Alcoholic Potential: A Strategy to Obtain Wines with Reduced Ethanol Content. FEMS Yeast Res, 17.
33. Mestre, M.V., et. al. 2019. Impact on Sensory and Aromatic Profile of Low Ethanol Malbec Wines Fermented by Sequential Culture of *Hanseniaspora uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* Native Yeasts. Fermentation, 5: 65.
34. Mohammad-Zadeh, L.F., Moses, L., Gwaltney-Brant, S. M. 2008. Serotonin: a review. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 31:3. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2008.00944.x>
35. Morata, A. et. al. 2018. *Lachancea thermotolerans* Applications in Wine Technology. Fermentation, 4: 53.
36. Nannelli, F. et. al. 2008. Determination of lactic acid bacteria producing biogenic amines in wine by quantitative PCR methods. Lett Appl Microbiol 47:594–599.
37. Nielsen, J. (szerk.). 2014. Why, when, and how did yeast evolve alcoholic fermentation? EMS Yeast Research, 14/6: 826–832. <https://doi.org/10.1111/1567-1364.12161>
38. Pretorius, I.S. 2020. Tasting the Terroir of Wine Yeast Innovation. FEMS Yeast Res. 20.

39. Renault, P., et. al. 2015. Increase of Fruity Aroma during Mixed *T. delbrueckii*/*S. cerevisiae* Wine Fermentation Is Linked to Specific Esters Enhancement. *Int. J. Food Microbiol.* 207: 40–48.
40. Rhee, J. E. et. al. 2002. Identification of the *cadBA* operon from *Vibrio vulnificus* and its influence on survival to acid stress. *FEMS Microbiol Lett* 208:245–251
41. Romano, P., et. al. 2003. Function of Yeast Species and Strains in Wine Flavour. *Int. J. Food Microbiol.* 86: 169–180.
42. Silla Santos, M. H. 1996. Biogenic amines: their importance in foods. *Int J Food Microbiol* 29:213–231
43. Smit, A. Y. et. al. 2008. Biogenic amines in wine: understanding the headache. *South African J Enol Viticul* 29:109–12
44. Soufleros, E. et. al. 1998. Correlation between the content of biogenic amines and other wine compounds. *Am J Enol Viticult* 49:266–269
45. Stockley, C.S. et al. 2012. *Controlling the Highs and the Lows of Alcohol in Wine*; Nova Science Publishers, Inc.: New York, NY, USA; ISBN 9781614706359.
46. Stockwell, T., et. al. 2016. Do “moderate” drinkers have reduced mortality risk? A systematic review and meta-analysis of alcohol consumption and all-cause mortality. *J. Stud. Alcohol Drugs*, 77: 185–198.
47. Tempère, S. et. al. 2018. *The Complexity of Wine: Clarifying the Role of Microorganisms*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 102: 3995–4007.
48. ten Brink, B. et. al. 1990. Occurrence and formation of biologically amines in food. *Int J Food Microbiol* 11:73–84
49. Tilloy, V. et. al. 2014. Reduction of ethanol yield and improvement of glycerol formation by adaptive evolution of the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae* under hyperosmotic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 80: 2623–2632
50. Tufariello, M. et. al. 2019. Selection of an Autochthonous Yeast Starter Culture for Industrial Production of Primitivo “Gioia Del Colle” PDO/DOC in Apulia (Southern Italy). *LWT*, 99: 188–196.
51. Tufariello, M. et. al. 2021. Influence of Non-*Saccharomyces* on Wine Chemistry: A Focus on Aroma-Related Compounds. *MDPI.* 26(3): 644 <https://doi.org/10.3390/molecules26030644>
52. van de Guchte, M. et. al. 2002. Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 82:187–216
53. Varela, C., et. al. 2015. Strategies for reducing alcohol concentration in wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* 21: 670–679.
54. Wilkinson, K. L., Jiranck, V. 2013. Wine of reduced alcohol content: Consumer and society demand vs. industry willingness and ability to deliver. In 1st International Symposium Alcohol Level Reduction in Wine; Institut des Sciences de la Vigne et du Vin: Villenave d’Ornon CEDEX, France, pp. 98–104



## Ábrajegyzék

1. ábra: Biogén aminok képződésének lehetséges formái (Kép: Kállay Miklós, Borászati kémia, 2010. 133. old.)	7
2. ábra: Hisztamin képződése (Kép: Kállay Miklós, Borászati kémia, 2010. 134. old.)	10
3. ábra: Szerotonin képződése (Kép: Kállay Miklós, Borászati kémia, 2010. 136. old.)	11
4. ábra: Az alkoholos erjedés sematikus vázlata (Kép: Kállay Miklós, Borászati kémia, 2010. 91. old.)	14
5. ábra: Generosa szőlő fürtje (Fotó: Kiszfai Ökokert Kft.)	17
6. ábra: a vizsgált tételek titrálhatóság tartalma és pH értéke	21
7. ábra: a vizsgált tételek almasav, tejsav, borkősav tartalma	22
8. ábra: Az alkoholtartalom alakulása a különböző kezelések hatására	23
9. ábra: A borok maradék cukortartalma	24
10. ábra: A borokban mért glicerin tartalom	24
11. ábra: a vizsgált borok hisztamin tartalma	25
12. ábra: a vizsgált borok tiramintartalma	26
13. ábra: a vizsgált borok szerotonin tartalma	26

## KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

A Bolbás Ildikó (hallgató Neptun azonosítója: CD6KTI) 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.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz:            igen    nem

Kelt: 2023. május 9.



Belső konzulens

Bolbás

## NYILATKOZAT

### a szakdolgozat, diplomamunka eredetiségéről és nyilvános vagy korlátozott hozzáféréséről

A szerző neve: Bolbás Ildikó

A dolgozat címe: Biogén amin koncentráció a csökkentett alkoholtartalmú borokban

A megjelenés éve: 2023.

A tanszék neve: Borászati Tanszék

Kijelentem, benyújtott szakdolgozatom egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi termékem. Tudomásul veszem, hogy a Budai Campus Tanulmányi Osztályon határidőben történő bemutatás nem jelenti dolgozatom szakmai és tartalmi elfogadását.

Kérem, válasszon az alábbi lehetőségek közül:

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a MATE Entz Ferenc Könyvtár

és Levéltár szakdolgozat archívumába. A teljes szöveg kizárólag a Budai Campus számítógépeiről tekinthető meg.

A vízjellel ellátott pdf dokumentum szerkesztését nem, megtekintését engedélyezem. Tudomásul veszem, hogy a vízjel nélkül leadott dokumentum szerzői jogai sérülhetnek.

**Dolgozatom titkosított. A titkosítás lejáratának dátuma: ..... év .....hó .....nap.**

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a MATE Entz Ferenc Könyvtár

és Levéltár szakdolgozat archívumába. A vízjellel ellátott pdf dokumentum szerkesztését nem,

**megtekintését a titkosítás határidejének lejártaát követően engedélyezem.** A teljes szöveg kizárólag a Budai Campus számítógépeiről tekinthető meg.

Tudomásul veszem, hogy a vízjel nélkül leadott dokumentum szerzői jogai sérülhetnek

Budapest, 2023. május 9.

szerző aláírása