ASPECTELE RECUPERĂRII CONCENTRATELOR PROTEICE MINERALE LA ELECTROACTIVAREA ZERULUI

THE ASPECTS OF RECOVERY OF PROTEIN MINERAL CONCENTRATES AT THE ELECTROACTIVATION OF WHEY

CZU: 637.344.8 **https://doi.org/10.59295/spd2025e.116**

Irina PALADII
ORCID: 0000-0002-5683-5248
E-mail: irina.paladii@ifa.usm.md
Institutul de Fizică Aplicată, Chișinău, Republica Moldova

Elvira VRABIE
ORCID: 0000-0001-8607-8981
E-mail: vrabie657@yahoo.com
Institutul de Fizică Aplicată, Chișinău, Republica Moldova

Valeria VRABIE
ORCID: 0000-0002-2651-7150
E-mail: valvrabie@yahoo.com
Institutul de Fizică Aplicată, Chișinău, Republica Moldova

Tatiana STEPURINA
ORCID: 0009-0002-4589-8443
E-mail: stept50@yahoo.com
Institutul de Fizică Aplicată, Chișinău, Republica Moldova

Albert POLICARPOV
ORCID: 0009-0008-4762-1775
E-mail: albert.policarpov@ifa.utm.md
Institutul de Fizică Aplicată, Chișinău, Republica Moldova

Cătălina SPRINCEAN
ORCID: 0009-0001-1540-007X
E-mail: catalina.sprincean@ifa.usm.md
Institutul de Fizică Aplicată, Chișinău, Republica Moldova

Summary. *Some important aspects of whey electroactivation in semi-cylindrical cased electrolyzers with different capacities (V/S ml/cm^2 ratio) were established, which allowed to obtain two protein-mineral concentrates PMC_1 and PMC_2. The recovery of PMC_2 occurs towards the end of*

processing and has an increased content of low molecular weight whey proteins β-Lactoglobulin (β-Lg) and α-Lactalbumin (α-La). The intense recovery of PMC_2 at the whey electroactivation in the EDC-pilot electrolyser is achieved at a lower specific energy consumption per unit volume compared to EDC-3, but it allows intense enrichment with α-La (about 88%), which gives the obtained concentrates a high biological value and favors their use in different infant formulas.

Key-words: e*lectroactivation, electrolyzers , protein-mineral concentrates, whey proteins.*

INTRODUCERE

Într-o eră în care noi cei ce „am împrumutat Pământul de la urmași" suntem obligați să restituim o planetă curată, fără reziduuri. Este o datorie a fiecărui să participe cu micile „pietre de temelie" în soluționarea problemelor ecologice și valorificarea pe un contur închis, non-rezidual a deșeurilor, care, deseori, pot fi calificate ca produse secundare, precum este zerul, ce impune societății atât valorificarea conținutului solid al lui, cât și reducerea considerabilă a efectului nociv asupra mediului ambiant, în cazul deversării zerului în apele reziduale [1-3].

În contextul revoluției energetice actuale, se prevede utilizarea surselor energetice „curate", precum energia solară, eoliană, mareelor, termică oceanică, biomasă sau geotermală, ce oferă alternative tehnologiilor tradiționale [4].

Necesitatea procesării reziduurilor de proveniență biologică, inclusiv a zerului, considerat produs rezidual, iar după multiple dezbateri clasificat ca produs lactat secundar, obținut la procesarea primară a laptelui, constă atât în valoarea biologică înaltă a conținutului solid, inclusiv a celui proteic, cât și, din aspect al diminuării poluării mediului ambiant [5, 6].

Conținutul solid al zerului prezintă 50% din conținutul solid al laptelui, ce include circa 70,1% de lactoză –glucidul principal al laptelui, o sursă bogată de proteine serice (β-Lactoglobuline, α-Lactalbumine, cazeine, proteine cu masă moleculară mare (albumina serică bovină - BSA, lactoferina) etc.) - circa 14%, minerale – circa 7,7%, lipide – circa 5,7 %, alte ingrediente -0,9%, ce numără în total peste 200 de componente [7-9].

Valorificarea zerului prin metode tradiţionale este dificilă din cauza conţinutului scăzut de substanţe solide, ceea ce necesită cheltuieli energetice considerabile. Metodele cunoscute de procesare a zerului (termice (termocoagularea); chimice (complexare, precipitare cu reagenţi); fizico-chimice (osmoza inversă; diafiltrare; microfiltrare; ultrafiltrare; nanofiltrare; dializă; schimb de ioni); biotehnologice (biosinteza; procesare microbiană, enzimatică); electrofizice (electroliza, electrodializa) permit fracționarea consecutivă a componentelor din zer (proteine, minerale, lactoză) [10, 11].

Utilizarea metodelor electrochimice, în special, electroactivarea, permite soluționarea unui șir de probleme ecologice, benefice în procesele industriale alternative, protecția mediului și monitorizarea poluării. Electrotehnologiile pretind a fi unele din cele mai inofensive la procesarea produselor secundare [12, 13].

Elaborarea unor tehnici și tehnologii de procesare non-reziduală a mediilor disperse, în special, a zerului la electroactivare, permite fracționarea proteinelor serice și

obținerea concentratelor proteice minerale îmbogățite predeterminat cu anumite fracții proteice, care ulterior pot fi utilizate la fortificarea diferitor produse alimentare prin mărirea valorii adăugate.

Scopul lucrării constă în stabilirea aspectelor electroactivării zerului în electrolizoarele cu carcasă semicilindrică cu diferiți parametri tehnici și cerințe tehnologice în contextul fracționării proteinelor serice.

METODE ȘI MATERIALE

Electrolizoarele EDC-3 și EDC-pilot (Fig. 1), conţin carcasă dielectrică semicilindrică cu celulele anodului şi catodului, membrană, amplasată pe carcasă semicilindrică; electrozii: catodul, plasat pe carcasa semicilindrică şi anodul plasat pe arborele tubular, au aceleași distanțe între electrozi şi electrozi şi membrană, iar raportul volumului de zer procesat la suprafaţa electrodului V/S, ml/cm^2, sunt:pentru EDC-3 - 2 ml/cm^2 și pentru EDC-pilot – 0.75 ml/cm^2. Electrolizoarele cu carcasă semicilindrică sunt una din variantele optimizate tehnic al ”Electrolizorului cu diafragmă” Brevet de invenție 3496, 2008 [14].

Au fost electroactivate diferite tipuri de zer cu conținut diferit de proteină (furnizate de Societatea pe acțiuni „JLC”, Chișinău, RM): **zer cu conținut înalt de proteină (ZCÎP)**– zer obținut după fabricarea brânzei granulate „Grăuncior”; **zer cu conținut scăzut de proteină (ZCSP) -** zer obținut după fabricarea produsului de brânză, cu conținutul de grăsimi 18%. Electroactivarea s-a efectuat în regim periodic la densitatea curentului electric j=10 și 20 mA/cm^2.

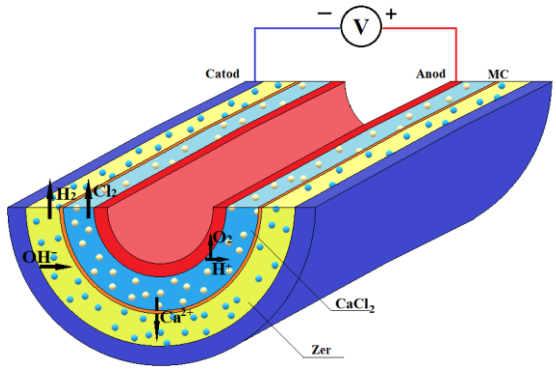


Figura 1. Schema electrolizoarelor cu carcasă semicilindrică EDC-3 și EDC-pilot [15]

Conţinutul fracțiilor proteice (*Q_p*, %) extrase din zer în CPM au fost analizate prin metoda electroforetică în gel de poliacrilamidă cu dodecil sulfat de sodiu, concentrația gelului de acrilamidă - 15%, (SDS-PAGE 15%) [16].

Extragerea maximă a proteinei solubile din CPM s-a efectuat cu soluția tampon - 0.05 M Tris-HCI 0,5 M NaCI, 0,5 mM EDTA, **pH 8.0**, în continuare - ***soluția tampon pH 8.0.***

Conținutul total de proteine solubile (*Q_s*, %) extrase în CPM cu soluțiile tampon a fost determinat prin două metode: metoda micro-biuret și metoda Warburg. Metoda

micro-biuret se bazează pe interacţiunea legăturilor peptidice cu ionii Cu^{2+} într-un mediu alcalin, ce duce la formarea unui complex colorat [17].

Proteinele solubile transferate în soluția tampon pH 8.0 au fost analizate prin SDS-PAGE-15% de, cu sistemul de electroforeză omniPAGE Mini Vertical. Rezultatele obținute au fost scanate prin intermediul Bio-5000 plus, Microtek, imaginile gelurilor scanate au fost retușate în aplicația *Photo Pos Pro*, apoi analizate cu *GelAnalyser 19.1* pentru determinarea procentuală a fracțiilor proteice în CPM.

Analiza electroforetică a concentratelor proteice minerale (CPM) obținute la electroactivarea zerului, în electrolizoarele cercetate, regimi periodic, j=10 şi 20 mA/cm^2, a permis identificarea mai multor fracţii proteice, ce au fost separate în patru grupe: proteine cu masă moleculară mare (HWP), în care au fost identificate 2-5 fracţii cu variaţii ale masei moleculare (MM) 54-249 kDa, ce includ albumina serică bovină (BSA) cu MM 66 kDa, lactoperoxidaza (LP) cu MM 78 kDa şi lactoferină (LF) cu MM 80 kDa precum şi complexe proteice cu MM mare de circa 200-249 kDa; caseinele (CSN), în care au fost identificate 2-3 fracţii–α-CSN, β CSN şi κ-CSN cu MM respectivă de 37, 33 şi 46 kDa; β-lactoglobulina (β-Lg), cu MM 18.2; α-lactalbumina (α-La) cu MM 14.1 kDa .

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Fracționarea proteinelor serice indusă la electroactivarea zerului a permis recuperarea a două concentrate proteice minerale numite convențional - CPM_1 și CPM_2, ce diferă prin conținutul fracțiilor proteice.

CPM_2 se formează la suprafața supernatantului (zerului deproteinizat ZD), la separarea în câmpul forțelor masice (centrifugare G=1500), iar CPM_1 se sedimentează. CPM_2 se extrage spre finele electroactivării (15-20 min de tratare și în proba extrasă din conținutul celulei catodului (CC) la j=20mA/cm^2), ca rezultat al ”capturării” proteinelor serice la agregarea cu lipidele din zer, posibil, atât a lipoproteinelor, cât și a proteinelor cu masă moleculară mică (β-Lg, α-La), dar și a peptidelor care se formează în urma hidrolizei proteinelor serice la acest regim de procesare (Fig. 2).

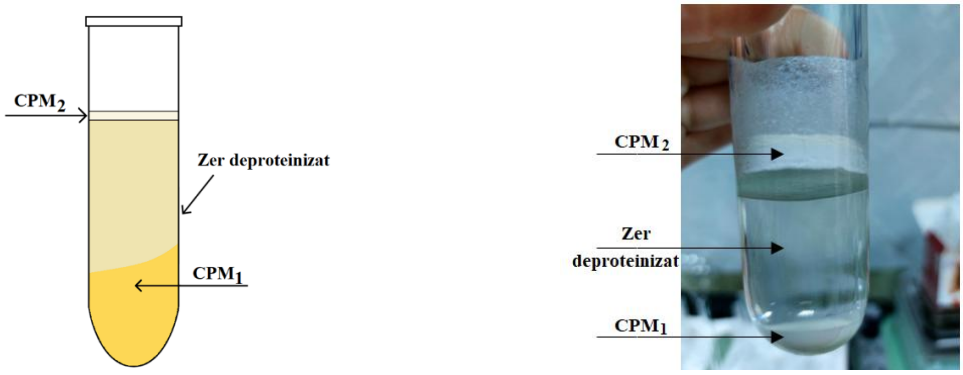


Figura 2. Formarea a două concentrate proteice minerale, numite convențional - CPM_1 și CPM_2, ce diferă prin conținutul proteic, unde CPM_2 se extrage spre finele electroactivării

Electroactivarea în electrolizorul cu diafragmă EDC-3 a ZCÎP, regim periodic, j=20mA/cm^2, a condiționat obținerea a două concentrate proteice minerale CPM_1 și CPM_2.

Variația recuperării fracțiilor proteice (Q_p, %) majore solubile extrase cu soluția tampon pH 8.0, din CPM obținute la electroactivarea ZCÎP, în EDC-3, regim periodic, j=20mA/cm^2, înregistrează o recuperare procentuală (Q_p, %) intensă a β-Lg din primele minute de procesare (circa 73%), iar extragerea α-La se intensifică spre finele electroactivării (circa 56% la 20 min procesare). Extragerea HWP și CSN este minoră cu caracter descendent spre finele procesării. CPM_2 este menționat cu indicele ***(sp)*** (Fig. 3, 4).

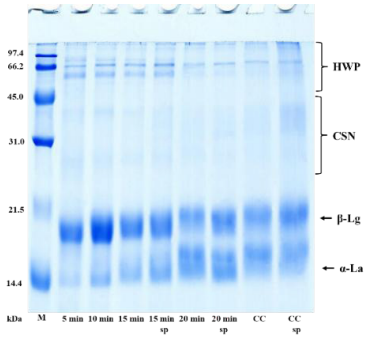


Figura 3. SDS-PAGE 15% a proteinelor solubile extrase soluția tampon, pH 8.0, din CPM, obținute la electroactivarea ZCÎP, în EDC-3, regim periodic, j=20mA/cm^2 (M – marcher, 5-20 min – durata de procesare, 15 min sp, 20 min sp, CC sp, obținute din CPM_2 CC – conținutul celulei catodului)

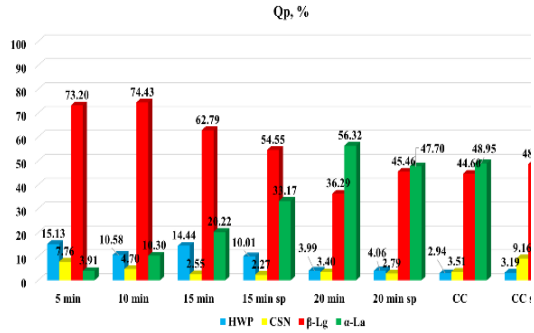


Figura 4. Variația procentuală Q_p,% a recuperării fracțiilor proteice în CPM, obținute la electroactivarea ZCÎP în EDC-3, regim periodic, j=20mA/cm^2 (5-20 min – durata de procesare, 15 min sp, 20 min sp, CC sp, obținute din CPM_2 CC – conținutul celulei catodului)

Variația cantitativă (Q_p, *mg/CPM*) a recuperării fracțiilor proteice în CPM, obținute la electroactivarea ZCÎP în EDC-3, regim periodic, j=20mA/cm^2, menține caracterul extragerii fracțiilor cercetate, și accentuează fracționarea CPM_1 și CPM_2 după 10 min procesare (Fig. 5).

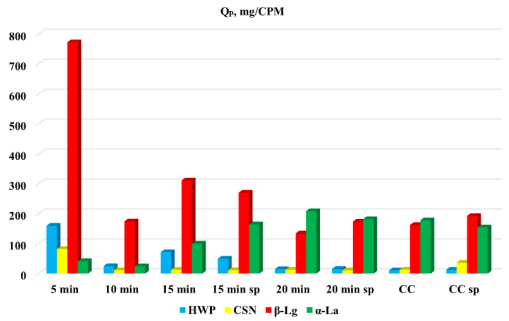


Figura 5. Variația cantitativă Q_p, mg/CPM a recuperării fracțiilor proteice în CPM, obținute la electroactivarea ZCÎP în EDC-3, regim periodic, j=20mA/cm^2 (5-20 min – durata de procesare, 15 min sp, 20 min sp, CCsp, obținute din CPM_2 CC – conținutul celulei catodului)

Electroactivarea **ZCSP**, în EDC-pilot cu parametri tehnici optimizați (V/S = 0.75 ml/cm^2), comparativ cu EDC-3 la regim periodic, **j=10mA/cm^2** și colectarea concentratelor la fiecare 5 minute, cu cercetarea electroforetică cu SDS-PAGE 15%, a conținutului fracțiilor proteice (Q_p,%) extrase cu soluția tampon pH 8.0 din CPM, a permis extragerea neuniformă a β-Lg se pe toată durata procesării și are un conținut considerabil mai redus comparativ cu α-La, ce denotă o extragere maximă de α-La (CPM_1- 88.88%) spre finele procesării (25 min), însă în CPM_2 atât procentual (56.24%), cât și cantitativ conținutul ei este mai redus comparativ cu CPM_1. Menționăm, că α-La este fracția majoră în laptele matern (circa 20-25% conținut în laptele matern) [18], iar recuperarea lor în CPM le atribuie valoare adăugată și va permite utilizarea lor în diferite formule pentru sugari.

HWP se extrag mai intens spre finele procesării, iar CSN se recuperează în CPM în cantități minore. Extragerea neuniformă a β-Lg, mărirea conținutului a HWP și extragerea redusă de CSN în CPM, se argumentează prin participarea lor intensă la formarea compușilor proteici înalt moleculari prin interacțiunea –SH/S-S și nu a fost posibil de detectat cu SDS-PAGE 15% (Fig. 6-8).

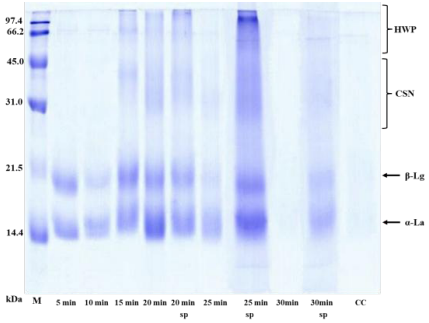


Figura 6. SDS-PAGE 15% a proteinelor solubile extrase soluția tampon, pH 8.0, din CPM, obținute la electroactivarea ZCSP, în EDC-pilot, regim periodic, j=10mA/cm^2 (M – marcher, 5-30 min – durata de procesare, 20 min sp, 25 min sp, 30 min sp obținute din CPM_2, CC – conținutul celulei catodului)

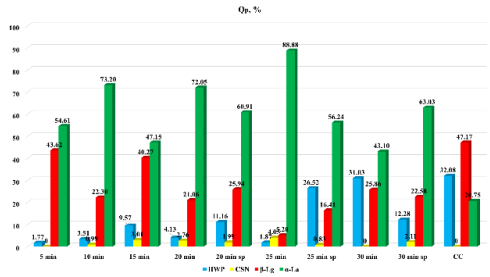


Figura 7. Variația procentuală Q_p,% a recuperării fracțiilor proteice în CPM, obținute la electroactivarea ZCSP în EDC-pilot, regim periodic, j=10mA/cm^2 (5-30 min – durata de procesare, 20 min sp, 25 min sp, 30 min sp obținute din CPM_2, CC – conținutul celulei catodului)

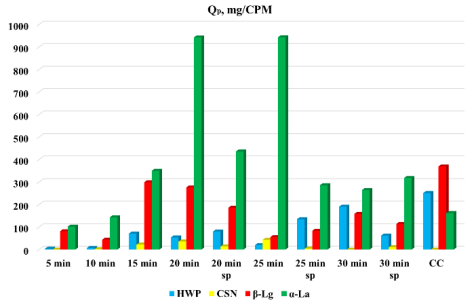


Figura 8. Variația cantitativă Q_p,mg/CPM a recuperării fracțiilor proteice în CPM, obținute la electroactivarea ZCSP în EDC-pilot, regim periodic, j=10mA/cm^2 (5-30 min – durata de procesare, 20 min sp, 25 min sp, 30 min sp obținute din CPM_2, CC – conținutul celulei catodului)

Gestionând atât parametrii tehnici și geometrici a electrolizoarelor utilizate, cât și concentrația molară a ionilor de calciu în celula anodului, electroactivarea diferitor tipuri de zer, permite electrofracționarea proteinelor serice și recuperarea diferită atât în CPM_1, cât și în în CPM_2, îmbogățindu-le cu anumite fracții proteice la diferite regimuri de procesare j=10 și 20mA/cm^2, obținând concentrate cu conținut proteic predeterminat, ce are loc simultan cu izomerizarea a lactozei în lactuloză [19].

CONCLUZII

Electroactivarea diferitor tipuri de zer în electrolizoarele cu carcasă semicilindrică, dar cu capacitate diferită de procesare (raportul V/S ml/cm^2) a permis obținerea a două concentrate proteice minerale CPM_1 și CPM_2.

CPM_2 se obține spre finele procesării și are un conținut sporit de proteine serice cu masă moleculară mică β-Lg și α-La.

Electrolizorul EDC-pilot, ce are parametri tehnici optimizați comparativ cu EDC-3, permite extragerea mai intensă a CPM_2 la un consum specific de energie pe o unitate de volum mai mic.

Procesarea zerului cu conținut scăzut de proteină în EDC-pilot, permite îmbogățirea concentratelor proteice cu α-La (circa 88%) - proteina majoră în laptele matern (α-La circa 20-25%), ce atribuie concentratelor obținute, valoare biologică înaltă și favorizează utilizarea lor în diferite formule pentru sugari.

REFERINȚE:

1. BUCHANAN, D., MARTINDALE, W., ROMEIH, E., HEBISHY, E. Recent advances in whey processing and valorisation: Technological and environmental perspectives. In *International Journal of Dairy Technology,* 2023, 76 (2), pp. 291-312. https://doi.org/10.1111/1471-0307.12935 .
2. ZANDONA, E., BLAŽIĆ, M., JAMBRAK, A.R. Whey utilization: Sustainable uses and environmental approach. In *Food Technology and Biotechnology*, 2021 59 (2), pp. 147-161. https://doi.org/10.17113/ftb.59.02.21.6968 .
3. M. EL-AIDIE, S. A., A. KHALIFA, G. S. Innovative applications of whey protein for sustainable dairy industry: Environmental and technological perspectives—A comprehensive review. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2024, 23 (2), e13319. https://doi.org/10.1111/1541-4337.13319.
4. WANG, F., HARINDINTWALI, J.D., YUAN, Z., WANG, M., et al., Technologies and perspectives for achieving carbon neutrality. In *The Innovation,* 2021, 2 (4) 100180. https://doi.org/10.1016/j.xinn.2021.100180 .
5. PALADII, I. Whey wasteless processing: electroactivation of whey with medium protein content. In: *Intelligent Valorisation of Agro-Food Industrial Wastes*, 7-8 octombrie 2021, Chișinău. Chișinău: Tipografie „MS Logo" SRL, 2021, p. 36. ISBN 978-9975-3464-2-9.

6. ZOTTA T., SOLIERI L., IACUMIN L., PICOZZI C., GULLO M. Valorization of cheese whey using microbial fermentations. In *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104, no. 7, pp. 2749–2764. https://doi.org/10.1007/s00253-020-10408-2.
7. PALADII, I., VRABIE, E., SPRINCEAN, C., BOLOGA, M. Part 1: Classification, Composition, Properties, Derivatives, and Application. In: *Surface Engineering and Applied Electrochemistry*, 2021, 5(57), pp. 579-594. ISSN 1068-3755. DOI: https://doi.org/10.3103/S1068375521050112.
8. PALADII, I. Conţinutul proteic al zerului. În: Conferinţa tehnico-ştiinţifică a studenţilor, masteranzilor şi doctoranzilor, 23-25 martie 2021, Chișinău. Chișinău, Republica Moldova: „Tehnica-UTM", 2021, Vol.1, pp. 432-435. ISBN 978-9975-45-700-2 (Vol. I).
9. TSERMOULA, P., KHAKIMOV, B., NIELSEN, J. H., ENGELSEN, S. B. Whey - The waste-stream that became more valuable than the food product. In *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 118, pp. 230-241. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.025.
10. PALADII, I. V., VRABIE, E. G., SPRINCHAN, K. G., BOLOGA, M. K. Whey: Review. Part 2. Treatment Processes and Methods. In: *Surface Engineering and Applied Electrochemistry*, 2021, *57*, pp. 651-666. https://doi.org/10.3103/S1068375521060119 .
11. PALADII, I. Metode de procesare a zerului. În: *Conferinţa tehnico-ştiinţifică a studenţilor, masteranzilor şi doctoranzilor*, 29-31 martie 2022, Chișinău. Chișinău, Republica Moldova: „Tehnica-UTM", 2022, Vol.1, pp. 476-479. ISBN 978-9975-45-828-3. ISBN (pdf) 978-9975-45-829-0 (Vol. I) (PDF).
12. BERSIER, P.M., LÉON, C.P., WALSH, F.C. Electrochemical approaches to environmental treatment and recycling. In: *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS),* 2011*,* pp. 1-48.
13. GHAZOUANI, M., AKROUT, H., JELLALI, S., BOUSSELMI, L. Comparative study of electrochemical hybrid systems for the treatment of real wastewaters from agri-food activities. In: *The Science of the total environment*, 2019, *647*, pp. 1651–1664. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.023
14. MAXIMUK EVGHENII, BOLOGA MIRCEA, CONDRATENCO SERGHEI, (VRABIE) SPRÎNCEAN ELVIRA. *Electrolizor cu diafragmă.* Brevet de invenție 3496 G2. Institutul de Fizică Aplicată. Nr. depozit a 2006 0171. Data depozit 29.06.2008. Publicat 29.02.208. In: BOPI 11/2008 F1, BOPI 02/2008.
15. PALADII, I., VRABIE, E., BOLOGA, M., VRABIE, V., STEPURINA, T., POLIKARPOV, A., SPRINCEAN, C. Electroactivation: An advanced method of processing of whey with medium protein content. In: *Surface Engineering and Applied Electrochemistry*, 2023, vol. 59, pp. 824-835. ISSN 1068-3755. DOI: https://doi.org/10.3103/S1068375523060145 .

16. LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. In: *Nature*, 1970, 227, pp. 680-185.
17. ITZHAKI, R. F., GILL, D. M. A Micro-Biuret method for estimating proteins. In: *Analytical biochemistry,* 1964, 9, pp. 401–410. https://doi.org/10.1016/0003-2697(64)90200-3 .
18. LÖNNERDAL, B., LIEN, E. L. Nutritional and physiologic significance of alpha-lactalbumin in infants. *Nutrition reviews*, 2003, 61(9), pp. 295–305. https://doi.org/10.1301/nr.2003.sept.295-305
19. PALADII, I., VRABIE, E., BOLOGA, M., VRABIE, V., STEPURINA, T., POLIKARPOV, A., SPRINCEAN, C. Peculiarities of proteins fractionation at electroactivation of whey. In: *Journal of Engineering Science*, 2024, 31 (2), pp. 80-93. ISSN 2587-3474. DOI: https://doi.org/10.52326/jes.utm.2024.31(2).08

N.B. *Articolul a fost elaborat în cadrul subprogramului de cercetare 011203 „Cercetarea și dezvoltarea avantajelor electroconvecției, electroactivării, fluidizării magnetice la intensificarea transferului de căldură și procesării”.*