

## СПЕКТРОМЕТРИЯ РАСТВОРА АЛЬБУМИНА В ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННОЙ ВОДЕ

Погорелов А.Г.<sup>1</sup>, Ипатова Л.Г.<sup>1</sup>, Гулин А.А.<sup>2</sup>, Кузнецов А.Л.<sup>1</sup>, Станкевич А.А.<sup>1</sup>, Погорелова В.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

ул. Институтская, 3, г. Пущино, 142290, РФ

<sup>2</sup> ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова РАН

ул. Косыгина, 4, г. Москва, 119991, РФ; e-mail: agpogorelov@rambler.ru

Поступила в редакцию 27.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0566

**Аннотация.** Электрохимическая активация воды (ЭХАВ) – актуальный метод безреагентного регулирования физико-химических параметров водных пищевых сред. Свойства растворов макронутриентов на основе ЭХА воды могут отличаться от аналогичных растворов на необработанной воде. В работе исследованы закономерности взаимодействия анодной и катодной фракций ЭХАВ с молекулами белка. Состояние ЭХА воды и растворов характеризуется аномальными физико-химическими параметрами (рН, окислительно-восстановительным потенциалом ОВП), что обуславливает их биологическую активность. Растворы как низкомолекулярных, так и высокомолекулярных соединений на основе ЭХА воды могут отличаться по некоторым характеристикам от аналогичных растворов, приготовленных на воде, не подвергнутой электрохимической активации. Используя спектральные подходы (UV спектрометрию, ToF – SIMS), показано, что исследуемый образец монопродукта белковой природы (бычий сывороточный альбумин) и композиция пищевых протеинов (желатин, казеин) подвержены модификации в растворе фракций ЭХАВ. Совокупность полученных данных позволяет предположить то, что наблюдаемые эффекты могут быть обусловлены изменением структуры белка и/или его фрагментацией. Выявленные эффекты влияния анодной и катодной фракций ЭХАВ на свойства сывороточного альбумина подтверждают перспективность направленного использования технологии ЭХА в пищевых производствах с целью смягчения условий технологических процессов. Другими словами, электрохимическая активация является эффективной технологией получения кислотных и щелочных (анолит и католит) экстрагирующих растворов, заменяющих соляную кислоту и гидроксид натрия в производстве пищевых продуктов.

**Ключевые слова:** Электрохимически активированная вода, бычий сывороточный альбумин, вязкость, молекулярная масс-спектрометрия (TOF-SIMS).

### ВВЕДЕНИЕ

Внедрение более экономичных и экологически безопасных приемов обработки пищевого сырья требует разработки новых технологических решений, что не отменяет необходимости поддержания высокого качества производимой продукции [1-3]. Научное сопровождение призвано обеспечить понимание взаимосвязи инновационного подхода и свойств веществ в цепочке производственного процесса, включая подготовку исходного сырья и промежуточных полуфабрикатов, а также получение конечного пищевого продукта и утилизацию отходов производства [4-6]. На изменение структуры и свойств пищевых ингредиентов влияют как физические условия (температура, давление, скорость перемешивания и др.), так и химические взаимодействия с другими нутриентами, в том числе с водой [7-9]. Направленное воздействие на водную основу может играть важную роль в формировании характеристик полуфабриката и готового продукта [10,11]. В связи с этим в настоящей работе рассматривали технологию электрохимической активации (ЭХА) как актуальный метод безреагентного регулирования физико-химических и реологических свойств пищевой системы.

Принцип технологии ЭХА заключается в униполярном (в зоне одного из электродов) электрохимическом воздействии на воду или водные растворы электролитов (электролизе) в анодной или катодной камере диафрагменного или мембранного электрохимического реактора [12,13]. Феномен ЭХА представляет собой совокупность электрохимических и электрических процессов, протекающих в воде в двойном электрическом слое (ДЭС) электродов с неравновесным переносом электрического заряда через ДЭС электронами при интенсивном диспергировании в воде газообразных продуктов электрохимических реакций. В результате обработки воды постоянным электрическим током при электрических потенциалах, превышающих потенциал разложения воды (+1,25 В), вода переходит в метастабильное состояние, которое характеризуется аномальными уровнями активности электронов, окислительно-восстановительным потенциалом (ОВП) и другими физико-химическими параметрами. По завершении воздействия вода сохраняет достигнутое метастабильное состояние длительное время, противодействуя переходу в состояние термодинамического равновесия с окружающей средой [12].

Метастабильные соединения с высокой окислительной (в анолите) или восстановительной (в католите) способностью при хранении растворов постепенно переходят в стабильные в результате серии самопроизвольных структурно-энергетических и химических превращений. В этот период повышается их

реакционная способность по отношению к химическим веществам и биологическим объектам. Метастабильные соединения значительно усиливают проявление кислотных и окислительных свойств анолита [14,15], щелочных и восстановительных свойств католита [16,17]. Электрохимическое неравновесное воздействие приводит к многократному изменению реакционной способности ионов в растворах без изменения их концентрации. Например, в процессе электрохимического воздействия на воду в модульных элементах значения pH полученных католита и анолита соответствуют равновесным концентрациям щелочи и кислоты, многократно превышающим содержание в воде солей, из которых данные щелочи и кислоты теоретически могли быть получены. Значения же ОВП выходят за рамки химических возможностей регулирования при данной электропроводимости [12].

Во многом химическая активность ЭХА воды и растворов обусловлена присутствием электрически активных микропузырьков электролизных газов (размером 0,2 до 5 мкм, концентрация может достигать  $10^6 - 10^7$  мл<sup>-1</sup>), стабилизированных нескомпенсированными электрическими зарядами, сосредоточенными на границе раздела фаз "газ-жидкость" [12,14,18].

Состояние ЭХА воды и растворов характеризуется аномальными физико-химическими параметрами (pH, окислительно-восстановительным потенциалом ОВП), что обуславливает их биологическую активность [13,18,19]. Растворы как низкомолекулярных, так и высокомолекулярных соединений на основе ЭХА воды могут отличаться по некоторым характеристикам от аналогичных растворов, приготовленных на воде, не подвергнутой электрохимической активации [12,16].

ЭХА вода и растворы по-разному функционируют в технологических процессах. Так, в исследовании [20] показано влияние электролизованной воды и сверхчистой воды на экстракцию абрикосового белка. При том же pH = 9,5, эффективность экстракции белка абрикоса электролизованной водой (ЕАР) превосходила эффективность экстракции белка сверхчистой водой (UAP). Пенообразующая способность и стабильность эмульсии ЕАР составляли 11,17% и 36,33 мин, для UAP только 4,75% и 23,88 мин соответственно. По сравнению с UAP, вторичная структура ЕАР была более упорядоченной. Упорядоченные структуры  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -листа составляли 7,5 и 60,2%, в то время как неупорядоченные структуры поворотов и случайных витков составляли 8,4 и 23,8% соответственно. Описанный способ экстракции позволяет повысить выход продукта, оценить и минимизировать структурную деградацию и функциональные свойства абрикосового белка [20].

Технология электроактивации (ЕА) была использована для извлечения белка из жмыха канолы [21]. В катодной камере электролизера под воздействием электрического поля из раствора хлорида натрия NaCl генерировался щелочной раствор с улучшенными экстрактивными свойствами по сравнению с растворами, подвергнутыми химической алкализации. Анализ экстрактивности, состава и вторичной структуры экстрагированных белков подтвердил эффективность данного способа. ЕА проводили при концентрации NaCl 0,01-1 М, продолжительности 10-60 мин, и силе тока 0,2А, 0,3А в трехкамерной ячейке, разделенной ионообменными мембранами.

Полученные растворы использовали для экстракции. Максимальная экстрактивность белка, равная  $34,32 \pm 1,21\%$ , наблюдалась при использовании ЕА раствора, сгенерированного при 0,3А независимо от времени активации. Обычная экстракция в тех же условиях (pH 7-10) дала  $31,18 \pm 1,89\%$  белков. Электрофоретические профили электроактивированных белковых концентратов и изолятов, проанализированных на SDS-PAGE, были четко различимы по сравнению с теми, которые были получены традиционным методом. FTIR-исследование показало значительные различия во вторичных структурах белков в зависимости от pH раствора и концентрации соли. Различие между обычными и ЕА образцами свидетельствует о более низком уровне спектра денатурации для последних [21].

Влияние электрического поля на свойства водных растворов белков объясняется их электропроводностью, обусловленной химической структурой полиэлектролитов со свойствами полиамфолитов. Наличие ионогенных боковых групп в аминокислотных звеньях, чередование кислотных и основных групп обеспечивает макромолекулам характерные электрические, конфигурационные и гидродинамические свойства [22]. В зависимости от концентрации полиэлектролита в растворе, температуры, давления, присутствия низкомолекулярных веществ или величины pH меняется конформация молекул, объем молекулы в растворе, и как следствие, реологические свойства [23-27].

Примером реализации такой взаимосвязи могут служить белки сыворотки крови животных. Сывороточные белки широко используются во многих продуктах благодаря своим полезным питательным свойствам. Апробированным объектом белковой природы считается глобулярная молекула бычьего сывороточного альбумина (BSA), состоящая из нескольких сотен аминокислотных остатков. Трехмерная структура альбумина лабильна, обладает подвижностью и подвержена конформационным изменениям под действием экзогенных факторов [23,26,28]. Для раствора BSA характерно присутствие фрагментов белка разной размерности, где мономеры и агрегаты находятся в состоянии динамического равновесия, а вес полипептидов увеличивается с ростом концентрации альбумина в растворе [26].

На процесс растворения кристаллического альбумина оказывает влияние продолжительность контакта фаз, приводящая к изменению его конформации, образованию или разрушению межмолекулярных связей. Интенсивность постепенированного структурирования растворов альбуминов и усиления его поверхностных свойств зависит от pH раствора и значения pH изоэлектрической точки (ИЭТ). Значительное увеличение мутности растворов и уменьшение их вязкости вблизи ИЭТ обусловлено минимальной энергией электростатического отталкивания между боковыми цепями молекул альбумина и самими молекулами. Образующиеся при этом более плотные и компактные агрегаты большего размера меньше влияют на течение жидкости и значительно

увеличивают светорассеяние. Вследствие процессов структурирования растворов в зависимости от концентрации белка нелинейно изменяются их мутность и вязкость [24,27].

Поверхностная активность альбумина существенно повышается с увеличением концентрации протонов. Предположительно, в кислой среде больше неполярных группировок выходит на поверхность молекулы, чем в нейтральной или слабощелочной среде. Очевидно, при физиологических значениях pH поверхностная активность молекул альбумина минимальна [27].

Процесс денатурации и агрегации изолятов сывороточного белка зависит от pH среды - эффект, который получил широкое применение в пищевых технологиях. Показано, что с уменьшением кислотности до pH=1 происходит денатурация BSA, сопровождающаяся конформационным переходом, во время которого происходит потеря третичной структуры и разворачивание полипептидной цепи молекул BSA, приводящие к увеличению размеров агрегатов [26]. В сильнощелочной среде (2N раствор NaOH с pH 12,4 ± 0,4 или щелочная электролизованная вода с pH 11,5 ± 0,4) наблюдается более выраженный текстурный эффект, чем в условиях кислой среды (2N HCl с pH 2,0 ± 0,2 или кислая электролизная вода с pH 2,5 ± 0,2) [29].

В растворе альбумин, как полиэлектролит с высокой конформационной подвижностью, должен реагировать не только на изменение кислотности раствора, но и его окислительно-восстановительного потенциал, что характерно для описанной выше технологии электрохимической активации. Протеиновая составляющая биологической матрицы (в том числе пищевого сырья или продукции) наряду с жирами и углеводами относится к макронутриентам и подвергается разнообразным изменениям и превращениям в технологических процессах. Поэтому выявление закономерностей взаимодействия ЭХАВ с молекулами пищевых веществ, в частности белков, является актуальным и интересным с точки зрения перспектив безреагентного управления свойствами и поведением биологического сырья в технологической цепочке производства пищевых продуктов. Ряд проблем, связанных с потерями пищевых веществ в результате переработки пищевого сырья, может быть решен при использовании электрохимической активации. Ресурсосбережение и щадящие условия технологических процессов могут стать положительным итогом применения указанной технологии в пищевом производстве. Цель данной работы состояла в изучении методами вискозиметрии, UV-спектрометрии и времяпролетной масс-спектрометрии вторичных ионов (TOF-SIMS) свойств сывороточного альбумина в образцах воды, подвергнутой электрохимической активации в анодной или катодной камере электрохимического реактора.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Подготовка образца.** Объектом исследования служил бычий сывороточный альбумин BSA100 (Merck, Sigma-Aldrich). В качестве дополнительных объектов исследований применяли препараты, содержащие белки казеин и желатин пищевой быстрорастворимый (Dr. Oetker, ООО Оеткер, Россия, ТУ 20.59.60-011-42450906-2018). Для UV спектрометрии, времяпролетной масс-спектрометрии вторичных ионов (TOF-SIMS) и электрофореза готовили маточный водный 1% раствор белка, который затем разводили в соотношении 1:4 водой или ЭХАВ. Фракции ЭХАВ, католит (pH 8,2, ОБП -800 мВ) и анолит (pH 2,2, ОБП +800 мВ) получали на установке для очистки пресной питьевой воды, посредством прямого электрохимического воздействия на очищаемую воду в диафрагменных модульных электрохимических элементах (ООО «Делфин Аква», Россия). В качестве контроля применяли артезианскую воду (pH 7,2, ОБП +360 мВ) из городского водопровода. В эксперименте по исследованию вязкости раствора, ЭХАВ с отрицательным значением ОБП получали на установке «Изумруд-К1» (ОАО НПО «Экран»), последовательно пропуская водопроводную воду через ряд стадий:

- анодную камеру проточного электрохимического модуля ПЭМ-3, где происходит обеззараживание воды за счет образования пероксидных и хлоркислородных соединений, насыщение воды кислородом, озоном, что обеспечивает уничтожение микроорганизмов, окисление органических примесей;
- реакционно-флотационный реактор с целью удаления скоагулировавших продуктов анодной обработки на полученных электролитически микропузырьках кислорода и озона;
- гетерофазный каталитический реактор, где происходит удаление соединений активного хлора с одновременным образованием соединений активного кислорода;
- катодную камеру модуля, где остаточные количества ионов железа, меди, магния и др. переводятся в нерастворимые гидроксиды, которые затем удаляются во флотационном и электрокинетическом реакторах. В процессе катодной обработки в воду поступает молекулярный водород и свободные гидроксильные группы, придавая воде отрицательный ОБП и антиоксидантные свойства.

Показатели ЭХАВ соответствовали значениям pH 7,3 и ОБП -223 мВ, а для исходной воды эти значения были 7,3 и +190 мВ, соответственно. Величину кислотности (pH) и окислительно-восстановительный потенциал раствора измеряли с помощью многопараметрического прибора SevenExcellence S470 (METTLER TOLEDO, Швейцария), оснащенного pH-электродом (Inlab Routine Pro, Mettler Toledo, Швейцария), электродом ОБП (Inlab Redox Pro, Mettler Toledo, Швейцария). В зависимости от концентрации BSA кислотность раствора принимала значение pH в диапазоне 7,2÷7,6 для ЭХАВ и 7,9÷8,6 для водопроводной воды.

**UV-vis спектрометрия.** Наличие эффекта действия ЭХАВ оценивали посредством спектрометрии водных растворов белка. Для этого регистрировали оптическую плотность в спектре поглощения образца в области ультрафиолета на длине волны 235 и 280 нм с помощью спектрофотометра Shimadzu UV-2401PC (Япония).

**Времяпролетная масс-спектрометрия вторичных ионов (TOF-SIMS).** Образцы для масс-спектрометрии получали следующим образом. Капли раствора BSA в воде или фракциях ЭХАВ, объемом 2 мкл каждая, наносили на чистую стеклянную подложку, поверхность которой покрыта токопроводящей пленкой ITO- indium tin oxide (Sigma-Aldrich). После высушивания в струе инертного газа, например, азота, образец переносили в камеру масс-спектрометра вторичных ионов TOF-SIMS 5 (ION-TOF GmbH, Германия). Препарат ионизировали пучком первичных ионов  $Bi_3^+$  с энергией 30 кэВ, диаметром 200 нм. После воздействия длительностью 70 нс и последующей регистрации вторичных ионов (~80 мкс) пучок перемещался в следующую точку поверхности. Плотность дозы облучения первичными ионами не превышала  $\approx 5 \times 10^{12}$  ионов/см<sup>2</sup>. Для оценки различий между полученными масс-спектрами применили метод PCA (principal component analysis) [30,31].

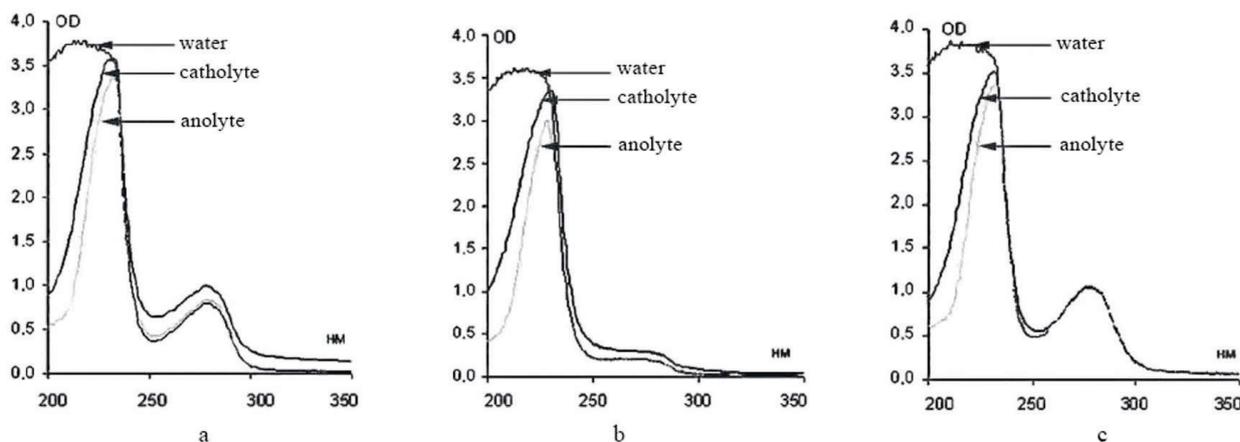
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**UV спектрометрия.** Эффект действия ЭХАВ на белок оценивали посредством спектрометрии водных растворов в области ультрафиолета. Такой спектр поглощения раствора, содержащего различные виды биомолекул, не является специфичным, но позволяет проводить сравнительный анализ интегральных изменений в образце. Для сравнения в эксперименте изучали препараты BSA, пищевого желатина и казеина (рис. 1).

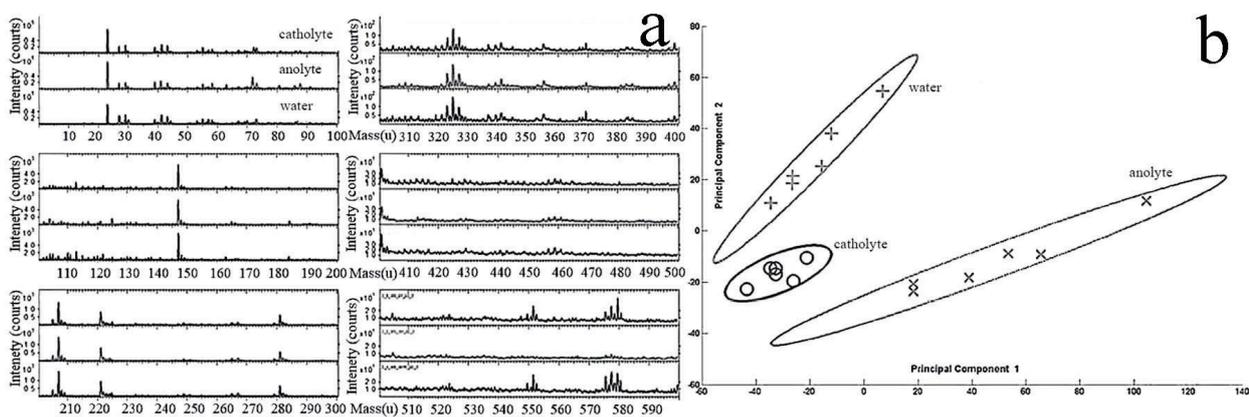
Видно (рис. 1), что комплекты полученных спектров поглощения по виду идентичны для всех исследуемых белков. Для растворов фракций ЭХАВ, по сравнению с раствором в воде, характерно уменьшение оптической плотности и появление пика поглощения в области 235 нм и 280 нм. Если сравнивать между собой эффект фракций ЭХАВ, то для всех исследуемых образцов следует отметить незначительное превышение уровня поглощения раствора белка в католите. Описанные изменения наиболее выражено наблюдаются в растворе биохимически чистого альбумина (рис. 1а), по сравнению с образцами пищевого желатина и казеина (рис. 1б, рис. 1в). Таким образом, результаты UV спектрометрии демонстрируют модификацию белка в растворе фракций ЭХАВ. Дополнительные данные о состоянии альбумина в растворе дает молекулярная масс-спектрометрия (ToF-SIMS).

**Времяпролетная масс-спектрометрия вторичных ионов (TOF-SIMS).** Молекулярный анализ белка проводили с применением времяпролетной масс-спектрометрии вторичных ионов (TOF-SIMS) на препарате, который получали после высыхания в струе чистого воздуха капли раствора, нанесенной на покровное стекло. Данные TOF-SIMS содержат информацию о составе образца, молекулярной ориентации, порядке поверхности, химическом связывании, чистоте образца. При помощи TOF-SIMS был получен масс-спектр каждого препарата. Для оценки различий между спектрами применяют ряд методов классификации данных. Один из наиболее популярных приемов, используемых в масс-спектрометрии, – метод главных компонент (principal component analysis, PCA), который позволяет очерить 95% доверительный интервал на основе анализа наиболее интенсивных пиков масс-спектров [30,31].

Кратко, программа получает 20 главных компонент, чем выше номер компоненты, тем большую вариацию данных она отражает. На практике не требуется такое число координат поэтому, обычно для анализа схожести образцов использовали пространство первых двух компонент. Описанная выше методика подготовки препаратов белковых растворов для ToF-SIMS и их сравнительный анализ (PCA) были применены ко всем образцам биологических макромолекул, исследуемых в данной работе. Результаты молекулярной масс-спектрометрии представлены на рисунке 2.



**Рисунок 1.** Неспецифические UV спектры поглощения 0,20% растворов белка в воде или водных фракциях ЭХАВ (католит, анолит): (а) растворы альбумина, (б) растворы желатина, (с) растворы казеина



**Рисунок 2.** Результаты ToF-SIMS анализа образцов BSA, приготовленных из раствора белка в воде (контроль) или фракциях ЭХАВ (анолит, католит): (а) интервалы молекулярных масс, где везде нижний масс-спектр соответствует контролю (water), средний - после обработки анолитом (anolyte), верхний - после обработки католитом (catholyte); (б) эллипсами обозначены 95% доверительные интервалы для групп из 6 измерений в каждой. Сравнение различий между масс-спектрами образцов проведено методом PCA

Характерный масс-спектр BSA, растворенного в воде или фракциях ЭХАВ, приведен на рисунке 2а. Сравнение данных ToF-SIMS анализа (рис. 2б) свидетельствуют о значимом различии между собой всех трех препаратов. Белок, обработанный католитом, показывает значительную гетерогенность, по сравнению с контролем и особенно относительно обработки анолитом. Обработка анолитом оказывает фокусирующее действие на пробы белка, если сравнивать с гетерогенной группой образцов, полученных из раствора альбумина в католите или воде. Отметим, что изменение масс-спектра может быть обусловлено образованием новых пиков и/или изменением интенсивности схожих пиков. Результаты молекулярного анализа BSA статистически достоверно подтвердили данные UV спектрометрии (рис. 1а) о наличии модификации альбумина под действием фракций ЭХАВ. В совокупности, изменение физико-химических свойств белка позволяет прогнозировать изменение реологических свойств (вязкости) раствора.

Завершая обсуждение результатов, следует отметить следующее. Используя спектральные подходы, показано, что исследуемый образец монопродукта белковой природы (альбумин) и композиция пищевых протеинов (желатин, казеин) подвержены модификации в растворе фракций ЭХАВ. Совокупность полученных данных позволяет предположить то, что наблюдаемые эффекты могут быть обусловлены изменением структуры белка и/или его фрагментацией. Выявленные эффекты влияния анодной и катодной фракций ЭХАВ на свойства сывороточного альбумина подтверждают перспективность направленного использования технологии ЭХА в пищевых производствах с целью смягчения условий технологических процессов. Другими словами, электрохимическая активация является эффективной технологией получения кислотных и щелочных (анолит и католит) экстрагирующих растворов, заменяющих соляную кислоту и гидроксид натрия в производстве пищевых продуктов.

*Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 20-16-00019).*

#### **Список литературы / References:**

1. Davis K.F., Downs S., Gephart J.A. Towards Food Supply Chain Resilience to Environmental Shocks. *Nature Food. Springer Science and Business Media*, 2020, vol. 2, pp. 54-65.
2. Li X., Liao Y., Zhu G., Yu G. Analysis of Residents' Food Safety Satisfaction from the Perspective of Income Heterogeneity. *Scientific Reports*, 2021, vol. 11, pp. 85-91.
3. Fung F., Wang H-S., Menon S. Food Safety in the 21st Century. *Biomedical J.*, 2018, vol. 41, pp. 88-95.
4. Prosekov A.Y., Ivanova S.A. Providing Food Security in the Existing Tendencies of Population Growth and Political and Economic Instability in the World. *Food and Raw Materials*, 2016, vol. 4, pp. 201-211.
5. Socas-Rodriguez B., Alvarez-Rivera G., Valdes A., Ibanez E., Cifuentes A. Food By-Products and Food Wastes: are they Safe Enough for Their Valorization? *Trends in Food Science & Technology*, 2021, vol. 114, pp. 133-147.
6. Kasza G., Szabo-Bodi B., Lakner Z., Izso T. Balancing the Desire to Decrease Food Waste with Requirements of Food Safety. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, vol. 84, pp. 74-76.
7. Athayde D.R., Flores D.R.M., da Silva J.S., Genro A.L.G., Silva M.S., Klein, B. Application of Electrolyzed Water for Improving Pork Meat Quality. *Food Research International*, 2017, vol. 100, pp. 757-763.
8. Qian J., Wang C., Zhuang H., Zhang J., Yan W. Oxidative Stress Responses of Pathogen Bacteria in Poultry to Plasma-Activated Lactic Acid Solutions. *Food Control*, 2020, vol. 118, p. 1073555.
9. Timakova R.T., Tikhonov S.L., Tikhonova N.V., Gorlov I.F., Effect of Various Doses of Ionizing Radiation on the Safety of Meat Semi-Finished Products. *Foods and Raw Materials*, 2018, vol. 6, pp. 120-127.
10. Cayemite P.E., Gerliani N., Raymond P., Aider M. Study of the Impacts of Electro-activated Solutions of Calcium Lactate, Calcium Ascorbate and Their Equimolar Mixture Combined with Moderate Heat Treatments on the

Spores of *Bacillus Cereus* ATCC 14579 under Model Conditions and in Fresh Salmon. *Int. J. Food Microbiology*, 2021, p. 109285.

11. Zwietering M.H., Jacxsens L., Membre J-M., Nauta M., Peterz M. Relevance of Microbial Finished Product Testing in Food Safety Management. *Food Control*, 2016, vol. 60, pp. 31-43.

12. Bakhir V.M., Pogorelov A.G., Universal electrochemical technology for environmental protection. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci.*, 2018, vol. 7, pp. 41-57.

13. Shirahata S., Hamasaki T., Teruya K., Advanced Research on the Health Benefit of Reduced Water. *Trends in Food Science & Technology*, 2012, vol. 23, pp. 124-131.

14. Suvorov O.A., Kuznetsov A.L., Shank M.A., Volozhaninova S.Yu., Pugachev I.O., Pasko O.V. Electrochemical and Electrostatic Decomposition Technologies as a Means of Improving the Efficiency and Safety of Agricultural and Water Technologies. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci.*, 2018, vol. 7, pp. 43-52.

15. Yan P., Daliri EB-M., Oh D-H. New Clinical Applications of Electrolyzed Water: A Review. *Microorganisms*, 2021, vol. 9, p. 9010136.

16. Ignatov I., Mosin O., Gluhchev G., Karadzhov S., Miloshev G. The Evaluation of the Mathematical Model of Interaction of Electrochemically Activated Water Solutions (Anolyte and Catholyte) with Water. *European Reviews of Chemical Research*, 2015, vol. 4, pp. 72-86.

17. Gorbacheva M., Tarasov V., Kalmanovich S., Sapozhnikova A. Electrochemical Activation as a Fat Rendering Technology. *Foods and Raw Materials*, 2021, vol. 9, pp. 32-42.

18. Ito H., Kabayma S., Goto K. Effects of Electrolyzed Hydrogen Water Ingestion During Endurance Exercise in a Heated Environment on Body Fluid Balance and Exercise Performance. *Temperature*, 2020, vol. 7, pp. 290-299.

19. Henry M., Chambron J. Physico-Chemical, Biological and Therapeutic Characteristics of Electrolyzed Reduced Alkaline Water (ERAW). *Water*, 2013, vol. 5, pp. 2094-2115.

20. Li Z-H., Zhou B., Li X-T., Li S-G. Effect of Alkaline Electrolyzed Water on Physicochemical and Structural Properties of Apricot Protein Isolate. *Food Sci Biotechnol*, 2019, vol. 28, pp. 15-23.

21. Gerzhova A., Mondor M., Benali M., Aider M. A Comparative Study Between the Electro-activation Technique and Conventional Extraction Method on the Extractability, Composition and Physicochemical Properties of Canola Protein Concentrates and Isolates. *Food Bioscience*, 2015, vol. 11, pp. 56-71.

22. Krol Z., Malik M., Marycz K., Jarmoluk A. Characteristic of Gelatine, Carrageenan and Sodium Alginate Hydrosols Treated by Direct Electric Current. *Polymers*, 2016, vol. 8, pp. 275-281.

23. Safonov V.I., Miniaeva O.A. *Mathematical analysis of functional dependences of the viscosity of biological systems*. In: 67th scientific conference of the Natural Sciences Section, 2015, pp. 455-460.

24. Zhang Z., Arrighi V., Campbell L., Lonchamp J., Euston S.R. Properties of Partially Denatured Whey Protein Products 2: Solution Flow Properties. *Food Hydrocolloids*, 2016, vol. 56, pp. 218-226.

25. Dharmaraj V.L., Godfrin P.D., Liu Y., Hudson S.D. Rheology of Clustering Protein Solutions. *Biomicrofluidics*, 2016, vol. 10, p. 4955162.

26. Polianichko A.M., Mikhailov N.V., Romanov N.M., Baranova I.U.G., Chikhirzhina E.V. Intermolecular Interactions of Serum Albumin in Solution. *Cytology*, 2016, vol. 58, pp. 707-713.

27. Pavlova E.Yu., Dmitrieva I.B., Kergentsev A.A., Drozdov M.A., Egorova A.R., Rudenko A.E. Influence of the concentration of the dispersed phase and the acidity of the medium on the colloidal properties of aqueous solutions of egg albumin and human serum albumin. *Butlerov Readings*, 2018, vol. 53, pp. 43-48.

28. Bujacz A. Structures of Bovine, Equine and Leporine Serum Albumin. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 2012, vol. 68, pp. 1278-1289.

29. Onwulata C.I., Isobe S., Tomasula P.M., Cooke P.H. Properties of Whey Protein Isolates Extruded under Acidic and Alkaline Conditions. *Journal of Dairy Science*, 2006, vol. 89, pp. 71-81.

30. Graham D.J., Wagner M.S., Castner D.G. Information from complexity: Challenges of TOF-SIMS data interpretation. *Applied Surface Science*, 2006, vol. 252, pp. 6860-6868.

31. Graham D.J., Castner D.G. Multivariate Analysis of ToF-SIMS Data from Multicomponent Systems: The Why, When, and How. *Biointerphases*, 2012, vol. 7, pp. 49-61.

## SPECTROMETRY OF SERUM ALBUMIN SOLUTION IN ELECTROCHEMICALLY ACTIVATED WATER

Pogorelov A.G.<sup>1</sup>, Ipatova L.G.<sup>1</sup>, Gulin A.A.<sup>2</sup>, Kuznetsov A.L.<sup>1</sup>, Stankevich A.A.<sup>2</sup>, Pogorelova V.N.<sup>1</sup><sup>1</sup> Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS  
Institutskaya st., 3, Pushchino, Moscow Oblast, 142290, Russia<sup>2</sup> N.N. Semenov` Institute of Chemical Physics RAS  
Kosygina st. 4, Moscow, 119991, Russia; e-mail: agpogorelov@rambler.ru  
Received 27.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpcc.2022.0566

**Abstract.** Electrochemical activation of water (ECAW) is a topical method of reagent-free regulation of physicochemical parameters of aquatic food environments. The properties of solutions of macronutrients based in ECAW may differ from similar solutions on untreated water. In this work, the regularities of the interaction of the anodic and cathodic fractions of ECAW with protein molecules have been investigated. ECAW state and solutions are defined by anomalous physical chemical features (pH, redox potential) that provide their biological activity. Solutions both low molecular and high molecular compounds prepared on the basis of ECAW can be distinguished from solutions prepared with non activated water. Applying spectral approaches (UV spectrometry, ToF – SIMS), it was shown that the analyzed mono product of protein nature (bovine serum albumin) and the complex food proteins (gelatin, casein) were modified in ECAW fractions. A number of data obtained allows us to suggest that funded effects may be provided with changes of structure in the protein and/ or its fragmentation. The shown results of the anolyte and catholyte impact on properties of bovine serum albumin confirm the perspective of the direct use of ECAW approach in the food industry for aim to improve the parameters of technological process. In the other words, electrochemical activation is the efficacious way to get acidic and alkalic solutions for replacing NaCl acid and sodium hydroxide in the industry of foodstuffs.

**Key words:** *electrochemically activated water, bovine serum albumin, viscosity, molecular mass spectrometry (TOF-SIMS).*