

Окислительно-восстановительный потенциал при электролизе молочной сыворотки

И. И. Вуткарева*, Г. К. Балан, М. К. Болога

*Институт прикладной физики, Молдавский государственный университет,
г. Кишинев, MD-2028, Молдова*

*e-mail: irinavutkareva@yahoo.com

Поступила в редакцию 16.01.2025

После доработки 26.01.2025

Принята к публикации 28.01.2025

Ферментирование молочной сыворотки способствует увеличению ее кислотности и изменению окислительно-восстановительного потенциала (ОВП). В результате исследований удалось повысить качество и кислотность сыворотки путем ее электрообработки, а также изменить pH среды от 4,5 до 2 при оптимальных условиях проведения процессов.

Ключевые слова: молочная сыворотка, электролиз, электрическое поле, кислотность, технология

УДК 637.344.2

<https://doi.org/10.52577/eom.2025.61.1.094>

ВВЕДЕНИЕ

Молочная сыворотка содержит ряд химических соединений, способных легко окисляться и восстанавливаться. Окислительно-восстановительную систему сыворотки образуют молочная кислота, токоферолы, рибофлавин, цистеин, оксидоредуктазы, кислород и другие легко восстанавливающиеся и окисляющиеся вещества. Изменение в сыворотке соотношения восстановителей и окислителей (при тепловой обработке, развитии микроорганизмов и т.д.) вызывает трансформацию окислительно-восстановительного потенциала, на которую влияют продукты жизнедеятельности микроорганизмов.

От окислительно-восстановительного потенциала зависят развитие в сыворотке, заквасках, сырной массе молочнокислых бактерий и протекание биохимических процессов (распад белков, аминокислот, жира, накопление ароматического вещества диацетила и др.) [1].

Возникновение такого свойства, как окисленный привкус, обусловлено повышением окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) среды, способствующего окислительной порче жира. Резко повышают окислительно-восстановительный потенциал, то есть придают среде окислительные свойства, металлы (Си, Fe). Сульфгидрильные группы, наоборот, снижают окислительно-восстановительный потенциал, предотвращают окисление [2].

Основными факторами, влияющими на величину потенциала, являются концентрация растворенного кислорода и присутствие химических соединений, способных отдавать

или присоединять электроны. Основные компоненты сыворотки (жир, лактоза, белки) не влияют на величину окислительно-восстановительного потенциала.

В окислительно-восстановительную систему сыворотки входят разнообразные составляющие, например: аскорбиновая – дегидроаскорбиновая кислота; молочная – пировиноградная кислота.

Задача предпринятых исследований состояла в выявлении причин изменения окислительно-восстановительного потенциала при электролизном получении органических кислот из молочной сыворотки. При этом следует учесть, что любое изменение концентрации содержащихся окислителей и восстановителей может вызвать изменение окислительно-восстановительного потенциала. Например, нагревание ведет к улетучиванию растворимого кислорода и разрушению аскорбиновой кислоты. Поэтому потенциал пастеризованной (концентрированной) сыворотки значительно ниже, в результате чего она характеризуется повышенной устойчивостью к окислительным воздействиям [3].

Максимальное изменение окислительно-восстановительного потенциала обусловлено активным обменом веществ микроорганизмов, которые потребляют кислород и вырабатывают ферменты, оказывающие восстановительное действие. ОВП при этом резко снижается, и на его изменении основано определение бактериальной обсемененности по редуцтазной пробе. При определенном значении потенциала индикаторы метиленовый голубой или резазурин, внесенные в сырье, восстанавливаются, обесцвечиваясь или изменяя окраску. Чем больше

бактерий в сыворотке, тем быстрее падает потенциал [4].

В отличие от биосинтеза и брожения, в которых участвует большое количество ферментов, в биотрансформации существуют реакции декарбосилирования органических кислот (молочной в данном случае) с образованием концевой метильной группы; это так называемые реакции биотрансформации.

Обычно работает один определенный фермент, катализирующий окисление, декарбосилирование. Чтобы провести трансформацию, вначале размножают культуру соответствующего микроорганизма (в частности дрожжей) до количества, равного 5–10% объема преобразуемого вещества, используя минимальное количество питательных солей, необходимых для развития культуры, чтобы не было затруднено электрохимическое выделение вещества. Трансформацию ведут при оптимальном рН и температуре.

Начальная фаза трансформации характеризуется реакциями окисления, которые определяются в основном наличием гидроксильной группы и строением углеводородной цепи и их взаимовлиянием. Эта реакция наблюдается при высоком начальном содержании спирта в молочной сыворотке, обработанной дрожжами, согласно вышеизложенному способу.

Степень диссоциации слабых кислот и оснований зависит от реакции среды. Повышение концентрации кислоты приводит к увеличению вероятности обмена ее анионов с другими структурными группами, что вызывает уменьшение числа гидроксильных групп.

Уменьшение рН способствует анионному обмену и анодному окислению карбоновых кислот. В нашем случае уменьшение рН способствует окислению молочной кислоты до уксусной и образованию этанола. Во многих случаях альдегиды найдены как побочные продукты. Замечено, что иногда другие побочные продукты могут быть выделены как основные компоненты реакционной смеси. К таким веществам относятся спирты ROH, образованные при анодном окислении RCOO- в водном растворе (реакция Гофера-Места), кроме того, в некоторых случаях углеродный скелет спирта в ходе электролиза подвергается частичной или полной перегруппировке. С аналогичными явлениями сталкиваются при проведении электролиза в других растворителях, таких как уксусная кислота.

Сыворотка в катодной камере подвергается воздействию в приэлектродном слое высокого электрического потенциала, которое приводит к образованию активных частиц – молекул ионов и

воды с появлением продуктов восстановления, подщелачивания.

В гомогенной системе более вероятна реакция между промежуточными соединениями и компонентами среды. В непосредственной близости электрода существует градиент концентраций промежуточных соединений с высокой концентрацией. В электрохимических процессах создаются условия, благоприятные для реакций между радикалами.

Соотношение скоростей отдельных стадий восстановления зависит от природы и концентрации реагирующих частиц и потенциала электрода, влияние которого осуществляется как через изменение энергии активации реакции, так и концентрации и в известных пределах – свойств реагирующих частиц.

Сыворотка содержит ряд химических соединений, способных легко окисляться и восстанавливаться. Например, аскорбиновая кислота окисляется при потере двух атомов водорода в дегидроаскорбиновую кислоту, которая легко восстанавливается в аскорбиновую. Аминокислота цистеин, входящая в состав белков сыворотки, окисляется в цистин, который может вновь восстанавливаться в цистеин.

Э. Бухнер и Г. Бухнер впервые обнаружили, что дрожжевой сок сохраняет способность сбраживать глюкозу до спирта, и это показало, что ферменты, катализирующие процесс брожения, достаточно стабильны [5].

Второе открытие для спиртового брожения сделали А. Гарден и У. Ионг, обнаружив, что для спиртового брожения необходим фосфат, который играет промежуточную роль в суммарном процессе брожения. Также они установили, что ферментная система спиртового брожения состоит из термолабильной фракции, которая содержит два главных компонента: окислительно-восстановительный кофермент – никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и смесь адениновых нуклеотидов – аденозинфосфатов (АТФ, АДФ, АМФ).

Значительная часть свободной энергии электронов запасается в форме энергии фосфатной связи АТФ (окислительное фосфорилирование). Окислительно-восстановительные реакции представляются как сопряженные окислительно-восстановительные пары. Донор электронов – \bar{e} + акцептор электронов. Константа равновесия характеризует способность кислоты отдавать свой протон основанию, ее также можно использовать для характеристики способности восстановителя отдавать свой протон окислителю.

Уравнение Нернста связывает стандартный восстановительный потенциал данной пары с

наблюдаемым потенциалом и концентрациями доноров и акцепторов электронов; для двухэлектронных переносов имеет вид:

$$E_h = E_0 + 0,03 \times \lg \times \frac{\text{окислитель}}{\text{восстановитель}}.$$

Нужно связать это уравнение с окислительно-восстановительными процессами, проходящими в ферментируемой сыворотке и направить процесс к образованию этанола.

Полагали, что начальные концентрации этанола и ацетальдегида составляют $0,01 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$ ($E_0 = -0,18 \text{ В}$), а концентрации НАД⁺ и НАД Н равны $0,01 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$ ($E_0 = -0,32 \text{ В}$). При наличии алкогольдегидрогеназы и рН 7.0 реакция проходит до равновесия. Этанол + НАД⁺ ↔ ацетальдегид + НАД Н + Н⁺.

Электроны должны переноситься от пары с более отрицательным потенциалом (НАД Н и НАД⁺) к паре с менее отрицательным потенциалом (этанол–ацетальдегид) до установления равновесия, при котором величины потенциала E_h обеих систем уравниваются. Равновесное значение E_h представляет собой среднюю величину между начальными значениями E_0 ($-0,32$ и $-0,18$), то есть равно $E_h = -0,25 \text{ В}$.

Отношение [НАД⁺]/[НАД Н] можно вычислить по формуле [5]:

$$\begin{aligned} E_h &= E_0 + 0,03 \times \lg \times \frac{\text{окислитель}}{\text{восстановитель}} - 0,25 = \\ &= -0,32 + 0,03 \times \lg \times \frac{\text{НАД}^+}{\text{НАД} \times \text{Н}}. \end{aligned}$$

Из уравнения следует, что [НАД Н] = $9,5 \times 10^{-5} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$. Следовательно, [НАД⁺] = $0,02 - 9,5 \times 10^{-5} = 0,0199 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$. Так как одновременно с образованием одной молекулы НАД⁺ образуется одна молекула этанола, равновесная концентрация этанола также будет равна $0,0199 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$, а равновесная концентрация ацетальдегида – $9,5 \times 10^{-5} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$.

Система НАД Н–НАД⁺ может переносить электроны от одной субстратной пары к другой. Так, при гликолизе глицеральдегид-3-фосфат окисляется пируватом в результате реакций, у которых общим промежуточным продуктом является НАД×Н. Здесь электроны будут переноситься от глицеральдегид-3-фосфатной пары с более отрицательным потенциалом к паре лактат–пируват, имеющей менее отрицательный потенциал. Общее равновесие будет сильно сдвинуто в сторону образования лактата (в случае с чистым молочнокислым брожением).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Электрохимические процессы создают множество благоприятных синтетических

условий образования (синтеза) новых соединений, которые невозможно или крайне трудно осуществить с помощью обычных реакций химического окисления [6, 7].

Зная закономерности влияния основных параметров электролиза на эффективность процесса получения определенного вещества, периодически добавляя исходное вещество и удаляя продукт реакции, можно регулировать процесс электросинтеза в сторону образования молочной или уксусной кислоты. Таким образом, электролиз при контролируемом потенциале позволяет проводить селективное окисление определенных функциональных групп для получения смеси кислот и спирта или чистой молочной кислоты.

В качестве объекта исследований использовалась пастеризованная молочная сыворотка производства Кишиневского молокозавода. Сыворотка произведена согласно требованиям ТУ 9229-110-04610209-2002. Замер рН, ОВП проводили с помощью прибора РН-340. Состав исходной сыворотки: содержание жира – 0,1%, белков – 0,8%, лактозы – 4,5%.

Для концентрирования сыворотки использовали вакуум-выпарной аппарат эжекторного типа до содержания сухих веществ 12 и 13%. Далее сыворотку подвергали электрообработке в диафрагменном электролизере. Преимущество электролизного метода обработки перед реагентным состоит в том, что электрообработка позволяет избежать загрязнения объектов исследований посторонними веществами из окружающей среды.

Электролизная установка включает катод, анод и полупроницаемую диафрагму (перегородку) – мембрану МА-40. Показатели качества исходной молочной сыворотки: рН 4,5, ОВП + 150 мВ. При электрообработке в анодной камере использовался слабый раствор соды NaHCO₃.

Электрообработку в оптимальном режиме проводили при следующих параметрах: сила тока – 1–0,2 А, напряжение – 29 В, температура – 20–35 °С, продолжительность – 40–60 минут. Обработывали как свежую, так и ферментированную сыворотку.

Использовался штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, культивируемый на молочной подсырной сыворотке, активность (продуктивность) штамма: до 6,2% образования этилового спирта. Спиртообразующую активность штамма *Saccharomyces cerevisiae* определяли пикнометрическим методом.

Оптимальные условия и состав среды для ферментации – температура 28–30 °С; несоленая подсырная молочная сыворотка с содержанием не менее 4,5% лактозы [8].

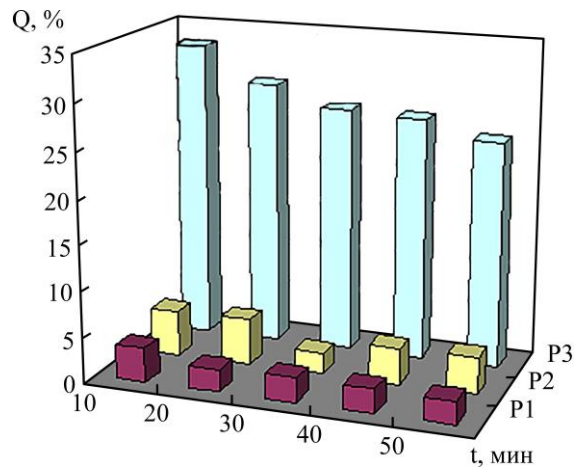


Рис. 1. Электрообработка сыворотки без ферментации во времени. ■ – Зависимость содержания молочной кислоты – P3, уксусной кислоты – P2 и ацетальдегида – P1 от активной кислотности в катодной камере электролизера.

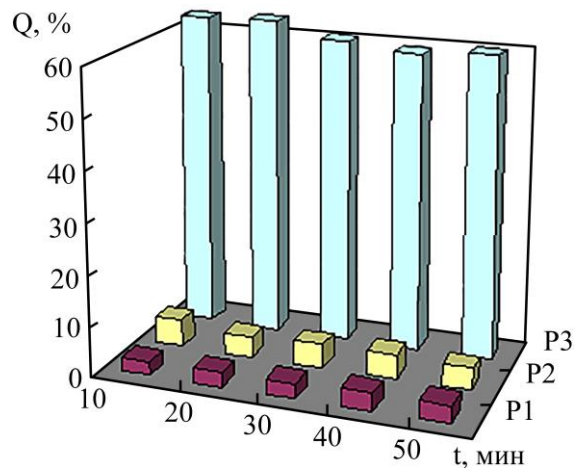


Рис. 2. Электрообработка ферментированной (до pH 4,3) сыворотки во времени. ■ – Содержание молочной кислоты – P3, уксусной кислоты – P2 и ацетальдегида – P1 в катодной камере электролизера со сброженной сывороткой.

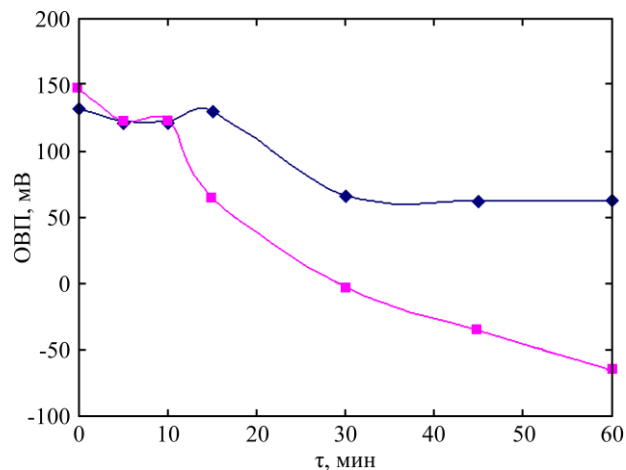


Рис. 3. Изменение окислительно-восстановительного потенциала концентрированной молочной сыворотки в процессе электролиза в катодной камере: ■ – сыворотка ферментированная (спиртовое брожение), ♦ – сыворотка несброженная.

Далее процесс проходил в катодной камере электролизера с ферментированной и несброженной сывороткой, чтобы определить изменение содержания основных компонентов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные диаграмм (рис. 1 и 2) указывают на явное преимущественное количество молочной кислоты и невысокое количество уксусной и

ацетальдегида, когда сыворотка сброжена. Альдегид находится в электрохимически активном состоянии. Ацетальдегид – промежуточный продукт окисления-восстановления. Скорость окисления-восстановления альдегидов высока, их сложно обнаружить [9].

При контролируемом потенциале электролиз в слабокислых буферных растворах обеспечивает соответствующий альдегид с хорошим

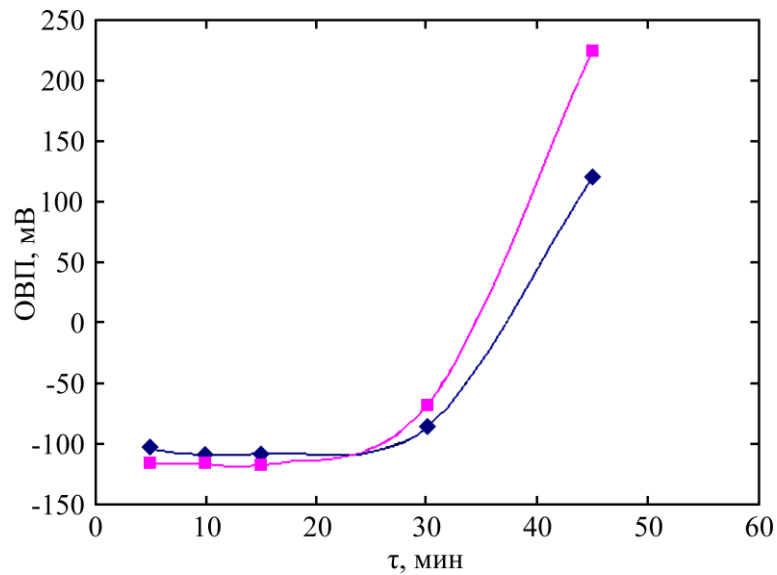


Рис. 4. Изменение окислительно-восстановительного потенциала концентрированной молочной сыворотки в процессе электролиза в анодной камере: ■ – сыворотка ферментированная (спиртовое брожение); ♦ – сыворотка несброженная.

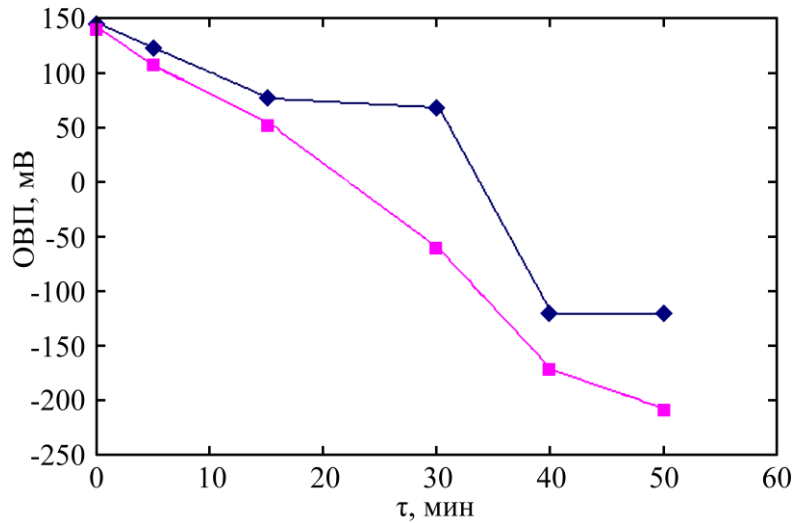


Рис. 5. Изменение окислительно-восстановительного потенциала концентрированной молочной сыворотки в процессе электролиза в катодной камере: ■ – сыворотка, сгущенная до содержания сухих веществ 12,1%, ♦ – сыворотка, сгущенная до содержания сухих веществ 13,1%.

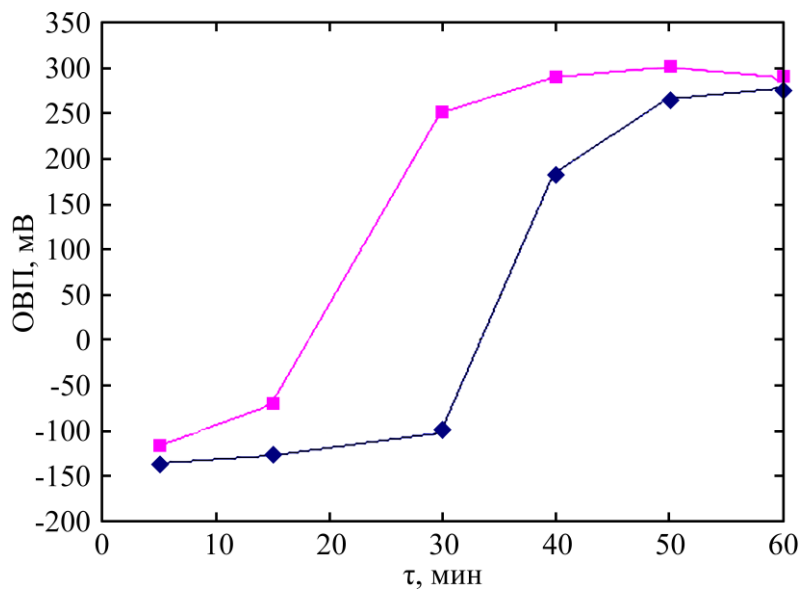


Рис. 6. Изменение окислительно-восстановительного потенциала концентрированной молочной сыворотки в процессе электролиза в анодной камере: ■ – сыворотка, сгущенная до содержания сухих веществ 12,1%; ♦ – сыворотка, сгущенная до содержания сухих веществ 13,1%.

выходом при условии, что реакцию останавливают после потребления двух электронов на молекулу (увеличение продолжительности электролиза приводит к дальнейшему медленному восстановлению альдегида). Оптимальный выход получен при pH 2–5.

Исследован процесс в катодной и анодной камерах электролизера с ферментированной и несброженной сывороткой, чтобы определить влияние степени ферментации на изменение окислительно-восстановительного потенциала (рис. 3 и 4).

Следует отметить, что в исходной сыворотке окислительно-восстановительный потенциал равен +147 мВ.

Чем больше бактерий в сыворотке, тем быстрее падает потенциал (вариант ферментированной сыворотки).

В дальнейшем из сыворотки выпаривали до 50% воды при температуре 45 °С, чтобы снизить потери молочной кислоты. Затем сыворотку подвергали ферментированию и обработке. В результате подсушивания содержание сухих веществ в сыворотке изменилось от 6,6% до 12,1–13,1%. При концентрировании отмечено увеличение силы тока при электролизе более концентрированной сыворотки от 0,6 до 1,6 А (рис. 5 и 6).

ВЫВОДЫ

Таким образом, можно заключить, что при контролируемом потенциале электролиз в слабых растворах выделяет уксусный альдегид при оптимальном pH – 2–5. В щелочной среде альдегид не концентрируется, так как легко восстанавливается, чем больше количество бактерий в сыворотке, тем быстрее падает окислительно-восстановительный потенциал для ферментированной сыворотки. В катодной камере электролизера в случае ферментируемой сыворотки продолжительнее поддерживается слабощелочная и нейтральная среда, как и в случае с более концентрированной сывороткой, что положительно влияет на получение молочной кислоты. Установлено, что оптимальная концентрация сухих веществ в сыворотке, предназначенной для электролизной обработки, составляет 12%. В случае более концентрированной сыворотки в катодной камере наблюдается плавный переход в щелочную зону. Развитие подобных исследований позволит повысить качество выделяемых веществ, оптимизировать процесс

электрообработки и совершенствовать конструкции электролизеров.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данное исследование финансировалось Министерством образования и исследований Республики Молдова (подпрограмма 011203).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Jian, Li, Min, Jiang, Ke-Quan, Chen, Qi Ye, et al., Effect of redox potential regulation on succinic acid production by *Actinobacillus succinogenes*, *Bioproc. Biosyst. Eng.*, 2010, vol. 33, no. 8, p. 911.
- Xiaoju, Chen, Shaotong, Jiang, Zhi, Zheng, Lijun, Pan, et al., Effects of culture redox potential on succinic acid production by *Corynebacterium crenatum* under anaerobic conditions, *Proc. Biochem.*, 2012, vol. 47, no. 8, p. 1250.
- Yen-Han, Lin, Chen-Guang, Liu, Process design for very-high-gravity ethanol fermentation, *Energy Proced.*, 2014, vol. 61, p. 2725.
- Yen-Han, Lin, Wan-Shan, Chien Kow-Jen, Duan, Correlations between reduction–oxidation potential profiles and growth patterns of *Saccharomyces cerevisiae* during very-high-gravity fermentation, *Process Biochem.*, 2010, vol. 45, no. 5, p. 765.
- Березов, Т.Т., Коровкин, Б.Ф., *Биологическая химия*. М.: Медицина, 1998. 704 с.
- Борисенко, Е.В., Вискоферм – новый ферментный препарат для производства спирта, *Пищевая промышленность*, 2007, № 9, с. 44.
- Медведев, С.С., *Физиология растений*. Санкт-Петербург: Изд. СПбУ, 2012. 496 с.
- Клунова, С.М., Егорова, Т.А., Живухина, Е.А., *Основы биотехнологии*. М.: Изд. центр «Академия», 2003. 208 с.
- Осадченко, И.М., Горлов, И.Ф., Кузнецова, Е.А., Стародубова, Ю.В., *Способ электроактивирования водных растворов солей натрия*, РФ пат. 2548967; опубл. 20.04.2015, Бюл. № 11.

Summary

Fermentation of whey facilitates the increasing of its acidity and changes its redox potential. As a result of the research, it was possible to improve the quality of whey by its electrical processing, increase its acidity, in particular, to change the pH of the medium from 4.5 to 2 under optimal process conditions.

Keywords: whey, electrolysis, electric field, acidity, technology