

Monika Sterczyńska¹, Mariusz S. Kubiak¹, Michał Starzycki²

¹ Politechnika Koszalińska

² Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy,
Oddział w Poznaniu

e-mail: monika.sterczynska@tu.koszalin.pl

WPLYW FERMENTACJI ALKOHOLOWEJ NA ZMIANY NNKT W PESTKACH Z CZARNEJ PORZECZKI JAKO SUROWCU ODPADOWYM

Streszczenie: Celem pracy było określenie zmian dotyczących udziału NNKT (linolowego i linolenowego) w suszonych pestkach z czarnej porzeczki (całych i uszkodzonych) po procesie fermentacji alkoholowej w nastawie winnym. Profil kwasów tłuszczowych analizowano z wykorzystaniem chromatografii gazowej (GC). Na podstawie chromatogramów odnotowano średni udział kwasu linolowego na poziomie 36,3% i linolenowego 13,4% w suszonych całych pestkach, które stanowiły próbę kontrolną. Po procesie fermentacji nastąpił wzrost procentowej zawartości kwasu linolowego (41,4%) i linolenowego (14,6%) w suszonych całych pestkach z czarnej porzeczki. W uszkodzonych pestkach odnotowano spadek obu tych kwasów. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, iż proces fermentacji alkoholowej istotnie wpłynął na zmiany udziału NNKT w pestkach badanych owoców jagodowych.

Słowa kluczowe: czarna porzeczka, kwasy tłuszczowe, chromatografia gazowa, fermentacja alkoholowa.

1. Wstęp

Tłuszcze traktowane są jako podstawowe wysokoenergetyczne składniki żywności, które wpływają na zdrowie człowieka. Zbyt wysoki poziom spożycia tłuszczów oraz niewłaściwy ich skład, siedzący tryb życia, nałogi, stres stwarzają ryzyko występowania chorób cywilizacyjnych (zaburzenia układu krążenia, otyłość, nowotwory i inne) szczególnie w krajach wysoko rozwiniętych, w których wiele produktów spożywczych zawiera tłuszcze niekorzystnie wpływające na organizm człowieka. Kwasy tłuszczowe pozyskiwane są nie tylko z surowców zwierzęcych, bogatym ich źródłem są także różne części roślin, w tym pestki w owocach. Skład kwasów zależy od rodzaju owoców, jest więc niejednorodny najczęściej hetero-

geniczny. Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) są przede wszystkim materiałem wyjściowym do biosyntezy ikozanoidów, są też składnikami lipidów błon komórkowych oraz biorą udział w utlenieniu i transporcie cholesterolu [Achremowicz, Szary-Sworst 2005; Mińkowski i in. 2011; Ciborowska, Rudnicka 2007]. Przemiany tych kwasów przebiegają głównie w retikulum endoplazmatycznym komórek. W procesie elongacji i desaturacji przekształcane są w metabolity długołańcuchowe (kwas linolowy w kwas arachidonowy (20:4 *n*-6), kwas α -linolenowy – kwas eikozapentaenowy (20:5 *n*-3) oraz kwas heksaenowy (22:6 *n*-3). Według organizacji ISSFAL (International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids) stosunek kwasów tłuszczowych z rodziny omega-6 do omega-3 powinien wynosić nie więcej niż 4:1 [Jarosz, Bułhak-Jachymczyk 2008; Maszewska, Gańko 2010]. W laboratoriach na całym świecie prowadzone są badania w celu wyjaśnienia mechanizmów i efektów działania np. kwasu linolowego, a przede wszystkim możliwości wykorzystania go (i innych kwasów) jako składnika w bardzo popularnej w dzisiejszych czasach żywności funkcjonalnej czy nutraceutyków [Laaksonen i in. 2012; Lu, Foo 2003; Tahvonen i in. 2005]. Kwasy tłuszczowe wielonienasycone mają wpływ na zwiększone wydalanie cholesterolu z żółcią, zapobiegają przy tym tworzeniu się kamieni żółciowych. Nadmiar wolnych kwasów tłuszczowych (arachidonowego, linolenowego) powoduje zmniejszenie odporności na choroby zakaźne oraz opóźnia gojenie się ran. Może powodować również blokowanie odpowiedzi immunologicznej organizmu poprzez hamowanie transformacji limfocytów [Ciborowska, Rudnicka 2007].

W Polsce przetwarza się ok. 2 mln ton owoców. Przerób surowców roślinnych wiąże się nie tylko z otrzymywaniem podstawowego produktu, ale także z uzyskiwaniem produktów ubocznych oraz odpadów, których łączna ilość w trakcie procesu technologicznego może wynosić od 300 do 350 tys. ton [Baranowski i in. 2009; Fronc, Nawirska 1994; Jakubowski 2006; Wzorek, Pogorzelski 1995]. Pestki owoców zawierają wartościowe składniki odżywcze, takie jak: białka, tłuszcze, węglowodany, błonnik, substancje mineralne, substancje pektynowe, woski, witaminy, barwniki, kwasy, aldehydy oraz alkohole. Zawartość tych składników może ulegać zmianie w zależności od sposobu przetwarzania powstałych odpadów, np. podczas fermentacji alkoholowej w procesie produkcji win zarówno gronowych, jak i owocowych. Owoce jagodowe, a przede wszystkim pestki czarnej porzeczki są bogate w: kwasy tłuszczowe (palmitynowy, oleinowy, linolowy, linolenowy i w mniejszych ilościach eikozenowy), węglowodany (głównie glukoza i fruktoza), kwasy organiczne (jabłkowy, bursztynowy, cytrynowy, szczawiowy, fumarowy, kawowy, salicylowy, nikotynowy oraz winowy) oraz aminokwasy, enzymy, pektyny, glukozydy, antocyjany i flawonole [Nowak, Żmudzińska-Żurek 2010; Zawirska 2007].

2. Cel pracy

Celem niniejszej pracy było określenie zmian procentowego udziału NNKT (linolowego i linolenowego) w pestkach czarnej porzeczki po procesie fermentacji alkoholowej w winnym nastawie z udziałem płynnych drożdży winiarskich. Profil kwasów tłuszczowych w badanym materiale analizowano z wykorzystaniem chromatografii gazowej (GC).

3. Materiał i metody

Materiałem badawczym były suszone pestki (całe i uszkodzone) pozyskane z owoców czarnej porzeczki, poddane procesowi fermentacji alkoholowej.

3.1. Przygotowanie pestek do analizy chromatograficznej

W pierwszej kolejności oddzielono miąższ wraz z pestkami od skórki. Następnie, płuczac w niewielkiej ilości wody wodociągowej o temperaturze 23-26°C na metalowym sicie, odseparowano galaretowaty miąższ od materiału badawczego. Pestki zostały poddane suszeniu na ceramicznej podstawie wyłożonej gazą oraz na perforowanym woreczku wykonanym z polipropylenu, w temperaturze 26-28°C przez okres 5-9 dni. Wysuszone pestki, niepoddawane procesowi fermentacji alkoholowej (próba kontrolna), przeniesiono do probówek Eppendorfa (pojemność 2 ml) i umieszczono w chłodziarce (temperatura +4°C). Część suchych pestek została uszkodzona za pomocą młódkierza. Tak przygotowane dwa rodzaje pestek (całe i uszkodzone) przeniesiono osobno, w ilości po 5 g, do woreczków o średnicy 16 cm, wykonanych z gazy młyńskiej (średnica oczek 0,3 mm). Woreczki wraz z pestkami zabezpieczono poprzez zszywanie po obrzeżach żyłką wędkarską o średnicy 0,35 mm i zanurzono w nastawie winnym. Nastaw winny sporządzono ze świeżych owoców z czarnej porzeczki zgodnie z ogólnymi zasadami zaczerpniętymi z technologii produkcji oraz norm dla win owocowych [PN-A-79121:1998]. Do nastawu dodano płynne drożdże winiarskie *Saccharomyces ellipsoieus* typu Malaga. Proces fermentacji trwał 35 dni, w tym czasie nastaw dosładzano (sacharozą – C₁₂H₂₂O₁₁) dwukrotnie w momencie zaobserwowania spadku intensywności wydzielania ditlenku węgla. Pierwszy raz dodano cukier po 8 dniach w ilości 0,3 kg, a następnie po upływie 15 dni – 0,2 kg – od rozpoczęcia fermentacji. Po zakończeniu procesu wyjęto pestki z nastawu i przeniesiono je do probówek Eppendorfa o pojemności 2 ml.

3.2. Analiza chromatograficzna (GC)

Pestki czarnej porzeczki po procesie fermentacji zostały poddane analizie chromatograficznej na chromatografii gazowej Agilent 7683 Series Injector w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowym Instytucie Badawczym w Poznaniu.

W badanych próbach (próba kontrolna, pestki całe oraz uszkodzone po procesie fermentacji alkoholowej) oznaczono zawartość kwasów tłuszczowych: kwasu linolowego – C18:2 oraz kwasu linolenowego – C18:3.

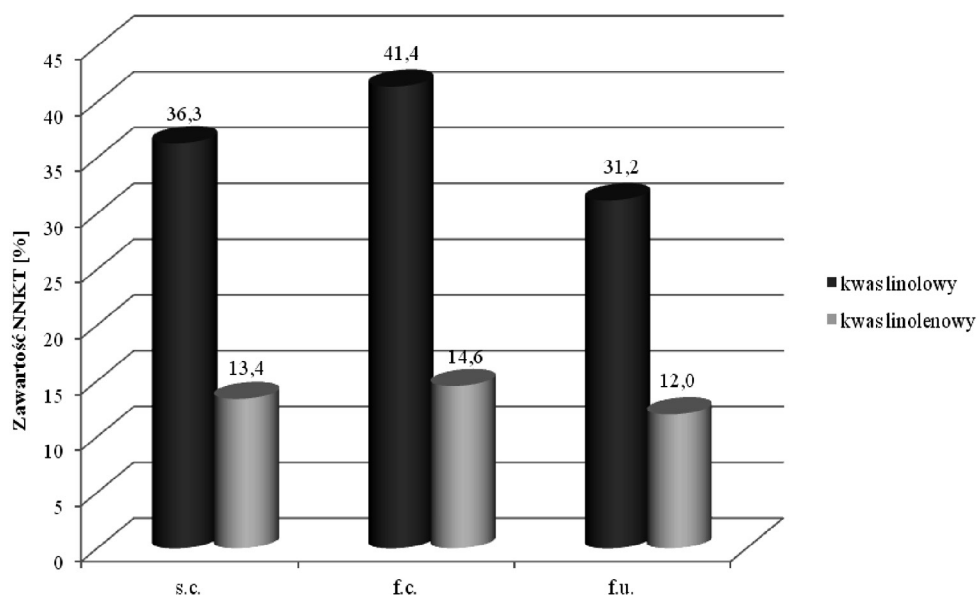
Przed przystąpieniem do oznaczania NNKT materiał badawczy zmielono w młynku elektrycznym, a następnie, w warunkach laboratoryjnych, poddano procesowi ekstrakcji (z kolumnienki do fiolki o pojemności 10 ml) w temperaturze 20°C, stosując n-hesane, oraz estryfikacji tłuszczów metodą metanolizy alkalicznej. W reakcji hydrolitycznego rozszczepienia w obecności zasad otrzymano sole potasowe kwasów tłuszczowych, które w środowisku kwaśnym przechodzą w formy wolnych kwasów tłuszczowych. Bardziej lotne estry rozpuszczano w n-heksanie, a następnie rozdzielono na kolumnie chromatograficznej. Za wzorzec czasu retencji do analizy GC posłużyły wzorce następujących kwasów tłuszczowych: kwas palmitynowy, stearynowy, oleinowy, linolowy, linolenowy (Sigma Aldrich). Ponadto po estryfikacji oleju otrzymanego z nasion *Brassica napus* L. i użyciu analizy GC sprawdzono zgodność czasów retencji dla poszczególnych kwasów. Ustawiono następujące podstawowe parametry fizyczne chromatografu: temperatura dozownika – 220°C, temperatura detektora – 220°C, temperatura pieca (kolumny) – 200°C, długość kolumny kapilarnej – 30 m (RTX-225), (Crossbond 50%, cyanopropylometyl, 50%, phenylomethylopolisiloxane), wodór o ciśnieniu 0,4 bar stanowił gaz nośny [Starzycki, Starzycka 1999].

Wykonano po trzy powtórzenia analizy dla każdego rodzaju (próby kontrolnej, całych oraz uszkodzonych) pestek czarnej porzeczki.

4. Wyniki i dyskusja

Materiał badawczy przed procesem fermentacji alkoholowej charakteryzował się 36,3% zawartością kwasu linolowego oraz 13,4% kwasu linolenowego i stanowił próbę kontrolną. Na rysunku 1 przedstawiono zestawienie wyników zawartości NNKT w pestkach czarnej porzeczki przed fermentacją alkoholową i po niej, wyrażonych w procentach.

Po przeprowadzonej analizie chromatograficznej kwasów tłuszczowych przed procesem fermentacji alkoholowej odnotowano średni udział kwasu linolowego na poziomie 36,3% (v/v) i linolenowego 13,4% (v/v) w suszonych całych pestkach, które stanowiły próbę kontrolną. Natomiast po procesie fermentacji dla całych pestek nastąpił wzrost procentowego udziału zarówno kwasu linolowego (41,4% v/v), jak i linolenowego (14,6% v/v). Po równoległych badaniach uszkodzonych pestek odnotowano spadek obu tych kwasów. Na podstawie uzyskanych wyników (prób kontrolnych oraz pestek uszkodzonych poddanych procesowi fermentacji) przeprowadzono analizę statystyczną, wykorzystując test t-Studenta – jednostronny z dwiema próbami, zakładający równe wariancje. Zastosowano w tym celu funkcję analiza danych z Microsoft Excel (2007). Wyniki zestawiono w tabeli 1.



s.c. – pestki suszone, całe;

f.c. – pestki po procesie fermentacji alkoholowej, całe;

f.u. – pestki po procesie fermentacji alkoholowej, uszkodzone.

Rys. 1. Udział poszczególnych NNKT w badanym materiale przed procesem fermentacji alkoholowej i po nim [% v/v]

Źródło: opracowanie własne.

Tabela 1. Analiza statystyczna udziału procentowego kwasów tłuszczowych w pestkach czarnej porzeczki

Rodzaj kwasu tłuszczowego	Czarna porzeczka						test t-Studenta
	pestki całe suszone niepoddane procesowi fermentacji			pestki uszkodzone poddane procesowi fermentacji			
	udział kwasów tłuszczowych [% v/v]						
	1	2	3	1	2	3	
Linolowy	36,39	36,33	36,25	31,28	31,21	31,10	1,30384E-07**
Linolenowy	13,41	13,39	13,35	11,88	12,11	12,04	2,09474E-05**

** Stwierdzone statystycznie istotne różnice między wartościami średnimi dla pestek niepoddanych procesowi fermentacji i uszkodzonymi po tym procesie ($p \leq 0,05$).

Źródło: opracowanie własne.

Analiza statystyczna pozwoliła stwierdzić, iż wpływ procesu fermentacji alkoholowej istotnie wpływa na zmiany udziału NNKT w pestkach badanych owoców jagodowych.

Kwasy tłuszczowe są wtórnym produktem metabolizowanym podczas procesu fermentacji. O wartości odżywczej tłuszczów decyduje przede wszystkim skład i zawartość kwasów tłuszczowych [Bednarski, Reps 2003; Bosak 2008; Mińkowski i in. 2011].

Jak dotąd nie ma opracowań dotyczących wpływu fermentacji alkoholowej na zmiany udziału kwasów tłuszczowych w oleju pochodzącym z nasion czarnej porzeczki, tym bardziej więc rośnie wartość poznawcza otrzymanych wyników.

Mińkowski, Grześkiewicz i Jerzewska [2011] wykazali, że zawartość NNKT (kwas linolowy oraz kwas α -linolenowy) w rafinowanym oleju z czarnej porzeczki wynosi 62,1%. Po przeprowadzonych wstępnych badaniach można stwierdzić, iż obróbka uszkodzonych pestek z badanych owoców jagodowych w większości zmniejsza zawartość niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych w porównaniu z ilością tych składników w samych pestkach kontrolnych. W celu wyjaśnienia wzrostu NNKT w próbach z całymi pestkami oraz jego obniżenia z pestkami uszkodzonymi eksperyment powtórnie zostanie wykonany.

5. Wnioski

1. W wyniku analizy chromatograficznej zaobserwowano zmiany udziału kwasów tłuszczowych w pestkach czarnej porzeczki pomiędzy próbkami kontrolnymi przed fermentacją alkoholową a całymi i uszkodzonymi pestkami po tym procesie.

2. Na podstawie analizy statystycznej stwierdzono, iż proces fermentacji alkoholowej miał istotny wpływ na zmniejszenie udziału niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych NNKT w uszkodzonych pestkach z czarnej porzeczki.

Literatura

- Achremowicz K., Szary-Sworst K., *Wielonienasycone kwasy tłuszczowe czynnikiem poprawy stanu zdrowia człowieka*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2005, 3(44), s. 23-35.
- Baranowski K., Baca E., Salamon A., Michałowska D., Meller D., Karaś M., *Możliwości odzyskiwania i praktycznego wykorzystywania związków fenolowych z produktów odpadowych: z wytlóków z czarnej porzeczki i aronii oraz chmielin*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2009, 4(65), s. 100-109.
- Bednarski W., Reps A. (red.), *Biotechnologia żywności*, WNT, Warszawa 2003.
- Bosak W., *Domowy wyrób win gronowych w małym gospodarstwie*, Polski Instytut Winorośli i Wina, Kraków 2008.
- Ciborowska H., Rudnicka A., *Dietetyka. Żywnienie zdrowego i chorego człowieka*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2007.
- Fronc A., Nawirska A., *Możliwości wykorzystania odpadów z przetwórstwa owoców*, Ochrona Środowiska 1994, 2(53), s. 31-32.

- Jakubowski T., *Gospodarka odpadami w zakładzie produkcji przetworów owocowych*, Inżynieria Rolnicza 2006, 11, s. 147-156.
- Jarosz M., Bułhak-Jachymczyk B., *Normy żywienia człowieka. Podstawy prewencji i chorób niezakaźnych*, Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 2008.
- Laaksonen O., Sandell M., Nordlund E., Heiniö R., Malinen H., Jaakkola M., Kallio H., *The effect of enzymatic treatment on blackcurrant (Ribes nigrum) juice flavour and its stability*, Food Chemistry 2012, 130, s. 31-41.
- Lu Y., Foo L.Y., *Polyphenolic constituents of blackcurrant seed residue*, Food Chemistry 2003, 80, s. 71-76.
- Maszewska M., Gańko I., *Kwasy tłuszczowe omega-3. Rola w żywieniu, występowanie, zastosowanie*, Przemysł Spożywczy 2010, 5, s. 28-31.
- Mińkowski K., Grześkiewicz S., Jerzewska M., *Ocena wartości odżywczej olejów roślinnych o dużej zawartości kwasów linolenowych na podstawie składu kwasów tłuszczowych, tokoferoli i steroli*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2011, 2(57), s. 124-135.
- Nowak K., Żmudzińska-Żurek B., *Czarna porzeczka – źródło witaminy C*, Przem. Ferm. i Owoc.-Warz. 2010, 6, s. 59-61.
- PN-A-79121:1998. *Wina owocowe*.
- Starzycki M., Starzycka E., *Biochemiczne metody identyfikacji nasion i roślin z rodziny Brassicaceae K*, Biul. Inst. Hod. Aklim. Rośl. 1999, 72(3), s. 12-16.
- Tahvonon R. L., Schwab U.S., Linderborg, K.M., Mykkänen H.M., Kallio H.P., *Black currant seed oil and fish oil supplements differ in their effects on fatty acid profiles of plasma lipids, and concentrations of serum total and lipoprotein lipids, plasma glucose and insulin*, Journal of Nutritional Biochemistry 2005, 16, s. 353-359.
- Wzorek W., Pogorzelski E., *Technologia winiarstwa owocowego i gronowego*, Sigma NOT, Warszawa 1995.
- Zawirska A., *Zagospodarowanie odpadów z przemysłu owocowo-warzywnego*, Przem. Ferm. i Owoc.-Warz. 2007, 10, s. 37-45.

EFFECT OF CHANGES ALCOHOLIC FERMENTATION IN EFA THE SEEDS OF BLACKCURRANT OF THE BY-PRODUCTS

Abstract: Aim of this study was to determine the percentage of Essential Fatty Acids (linoleic and linolenic) in the dried seeds of black currants (both whole and ground) after alcoholic fermentation in wine setting. Fatty acid profile in the material was analyzed by gas chromatography (GC). The analysis of the chromatographic process of alcoholic fermentation from linoleic acid were recorded the average content at 36,3% and linolenic 13,4% in the dried, whole seeds, which were an attempt to control. From passed chromatographic analysis before the process, after the fermentation has increased the percentage of both linoleic acid (41,4%) and linolenic (14,6%) in the dried, whole seeds of black currant. However, in the bad seeds declined the fall both of these acids. The statistical analysis showed that the fermentation process significantly affects the content of unsaturated fatty acids EFA in the seeds of berries studied.

Keywords: black currant, fatty acids, gas chromatography, alcoholic fermentation.