

STERCZYŃSKA Monika  
Katedra Procesów i Urządzeń Przemysłu Spożywczego  
Politechnika Koszalińska

## Zmiany składu kwasów tłuszczowych w nasionach winogron po procesie fermentacji alkoholowej w technologii produkcji win gronowych

### Streszczenie

*W pracy przeanalizowano wpływ procesu fermentacji na zmiany procentowej zawartości 6 kwasów tłuszczowych (palmitynowego, stearynowego, oleinowego, linolowego, linolenowego oraz eikozenowego) w suszonych nasionach czerwonych i białych winogron (całych oraz uszkodzonych) w nastawach winnych. Do analizy profilu badanych związków wykorzystano technikę chromatografii gazowej (GC) z detektorem płomieniowo-jonizującym (FID). Badania chromatograficzne przeprowadzone, przed i po fermentacji alkoholowej pozwoliły stwierdzić, zmiany udziału badanych kwasów tłuszczowych w nasionach (całych oraz uszkodzonych) wybranych do analizy jagód.*

**Słowa kluczowe:** czerwone winogrona, białe winogrona, fermentacja alkoholowa, kwasy tłuszczowe, chromatografia gazowa

## Composition changes of fatty acids in the grapes seeds after the alcoholic fermentation in the wine technology production

### Summary

*The paperwork presents the influence of the fermentation process on respective 6 fatty acids (palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic, eicosenoic) in dried red and white grapes seeds in the settings of the wines. To analyze the profile of the tested compounds were used technique of gas chromatography (GC) with flame-ionizing detector (FID). Results from the chromatograms before and after the fermentation process revealed changes in the share of fatty acids tested in the seeds (in the whole and ground) selected for analysis of berries.*

**Key words:** red grapes, white grapes, alcoholic fermentation, fatty acids, gas chromatography

### Wstęp

Proces wytwarzania win gronowych obejmuje etapy, na które składa się szereg czynności i zabiegów technologicznych, począwszy od obróbki wstępnej surowca, a skończywszy na rozlewie gotowego wina. Ich kolejność i występowanie jest ściśle związana z rodzajem wykorzystywanego surowca, który ma ogromny wpływ na jakość gotowego produktu. Podczas procesu tłoczenia miazgi, będącego jednym z etapów technologicznych produkcji win, uzyskuje się wytloki, w których znajdują się nasiona tłoczonych owoców. Nasiona te mogą być wykorzystywane, jako surowiec, który poddawany jest kolejnemu przetworzeniu. Natomiast fermentacja w miazdze (maceracja), pozwala na uzyskanie nasion poddanych procesowi fermentacji alkoholowej (Wzorek, Pogorzelski 1995; Wolfgang 2004; Świetlikowska 2006).

Największą i różnorodną grupę wśród krajowych owoców stanowią owoce jagodowe. Winogrona zaliczane są do tzw. jagód właściwych. Wykorzystuje się je, jako surowiec do produkcji win gronowych. Ponieważ zawierają odpowiednią ilość cukrów i kwasów nie jest konieczny dodatek tych składników, szczególnie przy wyrobie win wytrawnych. Z winogron uzyskuje się również kompoty, soki pitne i rodzynki. Nasiona winogron zawierają od 10 ÷ 20% oleju w przeliczeniu na suchą masę, zależnie od gatunku, miejsca hodowli, stopnia dojrzałości owoców i innych czynników. Olej z tych nasion zalicza się do olejów pól schnących, w któ-

rego skład wchodzi przede wszystkim: glicerydy kwasu palmitynowego, stearynowego, linolowego, oleinowego i inne. Olej winogronowy ma zastosowanie głównie w przemyśle spożywczym, ale także lakierniczym, czy mydlarskim (Dienszczykow 1969; Świetlikowska 2006).

Tłuszcze, zarówno roślinne, jak i zwierzęce, są podstawowymi, a także wysokoenergetycznymi składnikami żywności, które wykazują korzystny wpływ na zdrowie człowieka. Kwasy tłuszczowe są traktowane, jako wtórny produkt metaboliczny w procesie fermentacji alkoholowej w nastawach winnych. O wartości odżywczej wszystkich tłuszczów decyduje głównie skład i zawartość w nich kwasów tłuszczowych. Związki takie, jak kwasy tłuszczowe mogą być pozyskiwane nie tylko z surowców zwierzęcych, ale również bogatym ich źródłem są poszczególne części roślin, w tym także nasiona. Skład kwasów, w zależności od rodzaju wykorzystywanych owoców do produkcji, ulega zmianie. Organizm zwierząt, w tym również człowieka, nie jest zdolny do syntezy niektórych kwasów tłuszczowych. Powodem jest niewystępowanie niezbędnych do tego procesu enzymów. Dotyczy to przede wszystkim łańcuchów wiązań podwójnych, które są w położeniu dalszym, niż przy węglu C-9. Na świecie, przeprowadzone są badania dotyczące przede wszystkim mechanizmów i efektów działania kwasów tłuszczowych oraz możliwości wykorzystania ich, jako cennego składnika w żywności funkcjonalnej, czy stosowania, jako nutraceutyki. Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) są przede wszystkim składnikami lipidów

blon komórkowych oraz biorą udział w utlenieniu i transporcie cholesterolu. Kwasy tłuszczowe, w głównej mierze takie jak: linolowy i linolenowy, są niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania organizmów wszystkich ssaków i jako egzogenne, muszą być dostarczone w pożywieniu roślinnym. Nasiona winogron wykorzystywane są do produkcji oleju, który jest cennym produktem zawierającym ważne dla organizmu kwasy tłuszczowe

(Fronc, Nawirska 1994; Starzycki, Starzycka 1999; Starzycki i in. 2000; Rejs, Bednarski 2003; Achremowicz, Szary-Sworst 2005; Bosak 2008; Mińkowski i in. 2011).

W literaturze, można spotkać się ze stwierdzeniem wysokiej zawartości kwasów tłuszczowych z grupy NNKT, przede wszystkim kwasu linolenowego i linolowego w nasionach winogron i wyprodukowanych z nich olejach. Olej z nasion winogron, może zawierać około 90% nienasyconych kwasów tłuszczowych, a w tym 58 ÷ 78% kwasu linolowego i 3 ÷ 15% oleinowego. Odpady owocowe z przemysłu spożywczego charakteryzują się złożonością składników chemicznych. Zawierają związki, które można ponownie wykorzystać w produkcji. Niektóre z tych związków, są aktywne biologicznie, wywierają pozytywny wpływ na organizm człowieka, a także hodowanych przez niego zwierząt. Wiele z tych związków dodatkowo stanowi substrat do biosyntezy lub fermentacji, jak również nadają się do wykorzystania jako dodatki do żywności. Przykładowymi składnikami występującymi w odpadach przemysłowych mogą być: błonnik pokarmowy, pektyny, barwniki, przeciwutleniacze, witaminy i prowitaminy, a także kwasy tłuszczowe. Preparaty, które są uzyskiwane drogą odzysku z odpadów, mają niską cenę oraz mogą stanowić zamiennik popularnych obecnie związków produkowanych na drodze reakcji chemicznych (Tarko i in. 2009; Saluk-Juszczak i in. 2010).

## Cel badań

Oleje z nasion winogron są bogatym źródłem kwasów tłuszczowych. Wykorzystanie nasion do produkcji olejów, jako surowca wtórnego po procesie fermentacji alkoholowej, mogłoby stanowić dodatkowe rozwiązanie dla istniejących winiarni.

Celem badań było określenie zmian udziału procentowego, sześciu wybranych kwasów tłuszczowych, w nasionach czerwonych i białych winogron, po procesie fermentacji alkoholowej.

## Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiły wysuszone nasiona (całe i uszkodzone) z czerwonych i białych owoców winorośli (*Vitis vinifera* L.), poddane procesowi fermentacji alkoholowej, w nastawie winnym z udziałem drożdży winiarskich. W celu określenia udziału procentowego sześciu wybranych kwasów tłuszczowych, przeprowadzono analizę chromatograficzną, wykorzystując chromatografię gazową (GC) z detektorem FID.

Do analizy statystycznej użyto wyniki udziału procentowego dwóch wybranych kwasów z grupy NNKT (linolowego i linolenowego). Porównano nasiona kontrolne oraz uszkodzone i nieuszkodzone czerwonych i białych winogron,

poddane fermentacji alkoholowej. Została przeprowadzona 1-czynnikowa analiza statystyczna, z wykorzystaniem testu *t*-Studenta. Analiza jednostronna z dwiema próbami zakładającą równe wariancje na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

## Przygotowanie prób do analizy chromatograficznej

Nasiona z winogron wyjęte z miąższu owocu poddano procesowi suszenia na ceramicznej płytce, na której umieszczono gazę oraz perforowany, polipropylenowy woreczek. Suszenie odbywało się w temperaturze  $26 \pm 28^\circ\text{C}$  w czasie 6 ÷ 9 dni, w zależności od winorośli. Część materiału badawczego, stanowiącego próbę kontrolną (nasiona niepoddawane fermentacji alkoholowej), przeniesiono do próbek Eppendorfa o pojemności 2 ml i przechowywano w chłodziarce (temperatura  $+4^\circ\text{C}$ ). Pozostała część nasion została podzielona na dwie partie. Pierwszą, stanowiły nasiona całe, natomiast drugą partię uszkodzono młotkiem. Nasiona winogron czerwonych (10 g) i białych (7 g), zostały przesypane do woreczków, wykonanych z gazy młyńskiej, o średnicy oczek 0,3 mm. Woreczki z materiałem badawczym, zszyto żyłką wędkarską o średnicy 0,35 mm i zanurzono w nastawach winnych. Nastawy te sporządzone zostały ze świeżych owoców – osobno z winogron czerwonych i białych, zgodnie z obowiązującymi ogólnymi zasadami technologii produkcji oraz norm dla win gronowych. Wykorzystano dwa rodzaje szlachetnych, płynnych drożdży winiarskich. Do nastawu z winogron czerwonych użyto drożdży typu Burgund, przy których fermentacja alkoholowa trwała 37 dni. Natomiast do nastawu z winogron białych użyto drożdży typu Portwein – czas procesu fermentacji wynosił 31 dni. Nastawy zawierające nasiona przechowywane były w temperaturze  $21 \pm 24^\circ\text{C}$ . Nasiona, po zakończeniu procesu fermentacji alkoholowej, wyjęto z nastawu i umieszczono w próbkach Eppendorfa o pojemności 2 ml (PN-A-79120-04:1990; PN-A-79122:1996).

## Analiza Chromatograficzna (GC) badanych nasion

Materiał badawczy, po procesie fermentacji alkoholowej oraz próby kontrolne, został wysuszony i poddany analizie chromatograficznej dla określenia udziału procentowego, wybranych kwasów tłuszczowych. Kwasami tymi były: kwas palmitynowy – C:16:0, kwas stearynowy – C18:0, kwas oleinowy – C18:1, kwas linolowy – C18:2, kwas linolenowy – C18:3 oraz kwas eikozenowy – C20:0. Do badań posłużył chromatograf gazowy Agilent 7683 Series Injector, znajdujący się w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowym Instytucie Badawczym w Poznaniu.

Przed analizą chromatograficzną, nasiona winogron zmielono w młynku elektrycznym. Przeprowadzono proces ekstrakcji (kolumnowej i we fiolce o pojemności 10 ml), w warunkach laboratoryjnych, w temperaturze  $20^\circ\text{C}$ , stosując *n*-heksan oraz estryfikację tłuszczów, z wykorzystaniem metody metanolizy alkalicznej. Lotne estry rozpuszczano w *n*-heksanie, a następnie rozdzielono na kolumnie chromatograficznej. Do badań czasu retencji wykorzystano wzorce wybranych kwasów tłuszczowych: kwasu palmitynowego, stearynowego, oleinowego, linolowego i linolenowego (Sigma Aldrich), z nasion *Brassica napus* L. – odmiany Wipol. Podczas analizy, temperatura dozownika wynosiła  $220^\circ\text{C}$ , temperatura pieca (kolumny) –  $200^\circ\text{C}$  oraz temperatura detektora Range –  $220^\circ\text{C}$ . Zastosowano kolumnę kapilarną o długości 30 m (RTX-225), (Cyanopropylomethyl, 50%,

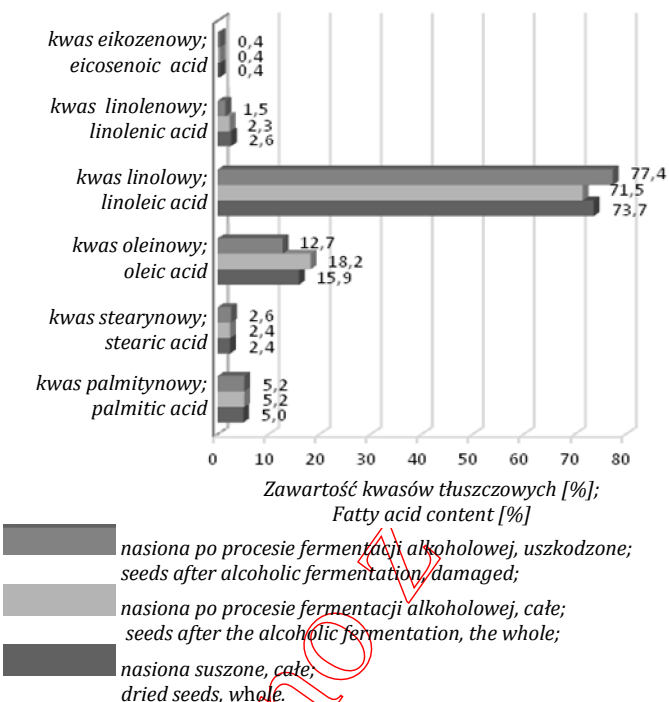
Crossbond 50%, Phenylomethylpolisiloxane) oraz wodór o ciśnieniu 0,4 bar, który posłużył jako gaz nośny (Starzycki, Starzycka 1999).

Wykonane zostały trzy powtórzenia analizy chromatografii gazowej (GC) dla każdego rodzaju (próby kontrolnej, całych oraz uszkodzonych) nasion zarówno z czerwonych, jak i białych winogron.

### Omówienie wyników

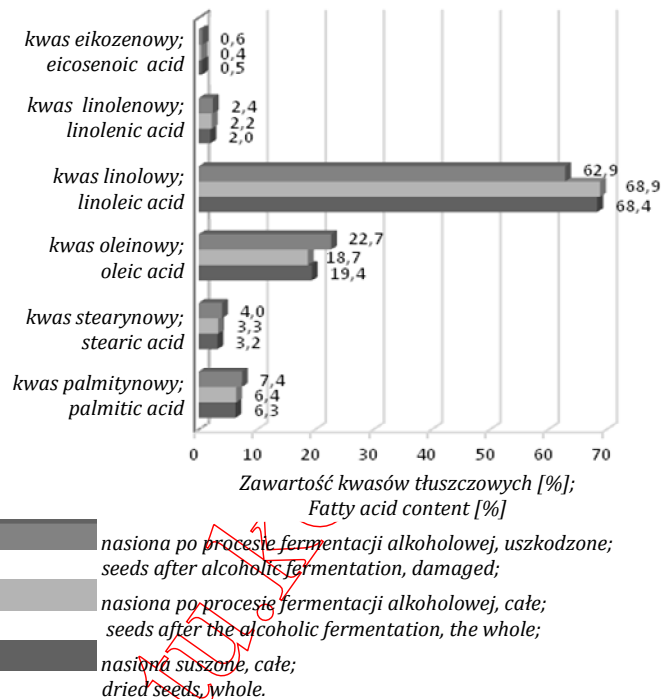
Dane na rysunkach 1 i 2 wykazują, że przed i po procesie fermentacji alkoholowej wystąpiły nieznaczne różnice (o 0,1%) w udziale kwasu eikozenowego, w nasionach winogron białych. Natomiast w nasionach winogron czerwonych, zawartość tego kwasu nie uległa zmianie.

Analiza udziału 6 badanych kwasów tłuszczowych, przed procesem fermentacji alkoholowej, wykazała najmniejszy udział kwasu eikozenowego (0,4 ÷ 0,5%) oraz najwyższy – kwasu linolowego (68,4 ÷ 73,7%), w obu odmianach winogron. W uszkodzonych nasionach czerwonych winogron nastąpił wzrost udziału procentowego kwasu linolowego (o 3,7%), natomiast w przypadku nasion winogron białych udział procentowy był mniejszy o 5,5% od materiału nie poddanego fermentacji. Proces fermentacji alkoholowej spowodował wzrost udziału kwasu palmitynowego oraz stearynowego w uszkodzonych nasionach owoców czerwonych i białych winorośli.



Rys. 1. Średni udział badanych kwasów tłuszczowych, w nasionach czerwonych winogron, przed i po procesie fermentacji alkoholowej [% v/v] (Źródło: opracowanie własne).

Fig. 1. The average share content of tested fatty acids, in the seeds of red grapes, before and after the alcoholic fermentation process [% v/v] (Source: own elaboration).



Rys. 2. Średni udział badanych kwasów tłuszczowych, w nasionach białych winogron, przed i po procesie fermentacji alkoholowej [% v/v] (Źródło: opracowanie własne).

Fig. 2. The average share content of tested fatty acids, in the seeds of white grapes, before and after the alcoholic fermentation process [% v/v] (Source: own elaboration).

W przeprowadzonych badaniach, stwierdzono, że zarówno w nasionach czerwonych, jak i białych winogron, udział, co najmniej 4 z 6 analizowanych kwasów tłuszczowych wzrastał po procesie fermentacji w nastawach winnych.

Na podstawie analizy statystycznej testu t-Studenta, stwierdzono różnice statystyczne w udziale procentowym kwasu linolenowego i kwasu linolowego w nasionach (kontrolnych oraz uszkodzonych po fermentacji, w których zaobserwowano większe różnice w udziale procentowym) owoców czerwonych i białych winorośli. W tabeli 1 zestawiono wyniki analizy statystycznej.

Wyniki testu pozwalają stwierdzić, iż proces fermentacji alkoholowej w nastawach winnych istotnie różnicuje udział procentowy analizowanych dwóch kwasów z grupy NNKT.

Dotąd, nie znaleziono wyników badań dotyczących wpływu fermentacji alkoholowej na zmiany udziału procentowego kwasów tłuszczowych w nasionach czerwonych i białych winogron. Przeprowadzone badania, wykazały wzrost udziału procentowego obu kwasów z grupy NNKT po procesie fermentacji alkoholowej. W białych winogronach – kwasu linolenowego, natomiast w czerwonych – kwasu linolowego. Uzyskanie oleju z nasion winogron, poddanych fermentacji alkoholowej w nastawach winnych, może być cennym źródłem Niezbędnych Nienasyconych Kwasów Tłuszczowych w diecie człowieka.



Tab. 1. Zestawienie wyników analizy statystycznej dla dwóch kwasów z grupy NNKT

Tab. 1. Summary of the results of the statistical analysis for the two acid groups of EFAs

<b>Wyniki testu t-Studenta dla kwasów w nasionach winogron czerwonych;</b> <b>Results of t-Student's test for acids in the seeds of red grapes</b>			
Kwasy NNKT; acids EFA	Średnie obiektywne udziały kwasów w nasionach [%]; medium-sized object-oriented participation acids in seeds [%]		Test t-Studenta; t-Student's test
	c.s.	f.u.	
Kwas linolenowy; linolenic acid	2,6	1,5	<b>1,007*10<sup>-7</sup>*</b>
Kwas linolowy; linoleic acid	73,7	77,4	<b>1,374*10<sup>-7</sup>*</b>
<b>Wyniki testu t-Studenta dla kwasów w nasionach winogron białych;</b> <b>Results of t-Student's test for acids in the seeds of white grapes</b>			
Kwasy NNKT; acids EFA	Średnie obiektywne udziały kwasów w nasionach [%]; medium-sized object-oriented participation acids in seeds [%]		Test t-Studenta; t-Student's test
	c.s.	f.u.	
Kwas linolenowy; linolenic acid	2,0	2,4	<b>0,058*10<sup>-7</sup>*</b>
Kwas linolowy; linoleic acid	68,4	62,9	<b>5,798*10<sup>-12</sup>*</b>

(Źródło: opracowanie własne);  
(Source: own elaboration)\* stwierdzone statystycznie istotne różnice między wartościami średnimi dla nasion niepoddanych procesowi fermentacji i uszkodzonymi po tym procesie ( $p \leq 0,05$ );

c.s. – nasiona całe, suszone (kontrolne); whole seeds, dried (control);

f.u. – nasiona po procesie fermentacji alkoholowej, uszkodzone; seeds after alcoholic fermentation, damaged.

## Wnioski

1. W wyniku analizy chromatograficznej zaobserwowano zmiany udziału procentowego 6 badanych kwasów tłuszczowych w nasionach czerwonych i białych winogron, pomiędzy próbkami kontrolnymi, a całymi i uszkodzonymi nasionami po procesie fermentacji alkoholowej.

2. Analiza statystyczna pozwoliła stwierdzić, iż proces fermentacji alkoholowej miał istotny wpływ na zmiany udziału procentowego dwóch niezbędnych Nienasyconych Kwasów Tłuszczowych (kwasu linolenowego i linolowego),

w uszkodzonych nasionach zarówno czerwonych, jak i białych winogron.

## Bibliografia

- Achremowicz K., Szary-Sworst K. 2005. *Wielonienasycone kwasy tłuszczowe czynnikiem poprawy stanu zdrowia człowieka*. Żywność Nauka Technologia Jakość, 3(44): 23–35.
- Bednarski W., Reys A. 2003. *Biotechnologia żywności*. WNT, Warszawa. ISBN 83-204-2783-5.
- Bosak W. 2008. *Domowy wyrób win gronowych w małym gospodarstwie*. Polski Instytut Winorośli i Wina. Kraków.
- Dienszczyk M.T. 1969. *Odpady przemysłu spożywczego i ich wykorzystanie*, WNT, Warszawa.
- Fronc A., Nawirska A. 1994. *Możliwości wykorzystania odpadów z przetwórstwa owoców* Ochrona Środowiska, nr 2(53): 31–32.
- Mińkowski K., Grześkiewicz S., Jerzewska M. 2011. *Oceńna wartości odżywczej olejów roślinnych o dużej zawartości kwasów linolenowych na podstawie składu kwasów tłuszczowych, tokoferoli i steroli*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, nr 2(57): 124–135.
- PN-A-79120-04:1990. *Wina i miody pitne*.
- PN-A-79122:1996. *Wina gronowe*.
- Saluk-Juszczak J., Kołodziejczyk J., Babicz K., Królewska K. 2010. *Żywność funkcjonalna – rola nutraceutyków w profilaktyce chorób układów krążenia*. Kosmos– Problemy Nauk Biologicznych, nr 3–4: 527–538.
- Starzycki M., Starzycka E. 1999. *Biochemiczne metody identyfikacji nasion i roślin z rodziny Brassicaceae* K. Biul. Inst. Hod. Aklim. Rośl., nr 72(3): 12–16.
- Starzycki M., Starzycka E., Czernik-Kołodziej K. 2000. *Skład kwasów tłuszczowych w liściach i korzeniach mieszańców Brassica oleraceae ssp. × Brassica napus oraz rzepaku rosnących w warunkach in vitro oraz in vivo*. Rośliny Oleiste, tom XXI: 625–630.
- Świetlikowska K. 2006. *Surowce spożywcze pochodzenia roślinnego*, SGGW, Warszawa. ISBN 83-7244-702-0
- Tarko T., Sobusiak J., Duda-Chodak A. 2009. *Sposoby wykorzystania odpadów przemysłu owocowo-warzywnego*. Przem. Ferm i Owoc.-Warz., nr 3: 32–34.
- Wolfgang V. 2004. *Wino z winogron i innych owoców*. Wyd. Multico. ISBN 978-83-7073-629-3
- Wzorek W., Pogorzelski E. 1995. *Technologia winiarstwa owocowego i gronowego*, Simga NOT, Warszawa.

**Monika Sterczyńska**

Politechnika Koszalińska

Katedra Procesów i Urządzeń Przemysłu Spożywczego

ul. Raławicka 15–17, 75–620 Koszalin

e-mail: [monika.sterczynska@tu.koszalin.pl](mailto:monika.sterczynska@tu.koszalin.pl)