



TOKAJI ASZÚ NYOMONKÖVETHETŐSÉGI VIZSGÁLATA FINOMANALITIKAI
MÓDSZEREKKEL

Doktori (PhD) értekezés

MATOLCSI RÉKA

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

BUDAPEST

2022.

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: Zámboriné dr. Németh Éva

egyetemi tanár, DSc, Kertészettudományi Doktori Iskola, iskolavezető

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Szőlészeti és Borászati Intézet

témavezető: Nyitrai dr. Sárdy Diána Ágnes

intézetigazgató

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Szőlészeti és Borászati Intézet

habil. egyetemi docens PhD.

.....

Az iskolavezető jóváhagyása

.....

A témavezető jóváhagyása

„A bor az embernek teremtett csodálatos adomány: feltéve, hogy egészségben vagy betegségben,
ésszel és mértékkel, jellemre szabottan fogyasztják. "

(Hippokratész, Kr. e. 5. sz)

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	6
2. CÉLKITŰZÉS	9
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	10
3.1 <i>A Tokaji borvidék</i>	10
3.1.1 <i>A Tokaji borvidék történelme</i>	11
3.1.2 <i>Tokaji borkülönlegességek</i>	12
3.1.3 <i>Nemesrothadás</i>	17
3.2 <i>A Tokaji aszúborok kémiai összetétele</i>	18
3.2.1 <i>Nemesrothadás hatására bekövetkező kémiai változások</i>	18
3.2.2 <i>Cukortartalom</i>	19
3.2.3 <i>Szerves savak</i>	20
3.2.4 <i>Többértékű alkoholok</i>	22
3.2.5 <i>Aromaanyagok és egyéb összetevők</i>	22
3.2.6 <i>Polifenolok</i>	23
3.2.7 <i>Biogén aminok</i>	26
3.3 <i>Az NMR technika</i>	28
3.3.1 <i>Az NMR technika alkalmazási lehetőségei</i>	30
3.3.2 <i>Az NMR technika elméleti háttere</i>	31
3.3.3 <i>Az NMR technika működési elve</i>	34
3.3.4 <i>NMR technika a borászatban</i>	38
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	42
4.1 <i>A vizsgálati anyag</i>	42
4.2 <i>Vizsgálati módszerek</i>	42
4.2.1 <i>Szőlőbogyó mintaelőkészítése</i>	43
4.2.2 ¹ H-NMR mérési módszer.....	44
4.2.3 <i>HPLC-s meghatározási módszer</i>	45
4.2.4 <i>Fotometriás analizátor /Thermo Scientific Gallery készülék/</i>	46
4.2.5 <i>Cukortartalom meghatározása</i>	48
4.2.6 <i>Alkalmazott statisztikai módszerek</i>	48
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	49
5.1 <i>A vizsgálati évek (2000-2020) főbb meteorológiai adatai, évjáratok jellemzése</i>	49
5.2 <i>Analitikai paraméterek meghatározása</i>	51
5.2.1 <i>Kész aszúborok vizsgálatának eredményei</i>	51
5.2.2 <i>Bogyóminták vizsgálata</i>	65
5.2.3 <i>Extrakcióra felhasznált borminták vizsgálata</i>	68
5.3 <i>Méréstechnikák összehasonlításai</i>	74

5.3.1	<i>NMR és HPLC technika összehasonlítása bogyóminták esetében.....</i>	<i>75</i>
5.3.2	<i>NMR és HPLC technika összehasonlítása extrakcióra felhasznált borminták esetében.....</i>	<i>77</i>
5.3.3	<i>NMR technika és fotometriás analizátor összehasonlítása bogyóminták esetében.....</i>	<i>83</i>
6.	KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	84
7.	ÚJ TUDOMÁNYOS MEGÁLLAPÍTÁSOK	85
8.	ÖSSZEFOGLALÁS	87
9.	SUMMARY	90
10.	MELLÉKLETEK.....	93

1. BEVEZETÉS

A Tokaji borvidék a világ első zárt borvidéke, ahol egyedülálló terroir uralkodik. Ez azt jelenti, hogy ezen a területen az egyedülálló éghajlatnak, biodiverzitásnak, topográfiának, talajtani adottságoknak, valamint az alkalmazott technológiának köszönhetően olyan terméket lehet előállítani, ami minden mástól megkülönböztethető. Tokaj-hegyalja egyik ilyen borkülönlegessége a Tokaji aszú, mely hazánkban az egyik fontos és a világban is széles körben is jól ismert termék.

A tokaji borkülönlegességek előállításának alapja az aszúszem. Tokaj-hegyalja mezo- és mikroklímája, gazdag talaja kedvez az aszúsodás folyamatának, amit egyrészt a *Botrytis cinerea* nevű gomba metabolizmusának biokémiai folyamatai, másrészt olyan fizikai változások, mint a szőlő tőkén való aszalódása, töppedése idéznek elő. A *Botrytis cinerea* hatására a szőlőbogyó nemesrothadáson esik át, mely alapjaiban megváltoztatja meg annak összetételét, ezzel különleges érzékszervi tulajdonságok kialakulását lehetővé téve.

A Tokaji aszúkészítés technológiáját ismerve az aszúszemeket a törvényi előírások szerint megfelelő arányban Tokaji borvidékről származó mustban vagy kiejert borban áztatják 12-48 órán keresztül, majd ezt követően az aszútésztát kipréselik és alacsony hőmérsékleten erjesztik, amit tölgyfahordós érlelés követ. Korábban az úgynevezett puttonyszámmal (3-4-5-6) jellemezték az adott borkülönlegesség minőségét. A legújabb törvényi előírások a késztermékben minimálisan elérendő alkohol-, illetve cukortartalmat írják elő, mely ténytet kis jóindulattal az 5 vagy 6 puttonyos aszúk jellemzőjének tekinthetünk (A TOKAJ oltalom alatt álló eredetmegjelölés termékleírása, 9. változat, 2020). Manapság az aszúszemek minősítése (osztályba sorolása) erősen szubjektív szemrevételezéssel és a bogyó cukortartalma (refrakció%) alapján történik. Jelenleg tehát nem létezik az aszúszemek és az aszúborok minősítésére objektív minősítési rendszer, ezért kutatásom innovációnak számít.

Kutatásom célja, hogy analitikai paraméterek alapján - többféle mérés technikai módszert használva – megvizsgáljam az alapanyagként szolgáló aszúszemek, az extrakcióra felhasznált folyadékminták (Furmint és Hárslevelű borok), továbbá a belőlük készült késztermék (Tokaji aszúborok) kémiai összetételét. További célom, hogy a mérési eredmények segítségével egymással összehasonlítsam az alkalmazott mérés technikákat azon kémiai paraméterek esetében, melyeket párhuzamosan is megmértem.

Vizsgálataimhoz a 2020-as évjáratban bogyómintákat gyűjtöttem Tokaj-hegyaljáról. A bogyóminták között megtalálhatóak egészséges szemek, I. és II. osztályú aszúszemek, töppedt szemek, valamint szamorodni készítésre szánt szőlőszemek. Ezenkívül nyolc évjáratból származó

száraz Furmint és Hárslevelű borokat mértem, melyeket az aszúkészítés során aszúáztatásra használnak. Továbbá 19 évjáratból (2000-2017; 2020) származó kész aszúbort vizsgáltam. Mintáimat NMR technikával, HPLC készülékkel, fotometriás analizátorral mértem meg, továbbá finomanalitikai méréseket is végeztem belőlük.

Kutatásomban arra voltam kíváncsi, hogy a lemért paraméterek alapján az említett minták csoportosítása elvégezhető-e. Ezek a kategóriák bogyóminták esetében: egészséges szemeket, I., II. osztályú aszúszemeket, töppedt szemeket, szamorodni készítésre szánt szemeket; folyadékminták esetében: Furmint és Hárslevelű fajták elkülönítése; a kész aszúborok esetében pedig évjárat szerinti osztályokat jelentenek.

Vizsgálataimhoz többek között a mai borászati analitikában alkalmazott legkorszerűbb technikát a Nukleáris Magmágneses Rezonancia (NMR) spektroszkópiát használtam /angolul: *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*/, mely innovatív megoldás borok vizsgálatára. Egyetlen NMR spektrum, ami a mintára jellemző egyedi, spektroszkópikus „ujjlenyomat”-nak tekinthető. Minden szőlőfajtának ugyanis van egy egyedi szerkezeti képlete, ami a saját genetikai térképét jelenti: a növény „ujjlenyomata”. Ez a fajspecifikusság a belőle készített termék (bor) összetételében is megjelenik, így az általunk mért 53 kémiai paraméter tartalmazza a technológiai kezelésekre és bizonyos élettani állapotra vonatkozó valamennyi információt. Ennek köszönhetően a technika sikeresen alkalmazható borok és számos szőlőből készült termék általános kémiai jellemzésére (Fotakis et al., 2013), bor évjáratának (Lee et al., 2009), a földrajzi eredet hatásainak (Son et al., 2009) tanulmányozása céljából, továbbá az alkoholos és malolaktikus fermentációs folyamatok (López-Rituerto et al., 2012) megfigyelésére.

A Tokaji aszúborok alapanyagául szolgáló aszúszemekben lehetnek olyan kémiai komponensek (borkősav, glükonsav, galaktársav (nyálkasav)), melyeknek kiemelt jelentősége van a *Botrytis cinerea* tevékenységének köszönhetően. Ezek a paraméterek alkalmasak lehetnek a későbbiek során az aszúszemek minősítésére a *botrytisztes* tevékenység mutatójaként, vagyis az aszúszem kémiai összetétele – amely függ a nemesrothadás mértékétől - jellemző lehet a késztermékre.

A NMR készülék által mért 53 kémiai paraméter közül a katechin és epikatechin a szőlő érése, így az aszúsodás során is jelzőszámok. A kaftársav a kávésav és a borkősav észtere, melyből a fahéjsav-észteráz enzimet tartalmazó rothadást okozó gombák, mint például a *Botrytis cinerea* képesek nagy mennyiségű szabad fahéjsavat felszabadítani. A sikiminsav meghatározása alkalmas lehet különböző fajták megkülönböztetésére a fenolos vegyületek bioszintézisében való szerepét

figyelembe véve. A galluszsav a fahordós érlelés során bekerülő vegyületek közül a legfontosabb vegyület.

A kísérleti munka megvalósításához szükséges analitikai mérések egy részét a Diagnosticum Zrt. Szerencsen működő borászati laboratóriumában megtalálható NMR készülékkel és Gallery fotospektrometriás analizátor segítségével végeztem el, a további vizsgálatokat pedig a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetemen található HPLC-vel hajtottam végre, továbbá a Borászati Tanszék laboratóriumában végeztem el a hagyományos vizsgálatokat. Vizsgálataim tárgyát Tokaji aszúborok, Tokaj-hegyaljáról származóbogyóminták, valamint aszúáztatásra szánt folyadékminták (Furmint és Hárslevelű) képezték.

Kutatásomban egy új, korszerű technikáról van szó, mellyel eddig még nem végeztek hasonló méréseket.

Jelen értekezés több évjáratban folytatott kutató- és adatgyűjtő munka eredményeit mutatja be és dolgozza fel.

2. CÉLKITŰZÉS

Dolgozatomban az alábbi célokat tűztem ki:

1. Analitikai paraméterek meghatározása az alábbi mintákból:

a. Kész aszúborok

- 2000 és 2020 közötti évjáratokból származó aszúborok kémiai összetételének tanulmányozása az NMR technikával mérhető analitikai paraméterek alapján.
- Kész aszúborok évjáratok szerinti kategorizálása az NMR technika segítségével mért kémiai paraméterek alapján.

b. Bogyóminták

- Különböző típusú bogyók (egészséges szőlőszemek, I. és II. osztályú aszúszemek, töppedt szemek, szamorodni készítésére szánt szőlőszemek) csoportokba sorolása az általunk különböző technikák segítségével mért paraméterek alapján.

c. Extrakcióra felhasznált borminták

- Furmint és Hárslevelű minták fajta szerinti csoportosítása az általunk különböző technikák segítségével mért paraméterek alapján.
- Furmint és a Hárslevelű fajtájú minták egymástól történő elkülönítése (kategorizálása) az általunk különböző technikák segítségével mért kémiai komponensek alapján.

2. Különböző mérés technikák összehasonlítása

Bizonyos kémiai paramétereket különböző mérés technikák segítségével is meghatároztam. A borkősavat, tejsavat, citromsavat, fumársavat, galakturonsavat, borostyánkősavat, sikiminsavat NMR és HPLC készülékkel párhuzamosan mértem meg. Az L-almasavat, valamint a glükonsavat NMR technikával és fotometriás analizátorral határoztam meg.

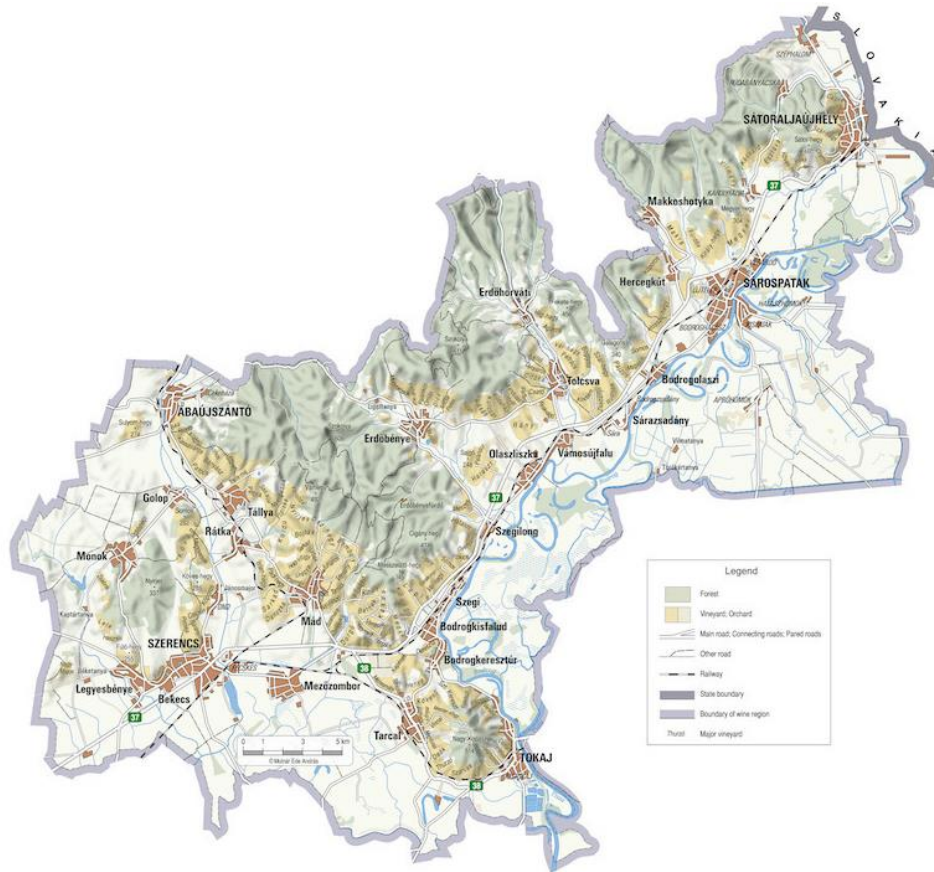
Céлом összehasonlító elemzés készítése annak tanulmányozására, hogy a különböző technikák által kapott mérési eredmények egymáshoz viszonyítva hogyan alakultak.

- NMR és HPLC technika összehasonlítása bogyóminták és extrakcióra felhasznált borminták esetében.
- NMR és HPLC technika összehasonlítása extrakcióra felhasznált borminták esetében.
- NMR technika és fotometriás analizátor összehasonlítása bogyóminták esetében

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1 A Tokaji borvidék

A Tokaji borvidék Magyarország észak-keleti részén, 5860 hektárnyi területen, a Zempléni-hegység déli oldalán, a sátoraljaújhelyi Sátorhegy, az abaújszántói Sátorhegy és a tokaji Kopasz-hegy közötti háromszögben terül el 87 km hosszúságban. Erre utal az „Incipit in Sátor, definit in Sátor” latin mondás, ami azt jelenti, hogy „Sátornál kezdődik, Sátornál végződik” (Pap, 1985).



1. ábra A Tokaji borvidék (Molnár Ede András)
(Forrás: https://www.guildsomm.com/public_content/features/article/b/eric-danch/posts/tokaj-part-two)

A borvidék éghajlata erősen kontinentális, ami azt jelenti, hogy időjárása mérsékelten száraz, de ugyanakkor mérsékelten meleg is (Zelenák, 2012). A Bodrog és a Tisza folyók közelségének, a hegylankáknak, domboldaloknak köszönhető mikroklímához a legtöbb helyen vulkanikus alapközet (andezit, riolit, s ezek tufái), illetve az ezen kialakult nyiroktalaj társul.

A borvidék alapközetének és talajának mai formája az elmúlt mintegy 10 millió évben zajlott vulkanikus tevékenység következtében alakult ki (Bihari, 2019).

Az ásványi anyagokban gazdag vulkáni kőzetten testes, tüzes, kiváló minőségű, lassan fejlődő borok készíthetők. Mindemellett egyes részeken (pl. Kopasz-hegy, Abaújszántó) lösztakaró alakult ki, mely egészen különleges ízérzetet képes adni az ott termelt szőlőből készült bornak, ezzel könnyű, illatos borok készítését teszi lehetővé. A nyiroktalaj egyedülálló mineralitást kölcsönöz a bornak, a Ramann-féle barna erdőtalaj pedig rendkívüli vízgazdálkodással és sok tápanyaggal látja el a szőlőt (Botos és Marcinkó, 2005).

Mindenképpen figyelembe kell vennünk még a borvidék folyóinak hasznosító moderáló hatását is. A két nagy folyó, a Tisza és a Bodrog mellett, számos kisebb folyó és patak befolyásolja a vidék mezoklimáját. A folyó vizeknek és a köztük lévő ártérnek köszönhetően nagy mennyiségű pára csapódik le a szőlőültetvényeken, ezzel pedig elősegítve a szőlő nemes rothadását esős, őszi időben (Alkonyi 2009).

A különleges mezo, - és mikroklíma, a gazdag talaj, a jól megválasztott szőlőfajták, az aszúsodást előidéző gomba és a több évszázados hagyományok révén a Tokaji borvidék a világon egyedülálló terroirnak számít. Ez azt jelenti, hogy ezen a területen az egyedülálló éghajlatnak, biodiverzitásnak, topográfiának, talajtani adottságoknak, valamint az alkalmazott technológiának köszönhetően olyan terméket lehet előállítani, ami minden mástól megkülönböztethető (OIV, 2010).

Az eredetvédelem ma 6 fajtát rögzít a borvidéken: Furmint (3620 ha), Hárslevelű (1090 ha), Sárgamuskotály (490 ha), Zéta (116 ha), Kövérszőlő (44 ha), Kabar (16 ha). Ebből a 6 engedélyezett fajtából lehet száraz szamorodni bort készíteni.

3.1.1 A Tokaji borvidék történelme

Már a honfoglalás előtt is termesztettek szőlőt Tokaj-hegyalja területén, de csak az 1241-'42-es tatárjárást követően lendült fel igazán, amikor IV. Béla király olasz telepeseket hozatott be az országba, akik szőlőműveléssel foglalkoztak.

A borvidék a XVI.-XVIII. században vált világhírévé. Bár a tokaji aszú első leírójának Szepesi Laczkó Mátét (Lórántffy Zsuzsanna református lelkészét) tartják, aki 1630-ban lejegyezte a pontos aszúkészítési technológiát, mégis már a XVI. századból vannak írásos emlékek a tokaji aszúról.

Az aszú legnagyobb felvevőpiaca Lengyelország volt. Hegyalja aranya sok királyi udvarba eljutott lengyel kereskedők révén. II. Rákóczi Ferenc még diplomáciai fizetőeszközként is használta a tokaji aszút. 1724-ben, miután a szabadságharc elbukott, bizottság jön létre a borhamisítás megakadályozására, a minőség- és eredetvédelem érdekében (Zelenák, 2012). 1737-ben királyi rendeletben zárt borvidékké nyilvánították Tokaj-hegyalját. 2002-ben a Tokaji

borvidék a szőlőtermesztési hagyományainak, borkülönlegességeinek és egyediségének köszönhetően méltán vált a Világörökség részévé.

A világháborúk idején a tokaji borok helyzete tovább romlott. Az első világháborút lezáró trianoni békeszerződést követően stratégiai fontosságú területek (pl. Kassa, mint kereskedelmi központ) veszttek el. Sok hazai és külföldi felvevőpiac meg is szűnt. A második világháború utáni időszakban lezajlott államosítás, tervgazdálkodás pedig meggátolta a minőségi bortermelést. A tokaji aszú uniformizálódott.

Ebből a válságból csak a rendszerváltással együtt járó szerkezet- és szemléletváltás menthette meg a borvidéket. Az 1990-es években a régi történelmi birtokok újraéledtek, magántársaságok jöttek létre, egyre több külföldi tőke érkezett a borvidékre. Mindezek lehetővé tették a minőségi bortermelés technológiai feltételeinek képülését. A termelők ma már dűlőszelektált borokat is készítenek, ami a termőhely fontosságát mutatja.

3.1.2 Tokaji borkülönlegességek

A Tokaj nevet az egész világon a borral azonosítják. A tokaji bor értékét a különleges minőség és a több évszázados munka eredményeként megtalált harmónia adja. Történelmi múltja és hagyományai miatt tekinthető hungarikumnak (MTA, 1999).

A Tokaji borvidék hazánk egyetlen zárt borvidéke, ezért különleges eljárások vonatkoznak rá a magyar bortörvényben. Az itt termelt szőlőt, cefrét, mustot, bort más vidékek termékeivel együtt tilos feldolgozni. Továbbá törvény határozza meg a termőhelyről származó minőségi borok és különleges minőségű borok (Furmint, Hárslevelű, Sárgamuskotály és Zéta), valamint a tokaji borkülönlegességek (másolás, fordítás, szamorodni, aszú, aszúeszencia, eszencia) fajtáit, illetve ezek készítésének szabályait (Haraszi, 2006).

3.1.2.1 Aszúbor

Az aszúbor – a Tokaji borvidék természetes fehér édes bora – egy nagyon különleges terméke nemcsak Magyarországnak, hanem a borvilág egészének is. Nem véletlenül nevezte XIV. Lajos francia király a botritiszes borokat a „királyok bora, borok királyának” („*Vinum regnum rex vinorum*”).

A tokaji termék-leírás (ver9. 2020) megfogalmazása szerint a Tokaji aszúszemek „a Tokaji borvidék szőlőfajtáinak *Botrytis cinerea* (nemespenész) hatására nemesen aszúsodott szőlőbogyói, amelyek külsőleg hamvas, csokoládébarna, belsejükben sárgásbarna, barna színűek. Az aszúszemek töppedtek, húsállományuk „zsíros” tapintású, felületük *Botrytis cinerea*-val különböző mértékben fedett”.

A Tokaji aszú előállítására nagyon munkaigényes folyamat, melynek minden fázisát nagy gondossággal ellenőrzik. Az aszúsodott, töppedt szőlőt szemenként szedik le a tőkéről többszöri átválogatással.

Az aszúszemeket minőségi kategóriákba sorolhatjuk. Ennek legegyszerűbb módja a szárazanyagtartalom (főként cukor) alapján történő osztályozás. A jelenlegi minőségi kategóriák az alábbiak:

I. osztály: 60 Ref % és felette

II. osztály: 50-59 Ref %

III. osztály: 45-49 Ref %

A 2020. évi CLXIII. törvény a szőlészetéről és borászatáról megfogalmazása szerint “Tokaji aszú: a *Botrytis cinerea* hatására nemesen rothadt, tőkén aszúsodott, szüretkor kézzel külön szedett, feldolgozott szőlőbogyók mustban, részben erjedt szőlőmustban, még erjedésben lévő újborban vagy azonos évjáratú borban történő áztatását követő alkoholos erjedés útján nyert, és a forgalomba hozatal előtt fahordóban érlelt Tokaji borkülönlegesség”.

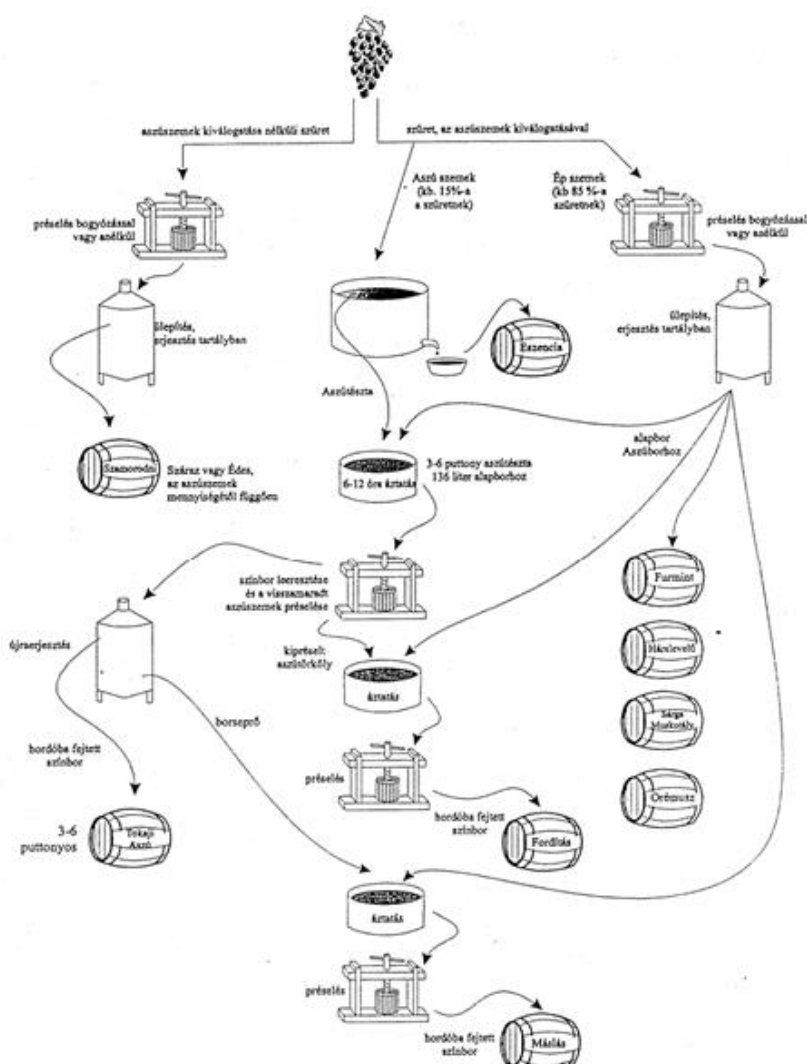
A Tokaji aszúborokat a termék-leírás értelmében minimum 18 hónapig tokaj-hegyaljai pincében kell fahordóban érlelni, illetve leghamarabb a szüretet követő harmadik év január 1-én hozható forgalomba.

Az aszúszemeket a Tokaji borvidékről származó mustban vagy borban áztatják. Régen az aszúszemeket fa puttonyokba (25-27 kg) gyűjtötték, majd egy kádba ürítették. Ehhez pedig egy gönci hordónyi (136-140 l) mustot, illetve bort öntöttek. Az aszú puttonyszáma (3-4-5-6) aszerint alakult, hogy hány puttony szőlőt öntöttek az alapborhoz. Ma már a puttonyoknak csak a hagyományőrzésben van szerepük. A borok beltartalmi értékeivel, a g/l cukortartalommal (60-90-120-150 g/l) fejezik ki, hogy hány puttonyos az aszú. A 3 puttonyos aszú 1 literében pl. minimum 60 g természetes cukor és 25 g extrakt (=egyéb szárazanyag) található. Ez az érték „puttonyszámonként” 30 g cukorral és 5 g szárazanyag-tartalommal emelkedik. A 6 puttonyos aszú literében így már legalább 150 g cukrot és a 40 g extraktot, az ennél is édesebb aszúszencziában pedig már 180 g/l cukrot és 45 g/l extraktot is találhatunk (MAGYAR BORKÖNYV, tervezet, 2002). A 12-48 órás áztatást követően kipréselik az aszútésztát, majd ezután következik az erjesztés. Az aszúkat forgalomba hozatal előtt legalább 3 évig érlelik, ebből legalább két év tölgyfahordós érlelés. A borok palackozása jellegzetes „Tokaji” formájú palackba történik.

Az **aszúeszencia** az aszúhoz hasonlóan készül, de jóval magasabb (legalább 180 g/l) cukortartalommal rendelkezik, ami gyakorlatilag 8 puttonyos aszúnak felel meg.

3.1.2.2 Eszencia

Külön kategória az **eszencia**. Az eszencia az aszúsodott szőlőből saját súlyánál fogva kicsorgó szőlőlé, mely egy szörpsűrűségű, mézédés folyadék. Hosszú éveken keresztül üvegballonokban tárolják, ha nem házasítják vissza az aszúhoz. Technológiai szerepe, hogy az aszúborokhoz erjedés után adagolják (KSH, 2016). Az esszencia italkülönlegesség, egy literben akár 800 gramm cukor is lehetséges. Ez már nem tud kiejedni, alkohol tartalma legfeljebb 3-5 térfogatszázalék. Gyógyhatását már Paracelsus kimutatta az 1500-as évek elején. A cukorban rendkívül gazdag must nemcsak lassan erjed, hanem erjedése általában nem is éri el az alkoholos erjedésnél szokásos max. 18%-ot. Sok esetben az esszencia-borok alkoholtartalma 2–3% (Hajós és Hajós, 2011).



2. ábra A Tokaji borok készítésének technológiája (Bene, 2004)

3.1.2.3 Tokaji fordítás és másolás

Tokaji **fordítás és másolás** ritkábban forgalmazott tokaji borkülönlegességek. A fordítás készítése során a kipréselt aszútésztára öntenek újra mustot vagy bort, másodaszút kapnak. Az áztatás és a szamorodnihoz hasonló idejű érlelés alatt, jellegzetes ízvilágú bor jön létre. Ez nem olyan édes, mint az aszú, de jellegzetes, nagyon kellemes ízek és zamatok érezhetők a borban (KSH). A másolás esetében az aszú, illetve a szamorodni seprőjére öntenek ismét bort és kiáztatják a még a seprőben található aromaanyagokat. A fordítást és a másolást általában házasításra használják.

3.1.2.4 Szamorodni

A tokaji borféleségek között sajátos helyet foglal el a szamorodni. Ezt a tokaji borkülönlegességet az aszúszemek kiválogatása nélkül, teljes vagy részben aszúsodott szőlőfürtökből készítik úgy, hogy az érett fürtöket és aszús fürtöket együtt dolgozzák fel. Maga az elnevezés is erre utal, ugyanis a szamorodni megnevezés a lengyel szamorodnij ("ahogy született") szóból származik. Hajdanában Tokaj-hegyalján lengyel munkásokat foglalkoztattak, akik az „ahogy saját maga terem” kifejezést „samorodny”-ra fordították.

A szamorodni száraz és édes változata is kiváló aperitif. A bogyózás után a szőlőt azonnal (vagy egy rövid áztatást követően) préselik. Az aszúszemek minőségétől és mennyiségétől függően száraz (10 g/l-nél alacsonyabb cukortartalom) és édes (10 g/l-nél magasabb cukortartalom) szamorodnit készítenek. A szamorodnit legalább két évig kell érlelni, amiből egy év legalább fahordós érlelés.

A szamorodni erjesztésénél egy különleges biológiai jelenség, a hártya alatti erjedés valósulhat meg. Ilyenkor az erjesztőgomba vékony hárttyát képezve védi a cefrét a levegő oxigénjétől, ugyanakkor a gomba anyagcseréje a must alkotóanyagainak részvételével különleges termékeket, legfőbbképpen aldehidszármazékokat eredményezhet. Európai összehasonlításban a szamorodni rendkívüli hasonlóságot mutat a kelet-francia, Jura-vidékről származó „vin janue”-nal (sárga bor), mely szintén hártya alatti erjedéssel készül. Hasonlóképpen a szamorodnival rokon vonásokat fedezhetünk fel a spanyol sherryben, melyet mesterséges oxidációval állítanak elő, bár ezt „avinálással” magasabb alkoholszintre állítják be (Hajós és Hajós, 2011).

A szamorodnihoz hasonlóan készül a késői szüretelésű furmint, amelyet azonban csak néhány hónapon keresztül érlelnek. Ezek a borok frissek, gyümölcsaromájúak.

3.1.2.5 A Tokaji borvidék meteorológiai változásai

A klímaváltozás a világ és hazánk szőlőtermesztését is érintő jelenség, mely az utóbbi évtizedekben a Tokaji borvidéken is érezhető hatású. Ez a változás nem csupán a hőmérséklet emelkedését jelenti, hanem az egyre gyakoribb szárazság és aszály a nemes tokaji borok készítésének alapfeltételét, az aszúsodás folyamatát is veszélyeztetheti. A szakirodalomban számos olyan tanulmány található, mely a megváltozott időjárási körülmények és a szőlő- illetve borminőség között fennálló összefüggéseket taglalja. Turmanidze (1992) a magas cukortartalmú desszertborok termesztéséhez szükséges aktív hőösszeg értékét 4100 felett, a legmelegebb hónap átlaghőmérsékletét 24 °C felett, az éves csapadék mennyiségét 350-800 mm-ben adja meg. Makra és munkatársai (2009) munkájukban bemutatják, hogy a Tokaji borvidéken termelt borok mennyisége és minősége szignifikánsan összefügg a klimatikus tényezőkkel.

Meteorológiai definíciók:

Aktív hőösszeg: a vegetáció során – rügypattanástól lombhullásig – mért napi átlaghőmérsékletek 10 °C feletti értékének kumulált összege.

Huglin-index: az április 1. és szeptember 30. között mért napi átlaghőmérsékletek 10 °C fölötti értékének kumulált, és egy, a szélességi kör által meghatározott szorzóval korrigált összege. Így a Huglin-index azt is figyelembe veszi, hogy a nyári nappalok eltérő szélességi körökön eltérő hosszúságúak (Leskó és Leskó, 2012)

Leskó István 1988 óta Mádon végzett meteorológiai és szőlőfenológiai megfigyelései alapján egyre több évjáratban szembesülhetünk a mediterrán éghajlatra jellemző időjárási jelenségekkel, történésekkel. Az elmúlt 30 évben elsősorban az 1993-as, a 2000-es és a 2011-es év időjárását jellemezhettük mediterránként a Tokaji borvidéken (Leskó, szóbeli közlés).

A Tokaji-borvidék mediterrán jellegű évjáratainak jellemzői:

- Megváltozott a csapadék mennyisége és eloszlása. Tokaj-hegyalján a sokéves átlag körülbelül 600 mm-nyi csapadékot – esőt és havat – jelent. Ehhez képest a mediterrán jellegű évjáratokban összesen 450-500 mm hullik (100-150 mm-rel kevesebb hullik évente). Ebből a vegetációs időszakban – vagyis a fakadástól a lombhullásig – kb. 300 mm.
- Jellemző, hogy a páraszegény, aszályos napok száma megemelkedik.
- A 25 °C feletti átlaghőmérsékletű napok száma megnő (50 napra, az átlagos érték 30-40 nap).

- A vegetációban az aktív hőösszeg (2000 °C fölé) és a Huglin-index értéke (2800-2900 °C-ra emelkedik).
- A perenoszpóra csak tüneti szintű.
- A lisztharmat gomba dominál, de tartós légköri aszályban nem okoz kárt.
- Jellemző az ép szőlőtermés. A szürkepenész és az aszúsodás elmarad. Gyakoribb a fiziológiai bogyórepedés nélkül betöppedt szőlő. A bogyó héja szívós, vastagabb, gyakran ráncosodik.
- Savszegény lehet a szőlőmust, ezért a szüreti időpontot helyesen kell megválasztani.
- Gyümölcsösebb, lágyabb, cukorban és szárazanyagban gazdagabb a termés.
- A nagy forróság miatt már a szőlőtőkén oxidálódik a termés, a bőrszövet mélysárgává, szeplőssé színesedik.

A mediterrán időjárás kedvezőtlenül befolyásolja a *Botrytis cinerea* tevékenységét, ezzel az aszúsodás folyamatát. A száraz, páramentes légkör nem kedvez a konídiumok kifejlődésének, a tőkén hagyott termés csak egyszerűen betöpped, aszalódik. A bogyók héja vastagabb marad, így a kivonatolás is nehezebb a borkészítés során (Leskó és Leskó, 2012).

3.1.3 Nemesrothadás

3.1.3.1 Az aszúsodás folyamata

A Tokaji borvidék különleges mezo, - és mikroklímája, gazdag talaja kedvez az aszúsodás folyamatának, amit egyrészt a *Botrytis cinerea* nevű gomba metabolizmusának biokémiai folyamatai, másrészt olyan fizikai változások, mint a szőlő tőkén való aszalódása, töppedése idéznek elő.

A *Botrytis cinerea* fakultatív parazita penészgomba. Mivel kifejezetten a termést, azaz a szőlőfürtöt károsítja, a borminőségre gyakorolt hatása az egyéb kórokozókéhoz képest kiemelkedő. „Kétarcú gombának” is szokás nevezni, ugyanis többnyire súlyos kártevőként a szürkepenész („grey rot”) nevű betegség okozója, viszont speciális körülmények esetén szerepe kedvező is lehet (nemesrothadás, „noble rot”) (Fournier et al., 2013). A szürkerothadás olyan állapot, mely a szőlőbogyókat bortermelésre alkalmatlanná teszi ezzel jelentős gazdasági károkat okozva (Elmer és Michailides, 2007).

A botritiszes nemesrothadás, azaz az aszúsodás kialakulásához legalább három alapvető feltételnek kell együttesen teljesülnie: (1) a gombafertőzést indukáló nedves időjárás a szőlőt teljes érésben érje, (2) ugyanakkor a bogyók épek, sérülésmentesek legyenek, (3) a néhány napos

csapadékos-párás időszak után pedig hosszú, száraz periódus következzen (Magyar, 2010). A fertőzés folyamata az egészséges szőlőtől a nemesen rothadt szőlőig a környezeti feltételektől függően kb. 5-15 napig tart. Ebben az időszakban váltakozva követik egymást rövid, nedves periódusok (3-4 nap), és hosszabb, szárazabb periódusok (kb. 10 nap). Az alapvető feltételek mellett fontos szerepe van a szőlőfajának is. Az aszúsodásnak a túl vékony, sérülékeny bogyóhéj és a tömött fürt nem kedvez, mert a folyamat könnyen szürkerothadásba torkollik (Magyar, 2010). A szőlőfürt szerkezete minél lazább legyen, hogy a napsugárzás minél nagyobb felületen érje és megfelelő legyen a szellőzése, továbbá olyan talaj szükséges, ami jól elvezeti a vizet (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

A *Botrytis cinerea* behatol a bogyóba, az annak felületén megtalálható mikrorepedéseken keresztül behatol, majd az ott végbemenő enzimatikus maceráció hatására a szőlőbogyó betöpped, értékes anyagai nagymértékben bekonztrálódnak, másrészt megváltozik a szőlőbogyó összetétele (vízvesztés, cukorkoncentráció növekedés) (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Amikor a micéliumok teljesen behatolnak a sejtfalba, a fehér szőlőszemek jellegzetes „csokoládé” színárnyalatot kapnak (Donéche, 1993; Ribéreau-Gayon et al., 2006).

A *botrytisz*es bogyók összetételbeli sajátosságai meghatározzák a belőlük készített borok minőségét is.

3.2 A Tokaji aszúborok kémiai összetétele

Az alábbiakban azokat a kémiai komponenseket mutatom be részletesebben, melyek a *Botrytis cinerea* hatására bekövetkező nemesrothadás során változáson mennek keresztül.

3.2.1 Nemesrothadás hatására bekövetkező kémiai változások

A nemesrothadáson átesett szőlőszem az egészséges (nem fertőzött) szőlőbogyóhoz képest külső megjelenésében és kémiai összetételében is különbözik (Negri et al, 2017).

A túlérés során a fűrtkocsány elfásodásával megszűnik az anyagáramlás a tőke és a bogyó között, így az elpárolgott víz nem tud pótlódni. Ennek eredményeként a szőlőbogyóban lévő víz elpárolog, a bogyó oldott anyagai nagymértékben bekonztrálódnak, vagyis a cukor, a glicerin, etanol, citromsav, glükonsav, valamint a borostyánkősav koncentrációk növekednek. Ezenkívül a sejtfal lebomlik, ami szöveti öregedést okoz, további nedvességvesztést és szöveti változásokat eredményez (Furdiková et al., 2019).

Számos szerkezeti, szín- és biokémiai változás mellett a nemesrothadáson átesett bogyóknak karakteres aromaprofilja alakul ki, ennek köszönhetően egyedi érzékszervi

tulajdonságok alakulnak ki belőle készült borban (Ribéreau-Gayon et al., 2006; Hodúr et al., 2016).

Egy aszúszem fő tulajdonságai tehát a magas cukor-, sav-, glicerin- és ásványianyag-tartalom, a megváltozott polifenol, poliszacharid és fehérje összetétel, valamint az úgynevezett botrytisztes aromaanyagok (Sarrazin et al., 2007; Magyar, 2011).

A *Botrytis cinerea* okozta változásokat a must és a bor kémiai összetételében az 1.számú táblázatban foglaltam össze.

1. táblázat *Botrytis cinerea* hatása a must és a bor kémiai összetételére

Csökkenés a must összetételében	A változás hatása a borra
Termésmennyiség, lényeredék Cukortartalom abszolút értékben csökken, glükóz:fruktóz arány megváltozik (glükózt előnyben részesíti). Borkősav, almasav mennyisége csökken Aminosavak Vitaminok csökkenése (tiamin) Pektin (pektinbontás)	A bor maradék cukortartalmát alacsony glükóz:fruktóz arány jellemzi (<1). Vontatott erjedés (főleg a gomba által okozott tápanyaghiánynak köszönhetően). Nyálkasav, nyálkasavas kalcium
Növekedés a must összetételében	
Relatív cukortartalom nő Glicerin 5-10 g/l Glükonsav > 5 g/l Citromsav, borostyánkősav Ketonsavak (piroszőlősav, 2 - ketoglutársav) Polifenoloxidázok Poliszacharidok (β-glükán) szintézise	Borban tovább növekszik, >10 g/l Élesztők nem erjesztik, borban változatlan Különleges savösszetétel Kötött kénessav mennyisége nő Barnulási hajlam, barnatörés Rossz szűrhetőség

Forrás: Kállay és Nyitrai, 2003; Kiss, 2007

3.2.2 Cukortartalom

A bogyó cukorkoncentrációjában a párolgás következtében nagyon jelentős növekedés tapasztalható. A *Botrytis cinerea* metabolizmusa és a fizikai bekoncentráció egyensúlyának következtében a bogyóban a cukortartalom többnyire 500-800 g/l között van, az aszúszemek musttal vagy borral való áztatása következtében a kiindulási cukorkoncentráció tartomány általában 250-350 g/l közé esik az erjesztés előtt álló, úgynevezett nyers aszúk esetén, de az esszenciáknak az 500 g/l-t is jóval meghaladhatja (Magyar, 2011).

Mivel a *Botrytis cinerea* a glükózt előnyben részesíti a fruktózzal szemben, a glükóz/fruktóz arány 1 alá csökken. A glükóztartalomhoz képest nagyobb fruktóztartalom a borok édességérzetét fokozza. A *Botrytis* az egyéb hexózok (ramnóz, galaktóz, mannóz) és pentózok (arabinóz, xilóz) mennyiségét is növeli a szőlő poliszacharidjainak és pektinanyagainak lebontásával (Magyar, 2011). A gomba enzimeji lebontják a poliszacharidokat, ami a β -glükán, poliolo (mannit, eritrit és mezoinozitol), arabinóz, ramnóz, mannóz, galaktóz, xilóz és galakturonsav felhalmozódásához vezet (Jackson, 2008). Ezek a poliszacharidok, különösen a β -D-glükán tisztíthatósági problémákat okozhatnak a borkészítés során (Dubourdieu, 1982; Villettaz et al. 1984).

3.2.3 Szerves savak

A szőlőben levő savtartalom változásának ismerete nagyon fontos, ugyanis jelentősen befolyásolja a belőle készülő bor összetételét és minőségét. A szőlőbogyó, és így a mustok savtartalmát nagyrészt három szerves sav alkotja: a borkősav, almasav, citromsav. A borok szerves savainak jelentős részét szintén ez a három sav alkotja, továbbá az alkoholos erjedés és a malolaktikus fermentáció következtében tejsav, borostyánkősav és ecetsav található még a borokban.

A *Botrytis cinerea* tevékenységének hatására a must összetételében növekszik a citromsav és a borostyánkősav mennyisége, melynek eredményeként a borban egyfajta különleges savösszetétel alakul ki. A tokaji borok savtartalma az átlagosnál magasabb. A szamorodnik átlagos titrálható savtartalma 5-9 g/l, az aszúké 5-10 g/l, az eszenciáké 6-11 g/l (Somlyai, 1998).

A *botritizálódás* hatására a szőlő titrálható savtartalma csökken, a pH emelkedik, annak ellenére, hogy a citromsav, glükonsav, galaktársav, oxo-glükonsav, glükuronsav is képződik (Blouin, 2000). Ennek magyarázata lehet az is, hogy a pH-t elsősorban a borkősav koncentrációja alakítja, ugyanis a *Botrytis* az aszúsodás során a borkősav 70-90%-át is felhasználhatja, ami miatt a pH általában növekszik. Az almasavcsökkenés kisebb mértékű, annak 50-70 %-a bomlik le a folyamat során (Doneche, 1993). Ezt a megállapítást támasztja alá Lorenzini et al. (2013) vizsgálata, melynek során *Botrytis cinerea*-val beoltott szőlőből nyert lé és nem beoltott bogyókból származó lé összetételének tanulmányozásakor előbbi esetben alacsonyabb borkősav tartalomról számolt be (1,99 g/l), mint az utóbbi tekintetében (3,48 g/l).

A *Botrytis* bizonyos savakat is termel enzimtevékenység (pektolitikus, cellulózkomplex, proteáz és foszfolipáz) során (Ribéreau-Gayon et al., 2000), amelyek nem voltak eredetileg jelen a bogyóban (pl. glükonsav, glükuronsav, galaktársav).

Glükuronsav a nemesrothadáson vagy rothadáson átment szőlőkben mutatták ki. A borban 0,40- 1,25 mg/dm³ mennyiségben található (Csapó et al., 2016).

A nemesrothadásos szőlőkből készült borok egyik legjellemzőbb alkotórésze a glükonsav, amely a glükóz direkt oxidációjából keletkezik (Doneche, 1993). A glükóz egy része glükóz-oxidáz segítségével glükonsavvá oxidálódik, amelyet egy másik *Botrytis* indikátornak tekintünk. A glükonsav mennyisége az egészséges szőlőkben 0,5 g/l alatt van (Vivas et al., 2010), nemesrothadáson átesett borok 1-5 g/l , a szürkerothadt borok több, mint 5 g/l glükonsavat tartalmaznak (Ribéreau-Gayon et al., 2000a). Általában a 0,5 g/l fölötti glükonsav koncentrációt a bogyók baktérium- vagy gombás fertőzése okozza (Moreno és Peinado, 2012), ebből adóan potenciális paraméternek tekinthető a bogyók *Botrytis cinerea* fertőzöttségének monitorozására (Cuadrado et al., 2005; Rolle et al., 2012; Carbajal-Ida et al., 2016). A glükonsav metabolizmus egyes élesztőkben az aerob anyagcseréhez és glicerin jelenlétéhez kapcsolódik (Peinado et al., 2003). A glükonsav tartalom gyakorlatilag nem változik az erjedés során, mert az élesztőgombák nem erjesztik, ezért a borokban is kimutatható. A glükonsav jelenléte számos problémát okoz a borkészítés során, mint pl. a mikrobiológiai stabilitás, vagy a nagy SO₂ megkötő képesség (Barbe et al., 2002; Peinado et al., 2003).

Galakturonsavtartalomban bekövetkező növekedést is megfigyelték *Botrytis* fertőzött szőlőbogyók esetében (Dittrich és Sponholz, 1984). A galakturonsav a pektin legnagyobb mennyiségben előforduló komponense, amely a növényi sejtfal egyik fő poliszacharid összetevője. Továbbá fontos szénforrást jelent a mikroorganizmusok számára (Zhang et al., 2011). Enzimatis oxidáció révén képes átalakulni galaktársavvá (nyálkasavvá). A nyálkasav felhalmozódik a botritiszes mustokban, valamint sókat képez a kalciumionokkal, és képes kicsapódni a borban (Ribéreau-Gayon et al., 2000). A galaktársav mennyisége a mustokban elérheti a 2 g/l értéket is (Doneche, 1993).

A borok ecetsavtartalma normális esetben nem haladja meg a 0,6–0,8 g/l-t, a malolaktikus fermentáció lezajlása után az 1,0 g/l-t (Leskó, 2011). A nemesrothadás során az ecetsavtartalom általában 100-400 mg/l-rel növekszik, de ez nem a *Botrytis*, hanem a kísérő mikroflórában felszaporodó ecetsavbaktériumok tevékenységének eredménye (Magyar, 2011).

Ezenkívül nemesrothadás hatására emelkedett koncentrációban lesznek jelen a mustban a ketonsavak (piroszőlősav, 2-ketoglutársav), melyek a bor kötött kénessav szintjét növelik meg (Kállay és Nyitrai, 2003).

3.2.4 Többértékű alkoholok

A botritiszes borok megnövekedett viszkozitásáért és „testességéért” három fő polialkohol felelős: butándiol, glicerin és szorbit. Ezek jelen vannak a fertőzött szőlőben is, továbbá az első kettő az alkoholos erjedés során keletkezik (Moreno és Peinado, 2012).

A bogyók szorbitkoncentrációja nem haladja meg a 600-at mg/l-t, míg a 2,3-butándiol szintje 1 g/l körül van (Moreno és Peinado, 2012).

A glicerin a víz és az etanol után a harmadik legnagyobb mennyiségben előforduló komponens a borokban. A *Botrytis cinerea* a szőlőszem belsejében a glükózt glükonsavvá oxidálja, miközben glicerin (5-10 g/l) szabadul fel (Ribéreau-Gayon et al., 2000). A glicerin később glicerinalehiddé oxidálódik és csökken, elérve az 5 g/l átlagos mennyiséget a bogyókban (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Az aszúmustok glicerintartalma általában 10-30 g/l (Magyar, 2011), ami az erjedés során tovább növekszik (borban >10 g/l). Tekintettel arra, hogy a glicerin is a fermentáció során keletkezik, koncentrációja botritizált borokban 20 g/l-nél magasabb is lehet (Moreno és Peinado, 2012). Mivel ezt az egészséges szőlő mustja csak nyomokban tartalmazza, ezért a glicerin a glükonsavval együtt a *Botrytis cinerea* fertőzés minőségi jellemzői (Ravji et al., 1988; Rolle et al., 2012; Tosi et al., 2012).

3.2.5 Aromanyagok és egyéb összetevők

Az aromaanyagok esetében szintén nagyfokú változás tapasztalható a *Botrytis cinerea* okozta fertőzés során. A nemesrothadáson átesett szőlő legfőbb értékét a megnövekedett cukortartalom mellett a jellegzetes botritiszes illat- és zamatanyagok képezik. Közülük jelentős szerepet játszik a furfurol, benzaldehid, a fenilacetaldehid és a benzaldehid ciánhidrin (más néven: prunasin-keserűmandula íz), valamint az ún. gombaalkohol (1-okten-3-ol). A *Botrytis cinerea* által termelt szotolon (3-hidroxi-4,5-dimetil-2 (5H) furanon) egyike a legfontosabb összetevőknek, amely a jellegzetes „aszús” aromát (karamellíz) adja (Ribéreau-Gayon et al., 2000). Továbbá olyan domináns illatanyagok termelődnek, mint például a fenil-acetaldehid, a laktonok és a vanillin (Lopez Pinar et al., 2016), a nemesrothadásos fertőzés valóban serkenti a cisztein és a glutation konjugátumok termelését a bogyóban, amelyeket az élesztő képes átalakítani olyan erős aromavegyületté, mint a 3-merkaptohexanol (Thibon et al., 2009, 2011).

Az illékony szerves vegyületek profiljában is jelentős változásokat figyeltek meg. A legfontosabb változásokat az észterek, a furánok és laktonok koncentrációjának növekedésében tapasztalták. Ezen kívül egyes megfigyelések illó savak, magasabbrendű alkoholok növekedését és a terpenoidok profiljának változásait is leírták (Furdiková et al., 2019; Miklósy és Kerényi, 2004) Negri et al. (2017) különböző illékony benzenoidok és benzaldehydekek vanillin, krezolok,

guajakolok és eugenol aszúborokban való jelenlétéről számoltak be, melyek jellemzően az édes/fűszeres aroma okozói.

Thakur et al. (2018) kutatásai alapján a botritizált borok kevesebb etil-észtert (C_6-C_{10}), zsírsavakat, illetve gyümölcsösebb acetátokat (izoamil és a 2-fenetil-acetát) tartalmaznak, mint az egészséges szőlőből készült borok.

A *Botrytis cinerea* tehető felelőssé a vitaminok, mint például a tiamin és a piridoxin lebontásáért is (Thakur et al., 2018).

A *Botrytis* növeli a mustokban a polifenoxidázok mennyiségét, mely a borok barnulásra és barnatörésre való hajlamát fokozza, míg a poliszacharidok (β -glükán) szintézise a borok rossz szűrhetőségéért tehető felelőssé (Kállay és Nyitrai, 2003/a). Az enzimatis oxidáció polifenoxidázok, köztük tirozinázok és lakkázok hatására megy végbe. Ez utóbbiakat a *Botrytis cinerea* fitopatogén gomba termeli, és szennyezett bogyókkal kerülnek a mustba. A *Botrytis cinerea* által termelt lakkáz enzim (p-difenol-dioxigén-oxidoreduktáz) egy extracelluláris enzim, mely egy több részből álló fehérje (Quijada-Morin et al., 2018). A fenolos anyagokat (kávésav és p-kumársav) kinonokká alakítja át, melyek hajlamosak a barna vegyületek képződésével járó polimerizációra (Ribéreau-Gayon et al. 2000; Bene, 2004).

A *Botrytis* különféle oxidáz és hidroláz enzimeket termel, amelyek bizonyos szőlőkomponenseket, például polifenolok, flavonoidok és nitrogéntartalmú anyagokat átalakítanak (Magyar, 2011). A botritiszes fertőzési folyamat során a különböző nitrogén- és fenolos vegyületek, mint az aminosavak, ammóniumsók, összes fenoltartalom, összes tannin koncentráció és az antocianinok mennyisége jelentősen csökken (Thakur et al., 2018). A fertőzési folyamat csökkentő hatással van az asszimilálható nitrogénre, a peptidekre, valamint a nukleinsavszármazékokra. A must összes aminosavtartalmának 30-80 százaléka lebomlik a *Botrytis cinerea* tevékenységének következtében (Rapp és Reuther, 1971; Dittrich és Sponholz, 1975).

3.2.6 Polifenolok

A fenolos vegyületek jelentősen befolyásolják a bor színét, illatát és ízét. Az emberi egészségre gyakorolt feltételezett jótékony hatásuk miatt a borokban található polifenolok egyre nagyobb érdeklődésre tettek szert az utóbbi években (Claus, 2017). A polifenolok felelnek sok esetben a szőlő és a bor színének, zamatának (kesernyés vagy savanyú íz), hűzösségének, illatának kialakításáért és a káros oxidációs folyamatok megakadályozásáért (Macheix et al., 1990; Naczki és Shahidi, 2004; Robbins, 2003; Abad-Garcia et al., 2007). Oxidációra való hajlamuk miatt

különböző kiválások, színmélyülések okozói (polifenol-oxidáz) lehetnek, mindamellett, különösen vörösboroknál, feltétlenül szükségesek a borjelleg kialakításához (Eperjesi, 2010).

A fenilpropanoid útvonal korai szakaszában a botritizáció során a három fő hidroxifahéjsav, p-kumársav, kávéssav és ferulasav felhalmozódik a bogyókban (Blanco-Ulate et al., 2015). A fertőzés során a polifenoloxidázok (tirozináz és a lakkáz) ezeket a hidroxifahéjsavakat észterekkel (mint pl. kaftársav és kutársav) együtt oxidálják (Dubernet et al., 1977; Carbajal-Ida et al., 2016).

A bor legfontosabb fenolos anyagai a katechin, a leukoantocianin és az antocianin monomerek, melyek rendszerint glükozidjaik alakjában fordulnak elő.

Botritiszes bogyókban nagy mennyiségben fordulnak elő sztilbének (Blanco-Ulate et al., 2015). A sztilbének 1,2-difenil-etilén származékok. Nagyon fontos, nem flavonoid vegyületek, melyek széles körben elterjedtek a természetben (Hart, 1981).

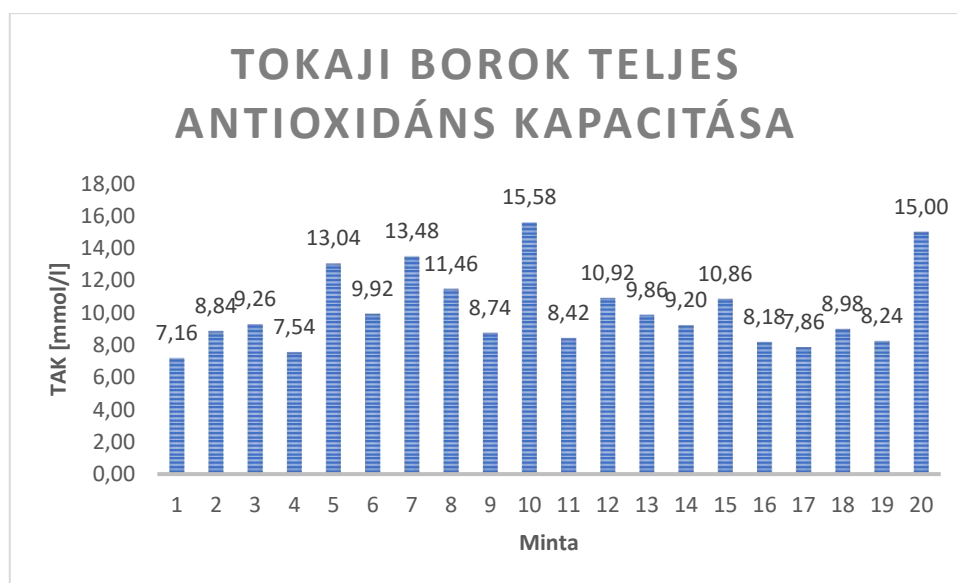
Az egyik legismertebb és tanulmányozott sztilbén a borászatban az 1976-ban felfedezett rezveratrol, melynek élettani hatása is jelentős. Az alapváz kémiai elnevezése α,β -difenil-etilén. A szőlőbogyóban elsősorban a héjrészekben és a magban található meg (Creasy és Coffee, 1988), tehát a borba kerülő rezveratrol-tartalom a feldolgozási technológia függvénye. Francia és olasz kutatók mérési eredményei alapján a vörösborokban meghatározott koncentrációk magasabbak, mint a fehérborokban (Kállay, 2010). Az erjesztés során az élesztők használatával a borokban képződött rezveratrol mennyisége növekszik (Sun, 2015). A rezveratrol szerepet játszik a szőlő növény védekezési mechanizmusában, ugyanis növeli a szőlő ellenálló képességét a szürkepenésszel szemben (Bavaresco et al., 1997). A rezveratrol, mint természetes növényi immunanyag több száz éve ismert és használatos az anyagcsere-, a gyulladáscsökkentő és szív- és érrendszeri betegségek ellen egyaránt „vérlemezké-aggregáció” gátló hatása miatt (Varache-Lembège et al., 2000). A borok flavonoid- és rezveratrol-tartalma igen különböző, ráadásul – a gombafertőzés mértékének függvényében – akár évjáratról évjára változó lehet (Bertelli és Das, 2009; Das és Das, 2010).

A *Botrytis cinerea* hatására számos olyan nagy mennyiségű fenolos vegyület képződik, melyek lényegesek a nemesrothadásos borok egyedi aromájának kialakításában (Blanco-Ulate et al., 2015). Flavonolok, mint a kvercetin és a kaempferol glikozilált formájukban a bogyókból a fertőzés utolsó szakaszában mutatható ki (Carbajal-Ida et al., 2016). A katechinek, epikatechinek és galloil-epikatechinek mennyisége is növekszik a botritizálás során. Maximális mennyiségüket a fertőzés végső szakaszában érik el.

Megfigyelések alapján a botritiszes fertőzés jelentősen befolyásolja a szőlőhéj fenolos összetételét. Nikfardjam et al. (2006) vizsgálataiban fehér botritizált borokban magasabb polifenol-koncentrációkat mértek, mint a nem botritizált fehérborokban.

A bor antioxidáns képessége közvetlenül korrelál a polifenol-tartalommal. Borok és boripari termékek (pl. pezsgők) antioxidáns tulajdonságait szinte-kizárólag a polifenol vegyületekkel biztosítják. Elméletileg és gyakorlatilag arról van szó, hogy a fenolos hidroxil-csoportok oxidációra érzékenyek.

Az antioxidáns kapacitások (TAK értékek) a német borok esetében 0,6 – 2,8 mmol/l közötti, míg a tokaji borokban sokkal magasabb értékeket mutatnak: 1,1 és 10,8 között mmol/l (Padureanu et al., 2019). Kállay és Sárdy 2008-ban végzett mérései alapján elmondható, hogy a vörösborknak jóval magasabb a teljes antioxidáns kapacitása, mint a fehérboroknak. A tokaji borok esetében a TAK-értékekből az látszik (7,16-15,58 mmol/l), hogy a fehér és a vörösbork között helyezkednek el (Kállay és Sárdy, 2008).



3. ábra Néhány vizsgált tokaji bor TAK-értékei (Kállay és Sárdy, 2008)

Kállay (2001) Tokaji aszúborokban végzett vizsgálata szerint a tokaji aszúk antioxidáns kapacitása 1,5-3 közötti értéket mutat. Vizsgálatai alapján elmondható, hogy a tokaji borkülönlegességek a fehérboroknál erősebb antioxidáns tulajdonsággal rendelkeznek.

Kalló et al., (2020) számos fenolos vegyületet azonosítottak „aszú” és „furmint” borokban, melyek közül a kávésav-3-szulfát és a rododendrin szintje szignifikánsan magasabb volt az aszú borokban, mint a „furmint” borokban. Ezt a szőlő botritiszes fertőzöttségével magyarázták.

3.2.7 Biogén aminok

A biogén aminok kis molekulatömegű és biológiai aktivitású nitrogéntartalmú szerves bázisok, amelyeket legfőképpen az emberi szervezetre gyakorolt hatása miatt tanulmányoznak.

A magyar borok nitrogéntartalma általában nagyobb, mint a külföldi boroké, ezért különösen fontos a bor nitrogént tartalmazó vegyületeinek, így a biogén aminoknak a gyors és pontos minőségi és mennyiségi meghatározása (Kállay, 1991).

A borokban és erjesztett élelmiszerekben található biogén aminok elsősorban mikroorganizmusok aminosav dekarboxiláz enzimjeinek hatására aminosavakból keletkeznek, ebből adódóan mikroorganizmusok (*Botrytis cinerea*, tejsavbaktériumok) jelenlétére engednek következtetni.

Néhány amin megtalálható már a szőlőben, nevezetesen a hisztamin és a tiramin. A hisztamin és a tiramin károsak az emberi egészségre (Anlı és Bayram, 2008, Hernández-Orte et al., 2006). A hisztamin allergiás reakciókat válthat ki emberben, mint például kiütések, ödéma, fejfájás, hipotenzió. A tiramin magas vérnyomást és a noradrenalin felszabadulásával kapcsolatos egyéb tüneteket okozhat.

A hisztamin esetében egyes országok maximális határértékeket javasoltak a borra vonatkozóan (Hernández-Orte et al., 2006; Izquierdo Cañas et al., 2008; Proestos et al., 2008).

Soufleros és munkatársai (1998) által elvégzett főkomponens-elemzés alapján a borok fő biogén aminjai a hisztamin, a tiramin és a putreszcin. Ezenkívül kisebb mennyiségben jelen van a kadaverin, a feniletíl-amin és az izoamil-amin is. A putreszcin és a kadaverin általában a nem megfelelő minőségű szőlőben jelennek meg (Leitão et al., 2005).

Sok kutatás foglalkozik borok biogén amin-tartalmának vizsgálatával (Moreno-Arribas and Polo, 2009), viszont csak néhány foglalkozik a *Botrytis* szőlőkből készült borokkal (Eder et al., 2002a; Hajós et al., 2000; Kállay, 2003; Kiss et al., 2006; Sass-Kiss és Hajós, 2005; Sass-Kiss et al., 2008) annak ellenére, hogy ezekben a típusú borokban magasabb koncentrációban mérhetőek az aminok. Eder et al. (2002) számos egészséges és *Botrytis*-fertőzött szőlőből készült must- és bormintából végzett vizsgálatai alapján az összes amin szignifikánsan magasabb volt a fertőzött szőlőanyagban, mind a fehér, mind a vörös fajták esetében. A izopentil-amin és a fenil-etil-amin esetében mérték a legmagasabb értékeket (lásd. 2. számú táblázat). A hisztamintartalom általában alacsony volt (maximum 5,89 mg/l). Kiss et al. (2006) szintén összefüggést állapítottak meg az összes amintartalom és a botritizáltság mértéke között. A biogén aminok a *Botrytis cinerea* tevékenységének jelző vegyületei is lehetnek (Kállay és Nyitrai, 2003/a)

2. táblázat Néhány biogén amin előfordulása aszúborokban, összehasonlítva nem aszúborokkal

	n	Hisztamin	Tiramin	Putreszcin	Fenil- etilamin	3-metil- butilamin	Hivatkozás
Nem botritiszes bor, Ausztria	15	0-2,9 (1,13)	0-1,54 (0,38)	1,1-4,2 (2,36)	0-1,4 (0,41)	0-6,95 (3,67)	Eder et al. (2002)
Botritiszes bor, Ausztria	16	0-5,9 (1,81)	0-4,1 (0,80)	0,6-4,9 (2,69)	1,5-14,9 (5,59)	2,5-41,8 (14,53)	Eder et al. (2002)
Nem botritiszes bor, Magyarország	17	n.d.-5,5 (1,7)	0,5-7,8 (3,7)	1,8-16,6 (8,3)	n.d.-15,5 (5,7)	- -	Kállay és Sárdy (2003)
Tokaji aszú	21	n.d.-0,1 (0,07)	0,7-2,9 (1,78)	1,6-3,6 (2,28)	9,6-19,1 (14,74)	15,7-23,9 (19,19)	Sass-Kiss et al.(2008)
Tokajitól eltérő botritiszes borok ^a	24	n.d.-15,4 (2,14)	n.d.-10,0 (1,79)	0,3-14,4 (4,30)	0,04-20,2 (3,52)	0,06-22,2 (5,26)	Sass-Kiss et al. (2008)

Minimum és maximum értékek; zárójelben átlagértékek (mg/l); n.d.: nem detektálható; <0,25 mg/l Ausztriai borok esetében, és <0,1 mg/l egyéb borok esetében.

^a botritizált borok Ausztriából (4), Spanyolországból (3), Franciaországból (3), Olaszországból, Németországból, Portugáliából, Szlovákiából és az USA-ból

Sass-Kiss és Hajós vizsgálataik alapján rámutattak arra, hogy a *Botrytis cinerea* nevű penész hatására az aszúszemekben jelentősen megváltozik a biogén aminok koncentrációja az új aminkomponensek keletkezése miatt. Ennek hatására nagymértékű változás következik be az aszúbogyókból készülő aszúborok amintartalmában és összetételében is (Hajós et al., 2000; Sass-Kiss et al., 2000; Sass-Kiss és Hajós, 2005; Sass-Kiss et al., 2005; Kiss, 2007)

A Tokaji aszú jellemzője a magas (> 100 mg/l) szerotonintartalom (Kállay, 2003, 2005). Ez a biogén amin, amelyet más szerzők nem vizsgáltak, fontos neurotranszmitter, és esetenként alkalmazzák bizonyos depressziók kezelésére (Kállay, 2005). Koncentrációja a legtöbb fehér- és vörösbortban elhanyagolható.

Dolgozatomban a putreszcin, kadaverin, alanin, valamint az arginint vizsgálom.

Ezek közül a putreszcin a poliaminok közé tartozik, melyek alacsony molekulatömegű nitrogéntartalmú stresszszabályozó biomolekulák (Jahan et al., 2019). Mint a nevük is mutatja, több aminocsoporttal rendelkeznek, kisméretű, alifás szénhidrogén molekulák.

A kadaverin és a putreszcin egyaránt megtalálhatók az állati és a növényi szervezetekben. Szerepet játszanak a sejtosztódásban és a sejtnövekedésben. Továbbá a tumorok növekedésében is fontos szerepet töltenek be (Bardócz et al., 1993). A megfelelő sejtműködés biztosításán túl a molekulák jelentős antioxidáns tulajdonsága miatt a biotikus és abiotikus stressz elleni védekezésben is kulcsfontosságúak. Hiányuk abnormális működést okoz, az ellenállóképesség csökkenéséhez és betegségek kialakulásához vezet.

A borokban több, mint 20 biogén aminot azonosítottak. Koncentrációjuk a bor minőségétől függően néhány mg/l-től körülbelül 50 mg/l -ig terjedhet (Lonvaud-Funel, 2001; Landete et al., 2005; Pereira et al., 2008).

Kállay-Nyitrai (2003) megállapították, hogy a biogén aminok mennyisége az erjedés vége felé növekszik, tehát a biogén amin-összetétel alakulásában eltérés figyelhető meg az erjedés elején és végén.

A magyar borok összes biogén amin-tartalma 14,5-76,5 mg/l (Kállay és Bódy-Szalkai, 1996), a fehérborok átlagosan 2,9 mg/l, míg a vörösborok 4,2 mg/l biogén amin-tartalmat tartalmaznak (Simon-Sarkadi et al., 2003). Csomós és Simon-Sarkadi (2002) a legmagasabb biogén amin-tartalmakat tokaji borokban mérték (19,09 mg/l). Jelentős különbség figyelhető meg a botrytiszes és a nem botrytiszes (normál) szőlőből származó borok biogén amin-összetételében (Sass-Kiss et al., 2000). A normál szőlőkben elsősorban spermidint, putreszcint és spermint találtak, míg az aszúbogyókban új amin komponensek is kimutathatóak voltak: agmatin (0,1 - 0,8 mg/kg sz. a.), fenil-etil-amin (4,4 - 9,6 mg/kg sz. a.), i-butyl-amin (0,7 - 6,3 mg/kg sz. a.) és egy pentilamin izomert /2MeBa/ (1,5 - 6,0 mg/kg sz. a.) azonosítottak (Sass-Kiss és Hajós 2005).

A borok és az aszúborok biogén amin összetétele a szőlő és aszúbogyók esetében tapasztaltakkal mutatott hasonló tendenciát. Az aszúkészítése során megnőtt a biogén amin (tiramin /1,1 - 4,0 mg/l/, agmatin /0,5 - 2,5 mg/l/, fenil-etil-amin /9,6 - 21,8 mg/l/) és egyéb aminok (primer alifás aminok: i-butyl-amin /2,7 - 15 mg/l/, 2-metil-butyl-amin /6,1 - 24,34 mg/l/) koncentrációja. Ugyanakkor a spermint nem lehetett az aszúborokban kimutatni.

A tokaji borkülönlegességek 3,93-106,5 mg/dm³ mennyiségben tartalmaztak biogén aminokat (Simonné és Csomós, 1999; Csomós és Simon-Sarkadi, 2002; Csomós et al., 2000; Csomós és Simonné, 2002; Sass-Kiss et al., 2000). A Csomós és Simon-Sarkadi (2002) által mért aminok közül a tokaji borokban a tiramin (0,7 - 22,45 mg/l) és putreszcint (0,67 - 4,28 mg/l) fordultak elő a legnagyobb mennyiségben.

Figyelembe véve a botrytizált borok alkalmi és mértékletes fogyasztását, ezek amintartalma nem jelent egészségügyi problémát.

3.3 Az NMR technika

A magmágneses rezonancia spektroszkópia (röviden NMR – angolul **N**uclear **M**agnetic **R**esonance) az 1940-es évek óta kutatott kémiai szerkezetvizsgálati módszer, amely fontos szerepet tölt be a szerves molekulák szerkezetének megismerésében, ismeretlen struktúrák feltárásában (Ning, 2005; Simmler, 2014).

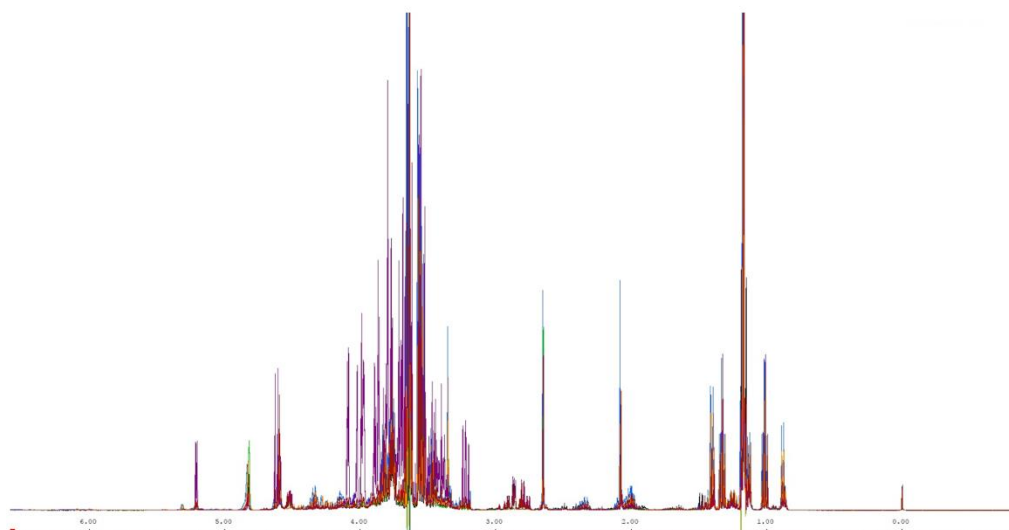


4. ábra NMR készülékek a Diagnosticum Zrt. szerencsi borászati laboratóriumában (saját fotó)

Elterjedését olyan egyedi tulajdonságai segítették elő, mint a roncsolásmentes vizsgálat (Arapitsas és Mattivi, 2018), a kiváló szelektivitás, valamint képes számos vegyület egyidejű meghatározására komplex keverékekben (pl. az élelmiszerek), anélkül, hogy szétválasztásra vagy mintaelőkészítésre lenne szükség (Monkahova et al., 2011). Az NMR-spektrométerek általában nagyon robusztusak és más rendszerekhez, például tömegspektrométerekhez képest szinte karbantartástól mentesek (Solovyev et al., 2020).

A nagy térerejű proton-detektált (korábbi nevén inverz) heteronuklális korrelációs módszerek kiemelkedő érzékenysége révén napjainkra lehetővé vált, hogy csupán néhány mikroliter [μl] minta esetén is viszonylag rövid időn belül elvégezzük bonyolult szerkezetű molekulák teljes szerkezetfelderítését és azonosítását (meghatározását).

A ^1H -NMR technika alkalmazásának további előnye, hogy automatizálható, nagyon megbízható és nagyon gyors (Dumas et al., 2006). Egyetlen ^1H -NMR-spektrum tartalmazza a fajtáról, eredetről, évjáratról, élettani állapotról, technológiai kezelésekről származó összes információt. Az NMR-spektrum felfogható a borminta egyedi spektroszkópikus „ujjlenyomataként”, amely elegendő 50-100 metabolit egyidejű azonosítására és mennyiségi meghatározására (Godelmann et al., 2013; Holmes et al., 2000; Lindon et al., 2000). Az egyedi „ujjlenyomat” teszi lehetővé, hogy létrejöjjön a borokra jellemző borprofil, és ezzel pedig a fajta, évjárat és származási hely (borrégió, borvidék) meghatározása.



5. ábra NMR spektrum

Emwas és Munkatársai a módszer hátrányaként említik, hogy alacsonyabb az érzékenysége más technikákhoz, például a tömegspektrometriához képest, ami 10-100-szor érzékenyebb (Emwas, 2015; Emwas et al., 2019).

3.3.1 Az NMR technika alkalmazási lehetőségei

Az NMR technika széleskörben elterjedt fizikai, kémiai, biokémiai, biológiai, gyógyszerészeti, élelmiszertudományi területeken, valamint az állategészségügyben és az orvostudományban. Használják pl. szerves vegyületek molekulaszervezetének és kölcsönhatásainak vizsgálatára, a szupravezetők vizsgálatára, makromolekulák (fehérjék, nukleinsavak) szerkezetvizsgálatára a gyógyszerkutatásban, biológiai és mesterséges membránok, liposzómák (zsírmolekulák) vizsgálatára, (fosszilis) kőolaj feltárássra, továbbá orvosi célú képalkotásra. Egyaránt alkalmas szintetikus és természetes vegyületek szerkezetének felderítésére. A nukleáris magmágneses rezonancia (NMR) spektroszkópia egyre nagyobb jelentőséggel bír keverék minták elemzésében. Egyik fő alkalmazási területe az élelmiszeralitika, ugyanakkor új alkalmazási területek tekintetében is gyors fejlődést mutat (Le Gall és Colquhoun, 2003; Lachenmeier et al., 2009; Mannina et al., 2017; Proietti et al., 2017; Sobolev et al., 2019).

Azon túl, hogy segítségével elsősorban minőségi információ nyerhető több, mint egy évtizede az emberek kvantitatív (mennyiségi) célokra is elkezdtek használni (Karsa et al., 2012).

Tehát az NMR technikának lényeges előnye, hogy egyidejűleg szerezhetőek általa minőségi és mennyiségi információk. Az NMR-rel tehát képesek vagyunk célzott (kvantitatív meghatározás) és nem célzott (statisztikai meghatározás) elemzéseket egyaránt elvégezni (Esslinger et al., 2015; Sobolev et al., 2019).

A célzott elemzés (kvantitatív meghatározás):

Az NMR spektroszkópiát gyakran alkalmaznak keverékminták kvantitatív elemzésére, melyhez a rezonanciajel intenzitását használják fel. Az NMR spektrumban ugyanis az adott jel területe és a jel kibocsájtásáért felelős atomok száma közvetlenül arányos. A 0-13 ppm-ig terjedő skálán elhelyezkedő jelek alatti területet egy beépített integrátor integrálja. Így kapjuk meg az egyes komponensek koncentrációjának mennyiségét. Ezt a folyamatot kvantifikációnak is nevezzük (Esslinger et al., 2015).

Az NMR-spektroszkópia első alkalmazása a bor elemzésében az etanol-tartalom meghatározását jelentette (Anders et al. 1976), később megkísérelték jellemezni a borokban kisebb koncentrációkban jelenlévő szerves vegyületeket (Buzas et al., 2003). Az NMR-alapú metabolomikát széles körben alkalmazzák a bor erjedésének tanulmányozására és a fermentáció különböző élesztőtörzseinek jellemzésére (Son et al., 2009).

Fő előnye, hogy könnyű és gyors módszert kínál a szőlő, a szőlőlé, a must és a bor kémiai összetételének meghatározására, valamint különféle kis szerves vegyületek (metabolit profilozás) azonosítására, beleértve az aminosavakat (Košir et al., 2011), szerves savakat, alkoholokat (Du et al. 2011; Consonni et al. 2017), cukrokat és fenolos vegyületeket (Anastasiadi, 2009).

3.3.2 Az NMR technika elméleti háttere

Antoine Lavoisier francia természettudós kísérletekkel igazolta, hogy az élő természetből származó anyagokat alapvetően négy elem, **a szén, a hidrogén, az oxigén és a nitrogén** építi fel. E négy elemet **organogén**, azaz *szervezetet felépítő elemeknek* nevezte el. Az elemek tulajdonságait atomjaik felépítése határozza meg. Az atomok atommagból és elektronfelhőből állnak, melyeket elemi részecskék: protonok, neutronok és elektronok **építenek fel**. Az **atommag protonokból és neutronokból épül fel, töltése pozitív**. Az atommagot az **elektronfelhő veszi körül**, amelyben az egységnyi negatív töltésű elektronok nagy sebességgel mozognak. Az elektronokat elektromos vonzóerő tartja az atommag környezetében. Az egyetlen atomtípusból álló kémiai elemek atommagja azonos számú protonból épül fel, azonban előfordulnak olyan elemek, melyek atommagja eltérő számú neutronból áll, így tömegszámuk is eltérő. Ezeket izotópoknak nevezzük. A hidrogénatomnak három természetes izotópja létezik, melyek a prócium (^1H), a deutérium (^2H), és a trícium (^3H) (Póta, 2013). Legerősebb NMR jele a protonnak van (^1H), ugyanis az élő szervezetben is ez a mag fordul elő a leggyakrabban 99,98%. Tehát ^1H -atomok szinte minden szerves vegyületben (minden ismert metabolitban) megtalálhatók (Emwas et al., 2019), ebből adódóan a legtöbb NMR-alapú metabolomika vizsgálatokhoz proton ^1H -NMR spektroszkópiát használnak.

Az atommagok az őket felépítő nukleonok mozgásából származó mágneses momentummal rendelkeznek. Ez a mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR) alapja. NMR spektroszkópiával azok az atommagok vizsgálhatók, melyekben vagy a protonok, vagy a neutronok, vagy mindkettőjük száma páratlan. Ezek az NMR-aktív magok (Rohonczy, 2012): ^1H , ^{11}B , ^{13}C , ^{14}N , ^{15}N , ^{17}O , ^{19}F , ^{29}Si , ^{31}P stb., melyek képesek reakcióba lépni a rádiófrekvenciás impulzusokkal (BRUKER, 2014). Ennek oka az, hogy ezen részecskék feles spinűek, így párokat alkotva eredőjük összege nem lehet egyenlő nullával (Hore, 2004).

Az NMR aktív magokat a bejövő rádiófrekvencia impulzusokkal gerjesztik, majd a gerjesztés után bekövetkező lassabb relaxációt detektálják.

Működése az állandó mágneses térbe helyezett, mágneses momentummal rendelkező atommagok elektromágneses sugárzással való szelektív gerjesztésén alapul. A gerjesztés után egy lassabb relaxáció következik, amit detektálni tudunk. A mintát különböző hosszúságú pulzusokkal vagy pulzussorozatokkal gerjesztve, majd a relaxációt figyelve információkat szerezhetünk például az atommagok, illetve a környezetükben lévő elektronok sűrűségéről az anyagban és a szomszédos kötésekről (Bloch, 1946). Ez teszi lehetővé, hogy ezt a magspektroszkópiai módszert a kémiai kötésviszonyok tanulmányozására használjuk. A spektrumból megállapítható egyrészt, hogy hányféle és mennyire árnyékolt atom van a molekulában, másrészt, hogy egy atommag közelében hány darab és hányféle közeli szomszéd atom található.

Ezen túlmenően, számos szoftver eszköz létezik a ^1H -NMR-spektrumok (offline) percekben belül történő elemzésére (Hao et al., 2012; Ravanbakhsh et al., 2015; Rohnisch et al., 2018; Canueto et al., 2018). Ezek a szoftveres eszközök egyaránt azonosítják a (Canueto et al., 2018; Cui et al., 2008; Tardivel et al., 2017) és számszerűsítik a (Rohnisch et al., 2018; Tardivel et al., 2017) metabolitokat.

A készülék működési elvének megértéséhez néhány kémiai fogalmat kell megemlíteni.

Ilyen fogalmak a kémiai árnyékolás és a kémiai eltolódás. Az atommagokat elektronok veszik körbe, amelyekre szintén hat az alkalmazott külső mágneses tér. Az elektronok a külső mágneses térben kis örvényáramokat keltenek mágneses teret létrehozva, mely gyengébb a külső mágneses térnél (Lenz-törvénye). Ez a jelenség a kémiai árnyékolás. Az árnyékolt magok rezonanciafrekvenciája eltolódik a nem-árnyékolthoz képest. Az eltolódás mértékét ppm-ben adjuk meg (ppm = parts per million, milliommód rész).

A mag rezonanciafrekvenciáját egy referens maghoz (tetra-metil-szilán = TMS protonjaihoz) viszonyítjuk, melyet belső kalibrálási standardként alkalmaznak (Spyros és

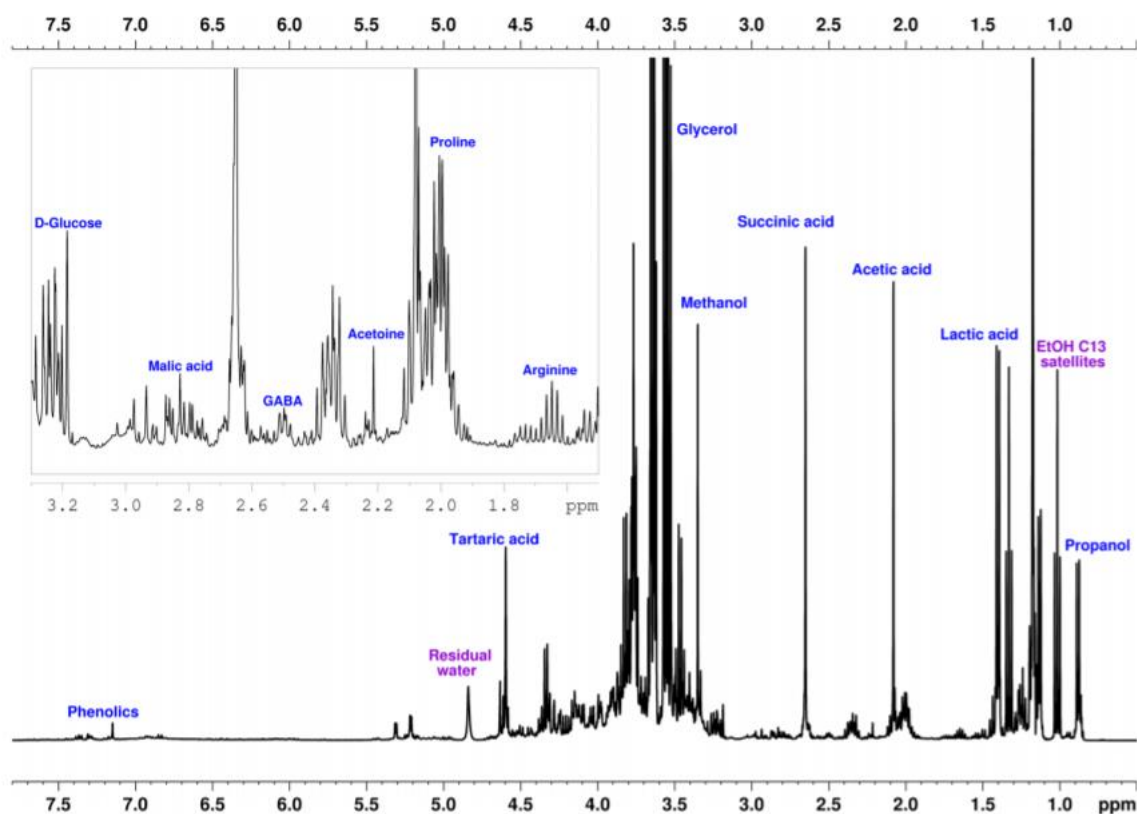
Dais, 2012). A kémiai eltolódás definíciószerűen a kiszemelt mag és a referens mag rezonanciafrekvenciájának különbsége.

A TMS illékony vegyület, ezért könnyen eltávolítható, a legtöbb szerves oldószerben jól, viszont vízben kevésbé oldódik, ezért belső referenciaként vizes oldatokban nem alkalmazzák (Becker, 2000).

Számos oka van annak, hogy a tetra-metil-szilánt referenciaként használják:

- jele egyértelműen megkülönböztethető a legtöbb más rezonanciától
- olcsó és könnyen hozzáférhető vegyület. Kémiaileg inert, azaz a minta többi komponensével nem lép reakcióba
- 12 protonja éles jelet produkál. Alacsonyabb TMS-koncentráció esetén is könnyen felismerhető a referencijel (Balci, 2005).

A TMS kémiai eltolódásához tartozó csúcsot vesszük viszonyítási pontnak, ami definíció szerint a nulla pont. Az összes többi vegyület elhelyezkedését pedig ehhez viszonyítjuk (Farrant, 2017). Borászati vonatkozásban az az egyetlen probléma vele, hogy vizes közegben oldhatatlan, ezért borminták esetében különböző sóit alkalmazzuk, többek között a 3-(trimetil-szilil)-propionsav-d4 nátriumsóját (TSP) (Sohár, 1976) .



6. ábra Borminta jellemző NMR spektruma víz és etanol elnyomással

3.3.3 Az NMR technika működési elve

Az NMR spektroszkópián belül megkülönböztetünk nagyfelbontású és szélessávú NMR spektroszkópiát. Előbbi éles jeleket szolgáltat, melyek elsősorban a molekula szerkezetéről adnak hasznos információt a kémikusok számára, míg az utóbbi az anyagszerkezetről, a szilárd fázisban fellépő fizikai kölcsönhatásokról szolgáltat ismereteket (Tóth, n.a.).

Az NMR névben szereplő mágnes szó arra utal, hogy maga a fizikai jelenség csak erős mágneses térben lép fel. A szupravezető mágnes-tekercs lényegében egy elektromágnes, ami akkor válik szupravezetővé, vagyis akkor veszti el elektromos ellenállását, amikor 4 K (-269 °C) alá hűtjük (Macomber, 1998). A mérés első lépésenként a vizsgálandó oldatot vagy szilárd mintát egy cseppfolyós héliummal és 77,35 K (-195,8 °C) hőmérsékletű (Shoolery, 2008) cseppfolyós nitrogénnel hűtött szupravezető elektromágneses tekercs belsejébe juttatjuk (Hore, 2004).

A mágneses tér stabilitásának ellenőrzésére, továbbá a mágneses térerősség apró változásainak kiküszöbölésére „lock”-olást (protonizálást) alkalmazunk. Ez azt jelenti, hogy ha a mágneses tér (a jel kémiai eltolódása) változik, a készülék egy segéd tekerccsel kompenzálja a változást. A gyakorlatban ez úgy valósul meg, hogy a vizsgálandó mintához olyan vonatkozási anyagot adunk hozzá, mely nem zavarja a protonok mérésének folyamatát, de mégis éles rezonancia jele van. A leginkább alkalmazott ilyen anyag a deutérium, mivel ebben nem található

olyan atommag, amely a minta méréstartományában abszorbeálódna (Sohár, 1976). A deutérium a TSP-vel egyidejűleg kerül hozzáadásra a mintához.

A mintaelőkészítés folyamatát az anyag és módszer című fejezetben fogom részletesen ismertetni. A minta egy úgynevezett „spinner”-ben kerül bele a készülékbe. A „spinner”-nek meghatározott helye van a mintatartó csövön. Ezáltal biztosítjuk, hogy a mintacső szilárdan a helyén maradjon és minden egyes minta megfelelően illeszkedjen a mágnestekercshez.

A mágnestekercs közepében keskeny furat található. A mintát sűrített levegő és gázlift segítségével helyezzük a mágnestekercs közepében található furatba, majd szintén sűrített levegővel megkezdődik a minta forgatása a tér irányával merőlegesen, egyenletes, nem túl gyors sebességgel. A „spinner” ekkor kis műanyag turbinaként funkcionál. Ez azért fontos, hogy kiküszöböljük az esetleges inhomogén tulajdonságokat, amik fennállhatnak a mágnes közepén található mágneses mezőben. Ilyenkor ugyanis az inhomogenitás a forgástengelyre merőleges síkban átlagolódik, tehát elérhető a homogenitás (Sohár, 1976).

Ezt követően a mintában található atommagokat rádiófrekvenciás tartományba eső elektromágneses sugárzással (impulzusokkal) gerjesztjük, melyet az tesz lehetővé, hogy az atommagok az őket felépítő nukleonok mozgásából származó szögimpulzussal /spin/ és ezzel együttjáró mágneses momentummal rendelkeznek. Olyan magoknál, ahol a protonok és neutronok száma is páros pl.: ^{12}C , ^{16}O , ^{32}S stb., nem lép fel eredő magspin, ezért ezen magok az NMR spektroszkópia szempontjából inkatívak (Tóth, n.a.). A magspinnel rendelkező magok első közelítésben kis elemi mágnesként tekinthetőek, melyek mágneses momentumai külső mágneses tér nélkül tetszőleges irányban állhatnak. A külső mágneses tér bekapcsolásakor megszűnik a rendezetlenség és a magok mágneses tér irányával párhuzamosan orientálódnak. A kis mágnesek irányultsága kétféle lehet a mágneses tér irányához képest: a térrel azonos vagy ellentétes irányú. A két állapot energiája nem azonos, hiszen az antiparalell állás egy metastabil állapotot képvisel, ami magasabb energiájú.

A mágneses momentumok maguk nem a külső mágneses tér irányába mutatnak, hanem azzal bizonyos szöget zárnak be, s egy kúppalást mentén mozognak, azaz processzálnak a külső mágneses tér iránya körül (Tóth, n.a.). Ezt a mozgást hívjuk precesszióknak. A processzió sebességét ún. Larmor-frekvenciával jellemezzük. Ez a sebesség csak a mágneses momentumvektor és a külső mágneses tér nagyságától függ. Minél erősebb a külső mágneses tér vagy a magmágnes, a processzió annál nagyobb sebességű, ugyanis az erősség alatt a hidrogénatomok által kibocsátott jelek frekvenciáját értjük. Tehát egy 400 MHz-es mágnessel ellátott készülékben az ^1H atomok közel 400 MHz frekvenciájú jeleket bocsájtanak ki (Shoolery,

2008). A külső mágneses tér és a mag mágneses momentumának kölcsönhatása révén a proton energiaszintje két energiaszintre hasad fel. Ezt a felhasadást hívjuk Zeeman-effektusnak (a két energiaszint különbsége) (Sohár, 1976). A felhasadás mértéke függ az alkalmazott mágneses tér erősségétől. Minél nagyobb az alkalmazott mágneses térerősség, annál távolabb vannak az energianívók. Az egyes nívók közti átmenet indukálásához besugárzásra van szükség. Átmenet csak akkor váltható ki, ha a besugárzás frekvenciája megegyezik a Larmor-frekvenciával.

Ebből adódóan a műszer másik, igen lényeges eleme a mágnes mellett a rádiófrekvenciás adó, ami a rádiófrekvenciás sugárzás előállításáért, vagyis az atommagok gerjesztéséért felel. Azonban a valóságban az atommagok a kémia környezetüktől függően, a Larmor-frekvenciától különböző frekvenciájú sugárzást nyelnek el. A magok által elnyelt sugárzás frekvenciája és a Larmor-frekvencia eltérése az adott atommag specifikus tulajdonsága (Sohár, 1976).

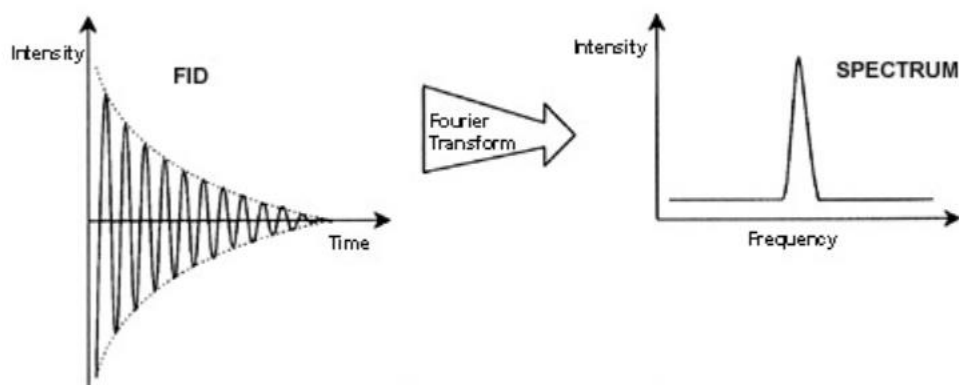
A rádiófrekvenciás impulzusokkal történő gerjesztés hatására az energia felvétele rezonanciaszerűen történik, az atommagok különböző frekvenciával rezonálnak, amit rezonanciafrekvenciának nevezünk. A létrejött rezonanciafrekvencia detektálását a detektor tekercs végzi. A rádiófrekvenciás impulzus megszüntetése után, a tekercsben elektromos feszültség indukálódik, melynek amplitúdója detektálható. A létrejött feszültség folyamatosan csökken, míg végül eléri a termodinamikai egyensúlyát (ez a mágneses momentum relaxációja). Az ily módon mért jelet FID-nek (Free Induction Decay), szó szerinti fordításban szabad indukciós hanyatlásnak/lebomlásnak nevezzük (Szilágyi, 1980).

A detektált jel exponenciálisan csökken, miközben a gerjesztett spinek relaxálnak. A mintában minden egyes különböző kémiai környezetben lévő atommag más frekvenciával forog, a FID ezeknek a szuperpozíciója. A FID jelek matematikai művelettel egyedi frekvenciákra bonthatók. A módszer neve Fourier-transzformáció, melynek matematikai alapjait Fourier 1822-ben alapozta meg. A transzformáció eredménye az NMR spektrum (Rohonczy, 2012).

Különbséget kell tenni a két kifejezés között: a „FID” az időtartományt, a hozzá tartozó „spektrum” pedig a frekvenciatartományt jelenti (Internet: Bruker). A FID jeleket az intenzitás és az idő függvényében kapjuk meg, míg a kész NMR spektrumot az intenzitás és a frekvencia függvényében ábrázoljuk. A FID olyan jel, amelynek intenzitása az idő függvényében változik, míg a spektrum azt mutatja, hogy az intenzitás hogyan változik a frekvencia függvényében (Bruker, 2014).

Az alábbi kép jól ábrázolja a FID spektrummá való átalakítását, vagyis akvizícióját. Jól látható, hogy a FID intenzitása, hogyan csökken az idő függvényében, míg végül eléri egyensúlyi

állapotát, a spektrumból pedig az állapítható meg, hogy intenzitása hogyan változik meg a különböző frekvencián (Sohár, 1976).



7. ábra Fourier- transzformáció

Fontos megemlíteni, hogy a nagyon egyszerű szerves anyagok proton-NMR spektrumában is megfigyelhető, hogy a spektrumvonalak száma sokkal nagyobb a molekulában előforduló hidrogének számánál. Ugyanakkor a vonalak jellegzetes intenzitásarányú jelcsoportokat alkotnak, melyekben a vonalak távolsága nem függ a mérésben alkalmazott külső mágneses tér erősségétől. Ez a multipliett felhasadás jelensége, melynek oka a molekulában lévő atommagok skaláris csatolása (Rohonczy, 2012). Ez azt jelenti, hogy a magspinnel rendelkező magok az elektronok közvetítésével kölcsönhatásba lépnek egymással, csatolódnak.

A folyamat lényege tehát az, hogy egy adott NMR aktív atommag képes a kémiai kötések keresztül, az elektronrendszer közvetítésével kölcsönhatásba lépni a szomszédos NMR aktív atommagokkal, és így a szomszédos atommagok képesek egymás viselkedését többféleképpen is befolyásolni (Hore, 2004). Ez az egyes magokhoz tartozó jelek kölcsönös felhasadását eredményezi, minek folytán a spektrumban általában nem szerkezet nélküli éles jelek, hanem összetett multiplettek lépnek fel. Az okozott felhasadás mértékét, a jel multiplicitását az $n+1$ szabály adja meg: az egyes vegyületek NMR spektrumában az $n+1$ szabály szerint megkülönböztethetünk szingulettet, dublettet, tripletet, kvartettet és így tovább (Gajda, 2013). A különböző felhasadású jelek különböző kémiai eltolódással rendelkeznek, így más ppm-nél találhatjuk meg őket (Macomber, 1998). A rezonancia jelek felhasadása az $n+1$ szabályt követi, ami azt jelenti hogy ha egy protonnal n számú másik proton csatolódik, akkor a megfelelő jel $n+1$ vonalból áll. A vonalak relatív intenzitása a binominális együtthatóknak felel meg, azaz dublettnél 1:1, triplettnél 1:2:1, kvartettnél 1:3:3:1, stb. (Tóth, n.a.). Az így létrejött, felhasadt jelek intenzitás arányát a Pascal-háromszöggel szokás ismertetni.

A csatolódás mértéke függ a magok fajtájától, a köztük lévő kötések számától (1 kötés: direkt csatolás, 2 kötés: geminális csatolás, 3 kötés: vicinális csatolás, 4 és több kötés: távolható

csatolás), a kötőszögektől, a kötések hosszától, a kapcsolódó szubsztituensektől stb. Tehát a csatolási állandók meghatározása révén a kémiai szerkezetről nyerhetünk információkat.

3.3.4 NMR technika a borászatban

Minden szőlőfajtának van egy egyedi szerkezeti képe, ami a saját genetikai térképét jelenti: a növény „ujjlenyomata”. Ez a fajspecifikusság a belőle készített termék (bor) összetételében is megjelenik és mint ilyen közvetlenül felhasználható különböző borok összehasonlítására és azonosítására.

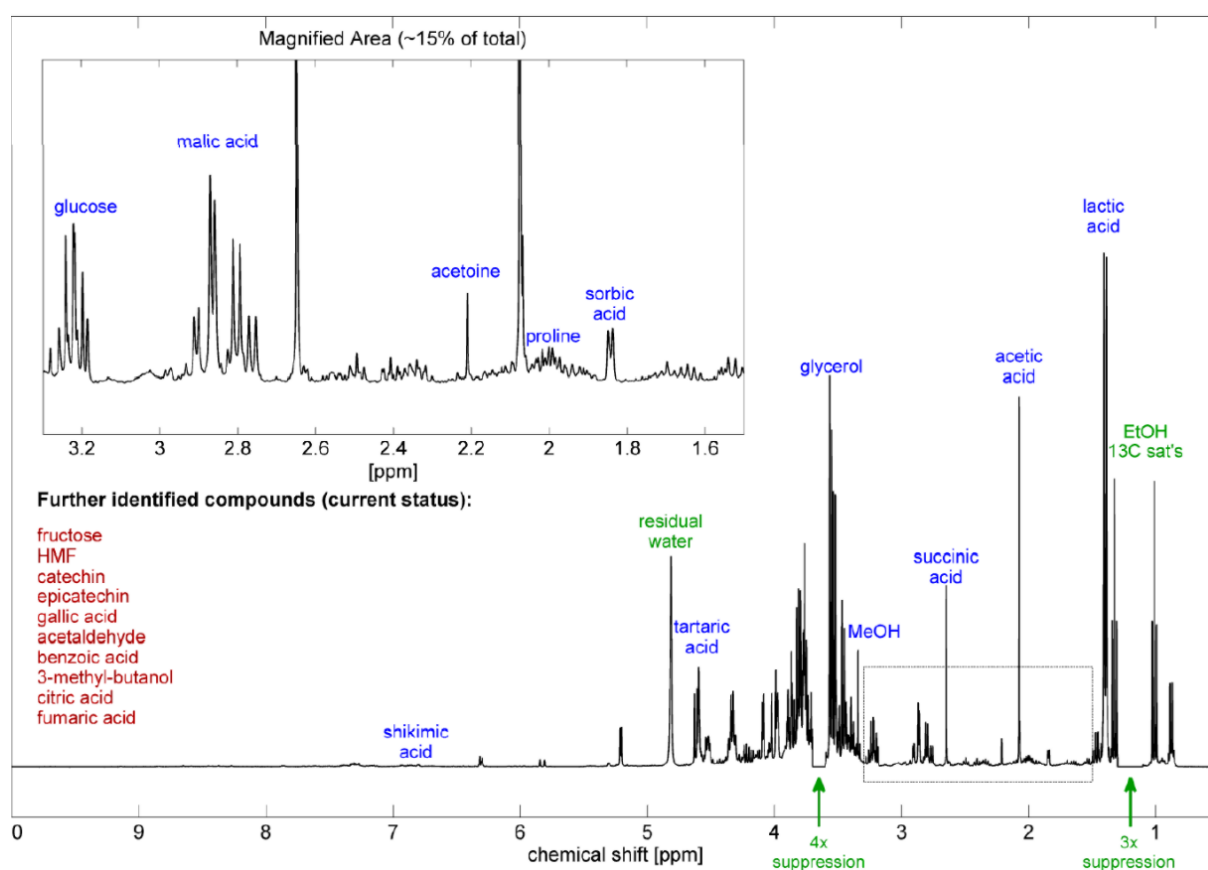
A Nukleáris Magmágneses Rezonancia (NMR) spektroszkópia innovatív megoldás a borok vizsgálatára, ugyanis segítségével azáltal, hogy egy adott bormintából végzett egyetlen mérés 53 komponens egyidejű, gyors meghatározását teszi lehetővé minden borról, az egyes bormintára jellemző spektroszkópikus „ujjlenyomat” szerezhető meg. Ez az adathalmaz tartalmazza a fajtára (Magdas et al., 2019), eredetre (terroir) (Sobolev et al., 2019), évjáratra, élettani állapotra, technológiai kezelésekre vonatkozó összes információt (Godelmann et al., 2013).

A technika borászatban történő alkalmazásához szükséges módszert a német Bruker BioSpin dolgozta ki és „WineScreener”-ként nevezte el. A rendszer a már korábban kidolgozott, és nemzetközi szinten is elismert „JuiceScreener” fejlesztésével készült el. Ez egy 400 MHz-es NMR spektroszkópián alapuló automatizált, a gyümölcslevek minőségének ellenőrzésére, gyümölcstartalmának meghatározására kifejlesztett eszköz. Különböző gyümölcsökből készült italokból (pürék, gyümölcslevek) képes 30 paramétert kvantitatív elemzéssel meghatározni, ezáltal alkalmas a termék minősítésére, hamisítások kimutatására. Ezt a technikát továbbfejlesztve adta ki a Bruker nem sokkal később a „WineScreener” vagy „Wine Profiling” nevű rendszert (Hofmann, 2015), amely több mint 50 paramétert képes csak egy méréssel számszerűsíteni; ezt követően statisztikai elemzéssel a bortermékek földrajzi eredetét, a szőlőfajtát és a borminták évjáratát megállapítani. A „WineScreener” rendszer szabványosított és automatizált kémiai és adatelemzési rutinokra támaszkodik, továbbá felhasználóbarát megoldást kínál a rutinszerű alkalmazásokhoz.

A technológia kidolgozásában a Bruker BioSpin számos borlaborral működött együtt és több 10.000 minta 400 MHz-es NMR készüléken történő mérését követően sikerült felállítaniuk egy autentikus bor adatbázist, mely a technológia fontos alappilléreinek számít (Son et al., 2009; Esslinger et al., 2015), ugyanis a megfelelően előkészített, majd lemért borminta NMR spektrumát ezzel a bor adatbázissal összevetve, többváltozós statisztikai elemzést alkalmazva meghatározható a fajta, évjárat és származási hely (borrégió, borvidék).

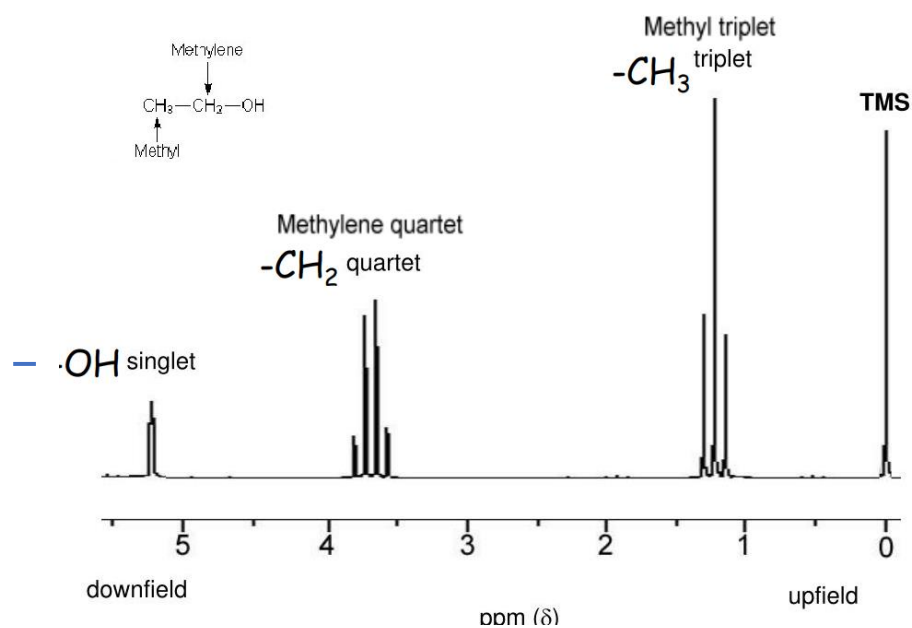
Az egyes vegyületek számszerűsítését olyan tényezők határozzák meg, mint a jel sokasága (szingulettek, multiplettek, komplex multiplettek), a jel integrálásának lehetősége (azaz az integrálandó jel nem fedheti át a szomszédos jelet) valamint a jel helye. A vegyületcsoportokra példák a savak (ecetsav, tejsav, almasav és fumársav), szénhidrátok (glükóz, fruktóz, szacharóz), alkoholok (2,3-butándiol, metanol, etanol) (Godelmann et al., 2013, 2016).

Az egyes komponensek lehetséges helyeit a protonokra jellemző kémiai eltolódás mértékét figyelembe véve határozták meg.



8. ábra Borminta NMR spektruma

Érdeemes megjegyezni, hogy a műszer a borminták mérése közben nyolcszoros víz és etanol elnyomással dolgozik. Ez azt jelenti, hogy a maradék víz jelét és az etanol fő jeleit (a víz és az etanol hidroxil-csoportját, az etanol CH₂ kvartettjét, és az etanol CH₃ triplettjét) szelektíven elnyomja a készülék, ezáltal lehetővé téve a kisebb vegyületek felismerését és mennyiségi meghatározását. A víz és az etanol jele csökken, míg a kisebb vegyületek jele láthatóvá válik, és mennyiségük biztonsággal meghatározható (Monakhova et al., 2011).



9. ábra Az etanol proton NMR spektruma

Az 53 komponens kvantitatív meghatározását a műszer automatikusan elvégzi és egy úgy nevezett analízis riportot készít, amelyben megtalálhatóak ezen információk (Esslinger et al., 2015).

A nem célzott elemzés (statisztikai meghatározás):

A megszerzett spektrális adatok statisztikai feldolgozására van szükség. A legszélesebb körben alkalmazott matematikai megközelítés a megszerzett adatok méretének csökkentésére és a csúcstolódási hatások minimalizálására az úgynevezett bucketing (vagy binning) módszer. A csoportosítás alapja, hogy egy spektrumot szegmensekre történő felosztása (úgynevezett tárolókra vagy vödörökre) a könnyebb kezelhetőség és elemzés érdekében. A további értékeléshez az egyes szegmensek összegét, átlagát vagy integrált területét kell venni (Esslinger et al., 2015).

Az előfeldolgozása után eredményül kapott adatmátrixok még mindig számos változót tartalmaznak (a „vödör” szélességétől függően), beleértve az analitikai eredményeket, valamint a fajtára, földrajzi eredetre, évjáratra vonatkozó adatokat.

Ahhoz, hogy az adott borminta fajtája, évjáratja és származási helye meghatározható legyen, statisztikai modelleket kell létrehozni. Külön modellt kell felállítani a meghatározható szőlőfajtákra, a magyarországi borrhégiókra és borvidékekre, valamint az egyes évjáratokra is, melyeket többváltozós statisztikai elemzéssel lehet végrehajtani. A modell létrehozása során leginkább alkalmazott statisztikai módszerek többek között a következők: főkomponens analízis (PCA), diszkriminancia-elemzés (DA), keresztvalidálás (CV) (Godelmann et al., 2013).

A már felállított modellek között megkülönböztetünk klasszifikációs modellt, illetve verifikációs modellt. A klasszifikációs modell célja megállapítani, hogy az adott minta illik-e az adott modellben szereplő csoportba. A fajta, az évjárat és a földrajzi eredet meghatározása klasszifikációs modellel történik. A verifikációs modell a minta teljes NMR profilját veti össze a referencia adatbázisban található NMR profilokkal, és észleli a referencia adatoktól való eltérést (Godelmann et al., 2013).

A mérések révén egy olyan adatbázis birtokába jutunk, melyből a bor földrajzi eredete, a szőlőfajta és az évjárat is megmondható, így borok kategorizálására is lehetőség nyílik, ami a borok eredetvédelmében óriási szerepet tölt be.

Az NMR alapú borprofilozás egyedülálló módon kombinálja a minőségirányítási, biztonsági- és hitelességi vizsgálatokat. Nem véletlen tehát, hogy az NMR-spektroszkópia az ipari minőségbiztosításnak, a technológiai folyamatok kontrolljának mindennapos eszközévé vált.

A „WineScreener” rendszer szabványosított és széles körben automatizált munkafolyamatot követ. A minta előkészítése meglehetősen egyszerű. Ez a pufferoldat bormintához történő hozzáadását jelenti, amit a pH-érték 3,1-re való beállítása követ savas vagy lúgos oldat hozzáadásával. Ezután az oldat egy bizonyos mennyiségét egy NMR-csőbe mérjük H^1 -NMR adatgyűjtés (400 MHz-es spektrométer). Négy kísérletet végeznek különböző impulzusprogramokkal, valamint az adatgyűjtési és feldolgozási paraméterekkel. A statisztikailag értékelt NOE-spektrumot 32 pásztázással és a víz- és etanol-metilén- és metilcsoport-jelek nyolcszoros szuppressziójával (elnyomásával) rögzítjük. A spektrumfájl laboratóriumban történő rögzítése után a rutin munkafolyamatban az összes spektrumfájlt és a megfelelő bor tulajdonságokat egy központosított adatértékelési folyamatba küldjük. Ez a teljesen automatizált folyamat bizonyos összetevők kvantitatív eredményét eredményezi, majd a kapott eredményeket egy riport fájlba konvertálja.

A vizsgált 53 komponens közül a borok alapanalízisét az alkohol, glükóz, fruktóz, szacharóz, glicerin, citromsav, borkősav, almasav, tejsav, összes extrakt, cukormentes extrakt stb. adják. Ezeken a paramétereken felül kimutathatóak a vizsgálat által bomlástermékek (ecetsav, acetoin, biogén aminok: kadaverin, putreszcin, etil-acetát, etil-laktát, hangyasav, fumársav, furfurol, glükonsav, HMF), polifenolok (kaftársav, epikatechin, galluszsav, sikiminsav, trigonellin), a fermentáció építő jellemző vegyületei (markerei) (1,3-propándiol, 2,3-butándiol, 2-metil-propanol, 2-feniletanol, 3-metil-butanol, acetaldehid, galakturonsav, metanol, borostyánkősav), aminosavak (4-amino-butánsav, alanin, arginin, prolin), valamint tartósítószer (szorbinsav, benzoésav, szalicilsav).

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1 A vizsgálati anyag

Kutatómunkámban a 2000-es évjáratot követően, 19 évjáratból (2000-2017; 2020) származó, összesen 156 darab Tokaji aszúbort (156 db) gyűjtöttem, majd analizáltam NMR technikával.

Ezen kívül dolgozatomban bogyómintákat és extrakcióra felhasznált bormintákat vizsgáltam.

A 2020-as évjáratban összesen 64 darab bogyómintát gyűjtöttem Tokaj-hegyaljai ültetvényekről, majd elemeztem különböző mérési módszerek segítségével. A szőlőszemek között voltak

- I. osztályú (13 db) aszúszemek
- II. osztályú (16 db) aszúszemek,
- töppedt szemeket (4 db),
- egészséges szemeket (4 db), valamint
- szamorodni készítésre szánt szőlőszemek (27 db).

Vizsgálataim célja az egyes mintatípusok közötti különbségek szemrevételezése volt.

Az extraháló borminták 8 évjáratból származnak (összesen: 78 darab), melyek között

- 63 db száraz Furmint és
- 15 db száraz Hárslevelű fajta található.

4.2 Vizsgálati módszerek

A kész aszúborokból 53 kémiai paramétert vizsgáltam a Diagnosticum Zrt. Szerencsen működő borászati laboratóriumában található Bruker BioSpin /AVANCE III 400 típusú NMR készülékkel.

A bogyó- és az extrakcióra felhasznált bormintákat HPLC készülékkel (elválasztástechnikai módszer), NMR technikával (spektroszkópiai módszer), fotometriás analizátorral /Thermo Fischer Scientific Gallery készülékkel/ (spektroszkópiai módszer), továbbá finomanalitikai módszerekkel vizsgáltam.

A savösszetétel meghatározását (borkősav, almasav, citromsav, tejsav, fumársav, sikiminsav, borostyánkősav, fumársav, glükonsav, galaktársav) HPLC technikával hajtottam

vége, míg az L-almasav- és a glükonsav-tartalmakat fotometriás analizátorral mértem. A cukortartalom, valamint az összes polifenol-, katechin és leukoantocianin-tartalmak meghatározására finomanalitikai módszereket használtam.

4.2.1 Szőlőbogyó mintaelőkészítése

A szőlőbogyók mintaelőkészítését etanolos extrakcióval végeztem.

4.2.1.1 Szükséges eszközök:

- 200 ml főzőpohár
- turmixgép
- redős szűrőpapír
- üveg tölcsér
- 160 ml centrifugacső
- centrifuga
- 200 ml „A” jelű mérőlombik
- minta tároló edény

4.2.1.2 Szükséges vegyszerek

- desztillált víz
- absz. etanol

4.2.1.3 Mintaelőkészítés menete

1. 12 %-os vizes etanol oldatot készítünk, melyet hagyunk kihűlni.
2. Bemérünk $100 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ bogyót.
3. Hozzáadunk 100 ml 12%-os vizes etanol oldatot (aszúszemek esetén, ha szükséges, 150 ml 12 %-os vizes etanol oldat).
4. Ezt az alkoholos elegyet turmixgépben 1,5 percig összeturmixoljuk.
5. Fél órát állni hagyjuk.
6. Centrifugáljuk.
7. A szűrletet 200 ml-es mérőlombikba fogjuk fel. 12%-os vizes etanollal jelre töltjük.
8. Az így előkészített mintát mintatároló edényben vizsgálatig -20°C -on tároljuk.
9. A felülúszót mintatároló edényben vizsgálatig -20°C -on tároljuk.

4.2.2 ¹H-NMR mérési módszer

A mintákat a Diagnosticum Zrt. Szerencsen működő borászati laboratóriumában vizsgáltam NMR készüléssel. A laboratóriumban két darab, a Bruker BioSpin GmbH által gyártott /Rheinstetten, Germany/AVANCE III 400 típusú NMR készülék található.

4.2.2.1 Szükséges vegyszerek

Deutérium-oxid (D₂O, 99.9%), kálium-dihidrogén-foszfát (1 M KH₂PO₄), 3-trimetil-szilil-propionsav (0,1%, TSP). A szükséges vegyszereket a Sigma-Aldrich-tól (Darmstadt, Germany) szereztem be.

4.2.2.2 Mintaelőkészítés

A borminták ¹H-NMR-spektroszkópiás elemzését mintaelőkészítés előzi meg. A bor pH-értéke általában 2,8 és 3,4 között változik (Jackson, 2014), más források szerint ez a tartomány szélesebb is lehet 3,0–3,7 (Waterhouse, Sacks és Jeffery, 2016). A pH-érték azonban befolyásolja az NMR spektrumokban a jelek kémiai eltolódását, így célszerű a borminták pH-ját egy pontos célértékre beállítani: pH 3,10 (± 0,02). Ezt a pH-beállítást a Bruker BioSpin GmbH (Németország) által gyártott BTpH típusú pH-mérő készüléken végeztem. A folyamat a készülék kalibrálásával kezdődik, amikor beállítom a pH célértékét (pH 3,10 ± 0,02). Ezt követően a mérendő mintából 900 µl mennyiséget adagolokk automata pipetta segítségével egy 2 ml-es kriogén mintacsőbe, amelyet a készülék rázó állványába helyezek. A készülék elektródáját a mintacsőbe helyezem és elindítom a folyamatot. Első lépésben a műszer detektálja a borminta aktuális pH értékét, majd hozzáad 100 µl foszfát-puffert (1 M KH₂PO₄), 0,1% TSP (3-trimetil-szilil-propionsav) belső kalibrálási standard-et, valamint vonatkozási anyagként deutériumot (D₂O). A folyamat során a készülék a mért pH értéktől függően savat (HCl) vagy lúgot (NaOH) adagol a mintához célérték eléréséig. A kellő mértékű homogenizálás érdekében a mintát a műszer folyamatosan keveri.

Az elkészített keverékből 600 µl mennyiséget mérek ki automata pipetta segítségével 5 mm átmérőjű Wilmad NMR-csőbe (Wilmad Labglass Inc., Vineland, NJ, USA). Minden csőre ráragasztásra kerül egy azonosíthatóságot szolgáló egyedi vonalkód és meghatározott magasságban a spinner, majd a mintát az NMR készülék automata mintaváltójába helyezek.

4.2.2.3 ¹H-NMR mérés menete

A minták NMR-mérését a Bruker BioSpin GmbH által gyártott /Rheinstetten, Germany/AVANCE III 400 típusú NMR készüléssel végeztem. A készülék nevében szereplő 400 a 400 MHz-es mágnesre utal. A készülék teljesen automatizált, 5 mm-es ¹H/D-TXI szondafejvel

van ellátva, illetve Z-gradiens tekercsekkel, továbbá rendelkezik Bruker 120 pozíciós automatikus mintaváltóval (Sample Xpress). Ennek köszönhetően lehetőség van 120 minta sorrendben történő elemzésére kézi beavatkozás nélkül. A műszerben van a hőmérséklet-szabályozáshoz szükséges BTO-2000 kiegészítővel. Minden mérés előtt egy 5 perces várakozási idő van, ugyanis ennyi idő szükséges a hőmérséklet kiegyenlítéséhez. A mérés 290 K-en történik.

A mérés első lépése, hogy a mintákhoz tartozó adatokat (fajta, származási hely, évjárat) felviszem egy úgynevezett Sample Track nevű programba. Így a mintaváltóba helyezett mintát a készülék magától felismeri és automatikusan beviszi a mágneses térbe.

Az impulzusok beállítása minden minta esetében a szabványos Bruker rutinok alkalmazásával történtek, ami az ATMA, LOCK, TOPSHIM és PULSECAL nevű hangolási folyamatokat foglalja magába. A hangolást követően megkezdődik a mérés, ami négy vizsgálatból (pulzusprogramból) áll: zgpr (PREP), noesygpps1d (NOESY), jresgppsqr (JRES), zg30 (QUANT).

Egy borminta NMR készülékkel történő vizsgálata körülbelül 12 perc alatt történik meg. Ez idő alatt összesen 32 felvétel (scan) készül a mintáról, valamint megtörténik a Fourier-transzformáció. Az automatizált folyamat eredménye az NMR spektrum, amelyet a TopSpin 3.2 számú szoftvercsomag és az AMIX nevű program 3.9.15. számú verziójával (Bruker Biospin, Rheinstetten, Németország) tudunk megnyitni és kiértékelni. A mérési eredményeket a szoftver által generált riportban lehet megtekinteni.

4.2.3 HPLC-s meghatározási módszer

Szerves savak (citromsav, borkósav, almasav, sikiminsav, tejsav, fumársav) együttes meghatározását nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás eljárással (HPLC) végeztem a MATE Borászati Tanszék kutatói laboratóriumában.

A mérésekhez szükséges minden reagenst a Sigma Aldrich-től szereztem be (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).

Citromsav ($\geq 99.5\%$)

Borkósav ($\geq 99.5\%$)

L-almasav ($\geq 99\%$)

Sikiminsav ($\geq 99\%$)

Na-D-laktát ($\geq 99.0\%$)

Ca-laktát x 5 H₂O ($> 98\%$)

Fumársav ($\geq 99.0\%$)

3. táblázat A kromatográfiai körülmények bemutatása

Berendezés:	Shimadzu LC-20 AD
Kromatográfiai analitikai oszlop:	SUPELCOGEL 8H 30 cm x 7,8 mm
Detektor:	Shimadzu SPD-M20A diódasoros detektor
Detektálás hullámhossza:	$\lambda=210$ nm
Áramlási sebesség:	0,4 ml/min izokratikus
Kolonna termosztát hőmérséklete:	45 °C
Injektált mennyiség:	10 μ l
Eluens összetétel:	0,0125 mólos H ₂ SO ₄

4.2.4 Fotometriás analízátor /Thermo Fischer Scientific Gallery készülék/

A minták L-almasav és D-glükonsav koncentrációit a Diagnosticum Zrt. Szerencsen működő borászati laboratóriumában mértem meg fotometriás analízátorral /Thermo Fischer Scientific Gallery készülék/.

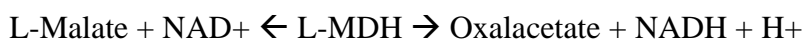
4.2.4.1 L-almasav meghatározása

Az L-almasav és D-glükonsav-tartalmak meghatározását a Thermo Fischer Scientific Gallery típusú fotometriás analízátor segítségével végeztem a gyártó által megadott módszerek (D04667_07) alapján.

Az L-almasavat a gyártó által megadott D04670_08 módszer szerint mértem meg.

A módszer L-Malát-dehydrogenáz (L-MDH) és Glutamát-Oxálacetát-Transzamináz (GOT) alapú enzimatis teszt. A mérést 37°C-on, 340 nm-es hullámhosszon végeztem.

A módszer elve:



A mérés elvégzéséhez három, vonalkóddal ellátott reagens szükséges (R1, R2 és R3), melynek koncentrációit a 4. számú táblázat tartalmazza.

4. táblázat Reagens koncentrációi

R1	Puffer	pH 10.3
	Glutaminsav	60 mmol/l
R2	NAD	≥ 20 mmol/l
R3	Puffer	pH 9.6
	GOT	≥ 10 KU/l
	L-MDH	≥ 150 KU/l

Az R1, R2 és R3 reagensek egyaránt előkészítés nélkül felhasználhatók. A Gallery applikációk mindegyike tartalmaz egy elsődleges, automatikus 1+9-es hígítást. Az elsődleges hígítás mértékén nem módosítottam. A mintákat szűrés nélkül közvetlenül mértem.

4.2.4.2 D-glükonsav meghatározása

A D-glükonsavat a gyártó által megadott D11542_02 módszer szerint mértem meg.

A módszer 6PGDH (6-P-gluconate-dehydrogenase) és GK (gluconate kinase) alapú enzimatikus teszt. A mérést 37°C-on, 340 nm-es hullámhosszon végeztem.

A módszer elve:

GK jelenlétében a glükonsav az ATP-vel foszforilálódik. A képződött D-glükonát-6-foszfátot a NADP oxidatív módon dekarboxilezi 6PGDH jelenlétében. A képződött NADPH mennyisége arányos a mintában lévő glükonsav koncentrációjával. A NADPH növekedését 340 nm-en mérem.

A mérés elvégzéséhez két, vonalkóddal ellátott reagens szükséges (R1, R2 és R3), melyek közül a R2 használatra kész, míg az R1 számú reagenst nekem kell előkészíteni úgy, hogy 1 ml B reagenst pipettázok a reagáns A fiolába, majd alaposan összekeverem, habképződés nélkül. A reagens információkat és a koncentrációkat az 5. számú táblázat tartalmazza.

5. táblázat Reagens információk és a koncentrációk

	Reagens információk	Koncentrációk
Reagens A	6 x 10 ml	NADP > 0,2 mmol/l ATP > 2 mmol/l
Reagens B	1 x 7 ml	GK > 1 U/l
Reagens R2	3 x 4 ml	6PGDH > 3U/l

4.2.4.3 Polifenol-összetétel meghatározása

- Az összes polifenol-tartalom meghatározása Folin-Ciocalteu reagens alkalmazásával, galluszsavra kalibrálva, MSZ-9474-80 szerint,
- A leukoantocianinok mennyiségét, vas (II) –szulfátot tartalmazó sósav-butanol, 40:60 arányú elegyével történő melegítés után, spektrofotométeresén, Flanzy (1969), módosított módszere alapján,
- A katechin tartalmat, alkohollal hígított borban kénsavas vanilinnel reagáltatva, 500 nm-en, spektrofotométeresén (Rebelein, 1965).

4.2.5 Cukortartalom meghatározása

A cukortartalom meghatározását az általános borászati analitikai gyakorlat szerint végeztem el az arra alkalmas magyar szabványnak (MSZ 9479-1980) megfelelően.

4.2.6 Alkalmazott statisztikai módszerek

A mérési eredményeket a Microsoft Excel (verziószám: 18.2106.12410.0, license: Microsoft Corporation) programba vittük be, a statisztikai számolásokat R-ben elemeztük ki (R Core Team, 2021).

Az NMR technikával mért kémiai paraméterek és a vizsgált évjáratok közötti összefüggések tanulmányozására Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztunk (Reiczigel et al., 2021). Szükség esetén post hoc tesztként Dunn-tesztet végeztünk. Amennyiben a Kruskal-Wallis teszt szerint különbség volt a csoportok között, akkor Dunn-teszttel néztük meg, hogy pontosan mely csoportok különböznek egymástól. Erre azért van szükség, mert a Kruskal-Wallis teszt sok csoport esetén akkor is jelezhet, ha a csoportok között a Dunn-teszt nem talál valódi különbséget.

Annak a kérdésnek a megválaszolására, hogy van-e lehetőség egy adott minta valamilyen csoportba sorolására (évjárat, mintatípus) a mért kémiai paraméterek alapján klaszteranalízist választottunk. Klaszterelemzést akkor használunk, ha az adatainkat valamilyen vizsgált értékek alapján csoportokba szeretnénk sorolni. A csoportba soroláshoz csak olyan változót lehet használni, ahol a készülék kimutathatósági határértékei feletti mennyiségben voltak detektálhatóak az adott paraméterek, ezért előzetesen szelektálni kellett az adathalmazunkat. A kapott csoportokat klaszterploton ábráztuk, melyen az azonos csoportokba tartozó mintákat színes határvonalak határolják.

Vannak olyan paraméterek, melyeket párhuzamosan többféle mérési módszerrel is megmértünk. A mérési módszerek összehasonlítására párosított Wilcoxon-tesztet alkalmaztunk, mely két csoport közötti különbség vizsgálatára alkalmas. Ennek a próbának nem előfeltétele, hogy az adatok normális eloszlást mutassanak.

A különböző méréstechnikák mérési eredményeit ún. boxplot ábrákon szemléltettük. A boxplot ábráról a csoportok közötti általános különbségeket lehet leolvasni. A „doboz” közepén található a medián, ami egyfajta átlagnak tekinthető. A függőleges vonalak a „doboz” tetején és alján a szórást mutatják, míg a kiugró adatokat a pontok jelölik.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1 A vizsgálati évek (2000-2020) főbb meteorológiai adatai, évjáratok jellemzése

Vizsgálataimat a 2000 és 2020 közötti évjáratokból származó kész aszúborokból végeztem. A vizsgálati terület időjárás viszonyainak bemutatását, illetve az évjáratok jellemzését Leskó István, szőlész, növényorvostól kapott meteorológiai adatok alapján készítettem. A meteorológiai adatokat Mád, szabványos meteorológiai házban, 2 m talaj feletti magasságban, mérőműszerekkel regisztrálta.

A 2000-2020 közötti évjáratok jellemzőit a 6.számú táblázat tartalmazza.

6. táblázat Évjáratok Mádon (Leskó, szóbeli közlés)

Év	Jellemzők	Mediterrán	Jó	Közepes	Gyenge
2000	mediterrán, kiváló aszús	●	●		
2001	lisztharmat, gyenge minőség				
2002	közepes, gyenge minőség				●
2003	közepes, de aszús		●		
2004	közepes, de szép édesek a borok			●	
2005	közepes, végére aszú, de kevés			●	
2006	szép édes-száraz borok		●		
2007	szép édesek, késeiek, helyi lisztharmat	●	●		
2008	közepes, aszús, helyi lisztharmat		●		
2009	egészséges szőlő, korai év	●		●	
2010	tragikus, esős, lisztharmat				●
2011	mediterrán, közepes	●		●	
2012	mediterrán, közepes	●		●	
2013	közepes, kevés aszú, helyi lisztharmat			●	
2014	ecetes-rothadt, helyi lisztharmat				●
2015	mediterrán, közepes	●		●	
2016	heterogén, közepes, rothadás			●	
2017	kiváló, aszús		●		
2018	mediterrán, közepes, korai szüret	●		●	
2019	heterogén, "zöldszüret"			●	
2020	heterogén, "zöldszüret"			●	

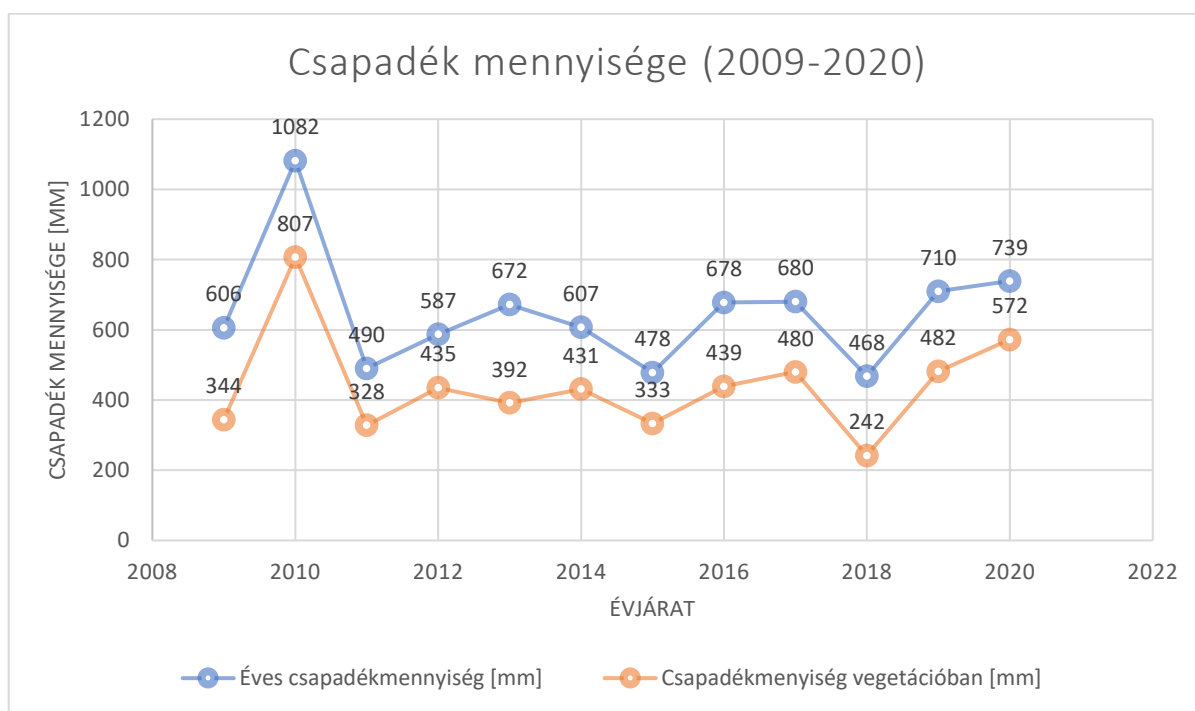
A 6. számú táblázatban feltüntetett évjáratokat aszúsodás szempontjából jó, közepes és gyenge kategóriákba soroljuk. A táblázat második sorában meg vannak jelölve azok az évjáratok, melyek mediterrán jellegűek voltak. Megfigyelhető, hogy a 2000-es évek elején még jellemző hármas szabály, miszerint jó, közepes és gyenge évjáratokat voltak jellemzőek, addig 2009 után már a mediterrán jellegű évjáratok lettek gyakoribbak: 2007, 2009, 2011, 2012, 2015, 2018. Ezek közül is kiemelkedően mediterrán jellegű volt a 2018-as év.

Kiváló aszús évjárat volt a 2000-es és a 2017-es. 2000-ben a töppedésre és aszúsodásra való hajlam növekedése miatt aszúeszencia minőséget szüreteltünk. A 2003-as és a 2008-as év közepesen volt aszús. 2001-ben és 2022-ben gyenge minőség termett a borvidéken, 2013-ban kevés aszú volt. A 2010-es évjárat tragikusan esős és lisztharmatos volt.

Az elmúlt 150 év gyakorlati tapasztalatai alapján az az általános megállapítás, hogy 10 évenként általában 3 kiváló aszús évjárat szokott lenni. Érdekesek a táblázatban látható megfigyelések, miszerint a 2000-2010 közötti időszakban három évjárat volt jó évjárat aszúsodás szempontjából, míg a következő 10 évben (2010-2020) ez a szám 1. A többi év inkább csak közepesnek minősült. Ez is a klímaváltozás hatásainak tudható be. A 7. számú táblázat a Föld átlaghőmérsékleteit mutatja be a 1950-től 2020-ig terjedő időszakban 10 évenként feltüntetve a hőmérészkleteket. Ebből látszik, hogy 1,08 °C-os hőmérsékletemelkedés tapasztalható, ami jelentős változásokat idéz elő a növényvilágban.

7. táblázat A Föld átlaghőmérséklete (Leskó, szóbeli közlés)

Év	°C	Különbség	Eltelt év
1950	13,87	0,00	0
1960	14,01	0,14	10
1970	14,02	0,01	10
1980	14,16	0,14	10
1990	14,30	0,14	10
2000	14,31	0,01	10
2010	14,50	0,19	10
2020	14,95	0,45	10



10. ábra Csapadékmennyiségek alakulása 2009-2020 közötti időszakban Mádon (Leskó, szóbeli közlés)

A csapadékmennyiségek alakulását 2009 és 2020 közötti időszakban a 10. számú vonaldiagramon ábrázoltam az M2. táblázatban feltüntetett értékek alapján. Az adatokat

szemrevételezve a 2010-es és 2018-as évjáratok mutatnak kiugró értékeket a vizsgált, többi évhez képest. 2010-ben 1080 mm-nyi csapadék hullott. Az adatokból látszik, hogy ez az érték 2018-ban 468 mm volt. A 2018-as év nagyon gyenge aszús évjáratnak számít. A napi csapadékintenzitás alakulását a vegetációs időben Mádon mérve az M1. táblázat tartalmazza.

5.2 Analitikai paraméterek meghatározása

5.2.1 Kész aszúborok vizsgálatának eredményei

Méréseimet a 2000-es évjáratot követően, 19 évjáratból (2000-2017 között, valamint 2020-ban) származó, összesen 156 darab Tokaji aszúborból végeztem el. A kész aszúborok NMR technikával mért átlag mérési eredményeit a 8. és 9. számú táblázatokban foglaltam össze.

8. táblázat Kész aszúborok NMR mérési eredményeinek átlagértékei évjáratok szerint (1. rész)

Évjárat	Alkohol %vol	Metanol mg/L	Glükóz g/l	Cukortartalom g/l	Fruktóz g/l	Glicerín g/l	Alanin mg/L	Arginin mg/L	Prolin mg/L	Ecetsav g/l	Benzoesav mg/L	Citromsav g/l	Hangyasav mg/L	Fumársav mg/L
2000	12.0	60.7	47.9	126.5	78.6	15.6	69.7	357.3	489.8	0.7	n.a.	0.3	28.3	n.a.
2001	12.8	47.3	23.2	50.7	27.4	10.2	50.0	312.0	212.7	0.4	n.a.	0.2	13.0	5.0
2002	12.9	69.0	49.4	127.8	78.4	18.9	66.8	317.8	417.5	0.8	n.a.	0.3	21.3	5.3
2003	12.5	66.8	58.2	131.4	73.2	17.0	68.0	240.0	519.8	0.7	n.a.	0.3	35.3	5.0
2004	10.8	47.7	42.7	116.6	73.9	17.5	62.3	260.0	467.7	0.8	n.a.	0.2	16.0	5.0
2005	11.7	71.5	48.2	113.4	65.3	13.6	93.0	322.5	384.0	0.6	n.a.	0.4	20.5	5.0
2006	13.0	55.0	51.1	118.9	67.8	16.7	57.3	231.8	399.0	0.8	n.a.	0.3	18.5	5.5
2007	11.9	54.9	56.4	128.8	72.4	16.3	66.6	300.8	405.4	0.7	n.a.	0.3	22.0	5.8
2008	12.6	64.9	45.4	109.0	63.6	16.0	65.6	276.5	371.4	0.7	n.a.	0.3	23.2	5.3
2009	12.4	61.3	46.7	115.4	68.7	13.5	65.7	266.7	399.0	0.8	n.a.	0.3	22.0	5.7
2010	12.3	61.1	51.5	138.3	86.8	18.4	69.5	330.1	329.0	0.8	n.a.	0.3	19.4	5.1
2011	12.4	53.3	60.9	143.4	82.5	18.8	81.0	227.3	314.7	0.7	n.a.	0.3	15.7	5.7
2012	13.0	59.0	29.6	99.2	69.6	15.1	35.0	150.0	306.0	0.8	n.a.	0.3	12.0	5.0
2013	11.9	65.3	57.0	137.2	80.2	16.6	59.2	251.8	302.6	0.8	n.a.	0.3	11.5	6.9
2014	12.5	60.2	53.4	117.6	64.2	17.0	53.0	230.4	234.1	0.8	n.a.	0.3	9.9	5.9
2015	12.8	73.6	54.1	134.7	80.6	17.3	43.5	176.7	300.2	0.9	n.a.	0.3	11.1	5.1
2016	11.8	63.8	55.5	120.7	65.2	14.6	47.2	246.4	301.8	0.7	n.a.	0.3	7.2	7.1
2017	12.0	70.6	62.3	151.6	89.3	17.3	46.8	158.4	383.8	0.7	n.a.	0.3	8.0	6.4
2020	12.0	57.7	64.5	142.5	78.1	22.8	38.0	156.0	245.0	1.1	n.a.	0.6	5.5	14.7

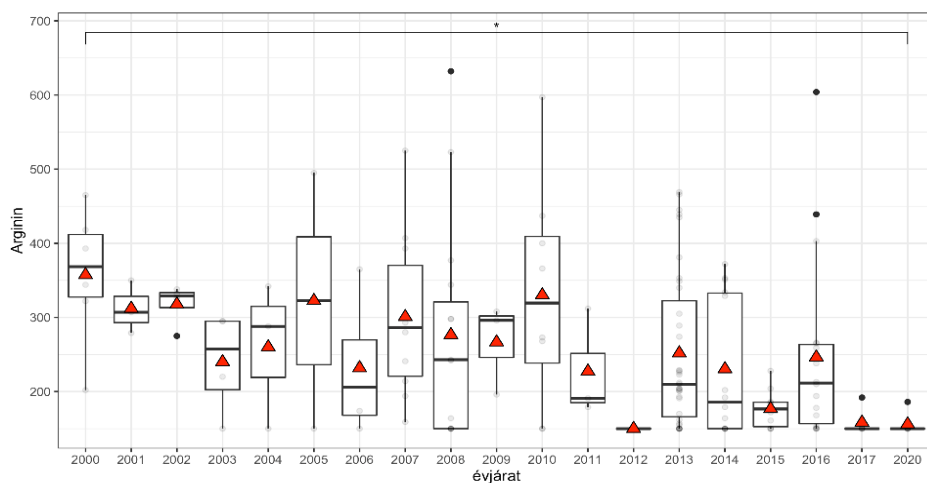
9. táblázat Kész aszúborok NMR mérési eredményeinek átlagértékei évjáratok szerint (2. rész)

Évjárat	Galluszsav v mg/L	Glükonsav v mg/L	Szorbinsav v mg/L	Borostyánkősav v g/l	Borkősav v g/l	Tejsav v g/l	Almasav v g/l	Kadaverin n mg/L	Putreszcin n mg/L	Trigonellin n mg/L	Kaftársav v mg/L	Epikatechin n mg/L	Sikiminsav v mg/L	Glükóz/Fruktóz [-]
2000	0.2	n.a.	400.0	21.8	0.4	1.1	0.3	2.1	n.a.	n.a.	17.2	15.0	n.a.	20.5
2001	0.3	n.a.	400.0	10.0	0.3	0.9	0.5	0.6	n.a.	n.a.	12.3	15.0	n.a.	20.0
2002	0.2	n.a.	400.0	10.0	0.6	1.3	0.3	2.5	n.a.	n.a.	17.3	17.5	n.a.	20.0
2003	0.4	n.a.	593.8	210.3	0.4	1.5	0.4	2.3	n.a.	n.a.	14.5	16.3	n.a.	20.0
2004	0.3	n.a.	448.3	10.0	0.5	1.4	0.6	1.8	n.a.	n.a.	14.3	17.0	n.a.	20.0
2005	0.5	n.a.	435.5	155.0	0.5	1.0	0.3	4.2	n.a.	n.a.	16.0	19.5	n.a.	24.0
2006	0.4	n.a.	403.8	79.3	0.6	1.5	0.4	3.3	n.a.	n.a.	15.5	23.3	n.a.	25.8
2007	0.3	n.a.	437.5	51.1	0.5	1.0	0.3	2.3	n.a.	n.a.	14.3	17.4	n.a.	20.0
2008	0.4	n.a.	428.5	97.8	0.5	1.3	0.3	2.2	n.a.	n.a.	14.8	21.3	n.a.	22.7
2009	0.4	n.a.	400.0	88.3	0.5	1.2	0.3	2.3	n.a.	n.a.	16.7	19.7	n.a.	22.7
2010	0.4	n.a.	434.0	21.9	0.5	1.0	0.3	3.4	n.a.	n.a.	17.0	18.8	n.a.	24.6
2011	0.4	n.a.	400.0	101.3	0.6	1.0	0.3	2.7	n.a.	n.a.	16.0	35.7	n.a.	24.7
2012	0.4	n.a.	400.0	10.0	0.6	1.0	0.3	2.1	n.a.	n.a.	13.0	22.0	n.a.	20.0
2013	0.4	n.a.	403.0	45.2	0.5	1.2	0.3	1.7	n.a.	n.a.	14.1	20.1	n.a.	20.5
2014	0.4	n.a.	526.9	46.6	0.5	1.0	0.2	2.2	n.a.	n.a.	14.6	23.4	n.a.	23.2
2015	0.5	n.a.	400.0	30.7	0.6	1.3	0.2	1.7	n.a.	n.a.	16.0	32.6	n.a.	21.5
2016	0.5	n.a.	425.3	25.5	0.5	0.9	0.5	2.2	n.a.	n.a.	15.1	23.9	n.a.	21.2
2017	0.5	n.a.	400.4	114.6	0.6	1.4	0.4	2.0	n.a.	n.a.	13.6	24.6	n.a.	20.8
2020	0.6	n.a.	616.5	10.0	0.7	1.1	0.3	3.0	n.a.	n.a.	12.7	26.5	n.a.	58.5

5.2.1.1 A 2000 és 2020 évjáratú aszúborok közötti különbségek értékelése

Célkitűzésem arra irányult, hogy van-e különbség az NMR technikával mért változóban a vizsgált évjáratokból (2000-2020) származó aszúborok között. Az eredmények kiértékeléséhez Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztam. Ennek eredményét a mellékletben elhelyezett M5. számú táblázatban tüntettem fel. A kadaverin, a putreszcin és az epikatechin koncentrációit az NMR készülék kimutathatósági határa alatt mérte, ezért ezeket a vegyületeket nem tudtam felhasználni a kiértékeléshez. Az NMR készülék kimutathatósági határértéke a kadaverinre és a putreszcinre vonatkozóan 50 mg/l. Ez a küszöbérték epikatechinre 30 mg/l.

Az elvégzett Kruskal-Wallis teszt alapján az NMR technikával mért paraméterek közül a citromsav, glükonsav (*Kruskal-Wallis teszt, $p < 0.05$*), alanin, arginin, galakturonsav, almasav, sikiminsav (*Kruskal-Wallis teszt, $p < 0.01$*), valamint a prolin, hangyasav, fumársav, szorbinsav (*Kruskal-Wallis teszt, $p < 0.001$*) esetében fedezhető fel szignifikáns különbség az egyes évjáratok között (lásd: M3. táblázat). A szignifikáns különbségeket mutató paraméterek alakulását az egyes évjáratokban (2000-2020) boxplot ábrákon szemléltetem.

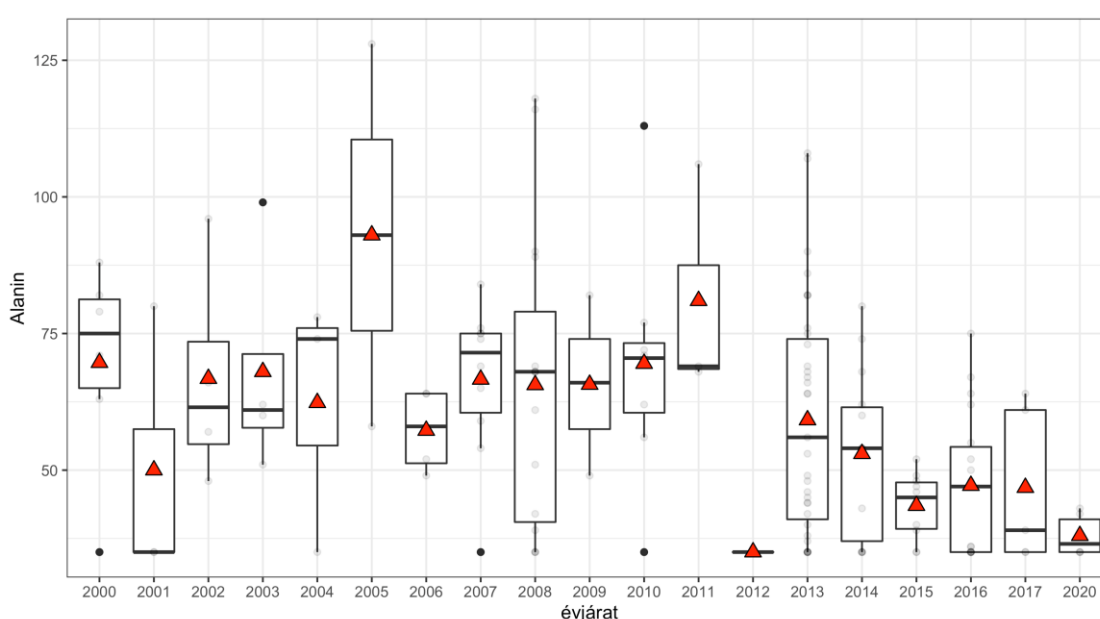


11. ábra Boxplot ábra az arginin koncentrációk alakulásáról a vizsgált évjáratok (2000-2020) függvényében

Az arginin egyike a mustokban és borokban megtalálható mennyiségileg legmeghatározóbb aminosavaknak. Megfigyelések alapján mennyisége az erjedés során növekszik. A kapott eredményeinkből az látszik, hogy az arginin különbözik az egyes évjáratokban (lásd: 11. ábra). Szignifikáns különbség két év között van, 2000 és 2020 között. A 2000-es évben detektált koncentrációk magasabbak, mint a 2020-as évben mérték. A két év átlaga között majdnem 200 egység különbség van. A 2000-es évjárat aszúsodás szempontjából kiugróan

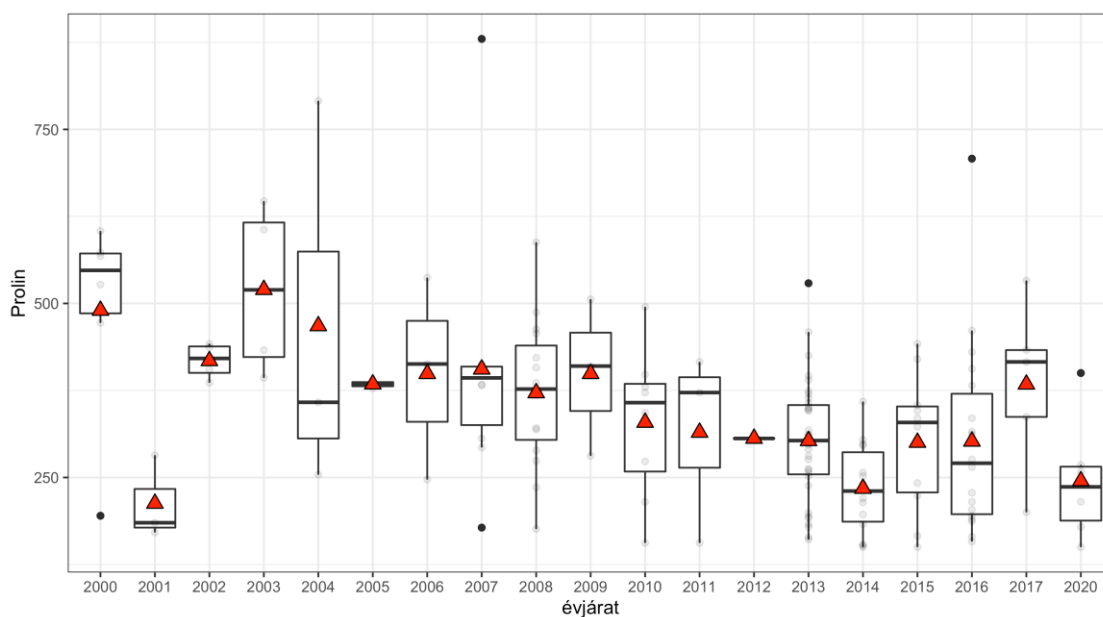
jó évjáratnak számít. Az aktív hőösszeg ebben az évben 2452 °C volt, ami kiemelkedő az átlaghoz képest. A napi csapadékinzintés vegetációs időben 332 mm volt, mediterrán jellegű év. 2020 ezzel szemben meteorológiailag heterogén évjáratnak számít. 2020-ban az éves csapadékmennyiség 739 mm volt, ebből 572 mm a vegetációs időszakban hullott. 2020 aszúsodás szempontjából közepes évjáratnak tekinthető (Leskó, szóbeli közlés). A 2017 volt hasonlóan kiemelkedő évjárat, viszont eredményeink alapján ekkor nem mértünk magasabb koncentrációban az arginint. A többi év nem különbözik szignifikánsan egymástól.

Általános szakmai tapasztalat, hogy aszályos évjáratokban csökken az AFN- azaz az aminosavak koncentrációja- miközben a fehérjekoncentráció nő. Ebből adódik a gyakori kénhidrogén, illetve a fehérjestabilizálás nehézsége (deríthetőség).



12. ábra: Boxplot ábra az arginin koncentrációk alakulásáról a vizsgált évjáratok (2000-2020) függvényében

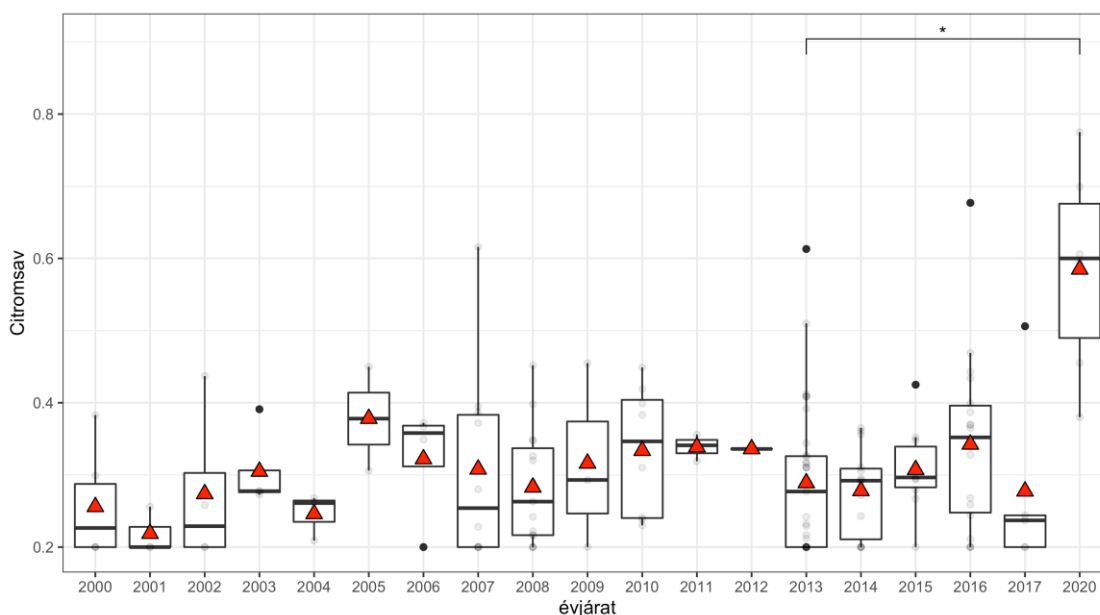
Az aginin, alanin és a prolin a mustokban legnagyobb mennyiségben előforduló aminosavak közé tartoznak. Az arginin, a prolin, a treonin, a glutaminsav, a glutamin, a szerin és az alanin teszik ki ugyanis a mustok aminosav-tartalmának kb. 85%-át. Vizsgálataim alapján a 2005 és 2012-es évjáratok nagyon eltérő különbséget mutatnak az alanin koncentrációinak alakulásában (lásd: 12. ábra). Ezek az évjáratok aszúsodás szempontjából közepesen jó évjáratoknak számítanak. A 2012-es évjárat emellett mediterrán jellegű volt. Ebben az évben 587 mm csapadék hullott, melyből 435 mm a vegetációs időszakban. Az egyéb vizsgált évjáratok között nem figyelhető meg szignifikáns különbség arginin tekintetében.



13. ábra : Boxplot ábra a prolin koncentrációk alakulásáról a vizsgált évjáratok (2000-2020) függvényében

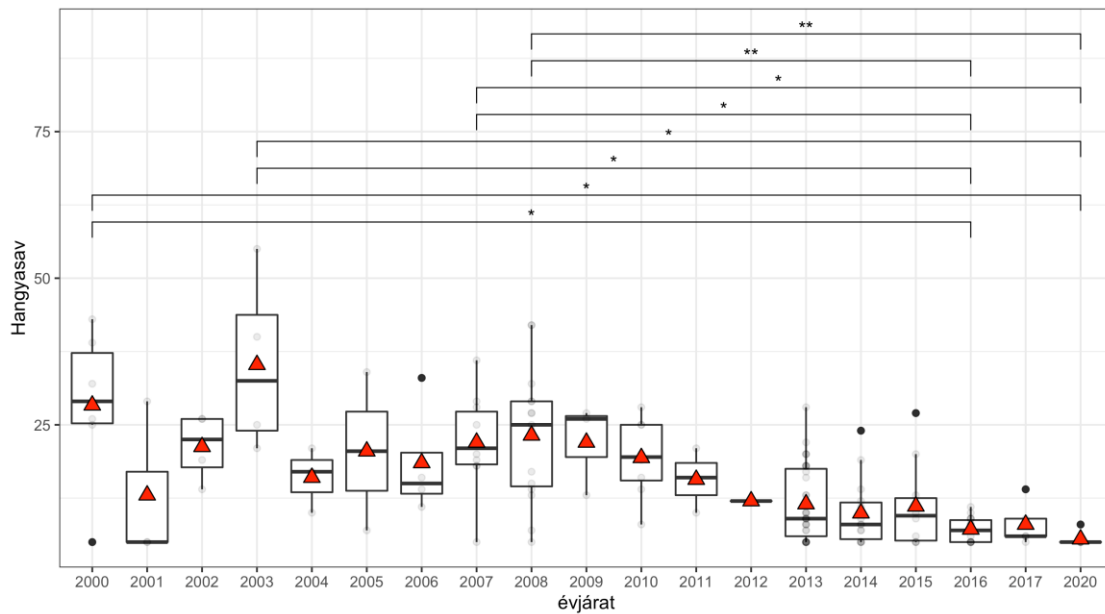
A prolin létfontosságú aminosav, amely sejtozmotikus szabályozóként, fehérjestabilizátorként, szabad gyökfogóként és lipid-peroxidáció-gátlóként játszik szerepet a növényekben. Megfigyelték, hogy a különböző abiotikus stresszhatásokra (pl. klimatikus tényezők) gyorsan felhalmozódik (Verbruggen és Hermans, 2008.) Közismert, hogy az élesztő anaerob körülmények között a prolint nem képes hasznosítani. Az asszimilálható nitrogéntartalomba nem számítjuk bele a prolinból származó nitrogént. Mennyisége az erjedés folyamán növekszik.

A prolin-tartalomra kapott eredményeim alapján a 2001-es évjáratban figyelhető meg eltérés más évjáratokhoz képest (lásd: 13. ábra). Ebben az évben alacsonyabb koncentrációkban detektáltam az említett kémiai komponenst. 2001 aszúsodás szempontjából gyenge évjáratnak tekinthető. Ebben az évben az aktív hőösszeg 1942 °C volt. A napi csapadékintenzitás a vegetációs időben 536 mm.



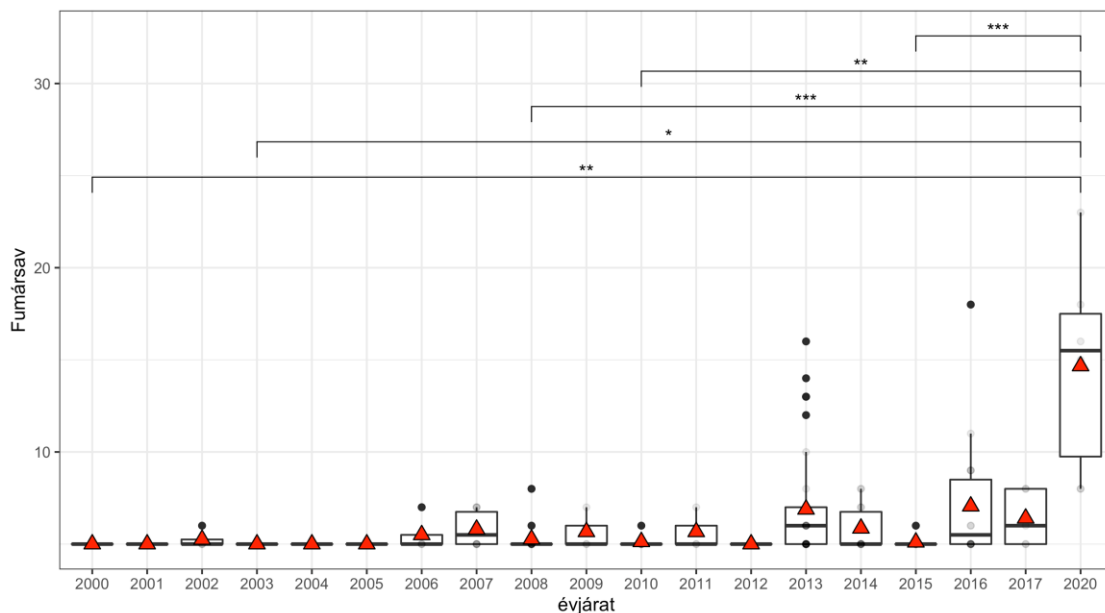
14. ábra: Boxplot ábra a citromsav koncentrációk alakulásáról a vizsgált évjártatok (2000-2020) függvényében

A *Botrytis cinerea* tevékenységének hatására a must összetételében növekszik a citromsav mennyisége. A citromsav koncentrációja normál (nem botritiszes) borokban 0,2 és 0,5 g/l, aszúborokban 0,8 és 9,8 g/l között változik (Kiss, 2007). NMR technikával a vizsgált évjártatokból származó aszúborokban 0,2-0,6 g/l koncentrációban mértem citromsavat, vagyis a korábbi szakirodalmi adatoknál alacsonyabb mennyiségben detektáltam. Eredményeim azt mutatják (lásd: 14. ábra), hogy citromsav-koncentrációk tekintetében a 2001 és 2020-as év adatai nagyon különböznek. Mint azt az előzőekben említettem a 2001-es évjártat aszúsodás szempontjából nagyon gyenge minőségű év volt, ekkor alacsonyabb koncentrációban volt jelen a citromsav a mért szúborokban, 2020 közepesen jó évjártatnak számított aszúsodás szempontjából, viszont nem kiemelkedően. Ebből adódóan ez nem indokolja a kész aszúborok citromsav-koncentrációjában mért kiugró emelkedést.



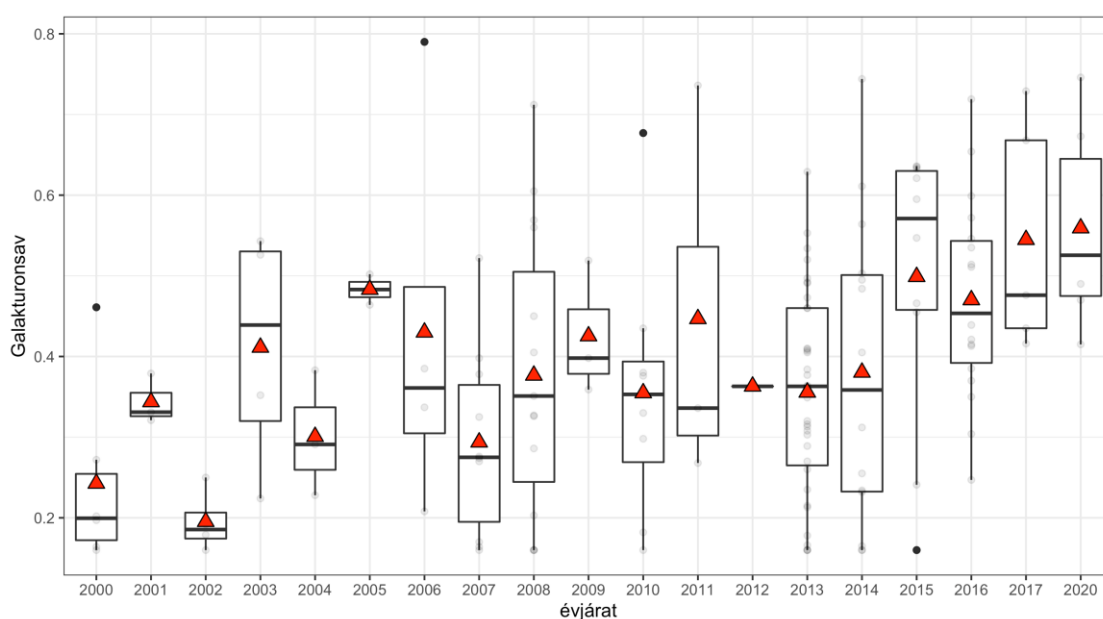
15. ábra : Boxplot ábra a hangyasav koncentrációk alakulásáról a vizsgált évjáratok (2000-2020) függvényében

A hangyasav a borokban található illó savak közé tartozik, mely 50 mg/dm^3 -ig mindig kimutatható belőlük. Hangyasav esetében 2003-as évjáratban mértem a legmagasabb koncentrációkat ($35,25 \text{ mg/l}$), a 2020-as évjáratban pedig a legalacsonyabb mennyiségeket ($5,5 \text{ mg/l}$). Ezen kívül a 2000-ben mért értékek is viszonylag magasnak adódtak ($28,33 \text{ mg/l}$) a többi évjáratához képest (lásd: 15. ábra)



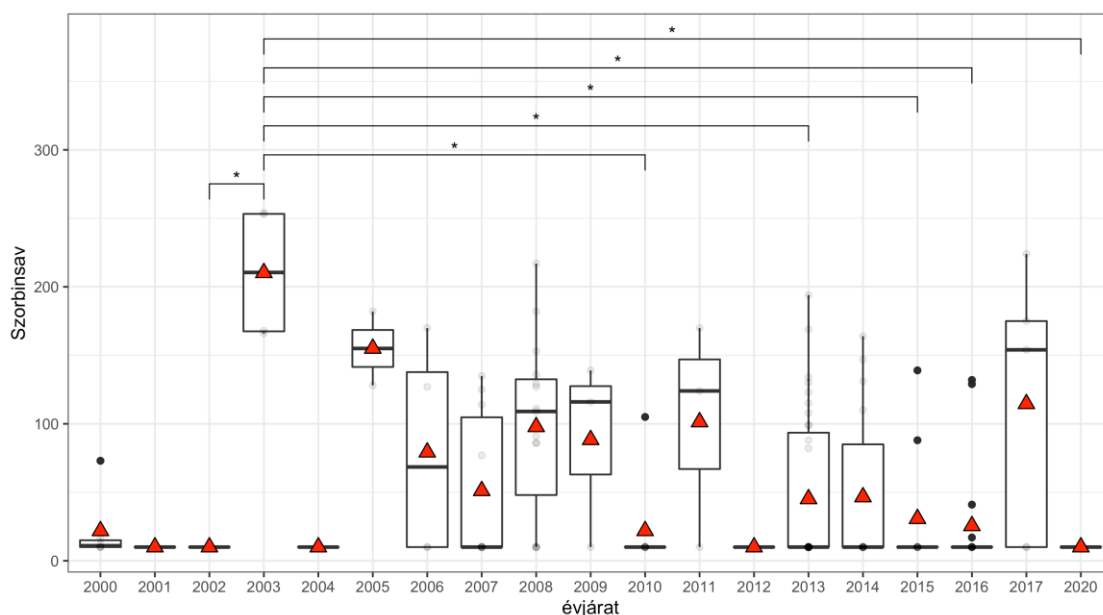
16. ábra : Boxplot ábra a fumársav koncentrációk alakulásáról a vizsgált évjáratok (2000-2020) függvényében

Fumársavra kapott eredményeimet a 16. ábrán látható boxplot diagram szemlélteti. Látható, hogy a 2020-ban mért adatok kiugróan magas értéket mutatnak a többi évjáráthoz képest. Magas koncentrációkat detektáltunk még 2013, 2014, 2016 és a 2017-es évjáratokhoz képest.



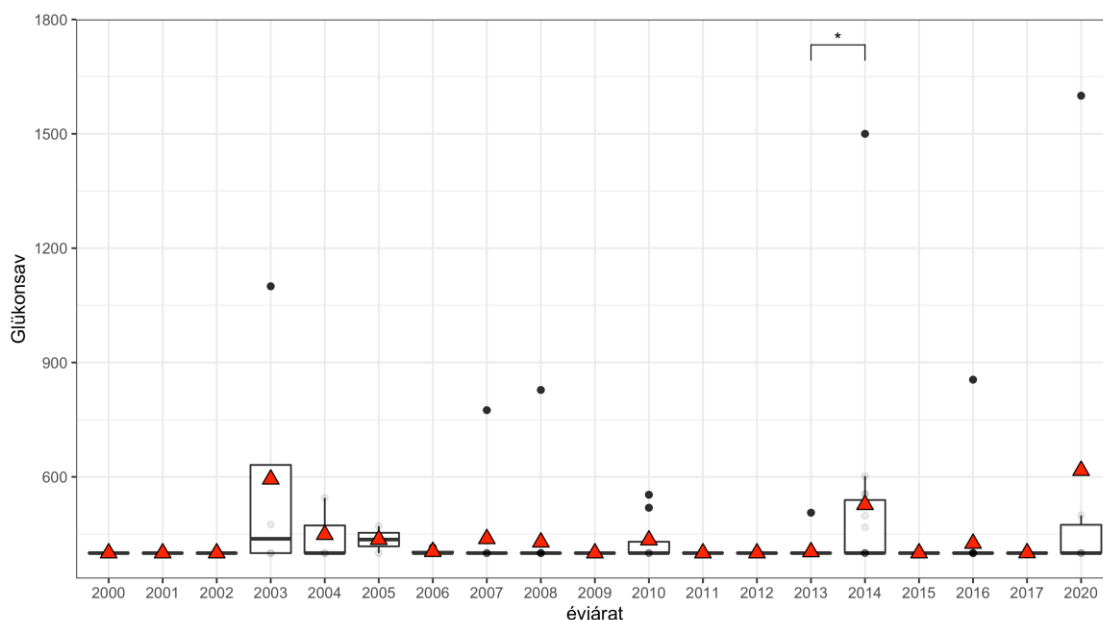
17. ábra : Boxplot ábra a galakturonsav koncentrációk alakulásáról a vizsgált évjáratok (2000-2020) függvényében

Galakturonsav esetében a 2002-ben mért alacsonyabb értékek, mint 2017-ben (lásd: 17. ábra). 2000 és 2017 kiemelkedően jó aszús évjárat voltak, viszont a 2000-es évjáratban a galakturonsavtartalmak nem voltak kiugróan magasak. Ezzel szemben 2001-ben viszonylag magas értékeket mértünk a kész aszúborokban, ami pedig tragikus évjáratnak minősíthető aszúsodás szempontjából. Ez mondható el 2010-ről is. Ezen megállapítások ismeretében a galakturonsav-koncentrációk nem követik az aszúsodás mértékét, annak ellenére, hogy a botritiszes fertőzöttség hatására mennyisége a borokban irodalmi adatok alapján magasabb szokott lenni.



18. ábra: Boxplot ábra a szorbinsav koncentrációk alakulásáról a vizsgált évjáratok (2000-2020) függvényében

A szorbinsav a tokaji borkülönlegességek esetében tartósítószerként maximum 200 mg/l koncentrációban engedélyezett (268 mg/l K-szorbát). Jóllehet ebből adódóan borkülönlegességeknek nem a természetes alkotórésze, de mivel az NMR-protokollban szerepel, a vizsgálati mintáimból ezt is meghatároztam. Szorbinsavból 2003 és 2017-ben voltak mérhetőek magasabb koncentrációk, a többi évjáratokhoz képest (18. ábra).

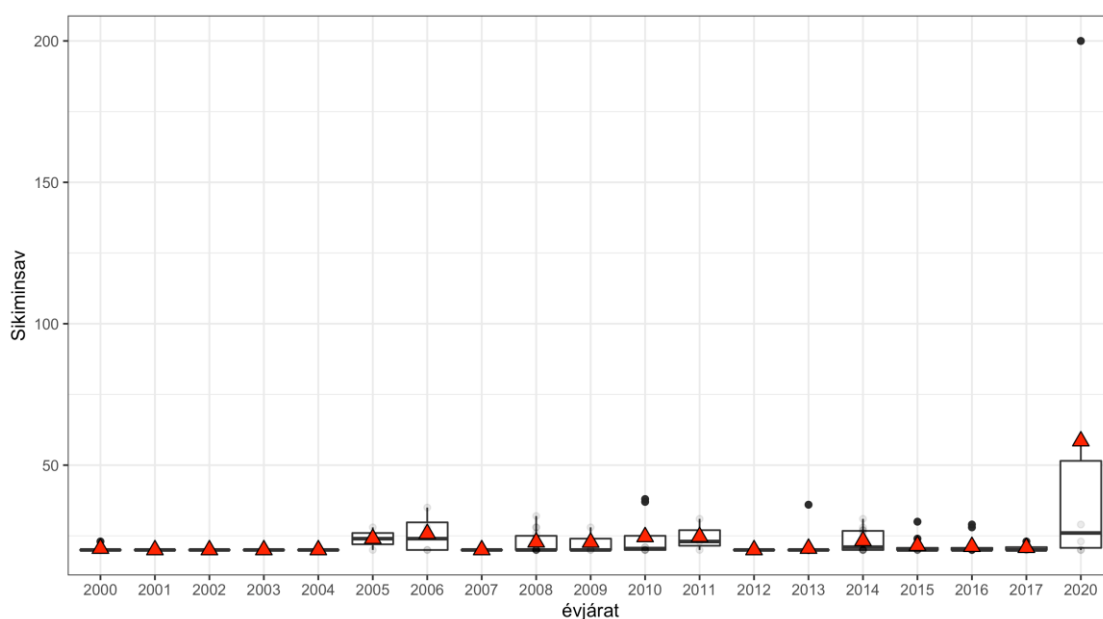


19. ábra: Boxplot ábra a glükonsav koncentrációk alakulásáról a vizsgált évjáratok (2000-2020) függvényében

Az aszúsodás szempontjából vizsgálva, a glükonsav nagyon fontos kémiai paraméter, egyfajta *Botrytis* indikátornak tekinthető, ugyanis a *Botrytis cinerea* nevű penészgomba

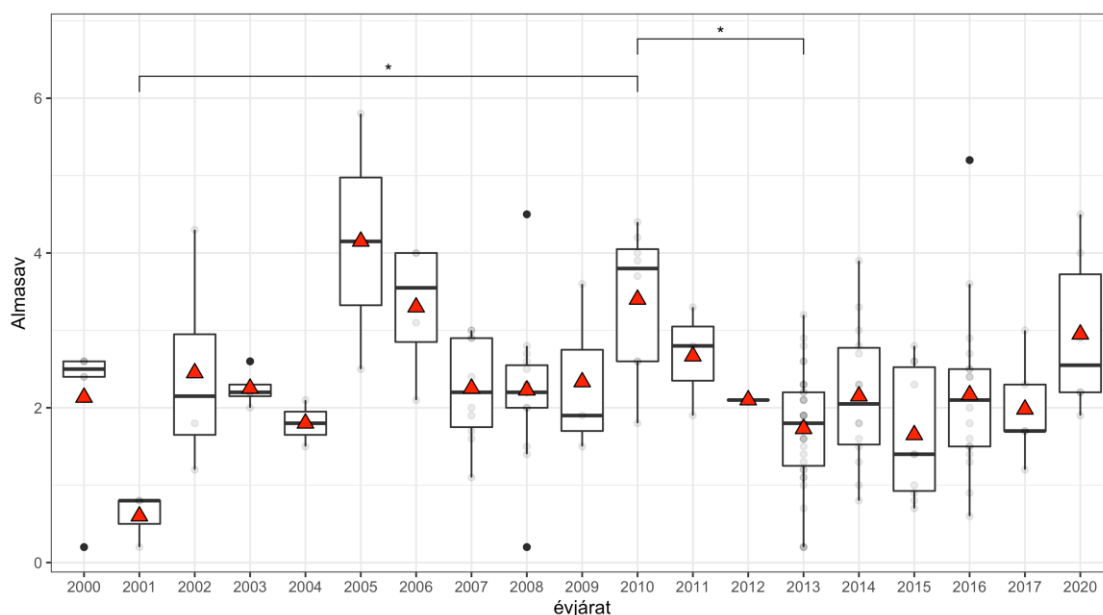
cukoroxidációja során jelentős mennyiségben ($> 5\text{g/l}$ képződik. Mennyisége az egészséges szőlőkben $0,5\text{ g/l}$ alatt van (Vivas et al., 2010). Eredményeim alapján $0,4 - 0,6\text{ g/l}$ közötti koncentrációban volt jelen glükonsav a vizsgált mintáimban. Méréseim szerint a 2003, 2004, 2014, 2020-as évjáratokban magasabb koncentrációkban mértünk glükonsavat, a többi vizsgált évjáratban hasonló értékek voltak mérhetőek (19. ábra).

2020 kiemelkedően jó aszús évjárat volt, 2003, 2004 aszúsodás szempontjából közepesen jó évek voltak, míg 2014-es évjárat nagyon nem kedvezett a *Botrytis cinerea* tevékenységének. Ezek alapján nem tudjuk a glükonsavat *Botrytis* jelzőszámnak tekinteni.



20. ábra: Boxplot ábra a sikiminsav koncentrációk alakulásáról a vizsgált évjáratok (2000-2020) függvényében

Anélkül, hogy a sikiminsav-képződés elméleti hátterét taglalnánk, leszögezhetjük, hogy a magasabb cukorkoncentráció, általában magasabb sikiminsavkoncentrációt eredményez első közelítésben. Sikiminsavat a 2020-as évjáratú kész aszúborokban kiugróan magas koncentrációban mértem (lásd: 20. ábra). Ez az évjárat aszúsodás tekintetében is kiemelkedőnek számít ugyanúgy, mint 2017, viszont 2017-ben nem detektáltuk hasonlóan magas mennyiségben ezt a kémiai komponenst. Ennek ismeretében akár *Botrytis* jelzőszám is lehet a sikiminsav, viszont eredményeim alapján ezt a megállapítást nem lehet egyértelműen kijelenteni.



21. ábra : Boxplot ábra a almasav koncentrációk alakulásáról a vizsgált évjártatok (2000-2020) függvényében

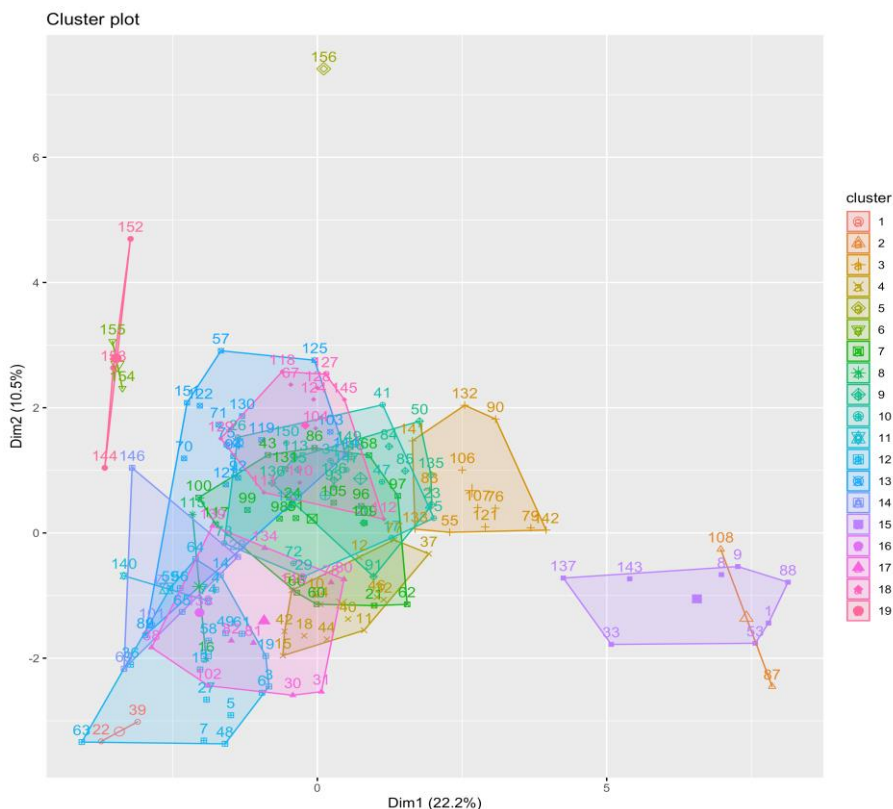
Doneche (1993) alapján az almasav mennyisége az aszúsodás során csökkenést mutat, ugyanis a *Botrytis* annak 50-70 %-át is felhasználhatja a folyamat során. Almasav esetében 2001-ben és 2005-ben adódtak szélsőséges értékeink. 2001-ben átlagosan 0,6 g/l almasavat, 2005-ben átlagosan 4,2 g/l -t mértünk kész aszúborokban (lásd: 21. ábra). 2001 gyenge aszús év volt, míg 2005 közepesen jónak tekinthető.

Összefoglalva az NMR technikával mért kémiai paraméterek közül az alanin, arginin, prolin, citromsav, hangyasav, fumársav, galakturonsav, szorbinsav, glükonsav, sikiminsav és az almasav mutattak szignifikáns különbséget a vizsgált évjártatok között, viszont csak a sikiminsavra kapott eredmény alapján lehet azt megállapítani, hogy akár *Botrytis*-indexnek lehetne tekinteni. Glükonsav, galakturonsav esetében a mérési eredményeimet összehasonlítva az évjárat jellemzőkkel nem erősítették meg a feltevésemet.

5.2.1.2 Kész aszúborok csoportosítása kémiai paraméterek alapján

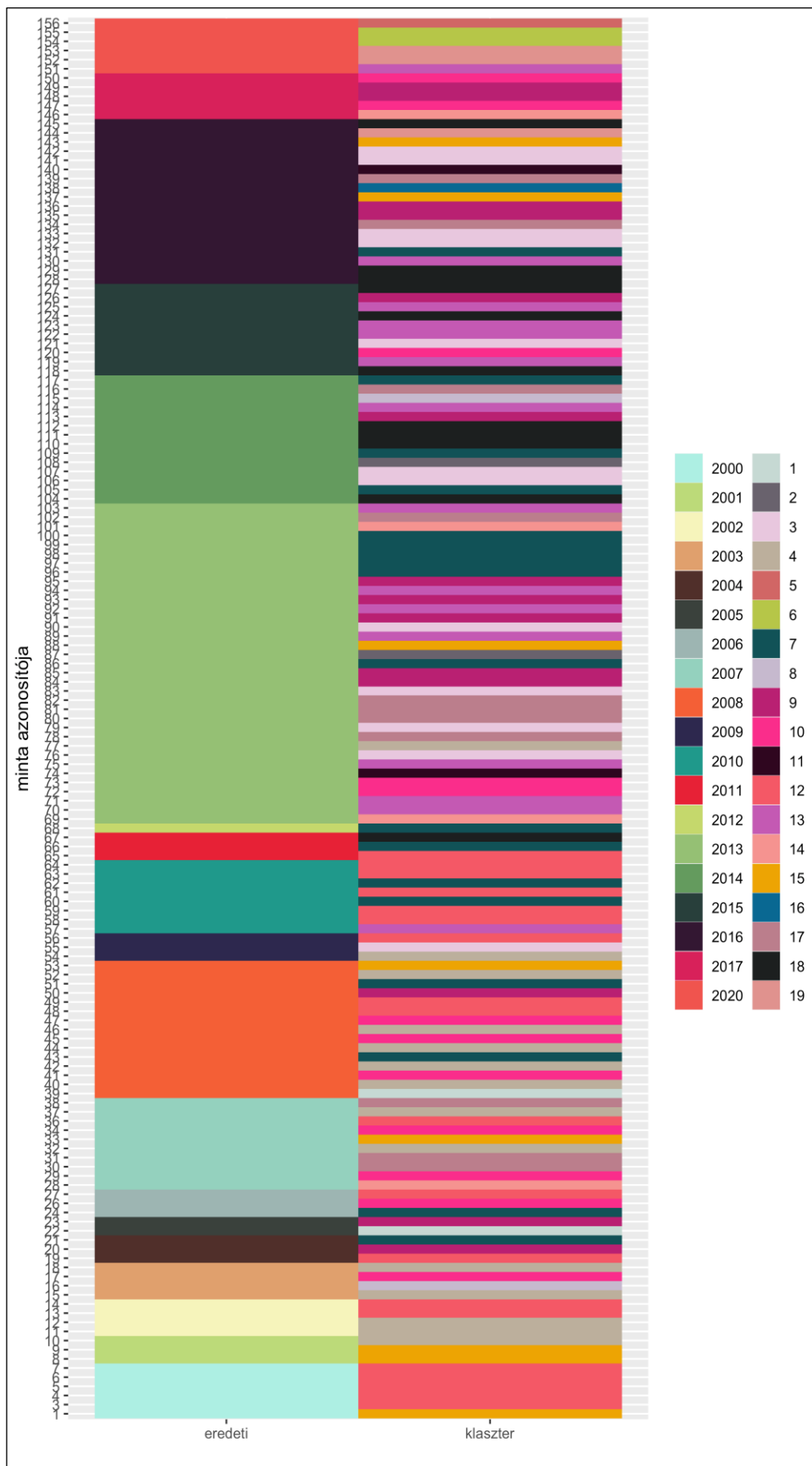
Az NMR technika segítségével 600 mikroliter bormintából kimutatható 53 kémiai komponens ismerete lehetőséget biztosít a borok kategorizálására. Kutatásom egyik célja annak a kérdésnek a megválaszolása, hogy van-e lehetőség egy adott aszúbor besorolására évjárat szerinti kategóriába az NMR technika segítségével mért paraméterek alapján. A vizsgálathoz az 53 paraméter közül azokat a komponenseket tudtam felhasználni, melyek a készülék kimutathatósági határértéke felett voltak mérhetőek, ezért az elemzés első lépéseként kiválogattam azokat a változókat, amelyek esetében ez teljesül. Így a következő változókat használtam fel a további analízishez: alkohol, metanol, glükóz, cukortartalom, fruktóz, glicerin, alanin, arginin, prolin,

ecetsav, citromsav, hangyasav, fumársav, galakturonsav, glükonsav, szorbinsav, borostyánkősav, borkősav, tejsav, almasav, trigonellin, kaftársav, sikiminsav, glükóz/fruktóz arány. Az elemzésben így mind a 153 minta részt vett és 23 változót vizsgáltunk. A kérdés megválaszolása klaszteranalízis segítségével történt. 19 évjáratból származnak mintáim (2000-2017; 2020), ezért 19 csoportra számítottunk. A klaszteranalízis által kapott csoportokat a 22. ábra szemlélteti.



22. ábra: Kész aszúborok csoportosítására végzett klaszteranalízis eredményei évjárat szerinti kategóriákra klaszterploton ábrázolva

A színes határvonalak az egy csoportba tartozó borokat kerítik körbe. A minták azonosítója leolvasható az ábráról. Látható, hogy a csoportok többsége nem válik el élesen egymástól. A lila színű csoport (137-est is tartalmazó csoport) az egyetlen határozottan különböző csoport. A klaszteranalízis eredményezte csoportok nem egyeznek meg a valós évjáratcsoportokkal. A 23. számú ábra azt a célt szolgálja, hogy jobban átlátható legyen, mely minta melyik klasztercsoportba tartozik. Az első oszlop az eredeti csoportokat mutatja, a második a klaszterelemzés által feltártakat. Az egy csoportba tartozó minták színe megegyezik.



23. ábra : Klaszterelemzés kész aszúborokra

A 23. ábrán is az látható, hogy az új csoportok nem fednek át a már meglévőkkel, tehát megállapítható, hogy nem lehet egyértelműen meghatározni az NMR által mért paraméterek alapján az eredeti csoportokat (évjáratok).

5.2.2 Bogyóminták vizsgálata

A bogyómintákból végzett mérési eredményeimet a 10. számú táblázatban tüntettem fel. Ebben láthatóak az NMR technikával és a HPLC készülékkel mért kémiai komponensek koncentrációi az egyes mintatípusokra vonatkozóan.

10. táblázat *Bogyóminták NMR és HPLC mérési eredményeinek átlagértékei*

	Alkalmazott mérés technika	Mértékegység	Minta típusa				Szamorodni készítésére szánt szőlő
			Egészséges szemek	I. osztályú aszú	II. osztályú aszú	Töppedt szemek	
ref%	Rafraktométer	[-]	9,25	13,95	12,51	13,95	10,91
Cukortartalom [számított]	-	[g/kg]	191,72	294,60	262,76	270,78	227,67
Cukortartalom	NMR	[g/kg]	124,95	196,49	164,63	221,67	145,83
Alkohol	NMR	[V/V%]	5,73	8,78	9,36	8,28	6,87
glükóz	NMR	[g/kg]	61,50	87,87	78,89	112,69	71,71
fruktóz	NMR	[g/kg]	63,45	91,81	85,74	109,02	73,73
glükóz/fruktóz	NMR	[-]	0,97	0,95	0,91	1,03	0,98
glicerín	NMR	[g/kg]	6,60	10,06	12,69	4,95	5,75
ref%	Rafraktométer	[-]	9,25	13,95	12,51	13,95	10,91
Cukortartalom [számított]	-	[g/kg]	191,72	294,60	262,76	270,78	227,67
Cukortartalom	NMR	[g/kg]	124,95	196,49	164,63	221,67	145,83
Alkohol	NMR	[V/V%]	5,73	8,78	9,36	8,28	6,87
glükóz	NMR	[g/kg]	61,50	87,87	78,89	112,69	71,71
fruktóz	NMR	[g/kg]	63,45	91,81	85,74	109,02	73,73
borkősav	HPLC	[g/kg]	3,07	6,08	5,54	5,68	3,77
	NMR	[g/kg]	7,00	3,84	3,41	4,15	4,82
almasav	Fotometriás analizátor	[g/kg]	2,59	3,67	3,06	2,25	2,08
	NMR	[g/kg]	2,45	3,65	3,03	2,51	2,03
tejsav	HPLC	[g/kg]	0,02	0,33	0,17	0,02	0,19
	NMR	[g/kg]	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
citromsav	HPLC	[g/kg]	0,53	0,75	2,84	0,53	0,15
	NMR	[g/kg]	0,40	0,49	0,44	0,40	0,40
fumársav	HPLC	[mg/kg]	2,69	30,40	20,57	39,16	5,60
	NMR	[mg/kg]	10,00	16,50	11,85	14,00	10,92
glükonsav	Fotometriás analizátor	[g/kg]	0,12	1,28	1,63	0,78	0,68
	NMR	[g/kg]	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
galaktársav	HPLC	[mg/kg]	4,91	11,11	14,28	8,77	11,24
HMF	NMR	[mg/kg]	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
metanol	NMR	[mg/kg]	60,00	110,20	217,78	60,00	73,67
galakturonsav	HPLC	[g/kg]	0,58	0,54	0,54	0,84	1,30
	NMR	[g/kg]	0,32	0,58	0,55	0,48	0,32
borostyánkősav	HPLC	[g/kg]	0,76	3,01	2,63	1,19	n.a.
	NMR	[g/kg]	0,10	0,09	0,10	0,10	0,10
kaftársav	NMR	[mg/kg]	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
epiketechin	NMR	[mg/kg]	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00
sikiminsav	HPLC	[mg/kg]	21,30	126,11	55,50	20,83	10,54

	NMR	[mg/kg]	40,00	40,33	40,14	42,00	40,00
putreszcin	NMR	[mg/kg]	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
kadaverin	NMR	[mg/kg]	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
alanin	NMR	[mg/kg]	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00
arginin	NMR	[mg/kg]	300,00	311,00	300,00	300,00	303,23
prolin	NMR	[mg/kg]	300,00	300,00	300,00	318,50	300,00
összes polifenol	Finomanalitikai módszer	[mg/kg]	793,75	1258,67	964,31	1431,33	791,22

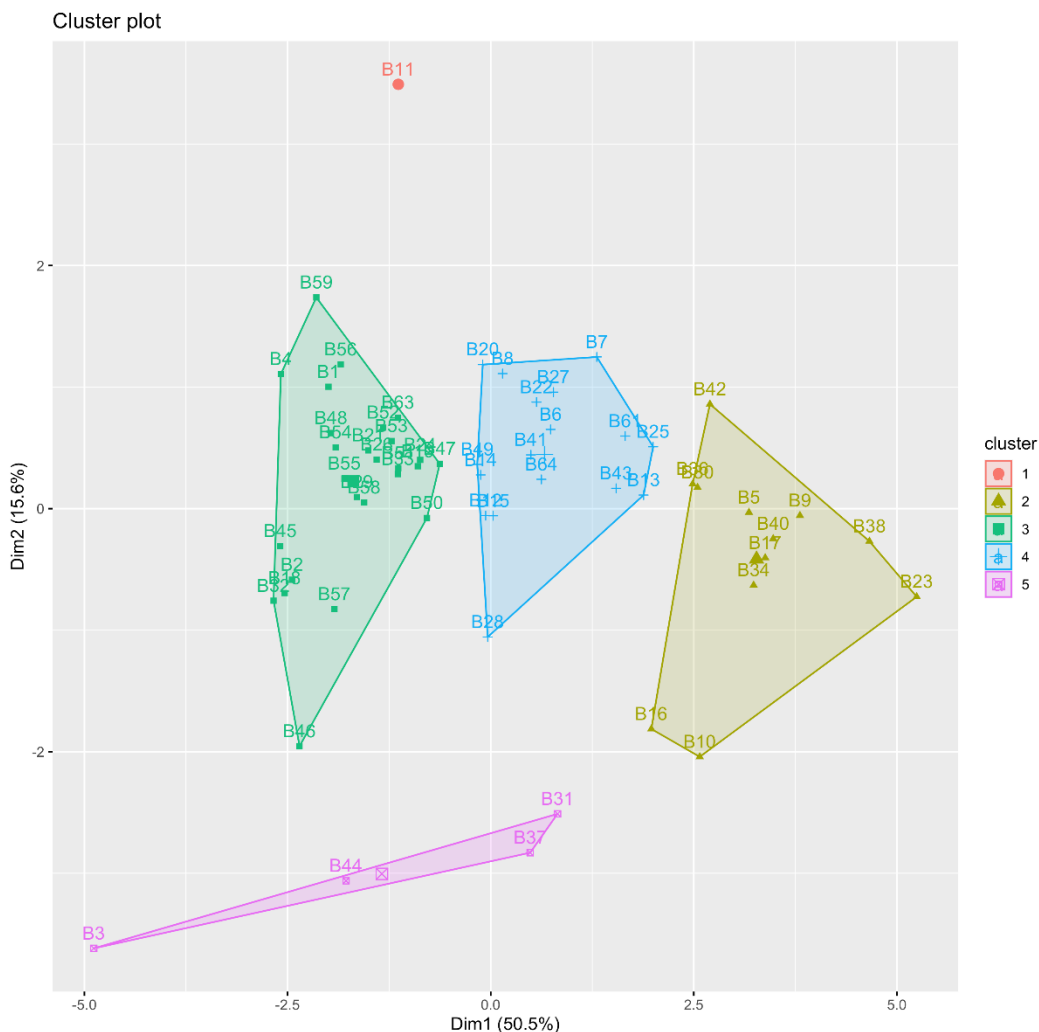
n.a.: nincs megfelelő mennyiségű adatunk

5.2.2.1 Bogyóminták csoportosításának lehetősége

Ahhoz, hogy meg lehessen nézni, hogy van-e lehetőség a borok csoportokba sorolására a mért kémiai paraméterek alapján, arra lenne szükség, hogy minden borhoz tartozó minden egyes mérési értéket ismerjünk. Vannak azonban olyan komponensek, melyeket a készülék kimutathatósági határ alatt mérte, amit előzetes megállapodás alapján a kimutathatósági határértékkel egyenértékűnek vettem és így tüntettem fel az eredmények között. Az ilyen változókat azonban nem lehet kategorizálásra használni. Ebből adódóan első lépésben kiválogattam azokat a kémiai komponenseket, melyek a készülék által detektálható mennyiségben voltak jelen a mintában és velük végeztem el a kérdés megválaszolására alkalmas statisztikai módszert, ami ebben az esetben egy klaszterelemzés.

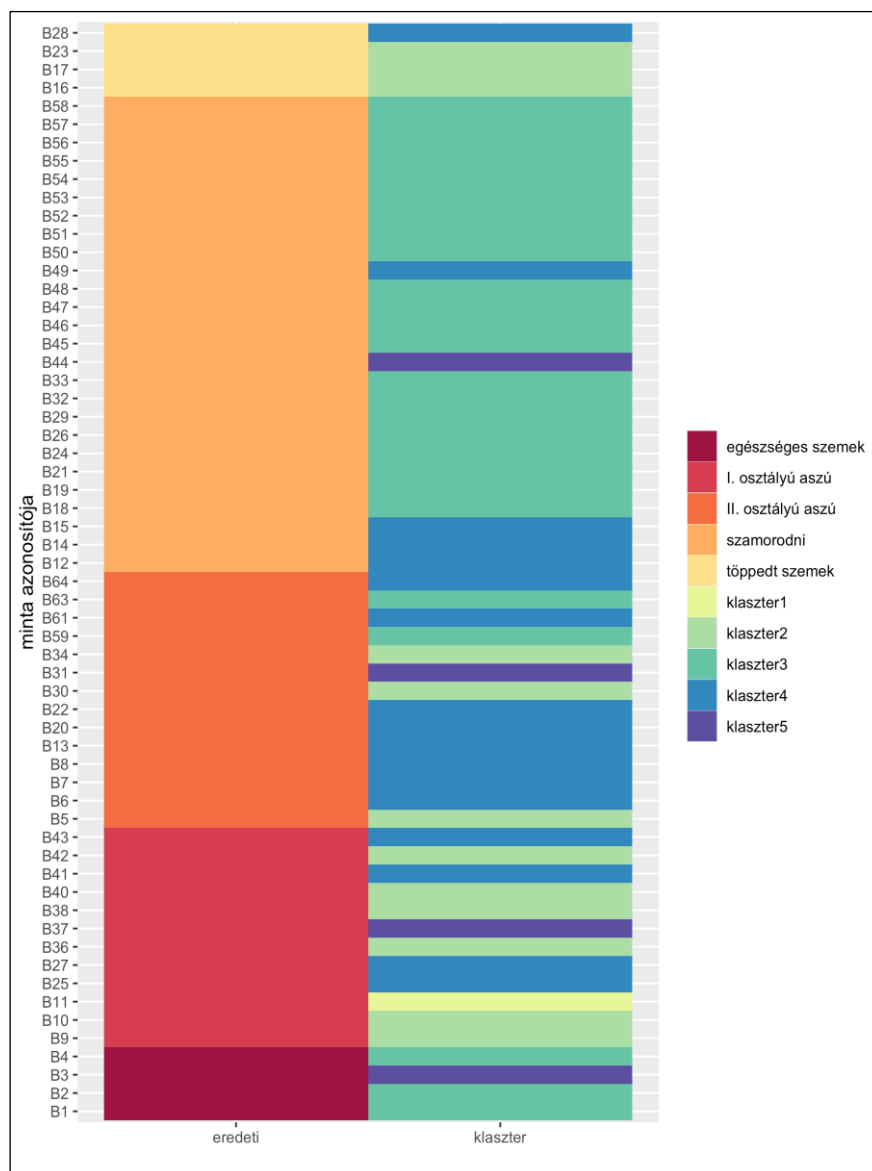
Ezek alapján a következő paramétereket használtam fel az elemzéshez: refrakció%, számított cukortartalom, NMR technikával mért cukor-, alkohol-, glükóz-, fruktóz-, glicerin-, borkősav-, galakturonsav-tartalom. Így hatvan darab minta maradt, amivel a továbbiakban dolgozni tudtunk. Tehát 60 mintát elemeztem 9 változóval.

Mivel a mintatípusok alapján öt csoportra számítottam (egészséges szemek, I. osztályú aszú, II. osztályú aszú, szamorodni készítésére szánt szőlő, töppedt szemek), ezért K-közép klaszterelemzés módszerrel azt vizsgáltam, hogy a bogyóminták öt csoportba sorolhatóak-e. A mérési eredmények alapján kapott csoportokat a 24. ábrán látható klaszterplot szemlélteti.



24. ábra: Bogyóminták csoportosítására végzett klaszteranalízis eredményei a bogyók csoportokba sorolására klaszterploton ábrázolva

A színes határvonalak az egy csoportba tartozó borokat kerítik körbe. A minták azonosítója leolvasható az ábráról. A B11-es minta, ami egy I. osztályú aszúszem önmagában alkot egy csoportot, ez a vizsgált kilenc paraméter alapján nagyon különbözik a többi mintától. A B3, B44, B31 és B37 a második legkisebb csoport. Ezen belül is a mintatípusok nagyon változatosak (B3=Egészséges szem, B44=Szamorodni készítésre szánt szőlő, B31=II. osztályú aszúszem, B37=I.osztályú aszúszem), ami azt mutatja, hogy a klaszteranalízissel kapott csoportok nem fednek át az eredeti csoportokkal, vagyis a mintatípusokkal (I. osztályú aszúszem, II. osztályú aszúszem, szamorodni készítésére szánt szőlőszem, egészséges szőlőszem, töppedt szem). Megállapítható tehát az a tény, hogy a mért komponensek alapján nem lehet a mintákat kategorizálni.



25. ábra: Klaszteranalízis bogyómintákra

Az eredeti csoportok és a klaszterelemzés által feltárt csoportok összehasonlítását a 25. ábra szemlélteti. Ezen az ábrán az első oszlop az eredeti csoportokat mutatja, a második a klaszterelemzés által feltárt kategóriákat szemlélteti. Egyértelműen látszik, hogy az új csoportok nem fednek át a valós kategóriákkal, tehát nem lehet egyértelműen meghatározni az mért kémiai paraméterek alapján a minták típusát.

5.2.3 Extrakcióra felhasznált borminták vizsgálata

A jelenleg hatályos TOKAJ oltalom alatt álló eredetmegjelölés termékleírása alapján „Tokaji aszú a Tokaji borvidék területén termelt borszőlő *Botrytis cinerea* hatására nemesen rothadt, tőkén aszúsodott, szüretkor kézzel külön szedett, feldolgozott szőlőbogyóinak az ugyanott termelt szőlőből készült mustban, részben erjedt szőlőmustban, még erjedésben lévő új borban vagy azonos évjáratú borban történő áztatásával készül” (2020. évi CLXIII. törvény). Ebből

adódóan megvizsgáltunk 78 darab száraz tokaji Furmint (63 darab) és Hárslevelű (15 darab) mintát, melyeket az aszúkészítés technológiájában alapborként használnak fel.

Ezen borok vizsgálati eredményeinek átlagértékeit a 11. számú táblázatban tüntettem fel.

11. táblázat Száraz Furmint és Hárslevelű alapborok mérési eredményeinek átlagértékei

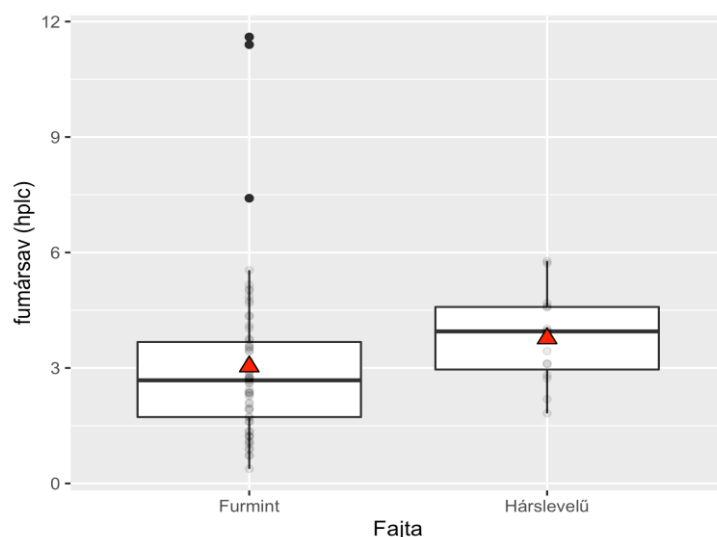
Kémiai paraméter	Alkalmazott mérés technika	Mértékegység	Hárslevelű	Furmint
Alkohol	NMR	V/V %	12,73	12,63
Cukortartalom	NMR	[g/l]	6,56	6,06
Glükóz	NMR	[g/l]	1,94	1,71
Fruktóz	NMR	[g/l]	4,48	4,21
Glükóz/fruktóz	NMR	[-]	0,59	0,55
Glicerín	NMR	[g/l]	7,23	7,25
Borkósav	HPLC	[g/l]	2,38	2,45
	NMR	[g/l]	2,21	2,29
L-almasav	Fotometriás analizátor	[g/l]	1,61	1,58
	NMR	[g/l]	1,91	1,93
Tejsav	HPLC	[g/l]	0,39	0,40
	NMR	[g/l]	0,31	0,32
Citromsav	HPLC	[g/l]	0,16	0,16
	NMR	[g/l]	0,23	0,23
Fumársav	HPLC	[mg/l]	3,10	3,18
	NMR	[mg/l]	n.a.	n.a.
HMF	NMR	[mg/l]	n.a.	n.a.
Metanol	NMR	[mg/l]	52,95	52,14
Galakturonsav	HPLC	[g/l]	0,30	0,29
	NMR	[g/l]	0,39	0,38
Borostyánkósav	NMR	[g/l]	0,61	0,62
Kaftársav	NMR	[mg/l]	43,43	43,71
Epiketechin	NMR	[mg/l]	n.a.	n.a.
Sikiminsav	HPLC	[mg/l]	37,66	38,43
	NMR	[mg/l]	24,70	25,50
Galaktársav	HPLC	[mg/l]	18,86	17,93
Összes polifenol	Finomanalitikai módszer	[mg/l]	398,87	387,29
Katechin	Finomanalitikai módszer	[mg/l]	55,47	54,40
Leukoantocianin	Finomanalitikai módszer	[mg/l]	122,34	109,91
Putreszcin	NMR	[mg/l]	n.a.	n.a.
Kadaverin	NMR	[mg/l]	n.a.	n.a.
Alanin	NMR	[mg/l]	35,14	35,12
Arginin	NMR	[mg/l]	160,14	159,47
Prolin	NMR	[mg/l]	297,94	285,85
Ecetsav	NMR	[g/l]	0,34	0,32
Acetoin	NMR	[mg/l]	13,08	12,49
Benzoészav	NMR	[mg/l]	n.a.	n.a.

Galluszsav	NMR	[mg/l]	25,67	12,63
------------	-----	--------	-------	-------

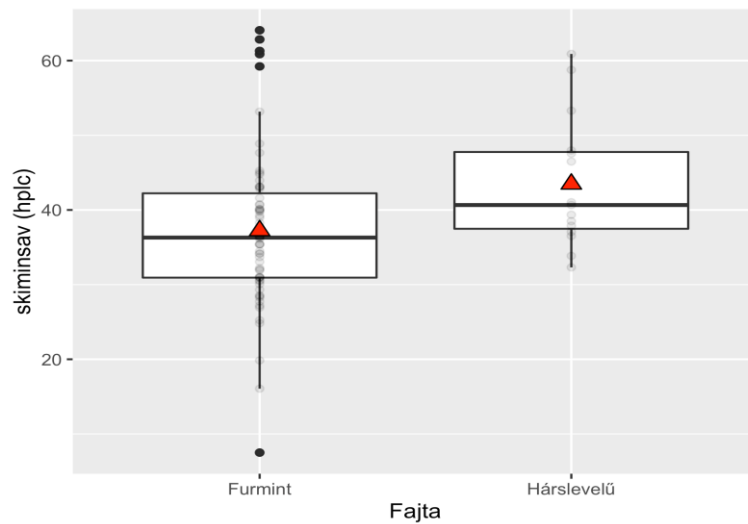
n.a.: nincs adatunk. A készülék kimutathatósági határérték alatt mérte.

5.2.3.1 Furmint és Hárslevelű fajták közötti különbségek vizsgálata

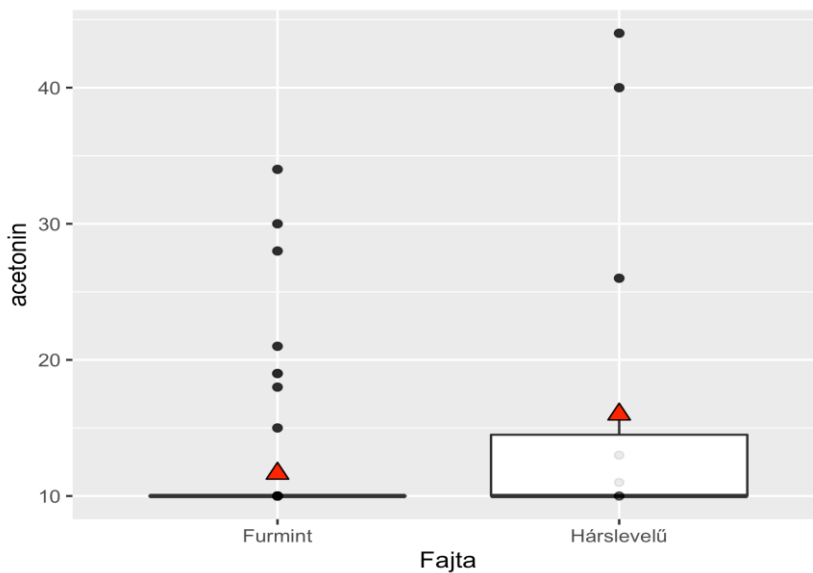
Vizsgálatokat végeztem arra vonatkozóan, hogy az összes mért paraméter közül mely komponensek esetében van különbség a Furmint és a Hárslevelű fajták között. A kérdés megválaszolására Mann-Whintey-féle U-próbát alkalmaztam. A Mann-Whintey-féle U-próbák eredményeit összefoglaló M4. számú táblázat a mellékletben található. A fumársav, HMF, epikatechin, putreszcin, kadaverin, benzoészav paramétereiket az NMR készülék kimutathatósági határ alatt mérte, ezért ezekkel a komponensekkel nem lehetett számolni. A szignifikáns különbségeket eredményező komponenseket (lásd, M4. táblázat) az alábbi boxplot diagramokon szemléltetem (26., 27., 28. ábra).



26. ábra : Furmint és Hárslevelű fajtájú borminták HPLC-vel mért fumársav-tartalmai boxplot-on szemléltetve



27. ábra: Furmint és Hárslevelű fajtájú borminták HPLC-vel mért sikiminsav-tartalmai boxplot-on szemléltetve



28. ábra: Furmint és Hárslevelű fajtájú borminták NMR technikával mért acetoin-tartalmai boxplot-on szemléltetve

Az M4. számú táblázatból látszik, hogy a HPLC-vel mért fumársav, sikiminsav, illetve az NMR technikával mért acetoin esetében szignifikáns különbség adódott a Furmint és a Hárslevelű fajták között (*Mann-Whitney-féle U-próba*, $p < 0.05$). Az ábrákról leolvasható, hogy a Hárslevelű borokban magasabb fumársav-, sikiminsav-, acetoin-tartalmakat mértem, mint Furmint borokban.

Összefoglalva tehát megállapítható, hogy a HPLC technikával mért fumársav és sikiminsav, illetve az NMR technikával mért acetoin mutat különbséget a Furmint és Hárslevelű minták között.

A fumársav a kiejedt borok szerves savtartalmának alkotója, mely jellemzően csekély koncentrációban van jelen. Az alkoholos erjedés során almasavból képződik: A piroszőlősav → almasav → fumársav → borostyánkősav folyamat során.

Acetoin (acetilmetil-karbinol) az ún. acetoin-kondenzáció során két molekula piroszőlősav kondenzációjakor keletkezik. Elsősorban az erjedés kezdeti szakaszában, aerobiózisban. Az acetoinnak (3-hidroxi-2-butanon) cukorra emlékeztető cukrosvaj-szerű jellege van. A normál borokban, ahol csak kis koncentrációban fordul elő, kétséges, hogy van érzékszervi jelentősége.

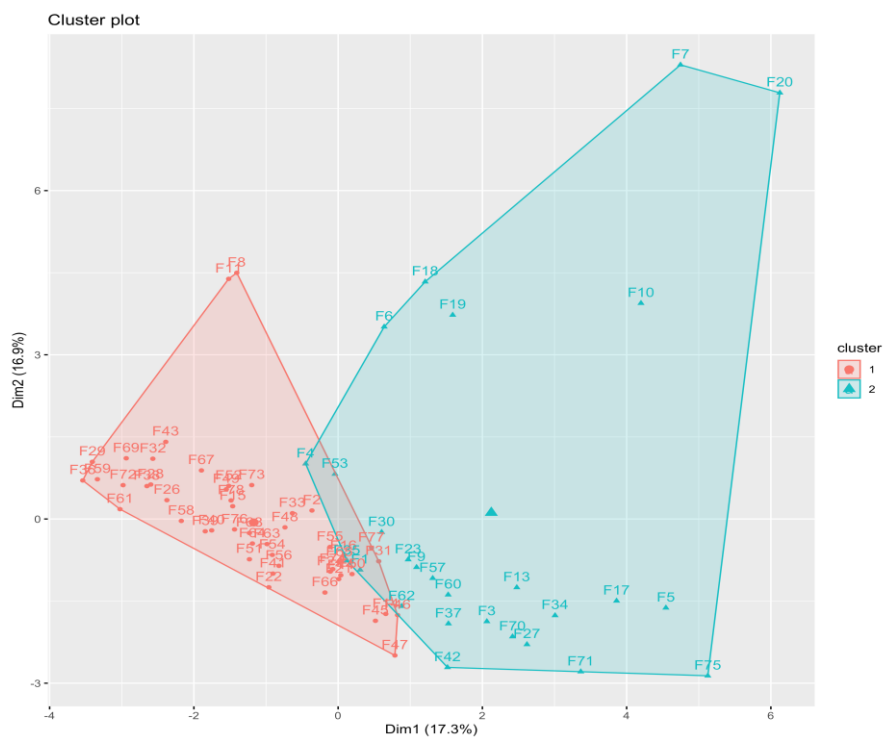
5.2.3.2 Extrakcióra felhasznált borminták csoportba sorolásának lehetősége

Annak megállapítására, hogy csoportokba lehet-e sorolni az extraháló borokat (Furmint és Hárslevelű) a mért analitikai paraméterek alapján, arra lenne szükség, hogy minden borhoz tartozó minden egyes mérési értéket ismerjünk, viszont bizonyos komponenseket a készülék kimutathatósági határ alatt mérte, amit előzetes megállapodás alapján a kimutathatósági határértékkel egyenértékűnek vettem és így tüntettem fel az eredmények között. Az ilyen kémiai paramétereket azonban nem lehet kategorizálásra használni. Ebből adódóan első lépésben kiválogattam azokat a komponenseket, melyek mennyisége a készülék kimutathatósági határértéke fölött volt és velük végeztük el a kérdés megválaszolására alkalmas statisztikai módszert, ami ebben az esetben egy klaszterelemzés.

Így a következő paramétereket használtam fel a vizsgálathoz: NMR technikával mért alkohol-, cukor-, glükóz-, fruktóz-, glicerin-, borkősav-, almasav-, tejsav-, citromsav-, glükonsav-, galakturonsav-, borostyánkősav-, kaftársav-, sikiminsav- prolin-, ecetsav-, acetoin-tartalmak; finomanalitikai módszer által meghatározott összes polifenol-, katechin- és leukoantocianin-tartalmak; HPLC-s módszerrel mért borkősav-, tejsav-, citromsav-, fumársav-, sikiminsav-tartalmak, valamint a fotometriás analizátorral mért L-almasav. Ezek alapján 76 darab bor maradt benne a számolásban.

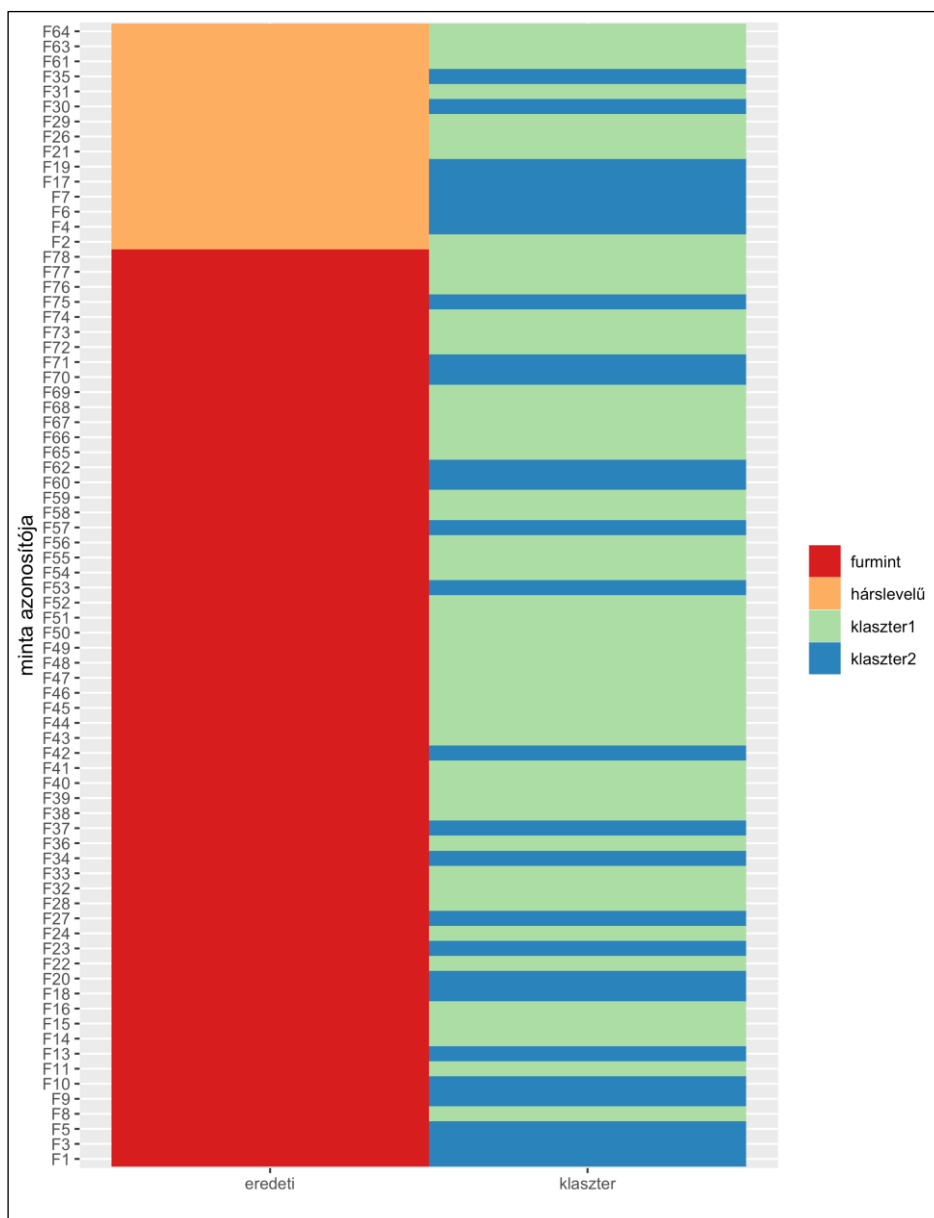
Mivel két csoportra számítottam (Hárslevelű és Furmint), ezért a K-közép klaszterelemzés módszerrel azt vizsgáltam meg, két csoportba hogyan sorolhatóak be a borok.

Az elemzésem által kapott csoportokat a 29. ábra mutatja. A színes határvonalak az egy csoportba tartozó borokat kerítik körbe. A minták azonosítója leolvasható az ábráról. Látható, hogy a két csoport nem válik el élesen. Vannak minták, melyekről nehéz lenne megmondani, hogy melyik csoportba tartozik. Az elemzésből tehát az a tény állapítható meg, hogy a csoportoknak nincs egy markáns karakterisztikája.



29. ábra : Furmint és Hárslevelű folyadékminták csoportokba sorolására végzett klaszteranalízis eredményei klaszterploton ábrázolva

Az eredeti és a klaszteranalízis által kialakított kategóriák összehasonlítása szemléltetését a 30. ábra szolgálja.



30. ábra : Klaszteranalízis folyadékmintákra

Ez azt szemlélteti, hogy melyik minta melyik klasztercsoportba tartozik. Az első oszlop az eredeti csoportokat mutatja, a második a klaszterelemzés által feltártakat. Az ábrán látható, hogy az új csoportok nem fednek át a már meglévővel, vagyis nem lehet egyértelműen megmondani a mért kémiai komponensek alapján az eredeti csoportokat. Megállapítható tehát, hogy a mért komponensek alapján a Furmint és a Hárslevelű fajtákat nem lehet egymástól egyértelműen elkülöníteni.

5.3 Méréstechnikák összehasonlításai

Mintáim elemzése során voltak olyan kémiai komponensek, melyeket a megfelelő mintaelőkészítést követően két különböző mérési módszerrel is megmértem párhuzamosan.

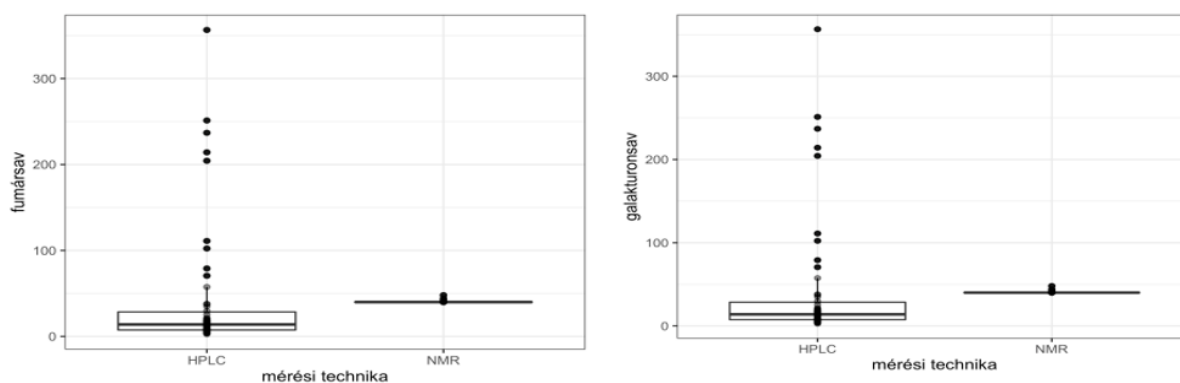
Céлом ezzel a különböző mérés technikák által kapott kémiai paraméterek közötti összefüggések tanulmányozása. Vizsgálataim átlageredményeit a korábbiakban közölt 10. és 11. számú táblázatokban közöltem. A 10. számú táblázat a bogyóminták, a 11. számú táblázat az extrakcióra használt Furmint és Hárslevelű borminták mérési eredményeinek átlagértékeit tartalmazza. A táblázat második oszlopában minden esetben feltüntettem az adott kémiai komponens vizsgálatára alkalmazott mérés technikát.

5.3.1 NMR és HPLC technika összehasonlítása bogyóminták esetében

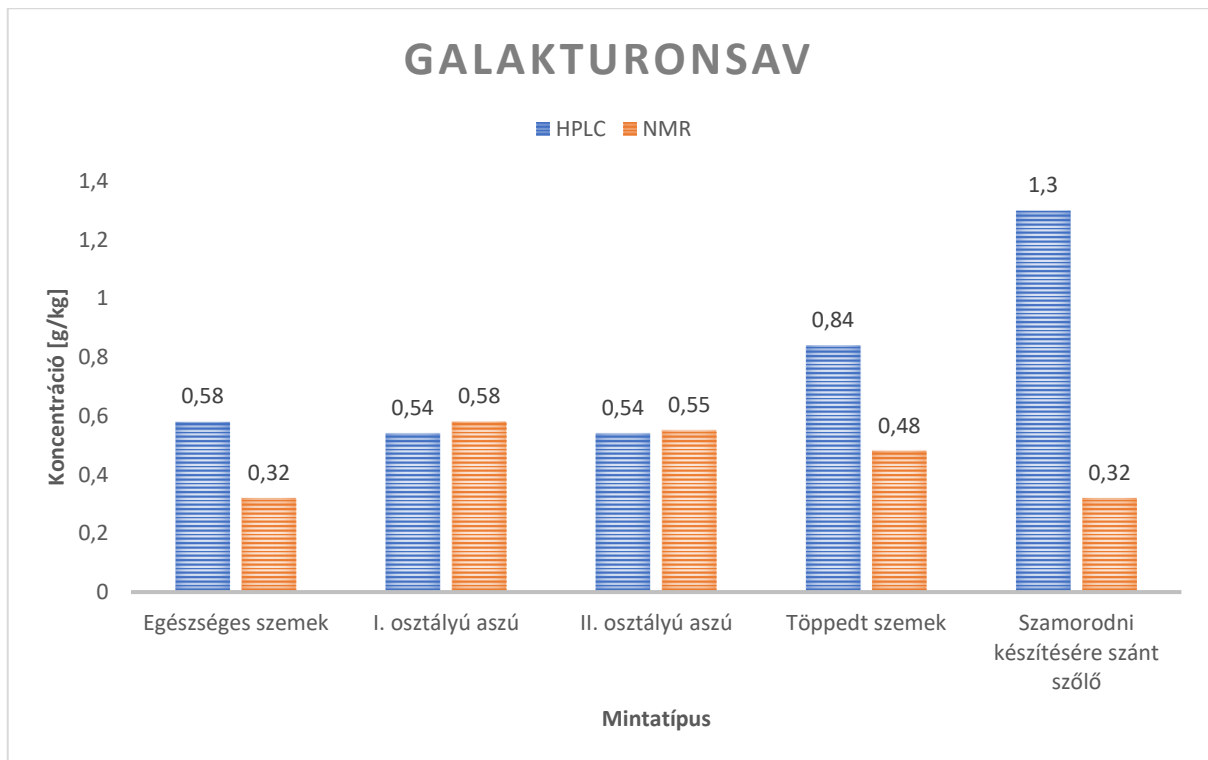
A következő komponenseket NMR technikával és HPLC készülékkel párhuzamosan is megmértem: borkósav, tejsav, citromsav, fumársav, galakturonsav, borostyánkősav, sikiminsav. A bogyómintákból elvégzett NMR és HPLC mérések párosított Wilcoxon tesztjeinek eredményei a mellékletben található M5. számú táblázatban találhatóak.

A tejsavat, borostyánkősavat és a sikiminsavat az NMR készülék kimutathatósági határ alatt mérte, ezért ezeket a komponenseket nem lehet figyelembe venni az összehasonlítás során. Ez látszik a kapott eredményeket bemutató táblázatból, ahol előzetes megállapodás szerint a kimutathatósági határértékek vannak feltüntetve.

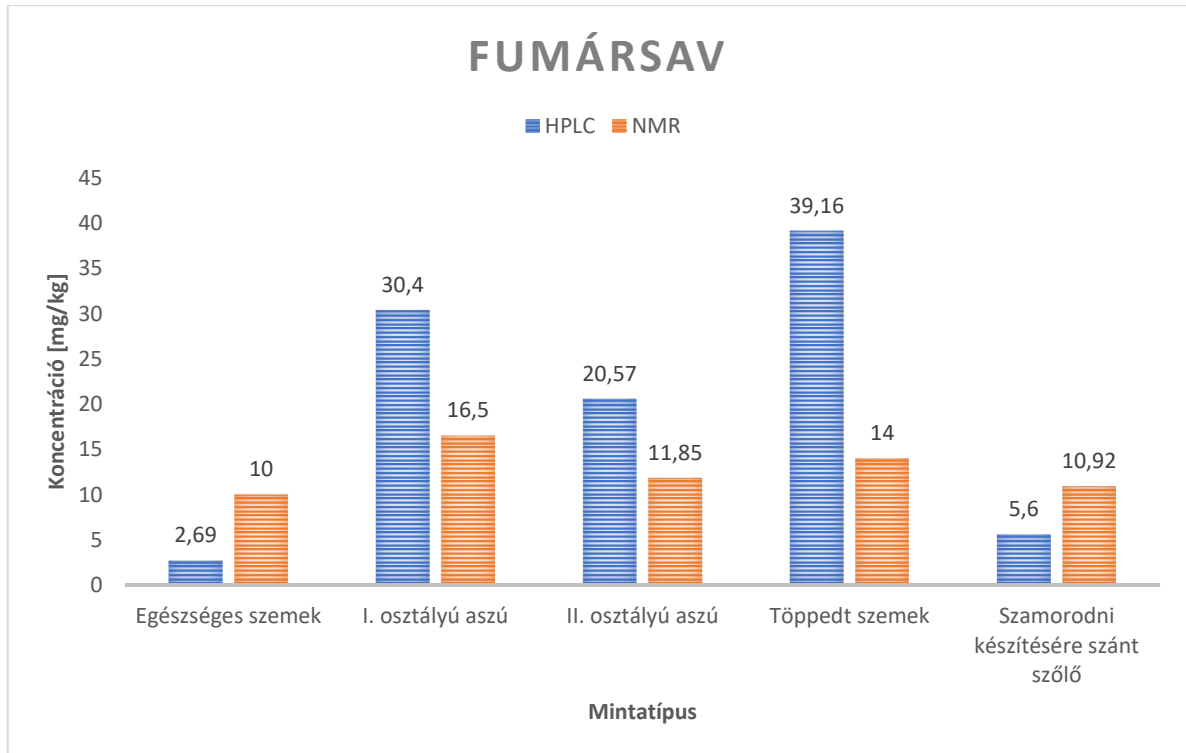
Az M5. táblázatból az látszik, hogy a fumársav és a galakturonsav esetében szignifikáns eredményeket kaptam. A bogyóminták HPLC-vel és NMR-rel mért fumársav- és galakturonsav tartalmait 31. számú boxplot diagramon ábrázolom. A szignifikáns eredményeket (fumársav, galakturonsav) oszlopdiagramokon szemléltetem (32. és 33. ábra).



31. ábra Bogyóminták HPLC-vel és NMR-rel mért fumársav- és galakturonsav tartalmi boxplot ábrákon



32. ábra: HPLC és NMR technikákkal mért galakturonsav-koncentrációk alakulása a különböző mintatípusokban



33. ábra: HPLC és NMR technikákkal mért fumársav-koncentrációk alakulása a különböző mintatípusokban

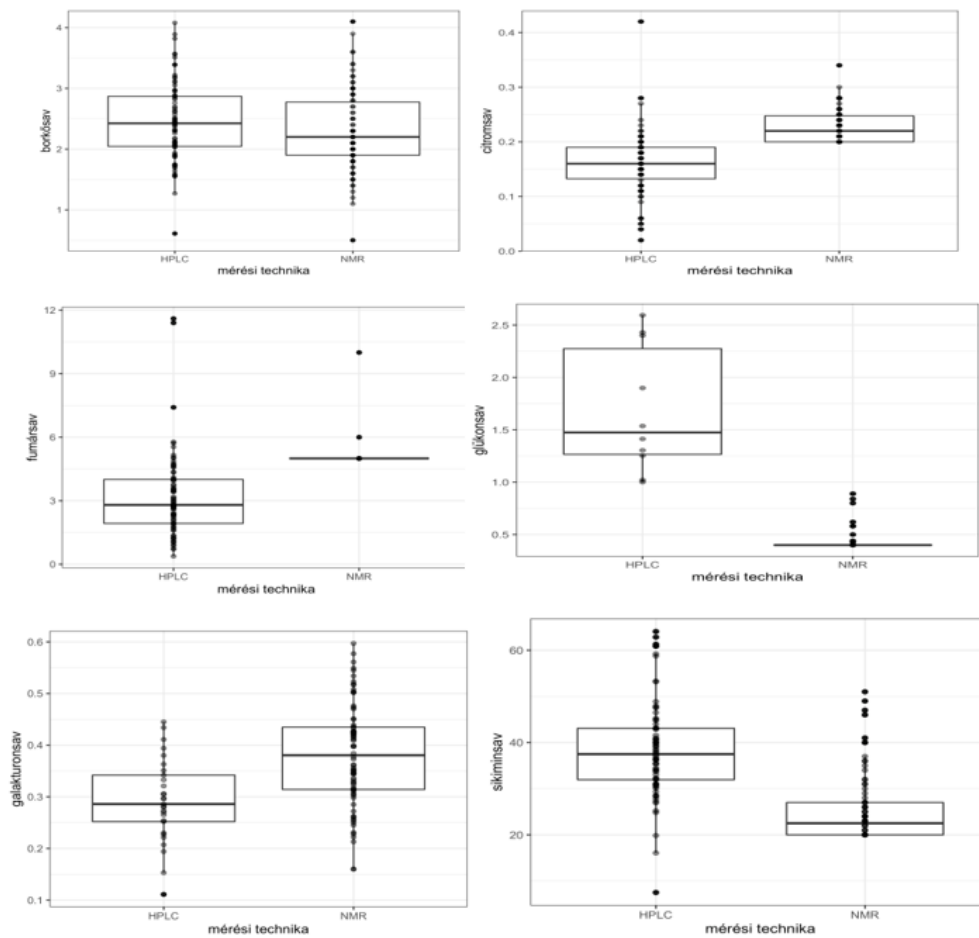
Az eredményeimből megállapítható, hogy a tejsavat és a borostyánkősavat az NMR technikával nem tudtunk kimutatni a vizsgált mintatípusok egyikében sem. Ennek az az oka, hogy tejsav esetében az NMR készülék kimutathatósági határértéke 0,4 g/kg, míg borostyánkősav esetében ez a küszöbérték 0,1 g/kg. Ezt megerősítik a HPLC készülékkel mért eredményeim ugyanezen paraméterek esetében, ugyanis az említett határérték alatt voltak a kapott értékek.

Galakturonsav és fumársav-tartalmak mérésekor a HPLC készülékkel mért eredmények adódtak magasabbnak. Ez azt jelenti, hogy ezen komponensek esetében a két alkalmazott mérési technika (NMR és HPLC) között eltérés mutatkozik, vagyis nem mindegy, hogy mivel mértem meg őket. A két technika ugyanis egymástól eltérő értékeket eredményezett. Összességében tehát megállapítható, hogy a két mérési módszer nem egyforma eredményeket mutatott a vizsgált komponensek esetében. A diagramok jól szemléltetik, hogy a két mérési eredmény által kapott értékek nem azonosak. Ennek okát jelen értekezésemben nem vizsgálom. A két mérési módszerrel kapott eredmények között tehát lineáris összefüggés nem látszik, ezért minden mérés esetében nagyon fontos közölni, hogy a mért kémiai paramétert melyik mérési módszerrel határoztam meg.

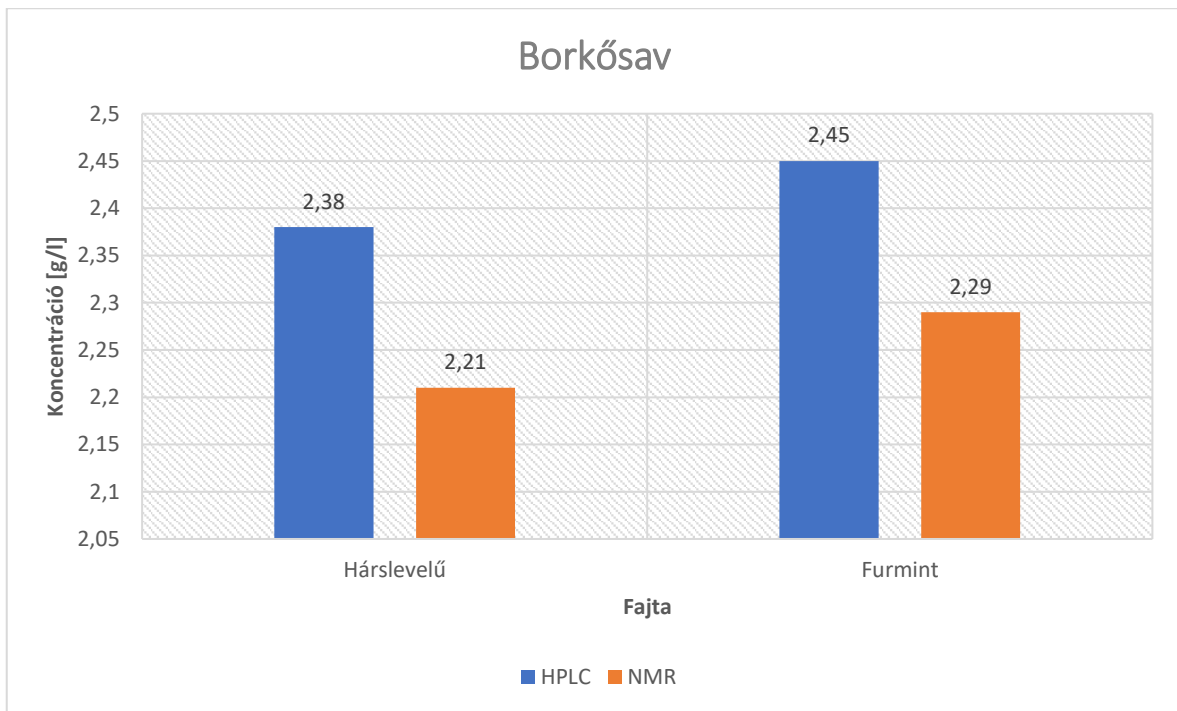
5.3.2 NMR és HPLC technika összehasonlítása extrakcióra felhasznált borminták esetében

A borkősavat, tejsavat, citromsavat, fumársavat, glükonsavat, galakturonsavat, sikiminsavat NMR technikával és HPLC készülékkel párhuzamosan is megmértem. Az extrakcióra felhasznált borminták esetében végzett NMR és HPLC mérések összehasonlítására végzett párosított Wilcoxon teszt eredményeit a mellékletben található M6. számú táblázat mutatja be.

A táblázatból látszik, hogy a borkősav, citromsav, galakturonsav és a sikiminsav (*Wilcoxon-teszt, $p < 0.01$*) esetében szignifikáns különbség van a két technikával mért adatok között. Tejsav esetében nem beszélhetünk szignifikáns összefüggésről (*Wilcoxon-teszt, $p = 0.178$*). Eredményeim a 34. ábrán látható boxplot diagramokon szemléltetem, valamint a szignifikáns eredményeket mutató kémiai komponenseket oszlopdiagramokon egyesével ábrázolom..

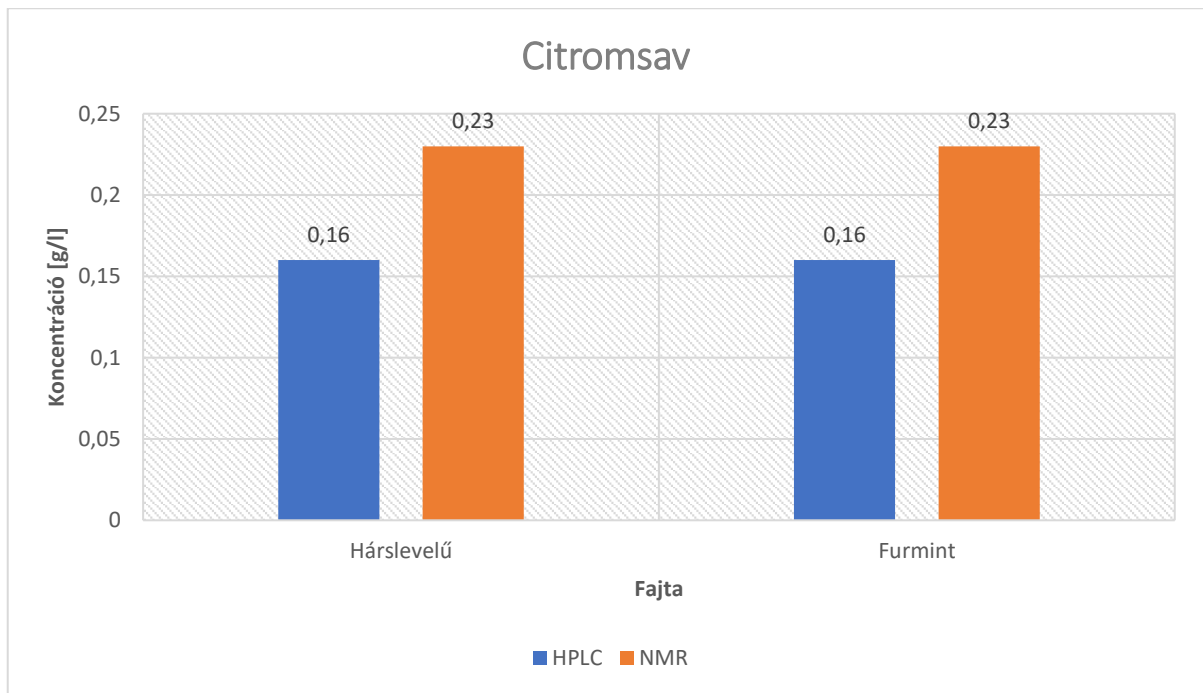


34. ábra: Extrakcióra felhasznált minták NMR és HPLC mérési eredményeinek összehasonlítása boxplot ábrákon szemléltetve



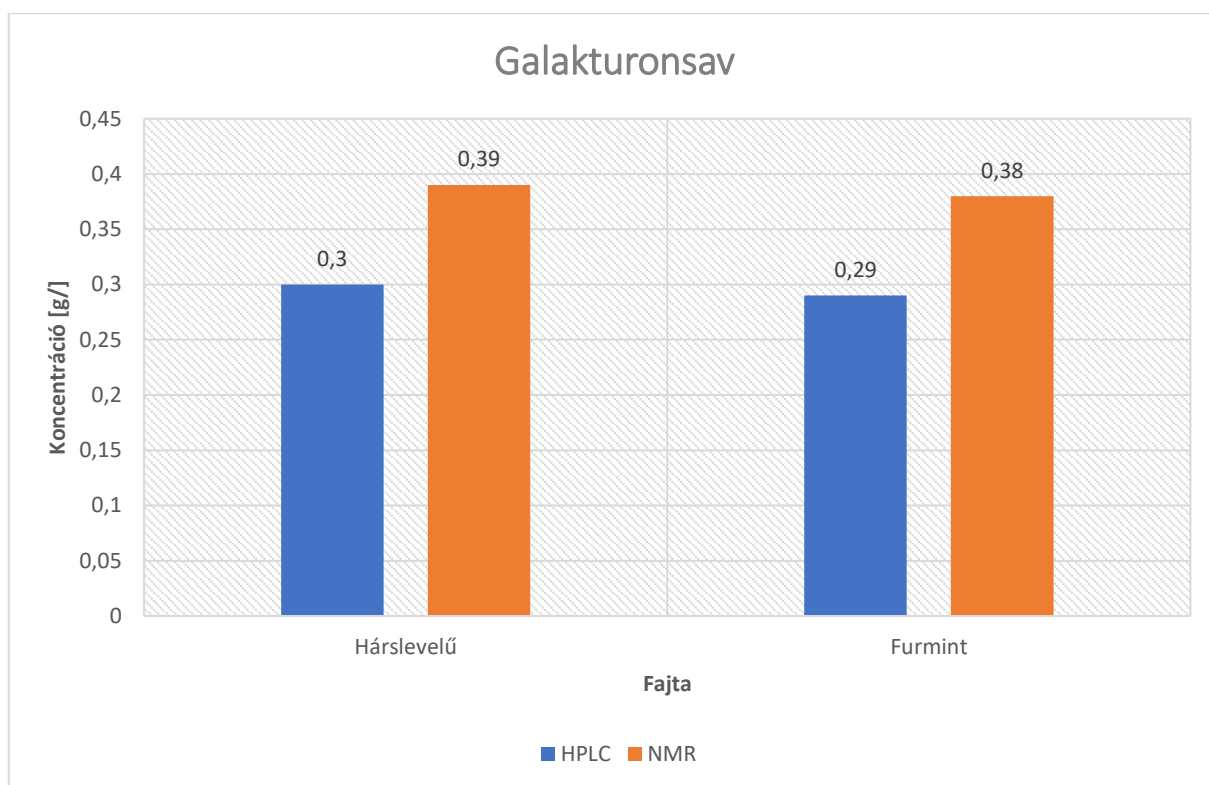
35. ábra: Extrakcióra felhasznált borminták borkősav-koncentrációi HPLC és NMR technikával mérve

Az L-borkősav szőlő és a bor jellegzetes és egyben legfontosabb sava. Nagy mennyiségben a bort keményvé, élessé teszi, így a kiváló minőségű borok általában szegényebbek borkősavban. A szőlőből származik, maximális mennyiségét a must borkősavtartalma szabja meg, mert az erjedés és ászkolás alatt már csak csökken. A borok borkősav- tartalma igen erősen változhat, irodalmi adatok alapján mennyisége: 1-5 g/l közé tehető. Az egyes szőlőfajtáknak is különböző a borkősav-tartalmuk. Méréseinkből megállapítható, hogy a Furmint és Hárslevelű fajták borkősavtartalmai között nem mutatkozott jelentős különbség. Ezek a szőlőfajták meglehetősen magas mennyiségben tartalmazzák ezt a komponenst. HPLC technikával mindkét fajta esetében magasabb koncentrációkat kaptunk, mint NMR technikával végzett vizsgálatainkkal. Az NMR technika kimutathatósági határértéke borkősavra vonatkozóan 0,5 g/l.



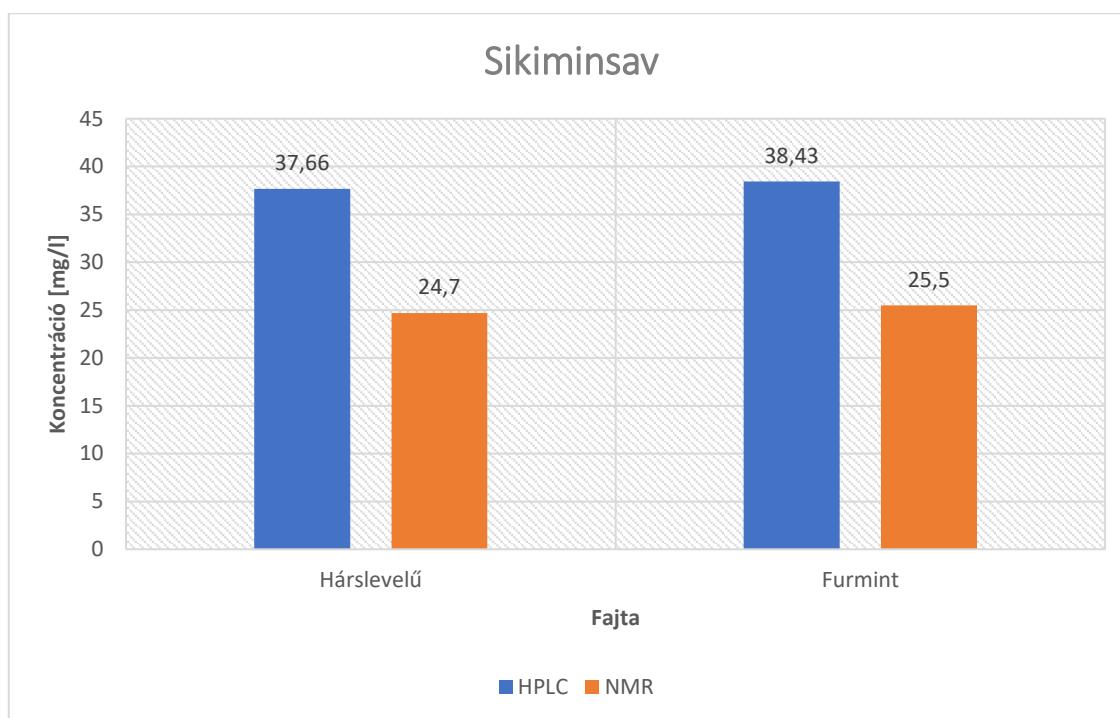
36. ábra : Extrakcióra felhasznált borminták citromsav-koncentrációi HPLC és NMR technikával mérve

A citromsav kis mennyiségben a szőlő és a bor természetes alkotórésze, mennyisége 0,1-0,5 g/l között változik. A *Botrytises* szőlőből származó mustok 1g/l citromsavat is tartalmazhatnak. Az alkoholos erjedés alatt a citromsav mennyisége nem változik. Az érlelés alatt a citromsav-tartalom folyamatosan csökken. A biológiai almasavbomlás során a tejsavbaktériumok a borban található citromsavat csaknem teljesen elfogyasztják, és illósavat termelnek (Ferenczi, 1966). Ezért a borokban elenyésző mennyiségben található. Méréseim alapján a két fajtában vizsgálva a citromsav mennyisége hasonlóan alakult. HPLC készülékkel valamennyivel alacsonyabb (0,16 g/l) koncentrációt, NMR technikával magasabb (0,23 g/l) koncentrációban mértük. Az NMR technika kimutathatósági határértéke citromsavra 0,2 g/l.



37. ábra : Extrakcióra felhasznált borminták galakturonsav-koncentrációi HPLC és NMR technikával mérve

A galakturonsav a szőlőben és a mustban előforduló egyéb szerves savak közé tartozik. A pektin legnagyobb mennyiségben előforduló komponense, amely a növényi sejtfal egyik fő poliszacharid összetevője (Zhang et al., 2011). Koncentrációja a Hárslevelű és a Furmint fajták között nem mutat differenciát, viszont a HPLC és az NMR technika mérési eredményei között szignifikáns különbség látható. Az NMR technika magasabb koncentrációt eredményezett a HPLC vizsgálataihoz képest. Az NMR technika kimutathatósági határértéke galakturonsavra vonatkozóan 0,16 g/l. A mi mérési eredményeim ezen érték fölöttiek minden vizsgált bormintában.



38. ábra : Extrakcióra felhasznált borminták sikiminsav-koncentrációi HPLC és NMR technikával mérve

A sikiminsav (3,4,5-trihidroxi-1-ciklohexén-1-karbonsav) egy karbonsav, amely a szőlő héjából származik és a mustokban, borokban mindig megtalálható (Tusseau és Benoit, 1987). Ezen kívül a sikiminsav néhány hidrolizálható tannin glikozid része is. Noha a kémiai nomenklátúra szerint nem tartozik a polifenolok csoportjába, meghatározó szerepe van azok bioszintézisében. A sikiminsavnak nincs jelentős organoleptikus hatása, továbbá a többi savhoz képest alacsonyabb koncentrációban van jelen a borban (Tusseau és Benoit, 1987; Ribéreau-Gayon et al., 2001; Klampfl et al., 1998) Fehérborokban 30-50 mg/l mennyiségben található meg.

Újabban fajtaazonosításra próbálják a borban is megjelenő sikiminsav-mennyiségeket alkalmazni, de ezt sok bizonytalansági tényező nehezíti (Fisherleitner et al., 2004).

Méréseim szerint a sikiminsav Furmint mintákban 25,5 mg/l – 38,43 mg/l közötti, Hárslevelű mintákban pedig 24,7 – 37,66 mg/l közötti koncentrációkban fordult elő. HPLC technikával és NMR technikával mérve szignifikáns különbség látható az eredmények között, ugyanis a HPLC technika mindkét minta esetében magasabb értékeket eredményezett. Az NMR technika kimutathatósági határértéke sikiminsavra vonatkozóan 20 mg/l. Vizsgált mintáimban a sikiminsav koncentrációk ezen érték fölöttiek voltak minden esetben.

Összességében megállapítható, hogy borkósav, citromsav, galakturonsav és sikiminsav esetében a két technikával végzett mérések nem ugyanazokat az eredményeket adták. Borkósav és sikiminsav esetében a HPLC technikával mért értékek voltak magasabbak, míg citromsav és

galakturonsav esetében az NMR technikával kapott eredmények. Vizsgálati eredményeim közül a fumársav és a glükonsav koncentrációk esetében nem volt lehetőség a két technika összehasonlítására, mivel ezen komponensek az NMR készülék kimutathatósági határánál alacsonyabb mennyiségben találhatók meg az általam vizsgált Hárslevelű és Furmint mintákban. A fumársavat 5 mg/l képes meghatározni a technika. Ezt igazolják a HPLC-vel mért mérési eredmények ugyanis fumársavat Hárslevelű mintákban 3,10 mg/l, Furmint mintákban 3,18 mg/l koncentrációban mértünk, mely koncentrációk alacsonyabbak az NMR készülék küszöbértékénél.

5.3.3 NMR technika és fotometriás analízátor összehasonlítása bogyóminták esetében

Az L-almasavat és a glükonsavat NMR készülékkel és fotometriás analízátor segítségével is megmértem párhuzamosan. Azért ezt a két paramétert választottuk, mert a fotometriás analízátorral és az NMR technikával meghatározható komponensek közül ezek egyeztek. M7. számú táblázatban a párosított Wilcoxon-tesztek eredménye látható.

A kapott eredményekből az látszik, hogy nincs szignifikáns különbség a két technikával mért érték között. Ez azt jelenti, hogy a két technika egymáshoz viszonyítva hasonlóan mér.

Mivel sem az almasav, sem a glükonsav esetében sincs különbség a mért értékek között, ezért ehhez tartozóan nem készítettem ábrákat.

6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A jelenlegi vizsgálati tevékenységemben az alapanyaggyűjtés során elfogadtam azokat az információkat, amiket rendelkezésemre bocsájtottak azzal kapcsolatban, hogy milyen osztályba tartozik az aszúszem, illetve milyen technológiával készült az adott bor. Az általam vizsgált minták osztályba sorolásának nincsenek objektív adatai, azok a termelő általa rendelkezésemre adott információk alapján kerültek osztályba sorolásba. A jövőben érdemes lenne egy objektív meghatározás, amit az aszúszemek kategorizálásához a termelők használni tudnak.

A jövőben fontosnak tartom egy olyan kutatás elvégzését, ami következetesen az alapanyag és a belőle készült késztermék kémiai összetétele közötti összefüggések vizsgálatára irányul.

Ennek tanulmányozása érdekében egy olyan kísérletet javasolnék megtervezni, ami a bogyómintákból, ugyanezen bogyómintákból készült mustokból, továbbá kiejedt, kész aszúborokból végzi el ezen méréseket. Ezen eredmények alapján összehasonlítható lenne az alapanyag a belőle készült készterméssel, azon túl, hogy nyomon lehetne követni az idő előrehaladtával bekövetkező változásokat.

A vizsgált paraméterek ismerete egy olyan objektív minősítési rendszer kidolgozását tenné lehetővé, amit a *botrytiszos borok* minőségi megkülönböztettségére lehetne használni és alapjául szolgálna egy minőségbiztosítási rendszer kialakításának.

Ez a kutatás innovációnak számít, ugyanis jelenleg nem létezik az aszúszemek és az aszúborok minősítésére objektív minősítési rendszer. Manapság refrakció% alapján döntenek el, hogy egy adott aszúszem I. vagy II. osztályú kategóriába tartozik-e.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. 19 évjáratból származó Tokaji aszúborból NMR mérések alapján, a technikával mérhető 53 paraméter és az évjáratok közötti összefüggéseket kerestem. Fő kérdésem arra irányult, hogy megfigyelhető-e különbség az NMR technikával mért kémiai paraméterek alapján a vizsgált évjáratokból (2000-2017 és 2020) származó aszúborok között. *Vizsgálataink alapján megállapítható, hogy az alanin, arginin, prolin citromsav, hangyasav, fumársav, galakturonsav, szorbinsav, glükonsav, sikiminsav és az almasav mutattak szignifikáns különbséget az egyes évjáratok között.*
2. Doktori dolgozatomban arra a kérdésre kerestem a választ, hogy van-e lehetőség az NMR technika segítségével megvizsgált kész aszúborok évjárat szerinti kategorizálására az 53 kémiai komponens alapján? *A K-közép klaszterelemzés módszer segítségével csoportosítottam a vizsgált 153 darab aszúbort, viszont ezek az általam újonnan létrehozott kategóriák nem fednek át az aszúborok évjárataival. Az NMR technikával mért paraméterek alapján egzakt módon a statisztikai kiértékelés szerint nem lehet az aszúborokat évjárat szerint elválasztani egymástól. Javaslom a mérések folytatását, valamint a mérés fejlesztését.*
3. Doktori dolgozatomban a Tokaji borvidékről származó bogyómintákat vizsgáltam, melyek között voltak I. osztályú, II. osztályú aszúszemek, szamorodni készítésére szánt szőlőszemek, illetve töppedt szemek. Ezeket a mintákat több mérési módszerrel is megmértük. Kutatómunkám ezen szakaszában vizsgálatot végeztem arra vonatkozóan, hogy csoportokba lehet-e sorolni a bogyókat a mért paraméterekre kapott értékek alapján. *Az elvégzett klaszteranalízisből az a tény állapítható meg, hogy a mért komponensek alapján nem lehet a mintákat megbízhatóan kategorizálni, ugyanis az eredményekből kapott csoportok nem fednek át a mintatípus szerinti eredeti kategóriákkal.*
4. Kutatómunkám további részében megnéztem, hogy csoportokba lehet-e sorolni a Furmint és Hárslevelű folyadékmintákat a mért analitikai paraméterek alapján. *A klaszteranalízisből az látható, hogy a mért komponensek alapján a Furmint és a Hárslevelű fajtákat nem lehet egymástól egyértelműen elkülöníteni.*

5. Az extrakcióra szánt – különböző évjáratokból származó - folyadékmintákból vizsgálatot végeztünk arra vonatkozóan, hogy az összes mért érték közül mely paraméterek esetében különböznek egymástól a Furmint és a Hárslevelű fajták. *Az eredmények alapján a két fajta fumársav-, sikiminsav- és acetoin-tartalmaiban különbözött egymástól szignifikánsan. A Hárslevelű borokban a fumársav-, sikiminsav-, acetoin magasabb koncentrációban volt mérhető, mint a Furmint borokban. Megállapítható tehát, hogy a két fajta kémiai összetételében van különbség.*
6. Vizsgálataimhoz többféle mérés technikát alkalmaztunk, melyek segítségével párhuzamosan is megmértünk bizonyos kémiai paramétereket. Ezen mérések azt a célt szolgálták, hogy az egyes mérési technikákat összehasonlítsuk egymással. Az NMR és HPLC technika összehasonlítására az alábbi paramétereket használtuk fel: borkősav, tejsav, citromsav, fumársav, galakturonsav, borostyánkősav, sikiminsav. Bogyómintákból az almasavat és a glükonsavat NMR és fotometriás analizátorral is megmértük párhuzamosan. *Megállapítható, hogy az NMR és a HPLC technika egymástól eltérő értékeket eredményezett, vagyis tejsav, fumársav, galakturonsav, borostyánkősav és a sikiminsav esetében szignifikáns különbség van a két módszer által kapott analízis között. A megállapításokból az látszik, hogy az analitikai módszerek különbözősége különböző eredményeket ad, mely tény jelentősége különösen fontos a hatósági ellenőrzések során. Ezzel szemben az NMR technika és a fotometriás analizátor egymáshoz viszonyítva megbízható eredményeket mutatott.*

8. ÖSSZEFOGLALÁS

A Tokaji-hegyaljai borvidék történelmi hagyományainak, borkülönlegességeinek köszönhetően kiemelkedő jelentőséggel bír Magyarország borvidékei között. A borvidék éghajlati adottságai, talaja és szőlőfajtái optimális feltételeket teremtenek a *Botrytis cinerea* nevű penészgomba tevékenységéhez, ezzel a nemesrothadás kialakulásához.

A világszerte ismert tokaji aszúborok előállításának alapja az úgynevezett aszúszem, mely abban a speciális esetben jön létre, amikor a technológiailag érett szőlő megfelelő klimatikus viszonyok esetén a *Botrytis cinerea* hatására az úgynevezett nemesrothadáson esik át, mely alapjaiban változtatja meg a szőlőbogyó összetételét, ezzel különleges érzékszervi tulajdonságok kialakulását lehetővé téve. A Tokaji aszúkészítés technológiáját ismerve a aszúszemeket tokaji aszúborokkal öntik fel, melyek extraháló folyadékként szolgálnak a folyamat során. Emiatt fontosnak tartottam analitikai paraméterek alapján összehasonlítani az alapanyagként szolgáló aszúszemek, az extrakcióra felhasznált folyadékminták, továbbá a belőlük készült késztermék (Tokaji aszúborok) kémiai összetételét. Jelenleg nem létezik az aszúszemek és az aszúborok minősítésére objektív minősítési rendszer, ezért ez a kutatás innovációnak számít. Manapság az aszúszemek minősítése (osztályba sorolása) erősen szubjektív szemrevételezéssel és a bogyó cukortartalma(refrakció%) alapján történik.

Vizsgálataimhoz többek között a mai borászati analitikában alkalmazott legkorszerűbb technikát a Nukleáris Magmágneses Rezonancia (NMR) spektroszkópiát használtam /angolul: *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*/. A technika innovatív megoldás a borok vizsgálatára. Elterjedését olyan egyedi tulajdonságai segítették elő, mint a roncsolásmentes vizsgálat, a kiváló szelektivitás, valamint képes számos vegyület egyidejű meghatározására komplex keverékekben (pl. az élelmiszerek), anélkül, hogy szétválasztásra vagy komplex mintaelőkészítésre lenne szükség. Az NMR technika egyetlen mérés által -a ami csupán 15 percet vesz igénybe és 600 mikroliter bormintából történik – 53 kémiai paraméterhez tartozó koncentrációt kapunk. Ezáltal közvetlenül felhasználható különböző borok összehasonlítására és azonosítására, ugyanis egy NMR mérést követően rendelkezésünkre áll egy NMR spektrum, ami a mintára jellemző egyedi, spektroszkópikus „ujjlenyomat”-nak tekinthető. Minden szőlőfajtának ugyanis van egy egyedi szerkezeti képlete, ami a saját genetikai térképét jelenti: a növény „ujjlenyomata”. Ez a fajspecifikusság a belőle készített termék (bor) összetételében is megjelenik, így az általunk mért 53 kémiai paraméter tartalmazza a technológiai kezelésekre és bizonyos élettani állapotra vonatkozó valamennyi információt. Az 53 kémiai paramétert felhasználva matematikai modellek segítségével megállapítható válik a bor földrajzi eredete és a szőlőfajta, vagyis a módszer a borok fajtájának és eredetének kategorizálása mellett az eredetvédelemben is fontos szerepet tölt be.

Kutatómunkámban az alábbi célokat tűztem ki:

A különböző mérés technikák segítségével nyert adatokat felhasználva létrehozom a saját klasszifikációs modelljeimet kész aszúborokra, bogyómintákra, valamint az extrakcióra felhasznált folyadékmintákra:

- ✓ Az NMR technikával meghatározható 53 kémiai paraméter alapján évjárat szerinti kategóriákba sorolhatóak-e az aszúborok.
- ✓ Az általunk mért kémiai paraméterek alapján csoportosíthatóak-e a különböző típusú bogyóminták?
- ✓ Mérési eredményeink alapján elkülöníthetőek-e egymástól az alapborként használt Furmint és Hárslevelű minták.

Összehasonlítottam az általunk használt különböző mérés technikai módszereket (NMR technika, HPLC technika, fotometriás analizátor).

Dolgozatomban tanulmányoztam a vizsgálati évek (2000-2020) főbb meteorológiai adatait. Jellemeztem ezeket az évjáratokat és kerestem összefüggéseket a mérési eredményeimmel összevetve őket.

Kutatómunkám értékelése során vizsgáltam, hogy esetlegesen mely kémiai paraméterek szolgálhatnak a Botrytises fertőzés jelzőszámaként, egyfajta Botrytises indexként.

Vizsgálataimhoz a 2020-as évjáratban gyűjtöttem bogyómintákat Tokaj-hegyaljáról. A bogyóminták között voltak egészséges szemek, I. és II. osztályú aszúszemek, valamint szamorodni készítésre szánt szőlőszemek. 8 évjáratból gyűjtöttem Furmint és Hárslevelű borokat - melyeket aszúáztatásra használnak. Ezen kívül 2000-2017 és 2020-as évjáratokból származó kész aszúborokat vizsgáltam. Mintáimat NMR technikával, HPLC készülékkel, fotometriás analizátorral, továbbá finomanalitikai módszerekkel vizsgáltuk.

Vizsgálataimban mért kémiai paraméterek alapján nem sikerült az eredeti kategóriákba besorolni a mintáimat sem a bogyóminták, sem az alapborok, sem pedig a kész aszúborok esetében. Nem lehetett egyértelműen meghatározni az NMR által mért 53 paraméter alapján az aszúborok évjáratait, a bogyóminták mintatípusait, valamint a Furmint és a Hárslevelű fajtákat sem tudtam egymástól eredményesen elkülöníteni.

A mérés technikákat összehasonlítva megállapítható, hogy az almasavat és a glükonsavat fotometriás analizátorral és az NMR technikával párhuzamosan is megvizsgálva a két technikával egymáshoz viszonyítva hasonló eredményeket kaptunk. Ezzel szemben ugyanazon kémiai komponenseket HPLC és NMR készülékkel is megmérve különbséget tapasztaltunk. Alapborokból

elvégezt méréseink során a borkősav, glükonsav és sikiminsav esetében a HPLC készülékkel magasabb értékeket mértünk, mint az NMR technikával. Bogyómintákból elvégzett méréseinkből ugyanezt a megállapítást tehetjük, ugyanis a tejsav, fumársav, galakturonsav, borostyánkősav és a sikiminsav esetében a két alkalmazott mérési technika egymástól eltérő értékeket eredményezett.

Kutatómunkám összegzéseként elmondható, hogy az általam kitűzött célok megvalósultak. A tervezett mintákat sikeresen begyűjtöttem a Tokaji borvidékről és lemértem őket az arra alkalmas, legkorszerűbb technikák segítségével, majd ezt követően statisztikailag kiértékeltem az eredményeimet a kérdéseim megválaszolására.

Vizsgálataim azt bizonyították, hogy az NMR technika alapját képezheti egy olyan minőségbiztosítási módszernek, amely ismeretlen eredetű a tokaji aszúk megkülönböztetésére irányul, viszont azokat a kémiai paramétereket, melyeket a készülék nem tudott detektálni a mintáimban található alacsony koncentráció miatt. Ezeket mérés technikailag meghatározhatóvá kellene tenni, hogy a differenciálásban felhasználhatóak legyenek. Méréseim nagy részében ugyanis amiatt nem tudtam felhasználni több, az NMR készülék által mérhető paramétert, mert azok koncentrációja a kimutathatósági határérték alá esett. Egy komplex nyomonkövethetőségi rendszer kidolgozásához ettől jóval több komponens koncentrációjának ismeretére van szükség, amihez nem véletlenül nyújt 53 paramétert az NMR technika, melyeket érdemes kihasználni a matematikai statisztikai modell felállításakor.

9. SUMMARY

The historical traditions and specialties of the Tokaj wine region are of outstanding importance among the wine regions of Hungary. Climatic conditions, soil circumstances and grape-varieties of the wine region create optimal conditions for the activity of the mold called *Botrytis cinerea*, thus the development of noble rot.

The basis of the world-famous Tokaj aszú wines is the so-called aszú grain, which is developed in the special case when the technologically ripe grapes go through the so-called noble rotting under the influence of *Botrytis cinerea* in optimal climatic conditions. This fundamentally changes the composition of the grapes, resulting in special organoleptic properties. Known the technology of Tokaj aszú making, the aszú grains are poured with Tokaj aszú wines, which serve as an extraction liquid during the process. For this reason, I considered it important to compare the chemical composition of the aszú grains used as raw material, the liquid samples used for the extraction, and the finished product made from them (Tokaji aszú wines) on the basis of analytical parameters. There is currently no objective rating system for the certification of aszú grains and aszú wines, so this research is an innovation. Nowadays, the classification of aszú grains is based on highly subjective visual inspection and the sugar content (% refraction) of the berry.

For my research, among others, I used the most up-to-date technique used in today's wine analysis, Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. This technique is an innovative way for testing wine samples. Its spread has been facilitated by its unique properties such as non-destructive testing, excellent selectivity, and the ability to simultaneously detect multiple compounds in complex mixtures (e.g., foods) without the need for separation or complex sample preparation. The NMR technique gives a concentration of 53 chemical parameters in a single measurement, which takes only 15 minutes and is performed on 600 microliters of wine samples. Thus, it can be used directly for the comparison and identification of different wines, since after an NMR measurement we have an NMR spectrum, which can be considered as a unique, spectroscopic “fingerprint” characteristic of the sample. This is because each grape variety has a unique structural formula that means its own genetic map: the “fingerprint” of the plant. This species specificity is reflected in the composition of the product (wine) made from it, so the 53 chemical parameters we measured contain information about the technological treatment and certain physiological state. Using the 53 chemical parameters, mathematical models can be used to determine the geographical origin of the wine and the grape variety, i.e. in addition to categorizing the variety and origin of the wines, the method also plays an important role in the protection of origin.

In my research, I set the following goals:

- To create my own classification models based on data measured using different measurement techniques for aszú wines, berry samples and liquid samples used for extraction.
 - ✓ Can aszú wines be classified into vintage categories based on the 53 chemical parameters that can be measured by NMR technique?
 - ✓ Can the different types of berry samples be grouped based on the chemical parameters measured?
 - ✓ Can the Furmint and Hárslevelű samples used as base wines distinguished from each other based on the measurement results?
- I compared the different measurement methods used (NMR technique, HPLC technique, photometric analyzer).

In my dissertation I studied the main meteorological data of the study years (2000-2017; 2020). I characterized these vintages and looked for correlations with my measurement results by comparing them.

During the evaluation of my research work, I paid attention which chemical parameters may serve as an indicator *Botrytis* index.

For my research, I collected berry samples from the Tokaj wine region in the 2020 vintage. Berry samples included healthy grains, 1st and 2nd class aszú grains and grapes intended for the preparation of Szamorodni. I collected Furmint and Hárslevelű wines from 8 vintages - which are used for soaking. In addition, I examined finished aszú wines from the 2000-2017 and 2020 vintages. My samples were analyzed by NMR, HPLC, photometric analyzer and fine analytical methods.

Based on the chemical parameters measured in my studies, I was unable to classify my samples into the original categories for berry samples, base wines, or finished aszú wines. Based on the 53 parameters measured by NMR, it was not possible to clearly determine the vintages of the aszú wines, the sample types of the berry samples, and the Furmint and Hárslevelű varieties could not be successfully separated.

Comparing the measurement techniques, it can be stated that the malic acid and gluconic acid were examined in parallel with the photometric analyzer and the NMR technique to obtain similar results compared to the two techniques. In contrast, a difference was found when measuring

both chemical components by HPLC and NMR. In the case of our measurements from base wines, we measured higher values for tartaric acid, gluconic acid and sikiminic acid with the HPLC device than with the NMR technique. The same conclusion can be drawn from our measurements of berry samples, since in the case of lactic acid, fumaric acid, galacturonic acid, succinic acid and sikiminic acid the two measurement techniques used gave different values.

As a summary of my research work, it can be said that the goals I set were achieved. I successfully collected the planned samples from the Tokaj wine region and weighed them using the most up-to-date techniques, and then statistically evaluated my results to answer my questions.

My studies have shown that the NMR technique can form the basis of a quality assurance method aimed at distinguishing Tokaj aszú of unknown origin, but with chemical parameters that the instrument could not detect due to the low concentration in my samples. These should be made metrologically determinable so that they can be used in differentiation. This is because in most of my measurements I could not use several parameters that can be measured by the NMR device, because their concentration fell below the detection limit. The development of a complex traceability system requires knowledge of the concentrations of many more components, for which it is no coincidence that the NMR technique provides 53 parameters that are worth exploiting when setting up a mathematical statistical model.

10.MELLÉKLETEK

M1. Napi csapadékintenzitás Mádon a vegetációs időben

Év	Mennyiség [mm]	Csapadékos napok száma	Hányadosa	Évjárat
2001	536	93	5,7	Gyenge
2012	435	60	7,2	Mediterrán
2013	392	55	7,1	Heterogén
2014	431	81	5,3	Gyenge
2015	333	68	4,9	Mediterrán
2016	439	71	6,1	Heterogén
2017	480	75	6,4	Aszús
2018	242	54	4,5	Mediterrán
2019	482	76	6,3	Heterogén
2020	572	84	6,8	Heterogén
2021	295	77	3,8	Heterogén

M2. Évi és a vegetációs időszakban mért csapadékmennyiségek Mádon 2009-2021 között

Év	Csapadék mennyisége [mm]		Évjárat
	Vegetációs időszakban	Évi	
2009	344	606	Mediterrán
2010	807	1082	Gyenge
2011	328	490	Mediterrán
2012	435	587	Mediterrán
2013	392	672	Heterogén
2014	431	607	Gyenge
2015	333	478	Mediterrán
2016	439	678	Heterogén
2017	480	680	Aszús
2018	242	648	Mediterrán
2019	482	710	Heterogén
2020	572	739	Heterogén
2021	295	558	Heterogén

M3. Kész aszúborok Kruskal-Wallis tesztjeinek eredményei

Kémiai paraméter	Khi-négyzet	P érték
Alkohol	14.65	0.686
Metanol	19.38	0.368
Glükóz	19.83	0.343
Cukortartalom	22.38	0.215
Fruktóz	27.91	0.063 .
Glicerin	20.04	0.33
Alanin	38.51	0.003 **
Arginin	37.42	0.005 **
Prolin	47.26	<0.001 ***
Ecetsav	17.44	0.493
Benzoesav	6.84	0.991
Citromsav	30.18	0.036 *
Hangyasav	68.31	<0.001 ***
Fumársav	45.86	<0.001 ***
Galakturonsav	40.95	0.002 **
Galluszsav	5.61	0.998
Glükonsav	31.76	0.023 *
Szorbinsav	48.27	<0.001 ***
Borostyánkősav	28.35	0.057 .
Borkősav	21.71	0.245
Tejsav	24.15	0.15
Almasav	39.52	0.002 **
Trigonellin	19.45	0.365
Kaftársav	21.65	0.248
Sikiminsav	35.08	0.009 **
Glükóz/Fruktóz	21.49	0.256

$p < 0.001$ ***, $p < 0.01$ **, $p < 0.05$ *, $p < 0.1$

M4. Folyadékmintákból mért paraméterekre végzett Mann-Whintey-féle U-próbák eredményei

Kémiai paraméter	Alkalmazott mérés technika	W érték	p érték
alkohol	NMR	523.5	0.522
cukortartalom	NMR	538.5	0.405
glükóz	NMR	454.0	0.783
fruktóz	NMR	540.0	0.394
glükóz/fruktóz	NMR	78.5	0.382
glicerin	NMR	441.5	0.699
borkősav	HPLC	581.5	0.169
	NMR	610.0	0.082
L-almasav	Fotometriás analizátor	413.0	0.454
	NMR	376.0	0.254
tejsav	HPLC	450.5	0.857
	NMR	451.0	0.737
citromsav	HPLC	501.0	0.722
	NMR	464.5	0.923
fumársav	HPLC	289.5	0.021*
	NMR	487.5	0.502
glükonsav	HPLC	18.0	0.257
	NMR	428.0	0.315
metanol	NMR	360.5	0.290
galakturonsav	HPLC	115.0	0.683
galaktorunsav	NMR	371.0	0.200
borostyánkősav	NMR	414.5	0.466
kaftársav	NMR	613.5	0.075
skiminsav	HPLC	287.0	0.019*
sikiminsav	NMR	360.5	0.141
galaktársav	HPLC	122.5	0.694
összes polifenol	Finomanalitikai módszer	346.0	0.110
katechin	Finomanalitikai módszer	354.0	0.135
leuoantocianin	Finomanalitikai módszer	386.5	0.278
alanin	NMR	480.0	0.649
arginin	NMR	502.5	0.328
prolin	NMR	509.5	0.643
ecetsav	NMR	589.0	0.141
acetonin	NMR	345.5	0.017*
galluszsav	NMR	484.5	0.769

M5. Bogyómintákból végzett NMR és HPLC mérések Wilcoxon tesztjeinek eredményei

Kémiai paraméter	V	p érték
borkósav	523.0	0.376
tejsav	294.0	0.003**
citromsav	885.5	0.074.
fumársav	778.0	0.01**
galakturonsav	146.5	<0.001***
borostyánkősav	3.0	<0.001***
sikiminsav	959.0	0.014*

M6. Extrakcióra felhasznált borminták esetében végzett NMR és HPLC mérések összehasonlítására végzett párosított Wilcoxon teszt eredményei

Kémiai paraméter	V	p érték
borkósav	818.5	<0.001***
tejsav	1638.0	0.178
citromsav	2924.0	<0.001***
fumársav	2912.0	<0.001***
glükonsav	0.0	0.002**
galakturonsav	387.0	<0.001***
sikiminsav	116.0	<0.001***

M7. Bogyómintákból végzett NMR és Gallery mérések Wilcoxon tesztjeinek eredménye

Kémiai paraméter	V	p érték
L-almasav	335	0.063
D-glükonsav	579	0.678

M1 IRODALOMJEGYZÉK

1. ABAD-GARCIA, B., BERRUETA, L. A. LOPEZ-MÁRQUEZ, D. M., CRESPO-FERRER, I., GALLO, B., VICENTE, F. (2007): Optimization And Validation Of A Methodology Based On Solvent Extraction And Liquid Chromatography For The Simultaneous Determination Of Several Polyphenolic Families In Fruit Juices. *Journal Of Chromatography A*. 1154(1-2):87- 96.
2. ALKONYI, L. (2009) Tokaj Iránytű Borkedvelőknek. *Borbarát-Lap Kft. Budapest*.
3. ANASTASIADI, M., ZIRA, A., MAGIATIS, P., HAROUTOUNIAN, S. A., SKALTSOUNIS, A.L., MIKROS, E. (2009) ¹H NMR-Based Metabolomics For The Classification Of Greek Wines According To Variety, Region, And Vintage. Comparison With HPLC Data. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 57(23):11067– 74.
4. ANDERS, U., TITTEMEIER, F., HAILER, G. (1976) ¹H-NMR Bestimmung Von Athanol In Wein, Weinähnlichen Getränken Und Spirituosen [¹H-NMR Determation Of Ethanol In Wine, Winelike Beverages, And Liquors (Author's Transl)]. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*. 162(1), 21–24. <https://doi.org/10.1007/Bf01104356>.
5. ANLI R.E., BAYRAM M. (2008) Biogenic Amines In Wines *Food Reviews International*, 25 (1), Pp. 86-102, Doi: 10.1080/87559120802458552
6. ARAPITSAS, P., MATTIVI, F. (2018) Lc-MS Untargeted Protocol For The Analysis Of Wine. In Georgios A. Theodoridis, Helen G. Gika, & Ian D. Wilson. (Eds.) *Metabolic Profiling* (Pp. 225–235). *Springer*.
7. BALCI M. M. (2005) Local Magnetic Fields Around A Nucleus, In *Basic ¹H- And ¹³C-Nmr Spectroscopy*, Chapter 3, 25-85.P.
8. BARBE J. C., DE REVEL G., BERTRAND A. (2002) Gluconic Acid, Its Lactones, And So₂ Binding Phenomena In Musts From Botrytized Grapes. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 50 (22), 6408-6412 Doi: 10.1021/Jf020412m
9. BARDOCZ, S. (1993) Role Of Dietary Polyamines. *European Journal Of Clinical Nutrition*. 47, 683-690.
10. BARDOCZ, S., GRANT, G., BROWN, D. S., RALPH, A., PUSZTAI, A. (1993) Polyamines In Food – Implications For Growth And Health. In: *Journal Nutritional Biochemistry*. 4, 66-71.
11. BAVARESCO, L., PETEGOLLI, D., CANTÙ, E., FREGONI, M., CHIUSA, G., TREVISAN, M. (1997) Elicitation And Accumulation Of Stilbene Phytoalexins In Grapevine Berries Infected By *Botrytis Cinerea*. *Vitis* 36, 77-83.

12. BECKER E. D. (2000) Chemical Shifts, High Resolution Nmr (Third Edition) Theory And Chemical Applications, Chapter 4, 83-117.P.
13. Bene, Zsuzsanna (2004): Aszúbogycok Élesztő- És Penészbiotájának Tanulmányozása Tokaj-Hegyalján. *Doktori értekezés. Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Doktori Iskola.*
14. BERTELLI, A. A., DAS, D. K. (2009) Grapes, Wines, Resveratrol, And Heart Health. In: Journal Of Cardiovascular Pharmacology. 54, 468. Doi: 10.1097/Fjc.0b013e3181bfaff3
15. BIHARI, Z. (2019) Tokaj Terroir. *Agroinform Kiadó. Budapest.*
16. BLANCO-ULATE B., AMRINE K.C.H., COLLINS T.S., RIVERO R.M., VICENTE A.R., MORALES-CRUZ A., DOYLE C.L., YE Z., ALLEN G., HEYMAN H., EBELER S.E., CANTU D., (2015) Developmental And Metabolic Plasticity Of White-Skinned Grape Berries In Response To Botrytis Cinerea During Noble Rot. *J. Plant Physiol.*, 169, 2422-2443.
17. BLOCH, F. (1946) Nuclear Induction. *American Physical Society.* 70:460-474. <https://doi.org/10.1103/Physrev.70.460>
18. BLOUIN J. (2000) Gestion Oenologique Pourritures Des Raisins. *Revue Des Oenologues*, N0 96: 7-12
19. BOKULICH, N.A.; THORNGATE, J.H.; RICHARDSON, P.M.; MILLS, D.A. (2014) Microbial Biogeography Of Wine Grapes Is Conditioned By Cultivar, Vintage, And Climate. *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa*111, 139–148.
20. BOTOS E., MARCINKÓ F. (2005): Tokaj Boratlasz. *Bor-Kép. Budapest.*
21. BUZAŞ, M.C., CHIRA, N., DELEANU, C., ROŞCA, S. (2003) Identification And Quantitative Measurement By 1h-Nmr Spectroscopy Of Several Compounds Present In Romanian Wines. *Revista De Chimie.* 54(10):831–833.
22. CANTU, D.; VICENTE, A.R.; GREVE, L.C.; DEWEY, F.M.; BENNETT, A.B.; LABAVITCH, J.M.; POWELL, A.L.T. (2008) The Intersection Between Cell Wall Disassembly, Ripening, And Fruit Susceptibility To *Botrytis Cinerea*. *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa*, 105, 859–864.
23. CAÑUETO, D., GÓMEZ, J., SALEK, R. M., CORREIG, X., CAÑELLAS, N. (2018) Rdolphin: A Gui R Package For Proficient Automatic Profiling Of 1d 1h-Nmr Spectra Of Study Datasets. *Metabolomics. Official Journal Of The Metabolomic Society.* 14(3), 24. <https://doi.org/10.1007/S11306-018-1319-Y>
24. CARBAJAL-IDA D., MAURY C., SALAS E., SIRET R., MEHINAGIC E., (2016) Physico-Chemical Properties Of Botrytized Chenin Blanc Grapes To Assess The Extent Of Noble Rot. *Eur. Food Res Technol.*, 242, 117- 126.

25. CARBAJAL-IDA D., MAURY C., SALAS E., SIRET R., MEHINAGIC E., (2016) Physico-Chemical Properties Of Botrytized Chenin Blanc Grapes To Assess The Extent Of Noble Rot. *Eur. Food Res Technol.* 242, 117- 126.
26. CLAUS, H. (2017). Laccases Of Botrytis Cinerea . In: König, H., Uden, G., Fröhlich, J. (Eds) *Biology Of Microorganisms On Grapes, In Must And In Wine.* Springer. Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-60021-5_14
27. CONSONNI, R., CAGLIANI, L.R., GUANTIERI, V., SIMONATO, B. (2011) Identification Of Metabolic Content Of Selected Amarone Wine. *Food Chemistry.* 129(2):693-699. Doi: 10.1016/J.Foodchem.2011.05.008.
28. CREASY, L.L., COFFEE, M. (1988) Phytoalexin Production Potential In Grape Berries. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 113(2):230–234.
29. CUADRADO M.U., PÉREZ-JUAN P.M., CASTRO M.D.L., GÓMEZ-NIETO M.A., (2005) A Fully Automated Method For In Real Time Determination Of Laccase Activity In Wines. *Anal. Chim. Acta*, 553, 99-104.
30. CUI E.J., SONG N. Y., SHRESTHA S., CHUNG I. S., KIM J. Y., JEONG T. S., BAEK N. I. (2012) Flavonoid Glycosides From Cowpea Seeds (*Vigna Sinensis* K.) Inhibit Ldl Oxidation. *Food Science And Biotechnology*, 21 (2) 619–624. P.
31. CUI, Q., LEWIS, I.A., HEGEMAN, A.D., ANDERSON, M.E., LI J., SCHULTE, C.F., WESTLER, W.M., EGHBALNIA, H.R., SUSSMAN, M.R., MARKLEY, J.L. (2008) Metabolite Identification Via The Madison Metabolomics Consortium Database. *Nat. Biotechnol.* 26:162–164.
32. CSAPÓ, J., ALBERT CS., CSAPÓNÉ, K. ZS. (2016) Élelmiszerhamisítás. *Debreceni Egyetemi Kiadó. Debrecen.*
33. CSOMÓS E., SIMON-SARKADI L. (2002) Különböző Borok Biogén Amin Tartalmának Összehasonlító Vizsgálata. *Élelmezési Ipar, Lvi.* (10) 297-302 P.
34. CSOMÓS E., SIMON-SARKADI L. (2002/A) Characterisation Of Tokaj Wines Based On Free Amino Acids And Biogenic Amines Using Ion-Exchange Chromatography. *Chromatogr. Suppl.* 56 185-188 P.
35. CSOMÓS E., SIMON-SARKADI L. (2002/A) Characterisation Of Tokaj Wines Based On Free Amino Acids And Biogenic Amines Using Ion-Exchange Chromatography. *Chromatogr. Suppl.* 56 185-188 P.
36. CSOMÓS, E., KÁTAY, GY., KIRÁLY-VÉGHÉLY, ZS., DIÓFÁSI, L., SIMON-SARKADI, L., TYIHÁK, L. (2000) Determination Of Biologically Active Compounds In

- Wines. *Proc. Of The International Symposium On Planar Separations – Planar Chromatography*, Lillafüred, Hungary, 173-18.P.
37. CSOMÓ, E., SIMON-SARKADI, L. (2002) Characterisation Of Tokaj Wines Based On Free Amino Acids And Biogenic Amines Using Ion-Exchange Chromatography. *Chromatographia Supplement*. 56, 185-188.
 38. DAS, M., DAS, D. K. (2010) Resveratrol And Cardiovascular Health. *Molecular Aspects Of Medicine*. 31(6), 503–512. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2010.09.001>
 39. Doneche, 1990
 40. DONECHE, B. J. (1993) Botrytized Wines, In: *Wine Microbiology And Biotechnology*. Harwood Academic Publisher, Chur, Switzerland, (Ed. Fleet, H. G.) Pp. 327-351.
 41. DOUMOYA, S.; LAHAYE, M.; MAURY, C. (2014) Siret, R. Physical And Physiological Heterogeneity Within The Grape Bunch: Impact On Mechanical Properties During Maturation. *Am. J. Enol. Vitic.* 65, 170–178.
 42. DU, Y.Y., BAI, G.Y., ZHANG, X., LIU, M.L. (2007) Classification Of Wines Based On Combination Of 1h Nmr Spectroscopy And Principal Component Analysis. *Chin. J. Chem.* 25 (7), 930–936
 43. DUBERNET M., RIBÉREAU-GAYON P., LERNER H.R., HAREL E., MAYER A.M., (1977) Purification And Properties Of Laccase From *Botrytis Cinerea*. *Phytochemistry*. 16, 191-193.
 44. DUBOURDIEU, D. (1982) Recherches Sur Les Polysaccharides Secretes Par *Botrytis Cinerea* Dans La Bale De Raisin. Therae Universite De Bordeaux Ii.
 45. DUMAS, M.E, MAIBAUM, E.C., TEAGUE, C, UESHIMA, H., ZHOU, B., LINDON, J.C., NICHOLSON, J.K., STAMLER, J., ELLIOTT, P., CHAN, Q., HOLMES, E. (2006) Assessment Of Analytical Reproducibility Of 1h Nmr Spectroscopy Based Metabonomics For Large-Scale Epidemiological Research: *The Intermap Study*. *Anal Chem.* 78(7) 2199-2208. [Doi:10.1021/ac0517085](https://doi.org/10.1021/ac0517085).
 46. EDER, R., BRANDES, W., AND PAAR, E. (2002A). Influence Of Grape Rot And Fining Agents On Thecontents Of Biogenic Amines In Musts And Wines. *Mitt. Klosterneuburg* 52, 204–217. (1) (Pdf) *Botrytized Wines*. Available From: https://www.researchgate.net/publication/51596128_Botrytized_Wines [Accessed May 05 2022].
 47. ELMER, P.A.; MICHAILEDIS, T.J. (2007) Epidemiology Of *Botrytis Cinerea* In Orchard And Vine Crops. In *Botrytis: Biology, Pathology And Control*; Springer: Dordrecht, The Netherlands. Pp. 243–272.

48. EMWAS, A. H. M. (2015) The Strengths And Weaknesses Of Nmr Spectroscopy And Mass Spectrometry With Particular Focus On Metabolomics Research. *Methods In Molecular Biology*, 1277, 161– 193. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2377-9_13
49. EMWAS, A. H., ROY, R., MCKAY, R. T., TENORI, L., SACCENTI, E., GOWDA, G., RAFTERY, D., ALAHMARI, F., JAREMKO, L., JAREMKO, M., WISHART, D. S. (2019) NMR Spectroscopy For Metabolomics Research. *Metabolites*. 9(7), 123. <https://doi.org/10.3390/Metabo9070123>
50. EPERJESI, I., KÁLLAY, M., MAGYAR, I. (2010) Borászati Technológia. *Mezőgazda Kiadó, Budapest*.
51. ESSLINGER, S., FAUHL-HASSEK, C., WITTKOWSKI, R. (2015) Authentication Of Wine By 1h-Nmr Spectroscopy: Opportunities And Challenges. *American Chemical Society. Advances In Wine Research*. 6, 85-108. Doi: 10.1021/Bk-2015-1203.Ch006
52. FARRANT R. D., LINDON J.C. (2017) NMR Parameter Survey 13c. *Encyclopedia Of Spectroscopy And Spectrometry (Third Edition)*. 181-188 P. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803224-4.00112-6>
53. FERENCZI S. (1966) A Szőlő, A Must És A Bor Kémiája. *Mezőgazdasági Kiadó, Budapest*, 336 P.
54. FISCHERLEITNER, E., KORNTHEUER, S. WENDELIN, R. EDER, (2004) Shikimic Acid Contents As A Parameter For The Verification Of Varietal Authenticity With Wines (In German). *Mitteilungen Klosterneuburg*. Autriche, 7/8, 234- 238.
55. FLANZY, M., AUBERT, S., MARINOS M. (1969) New technique for detetmination of leukoanthocyaninic tanninc. *Applications. Ann. Technol. Agric*. 18:327-328.
56. FOTAKIS, C., KOKKOTOU, K ., ZOUMPOULAKIS, P., ZERVOU, M. (2013) NMR Metabolite Fingerprinting In Grape Derived Products: An Overview. *Food Research International* 54:1, 1184-1194.P. <https://doi.org/10.1016/J.Foodres.2013.03.032>.
57. FOURNIER, E., GLADIEUX, P., AND GIRAUD, T. (2013) The “Dr Jekyll And Mr Hyde Fungus”: Noble Rot Versus Gray Mold Symptoms Of *Botrytis Cinerea* On Grapes. *Evol. Appl*. 6, 960–969. Doi: 10.1111/Eva.12079
58. FURDÍKOVÁ, K.; MACHYŇÁKOVÁ, A.; DRTILOVÁ, T.; KLEMPOVÁ, T.; ĎURČANSKÁ, K.; ŠPÁNIK, I. (2019) Comparison Of Volatiles In Noble-Rotten And Healthy Grape Berries Of Tokaj. 105, 37–47.
59. GAJDA, T. (2013) Haladó Szervetlen Kémia. Szegedi Tudományegyetem; Debreceni Egyetem, 8. Fejezet;
60. GODELMANN, R., FANG, F., HUMPFER, E., SCHÜTZ, B., BANSBACH, M., SCHÄFER, H., SPRAUL, M. (2013): Targeted And Nontargeted Wine Analysis By 1h Nmr

- Spectroscopy Combined With Multivariate Statistical Analysis. Differentiation Of Important Parameters: Grape Variety, Geographical Origin, Year Of Vintage. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 61, (23), 5610–5619. <https://doi.org/10.1021/Jf400800d>
61. GODELMANN, R., KOST, C., PATZ, C.-D., RISTOW, R., WACHTER, H. (2016) Quantitation Of Compounds In Wine Using (1)H Nmr Spectroscopy: Description Of The Method And Collaborative Study. *Journal Of Aoac International*. 99(5), 1295–1304. <https://doi.org/10.5740/Jaoacint.15-0318>
 62. HAJÓS D., HAJÓS GY. (2011) A Tokaji Bor. *Kémikusok Lapja*. Lxvi. Évf., 354 p.
 63. HAJÓS, G., SASS-KISS, A., SZERDAHELYI, E., AND BARDOCZ, S. (2000) Changes In Biogenic Aminecontent Of Tokaj Grapes, Wines And Aszu-Wines. *J. Food Sci.* 65, 1142–1144.
(1) (Pdf) Botrytized Wines. Available From: https://www.researchgate.net/publication/51596128_Botrytized_Wines [Accessed May 05 2022].
 64. HAO J., ASTLE W., DE IORIO M., EBBELS T.M.D. (2012) Batman-An R Package For The Automated Quantification Of Metabolites From Nuclear Magnetic Resonance Spectra Using A Bayesian Model. *Bioinformatics*. 28:2088–2090.
 65. HARASZTI, GY. (2006) Tokaji Borok. Kossuth Kiadó. Budapest. 9.P.
 66. HART J.H., (1981) Role Of Phytostilbenes In Decay And Disease Resistance. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 19, 437-458
 67. HERNÁNDEZ-ORTE P., PEÑA-GALLEGO A., IBARZ M.J., CACHO J., FERREIRA V. (2006) Determination Of The Biogenic Amines In Musts And Wines Before And After Malolactic Fermentation Using 6-Aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidyl Carbamate As The Derivatizing Agent *Journal Of Chromatography A*, 1129 (2), Pp. 160-164
 68. HODÚR, C.; CSANÁDI, J.; LÁSZLÓ, Z. (2016) Tokaji Aszú: “The Wine Of Kings, The King Of Wines”. *Traditional Foods; Springer*: Boston, Ma. Pp. 319–323.
 69. HOFMANN, M. (2015) A Method For Wine Analysis And Related Apparatus. Patent De:102014203815:A1
 70. HOLMES, E., NICHOLLS, A. W., LINDON, J. C., CONNOR, S. C., CONNELLY, J. C., HASELDEN, J. N., DAMMENT, S. J., SPRAUL, M., NEIDIG, P., NICHOLSON, J. K. (2000) Chemometric Models For Toxicity Classification Based On Nmr Spectra Of Biofluids. *Chemical Research In Toxicology*. 13(6), 471–478.P. <https://doi.org/10.1021/Tx990210t>

71. IZQUIERDO CAÑAS P., GARCÍA ROMERO E., GÓMEZ ALONSO S., FERNÁNDEZ GONZÁLEZ M., PALOP HERREROS M. (2008) Amino Acids And Biogenic Amines During Spontaneous Malolactic Fermentation In Tempranillo Red Wines. *Journal Of Food Composition And Analysis*, 21 (8), Pp. 731-735
72. JACKSON, R. (2014) Wine Science. *Principles And Applications (4th Ed)*. Academic Press. Isbn 978-0-12-381468-5.
73. JACKSON, R.S. (2008) Specific And Distinctive Wine Styles. In: Wine Science: Principles And Applications. Academic Press, Amsterdam, Pp. 520-576.
74. JAHAN M S, SHU S, WANG Y, CHEN Z, HE M, TAO M, SUN J, GUO S. (2019) Melatonin Alleviates Heat-Induced Damage Of Tomato Seedlings By Balancing Redox Homeostasis And Modulating Polyamine And Nitric Oxide Biosynthesis. *Bmc Plant Biology*, 19, 1–16.
75. KÁLLAY M. (1991) Magyar Borok Biogén Amin Tartalmának És Azok Változásának Tanulmányozása, Különös Tekintettel A Hisztamin És A Tiramin Koncentrációjára. *Kandidátusi Értekezés*. BME.
76. KÁLLAY M., NYITRAINÉ S. D. (2003): Bioborok Biogén Amin-Tartalmának Vizsgálata. *Borászati Füzetek*, Kutatási Melléklet, 13 (1) 11-15.
77. KÁLLAY, M. (2001): Tokaji – A Magyar Zászlósbor. I. Tokaji Bor Konferencia, Sárospatak. 12-22.
78. KÁLLAY, M. (2003) Determination Of Biogenic Amine—Content Of Tokaj Wine Specialities. *Int.J. Hor. Sci.* 9(3–4), 87–90.
79. KÁLLAY, M. (2010): Borászati Kémia. *Mezőgazda Kiadó. Budapest*.
80. KÁLLAY, M., BÓDY-SZALKAI, M. (1996) Biogenic Amines In Hungarian Wines. 11th International Oenological Symposium Kiadványa, 339-350.
81. KÁLLAY, M., NYITRAINÉ-SÁRDY, D. (2003/A). Tokaji Borkülönlegességek Biogénamin-Tartalmának Vizsgálata , *Borászati Füzetek*, Kutatási Melléklet 13. (1) 16-20.
82. KÁLLAY, M., NYITRAINÉ-SÁRDY, D. (2008). Borok és borászati termékek illetve polifenolokkal jellemezhető italok (gyümölcslevek, üdítőitalok, sör) antioxidáns kapacitásának mérése. *Borászati Füzetek*, Kutatási Melléklet. 18. (2) 5-7.
83. KALLÓ G, KUNKLI B, GYŐRI Z, SZILVÁSSY Z, CSŐSZ É, TŐZSÉR J. (2020) Compounds With Antiviral, Anti-Inflammatory And Anticancer Activity Identified In Wine From Hungary's Tokaj Region Via High Resolution Mass Spectrometry And Bioinformatics Analyses. *Int J Mol Sci.* 21(24):9547. Doi:10.3390/Ijms21249547
84. KARSA, A., IVÁN, D., SIMON, F. (2012). Magmágneses Rezonancia Laborgyakorlat. https://fizipedia.bme.hu/images/2/26/Nmr_Labor.Pdf. Cited: December 2012. Updated:

- September 2015. Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: Magmágneses Rezonancia. Lekérdezés Időpontja: 2020.05.10.
85. KISS, J. (2007) Tokaji Aszúborok Eredetvizsgálata Szőlők És Borok Amin- És Savösszetétele Alapján. Doktori Értekezés. Budapesti Corvinus Egyetem. Budapest.
 86. KISS, J., KORBASZ, M., AND SASS-KISS, A. (2006) Study Of Amine Composition Of Botrytizedgrape Berries. *J. Agric. Food Chem.* 54, 8909–8918
 87. KLAMPFL, C. W., KATZMAYR, M. U., BUCHBERGER, W. (1998) Separation Of Inorganic And Organic Anions By Capillary Zone Electrophoresis With Simultaneous Indirect Uv And Conductivity Detection. *Electrophoresis.* 19(14), 2459–2464. P. <https://doi.org/10.1002/elps.1150191418>
 88. KOŠIR, I.J., KIDRIČ, J. (2001) Identification Of Amino Acids In Wines By One- And Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. In: *Journal Of Agricultural And Food Chemistry.* 49(1), 50–56. <https://doi.org/10.1021/jf0008137>
 89. KÖZPONTI STATISZTIKAI HIVATAL. 2016 Június. A Világörökség Részét Képező Tokaji Borvidék.
 90. LACHENMEIER, D. W., HUMPFER, E., FANG, F., SCHÜTZ B., DVORTSAK P., SPROLL, C., SPRAUL, M. (2009) Nmr-Spectroscopy For Nontargeted Screening And Simultaneous Quantification Of Health-Relevant Compounds In Foods: The Example Of Melamine. *Journal Agricultural Food Chemistry.* 57 (16): 7194 –7199. Doi: 10.1021/jf902038j
 91. LANDETE, J.M., FERRER, S., POLO, L., PARDO, I. (2005) BIOGENIC AMINES IN WINES FROM THREE Spanish Regions. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry,* 53 (4), 1119-1124. Doi: 10.1021/jf049340k
 92. LE GALL G., COLQUHOUN, I. J. (2003) NMR Spectroscopy In Food Authentication. *Food Authenticity And Traceability.* Lees M., Ed.; Woodhead Publishing Ltd.: Cambridge, Uk. 131–155.P.
 93. LEE, J. E., HWANG, G. S., VAN DEN BERG, F., LEE, C. H., HONG, Y. S. (2009) Evidence Of Vintage Effects On Grape Wines Using 1h Nmr-Based Metabolomic Study. *Analytica Chimica Acta,* 648(1), 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.06.039>
 94. LEITÃO, M.C., MARQUES, A.P., SAN ROMÃO, M.V. (2005) A Survey Of Biogenic Amines In Commercial Portugese Wines. *Food Control.* 16 (3), 199–204. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.01.012>.
 95. LESKÓ ISTVÁN, Szóbeli Közlés

96. LESKÓ, A. (2011) A Töketerhelés Hatása A Szőlőbogyó, A must és a bor összetételére. Doktori Értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Doktori Iskola, Budapest.
97. LESKÓ, I., LESKÓ, A. (2012): Mediterrán Tokaj (i). *Bor és Piac*. (9-10): p.14-15.
98. LESKÓ, I., LESKÓ A. (2009) Meteorológiai és Szőlőfenológiai Megfigyelések Három Mediterrán Jellegű Évjáratban Mádon. *Borászati füzetek*. 5. P.1-5.
99. LINDON J.C., NICHOLSON J.K., HOLMES E., EVERETT J.R. (2000) Metabonomics: Metabolic Processes Studied By NMR Spectroscopy Of Biofluids. *Concepts Magn. Reson.* 12:289–320
100. LONVAUD-FUNEL, A. (2001) Biogenic Amines In Wines: Role Of Lactic Acid Bacteria – Minireview. *Fems Microbiology Letters*. 199 (1), 9-13. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6968.2001.Tb10643.X>
101. LOPEZ PINAR, A., RAUHUT, D., RUEHL, E., AND BUETTNER, A. (2016) Effects Of Botrytis Cinerea And Erysiphe Necator Fungi On The Aroma Character Of Grape Must: A Comparative Approach. *Food Chem.* 207, 251–260. Doi: 10.1016/J.Foodchem.2016.03.110
102. LÓPEZ-RITUERTO, E., SAVORANI, F., AVENOZA, A., BUSTO, J. H., PEREGRINA, J. M., ENGELSEN, S. B. (2012). Investigations Of La Rioja Terroir For Wine Production Using 1h Nmr Metabolomics. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*. 60(13), 3452–3461. <https://doi.org/10.1021/Jf204361d>
103. LORENZINI, M., AZZOLINI, M., TOSI, E. AND ZAPPAROL, G. 2013. Postharvest Grape Infection Of Botrytis Cinerea And Its Interactions With Other Moulds Under Withering Conditions To Produce Noble-Rotten Grapes. *Journal Of Applied Microbiology*, 114(3): 762-770.
104. MACHEIX, J.-J., FLEURIET, A., BILLOT, J. (1990) Fruit Phenolics. Boca Raton, Fl: Crc Press. 378.P.
105. MACOMBER, R. S. (1998) A Complete Introduction To Modern Nmr Spectroscopy. New York. John Wiley & Sons Inc.
106. MAGDAS D.A., PIRNAU A., FEHER I., GUYON F., COZAR B.I. (2019) Alternative Approach Of Applying 1h Nmr In Conjunction With Chemometrics For Wine Classification, *Lebensmittel Wissenschaften Und Technologie*. Volume 109, Pp. 422-428, Doi: 10.1016/J.Lwt.2019.04.054.
107. MAGYAR BORKÖNYV Tervezet. (2002)
108. MAGYAR I. (2011): Botrytized Wines. *Advances In Food And Nutrition Research*. 63. Academic Press Inc.; Cambridge, Ma, Usa: Pp. 147–206.; <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384927-4.00006-3>

109. MAGYAR ILDIKÓ (2010) Borászati Mikrobiológia. *Mezőgazda Kiadó. Budapest.*
110. MAKRA, L., VITÁNYI, B., GÁL, A., MIKA, J., MATYASOVSKY, I., HIRSCH, T. (2009) Wine Quantity And Quality Variations In Relation To Climatic Factors In The Tokaj (Hungary) Winegrowing Region. *American Journal Of Enology And Viticulture*, 60(3), 312-321.
111. MANNINA, L., SOBOLEV, A. P., ARU, V., BELLOMARIA, A., BERTOCCHI, F., BOTTA, B., CAGLIANI, L., CALIGIANI, A., CAPOZZI, F., ÇELA, D., MARINCOLA, F., CIAMPA, A., DEL COCO, L., CONSONNI, R., CORSARO, C., DELFINI, M., DI TULLIO, V., FANIZZI, F., GALLO, V., CAPITANI, D.(2017) NMR Methodologies In Food Analysis. In M. Locatelli, & C. Celia (Eds.). *Analytical Chemistry: Developments, Applications And Challenges In Food Science* (Pp.103-156). New York: Nova Science Publishers, Inc.
112. MANNINA, L., SOBOLEV, A. P., ARU, V., BELLOMARIA, A., BERTOCCHI, F., BOTTA, B., CAGLIANI, L., CALIGIANI, A., CAPOZZI, F., ÇELA, D., MARINCOLA, F., CIAMPA, A., DEL COCO, L., CONSONNI, R., CORSARO, C., DELFINI, M., DI TULLIO, V., FANIZZI, F., GALLO, V., CAPITANI, D.(2017) NMR Methodologies In Food Analysis. In M. Locatelli, & C. Celia (Eds.). *Analytical Chemistry: Developments, Applications And Challenges In Food Science* (Pp.157-254). New York: Nova Science Publishers, Inc.
113. MIKLÓSY, É.; KERÉNYI, Z. (2004) Comparison Of The Volatile Aroma Components In Noble Rotted Grape Berries From Two Different Locations Of The Tokaj Wine District In Hungary. *Anal. Chim. Acta.* 513, 177–181.
114. MONAKHOVA, Y. B., SCHÄFER, H., HUMPFER, E., SPRAUL, M., KUBALLA, T., LACHENMEIER, D. W. (2011) Application Of Automated Eightfold Suppression Of Water And Ethanol Signals In 1H NMR To Provide Sensitivity For Analyzing Alcoholic Beverages. *Magnetic Resonance In Chemistry.* 49(11), 734–739. <https://doi.org/10.1002/Mrc.2823>
115. MONAKHOVA, Y. B., SCHÄFER, H., HUMPFER, E., SPRAUL, M., KUBALLA, T., LACHENMEIER, D. W. (2011) Application Of Automated Eightfold Suppression Of Water And Ethanol Signals In 1h Nmr To Provide Sensitivity For Analyzing Alcoholic Beverages. In: *Magnetic Resonance In Chemistry* : Mrc, 49(11), 734–739. <https://doi.org/10.1002/Mrc.2823>
116. MORENO J., PEINADO R., 2012. ENOLOGICAL CHEMISTRY. 429 P. ACADEMIC PRESS, LONDON.

117. MORENO-ARRIBAS, M. V. AND POLO, M. C. (2009) Amino Acids And Biogenic Amines. In “Winechemistry And Biochemistry”, (M. V. Moreno-Arribas And M. C. Polo, Eds), Pp. 163–189. *Springer*, New York. (1) (Pdf) Botrytized wines. Available From: https://www.researchgate.net/publication/51596128_Botrytized_Wines [Accessed May 05 2022].
118. MTA (1999) Tokaj-Hegyaljai Tennivalók - A Szőlő-Bor Ágazatról Rendezett Tanácskozás Előadásanyaga. *Kertészet És Szőlészet*. 1999/34. Szám, Budapest.
119. NACZK, M., SHAHIDI, F. (2004) Extraction And Analysis Of Phenolics In Food. *Journal Of Chromatography*. A. 1054(1-2), 95–111.
120. NEGRI, S., LOVATO A., BOSCAINI, F., SALVETTI, E., TORRIANI, S., COMMISSO, M., ET AL. (2017) The Induction Of Noble Rot (*Botrytis Cinerea*) Infection During Post-Harvest Withering Changes The Metabolome Of Grapevine Berries (*Vitis Vinifera* L., Cv. Garganega). *Frontiers In Plant Science*. 8: 1002.
121. NEGRI, S., LOVATO, A., BOSCAINI, F., SALVETTI, E., TORRIANI, S., COMMISSO, M., DANZI, R., UGLIANO, M., POLVERARI, A., TORNIELLI, G. B., GUZZO, F. (2017) The Induction of Noble Rot (*Botrytis cinerea*) Infection during Postharvest Withering Changes the Metabolome of Grapevine Berries (*Vitis vinifera* L., cv. Garganega). *Frontiers in plant science*, 8, 1002. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01002>
122. NIKFARDJAM, M.S.P., LÁSZLÓ, G. AND DIETRICH, H. (2006) Resveratrol-Derivatives And Antioxidative Capacity In Wines Made From Botrytized Grapes. *Food Chem.*, 96: 74-79.
123. NING Y. C., ERNST, R. R. (2005) Structural Identification Of Organic Compounds With Spectroscopic Techniques. Wiley-Vch, Weinheim. *Journal Of Natural Products*. 68 (10), 1577-1578. P. Doi: 10.1021/Np058254r
124. PAP, M. (1985) A Tokaji. *Gondolat Kiadó. Budapest*.
125. PEINADO R.A., MORENO J.J., ORTEGA J. M., MAURICIO J. C. (2003) EFFECT OF GLUCONIC ACID Consumption During Simulation Of Biological Aging Of Sherry Wines By A Flor Yeast Strain On The Final Volatile Compounds. *Agric. Food Chem.* 51, 21, 6198–6203 <https://doi.org/10.1021/Jf034512j>
126. PEREIRA, V., PONTES, M., CÂMARA, J. S., MARQUES, J. C. (2008) Simultaneous Analysis Of Free Amino Acids And Biogenic Amines In Honey And Wine Samples Using In Loop Orthophthalaldehyde Derivatization Procedure. *Journal Of Chromatography*. A, 1189(1-2), 435–443. <https://doi.org/10.1016/J.Chroma.2007.12.014>
127. PÓTA, GY. (2005) Fizikai kémia. *Kossuth Egyetemi Kiadó. Debrecen*.

128. PROESTOS C., LOUKATOS P., KOMAITIS M. (2008) Determination Of Biogenic Amines In Wines By Hplc With Precolumn Dansylation And Fluorimetric Detection. *Food Chemistry*, 106 (3), Pp. 1218-1224
129. PROIETTI, N., CAPITANI, D., ARU, V., BELLOMARIA, A., BERTOCCHI, F., BOTTA, B., CAGLIANI, L., CALIGIANI, A., CAPOZZI, F., ÇELA, D., MARINCOLA, F., CIAMPA, A., DEL COCO, L., CONSONNI, R., CORSARO, C., DELFINI, M., FANIZZI, F., GALLO, V., GHIRGA, F., DI TULLIO, V. (2017) NMR Applications In Food Analysis: Part B. In M. Locatelli, & C. Celia (Eds.). *Analytical Chemistry: Developments, Applications And Challenges In Food Science* (Pp. 255-296). New York: Nova Science Publishers, Inc.
130. QUIJADA-MORIN, N., GARCIA, F., LAMBERT, K., WALKER, A.-S., TIERS, L., VIAUD, M., SAUVAGE, F.-X., HIRTZ, C. AND SAUCIER, C. (2018) Strain Effect On Extracellular Laccase Activities From Botrytis Cinerea. *Australian Journal Of Grape And Wine Research*. 24: 241-251. <https://doi.org/10.1111/Ajgw.12322>
131. REBELEIN, H. (1965) Beitrag zur Bestimmung des Catechingehaltes in Wein. *Dtsch. Lebensm. Rundschau*. 61:182 – 183.
132. R CORE TEAM. (2021) R: A Language And Environment For Statistical Computing. R Foundation For Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org>
133. RAVANBAKSH, S., LIU, P., BJORND AHL, T. C., MANDAL, R., GRANT, J. R., WILSON, M., EISNER, R., SINELNIKOV, I., HU, X., LUCHINAT, C., GREINER, R., WISHART, D. S. (2015) Accurate, Fully-Automated Nmr Spectral Profiling For Metabolomics. *Plos One*, 10(5), E0124219. <https://doi.org/10.1371/Journal.Pone.0124219>
134. RAVJI G.R., RODRIGUEZ S.B., THORNTON R.J., (1988) Glycerol Production By Four Common Grape Molds. *Am. J. Enol. Vitic.*, 39, 77-82.
135. RAVJI G.R., RODRIGUEZ S.B., THORNTON R.J., (1988) Glycerol Production By Four Common Grape Molds. *Am. J. Enol. Vitic.*, 39, 77-82.
136. REICZIGEL, J., HARNOS, A., SOLYMO SI, N. (2021) Biostatiztika Nem Statiztikusoknak, *Pars Kft. Nagykovácsi.*, Issn 1788-4349
137. RIBÉREAU-GAYON P., DUBOURDIEU D., DONÈCHE B., LONVAUD A., (2006A) *Handbook Of Enology. Volume 1: The Microbiology Of Wine And Vinifications* 2nd Edition. 497 P. John Wiley & Sons, Chichester.
138. RIBÉREAU-GAYON, P., DUBOURDIEAU D., DONÈCHE, B., LONVAUD, A., (2000) *Handbook Of Enology. Volume 1. The Microbiology Of Wine And Vinification*. John Wiley And Sons, Ltd. Baffins Lane.

139. RIBÉREAU-GAYON, P., DUBOURDIEU, D., DONÈCHE, B., AND LONVAUD-FUNEL, A. (2006) Handbook Of Enology: The Microbiology Of Wine And Vinifications, 2nd Edn. Chichester: Wiley And Sons.
140. RIBÉREAU-GAYON, P., DUBOURDIEU, D., DONÈCHE, B., LONVAUD, A. (2001) Handbook Of Enology, Vol. 1, Wiley. New York
141. RIBÉREAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÈCHE, B. (2006) Lonvaud, A. Handbook Of Enology Volume 1: The Microbiology Of Wine And Vinifications; John Wiley & Sons: Hoboken, Nj, Usa.
142. ROBBINS, R. J. (2003) Phenolic Acids In Foods: An Overview Of Analytical Methodology, *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*. 51(10):2866-2887.
143. ROHNISCH, H.E., ERIKSSON, J., MULLNER, E., AGBACK, P., SANDSTROM, C., MOAZZAMI, A.A. (2018) Aqua: An Automated Quantification Algorithm For High-Throughput Nmr-Based Metabolomics And Its Application In Human Plasma. *Analytical Chemistry*. 90 (3), 2095-2102.P. Doi: 10.1021/Acs.Analchem.7b04324
144. ROHONCZY J. (2012) Az NMR Spektroszkópia Alapjai. Elte Szervetlen Kémiai Tanszék. [Http://Vegyszer.Chem.Elte.Hu/Nmrhome/Nmredu/Nmr-Intro-Uj.Pdf](http://Vegyszer.Chem.Elte.Hu/Nmrhome/Nmredu/Nmr-Intro-Uj.Pdf)
145. ROLLE L., GIORDANO M., GIACOSA S., VINCENZI S., SEGADE S.R., TORCHIO F., PERRONE B., GERBI V., (2012) Ciel*A*B* Parameters Of White Dehydrated Grapes As Quality Markers According To Chemical Composition, Volatile Profile And Mechanical Properties. *Anal. Chim. Acta*, 732, 105-113.
146. ROLLE L., GIORDANO M., GIACOSA S., VINCENZI S., SEGADE S.R., TORCHIO F., PERRONE B., GERBI V., (2012) Ciel*A*B* Parameters Of White Dehydrated Grapes As Quality Markers According To Chemical Composition, Volatile Profile And Mechanical Properties. *Anal. Chim. Acta*. 732, 105-113.
147. SARRAZIN, E., DUBOURDIEU, D., DARRIET, P., (2007) Characterization Of Key-Aroma Compounds Of Botrytized Wines, Influence Of Grape Botrytization. *Food Chem*. 103, 536–545. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.026>
148. SASS-KISS, A. AND HAJÓS, G. (2005) Characteristic Biogenic Amine Composition Of Tokaj Aszu wines. *Acta Aliment. Hung*. 34, 227–235.
149. SASS-KISS, A., KISS, J., HAVADI, B., AND ADÁNYI, N. (2008) Multivariate Statistical Analysis Of botrytised Wines Of Different Origin. *Food Chem*. 110, 742–750 (1) (Pdf) Botrytized Wines. Available From: https://www.researchgate.net/publication/51596128_Botrytized_Wines [Accessed May 05 2022].

150. SASS-KISS, A., SZERDAHELYI, E., HAJÓS, GY. (2000) Study Of Biologically Active Amines In Grapes And Wines By Hplc. *Chromatographia Supplement*. 51, 316-320.
151. SHOOLERY, J. N. (2008) A Basic Guide To Nmr. *Castano Primo. Extra Byte*.
152. SIMMLER, C., NAPOLITANO, J. G., MCALPINE, J. B., CHEN, S. N., PAULI, G. F. (2014) Universal Quantitative Nmr Analysis Of Complex Natural Samples. *Current Opinion In Biotechnology*. 25, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.08.004>
153. SIMONNÉ SARKADI, L., CSOMÓS, E. (1999) Fehérborok Szabad Aminosav És Biogén Amin Tartalma, *Élelmészeti Ipar*, 4, 107-110
154. SIMON-SARKADI, L., GELENCSÉR, É., VIDA, A. (2003) Immunoassay Method For Detection Of Histamine In Foods. *Acta Alimentaria*. 32 (1): 89-93.
155. SOBOLEVA A. P., THOMAS F. , DONARSKI J., INGALLINA C., CIRCI S., MARINCOLA F. C. ,CAPITANI D., MANNINA L. (2019) Use Of Nmr Applications To Tackle Future Food Fraud Issues; *Trends In Food Science and Technology*; 91: 347-353. Review; Doi: 10.1016/j.tifs.2019.07.035
156. SOHÁR, P. (1976): Mágneses Magrezonancia Spektroszkópia. 1. Kötet. *Akadémia Kiadó. Budapest*.
157. SOLOVYEV P. A., FAUHL-HASSEK C., RIEDL J., ESSLINGER S., BONTEMPO L., CAMIN F. (2021) NMR Spectroscopy In Wine Authentication: An Official Control Perspective. *Food Science And Food Safety*. 20 (2), 2040-2062; <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12700>
158. SOMLYAY I. (1998): Gyakorlati Borászat. *Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó. Budapest*. 98 P.
159. SON, H. S., HWANG, G. S., KIM, K. M., AHN, H. J., PARK, W. M., VAN DEN BERG, F., HONG, Y. S., LEE, C. H. (2009) Metabolomic Studies On Geographical Grapes And Their Wines Using 1h Nmr Analysis Coupled With Multivariate Statistics. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*. 57(4), 1481–1490. <https://doi.org/10.1021/jf803388w>
160. SON, H. S.; HWANG, G. S.; AHN, H. J.; PARK, W. M.; LEE, C. H.; HONG, Y.S. (2009) Characterization Of Wines From Grape Varieties Through Multivariate Statistical Analysis Of 1h Nmr Spectroscopic Data. *Food Research International*. 42 (10), 1483-1491, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.08.006>.
161. SON, H.S., HWANG, G.S., KIM, K.M., KIM, E.Y., VAN DEN BERG, F., PARK, W.M., PARK, W.M., LEE, C.H., HONG, Y.S. (2009) 1h Nmr-Based Metabolomic Approach For Understanding The Fermentation Behaviors Of Wine Yeast Strains. *Analytical Chemistry*. 81 (3), 1137-1145.

162. SOUFLEROS E. BARRIOS M.L. BERTRAND A. (1998) Correlation Between The Content Of Biogenic Amines And Other Wine Compounds. *American Journal Of Enology Viticulture*, 49 (3), 266–278.
163. SPYROS, A., DAIS, P. (2012) Wine And Beverages. In P. S. Belton (Ed.) *Nmr Spectroscopy In Food Analysis* (Pp. 202–240). Cambridge, United Kingdom: Rsc Publishing. <https://doi.org/10.1039/9781849735339-00202>
164. SUN, P., LIANG, J. L., KANG, L. Z., HUANG, X. Y., HUANG, J. J., YE, Z. W., GUO, L. Q., LIN, J. F. (2015) Increased Resveratrol Production In Wines Using Engineered Wine Strains *Saccharomyces Cerevisiae* Ec1118 And Relaxed Antibiotic Or Auxotrophic Selection. *Biotechnology Progress*. 31(3), 650–655. <https://doi.org/10.1002/btpr.2057>
165. SZILÁGYI, L. (1980) Mágneses Rezonancia. *Tankönyvkiadó. Budapest*.
166. TARDIVEL P.J.C., CANLET C., LEFORT G., TREMBLAY-FRANCO M., DEBRAUWER L., CONCORDET D., SERVIEN R. (2017) Asics: An Automatic Method For Identification And Quantification Of Metabolites In Complex 1d 1h Nmr Spectra. *Metabolomics* 13, 109. <https://doi.org/10.1007/s11306-017-1244-5>
167. THAKUR, N. S., THAKUR, A., JOSHI, V. K., SHARMA, S. K. (2018) Botrytized Wines: A Review. *International Journal Of Food And Fermentation Technology*. 8(1), 1-13.
168. THIBON, C., CLUZET, S., MÉRILLON, J. M., DARRIET, P., AND DUBOURDIEU, D. (2011) 3-Sulfanylhexanol Precursor Biogenesis In Grapevine Cells: The Stimulating Effect Of Botrytis Cinerea. *J. Agric. Food Chem.* 59, 1344–1351. Doi: 10.1021/jf103915y
169. THIBON, C., DUBOURDIEU, D., DARRIET, P., AND TOMINAGA, T. (2009) Impact Of Noble Rot On The Aroma Precursor Of 3-Sulfanylhexanol Content In *Vitis Vinifera* L. Cv. Sauvignon Blanc And Semillon Grape Juice. *Food Chem.* 114, 1359–1364. Doi: 10.1016/j.foodchem.2008.11.016
170. TOSI E., FEDRIZZI B., AZZOLINI M., FINATO F., SIMONATO B., ZAPPAROLI G., (2012) Effects Of Noble Rot On Must Composition And Aroma Profile Of Amarone Wine Produced By The Traditional Grape Withering Protocol. *Food Chem.*, 130, 370-375.
171. TÓTH, G. [N.A.]: Gyakorlati 13c És 1H-NMR Spektroszkópia. Bme Egyetemi Jegyzet; [H.N.], [K.N.]
172. TURMANIDZE, T. I. (1992) Report On The Effect Of Agrometeorological Parameters On Viticulture In Countries Of Eastern Europe. *Agricultural Meteorology*, Cagm Report No. 42b, World Meteorological Organization, Geneva.
173. TUSSEAU D., BENOIT C. (1987) Routine High-Performance Liquid Chromatographic Determination Of Carboxylic Acids In Wines And Champagne. *Journal Of Chromatography*. 395 (6) 323-333. P. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)94121-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)94121-4).

174. VARACHE-LEMBÈGE, M., WAFFO-TÉGUO, P., RICHARD, T., MONTI, J., DEF EUX, G., VERCAUTEREN, J., MÉRILLON, J.M., NUHRICH, A. (2000) Structure-Activity Relationship Of Poly Hydroxystilbenes Derivatives Extracted From *Vitis Vinifera* Cell Cultures As Inhibitors Of Human Platelet Aggregation. *Medicinal Chemistry Research*, 10, 253-267.
175. VERBRUGGEN N., HERMANS C. (2008) Proline Accumulation In Plants: A Review. *Amino Acids*, 35, 753–759.
176. VILLETZAZ, J.C., STEINER, D. AND TROGUS, H. (1984) The Use Of B-Glucanase As Enzyme In Wine Clarification And Filtration. *Am. J. Enol. Vitic.*, 35: 253-256.
177. VIVAS, N., DE GAULEJAC, N.V., VITRY, C., BOURDEN-NONIER, M.F., CHAUVET, S., DONECHE, B., ABSALON, C., MOUCHE, C. (2010) Occurrence And Specificity Of Glucose Oxidase In Botrytized Sweet White Wine. Comparison With Laccase Considered As The Main Responsible Factor For Oxidation In This Type Of Wine. *Vitis*, 49, 113– 120.
178. WATERHOUSE, A. L., SACKS, G. L., JEFFERY, D. W. (2016) *Understanding Wine Chemistry*. John Wiley & Sons. Isbn: 978-1-118-62780-8
179. ZELENÁK I. (2012) A Tokaji Aszú Titkai. *Agroinform Kiadó. Budapest.*
180. ZHANG, L., THIEWES, H., VAN KAN, J. A. (2011) The D-Galacturonic Acid Catabolic Pathway In *Botrytis Cinerea*. *Fungal Genetics And Biology*. 48(10), 990–997. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2011.06.002>

INTERNETES FORRÁSOK:

1. HORE, P.J. (2004): Mágneses Magrezonancia. [Budapest: Nemzeti Tankönyvkiadó.] https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_524_Biofizika/ch10s04.html
2. PÓTA GY. (2013): Radiokémia, Modern fizikai kémia, 6. fejezet, Debreceni Egyetem, https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop412A/2011_0025_vegy_7/pr01.html
3. BRUKER, B. AVANCE Beginners Guide, User Guide. 2014. Rheinstetten. Bruker Corporation.
4. BRUKER: <http://www2.chem.uic.edu/nmr/downloads/bruker/en-US/html/Avance%20Beginners%20Guide/en-US/18014398879323275.html>
5. <http://www2.chem.uic.edu/nmr/downloads/bruker/en-US/html/Avance%20Beginners%20Guide/en-US/18014398879323275.html>

HATÁLYOS JOGSZABÁLYOK:

1. <https://boraszat.kormany.hu/jogszabalyok> (2019. június 10.)

2. Tokaj oltalom alatt álló eredetmegjelölés termékleírás 9. változat (2020)
https://boraszat.kormany.hu/download/4/04/b2000/TOKAJ_termékleírás_2020.pdf
3. Borászati termékek készítésére vonatkozó jogszabályok (Forrás: Borászat (kormany.hu):
2020. évi CLXIII. törvény a szőlészetről és borászatról
4. 3. European Council Directive 1991. 91/493/EEC
5. EüM rendelet 17/1999 (VI. 16.)

11.KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek *Nyitrai dr. Sárdy Diának*, aki segített a témaválasztásban, valamint munkám egésze során támogatott.

Köszönettel tartozom *dr. Kállay Miklós* professzor Úrnak a rám szánt jelentős idejéért és energiájáért. Bármikor fordulhattam hozzá a kérdéseimmel, mindig segített nekem és szakmai tudásával, erkölcsi támogatásával támogatott az idáig vezető úton.

Köszönöm a *Borászati Tanszék* minden egyes munkatársának, főként *Dr. Nagy Balázsnak*, *Dr. Kellner Nikolettnek*, *Hegyiné Kiss Zsuzsannának*, hogy kiemelkedő szakértelmükkel, végtelen türelmükkel segítették a munkámat.

Köszönöm *Dr. Varga Zsuzsannának*, hogy publikációs tevékenységeimben támogatta a munkámat, valamint akárhányszor kérdéssel, kéréssel fordultam felé, azonnal segített nekem.

Köszönetemet szeretném kifejezni *Antal Eszternek*, hogy bevezetett a műszeres analitika rejtelmeibe és szakmai tapasztalatával hozzájárult, hogy megismerjem a különböző mérés technikái módszereket.

Szeretném megköszönni a főnökömnek, *Szaszák Péternek*, hogy biztatott és a dolgozat elkészítéséhez kellő motivációt adott számomra. Továbbá azt is, hogy vizsgálati anyagot és mérési helyszínt, készülékeket bocsájtott számomra a *Diagnosticum Zrt.* szerencsi laboratóriumában.

Köszönöm *Leskó Istvánnak*, *Pista bácsinak*, hogy otthonában személyesen felkereshettem és önzetlen kedvességgel osztotta meg velem az 1988 óta gyűjtött és rendszerezett meteorológiai adatait. Ezzel emelve a dolgozatom színvonalát.

Köszönöm *Varga Györgynek*, *Gyuri bácsinak*, hogy a szakmában szerzett sokéves tapasztalatát minden egyes beszélgetésünk és találkozásunk alkalmával igyekszik számomra átadni, élettapasztalatával egyengetni az utamat és bölcsességeivel motiválni céljaim elérésében.

Végül, de nem utolsó sorban külön hálás köszönettel tartozom a *Családomnak*, akik mindig mellettem állnak és támogatnak, még ha nem ritkán több türelmre is van szükség velem szemben. Nélkülük nem itt tartanék és ez a dolgozat sem készülhetett volna el.

KÖSZÖNÖM!

NYILATKOZAT

(387/2012. (XII. 19.) Korm. rendelete szerint)

Alulírott Matolcsi Réka

Kijelentem, hogy a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetemhez benyújtott Tokaji aszú nyomonkövethetőségi vizsgálata finomanalitikai módszerekkel

c.

értekezést korábban más intézményhez nem nyújtottam be és azt nem utasították el.

Dátum: Budapest, 2022.05.16.

.....
Aláírás

Nyilatkozat

Alulírott, Matolcsi Réka doktorjelölt kijelentem, hogy a benyújtott PhD értekezésem önálló szellemi alkotásom.

Dátum: Budapest, 2022.05.16.

.....
Jelölt aláírása