

Şaraplarda Biyojen Aminler

Özgül Özdeştan, Ali Üren, Sırma Yeğın

Ege Üniversitesi, Müh. Fakültesi, Gıda Müh. Bölümü, Bornova, İzmir

* ozgul.ozdeştan@ege.edu.tr

Özet

Alkollü içeceklerde; etanolle biyojen aminler arasında oluşan sinerjik etkiden dolayı biyojen aminler oldukça önemlidir. Gerçekleştirmiş olduğumuz çalışmada piyasadan temin edilen 9 farklı şarap (4 kırmızı ve 5 beyaz) örneğinde biyojen amin analizleri gerçekleştirilmiştir. Türevlendirme reaktifi olarak ortofitaldialdehit (OPA) kullanılmış, 340 nm (uyarma) ve 420 nm (emisyon) dalga boylarında floresans dedektör ile yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) cihazında biyojen amin analizleri gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda kırmızı şaraplarda ortalama 11,81 mg/l etanolamin, 2,48 mg/l histamin, 0,65 mg/l metilamin, 2,17 mg/l etilamin, 10,17 mg/l tiramin, 4,99 mg/l putresin, 0,32 mg/l kadaverin bulunmuştur. Beyaz şaraplarda ise ortalama 10,75 mg/l etanolamin, 0,41 mg/l histamin, 0,93 mg/l metilamin, 1,27 mg/l etilamin, 6,62 mg/l tiramin, 0,38 mg/l triptamin, 0,14 mg/l β-fenilettilamin, 1,87 mg/l putresin, 0,22 mg/l kadaverin tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Biyojen aminler, histamin, şarap

Giriş

Şaraplar protein bakımından zengin olmamasına rağmen serbest amino asitler içerirler (1). Yapılan çalışmalarda şaraplarda 20'den fazla biyojen amin saptanmış olup, çeşitli faktörlere bağlı olarak birkaç mg/l'den 50 mg/l'ye kadar değişen konsantrasyonlarda toplam biyojen amin tespit edilmiştir (2). Şaraplarda bulunan başlıca biyojen aminler histamin, putresin ve tiramindir (3). Metilamin, etilamin, β-fenilettilamin, izoamilamin ve kadaverin gibi biyojen aminlerin ise üzüm sırasında tespit edildikleri ancak şarap üretimi sırasında yıkıma uğradıkları belirlenmiştir (4). Şaraplarda biyojen amin varlığı sadece belirli mikroorganizmaların varlığı ile ilişkili olmayıp diğer birçok faktöre de bağlıdır (1).

Son yıllarda biyojen aminlerin gıdalardaki varlığı ve saptanması; bu bileşiklerin insan vücudu üzerine olan farmakolojik ve fizyolojik etkilerinden dolayı gittikçe önem kazanmıştır (5). Şaraplarda bulunan ve biyojen aminler içinde en tehlikelisi olan histamin için birçok ülkede düzenlemeler söz konusudur (2). Türk Gıda Kodeksinde ise şaraplarda histamin için 10 ppm sınır değeri getirilmiştir. Bu çalışmada piyasadan temin ettiğimiz 9 farklı şarap

Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

örneğinde ortofitaldialdehit türevleri kullanılarak 11 farklı biyojen aminin analizi yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) cihazında gerçekleştirilmiştir.

Materiyal ve Yöntem

Materiyal

Sodyum hidroksit, amonyum klorür, ortofitaldialdehit, merkaptolanol, hidroklorik asit, tetrahidrofur, metanol (HPLC saflıkta), borik asit, sodyum asetat tri hidrat kullanılmıştır. 11 farklı standart biyojen amin ile çalışılmıştır (Çizelge 1). Analizlerde kullanılan toplam 9 adet kırmızı ve beyaz şarap örnekleri piyasadan temin edilmiştir.

Yöntem

Örneklerin Hazırlanması

Karababa (6) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. Örneklerin hazırlanmasında şarap örneklerinin pH ları ölçülmüş, daha sonra örnek pH ları türevlendirmenin en iyi gerçekleşeceği bazik pH ya (yaklaşık pH 9,5 değerine) ayarlanmıştır. Şarap örnekleri beyaz bant süzgeç kağıdından süzülmüştür.

Standartların Hazırlanması

Her bir biyojen amin standardından yaklaşık 25 mg alınıp 25 ml ye 0,1 M HCl çözeltisi ile tamamlanarak stok biyojen amin çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan stok biyojen amin çözeltilerinden belirli hacimlerde alınarak pH sı 9,5 değerine ayarlanmıştır ve 25 ml ye seyreltilmiştir.

Türevlendirme

Biyojen aminler fluoresans özelliğe sahip olmadıklarından, ortofitaldialdehit (OPA) ile türevlendirilmişlerdir. Şaraplardaki biyojen amin miktarlarının saptanmasında standart katma yöntemi kullanılmıştır.

Kromatografik Koşullar

Analizler C₁₈ kolonda, gradient solvent programı ile fluoresans dedektör ($\lambda_{uyama} = 340$ nm, $\lambda_{emisyon} = 420$ nm) kullanılarak HPLC cihazında gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak 2 ayrı solvent kullanılmıştır. Bunlar, asetat tamponu: THF (96:4)-metanol karışımı (%60-%40) ve metanoldür.

Bulgular ve Tartışma

Yaptığımız analizler sonucunda piyasadan temin ettiğimiz 4 kırmızı ve 5 beyaz şaraptaki biyojen amin miktarları belirlenmiştir. Çizelge 1'de bu şarapların belirlenen pH değerleri ve biyojen amin miktarları verilmiştir.

Türkiye 9. Gıda Kongresi: 24-26 Mayıs 2006, Bolu

Çizelge 1. 9 farklı şarapta belirlenen biyojen amin miktarları (mg/l) ve pH değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Agmatin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Etanolamin	12,64	7,45	12,29	10,44	9,08	10,80	14,50	10,00	13,80
Histamin	-	0,46	6,67	2,39	-	-	-	0,85	1,57
Metilamin	0,95	0,58	1,02	0,78	0,70	1,38	0,40	0,38	1,02
Etilamin	3,13	0,50	3,46	2,33	0,62	1,08	1,54	1,33	1,04
Tiramin	4,93	2,18	15,71	20,77	1,61	14,72	1,33	2,86	9,67
Propilamin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Triptamin	-	0,93	-	-	-	-	-	-	0,97
β-Feniletülin	-	0,31	-	-	-	-	-	-	0,40
Putresin	2,10	1,21	7,42	9,25	0,79	1,43	0,56	2,74	3,83
Kadaverin	-	0,39	0,47	0,51	-	0,28	-	0,30	0,43
pH	3,19	3,23	3,42	3,39	3,26	3,27	3,04	3,05	3,11
Renk	B	B	K	K	B	B	K	K	B

B= Beyaz, K=Kırmızı

Bu sonuçlara baktığımızda hem kırmızı hem de beyaz şaraplarda en fazla bulunan biyojen amin etanolamin olarak belirlenmiştir. Biyojen aminler içinde en fazla toksik etkiye sahip olan histaminin Türk Gıda Kodeksinde belirtilen 10 mg/l sınır değerinin oldukça altında olduğu görülmektedir. Tüm şarap örneklerinin pH ları ölçülmüş en yüksek pH değerine sahip şarabın içerdiği toplam biyojen amin miktarının diğer şaraplarınkinden daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Anlı vd. (7) tarafından dansil klorür türevlendirme ajanı olarak kullanılmış, 30 farklı kırmızı şarapta analizler gerçekleştirilmiş ve 9 farklı biyojen amin belirlenmiştir. Bu analizler sonucunda histamin düzeyi 0-1,965 mg/l arasında bulunmuştur. Bu çalışmada şaşırtıcı olarak agmatin en yüksek miktarda bulunmuştur. Putresin en fazla 1,85 mg/l, kadaverin ise en fazla 5,92 mg/l olarak bulunmuştur. Gerçekleştirdiğimiz çalışmada kırmızı şaraplarda histamin 0-6,67 mg/l arasında bulunmuştur. Yapmış olduğumuz çalışmada kırmızı şaraplarda en fazla 9,25 mg/l putresin, 0,51 mg/l kadaverin bulunmuştur. Agmatine ise kırmızı ve beyaz şarapların hiçbirinde rastlanmamıştır.

Vazquez-Lasa vd. (8) tarafından Rioja kırmızı şaraplarında biyojen amin analizleri OPA türevleri kullanılarak HPLC cihazında gerçekleştirilmiştir.

Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

Ortalama 8,72 mg/l histamin, 4,98 mg/l tiramin, 32,97 mg/l putresin, 0,61 mg/l kadaverin bulunmuştur.

Lehtonen (9) tarafından hazırlanan derlemede beyaz şaraplardaki ortalama histamin konsantrasyonu 0,26 mg/l, tiramin 0,6 mg/l, putresin 1,1 mg/l ve kadaverin de 0,3 mg/l olarak belirtilmiştir.

Sonuç

Yapmış olduğumuz analizler sonucunda Türk şaraplarında belirlenen biyojen amin miktarları insan sağlığını olumsuz etkileyecek düzeylerde bulunmamıştır. Yapılan incelemeler sonucunda şaraplarda biyojen amin konsantrasyonları hakkında elde edilen farklı sonuçlarla kesin bir yargıya varmak zordur. Biyojen aminlerin toksikolojik etkileri düşünüldüğünde şaraplardaki biyojen aminlerin belirlenmesinin önemi de anlaşılmaktadır. Türkiye'de üretilen şarapların biyojen amin içeriği konusunda daha net bir yargıya ulaşabilmek için örnek sayısı artırılarak daha fazla sayıda çalışma yapılmasında yarar vardır.

Kaynaklar

1. Üren A, Yücel U, Hocalar B, Turantaş F. 2001. Fermente ürünlerden peynir, şarap ve lahanaya turşularında biyojen amin miktarları. 70 sf, Tübitak projesi (TOGTAG-1726).
2. Busto O, Valero Y, Guasch J, Borrull F. 1994. Solid phase extraction applied to the determination of biogenic amines in wines by HPLC. *Chromatographia*, 38: 571-578.
3. Soufleros E, Barrios ML, Bertrand A. 1998. Correlation between the content of biogenic amines and other wine compounds. *Am. J. Enol. Vitic*, 49: 266-278.
4. Lonvaud-Funel A. 2001. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 199: 9-13.
5. Bauza T, Blaise A, Mestres, JP, Teissedre, PL, Daumar, F, Cobonis, JC. 1995. Biogenic amines contents and their variation parameters in Cotes du Rhone, Wallee du Rhone and Provence wines. *Sciences des Aliments*, 15(4): 367-380.
6. Karababa Z. 2003. Ortofitaldehit türevleri kullanılarak biyojen aminlerin yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle analizi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 123 sf, İzmir
7. Anlı RE, Vural N, Yılmaz S, Vural HY. 2004. The determination of biogenic amines in Turkish red wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17: 53-62.
8. Vazquez-Lasa MB, Iniguez-Crespo M, Larraina-Gonzalez M, Gonzalez-Guerrero A. 1998. Biogenic amines in Rioja wines. *Am. J. Enol. Vitic*, 49(3): 229.
9. Lehtonen P. 1996. Determination of amines and amino acids in wine, A review. *Am. J. Enol. Vitic*, 47(2): 127-133.