

О.О.Чурсіна, к.т.н., вед.н.с. відділу хімії і біохімії вина,  
В.Г.Гержикова, д.т.н., професор, зав. відділом хімії і біохімії вина,  
Е.Л. Зінкевич, к.т.н., с.н.с., вед. інженер,  
Національний інститут винограду і вина "Магарач"  
І.М. Бабич, аспірант кафедри бродильних виробництв,  
Національний університет харчових технологій

### Молекулярно-масовий розподіл білкових фракцій препаратів желатину

Найпоширенішим способом освітлення і стабілізації виноматеріалів є їх оклеювання допоміжними матеріалами білкової природи. Спосіб оклеювання виноматеріалів за допомогою желатину застосовують здавна. Дози оклеюючих матеріалів підбираються емпірично, що обумовлено як різноманітністю компонентів вин, що вступають з ними в хімічні реакції, так і труднощами стандартизації використовуваних для оклеювання білків [1].

Спосіб виробництва, природа використовуваної сировини, ступінь гідролізу обумовлюють гетерогенність протеїнових фракцій препаратів желатину [2]. У препаратах желатину кислотного способу виробництва виявлено до 40 % низькомолекулярних фракцій білку. Вміст їх у препаратах желатину лужного способу виробництва - значно нижчий (близько 10 %).

Останнім часом, на ринок допоміжних матеріалів України надходить велика кількість препаратів желатину в рідкій формі, які отримані в результаті гідролізу високомолекулярного желатину. Вони характеризуються досить низькою (2-8 °С) температурою желювання і не вимагають підігріву при розчиненні, що обумовлює зручність їх застосування у виробництві.

Області використання рідких і сухих форм желатину трохи відрізняються, оскільки гідроліз впливає на молекулярну вагу протеїнових фракцій желатину. При гідролізі желатину ізоелектрична точка його білкових фракцій зміщується в область більш низьких значень. Зниження ізоелектричної точки білкових фракцій впливає на величину заряду молекули желатину і, в кінцевому результаті, на ефективність проведення обробки виноматеріалів [3]. Крім того, при використанні препаратів високогідролізованого желатину існує небезпека переоклеювання, оскільки низькомолекулярні фракції здатні утворювати з таніном вина розчинні комплекси, які осідають з часом, можливо, вже у готовій продукції при зберіганні.

Донедавна вважалося, що білки з молекулярними масами, рівними 40 000 Да, добре взаємодіють із фенольними з'єднаннями при їх звичайному вмісті у вині і харчові негідролізовані желатини з високими молекулярними масами є найкращими. Однак при цьому визнавалося, що желатин з високою гелеутворюючою здатністю флокулює погано і не має гарних освітлюючих властивостей [1].

Вибір хорошого желатину, в кінцевому результаті, зводиться до компромісу між його здатністю флокулювати і взаємодіяти з танінами вина.

Для обґрунтування практичного застосування препарату желатину, в тій або іншій формі, важливо визначити молекулярно-масовий розподіл білкових фракцій у желатинах різного ступеню гідролізу, що і стало метою нашої роботи.

Для дослідження були відібрані препарати желатину вітчизняного та імпортного виробництва, які пропонуються для використання у виноробстві. Серед них рідкі препарати желатину виробництва Німеччини і Франції \*: "Гелісол", "Альбумінокол", "Рідкий желатин", "Аквакол", гранульовані - "Пульвіклар", Экстра", "Эрбіжель", "П-П" (вітчизняний), а також препарати казеїну, яєчного білка ("Овокол") і рибного клею ("Кристалін", "Желафіш").

Електрофоретичний аналіз білкових фракцій препаратів желатину проводили в синтетичному гелевому середовищі на основі поліакриламідіду (метод SDS-PAGE у модифікації Е.Л. Зінкевича) [4]. Модифікація стосується використання гелю із градієнтом пористості акриламідіду від 10 до 22 %.

Електрофорез проводили на апараті вертикального типу протягом 4 годин при напрузі 150 В. Для фарбування гелів використовували реактив Coomassie R-250. При проведенні електрофорезу використовували білкові маркери відомої молекулярної маси: лізоцим (М.м.=13000 Да), хімотрипсіноген (М.м.=25700 Да), яєчний альбумін (М.м.=43000 Да) і бичачий сиворотковий альбумін (М.м.=67000 Да).

Для рідких желатинів використовували розділяючий гель пористістю 22%, а для твердих - 16 %.

На рис. 1 представлена електрофореграма білкових фракцій рідких препаратів желатину. Вміст сухих речовин у них становить 100-200 г/дм<sup>3</sup>.

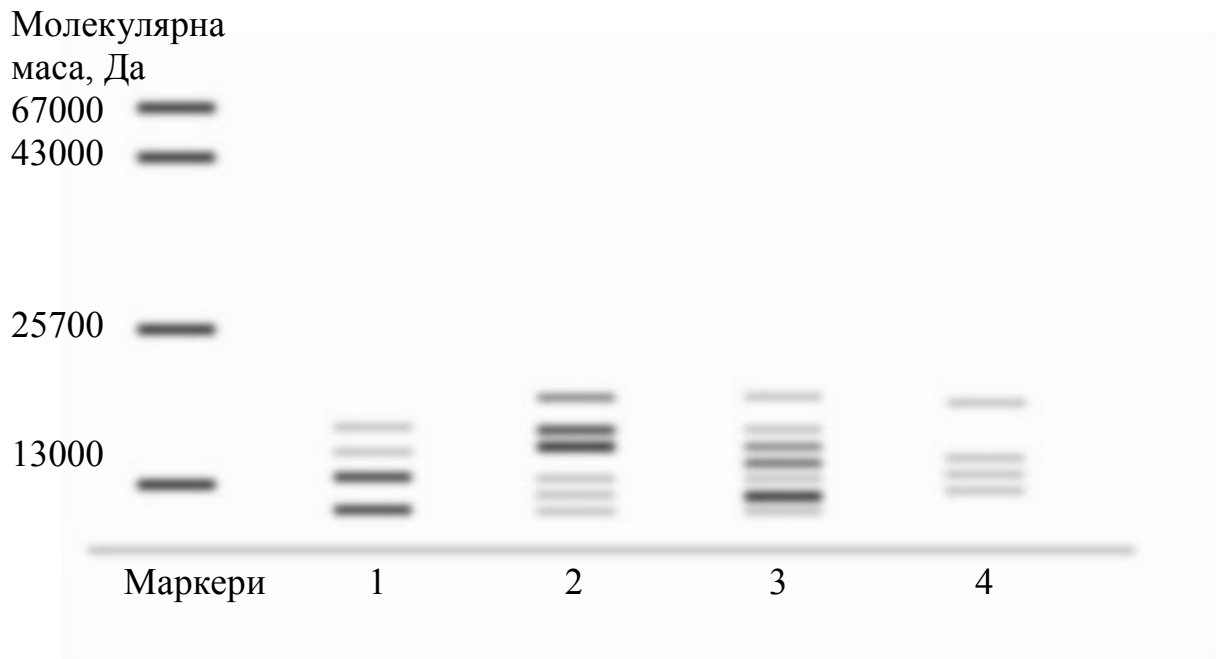
Результати електрофоретичних аналізу показали, що в гідролізованих желатинах переважають низькомолекулярні фракції білків з молекулярною масою від 10000 до 21000 Да. Так, у препараті "Гелісол" домінуючими є білкові фракції з молекулярною масою 10000 і 13000 Да, а в "Рідкому желатині" - 16000 і 17700 Да. Ці дані відповідають результатам дослідження Paetzold M. і Glories Y. [5].

Отримані дані показують, що представлені рідкі препарати желатину є гідролізованими приблизно однаково.

Білкові фракції повітряно-сухих препаратів желатину характеризуються широким спектром молекулярних мас, самі великі з яких перевищують 67 000 Да (рис. 2).

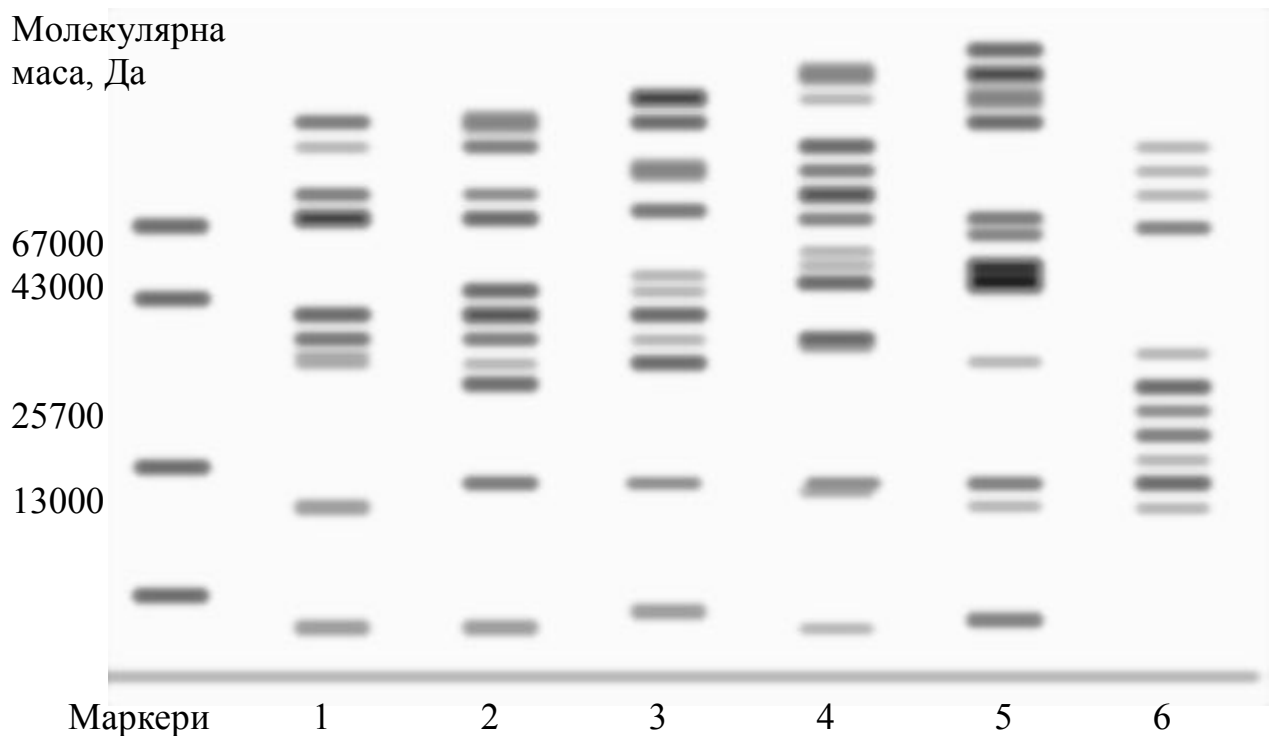
---

\* Препарати люб'язно надані СП "КОНТ", ГК "Еногрупп-Енотек" і ДП "Делер-Україна".



Препарати: 1 - "Гелісол"; 2 - "Рідкий желатин"; 3 - "Альбумінокол"; 4 - "Аквакол".

Рис. 1 Електрофореграма білкових фракцій рідких препаратів желатину



Препарати: 1 - "Пульвіклар"; 2 - "Ербіжель"; 3 - "Екстра"; 4 - "Швидкорозчинний" (вітч.); 5 - П-П (вітч.); 6 - желатин виробництва ФРН.

Рис. 2 Електрофореграма білкових фракцій повітряно-сухих препаратів желатину

Електрофорез показує, що ця група повітряно-сухих препаратів желатину (за винятком препарату № 6) має дуже близькі електрофоретичні профілі, коливання спостерігаються тільки в інтенсивності смуг, що відповідають протеїнам з високою молекулярною масою. Переважаючими фракціями є білки з молекулярними масами 40000 - 67000 Да і вище, при цьому у вітчизняних препаратах № 4 і 5 більше, у порівнянні з імпортованими препаратами, фракцій білків з молекулярною масою більше 67000 Да. Протеїнова фракція препарату № 6 характеризується наявністю більшої кількості смуг в інтервалі молекулярних мас від 25700 до 40000 Да. У всіх препаратах присутні низькомолекулярні білки з молекулярними масами близько 10000 Да, що може свідчити про проведення в них часткового гідролізу.

Таким чином, для повітряно-сухих препаратів желатину характерні білки з різними молекулярними масами, однак переважають високомолекулярні фракції (40000-67000 Да і вище). Проміжне положення між двома групами займає желатин виробництва ФРН (препарат № 6) до складу якого входять білки із середніми молекулярними масами (25000-40000 Да).

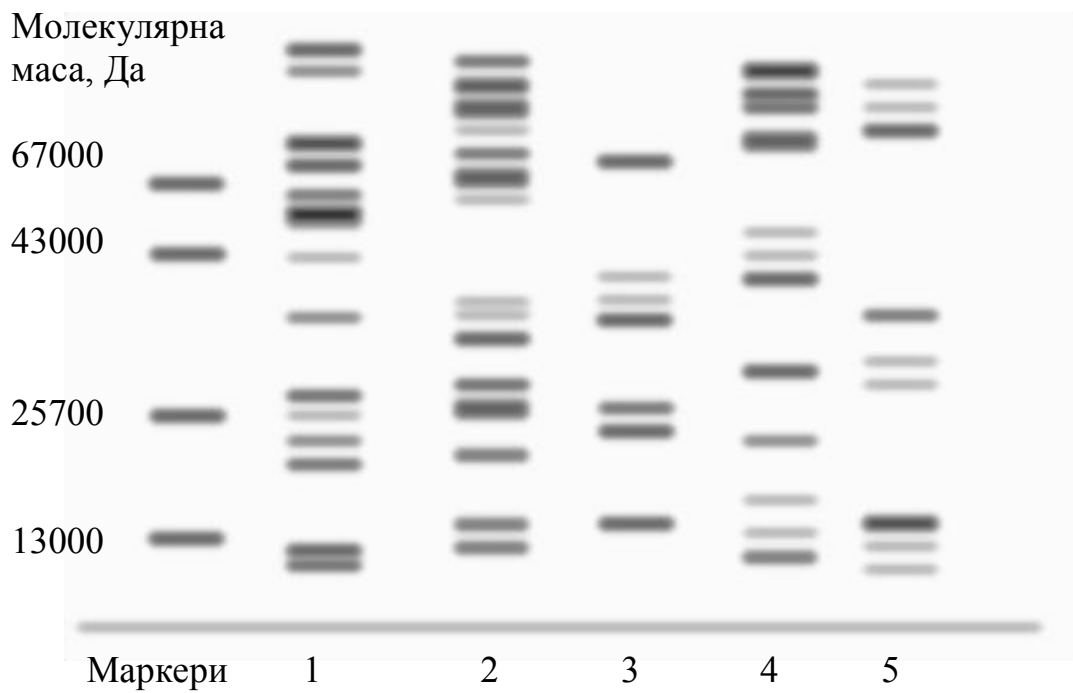
Як відомо із практики, ряд препаратів (рибний клей, яєчний альбумін, казеїн) практично не дають переоклеювання, оскільки складаються з білків високої молекулярної маси. Відповідно до досліджень Рибера-Гайона більша частина молекул рибного клею має масу 140000 Да. Однак при готуванні розчину гелю з нагріванням відбувається гідроліз і молекулярна маса білків знижується. На рис. 3 представлені протеїнові профілі препаратів рибного клею - "Кристалін", "Рибний клей" і "Желафіш", а також яєчного альбуміну "Овокол" і казеїну.

Порівнюючи електрофореграми протеїнових фракцій препаратів рибного клею необхідно відзначити, що для повітряно-сухих препаратів (№1 і 4), характерні білкові фракції з різним спектром молекулярних мас, але переважають високомолекулярні білки з масою 67000 Да і вище. Препарат № 5 випускається в рідкій формі і має помітні відмінності у складі, в якому у рівних частках представлені низько- середньо- і високомолекулярні білки.

Електрофоретичні профілі білків казеїну близькі до препаратів рибного клею, від яких відрізняються тільки більшою інтенсивністю смуг в області високих молекулярних мас.

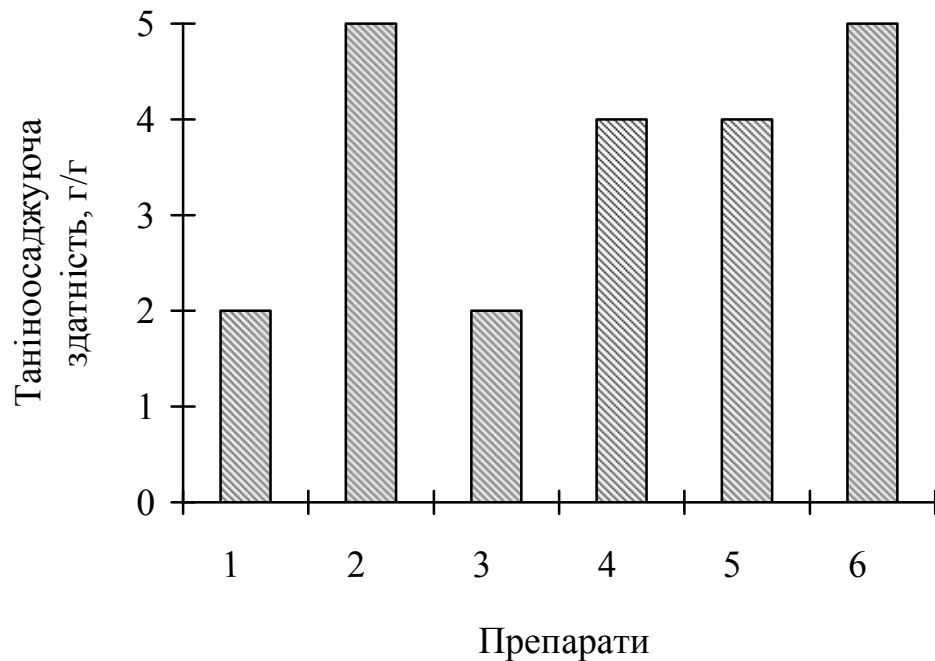
Препарат "Овокол" характеризується більшою однорідністю складу, містить чотири основні фракції білків з молекулярною масою приблизно 13000, 25000, 40000 і 69000 Да з перевагою протеїнів із середньою молекулярною масою.

Молекулярний склад білкових фракцій препаратів впливає на їх таніноосажуючу здатність (рис. 4).



Препарати: 1 - "Кристалін"; 2 - "Казеїн"; 3 - "Овокол"; 4 - "Рибний клей"; 5 - "Желафіш"

Рис. 3 Електрофореграма білкових фракцій препаратів допоміжних матеріалів



1 - "Швидкорозчинний" (вітч.); 2 - "Гелісол"; 3 - "Кристалін"; 4 - "Ербіжель"; 5 - "Казеїн"; 6 - желатин виробництва ФРН.

Рис. 4 Таніноосаджуюча здатність допоміжних препаратів

У рідких препаратах желатину, у порівнянні з повітряно-сухими, цей показник в цілому вищий і становить 5 г таніну на 1 г желатину. Найнижчі значення відзначені у вітчизняного препарату желатину і рибного клею (препарати № 1 і 3). Препарат № 6 (желатин виробництва ФРН), що характеризується превалюванням білкових фракцій середньої молекулярної маси, також виявив високу здатність осаджувати танін.

Технологічна обробка виноматеріалів желатинами показала, що рідкі препарати обумовлюють більш високе зниження концентрації фенольних речовин, в основному, за рахунок полімерних форм, і в порівнянні з повітряно-сухими препаратами для забезпечення стабільності виноматеріалів потрібні більш низькі їх дози.

Таким чином, проведені електрофоретичні дослідження показали істотні розбіжності молекулярного складу білкових фракцій препаратів, що відрізняються між собою формою. Встановлено, що препарати желатину, які випускають у рідкому виді, характеризуються більш високим ступенем гідролізу і вмістом тільки низькомолекулярних білків з молекулярною масою 10000-17000 Да. У складі повітряно-сухих препаратів переважають високомолекулярні білки, поряд з якими присутні фракції низько- і середньомолекулярних білків. Аналогічний розподіл білкових фракцій по молекулярних масах характерний також для казеїну, рибного клею і яєчного альбуміну. Рідкі препарати желатину, на відміну від повітряно-сухих, впливають на фенольний комплекс виноматеріалів у процесі оклеювання, обумовлюючи значне зниження його концентрації.

---

#### **Використана література:**

1. Риборо-Гайон Ж., Пейно Э., Риборо-Гайон П., Сюдро П. Теория и практика виноделия. Т 3. М: Пищевая промышленность, 1980. - 480с.
2. Демин Д.П. Совершенствование технологии стабилизации марочных вин: Автореф. дис. ...канд. техн. наук. – Ялта, 1985. – 16 с.
3. Scotti B., Poinsaut P. Le collage a la gelatine entre science et traditions// Revue des Oenologues.- 2005. - № 85. P. 41-48.
4. Зинькевич Э.Л. Разработка объективных методов анализа компонентов коллоидной системы соков, напитков и вин: Дисс...канд.техн.наук. – Ялта, 1992. – 81 с.
5. Paetzold M., Glories Y. Etude de gelatines utilisees en oenologie par mesure de leur charge macromoleculaire // Journal International des Sciences de la Vin, 1990, 24. - № 2. – P. 79-86

## РЕФЕРАТ

Наведено результати електрофоретичного дослідження білкових фракцій різних препаратів желатину, казеїну, яєчного альбуміну і рибного клею. Встановлено, що препарати желатину, які випускають у рідкому виді, відрізняються більш високим ступенем гідролізу і вмістом тільки низькомолекулярних білків з молекулярною масою 10000-17000 Да. У складі повітряно-сухих препаратів переважають високомолекулярні білки, поряд з якими присутні фракції низько- і середньомолекулярних білків. Аналогічний розподіл білків по молекулярних масах характерний також для казеїну, рибного клею і яєчного альбуміну.