

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 637.344



На правах рукописи

**ХАЗОВ ДМИТРИЙ СЕРГЕЕВИЧ**

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ СУХОЙ НИЗКОЛАКТОЗНОЙ  
СЫВОРОТКИ**

4.3.3. Пищевые системы

4.3.5. Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата технических наук

Научный руководитель:  
доктор технических наук,  
профессор, член-корреспондент  
Российской академии наук  
Евдокимов Иван Алексеевич

Ставрополь – 2026

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	10
1.1. Основные направления переработки молочной сыворотки в современных условиях.....	10
1.2. Состав и свойства молочной сыворотки, как сырья для продуктов с регулируемым составом .....	16
1.3. Современные технологии регулирования компонентного состава молочной сыворотки.....	22
1.4. Анализ возможности корректировки компонентного состава молочной сыворотки баро- и электромембранными методами .....	24
1.5. Сравнительный анализ физико-химических и биотехнологических методов корректировки углеводного состава молочной сыворотки .....	30
1.5.1. Научно-технические основы кристаллизации лактозы как метода фракционирования углеводного компонента.....	31
1.5.2. Возможности использования ферментативного гидролиза лактозы для корректировки углеводного состава молочной сыворотки .....	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДЫ И ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	40
ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЛАКТОЗЫ В ПОДСЫРНОЙ СЫВОРОТКЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ.....	47
3.1. Исследование влияния процесса наночистотной обработки на эффективность делактозирования методом кристаллизации .....	47
3.2. Изучение влияния промывки кристаллов на компонентный состав делактозированной сыворотки.....	58

3.3. Изучение особенностей процесса деминерализации делактозированной сыворотки.....	68
3.4. Изучение процесса деминерализации делактозированной подсырной сыворотки методом мембранной емкостной деионизации (МЕДИ) .....	70
3.5. Изучение процесса деминерализации делактозированной подсырной сыворотки методом электродиализа .....	75
ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЛАКТОЗЫ В ДЕЛАКТОЗИРОВАННОЙ СЫВОРОТКЕ МЕТОДОМ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА.....	81
4.1. Систематический анализ факторов, детерминирующих каталитическую активность промышленных препаратов $\beta$ -галактозидазы .....	81
4.2. Сравнение каталитической активности ферментных препаратов $\beta$ -галактозидаз <i>K. Lactis</i> при гидролизе лактозы в делактозированной сыворотке .....	88
4.3. Изучение влияния уровня деминерализации делактозированной сыворотки на каталитическую активность $\beta$ -галактозидазы <i>K. Lactis</i> .....	94
4.4. Исследование влияния корректировки углеводного состава на процессы обезвоживания системы «низколактозная сыворотка».....	104
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ СУХОЙ НИЗКОЛАКТОЗНОЙ СЫВОРОТКИ И ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ С УЧЕТОМ ТРЕБОВАНИЙ НАССР.....	119
5.1. Разработка технологии сухой низколактозной сыворотки.....	119
5.2. Определение хранимоспособности сухой низколактозной сыворотки	127
5.3. Оценка безопасности разработанной технологии с учетом требований НАССР.....	131
5.4. Экономическая эффективность производства сухой низколактозной сыворотки.....	133
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	135
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	137
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	140

ПРИЛОЖЕНИЯ.....	165
Приложение А. ....	165
Приложение Б. ....	169
Приложение В. ....	172
Приложение Г. ....	174
Приложение Д. ....	176
Приложение Е.....	177
Приложение Ж. ....	178
Приложение З. ....	181

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования.**

В структуре перерабатываемого молока в Российской Федерации, как и в мировой практике, доминирующую долю (около 50 %) занимает производство высокобелковых продуктов – сыров, творога и казеина. Технологический цикл получения таких продуктов неизбежно сопряжен с образованием значительных объемов вторичного сырья, основным из которых является молочная сыворотка.

Фундаментальные и прикладные аспекты переработки молочной сыворотки широко освещены в научной литературе. Однако, несмотря на высокую степень изученности ее состава и свойств, проблема полного и рационального использования молочной сыворотки остается актуальной. Это обусловлено, в первую очередь, постоянно возрастающими масштабами производства. Так, согласно отраслевой статистике, ежегодный объем производства молочной сыворотки в России превышает 3 млн тонн. Наибольшую долю, порядка 70,0 %, составляет подсырная сыворотка, которая является самым технологичным видом сырья для глубокой переработки благодаря относительной стабильности состава и физико-химических характеристик.

Одним из перспективных направлений исследований в этой области является оптимизация технологических приемов, базирующаяся на комбинации физико-химических и биотехнологических методов направленной корректировки углеводного и белкового профилей сырья. Реализация данного подхода позволяет обеспечить технологическую гибкость производства и оперативно реагировать на диверсификацию потребительского спроса. В частности, разработка режимов, обеспечивающих получение ингредиентов с пониженным содержанием лактозы, является востребованной как для создания продуктов специализированного назначения, так и для расширения линейки продуктов здорового питания.

### **Степень разработанности темы исследования.**

Вопросами разработки эффективных технологий переработки молочной сыворотки занимаются в Северо-Кавказском федеральном университете, Ярославском государственном институте качества сырья и пищевых продуктов, во Всероссийском НИИ маслодельной и сыродельной промышленности.

Среди ученых, проводивших исследования в сфере переработки молочной сыворотки, можно отметить Л.А. Остроумова, Э.Ф. Кравченко, В.Д. Харитонов, В.Г. Куленко, Е.А. Фиалкову, Н.Н. Липатова, П.Г. Нестеренко, А.А. Розанова, К.К. Полянского, Е.И. Мельникову, В.А. Павлова, И.А. Евдокимова и др. Большой вклад в научную основу технологий молочной сыворотки внес А.Г. Храмцов.

### **Цель и задачи исследования.**

Цель работы: разработать научно-обоснованную технологию низколактозной сыворотки с использованием физико-химических и биотехнологических методов делактозирования сырья.

Задачи исследований:

- на основании научно-технических и литературных данных обосновать выбор кристаллизации и ферментативного гидролиза, как способов снижения содержания лактозы во вторичном молочном сырье;
- исследовать влияние степени деминерализации методом нанофильтрационной обработки на эффективность делактозирования сырья при кристаллизации;
- изучить влияние процесса промывки кристаллов лактозы на компонентный состав делактозированной сыворотки, определить оптимальные параметры промывки для повышения массовой доли белка в делактозированной сыворотке;
- сравнить эффективность деминерализации делактозированной сыворотки методом электродиализа и емкостной деионизации и обосновать выбор оптимального метода;

- исследовать влияние степени деминерализации на процесс гидролиза делактозированной деминерализованной сыворотки  $\beta$ -галактозидазой;
- изучить влияние компонентного состава и реологических свойств делактозированной и низколактозной сыворотки на процесс распылительной сушки и свойства сухих продуктов;
- на основании обобщенного анализа результатов исследований разработать и апробировать технологию низколактозной сыворотки распылительной сушки;
- определить показатели качества, сроки годности готового продукта и провести оценку экономической эффективности разработанной технологии.

### **Научная новизна.**

Предложена интегрированная технология, включающая двухэтапный метод снижения содержания лактозы в молочной сыворотке: физико-химический (кристаллизация) и ферментативный (гидролиз с использованием  $\beta$ -галактозидазы).

Обоснованы оптимальные параметры промывки кристаллов лактозы (температура (20 – 30) °С, количество промывной воды (50 – 90) % от массы сырья), позволяющие обеспечить максимальный переход белковой фракции в делактозированную сыворотку. Впервые проведено сравнение двух методов деминерализации: электродиализа и метода мембранной емкостной деионизации, установлено, что электродиализ обеспечивает более высокую степень деминерализации (до 90 %), что делает его предпочтительным для получения продукта с повышенным содержанием белка. Доказано, что наиболее эффективно процесс ферментативного гидролиза лактозы протекает в делактозированной сыворотке со степенью деминерализации (50,0 – 70,0) %,

Доказано влияние соотношения углеводов/белок на реологические свойства систем, обуславливающие оптимальные параметры сушки низколактозной сыворотки после физико-химической и ферментативной обработки.

## **Теоретическая и практическая значимость работы.**

Теоретическую значимость представляют полученные сведения о закономерностях направленного изменения компонентного состава при делактозировании подсырной сыворотки путем кристаллизации лактозы, определяющем влиянии ионного равновесия среды в процессах ферментативного гидролиза лактозы, а также взаимосвязи белкового состава и реологических свойств продукта, обуславливающим технологические режимы концентрирования и сушки.

Разработана технология сыворотки молочной низколактозной, деминерализованной сухой (ТУ 10.51.55.150-016-37676459-2025), апробированная на АО «Молочный комбинат «Ставропольский».

С практической точки зрения, разработанная технология позволяет расширить ассортимент продукции переработки молочной сыворотки.

## **Методология и методы исследования.**

Исследования базируются на трудах отечественных и зарубежных авторов, посвященных получению делактозированной сыворотки. Применялись как общепринятые методы контроля качества молочных продуктов, так и специфические лабораторные методики. Для обработки экспериментальных данных использовали пакет анализа данных Microsoft Office Excel 2021, статистический анализ данных выполнялся в пакете Statistica 12.0.

## **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Закономерности деминерализации сырья с использованием нанофильтрации, электродиализа и мембранной емкостной деионизации.
2. Закономерности перехода компонентов молочной сыворотки в межкристалльную жидкость в процессе декантирования и промывки кристаллов лактозы.
3. Результаты экспериментальных исследований ферментативного гидролиза лактозы в делактозированной сыворотке.

4. Анализ влияния компонентного состава делактозированной сыворотки на процессы сушки и функционально-технологические свойства сухих ингредиентов.

#### **Степень достоверности и апробация результатов.**

Для определения статистической значимости использовали дисперсионный анализ с апостериорным тестом Тьюки (уровень значимости  $p \leq 0,05$ ). Эксперименты проводили в 3 – 5 повторностях.

Сравнение средних значений между экспериментальными группами проводили с применением t-критерия Стьюдента.

Основные результаты работы представлены на международных научно-практических конференциях и симпозиумах: «Актуальные проблемы прикладной биотехнологии и инженерии» (Оренбург, 2023), «Пищевые здоровьесберегающие технологии» (Кемерово, 2023), «Пищевая индустрия: инновационные процессы, продукты и технологии» (Москва, 2024), «Современные достижения биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты» (Ставрополь, 2024), «Поландовские чтения» (Москва, 2025), «Современные достижения биотехнологии: вектор на технологическое лидерство» (Ставрополь, 2025).

По результатам диссертационного исследования опубликовано 12 научных работ, в том числе 3 публикации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

**Соответствие темы паспорту научной специальности.** Диссертационные исследования соответствуют п. 5, 8, 11, 12, 13, 15, 20, 25, 36 паспорта специальности 4.3.3. – Пищевые системы и п. 7, 8, 11, 16, 26, 29, 30 паспорта специальности 4.3.5. – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ.

# ГЛАВА 1. СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЙ

## 1.1. Основные направления переработки молочной сыворотки в современных условиях

Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013) определяет молочную сыворотку как побочный продукт переработки молока, полученный при производстве сыра, творога или казеина. Однако в современной пищевой промышленности сыворотка уже давно воспринимается ценным сырьем для производства широкого спектра продуктов: от пищевых добавок и спортивного питания до фармацевтических препаратов и биотехнологических продуктов.

В 2023 году, по официальным данным [1], в России было получено около 3 млн тонн молочной сыворотки, причем более 73 % составила подсырная сыворотка – наиболее востребованная в переработке. Существующие технологии позволяют перерабатывать подсырную сыворотку в концентраты белков, лактозу, ферментированные продукты и другие ценные компоненты, однако поиск новых, более эффективных методов переработки продолжается.

Этот процесс развивается на фоне богатой истории использования сыворотки, которая насчитывает более 5000 лет – от древних методов применения до современных высокотехнологичных решений. На протяжении всей истории переработки молочной сыворотки отношение к ней неоднократно менялось – от признания ее ценности до полного неприятия. В XVII-XIX веках она высоко ценилась как модный напиток, эффективное средство для лечения различных недугов, включая раны и заболевания желудочно-кишечного тракта, а также использовалась в качестве альтернативы воде для купания. Однако в XX веке, с

изменением потребительских привычек и резким увеличением объемов производства молочной продукции, сыворотка превратилась в серьезную проблему для перерабатывающей промышленности.

Большую часть XX века молочная отрасль пыталась искать наиболее экономичные способы утилизации сыворотки, включая ее сброс в водоемы, муниципальные очистные сооружения или прямо на поля [2]. Однако высокая биохимическая (БПК > 35 000 ppm) и химическая (ХПК > 60 000 ppm) потребность в кислороде, обусловленная преимущественно высоким содержанием лактозы и белка, привела к введению строгих экологических норм, полностью запрещающих сброс необработанной сыворотки.

Параллельно с ужесточением экологических требований постепенно росло понимание ценности компонентов сыворотки, особенно ее белковой фракции. Многочисленные научные исследования [3] подтвердили уникальные физико-химические, питательные и биологические свойства сывороточных белков, что создало основу для их широкого применения в пищевой промышленности и других сферах. Рынок начал осознавать потенциал сывороточных белков, однако для их эффективного выделения требовалось развитие экономически выгодных и технологически осуществимых методов переработки.

Сегодня мировые объемы производства молочной сыворотки достигают порядка 180 – 190 миллионов тонн ежегодно, однако переработке подвергается лишь часть ее объема. Это свидетельствует о том, что, несмотря на значительные достижения в области переработки, потенциал сыворотки как ценного ресурса используется далеко не полностью, что открывает широкие перспективы для дальнейших исследований и технологических инноваций в данной области.

Говоря о направлениях переработки молочной сыворотки в современных условиях можно отметить, что по-прежнему часть сыворотки производится мелкими хозяйствами, для которых ее утилизация не является критичной, так как она используется на корм скоту [4].

Однако для крупных предприятий организация эффективной переработки молочной сыворотки – крайне насущный вопрос. Хорошо известно, что сброс

молочной сыворотки создает существенную экологическую угрозу, поскольку ее загрязняющий потенциал в 500 – 1000 раз превышает показатели бытовых стоков [3]. Расходы на очистку стоков с предприятия, перерабатывающего 100 тонн молока в сутки, сопоставимы с затратами на очистные сооружения города с населением 80 000 человек. В России действуют довольно жесткие экологические законы, регламентирующие и сброс сыворотки. В отсутствие переработки сыворотки, штрафные санкции за ее сброс привели бы к банкротству предприятий в течение месяца [4]. Именно поэтому, в отличие от мелких производителей, крупные переработчики молока вынуждены уделять значительное внимание не только традиционным, но и инновационным методам переработки и вторичного использования сыворотки, что и определяет актуальность данного исследования.

Поиск новых решений переработки молочной сыворотки также связан с тем, что этот побочный продукт переработки молока с высокой концентрацией органических и минеральных веществ, обладает значительной пищевой ценностью и широким технологическим потенциалом, что определяет статус молочной сыворотки как ценного вторичного молочного ресурса. Она служит богатым источником сывороточных белков для пищевой промышленности, биотехнологий и функционального питания, переходящих в нее при первичной переработке молока [5].

Согласно данным Международной молочной федерации (IDF), в государствах с развитой молочной промышленностью перерабатывается (85 – 95) % образующейся сыворотки. В Российской Федерации, по сведениям «Союзмолоко», уровень переработки оценивается в (50 – 60) %, достигая 70,0 % в отдельных регионах с развитой инфраструктурой (например, Алтайский край). Непереработанные объемы сыворотки подвергаются утилизации или используются без обработки [6].

Направления переработки молочной сыворотки различаются по степени глубины воздействия на её компоненты (рисунок 1.1), что подразумевает их фракционирование или модификацию с целью придания конечным сухим продуктам заданных функционально-технологических свойств.

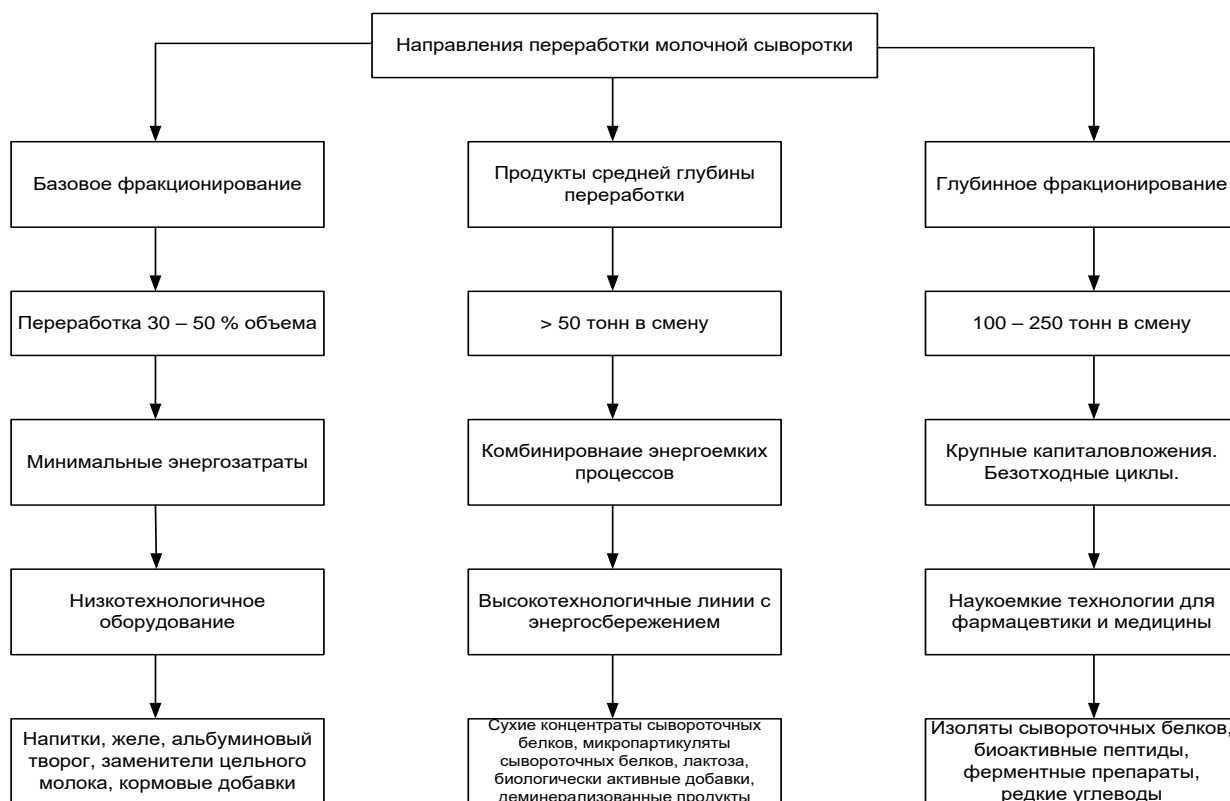


Рисунок 1.1 – Направления переработки молочной сыворотки [7]

В первую очередь можно отметить направление переработки молочной сыворотки с базовым фракционированием (рисунок 1.1). Данные продукты представлены кисломолочными или натуральными сывороточными напитками, десертами, желе, пудингами и т.д., которые могут дополнительно обогащаться функциональными компонентами [8]. В России этот сегмент развит довольно широко и демонстрирует устойчивую положительную динамику. Однако это направление позволяет переработать лишь небольшие объемы сырья. Часть сыворотки перерабатывается в кормовые добавки (рисунок 1.1), которые находят широкое применение в животноводстве, особенно при выращивании молодняка сельскохозяйственных животных [9 – 14].

Продукты средней глубины переработки и глубокого фракционирования компонентов сыворотки, главным образом, представлены сухой сывороткой и сухими белковыми и углеводными ингредиентами, полученными на ее основе (рисунок 1.2).

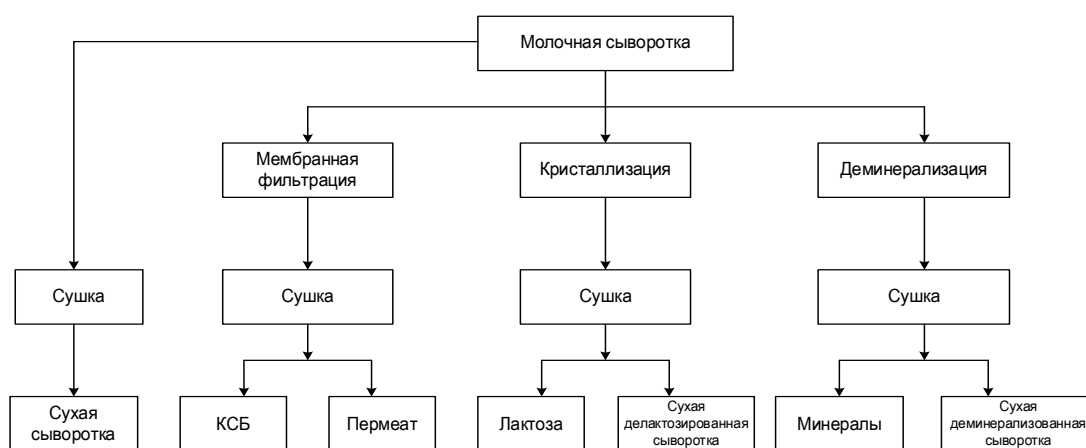


Рисунок 1.2 – Переработка молочной сыворотки на сухие ингредиенты

Сухие ингредиенты стабильно востребованы на мировом рынке благодаря применению в пищевой промышленности, включая детское, спортивное и функциональное питание, фармацевтической и косметической отраслях [15]. Устойчивый спрос, подкрепленный трендом на здоровое питание и натуральные компоненты, делает переработку сыворотки в сухие ингредиенты довольно привлекательным для переработчиков молока. Наиболее рентабельными направлениями переработки считаются концентраты (КСБ) и изоляты (ИСБ) сывороточного белка (рисунки 1.1, 1.2). Их цена колеблется от 2 – 3 долл./кг для КСБ-35 (содержание белка 35 %) до 10 – 15 долл./кг для высокоочищенных изолятов ИСБ-90 (90 % белка). Производство специализированных продуктов, например, лактозы или деминерализованной сыворотки, относится к среднему ценовому сегменту (1,5 – 4 долл./кг), причем их рыночная стоимость напрямую зависит от того, насколько высоки требования к составу и качеству готовых продуктов [16].

Вполне понятно, что глубина переработки сыворотки определяет затраты на капиталовложения организации технологического процесса. Так, например, производство высокобелковых концентратов и фармакопейной лактозы, предполагает использование установок мембранной фильтрации, ионного обмена, сушильных комплексов. Более глубокое фракционирование с выделением ценных компонентов – высокоочищенных белков, лактоферрина, иммуноглобулинов,  $\beta$ -лактоглобулина,  $\alpha$ -лактальбумина, гликомакропептида, помимо мембранной

фльтрации предполагает использование промышленной хроматографии, а получение гидролизатов предполагает использование ферментеров и специфичной ультрафльтрации для фракционирования продуктов ферментативной реакции [17]. Соответственно, производство по сравнению с сухой подсырной сывороткой, себестоимость производства которой составляет порядка 1,5 \$/кг, выпуск высокоочищенных изолятов сывороточных и гидролизованных белков, несмотря на их высокую рыночную стоимость (до 25 \$/кг), остается низкорентабельным без обеспечения значительных объемов переработки.

Однако производство высокотехнологичных продуктов становится экономически эффективным только при переработке больших объемов сырья, что ограничивает внедрение таких линий крупными предприятиями или центрами, собирающими сыворотку от нескольких производителей [18].

В России приоритетным направлением выступают продукты средней глубины переработки, обеспечивая небольшой срок окупаемости, получение, как минимум, 30 %-ной прибыли и расширение продуктовой линейки.

Наряду с традиционной сухой сывороткой, сохраняющей свою промышленную значимость, особое внимание уделяется разработке продуктов с регулируемым компонентным составом. Ключевым аспектом технологической модификации является контроль минерального состава, достигаемый методами глубокой деминерализации до содержания золы менее 1,0 % [19]. Не менее важным направлением выступает оптимизация белкового профиля, позволяющая регулировать соотношение основных сывороточных белков –  $\beta$ -лактоглобулина,  $\alpha$ -лактальбумина и иммуноглобулинов [20]. Особое значение приобретает модификация углеводного компонента, в частности, получение гидролизованных форм с пониженным содержанием лактозы [21].

К продуктам с регулируемым компонентным составом можно в какой-то мере отнести и делактозированную сыворотку. Производство сухой делактозированной сыворотки может быть рентабельным даже для предприятий средней мощности. Экономическая целесообразность данного направления

обусловлена относительно низкими капитальными вложениями в модернизацию существующих линий, высокой универсальностью оборудования и значительной добавленной стоимостью готового продукта. Промышленная технология делактозированной сыворотки запатентована в 1971 году (US878972A) и включает этапы концентрирования сыворотки, кристаллизации и удаления лактозы, осветления, деминерализации и окончательной сушки. Данный подход не только позволяет сохранить ценные белковые компоненты, но и удалить лактозу и минеральные соли, ухудшающие органолептические свойства. Частичное удаление лактозы не только облегчает процесс сушки, но и повышает относительное содержание белка, а управляемая деминерализация позволяет формировать оптимальный минеральный профиль, востребованный в специализированных пищевых продуктах [22].

Таким образом, анализ существующих технологий переработки молочной сыворотки показывает, что за последние десятилетия дискуссия о молочной сыворотке сместилась от необходимости её переработки к выбору наиболее рентабельных технологий. Способность сыворотки служить основой для широкого спектра востребованных ингредиентов даже без ресурсоемких процессов объясняет актуальность разработки новых и совершенствования существующих методов, что в конечном итоге ведет к улучшению качества продукции и расширению ассортимента.

## **1.2. Состав и свойства молочной сыворотки, как сырья для продуктов с регулируемым составом**

К основным компонентам молочной сыворотки (МС) относятся лактоза, сывороточные белки, минеральные вещества и липиды (рисунок 1.3). Помимо

основных компонентов молочная сыворотка может содержать свыше 200 биологически активных соединений: витаминов, пептидов, ферментов и т.д. [23]. В частности, биоактивные пептиды, высвобождаемые в результате гидролиза сывороточных белков; ростовые факторы (IGF, TGF- $\beta$ ) и иммуноглобулины, которые вносят вклад в регуляцию метаболических процессов и обеспечение пассивного иммунитета [18].

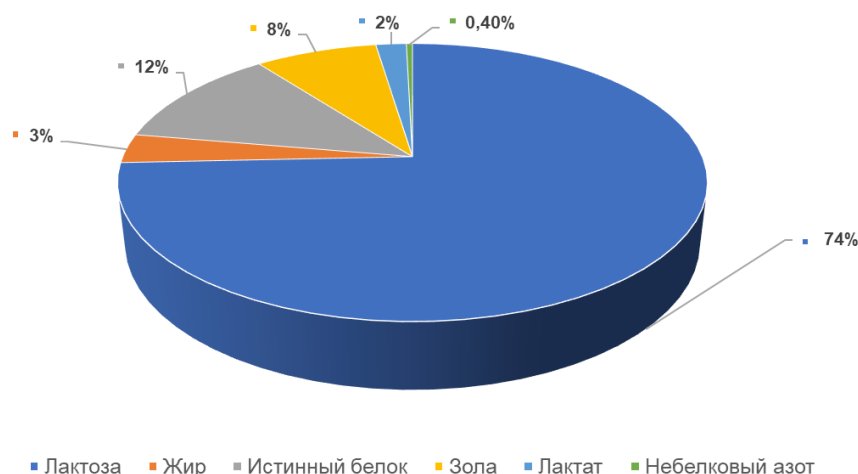


Рисунок 1.3 – Фракционный состав молочной сыворотки

Особенности состава и свойств сыворотки (таблица 1.1 [24,25]) определяются принципиально разными технологиями коагуляции молочных белков, используемыми при производстве основного продукта.

Таблица 1.1 – Сравнительный анализ различных видов сыворотки

Состав	МС творожная	МС подсырная сладкая	МС подсырная соленая	МС казеиновая
Сухие вещества, %	2,86 ± 0,07	16,8 ± 0,01	8,9 ± 0,01	2,5 ± 0,01
Зола, %	0,21 ± 0,01	0,7 ± 0,08	1,7 ± 0,11	0,2 ± 0,003
Содержание белков, %	1,73 ± 0,01	10,8 ± 0,4	1,0 ± 0,1	2,2 ± 0,01
Небелковый азот, %	0,006 ± 0,001	0,01 ± 0,0	0,01 ± 0,0	0,005 ± 0,001
Лактоза, %	0,7 ± 0,02	2,9 ± 0,03	2,4 ± 0,3	0,1 ± 0,02
pH	4,2 ± 0,02	6,4 ± 0,02	5,5 ± 0,01	6,5 ± 0,03
Молочная кислота, %	0,2 ± 0,02	0,1 ± 0,03	0,07 ± 0,001	0,001 ± 0,0001
Ca (мг 100·г <sup>-1</sup> )	140 ± 10	20 ± 3	80 ± 1	40 ± 1
K (мг 100·г <sup>-1</sup> )	10 ± 0,0	100 ± 20	50 ± 6	30 ± 1
Mg (мг 100·г <sup>-1</sup> )	10 ± 1	10 ± 1	10 ± 6	20 ± 1
Na (мг 100·г <sup>-1</sup> )	30 ± 10	400 ± 20	1100 ± 50	10 ± 4
Неорганический фосфор (мг 100·г <sup>-1</sup> )	3 ± 1	10 ± 3	10 ± 3	10 ± 6
Общее содержание фосфора (мг 100·г <sup>-1</sup> )	10 ± 3	30 ± 6	20 ± 1	20 ± 2

Кислотная творожная сыворотка образуется в результате кислотной коагуляции, применяемой при изготовлении творога, творожных сыров или греческого йогурта. Под воздействием молочной кислоты, продуцируемой бактериальными культурами, казеин выпадает в осадок. Данный тип сыворотки отличается значительно более высокой кислотностью (низкие значения pH) и повышенным содержанием минеральных веществ, в частности, кальция и фосфора, которые не связываются в сгусток и переходят в сыворотку. При этом содержание сывороточных белков и лактозы в ней ниже. Важной особенностью является и высокая концентрация свободных аминокислот, которая примерно в 10 раз превышает их уровень в исходном молоке.

Сладкая подсырная сыворотка является продуктом ферментативной коагуляции с использованием сычужного фермента при производстве твёрдых или полутвёрдых сыров. Этот процесс является более селективным, в результате чего в сыворотку переходит больше нативных сывороточных белков. Её ключевой отличительной чертой является наличие гликомакропептидов — специфических пептидов, образующихся в результате гидролиза казеина сычужным ферментом. Уровень свободных аминокислот здесь также высок и превышает молочный примерно в 4 раза. По сравнению с кислой, такая сыворотка обладает более мягким, сладковатым вкусом и более высоким pH.

Различия в компонентном составе и свойствах определяют дифференцированный подход к переработке и использованию разных видов сыворотки в пищевых, кормовых и технических целях [26].

Лактоза занимает более 70,0 % от сухого остатка молочной сыворотки и служит ее главным углеводом, играя важную роль в энергетическом обмене и выступая основой для ферментированных продуктов [27]. Молочный сахар обладает высокой питательной ценностью, так как способствует всасыванию кальция, магния и фосфора в кишечнике, а также улучшает усвоение витамина С [28].

Помимо лактозы, в сыворотке было обнаружено около 50 олигосахаридов [29], состоящих из 3 – 10 мономерных единиц. В подсырной сыворотке они

обычно содержат фукозу, N-ацетилглюкозамин и N-ацетилнейраминую кислоту (NANA) в различных пропорциях [29]. Олигосахариды, полученные из коровьего молока, относятся к пребиотикам группы бифидус-факторов, которые стимулируют рост пробиотической микрофлоры в кишечном тракте [30].

Белковая составляющая молочной сыворотки представлена сывороточными белками (таблица 1.2).

Таблица 1.2 – Химические и физико-химические свойства сывороточных белков молочной сыворотки

Белковые фракции	Молекулярный вес, (кг/моль)	Изоэлектрическая точка, (pI)	Концентрация в жидкой сыворотке (г/л)	Количество аминокислот	Температура денатурации, °С
β-лактоглобулин (β-Lg)	18	5,4/5,14–5,49	3,2	162	78
α-лактальбумин (α-La)	14	4,4/4,2–4,8	1,2	123	62
Альбумин сыворотки крови	66	5,1/4,71–5,13	0,4	582	64
Иммуноглобулин (Ig)	≥145	5–8/5,5–8,3	0,7	–	72
Гликомакропептид (ГМП)	8,6	≤ 3,8	1,5	64	–
Лактоферрин (LF)	77	7,9	0,1	100	-
Лактопероксидаза (LP)	78	9,6	0,03	612	-

Сывороточные белки, включая β-лактоглобулин, α-лактальбумин и сывороточный альбумин, обладают высокой биологической активностью, проявляя иммуномодулирующее, антибактериальное и антиоксидантное действие [31]. Их аминокислотный состав характеризуется повышенным содержанием серосодержащих аминокислот [32] и высоким уровнем незаменимых аминокислот и ВСАА, что делает их биологическую ценность превосходящей другие белки [33]. Термолабильность сывороточных белков позволяет использовать их в качестве гелеобразующих агентов, но требует щадящих режимов обработки для сохранения нативной формы. Лактоферрин демонстрирует эффективность против антибиотикоустойчивых бактерий и обладает иммуномодулирующими свойствами [34]. Минеральный состав сыворотки включает макро- и

микроэлементы, регулирующие обменные процессы [3]. Липиды сыворотки, представленные неполярными (триацилглицеринами) и полярными (фосфолипиды MFGM) фракциями, обладают высокой биологической ценностью и находятся в легкоусвояемой форме [5]. Кроме того, в состав сыворотки входят ферменты (лактаза, липазы, фосфатазы, протеолитические), участвующие в метаболизме и имеющие потенциальную терапевтическую ценность [4].

Витаминный профиль сыворотки включает водорастворимые витамины группы В ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_{12}$ ), витамин С, а также жирорастворимые А и Е. Их концентрация зависит от типа сыворотки и технологии производства [35].

Структурное разнообразие компонентов молочной сыворотки определяется их молекулярной массой и зарядом. Лактоза относится к низкомолекулярным углеводам, в то время как сывороточные белки имеют значительно более высокую молекулярную массу (таблица 1.2). Минеральные вещества представлены ионами различной массы, а липиды включают как низкомолекулярные (жирные кислоты), так и высокомолекулярные соединения (фосфолипиды, триглицериды).

Зарядовые характеристики компонентов также существенно различаются. Лактоза является нейтральным соединением, тогда как сывороточные белки в нативных условиях имеют отрицательный заряд (изоэлектрическая точка для большинства сывороточных белков находится в диапазоне рН (4,5 – 5,5)). Минеральные вещества присутствуют в виде катионов ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ) и анионов ( $PO_4^{3-}$ ,  $Cl^-$ ), а липиды в зависимости от структуры могут быть нейтральными (триглицериды) или заряженными (фосфолипиды).

Эти различия в молекулярной массе и заряде открывают широкие возможности для направленного управления составом сыворотки с использованием современных методов обработки (рисунок 1.4).

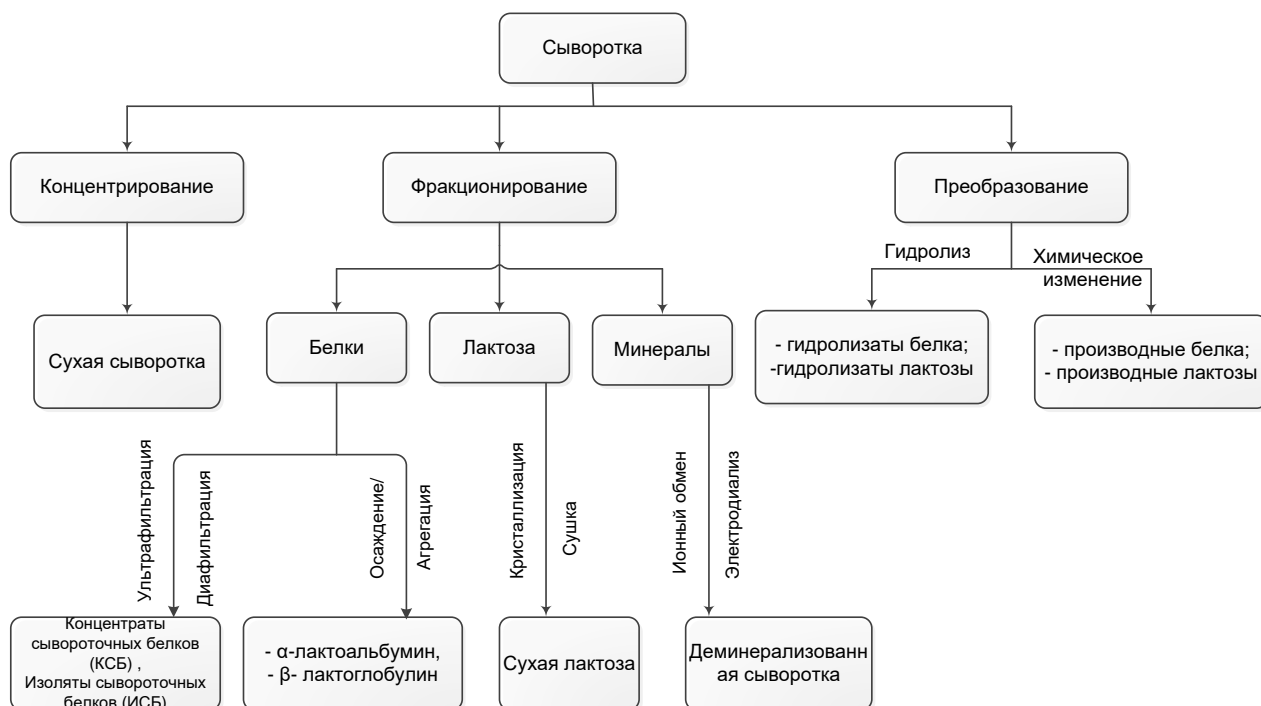


Рисунок 1.4 – Пути регулирования состава молочной сыворотки

Методы баромембранного разделения, такие как ультрафильтрация и нанофильтрация, которые позволяют селективно фракционировать частицы на основе молекулярно-массового распределения и размера пор мембран играют основную роль в изменении компонентного состава молочной сыворотки [36–39]. Эти технологии способствуют выделению и концентрации отдельных компонентов, что существенно влияет на итоговый состав продукта. Электрохимические методы – электродиализ – позволяют фракционировать заряженные компоненты сырья, тем самым изменяя баланс минералов и белков в сыворотке [40].

Гидролиз лактозы и сывороточных белков с помощью специфических ферментов (лактаза и протеаз) также приводит к существенным изменениям в компонентном составе. В результате формируются низколактозные концентраты, гипоаллергенные гидролизаты и биологически активные пептиды, обладающие новыми функциональными свойствами, такими как антиоксидантная, антимикробная и антигипертензивная активность. Контролируемая агрегация белков под воздействием тепловой обработки позволяет управлять их структурой

и поверхностными свойствами, что также влияет на состав и функциональные характеристики конечного продукта [41].

Таким образом, варьируя параметры технологической обработки можно целенаправленно модифицировать компонентный состав молочной сыворотки. Такой подход позволяет создавать продукты с заданным соотношением белков, лактозы, минералов и биологически активных веществ. Комбинирование этих методов обеспечивает синергетический эффект: не только повышается эффективность использования сырья, но и достигается создание ингредиентов с уникальными структурными и функциональными характеристиками для пищевой промышленности, фармацевтики и диетологии. Перспективы дальнейших исследований связаны с разработкой гибридных технологий и методов точного контроля структурных преобразований компонентов сыворотки для получения продуктов с оптимизированным составом.

### **1.3. Современные технологии регулирования компонентного состава молочной сыворотки**

Можно выделить несколько методов регулирования компонентного состава молочной сыворотки: термические и термохимические; физико-химические; сорбционные (ионообмен и хроматография), мембранные и элекромембранные, биотехнологические и т.д.

Термическое и термохимическое осаждение основывается на принципах термической коагуляции сывороточных белков при нагревании выше 70,0 °С, что приводит к денатурации белков; осаждению белков в изоэлектрической точке рН (4,5 – 5,5); термокальциевой агрегации с Са-фосфатами (50 °С, рН (7,3 – 7,5) [42, 43].

Термохимическое осаждение может использоваться, например, при производстве  $\alpha$ -лактальбумина, недостатком метода является снижение функциональности денатурированных белков [29, 30], поэтому в настоящее время метод для фракционирования белков в промышленных масштабах практически не используется.

Химические методы обработки молочной сыворотки предполагают использование химических реагентов для избирательной трансформации или выделения компонентов сырья. В частности, реагентное осаждение применяется для избирательного разделения белковых фракций в качестве альтернативы термическим методам. Например, двухфазная водная экстракция [44 – 46], которая предполагает формирование несмешивающихся жидких фаз при смешении полимер-полимерных систем или полимер-солевых композиций. Распределение биомолекул между фазами происходит в зависимости от их физико-химических свойств [47]. Использование подобных систем позволяет выделять белковую фракцию с выходом белка до 90 % [44 – 46].

Осаждение белков при помощи таких коагулянтов как полифосфаты/Fe-соли [48], хитозан: катионный полимер [49, 50]; трихлоруксусная и полиакриловая кислоты позволяют также изолировать компоненты молочной сыворотки. Например, выход белка при осаждении трихлоруксусной кислотой составляет 86,7 %, при осаждении полиакриловой кислотой – 68,4 % [48, 51].

Хроматографические методы можно отнести к одному из видов физико-химической обработки сырья. Они занимают центральное место в современных технологиях переработки молочной сыворотки, позволяя эффективно выделять и очищать ценные белковые компоненты [52]. Для переработки сыворотки может быть использовано несколько видов хроматографических методов, в зависимости от конкретных задач и целей очистки. Например: аффинная, ионообменная хроматография, гель-фильтрация и др.

Аффинная хроматография эффективна для выделения минорных белков сыворотки, таких как лактоферрин и лактопероксидаза, с высоким выходом и чистотой [53], а для сывороточного альбумина применяются иммуноаффинные

методы [54]. Ионообменная хроматография разделяет белки по заряду: катионообменная используется для лактоферрина и лактопероксидазы [55], а анионообменная – для гликомакропептида и  $\beta$ -лактоглобулина [56]. Комбинированные методы, включающие различные типы хроматографии и ультрафильтрацию, повышают эффективность очистки [57, 58]. Однако основные недостатки – высокая стоимость сорбентов и оборудования [59, 60], необходимость дорогостоящей предварительной обработки [61], низкая производительность, проблемы масштабирования [62], необходимость регенерации сорбентов [63] и выщелачивание лигандов [64] – ограничивают широкое применение этих методов, делая их рентабельными в основном для фармацевтики и высокотехнологичной пищевой промышленности [65].

#### **1.4. Анализ возможности корректировки компонентного состава молочной сыворотки баро- и электромембранными методами**

С момента своего внедрения в молочную отрасль в середине XX века мембранная фильтрация продолжает кардинально менять процессы переработки молочного сырья. Благодаря постоянному совершенствованию, эта технология и сегодня позволяет создавать продукты с уникальными заданными функциональными характеристиками.

Как известно, в основе баромембранного фракционирования молочного сырья лежит процесс селективного разделения жидких сред, при котором компоненты смеси разделяются благодаря дифференциальной проницаемости через полупроницаемую мембрану под действием приложенного давления.

Способность мембраны к селективному пропусканию веществ определяет состав фракций (ретентата и пермеата), образующихся при фракционировании

рядом, и зависит от ряда физических и химических механизмов. Среди них выделяют: ситовой эффект, основанный на различии размеров пор мембраны и гидратированных частиц [66]; электростатические взаимодействия, которые задерживают заряженные ионы, а также процессы адсорбции и сольватации, связанные с гидрофильными и гидрофобными свойствами поверхности мембраны и разделяемых веществ [67]. Совокупность этих механизмов обеспечивает эффективное разделение многокомпонентного сырья в мягких условиях, что позволяет сохранять структуру и свойства компонентов без их разрушения [68, 69].

В молочной промышленности в настоящее время применяются четыре основных вида баромембранной обработки сырья, которые классифицируются по величине молекулярной массы разделяемых соединений: микрофльтрация, ультрафльтрация, нанофльтрация, обратный осмос [70, 71].

Микрофльтрация – процесс фракционирования, работающий под низким давлением, с использованием мембран с открытой структурой и размером пор более 0,1 микрометра, которая задерживает нерастворенные частицы (например, бактерии и макромолекулы), позволяя пройти растворенным веществам.

При переработке молока микрофльтрация используется для производства низкотемпературного стерилизованного молока, разделяя обезжиренное молоко на практически стерильный пермеат и концентрат, обогащенный бактериями, который в дальнейшем требует тепловой обработки. Кроме того, с использованием микрофльтрации проводится процесс фракционирования казеина и сывороточных белков при производстве концентратов мицеллярного казеина и нативных сывороточных белков [72]. Что касается технологий переработки сыворотки, то основное применение связано также с удалением микроорганизмов, для обеспечения высоких микробиологических показателей готовых продуктов, а также при производстве изолятов сывороточных белков для удаления остаточной жировой фракции [73] (таблица 1.3).

Таблица 1.3 – Процессы баромембранной фильтрации, используемые при переработки молочной сыворотки

Процесс	MWCO* / размер пор	Рабочее давление	Целевые фракции	Применение	Литература
Микрофилт-рация	0,1 – 10 мкм	0,1 – 2 бар	Пермеат: очищенная сыворотка	Удаление остаточного жира и микроорганизмов	[74 – 76]
Ультрафилт-рация	1 – 100 кДа	2 – 6 бар	Ретентат: концентрат сывороточных белков  Пермеат: фракция, обогащенная лактозой	Концентрирование и /или фракционирование сывороточных белков: КСБ 35 – 80, α-лактоальбумин, гликомакропептид	[72, 77]
Нанофилт-рация	200 – 1000 Да	4 – 30 бар	Ретентат: концентрированная сыворотка	Концентрация сыворотки, частичная деминерализация	[67, 78]
Обратный осмос	<1 нм	20 – 60 бар	Концентрированная сыворотка  Обратноосмотическая вода	Концентрация сыворотки  Возврат технологической воды в производственной цикл	[67, 72]
Комбинация диафилт-рации с микро-, ультра- и нанофилт-рацией	Согласно основному процессу	+1 – 2 бар к давлению основного процесса	Повышение массовой доли целевого компонента в ретентате или пермеате	Удаление лактозы, удаление несахаров, повышение белка в КСБ и др.	[77, 79]

\*отсечка по молекулярной массе

Можно отметить, что процесс микрофилт-рации непосредственно сыворотки сложно рассматривать как способ корректировки состава как такового. Скорее это операция, позволяющая подготовить сырье к дальнейшей переработке другими методами мембранной фильтрации, поскольку наличие остаточного молочного жира негативно сказывается на эффективности мембранного разделения [74 – 76, 80].

Ультрафильтрационную обработку (таблица 1.3), осуществляемую при давлении от 2 до 6 бар с использованием мембран с размером пор от 0,1 до 0,001 мкм и широким диапазоном MWCO (molecular weight cut-off – отсечка по молекулярной массе), в определенной мере можно назвать операцией, обеспечивающей селективное регулирование состава сыворотки. Современные исследования в области ультрафильтрации молочной сыворотки смещают фокус с простого концентрирования белков на подбор условий процесса для селективного фракционирования специфических белковых фракций, таких как  $\alpha$ -лактальбумин, гликомакропептид,  $\beta$ -лактоглобулин. Однако целевыми продуктами являются именно концентраты фракций сывороточных белков, обладающие заданными функционально-технологическими свойствами: гелеобразование, эмульгирование и т.д. [81, 82].

Нанофильтрация представляет собой мембранный процесс разделения, эффективность которого определяется размером пор мембран (0,5 – 2,0 нм) и рабочим давлением в диапазоне 5 – 30 бар. Благодаря указанным характеристикам мембраны обладают способностью избирательно задерживать многозарядные ионы и органические соединения с молекулярной массой свыше 200 – 1000 Да, при этом обеспечивая высокую проницаемость для однозарядных ионов [83].

Анализ литературных данных свидетельствует о растущем интересе к исследованиям оптимизации нанофильтрационных процессов для переработки как подсырной, так и творожной сыворотки. Например, авторами [84] рассмотрена переработка подсырной сыворотки с применением каскадной нанофильтрации (15 бар, мембраны с размером пор около 1,2 нм), позволившей достичь 88%-ной деминерализации при низких потерях белка [85].

Для творожной сыворотки, характеризующейся повышенной минерализацией, перспективным является применение гибридных технологий. В исследовании [86] показано, что нанофильтрации в комбинации с диафильтрацией является эффективным и перспективным методом для выделения и очистки лактозы из кислой молочной сыворотки, позволяя достичь целевых показателей по соотношению молочная кислота/лактоза менее 0.042 г/г и чистоте

лактозы выше 90 % за счет селективного удаления молочной кислоты и электролитов при минимальных потерях целевого продукта.

Кроме того, интеграция нанофильтрации с другими методами, такими как ионообменная хроматография и электродиализ, позволяет достигать степени деминерализации до (92 – 95) % для высокоминерализованных видов сыворотки, что подтверждается результатами [87].

Обратный осмос представляет собой процесс мембранного разделения, в ходе которого под действием высокого давления продукт фильтруется через полупроницаемую мембрану, задерживая практически все растворенные вещества. Метод используется непосредственно для концентрирования молочного сырья, главным образом обезжиренного молока и молочной сыворотки [72]. При концентрировании молочной сыворотки методом обратного осмоса применяются мембраны с молекулярной селективностью не более 100 Да. В результате в качестве ретентата формируется концентрированная сыворотка с массовой долей сухих веществ (18 – 20) %, сохраняющая практически все ценные компоненты исходного сырья (таблица 1.3). Образующийся пермеат: обратноосмотическая вода, содержит минимальные количества минеральных соединений и может быть использован для технических целей на производстве.

В линиях переработки молочной сыворотки обратный осмос чаще используется как «финальная» стадия очистки нанофильтрационного пермеата, позволяющая повышать эффективность переработки молочной сыворотки за счет возвращения очищенного НФ пермеата в цикл переработки в качестве технологической воды [77, 78, 88].

Следует отметить, что методы мембранного фракционирования могут применяться как самостоятельно, так и в комбинации друг с другом и диафильтрацией для повышения чистоты и сохранения функциональных свойств получаемых фракций [79]. Такой модульный подход позволяет оптимизировать процесс фракционирования сырья, обеспечивая более высокую рентабельность и эффективность точной адаптации режимов работы в соответствии с заданными целевыми характеристиками продукта.

Электродиализ – это электромембранный метод обработки сырья, который широко применяется для корректировки компонентного состава молочной сыворотки путем ее деминерализации. Принцип действия электродиализа основан на выборочном переносе ионов через ионоселективные мембраны под воздействием постоянного электрического поля [89]. Электродиализ позволяет снизить минерализацию молочной сыворотки более чем на 90 % при сохранении основных питательных компонентов, таких как белки и лактоза. Это улучшает технологические свойства сыворотки, расширяя возможности её использования в производстве пищевых продуктов [73, 74, 76, 80].

Несмотря на то, что электродиализная обработка молочной сыворотки считается «отработанной» и уже давно используется в промышленных масштабах, в последние годы наблюдается повышение интереса к развитию электродиализных технологий. Исследования направлены как на оптимизацию режимов работы электродиализных установок, так и совершенствование традиционных и разработку новых альтернативных материалов для изготовления мембран. Например, авторами [90] оценена эффективность ионно-обменных мембран с иерархической структурой, производство которых основано на нанесении иономера на пористую подложку. Согласно результатам [90] иерархические мембраны сочетают электрохимические свойства гомогенных мембран с механической прочностью гетерогенных, что позволяет рассматривать их в качестве альтернативы наиболее часто используемых гетерогенных мембран.

Особое внимание уделяется изучению минерального состава молочной сыворотки до и после электродиализа, поскольку это позволяет прогнозировать поведение сыворотки при последующих этапах обработки и оптимизировать их технологические режимы [3]. Современные исследования показывают, что электродиализ эффективно удаляет основные катионы ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) и анионы ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ), при этом степень удаления каждого иона зависит от его заряда, размера и концентрации. Ионы кальция и магния удаляются менее эффективно по сравнению с натрием и хлором, что обусловлено их более высокой

валентностью и комплексообразованием с белковыми компонентами [91]. В то же время фосфаты и сульфаты демонстрируют высокую степень удаления (до 90 %), что существенно снижает общую минерализацию и улучшает вкусовые и технологические свойства сыворотки.

Интеграция электродиализа с другими мембранными технологиями, такими как нанофильтрация и обратный осмос, открывает новые перспективы для комплексной обработки молочной сыворотки. В частности, данные [92] показали, что предварительная нанофильтрация снижает концентрацию загрязняющих веществ и органических соединений, уменьшая нагрузку на мембраны электродиализа и продлевая их срок службы. Совместное применение этих методов обеспечило деминерализацию до 95 % и повысило концентрацию белков в конечном продукте, что значительно улучшает качество и функциональные свойства сывороточных ингредиентов [92].

Таким образом, электродиализ молочной сыворотки остаётся перспективным методом деминерализации, обеспечивающим высокую степень удаления минеральных веществ при сохранении ценных компонентов, а последние исследования подтверждают, что совершенствование мембранных материалов, оптимизация технологических параметров, детальный анализ минерального состава и интеграция с другими мембранными процессами значительно расширяют возможности применения электродиализа в молочной промышленности, повышая качество продукции и снижая себестоимость.

## **1.5. Сравнительный анализ физико-химических и биотехнологических методов корректировки углеводного состава молочной сыворотки**

### **1.5.1. Научно-технические основы кристаллизации лактозы как метода фракционирования углеводного компонента**

Современные тенденции корректировки углеводного состава молочных продуктов связаны как с учетом потребностей людей с недостаточностью лактазы [93], так и растущим спросом на питание, составляемое по специализированным диетологическим схемам, например, низкоуглеводные и кето-диеты [94].

Один из самых распространённых промышленных методов снижения лактозы – ее ферментативный гидролиз с применением фермента  $\beta$ -галактозидазы (КФ 3.2.1.23), обеспечивающим селективное расщепление лактозы до моносахаридов глюкозы и галактозы [41] будет рассмотрен далее.

Альтернативной технологией гидролитического расщепления лактозы является мембранное фракционирование, в частности, ультрафильтрация, позволяющая разделять молочные компоненты на основе молекулярно-массового распределения, а затем смешивать фракции, обогащенные белковыми и углеводными компонентами в требуемых соотношениях [95]. В качестве экономически целесообразной альтернативы мембранным методам, особенно для сырья с высоким содержанием лактозы в сухом остатке, можно рассматривать технологии контролируемой кристаллизации.

Технология основана на создании условий пересыщения раствора лактозы, последующей кристаллизации и отделением полученных кристаллов. Несмотря на то, что данный метод не полностью удаляет лактозу, он позволяет значительно снизить её содержание, что способствует уменьшению проявлений нежелательных структурных изменений готового продукта. С другой стороны, удаление большей части углеводной фракции перераспределяет соотношение компонентов в сухом остатке, позволяя повышать пищевую ценность за счет увеличения массовой доли белка.

Можно отметить, что кристаллизация лактозы является ключевым этапом в технологии целого ряда молочных продуктов и изучена довольно широко российскими и зарубежными учеными [96 – 98]. Например, в технологии сгущенного молока с сахаром кристаллизация лактозы направлена на формирование кристаллов размером не более (10 – 15) мкм, чтобы обеспечить однородную консистенцию продукта без ощущения мучности. Для этого применяют интенсивное охлаждение сгущенного продукта с одновременным активным перемешиванием и внесением затравки – мелкодисперсной лактозы (3,0 – 4,0) мкм, служащей вторичными центрами кристаллизации [99, 100]. Это предотвращает самопроизвольное образование крупных кристаллов [101].

В технологии производства сухой молочной сыворотки методом распылительной сушки ключевым этапом является процесс предварительной кристаллизации лактозы, основная цель которого стабилизация готового продукта, направленная на улучшение его физико-химических и потребительских характеристик [102].

Как указывалось ранее, молочная сыворотка, представляющая собой полидисперсную систему, содержит значительное количество лактозы (до (70,0 – 75,0) % в сухом остатке). Высушивание некристаллизованной сыворотки приводит к получению порошка, частицы которого состоят преимущественно из аморфной лактозы. Такая форма лактозы метастабильна и при хранении, особенно в условиях повышенной влажности воздуха, активно сорбирует влагу. Поглощение воды вызывает явление так называемого «стеклования» – перехода аморфной фазы в вязкотекучее состояние, что приводит к слипанию частиц и образованию прочных, трудноразрушимых агломератов (слеживанию) [99].

Для предотвращения этих негативных процессов проводят контролируемую кристаллизацию лактозы до этапа сушки. Сущность метода заключается в создании условий для направленного формирования множественных зародышей кристаллизации и их последующего роста. Это достигается путем охлаждения концентрированной сыворотки до температур, соответствующих зоне метастабильного пересыщения лактозы (как правило, в диапазоне (25,0 –

40,0) °C), и выдержки в течение нескольких часов при постоянном перемешивании [99]. В ходе этого процесса молекулы лактозы переходят из раствора в твердую кристаллическую фазу, образуя множество мелких (50 – 100) мкм и стабильных кристаллов  $\alpha$ -гидрата лактозы, затем кристаллизат направляется на сушку. В результате предварительной кристаллизации получают сыворотку, в которой большая часть лактозы (не менее 70,0 %) находится в стабильной кристаллической форме. Последующая распылительная сушка такого продукта позволяет получить сухую сыворотку с пониженной гигроскопичностью, сыпучестью, улучшенной растворимостью и, что наиболее важно, устойчивостью к слеживанию и комкованию в течение длительного времени [102].

При производстве кристаллической лактозы режимы технологических этапов, включая кристаллизацию, направлены на получение однородных по размеру кристаллов моногидрата  $\alpha$ -лактозы ((200,0 – 300,0) мкм) с заданной доброкачественностью, которая определяется как отношение содержания в сухом остатке лактозы к неуглеводным компонентам. Получение фракции с узким распределением по размерам критически важно для обеспечения эффективности процесса отделения кристаллов, сушки и заданных технологических свойств готового продукта, таких как сыпучесть и растворимость, и другие [103].

Согласно литературным данным, формирование крупных кристаллов с узким фракционным составом требует применения пониженной скорости охлаждения в условиях умеренного перемешивания и продолжительной выдержки (до 24,0 ч) [104]. При этом доброкачественность сырья является критическим параметром, определяющим выбор режимов кристаллизации, поскольку присутствие примесных компонентов оказывает существенное влияние как на кинетику нуклеации, так и на скорость роста кристаллов [4]. Однако скорость охлаждения будет определять только размер кристаллов, не влияя на их доброкачественность. С другой стороны, оптимизация скорости перемешивания предотвращает как неравномерный массоперенос, так и абразивную вторичную

нуклеацию, что является определяющим фактором для формирования крупных монодисперсных кристаллов [103, 105].

Так, например, для высокоочищенного сырья (пермеата подсырной сыворотки) авторами [106] предложен ускоренный двухстадийный процесс. На первой стадии сгущенный пермеат охлаждается со скоростью (4,0 – 5,0) °С в минуту до достижения температуры (27,0 – 33,0) °С, то есть до интервала активной кристаллизации лактозы. В этот момент в сироп вводят (0,01 – 0,02) % затравки в виде мелкокристаллической лактозы. На второй стадии охлаждение кристаллизуемой массы продолжается со скоростью (1,0 – 2,0) °С в минуту до температуры (10,0 – 15,0) °С. Такой двухстадийный режим минимизирует риск самопроизвольной нуклеации и способствует преимущественному росту существующих кристаллов [106].

В случае же использования сырья с низкой доброкачественностью, к которому относится и молочная сыворотка, рекомендуется использовать одноступенчатый режим, при котором охлаждение проводят со скоростью (2,0 – 3,0) °С/ч [104]. Общая продолжительность процесса кристаллизации достигает 24,0 ч, при среднем размере кристаллов лактозы – 250 мкм.

В технологии делактозированной сыворотки [107] особенностью организации процесса кристаллизации является использование сырья, содержащего, как рассматривалось в главе 1.2., более 10,0 % белковой фракции. Низкая доброкачественность сырья, безусловно, затрудняет процесс кристаллизации [107]. С другой стороны, в данном случае, как кристаллы, так и межкристаллическая жидкость, меласса или делактозированная сыворотка являются валоризируемыми фракциями, допускающими наличие лактозы, т.е. максимальное удаление лактозы, как и доброкачественность кристаллов лактозы, не является критическим параметром. Так в патенте [108] рекомендованы режимы медленного охлаждения, порядка 1,5 °С/час, при продолжительности кристаллизации порядка 10,0 ч. По данным [108] используемые режимы позволяли удалить до 75,0 % лактозы при многоступенчатом отделении кристаллов путем центрифугирования. Затем делактозированная фракция

направлялась на электродиализ, сгущение и сушку. Полученный готовый продукт содержал (45,0 – 52,0) % лактозы и (18,0 – 24,0) % белка.

Автором [109] разработан способ производства, который включает: пастеризацию, осветление сыворотки, нанофильтрацию, совмещенную с диафильтрацией для повышения степени деминерализации концентрированной сыворотки. При этом процесс выпаривания совмещен с непрерывной кристаллизацией лактозы, при которой происходит концентрация сыворотки до 55,0 % сухих веществ и кристаллизация 70 % – 80 % от всей изначальной лактозы.

Таким образом, характерной особенностью технологии делактозированной сыворотки является высокое содержание белков и минеральных веществ в сыворотке, что существенно затрудняет процесс кристаллизации.

В связи с этим необходимы углублённые исследования механизмов кристаллизации лактозы в сложных полидисперсных системах. Изучение влияния примесей на кинетику нуклеации и роста кристаллов позволит оптимизировать технологические режимы и разработать эффективные способы получения стабильной делактозированной сыворотки с заданными свойствами.

### **1.5.2. Возможности использования ферментативного гидролиза лактозы для корректировки углеводного состава молочной сыворотки**

Одним из наиболее распространенных биотехнологических методов корректировки молочного состава молочной сыворотки является гидролиз лактозы. Под гидролизом понимают расщепление химических связей с присоединением воды. При гидролизе лактозы происходит разрыв  $\beta$ -О-гликозидных связей между  $\beta$ -D-галактозой и D-глюкозой. Гидролиз происходит при нагревании в присутствии сильных неорганических кислот, с помощью

сильнокислых ионообменных смол при температуре 90 °С или под воздействием фермента β-галактозидазы (лактазы). Протоны кислот и фермент лактаза оказывают каталитическое действие [71].

В соответствии с использованным катализатором различают кислотный и ферментативный гидролиз. В лактозе β-1,4-связь между галактозой и глюкозой прочнее, чем 1,2-связь между глюкозой и фруктозой в сахарозе. Именно поэтому лактоза не подвергается кислотному гидролизу в желудке, а гидролизуется ферментативно уже в кишечнике.

Лактоза полностью гидролизуется в течение часа при нагревании: в растворе соляной кислоты концентрацией 1,5 моль/дм<sup>3</sup> – при температуре 90 °С; в растворе соляной кислоты концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> – при температуре 150 °С. Однако высокие температуры и концентрированные кислоты вызывают нежелательные побочные реакции, например, изменение окраски, образование горьких и обладающих запахом веществ.

Ферментативный гидролиз лактозы осуществляется при помощи растворимых и иммобилизованных β-галактозидаз различной природы. Практически все промышленные ферменты лактазы продуцируются дрожжами рода *Kluveromyces* или плесеньями рода *Aspergillus*. Основные отличия их заключаются в физико-химических и каталитических свойствах. Препараты β-галактозидаз дрожжевого происхождения имеют более высокую термостабильность и температурные оптимумы (60 – 65) °С, в отличие от β-галактозидаз грибкового происхождения (30 – 35) °С, они и более устойчивы к изменениям активной кислотности среды, чем дрожжевые – 6,0 – 7,2. Недостатком β-галактозидаз грибкового происхождения является наличие примесей активных протеиназ, необходимость тщательной очистки от афлотоксинов и аллергенов. Последние недостатки в меньшей степени относятся к β-галактозидазам дрожжей. Обычно в молочной промышленности для гидролиза лактозы в молоке и сладкой сыворотке применяют нейтральную β-галактозидазу преимущественно из дрожжей вида *Kluveromyces lactis* и

*Saccharomyces lactis*, а для гидролиза лактозы в кислых средах применяют  $\beta$ -галактозидазу из грибов вида *Aspergillus niger* и *Aspergillus oryzae*.

Ферментативный гидролиз лактозы дрожжевой и грибной  $\beta$ -галактозидазой достаточно хорошо изучен В.В. Василисиной и Н.Г. Чеботаревой [110]. При использовании дрожжевых лактаз проводят нейтрализацию среды до рН (6,4 – 7,2) путем внесения пищевой соды или динатрийфосфата. Действия этих реактивов аналогичны и не оказывают заметных влияний на процесс гидролиза. Существенными факторами являются: температура, количество фермента продолжительность его действия.

Известен способ гидролиза лактозы путем внесения ферментного препарата и термостатирование в течение (3 – 3,5) часов при температуре (43 – 54) °С до достижения степени гидролиза (50 – 90) % от исходной концентрации лактозы. Недостатком этого способа является низкое содержание пребиотических веществ в готовом продукте [111].

Процесс гидролиза лактозы зависит не только от способа гидролиза (кислотный, ферментативный), но и от самого сырья, от его физических свойств, предварительной очистки. Известен способ гидролиза лактозы ферментным препаратом «Na-Lactase». Перед гидролизом сырье подвергается нанофильтрации, ультрафильтрации, диализу. Использование ультрафильтрации в процессе получения гидролизата обусловлено необходимостью удаления остаточных белков из сыворотки. Нанофильтрация предназначена для концентрирования сыворотки примерно в 3 раза. Раздельное или совместное использование этих процессов позволяет произвести эффективную очистку сыворотки от остаточных мешающих составляющих и удалить излишнюю влагу. В процессе обессоливания происходит частичное удаление солей из сыворотки, что делает ее более сладкой. Далее процесс гидролиза происходит при оптимальных значениях технологических параметров, при которых достигается максимальная степень гидролиза лактозы: температура 40 °С; продолжительность 240 мин; уровень деминерализации 70 % [112].

При изучении различных факторов на процесс гидролиза лактозы установлено, что наилучшим сочетанием условий, обеспечивающим гидролиз (41 – 56) % лактозы в творожной сыворотке с использованием дрожжевой  $\beta$ -галактозидазы, является: рН 6,7, температура 35 °С, продолжительность 4,5 ч, количество фермента 4 Е на 1 г лактозы. Оптимальная температура гидролиза лактозы в подсырной сыворотке при содержании сухих веществ 6,5 и 40 % составляет соответственно 40 и 50 °С. Это может быть существенно для производства, так как повышение температурного оптимума позволит проводить процесс гидролиза одновременно со сгущением сыворотки при температуре (55 – 60) °С. Хотя, с другой стороны, авторами [113] приводится ряд преимуществ низкотемпературного гидролиза: микробиологическая безопасность, оптимизация организации процесса переработки сырья.

Таким образом, анализ методов корректировки состава молочной сыворотки позволяет предположить возможность получения продукта с заданными функциональными свойствами и качеством, однако при этом особое внимание стоит уделять отработке условий гидролиза с заданным ферментным препаратом с учетом всех особенностей используемого сырья.

Обобщая данные, полученные при анализе научной и патентной литературы, можно сделать вывод, что молочная сыворотка, являясь побочным продуктом сыродельного, творожного и казеинового производств, долгое время рассматривалась как отход, требующий утилизации. Однако её богатый состав – лактоза (74 % сухой массы), сывороточные белки ( $\beta$ -лактоглобулин,  $\alpha$ -лактальбумин), минералы, витамины и биологически активные соединения – делает её ценным сырьём для пищевой, фармацевтической и кормовой промышленности.

Несмотря на значительные успехи в переработке сыворотки, остаются нерешённые проблемы: необходимость снижения себестоимости процессов, разработка методов полной утилизации всех фракций (включая низкомолекулярные пептиды и олигосахариды), а также создание экономически

эффективных решений для малых производителей. Перспективными направлениями могут стать:

- Комбинированные технологии (например, мембранное разделение + ферментативный гидролиз),
- Использование отходов переработки (например, получение биогаза из остаточных углеводов),
- Разработка новых продуктов (функциональные напитки, биопластики, косметические ингредиенты).

Для максимального использования потенциала молочной сыворотки необходимо искать инновационные пути её переработки, сочетающие экономическую эффективность, экологичность и возможность масштабирования. Это требует междисциплинарного подхода, инвестиций в исследования и внедрение передовых технологий, особенно в регионах с развитым сыроделием. Только так можно превратить сыворотку из проблемы молочной промышленности в устойчивый источник добавленной стоимости.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДЫ И ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальная часть работы выполнялась в лабораториях кафедры прикладной биотехнологии Северо-Кавказского федерального университета (СКФУ), в лабораториях и научных подразделениях факультета пищевой инженерии и биотехнологий имени академика А.Г. Храмцова СКФУ: в международной научно-исследовательской лаборатории «Электро- и баромембранных технологий», научно-исследовательской лаборатории «Нанобиотехнологии и биофизики». Часть лабораторных и пилотных исследований была выполнена в условиях промышленного производства ООО «Юговской комбинат молочных продуктов», ООО «Лужский молочный комбинат».

Этапы выполнения работы в соответствии со структурой диссертации отражены на рисунке 2.1.

Объектами исследования являлись:

- подсырная сыворотка, соответствующая требованиям ГОСТ 34352-2017;
- сахар молочный (лактоза) пищевой, ГОСТ 33567-2015, РФ, АО «МК «Ставропольский»»;
- глюкоза пищевая, ГОСТ Р 70295-2022, ООО «Роспланта», РФ,
- изолят сывороточных белков (ИСБ), ТУ 10.51.56.-038.00426012-2024, АО «Молвест»,
- $\beta$ -галактозидаза *K. Lactis* Biolactase L20, Kerry Bio-Science, Франция, приложение А,
- $\beta$ -галактозидаза *K. Lactis* Mayalact L 5000®, «MAYASAN A.S.», Турция, приложение Б.



Рисунок 2.1 – Структура проведения экспериментальных исследований

Основные физико-химические и каталитические характеристики исследованных препаратов систематизированы в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Характеристика ферментных препаратов дрожжевых  $\beta$ -галактозидаз (приложение А, Б)

Наименование показателя	Biolactase L20	Mayalact L 5000
Внешний вид	Жидкость	
Цвет	Светло-коричневый	
Массовая доля влаги в %, не более	8,0	
$\beta$ -галактозидазная активность, ед/г	20 000*	5 000**
Бактерии группы кишечных палочек в гр.	Не допускается	
Наличие плесеней и дрожжей	Не допускается	
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы, в 1 гр. препарата	Не допускается	
Температура хранения, °С и условия хранения	0 – 8, в закрытом контейнере	
Срок хранения	Не менее 12 месяцев	

- \*Neutral Lactase Unit (NLU)/г
- \*\*Galactosidase Unit (GU)/г

Для исследований были выбраны как стандартные и специальные лабораторные методы. В перечень стандартных методов исследования входят:

- массовая доля влаги согласно ГОСТ 29246-91 [114];
- массовая доля общего белка согласно ГОСТ 34454-2018 [115];
- массовая доля влаги согласно ГОСТ ISO 12779-2014 [116];
- массовая доля лактозы согласно ГОСТ 29248-91 [117];
- массовая доля жира по ГОСТ 31633-2012 [118];
- массовая доля золы по ГОСТ 30626-98 [119];
- титруемая кислотность по ГОСТ 3624-92 [120];
- активная кислотность по ГОСТ 32892-2014 [121];
- количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов по ГОСТ 10444.15-94 [122];
- количество бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий) по ГОСТ 31747-2012 [123];

– количество дрожжей и плесневых грибов по ГОСТ 33566-2013 [124].

В ходе экспериментальных исследований были использованы следующие приборы и оборудование:

– Ротационный испаритель ИКА RV 10, Германия, ИКА-Werke GmbH & Co,

– Центрифуга Sigma 3-30KHS, Германия, Sigma Laborzentrifugen GmbH,

– Лабораторная сушильная установка Mini Spray Dryer B-290, BÜCHI Labortechnik, Швейцария,

Измерение динамической вязкости проводят на ротационном вискозиметре Брукфильда DV-E [125].

Степень кристаллизации лактозы контролировалась по изменению массовой доли сухих веществ в процессе кристаллизации и вычислялась по формуле:

$$C = \frac{(S1-S2) \cdot 9500 \cdot 100}{L \cdot S1 \cdot (95-S2)} \quad (2.1)$$

где

C – степень кристаллизации лактозы;

S1, – массовая доля сухих веществ на выходе из вакуум-выпарного аппарата по рефрактометру, %;

S2 – массовая доля сухих веществ в кристаллизованном концентрате по рефрактометру, %;

L – массовая доля лактозы в сухом веществе пермеата, %; (в среднем – 90 %)

95 – показатель, учитывающий 5 % содержание связанной воды в моногидрате  $\alpha$ -лактозы. Элементный состав определяли методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии [126] (EDX) на сканирующем электронном микроскопе MIRA 3 LMH (TESCAN, Чехия), оборудованном системой определения элементного состава AZtecEnergy Standard/X-Max 20 (Oxford Instruments, Великобритания). Образцы для анализа озоляли по ГОСТ Р 56833-2015, после чего перетирались в ступке и запрессовывались в таблетки на прессе ПЛГ-20 (ЛабТулс, Россия). На поверхность подготовленного образца напыляли углеродное покрытие толщиной 20 нм и плотностью 2,25 г см<sup>-3</sup> для

обеспечения проводимости. Анализ проводился в пятикратной повторности в различных областях таблетки площадью 200×200 мкм, за результат принимали среднее пяти измерений. Содержание элемента в золе пересчитывали в содержание элемента в исходном образце по известной зольности.

Для нанофильтрации использовали пилотную баромембранную установку циркуляционного типа, оснащенную полимерным спиральным мембранным элементом Alfa Laval NF-2517/30 с площадью мембранного полотна 1,1 м<sup>2</sup> (Alfa Laval, Швеция). Установка включает емкость ретентата в составе циркуляционного контура, температура фильтрации составляла от 8,0 до 10,0 °С.

Для электродиализа использовали лабораторную установку циркуляционного типа Р EDR-Z (MEGA a.s., Чехия) с эффективной площадью электродов 64 см<sup>2</sup>, включающую контуры дилуата, солевого концентрата и электродного раствора. Мембранный пакет установки состоял из чередующихся катионо- и анионообменных мембран МА-41П (10 шт.) и МК-40 (11 шт.) производства ООО «Инновационное предприятие «Щекиноазот», Тульская область. Сведения о режиме ЭД представлены в таблице 2.2. Сведения о параметрах мембран доступны на сайте производителя. ЭД протекал с поддержанием температуры на уровне (15,0 – 20,0) °С.

Таблица 2.2 – Параметры проведения процесса электродиализной обработки

Параметры процесса	Электродный раствор	Концентрат	Дилуат
Рабочие растворы	NaNO <sub>3</sub> , 20 г/л	HNO <sub>3</sub> , УЭП 8 – 10 мСм/см	ЛСС
Объем, мл	250	500	500
Скорость циркуляции, л/ч	90 – 95	100	90 – 95
Напряжение на модуле, В	25		
Температура, °С	18 – 25		
Площадь мембран, см <sup>2</sup>	1344		
Диапазон плотностей тока, мА/см <sup>2</sup>	2,2 – 18,9		
Продолжительность ЭД, минут	24 – 88		

Процесс деминерализации делактозированной подсырной сыворотки изучали методом мембранной емкостной деионизации (МЕДИ), изучался на пилотной установке, предоставленной ООО «ДМП».

Для проведения процессов кристаллизации и гидролиза использовался стеклянный реактор Minni 100. Реактор имеет цилиндрическую емкость с донным краном, рубашку для нагрева или охлаждения с помощью внешнего циркуляционного термостата. Перемешивающие элементы имеют вал из нержавеющей стали, покрытый фторопластом и лопасть (якорную, пропеллерную, турбинную, веерную и т.п.).

Оптимизация параметров процесса кристаллизации проводилась использованием методики центрального композиционного планирования, основанной на построении планов многофакторных экспериментов, позволяющих сократить число опытов, необходимых для построения адекватной математической модели процесса.

При осуществлении плана эксперимента исследуемые факторы варьировались на двух уровнях: верхнем  $C_i^+$  и нижнем  $C_i^-$ .

Основной уровень (центр эксперимента) для  $i$ -ого фактора выражается формулой (2.2):

$$C_0 = (C_i^+ + C_i^-) / 2 \quad (2.2)$$

Интервалы варьирования факторов (2.3):

$$L_i = C_i^+ - C_0 = C_0 - C_i \quad (2.3)$$

При этом значения варьируемых факторов вносили в матрицу плана в кодированных величинах: верхний уровень – (+1), нижний уровень – (-1), основной уровень – (0). План эксперимента дополнялся до композиционного равномер-ротатабельного плана второго порядка. Для этого проводили дополнительные серии экспериментов в так называемых «звездных точках». Величина плеча звездной точки в кодированных значениях  $i$ -ого фактора определяли по формуле 2.4:

$$R = 2 (n/4), \quad (2.4)$$

где  $n$  – количество варьируемых факторов.

Таким образом, для двухфакторного эксперимента значение плеча звездной точки в кодированных величинах составляет  $R = 1,414$ .

Статистическую обработку данных выполняли в программном пакете Statistica 12 (StatSoft, США). Статистическую значимость различий между несколькими группами определяли посредством дисперсионного анализа с апостериорным тестом Тьюки (Tukey HSD test) с уровнем значимости  $p \leq 0,05$ , если не указано иное. Для определения статистической значимости различий между двумя группами использовали двухвыборочный t-критерий Стьюдента для независимых выборок.

## **ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЛАКТОЗЫ В ПОДСЫРНОЙ СЫВОРОТКЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ**

### **3.1. Исследование влияния процесса нанофильтрационной обработки на эффективность делактозирования методом кристаллизации**

Применительно к переработке лактозосодержащего молочного сырья, к которому относится подсырная сыворотка [9], основным условием инициирования и протекания кристаллизации лактозы является создание и поддержание ее пересыщенного состояния в растворе. Пересыщение, в свою очередь, определяется как состояние системы, в котором концентрация растворенного вещества, лактозы, превышает его равновесную растворимость при данных условиях: температуре, рН, ионной силе [96, 100, 106]. Именно пересыщение служит движущей силой процесса, обеспечивая термодинамический потенциал для нуклеации и последующего роста существующих кристаллов. На практике пересыщение чаще всего достигается за счет выпаривания воды или охлаждения раствора. При этом скорость и эффективность кристаллизации существенно зависят от степени и стабильности создаваемого пересыщения.

В современных промышленных условиях при переработке лактозосодержащего сырья достижение необходимой степени пересыщения лактозы в сырье осуществляется преимущественно комбинацией двух последовательных процессов: нанофильтрационного (НФ) концентрирования и вакуум-выпаривания.

Нанофильтрация, как мембранный процесс с промежуточной селективностью – между ультрафильтрацией и обратным осмосом, позволяет

эффективно удалять моновалентные ионы и низкомолекулярные органические соединения при одновременном концентрировании лактозы [127 – 129]. Последующее вакуум-выпаривание обеспечивает дальнейшее повышение концентрации сухих веществ до уровня, необходимого для инициирования кристаллизации. Однако процесс нанофльтрации вносит изменения в состав концентрируемой среды [93, 127, 130], что потенциально может оказывать значимое влияние на кинетику последующей кристаллизации лактозы.

Рассматривая подсырную сыворотку, как пищевую систему, в которой проводится кристаллизация лактозы, и резюмируя данные, приведенные в главе 1, можно отметить, что соотношение компонентов в сухом остатке подсырной сыворотки является относительно стабильным. Большую часть, около  $80,0 \pm 0,06$ , составляет лактоза, порядка  $(10,0 - 14,0) \pm 0,06$  белковая фракция, до  $10,0 \pm 0,06$  может составлять зольный остаток. Кроме того, в состав сыворотки могут входить минорные соединения: метаболиты заквасочных микроорганизмов, продукты гидролиза белков молока сычужным ферментом, витамины и т.д.

Следует отметить, что большинство литературных источников [71, 77, 102] акцентируют внимание на вариабельности сырья, которая зависит от двух ключевых факторов: состав используемого молока и особенности технологии производства сыра, применяемой при её получении. Вариабельность состава исходного сырья оказывает влияние и на процесс его НФ концентрирования [78]. Например, с учетом данных [130] о том, что степень удержания ионов НФ мембранами снижается в следующем порядке:  $Mg^{2+} > Ca^{2+} > Na^{+} > K^{+}$ , можно ожидать, что при изменении соотношения моновалентных и двухвалентных ионов уровень удаления золы, другими словами, уровень деминерализации сырья при НФ концентрировании изменится.

Для оценки влияния вариабельности сырья на уровень удаления минеральной составляющей подсырной сыворотки был проанализирован компонентный состав выборки из 21 пробы сырья после обработки на промышленной НФ установке в течение недели. Отбор проб проводился из

емкости с сырьем, поступающим на НФ обработку, затем на 4-ом, 7-ом и 12-ом ч работы установки после окончания плановой СИП-мойки оборудования.

В концентрированных образцах подсырной сыворотки определялся компонентный состав, в соответствии методами, указанными в главе 2. Степень деминерализации вычислялась как доля остаточного содержания золы, выраженная в процентах согласно формуле 2.1.

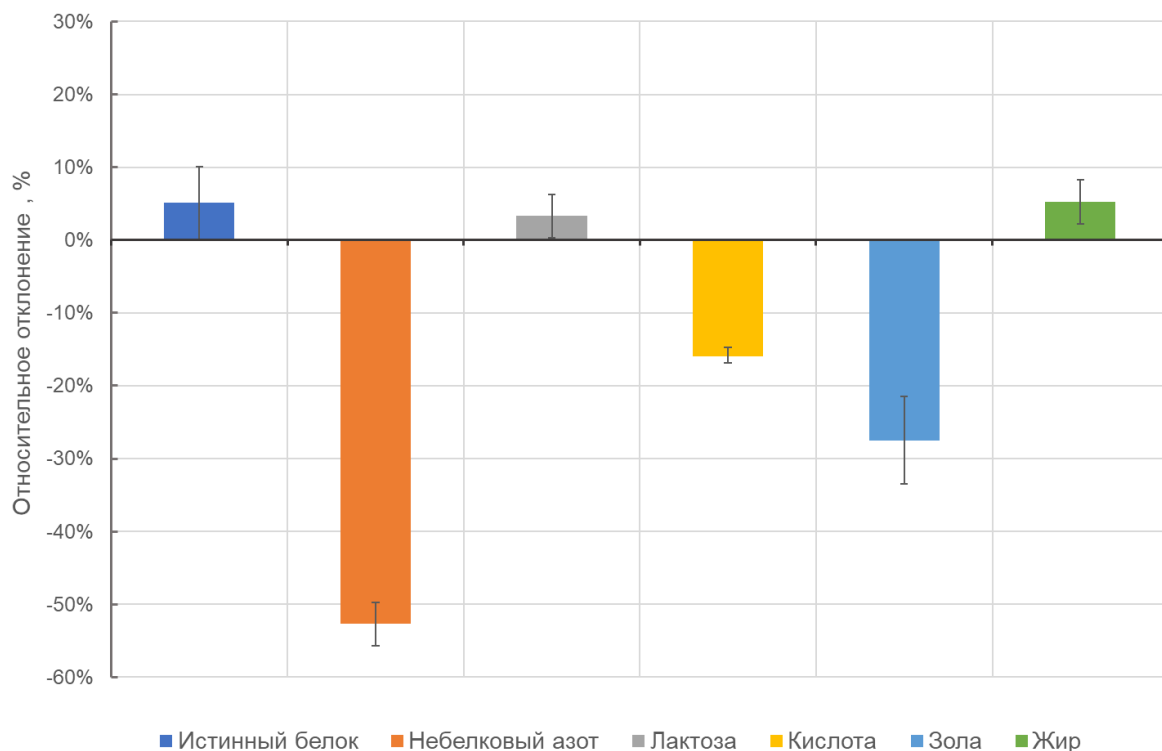
Данные, полученные при анализе сырья, показывают, что массовая доля сухих веществ подсырной сыворотки, направляемой на НФ установку, после очистки и пастеризации колебалась в значимых пределах:  $(6,32 - 5,43)$  ( $p \geq 0,05$ ).

Массовая доля золы и лактозы в сухом остатке образцов сыворотки имела значимые отклонения (при  $p \geq 0,05$ ) и для большинства образцов составляла около  $(5,82 \pm 0,13)$  %, при максимальном значении  $(10,2 \pm 0,20)$  %.

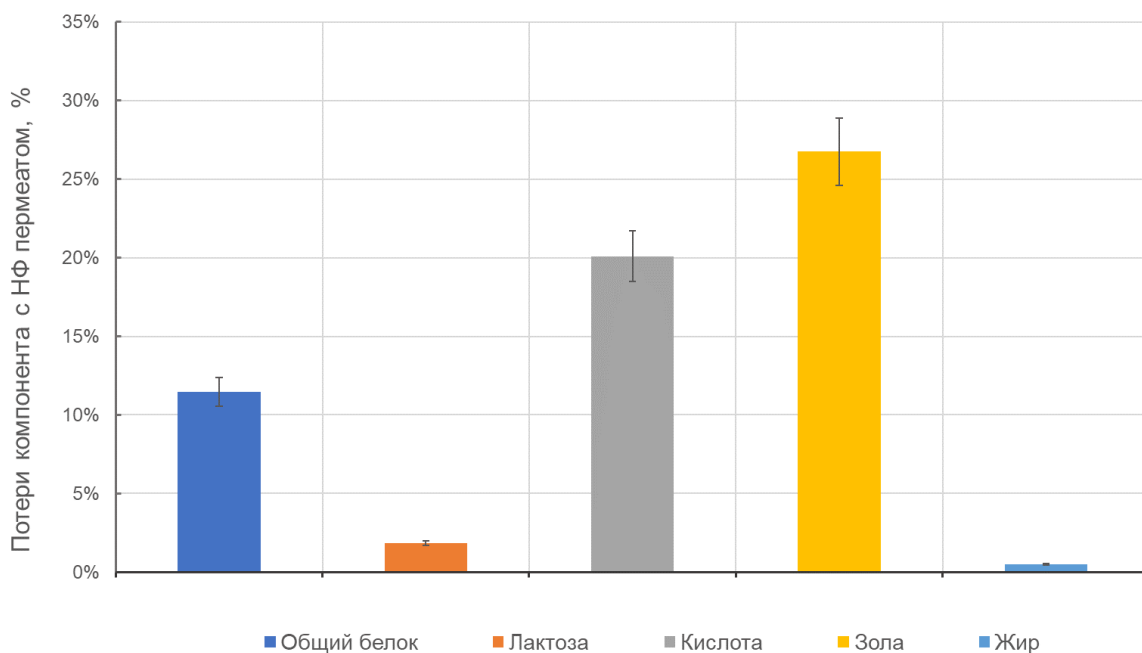
Массовая доля лактозы колебалась в пределах  $(81,5 - 86,7)$  % ( $p \geq 0,05$ ), при относительно стабильном значении для белка  $(10,0 - 11,0)$  (при  $p \leq 0,05$ ). При этом содержание истинного белка белковой фракции молочной сыворотки до концентрирования составляла  $(7,4 - 8,9)$  % ( $p \leq 0,05$ ).

Следует отметить, что доля истинного белка является значимым показателем, поскольку именно эта фракция в процессе НФ обработки сыворотки остается наиболее стабильной [131]. Напротив, небелковые азотистые соединения, которые представлены низкомолекулярными компонентами, такими как короткие пептиды, аминокислоты, мочевины, креатин и т. д., в процессе мембранного концентрирования могут в значительном количестве переходить в разбавленную фракцию [129].

Сравнительный анализ изменений состава сухого остатка (рисунок 3.1 а, б) после НФ обработки подтвердил эту закономерность и показал снижение содержания небелкового азота в сухом остатке концентрированного продукта: более чем на 50,0 %. Параллельно наблюдалось повышение доли истинного белка и жира, что указывает на концентрирование высокомолекулярных фракций в процессе НФ обработки.



a



б

Рисунок 3.1 – Изменение компонентного состава сухого остатка подсырной сыворотки после НФ обработки: (а) относительное отклонение содержания компонентов в 100 г сухого остатка концентрированной сыворотки от исходной, (б) потери компонентов сырья в НФ пермеат

Незначительное снижение массы жировой фракции после концентрирования (рисунок 3.1 б) можно связать с потерями в процессе вытеснения и мойки промышленной установки.

Массовая доля лактозы в сухом остатке увеличивалась за счет относительного снижения содержания других компонентов, хотя порядка 20,0 % лактозы переходило в пермеат. Как и ожидалось процесс нанофильтрации привел к снижению содержания золы.

Следует отметить, что в 60,0 % образцов массовая доля золы в сухом остатке после нанофильтрации составляла менее 5,3 %, что при выработке сухого продукта позволило бы, согласно ГОСТ 35005-2023, отнести его к сухой деминерализованной сыворотке с уровнем деминерализации 40,0 %. Однако расчет степени деминерализации, как доли от значения содержания золы в исходном сырье, показал, что реальный уровень деминерализации в процессе НФ не превышал (22,5 – 27,3) %.

Сравнение компонентного состава сырья до и после нанофильтрации показало, что потери общего белка (рисунок 3.1 б) составляли (43,6 – 45,2) %, определялись, главным образом, переходом небелкового азота в НФ пермеат. Переход в пермеат истинного белка не превышал 0,02% для всех образцов.

Поскольку хорошо известно, что удаление низкомолекулярных примесей, в процессах мембранной фильтрации можно регулировать использованием дополнительного процесса диафильтрации [128], целью дальнейших исследований было изучение влияние процесса диафильтрации на компонентный состав концентрированной сыворотки и эффективность дальнейшего процесса кристаллизации лактозы.

Объектом исследования являлась подсырная сыворотка, очищенная от казеиновой пыли и жира, пастеризованная при  $(74,0 \pm 2,0)$  °С в течение (15 – 20) сек в промышленных условиях, с компонентным составом, указанным в таблице 3.1.

Процесс НФ обработки проводился на пилотной установке мембранной фильтрации (рисунок 3.2) с использованием полимерных мембран Alfa Laval NF2538, размер пор 300 Да, при температуре (10 – 12) °С.

Таблица 3.1 – Физико-химические характеристики обезжиренной пастеризованной подсырной сыворотки

Показатель	Значение	
	в сырье	в СВ сырья
Массовая доля истинного белка, %	0,51 ± 0,08	8,64 ± 0,16
Массовая доля небелкового азота, %	0,17 ± 0,02	2,82 ± 0,13
Массовая доля лактозы, %	4,57 ± 0,12	77,74 ± 0,86
Массовая доля лактатов, %	0,09 ± 0,03	1,50 ± 0,02
Массовая доля золы, %	0,50 ± 0,09	8,47 ± 0,11
Массовая доля жира, %	0,05 ± 0,07	0,83 ± 0,07
Массовая доля сухих веществ, %	5,88 ± 0,15	-

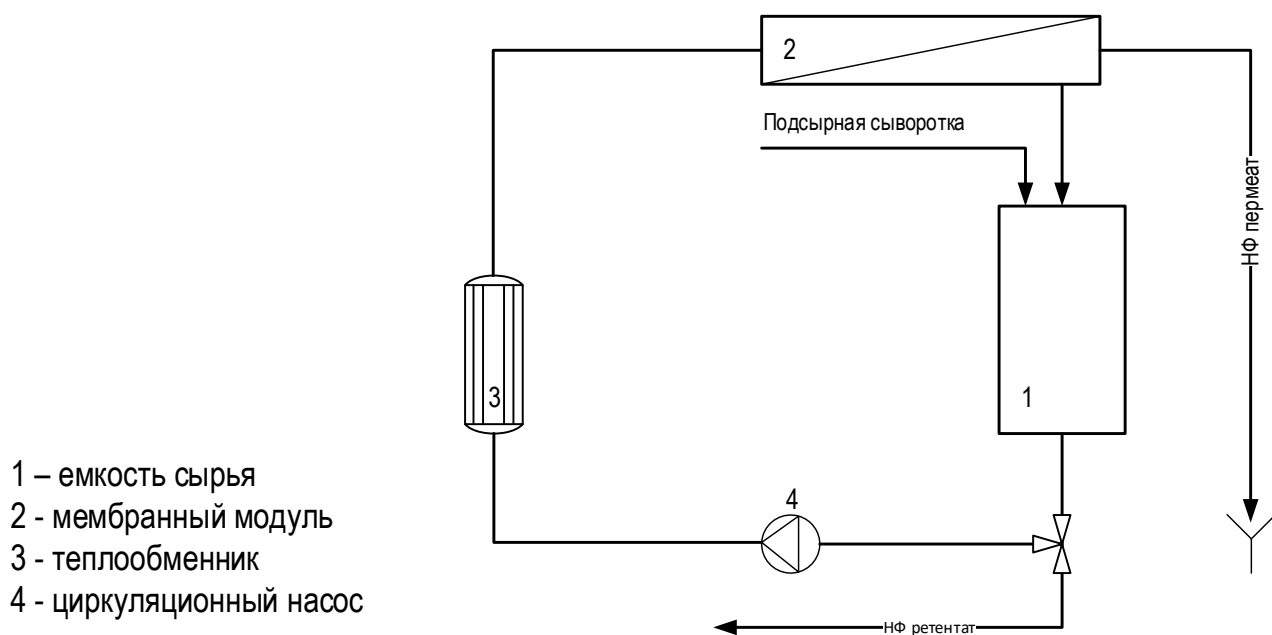


Рисунок 3.2 – Схема пилотной установки мембранной фильтрации

Эксперимент проводился следующим образом. На первом этапе сырье концентрировалось в циркуляционном контуре установки при полностью

перекрытом регулирующем клапане на линии выхода ретентата (рисунок 3.2). При этом в контур непрерывно подавалось свежее сырье для компенсации объема отбираемого пермеата. Концентрирование прекращалось, когда массовая доля сухих веществ ретентата достигала  $(20,0 \pm 0,2) \%$ , что соответствовало объемному фактору концентрирования сырья в диапазоне  $(3,6 - 3,7)$ .

На втором этапе к 5,0 л предварительно сконцентрированного сырья (таблица 3.2) добавляли расчетное количество обратноосмотической воды. Для фиксирования объема вносимой диафильтрационной воды был принят коэффициент диафильтрационной воды ( $K_{dw}$ ), рассчитанный как соотношение вносимой воды к начальному объему перерабатываемого сырья. При проведении исследований были использованы следующие  $K_{dw}$ : 10,0 %, 20,0 %, 30,0 % и 40,0 %. Разбавленный соответствующим образом концентрат снова подвергали нанофильтрационной обработке. Процесс концентрирования считался законченным при достижении массовой доли сухих веществ ретентата  $(20,0 \pm 2,0) \%$ . В концентрированных образцах определялся компонентный состав, а также рассчитывался уровень деминерализации согласно формуле 2.1.

Результаты исследования (таблица 3.2) подтвердили, что в ходе диафильтрации идет постепенное увеличение степени вымывания проникающих через мембрану компонентов при одновременном концентрировании сывороточных белков, лактозы, остаточных жиров и большей части двухвалентных ионов в НФ ренетрате. Так в исходном сырье массовая доля истинного белка в сухом веществе (СВ) составляла в среднем  $(8,64 \pm 0,06) \%$ . В процессе обработки наблюдалось постепенное увеличение этой величины, достигающее  $(9,35 \pm 0,08) \%$  при коэффициенте диафильтрационной воды, равном 40,0 %.

Одновременно отмечается значительное снижение массовой доли небелкового азота с  $(2,82 \pm 0,03) \%$  до  $(1,43 \pm 0,02) \%$ , что свидетельствует о удалении пептидов и аминокислот.

Таблица 3.2 – Компонентный состав концентрированной подсырной сыворотки методом нано- и диафильтрации

Показатель	Сыворотка до НФ обработки	Сыворотка после НФ с диафильтрацией при коэффициенте диафильтрационной воды (Kdw)				
		0	10	20	30	40
Массовая доля сухих веществ, %	5,88 ± 0,15	20,70 ± 0,13	22,42 ± 0,36	22,30 ± 0,25	22,23 ± 0,19	22,27 ± 0,18
Массовая доля истинного белка в СВ, %	8,64 ± 0,06	9,11 ± 0,08	9,10 ± 0,12	9,18 ± 0,09	9,23 ± 0,11	9,35 ± 0,08
Массовая доля небелкового азота в СВ, %	2,82 ± 0,03	2,01 ± 0,18	1,71 ± 0,13	1,58 ± 0,05	1,48 ± 0,06	1,43 ± 0,02
Массовая доля лактозы в СВ, %	77,74 ± 0,86	80,74 ± 2,16	81,90 ± 1,59	82,32 ± 2,21	81,63 ± 2,26	82,59 ± 1,83
Массовая доля лактатов в СВ, %	1,50 ± 0,02	1,38 ± 0,06	1,33 ± 0,03	1,31 ± 0,05	1,29 ± 0,10	1,27 ± 0,12
Массовая доля золы в СВ, %	8,47 ± 0,11	5,97 ± 0,15	5,18 ± 0,12	4,84 ± 0,08	4,58 ± 0,13	4,58 ± 0,09
Массовая доля жира в СВ, %	0,83 ± 0,07	0,78 ± 0,11	0,77 ± 0,09	0,77 ± 0,10	0,78 ± 0,10	0,79 ± 0,11
Степень деминерализации, %	-	29,56 ± 0,35	38,83 ± 0,31	42,91 ± 0,21	45,88 ± 0,23	45,91 ± 0,15

Массовая доля лактозы в сухом остатке концентрированной сыворотки при изменении  $K_{dw}$  изменяется незначительно (таблица 3.2), поскольку, при увеличении коэффициента диафильтрационной воды потери лактозы в НФ пермеат также увеличивались и при  $K_{dw} = 40,0$  составляли более 10,0 %.

Увеличение  $K_{dw}$  приводило к снижению массовой доли золы в сухом веществе сырья (таблица 3.2), что хорошо согласуется с результатами, приведенными в [127 – 129].

Так при коэффициенте диафильтрационной воды 30,0 % содержание золы уменьшалось на 23,0 % по сравнению с процессом без диафильтрации, достигая уровня деминерализации около  $(45,88 \pm 0,23)$  %, при этом увеличение  $K_{dw}$  до 40,0 % не приводило к значимому повышению уровня деминерализации (таблица 3.2). Учитывая возрастающие потери небелкового азота и лактозы при повышении  $K_{dw}$ , использование большего коэффициента диафильтрационной воды было бы целесообразным при значительном повышении эффективности процесса кристаллизации.

Целью следующего цикла экспериментов было определение влияния снижения массовой доли золы в концентрированной подсырной сыворотке на процесс кристаллизации лактозы.

Для проведения эксперимента были использованы три образца подсырной сыворотки:

- образец №1 – до нанофильтрационной обработки, массовая доля сухих веществ  $(5,88 \pm 0,15)$  %, массовая доля золы  $(0,42 \pm 0,05)$  %;
- образец № 2 – концентрированный методом нанофильтрации, массовая доля сухих веществ  $(20,70 \pm 0,13)$  %, массовая доля золы  $(1,25 \pm 0,04)$  %;
- образец № 3 – концентрированный методом нанофильтрации с диафильтрацией,  $K_{dw} = 30,0$  %, массовая доля сухих веществ  $(22,23 \pm 0,19)$  %, массовая доля золы  $(1,03 \pm 0,05)$  %.

Подготовленные образцы сгущались до массовой доли сухих веществ (54,0 – 55,0) % на лабораторном ротационном испарителе (глава 2), затем охлаждались для проведения направленной кристаллизации лактозы в биореакторе (глава 2),

оснащенном перемешивающим устройством. Процесс кристаллизации проводился при режимах, принятых при производстве кристаллического молочного сахара: скорость охлаждения (2,0 – 3,0) °С/ч, время кристаллизации (10,0 – 12,0) ч [2]. После окончания процесса определялась степень кристаллизации лактозы, затем, (0,1 – 0,2) мл кристаллизованного образца наносили на предметное стекло, высушивали при комнатной температуре и проводили микроскопирование при увеличении в 400 раз, определяли размер кристаллов по Л. В. Чекулаевой, на основании которого рассчитывали средний размер кристаллов и коэффициент однородности (глава 2).

После отделения кристаллов лактозы от межкристаллической жидкости, в образовавшейся фракции – делактозированной сыворотке, определяли содержание минеральных веществ, лактозы, общего белка (рисунок 3.3).

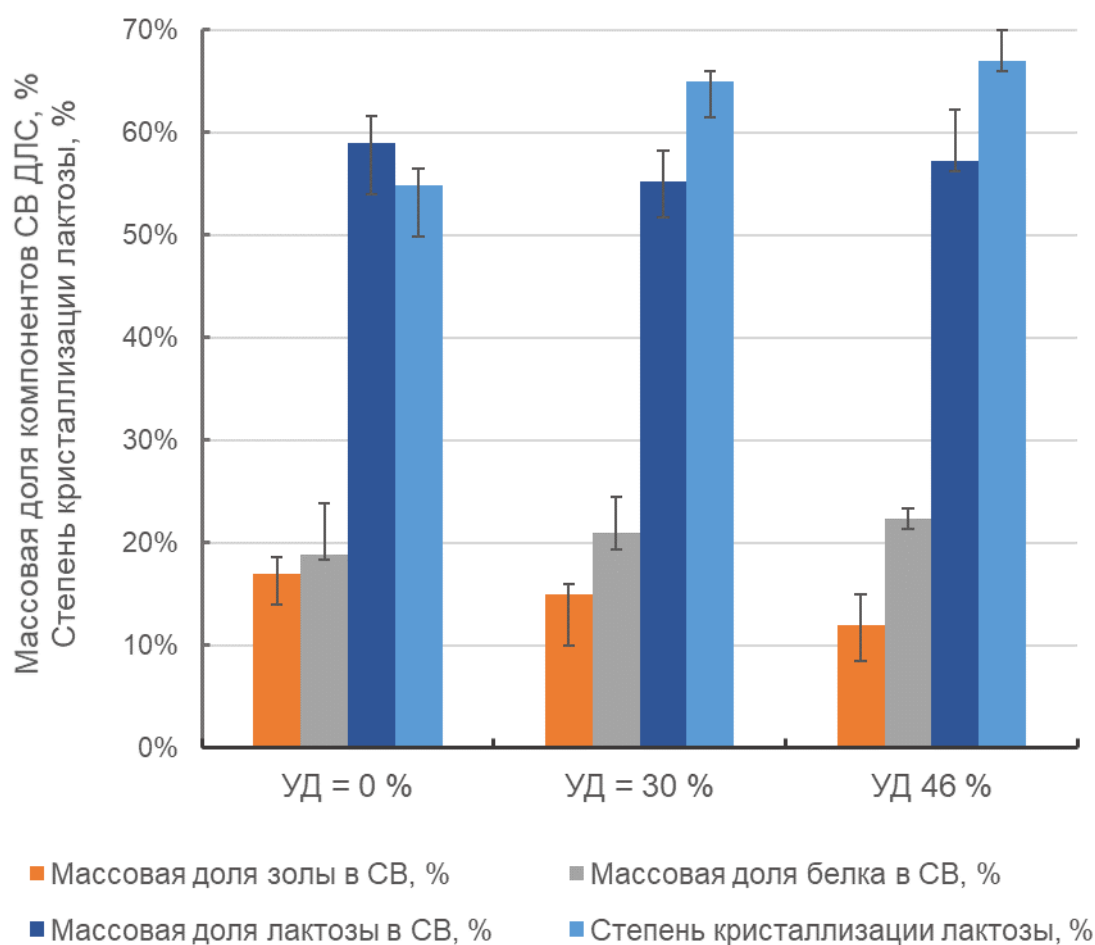


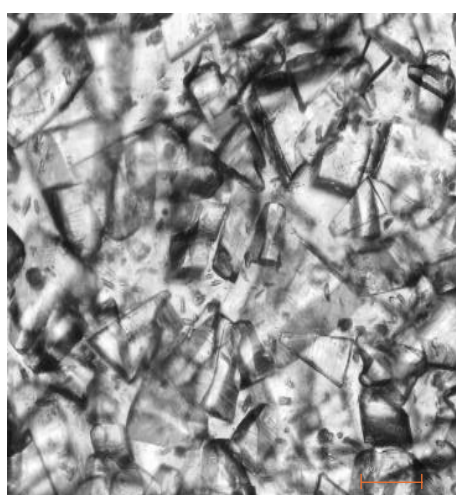
Рисунок 3.3 – Влияние уровня деминерализации (УД) концентрированной подсырной сыворотки на компонентный состав и степень кристаллизации лактозы

Результаты эксперимента показали, что степень кристаллизации лактозы в сырье без НФ обработки составила менее 60,0 %, при массовой доле белка в делактозированной фракции – межкристаллической жидкости – менее 18,0 %.

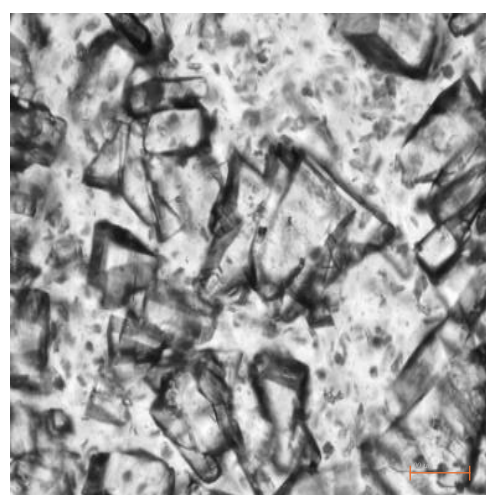
Повышение уровня деминерализации до  $(29,56 \pm 0,35) \%$  в образце сконцентрированном без использования диафильтрации, способствовало увеличению степени кристаллизации на 15,0 % за счет удаления одновалентных ионов-мелассообразователей [132]. При этом увеличивается переход белковых веществ в межкристаллическую жидкость при отделении кристаллов (рисунок 3.3).

Повышение уровня деминерализации до  $(45,88 \pm 0,23) \%$  не оказало значимого влияния на эффективность кристаллизации (рисунок 3.3). В случае использования диафильтрации с  $K_{dw} = 40,0 \%$ , степень кристаллизации увеличивается только на 17,0 %. Массовая доля белка в делактозированной фракции также увеличивается незначительно.

Микроскопирование образцов показало преобладание кристаллов лактозы размером (150 – 300) мкм с характерной призматической формой (рисунок 3.4), коэффициенты однородности кристаллов также имели близкие значения:  $(0,67 \pm 0,12)$  и  $(0,72 \pm 0,9)$  соответственно.



(a)



(б)

Рисунок 3.4 – Микропрепараты образцов сыворотки после проведения кристаллизации,  $40 \times 10$ , ( $K_{dw} = 0$  (a) и  $K_{dw} = 30,0 \%$  (б))

Таким образом, с учётом того, что в технологии делактозированной сыворотки доброкачественность (массовая доля лактозы в сухом остатке) фракции кристаллов лактозы не является приоритетом, можно сделать вывод, что использование комбинации процесса НФ и диафильтрации будет целесообразным только в случае экстремальных значений массовой доли золы в исходном сырье, например, при переработке соленой сыворотки.

### **3.2. Изучение влияния промывки кристаллов на компонентный состав делактозированной сыворотки**

Процесс промывки кристаллов является одним из ключевых этапов в технологии получения кристаллической лактозы, поскольку именно эта стадия является заключительной операцией, определяющей доброкачественность конечного продукта.

Анализ литературной и патентной информации показал, что данные по условиям и эффективности промывки достаточно скудные, поскольку, как правило, условия промывки подбираются производителями индивидуально для заданного вида сырья и готового продукта [133]. Но, поскольку для производства лактозы используется сырье, в котором содержание белковой фракции минимизировано, например, УФ пермеаты сыворотки и обезжиренного молока, цель промывки в данном случае – обеспечить дальнейшее максимально возможное удаление примесей несахаров при минимальных потерях лактозы.

При анализе существующих технологий делактозированной сыворотки [22, 109] было выдвинуто предположение, операция промывки создаст условия, при которых возврат промывных вод в поток делактозированной сыворотки позволит

повысить пищевую ценность продукта за счет увеличения перехода в целевой продукт белковой фракции.

Как показывают исследования [134], белки могут образовывать довольно прочные связи с кристаллической решеткой лактозы за счет электростатических и гидрофобных взаимодействий, что усложняет их удаление. Более того, согласно данным [2, 104, 132], белки снижают растворимость лактозы, ускоряют скорость зародышеобразования за счет связывания воды и создания микрон пересыщения, и уменьшают размер кристаллов лактозы. Безусловно, часть белков образует совместные кристаллические комплексы с лактозой и не вымывается из кристаллов при промывке [103, 133]. Важно отметить, что этот процесс в значительной степени зависит от pH, поскольку при pH больше 7 разрушаются димеры  $\beta$ -лактоглобулина, а растворимые мономеры встраиваются в кристаллы лактозы и уже не могут быть удалены вместе с промывными водами [104].

Строго говоря, эффективность удаления несахаров в течение промывки определяется комплексом взаимосвязанных факторов: физико-химические параметры системы, характеристики промывных растворов, условия процесса промывки, включая объем и температуру воды, используемой для промывки кристаллов [104].

На основании литературных данных, при проведении предварительных исследований в качестве основного критерия, влияющего на эффективность промывки было выбрано количество используемой промывной воды, выраженное как коэффициент воды для промывки ( $K_{ww}$ ). В количественном выражении  $K_{ww}$  определялся как отношение объема воды для промывки к массе влажных кристаллов, полученных после центрифугирования кристаллизата.

Эксперимент проводили следующим образом. Подсырную сыворотку после нанофильтрации и сгущения до массовой доли сухих веществ (54,0 – 54,5) % охлаждали со скоростью (2,0 – 3,0) °C/ч до (13,0 – 15,0) °C, затем выдерживали до достижения общего времени кристаллизации (11,5 – 12,0) ч. Из кристаллизата отбирались 3 образца равного объема, затем из каждого образца кристаллы лактозы отделяли центрифугированием (15 минут, 3000 об/мин). Кристаллы,

полученные при центрифугировании образцов, отделялись от фугата (делактозированной сыворотки). Кристаллы образца 2 и 3 промывали дистиллированной водой с температурой (10,0 – 15,0) °С, используя  $K_{ww}$  50,0 % и 100,0 %, соответственно. После промывки кристаллы лактозы также отделялись на центрифуге, промывные воды смешивались с делактозированной сывороткой, полученной при центрифугировании образцов 2 и 3. В полученных образцах делактозированной сыворотки с промывными водами (образец 2 и 3) и без (образец 1) определялась массовая доля общего белка, лактозы и золы (рисунок 3.5).

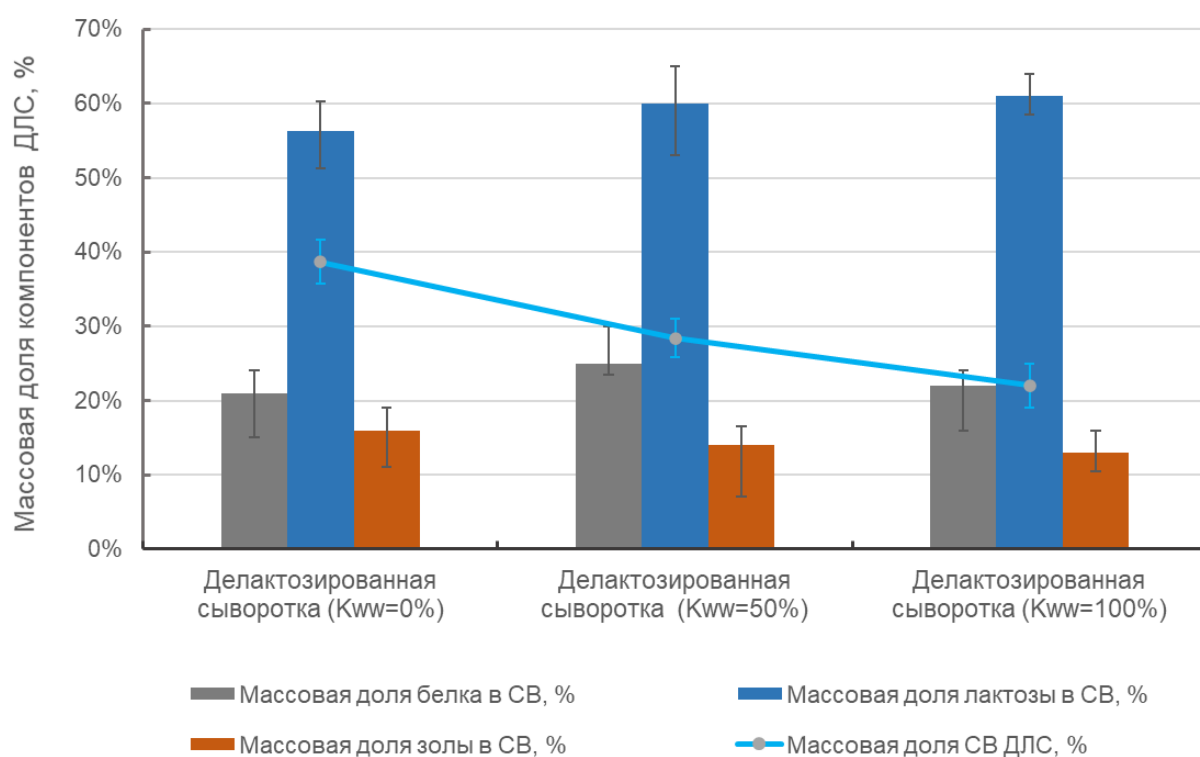


Рисунок 3.5 – Зависимость компонентного состава делактозированной сыворотки от коэффициента воды для промывки

Проведенные исследования показали, что, как и ожидалось, добавление промывных вод к межкристаллической жидкости изменяет соотношение компонентов в сухом остатке делактозированной сыворотки (рисунок 3.5).

В частности, массовая доля белка в сухом остатке делактозированной сыворотки при значении  $K_{ww} = 50,0$  % увеличивалась практически на 20,0 % от

значения для образца без промывки. При дальнейшем увеличении доли промывных вод до  $K_{ww} = 100,0 \%$  зафиксировано некоторое снижение концентрации белка, которое, тем не менее, оставалось на  $14,0 \%$  выше уровня контрольного образца ( $K_{ww} = 0 \%$ ). Параллельно при  $K_{ww} = 100 \%$  отмечен рост массовой доли лактозы до  $61,0 \%$ , что составляет увеличение на  $5,4 \%$  (рисунок 3.5). Можно отметить, что изменения соотношения белок/лактоза приводит к снижению массовой доли золы в сухом остатке на  $12,5 \%$  при  $K_{ww} = 50,0 \%$  и на  $18,8 \%$  при  $K_{ww} = 100 \%$  по сравнению с образцом без промывки. Другими словами, увеличение объёма промывной воды приводит большему «вымыванию» лактозы кристаллической фракции и увеличению ее доли в сухом остатке делактозированной сыворотки (рисунок 3.5). Соответственно, можно предположить, что при дальнейшем увеличении объёма промывной воды наступит момент, когда количество «вымываемого» белка достигнет предельного значения, в то время как содержание лактозы будет расти, что приведет к понижению доли белка в сухом остатке делактозированной сыворотки.

Кристаллы лактозы из подсырной сыворотки содержат значительное количество калия ( $15,20 \%$ ) и кальция ( $10,59 \%$ ). Устойчивость кальция к промывке позволяет предположить, что его ионы встраиваются в кристаллическую решётку. В то же время натрий в кристаллах меньше ( $6,77 \%$ ), так как он преимущественно остаётся в растворе. Основная часть калия ( $17,43 \%$ ) и натрия концентрируется в мелассе и промывных водах (около  $12,3 \%$ ).

Для проверки данной гипотезы и определения оптимальных условий промывки, при которых массовая доля белка в делактозированной сыворотке будет максимальной был реализован полный двухфакторный эксперимент.

Выбор факторов, влияющих на эффективность перехода основных компонентов сырья в процессе промывки, был основан на том, что состав подсырной сыворотки, формирующиеся в результате коагуляции казеина и последующего отделения сырной массы, оказывают значительное влияние на свойства её компонентов. Например, растворимость лактозы в подсырной сыворотке сохраняет выраженную прямую зависимость от температуры, однако

её абсолютные значения могут незначительно отличаться от таковых в чистой водной системе [102]. Растворимость сывороточных белков и солей в подсырной сыворотке претерпевает наиболее заметные изменения. Изменение рН, высокое содержание ионов кальция, характерные для этого типа сыворотки, приближают белки к их изоэлектрической точке, делая их менее гидратированными и более склонными к агрегации даже при низких температурах. Однако в условиях низкотемпературного режима (0,0 – 25,0) °С нативные конформации белков в основном сохраняются, а их кажущаяся растворимость определяется в большей степени электростатическими взаимодействиями, чем термической денатурацией [96, 135]. Растворимость фосфатов и цитратов кальция также сильно зависит температуры и снижается с ростом температуры [92]. Поэтому в качестве независимых факторов при планировании эксперимента были выбраны температура ( $X_1$ ) и объем промывных вод. Пределы варьирования факторов и композиционный план второго порядка для двухфакторного эксперимента представлены в таблице 3.3 и 3.4. Контролируемые параметры  $Y_1$  массовая доля белка в СВ делактозированной сыворотки и  $Y_2$  ( $P_{св}$ , %) массовая доля СВ в делактозированной сыворотке, выбирались с учетом заданного компонентного состава и параметров дальнейшего процесса производства сухой делактозированной сыворотки.

Таблица 3.3 – Пределы варьирования независимых факторов

Пределы варьирования	Независимые факторы	
	$X_1$ температура воды на промывку, °С	$X_2$ коэффициент воды на промывку, %
Верхний «+1»	50,0	120,0
Нижний «-1»	10,0	20,0
Центр «0»	30,0	70,0
Шаг « $\lambda$ »	20,0	50,0

Таблица 3.4 – Композиционный план второго порядка для двухфакторного эксперимента

Факторы в условных единицах,		Выходные параметры	
$X_1$	$X_2$	$*Y_1$	$**Y_2$
-1	-1	$*Y_1$	$**Y_2$
+1	-1	$*Y_1$	$**Y_2$
-1	+1	$*Y_1$	$**Y_2$
+1	+1	$*Y_1$	$**Y_2$
0	0	$*Y_1$	$**Y_2$
+1	0	$*Y_1$	$**Y_2$
-1	0	$*Y_1$	$**Y_2$
0	+1	$*Y_1$	$**Y_2$
0	-1	$*Y_1$	$**Y_2$

$*Y_1$  ( $B_n$ , %) – м.д. белка в СВ делактозированной сыворотки, %

$**Y_2$  ( $P_{CB}$ , %) – м.д. СВ в делактозированной сыворотки, %

Эксперимент проводился следующим образом. Пастеризованную подсырную сыворотку после нанофильтрации и сгущения до массовой доли сухих веществ (54,0 – 56,0) % охлаждали со скоростью (2,0 – 3,0) °С/ ч до (13,0 – 15,0) °С, время кристаллизации (11,5 – 12,0) ч. Из кристаллизата при перемешивании отбирались образцы равного объема, кристаллы лактозы отделяли центрифугированием (15 мин, 3000 об/мин). Полученные фракции влажных кристаллов с массовой долей сухих веществ (70,0 ± 3,7) % промывались дистиллированной водой с температурой и  $K_{ww}$ , соответствующим таблице 3.4.

Результаты представлены в виде поверхностей отклика и их сечения для выходных параметров  $Y_1$  (массовая доля белка в сухом остатке делактозированной сыворотки), (рисунок 3.6) и  $Y_2$  (массовая доля сухих веществ делактозированной сыворотки), (рисунок 3.7).

На основе анализа статистической значимости коэффициентов были выведены уравнения регрессии, описывающие зависимость содержания белка в сухом остатке делактозированной сыворотки,  $Y_1$ , (формула 3.1) и массовой доли сухих веществ,  $Y_2$ , (формула 3.1) от варьируемых параметров.

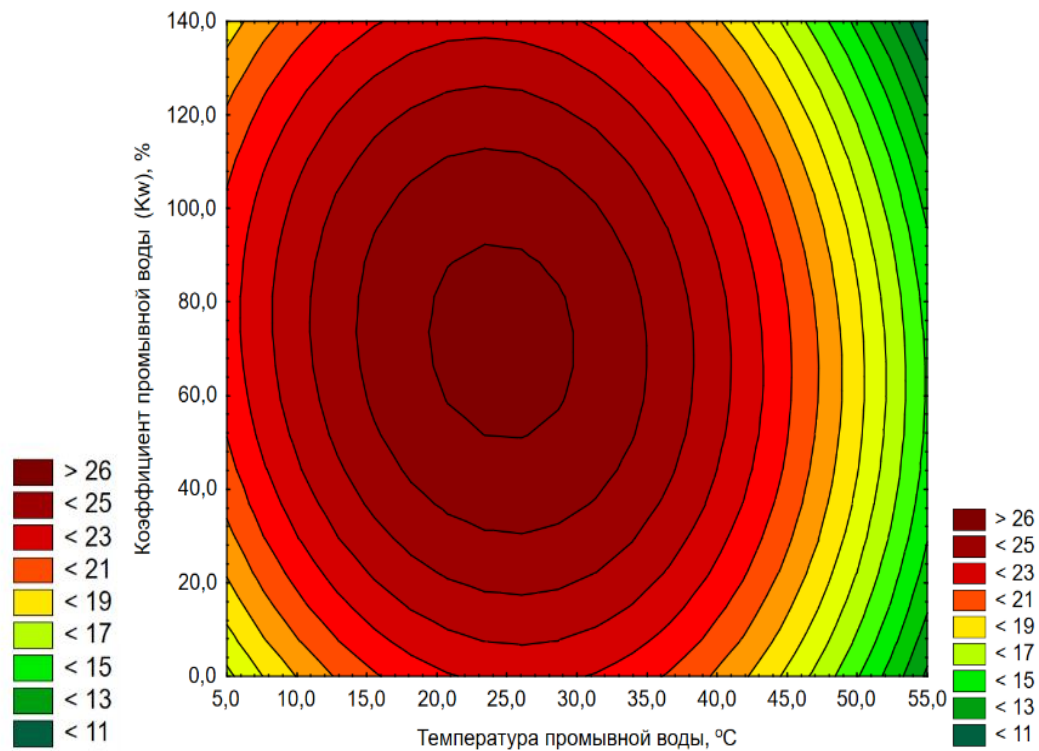
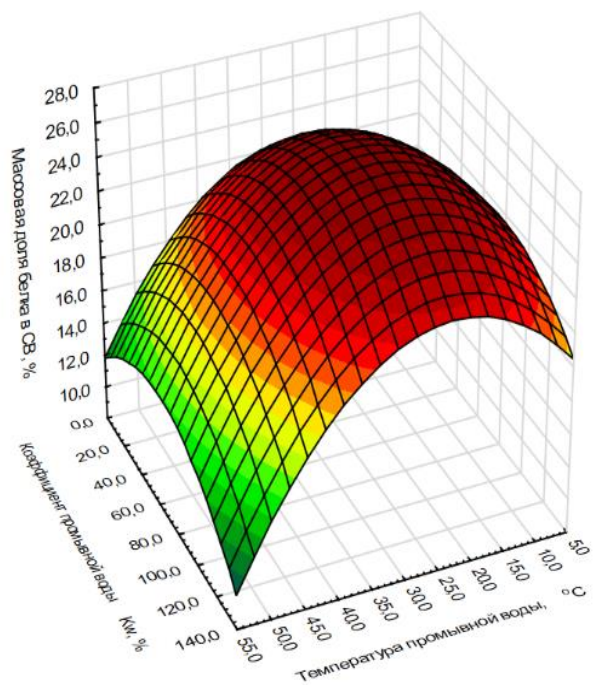


Рисунок 3.6 – Зависимость массовой доли белка в сухом остатке делактозированной сыворотки от температуры и количества промывной воды

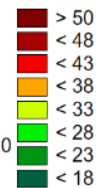
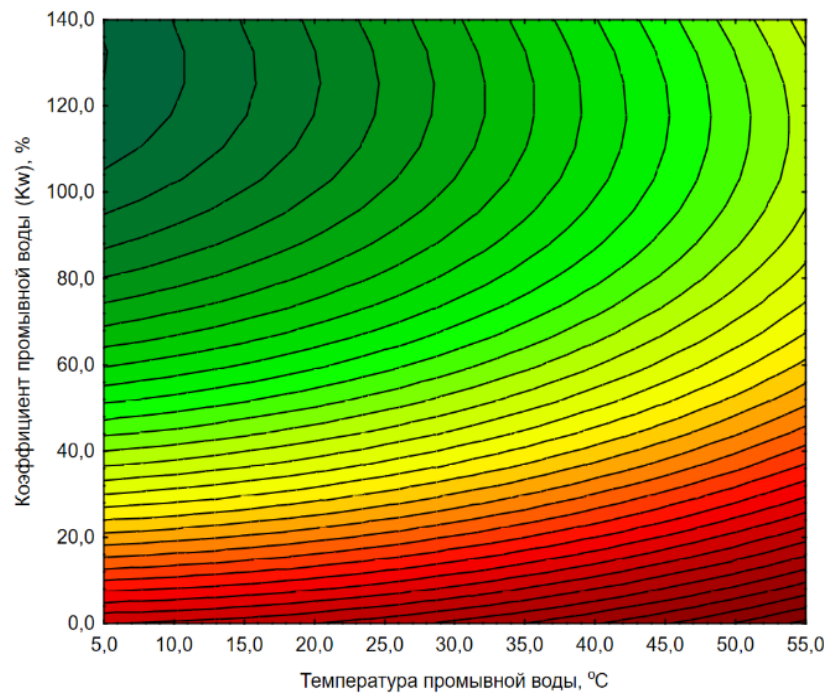
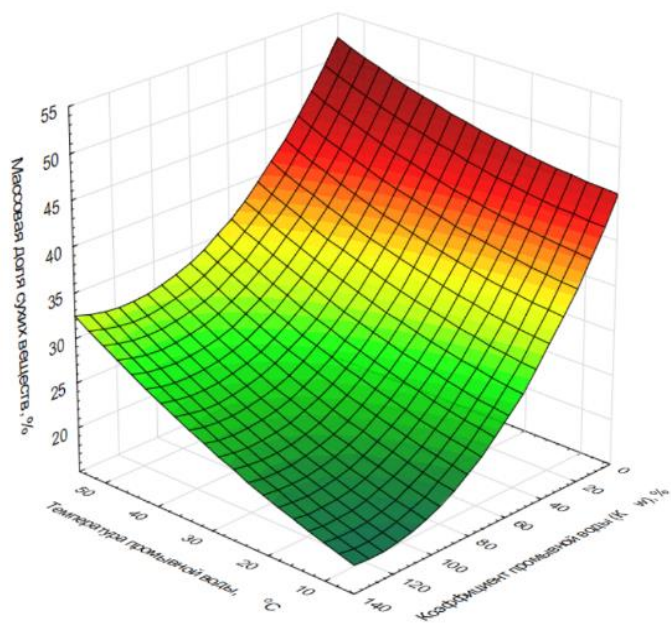


Рисунок 3.7 – Зависимость массовой доли сухих веществ делактозированной сыворотки от температуры и количества промывной воды

$$Y_1=13,78+0,6517 \cdot X_1+0,127 \cdot X_2-0,0125 \cdot X_1^2-0,0005 \cdot X_1 \cdot X_2-0,008 \cdot X_2^2 \quad (3.1)$$

Представленная квадратичная регрессионная модель показывает сложную нелинейную зависимость между исследуемыми параметрами. Анализ коэффициентов модели показывает, что оба фактора оказывают существенное влияние на выход белка, но характер этого влияния различен.

Температура воды имеет более выраженное положительное влияние по сравнению с коэффициентом промывной воды. Однако квадратичные члены уравнения указывают на наличие оптимальных значений для каждого параметра, за пределами которых наблюдается снижение эффективности процесса.

В частности, отрицательный коэффициент при  $X_1^2$  свидетельствует о том, что после достижения определенной температуры дальнейший нагрев приводит к уменьшению содержания белка в продукте. Аналогичный, хотя и менее выраженный эффект наблюдается для коэффициента промывной воды. Для  $X_1 X_2$  коэффициент составляет (-0,0005), что указывает на чрезвычайно слабый, синергетический эффект между изучаемыми факторами. Его влияние проявляется в том, что увеличение одного параметра несколько снижает эффективность воздействия другого.

Визуализация локального максимума (рисунок 3.6), позволила выделить области, при которых достигается максимальное содержание белка в делактозированной сыворотке при промывке:

- температур воды (20,0 – 30,0) °С
- коэффициентах промывной воды (50,0 – 90,0) %.

Эта область представляет собой точку равновесия, в которой положительное влияние линейных членов уравнения компенсируется отрицательным вкладом квадратичных членов и члена взаимодействия.

Зависимость массовой доли сухих веществ ( $Y_2$ , %) в сухом остатке делактозированной сыворотки от температуры ( $t$ , °С) и коэффициента промывной воды ( $K_{ww}$ , %) также описывается множественной полиномиальной регрессии второго порядка.

$$Y_2 = 44,85 + 0,0117 \cdot X_1 + 0,4182 \cdot X_2 - 0,0022 \cdot X_1^2 - 0,001 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,0016 \cdot X_2^2 \quad (3.2)$$

Регрессионная модель (уравнение 3.2) демонстрирует, что содержание сухих веществ делактозированной сыворотки преимущественно определяется коэффициентом промывной воды, тогда как влияние температуры носит ограниченный характер. Коэффициент при  $X_2^2$  существенно превышает коэффициент при  $X_1^2$ , что указывает на доминирующую роль объема промывной воды в формировании сухого остатка. Квадратичные члены уравнения свидетельствуют о нелинейности процесса: после достижения определенных значений оба фактора начинают оказывать отрицательное влияние, хотя этот эффект выражен слабее, чем в случае с содержанием белка. Отрицательный коэффициент взаимодействия факторов подтверждает, что совместное увеличение температуры и объема воды снижает массовую долю сухих веществ. В рабочем диапазоне температур функция монотонно возрастает с ростом  $X_2$ , но с постепенным замедлением из-за квадратичного члена.

С учетом того, что для параметра  $Y_2$  функция не демонстрирует локальных экстремумов (рисунок 3.7), выбор оптимального значения выходного параметра будет зависеть от оптимальных областей варьируемых факторов для  $Y_1$ , с одной стороны, а также от параметров, позволяющих оптимизировать последующие этапы переработки делактозированной сыворотки.

Таким образом, в диапазонах температуры (20,0 – 30,0) °С и объема промывной воды (50,0 – 90,0) % от массы кристаллизата, удастся достичь массовой доли белка в сухом остатке делактозированной сыворотки на уровне более 26,0 %, что увеличивает содержание общего белка в сухом веществе более чем в 2,5 раза по сравнению с традиционной сухой деминерализованной сывороткой.

### **3.3. Изучение особенностей процесса деминерализации делактозированной сыворотки**

Деминерализация сырья в технологии делактозированной сыворотки рассматривалась нами как способ снижения зольности, который приведет к увеличению доли белка в СВ делактозированной сыворотки, а также к улучшению органолептических показателей.

В целом, процессы деминерализации молочного сырья, как указывалось в главе 1, могут проводиться несколькими способами.

Наиболее распространенный – сочетание нанофильтрации и электродиализа, при котором под действием электрического поля ионы солей мигрируют через ионоселективные мембраны и удаляются в виде солевого концентрата [106 – 108]. Традиционный электродиализ, основанный на миграции ионов через ионоселективные мембраны под действием электрического поля, характеризуется снижением эффективности из-за явления концентрационной поляризации. Это приводит к осаждению солей на мембранах и их повреждению. Дополнительную сложность создает присутствие двухвалентных металлов (кальция, магния) в неионных формах, что увеличивает продолжительность процесса и энергозатраты.

Комбинированный метод, включающий электродиализ с последующей доочисткой ионообменными смолами, позволяет достичь глубокой деминерализации. Однако его существенным недостатком является высокий расход воды и регенерантов на стадии регенерации ионообменников [89]. Альтернативный подход – электродеионизация, описанная в патенте EP 0 835 609 A1 [136] с применением слоя ионообменной смолы в камере разбавления, не требует химической регенерации смол, однако используемая в установках конфигурация с одной парой электродов на множество мембранных пар вынуждает работать при повышенных напряжениях. Это интенсифицирует

электролиз воды, повышая риски повреждения мембран и загрязнения. Кроме того, контакт продукта со смолой может приводить к потерям сухих веществ.

Для обессоливания водных сред также применяются методы, основанные на электроадсорбции. Классическая емкостная деионизация (EP 2 874 951 B1 [137]), осуществляемая циклически (очистка / регенерация), страдает от неполной регенерации электродов из-за одновременной десорбции ионов и их обратной сорбции в начале следующего цикла, что ведет к накоплению остаточного заряда и снижению эффективности. Более совершенной модификацией является мембранная емкостная деионизация (MCDI), где использование ионоселективных мембран перед электродами предотвращает обратную сорбцию ионов в фазе регенерации, обеспечивая более полное восстановление емкости электродов [138].

Мембранная емкостная деионизация — это процесс удаления ионов из водного раствора под действием электрических потенциалов (рисунок 3.8). Обрабатываемое сырье проходит между противоположно заряженными пористыми углеродными электродами, на поверхности которых расположены ионообменные мембраны.

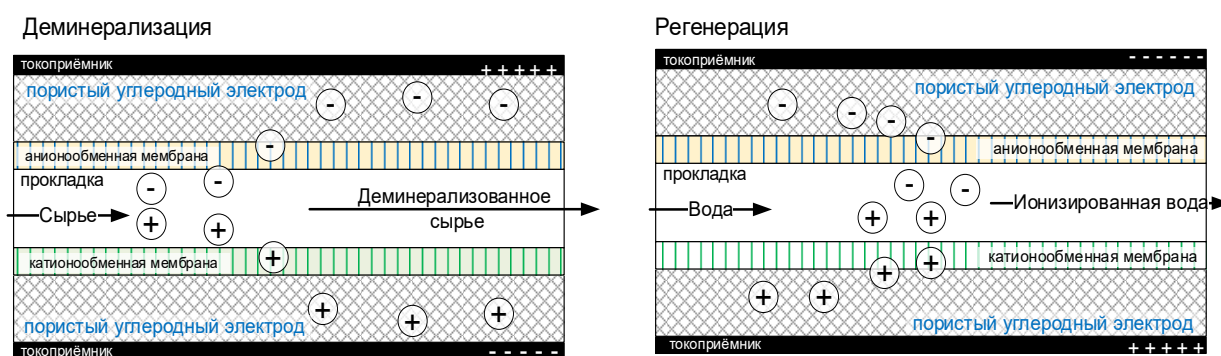


Рисунок 3.8 – Принцип мембранной емкостной деионизации

Анионообменная мембрана контактирует с положительно заряженным электродом, а катионообменная мембрана контактирует с отрицательно заряженным электродом. Между обеими мембранами находится пористый углеродный электрод. Обрабатываемое сырье проникает в поры электрода. При этом анионообменная мембрана предотвращает транспортирование катионов к аноду, в то время как катионообменная мембрана делает практически

невозможным перенос анионов к катоду. Это обеспечивает более полное разделение катионов и анионов в электродеионизационной ячейке и увеличивает эффективность удаления солей.

Однако в контексте обработки сложных многокомпонентных сред, таких как молочное сырье, данный метод требует дополнительного изучения.

### 3.4. Изучение процесса деминерализации делактозированной подсырной сыворотки методом мембранной емкостной деионизации (МЕДИ)

Целью экспериментального исследования являлось изучение эффективности процесса мембранной емкостной деионизации (МЕДИ для снижения содержания минеральных веществ (деминерализации) в делактозированной сыворотке.

Исследования проводились на пилотной установке МЕДИ (рисунок 3.9).

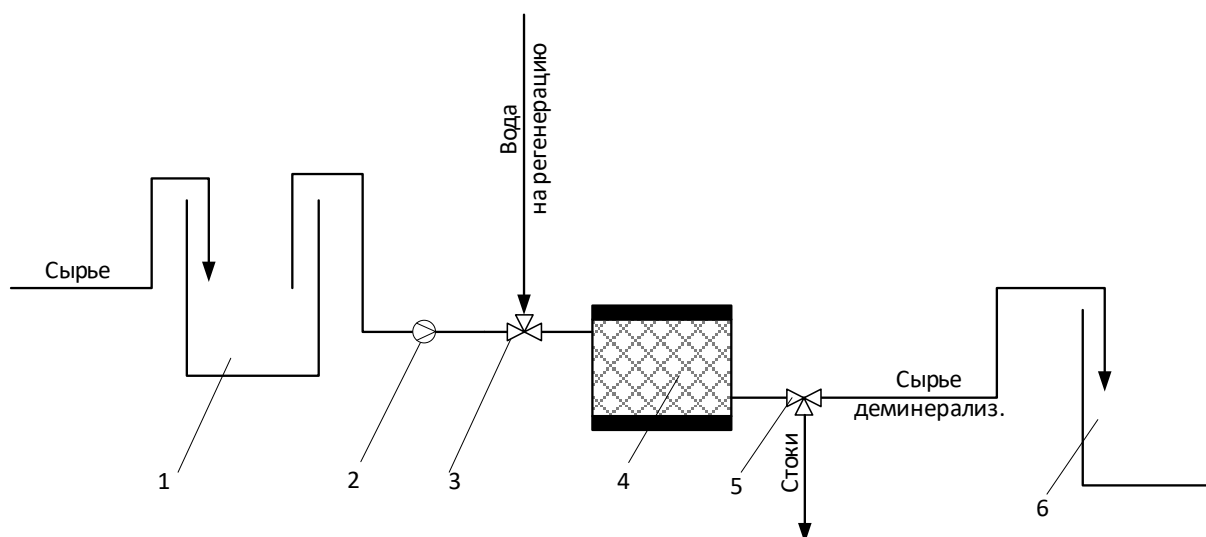


Рисунок 3.9 – Схема пилотной установки деминерализации мембранной емкостной деионизации:

Пилотная установка мембранной емкостной электродеионизации включала модуль для обессоливания CapDi (4), емкости для сывотки (1 и 6), насос (2), клапана (3, 5), КИП, обеспечивающие функционирование установки в тестируемых режимах. Для отвода стоков после регенерации используется линия «Стоки», для отвода обессоленного продукта линия «Сырье деминерализованное».

Каждый рабочий цикл установки состоял из 5 шагов:

- S1 – очистка/ деминерализация, работа в режиме «положительной полярности»;
- S2 – вытеснение – без напряжения/слив сырья самотеком через клапан 5;
- S3 – регенерация – режим «отрицательной полярности», слив сырья самотеком через клапан 5;
- S4 – промывка – режим «отрицательной полярности», промывка водой, слив стоков через клапан 5;
- S5 – возврат к деминерализации – без напряжения/слив, возврат к шагу деминерализации.

На стадии деминерализации (режим «положительной полярности») на электроды подается постоянное напряжение: положительный электрод (анод) контактирует с анионообменной мембраной, а отрицательный электрод (катод) – с катионообменной мембраной. Под действием электрического поля катионы ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ) мигрируют через катионообменную мембрану и адсорбируются в порах катода, а анионы ( $Cl^-$ ,  $PO_4^{3-}$ ) проходят через анионообменную мембрану и адсорбируются на аноде. Обессоленный поток (деминерализованное сырье) отводится из модуля.

По мере насыщения электродов ионами удельная электропроводность пермеата возрастает (рисунок 3.10), что является сигналом для переключения в режим регенерации. При этом подача сырья прекращается, остаток его вытесняется из модуля. После чего полярность напряжения на электродах меняется на обратную (режим отрицательной полярности): отрицательный

потенциал подается на электрод, контактирующий с анионообменной мембраной, а положительный – на электрод у катионообменной мембраны.

В этом режиме через модуль подается поток воды (регенеранта), и десорбированные с электродов ионы выносятся из аппарата в виде концентрированного рассола. Наличие ионообменных мембран в этом режиме не позволяет ионам из потока регенерации проникать к электродам, обеспечивая их полную регенерацию.

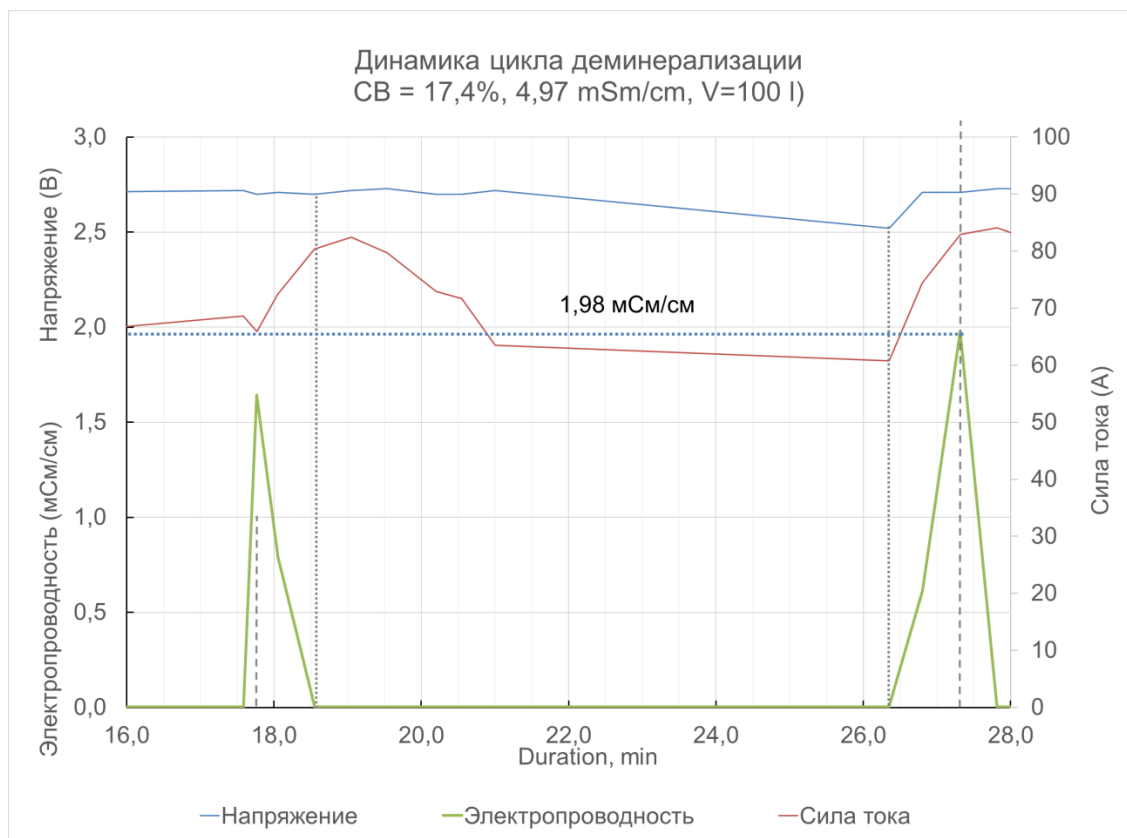


Рисунок 3.10 – Динамика изменения параметров в процессе работы

После завершения стадии регенерации установка вновь переключается в режим деминерализации для обработки следующей порции сырья. Для достижения требуемой степени деминерализации процесс может проводиться в несколько последовательных стадий.

Для проведения тестовых выработок, исходная делактозированная сыворотка с удельной электропроводностью (9,3 – 9,5) мСм/см и массовой долей сухих веществ (17,0 – 18,0) %, включая (12,0 – 13,0) % зольного остатка в сухом веществе перекачивалась из приемной емкости насосом через трехходовой клапан

в модуль мембранной емкостной деионизации. На электроды модуля подавалось постоянное напряжение в режиме положительной полярности. Продолжительность цикла деминерализации между регенерациями определялась экспериментально по достижению заданного снижения электропроводности выходного потока и составляла (4,0 – 5,0) мин. По завершении цикла трехходовой клапан автоматически переключал поток с сыворотки на поток обессоленной воды для регенерации электродов, при этом полярность напряжения на электродах менялась на отрицательную. Длительность цикла регенерации составляла (5,0 – 6,0) мин. Чередование циклов деминерализации и регенерации продолжалось в течение 2,0 часов до полной обработки заданного объема сыворотки. Параметры входного и выходного потоков контролировались путем измерения удельной электропроводности, рН и массовой доли сухих веществ. Содержание минеральных веществ оценивалось гравиметрически по зольности в соответствии со стандартной методикой. Для количественной оценки эффективности процесса во всех экспериментах использовался показатель степени деминерализации R (%), который рассчитываемый по формуле 2.1.

Показатели образцов сыворотки, полученные в результате шести тестовых выработок (3 без регулирования рН и 3 с регулированием рН) МСДИ в сравнении с исходными образцами до обработки приведены в таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Физико-химические свойства деминерализованной делактозированной сыворотки

Показатели	Делактозированная сыворотка		
	до МЕДИ	после МЕДИ без раскисления	после МЕДИ с раскислением
Электропроводность, мСм/см	9,50 ± 0,12	7,30 ± 0,09	6,35 ± 0,18
Активная кислотность	5,85 ± 0,21	5,73 ± 0,18	6,3 ± 0,22
Массовая доля СВ, %	17,5 ± 0,12	16,6 ± 0,12	15,4 ± 0,12
Массовая доля золы в СВ, %	12,3 ± 0,25	10,5 ± 0,19	7,5 ± 0,13
Уровень деминерализации, %	0	15,12 ± 1,32	35,90 ± 2,41

Анализ полученных данных по эффективности мембранной электродиализной деминерализации в отношении делактозированной сыворотки позволяет сделать однозначный вывод о недостаточности данного метода в его базовой модификации для достижения глубоких степеней деминерализации, требуемых современными пищевыми стандартами. Полученный максимальный результат ( $35,90 \pm 2,41$ ) % удаления минеральных веществ (при использовании с МЕДИ раскислением) является недостаточным для производства большинства высококачественных сухих продуктов на основе молочной сыворотки, где целевые показатели находятся в диапазоне (50,0 – 90,0) %. Низкая эффективность, вероятнее всего, обусловлена физико-химическими ограничениями классической электродиализной технологии. Ключевым фактором выступает химическая форма нахождения макроэлементов в сыворотке. Значительная доля кальция, магния и фосфатов присутствует не в виде свободных ионов, а в составе коллоидных фосфат-кальциевых и цитратных комплексов, а также в ассоциации с сывороточными белками [92, 139]. При значении pH (5,8 – 6,3), эти комплексы обладают низкой степенью диссоциации и, как следствие, крайне слабой подвижностью в электрическом поле. При этом можно отметить, что близкий уровень удаления одно и двухвалентных ионов из сырья (рисунок 3.11).

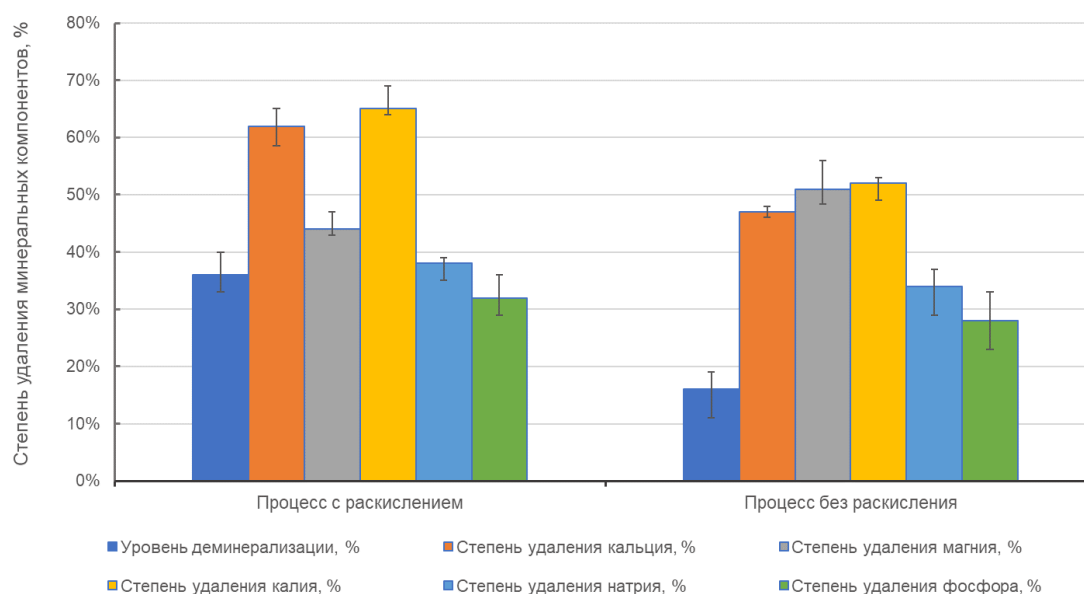


Рисунок 3.11 – Диаграмма удаления минеральных компонентов делактозированной сыворотки при МЕДИ

Можно отметить, что раскисление значительно повышает эффективность удаления кальция и калия, на 19,1 % и 13,2 % соответственно, удаление магния при раскислении незначительно снижается, что, вероятно, связано с образованием менее растворимых соединений магния в нейтральной или щелочной среде. Удаление натрия и фосфора практически не зависит от раскисления, причём фосфор в обоих случаях удаляется слабо, что вполне объяснимо его устойчивой формой, находящейся в сырье.

Однако максимальная степень деминерализации, которой удалось достичь, составила только  $(35,90 \pm 2,41) \%$ , что не удовлетворяло поставленной задаче – максимальное снижения уровня золы и повышения уровня белка в СВ ДЛС.

### **3.5. Изучение процесса деминерализации делактозированной подсырной сыворотки методом электродиализа**

Поскольку в результате удаления лактозы состав делактозированной молочной сыворотки претерпевает значительные изменения – в частности, возрастает массовая доля белка в сухом остатке и кардинально меняется соотношение белковых и углеводных компонентов, – её физико-химические свойства также существенно отличаются от свойств обычной сыворотки. В связи с этим представлялось необходимым специальное изучение процесса электродиализа непосредственно на данном виде сырья. Целью проведенных экспериментов являлось обоснование технологических режимов глубокой деминерализации делактозированной сыворотки, обеспечивающих максимальное удаление минеральных солей без отрицательного воздействия на её ценные белковые фракции.

Для проведения исследований использовалась лабораторная электродиализная установка (глава 2), включающая контуры дилуата, солевого концентрата и электродного раствора. Поток электродного раствора омывал приэлектродные камеры модуля, а потоки дилуата и концентрата проходили через рабочие камеры, образованные чередующимися катионо- и анионообменными мембранами. После выхода системы на стационарный режим по скорости потоков, рН и удельной электропроводности на электроды подавали постоянное напряжение. Возникающее электрическое поле вызывало направленную миграцию ионов: катионы и анионы покидали поток дилуата, проникая через соответствующие селективные мембраны в поток концентрата, что приводило к его опреснению и обогащению концентрата солями. Проведенные исследования процесса деминерализации делактозированной сыворотки методом электродиализа выявили характерную двухстадийную кинетику снижения уровня зольности (рисунок 3.12).

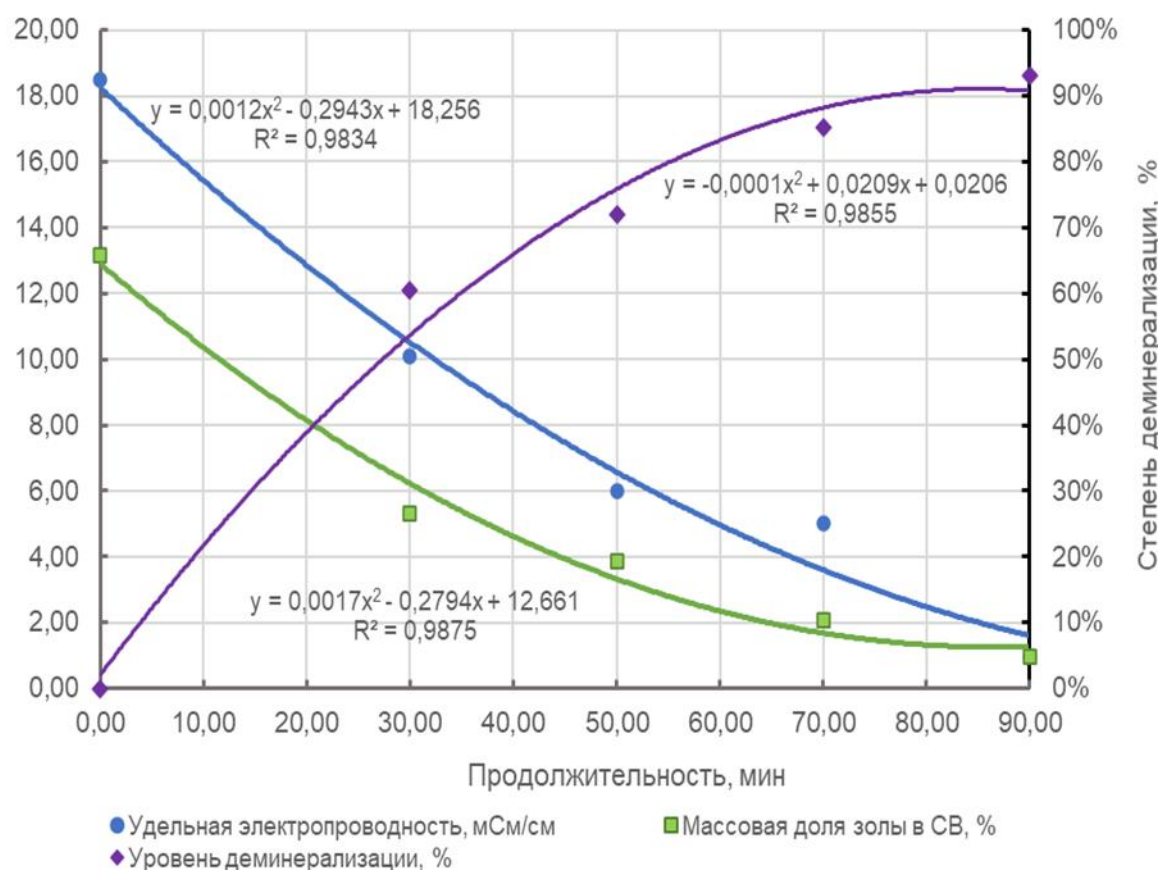


Рисунок 3.12 – Динамика процесса деминерализации делактозированной подсырной сыворотки

Начальная стадия процесса отличается высокой скоростью, что позволяет достичь значительного уровня деминерализации, порядка 70 %, за относительно короткий временной интервал. Эта фаза обусловлена, главным образом, удалением легко мигрирующих ионов, присутствующих в свободном виде в сырье. Последующая стадия процесса характеризуется выраженным снижением скорости деминерализации. Несмотря на это замедление, метод электродиализа демонстрирует принципиальную возможность достижения высоких степеней очистки – более 90 % удаления золы (УД > 90 %). Переход к этой стадии связан с необходимостью удаления ионов, связанных с органическими компонентами матрицы сырья, в частности белками, а также преодоления эффектов концентрационной поляризации и потенциала Доннана на поверхности ионообменных мембран [89, 139].

Важным аспектом, подтвержденным в ходе исследований, является дифференциальная эффективность удаления ионов различной валентности (рисунок 3.13).

Наблюдалась существенно более высокая скорость и эффективность удаления одновалентных ионов ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) по сравнению с двухвалентными ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ). Особенно выраженной была эффективность удаления ионов калия ( $\text{K}^+$ ), которая вероятно связана с меньшим гидратным радиусом иона и, следовательно, большей подвижностью в электрическом поле, а также меньшим взаимодействием с заряженными функциональными группами органических макромолекул в сырье по сравнению с двухвалентными ионами [92].

С учетом высокой исходной зольности сырья достижение уровня УД > 90 % потребует пропорционально больших затрат времени и, что критически важно, энергоносителей. Это связано с необходимостью удаления значительно большего абсолютного количества минеральных веществ для достижения целевого процента деминерализации, а также преодоления возрастающего электрического сопротивления раствора по мере снижения концентрации ионов, особенно на второй, медленной стадии процесса.

Учитывая экспоненциальный рост энергозатрат на удаление каждой последующей единицы минеральных веществ на второй стадии процесса и высокую исходную зольность сырья, разработка оптимальной технологии деминерализации требует тщательного анализа затрат и выходов.

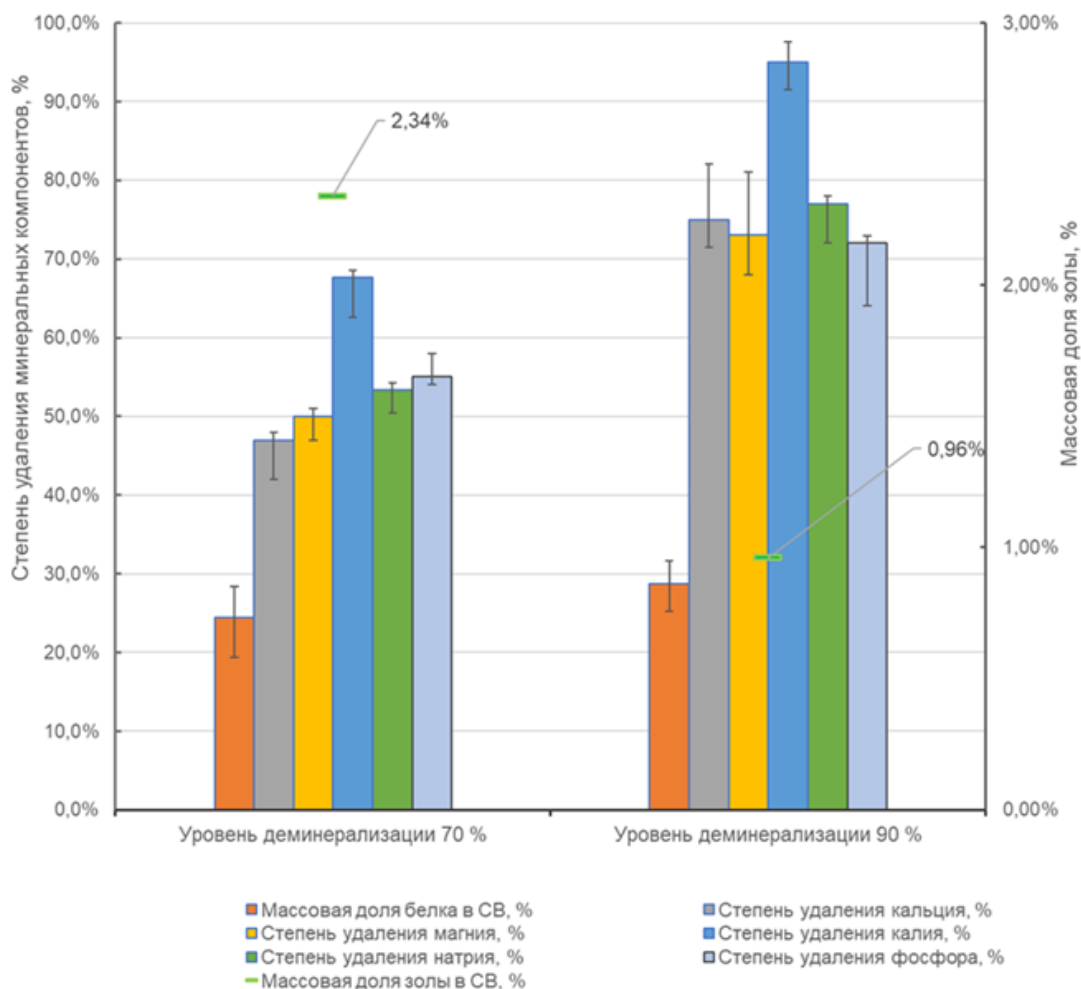


Рисунок 3.13 – Диаграмма сравнения минерального состава делактозированной сыворотки до и после электродиализной обработки

Результаты исследований убедительно свидетельствуют, что остановка процесса на уровне УД 70 % является технологически и экономически предпочтительной стратегией/ На этой стадии достигается значительное снижение минеральной нагрузки при умеренных удельных энергозатратах на единицу удаленной золы. При этом сохраняется операционная гибкость: технологическая схема может быть адаптирована для достижения более высоких

степеней очистки (УД 90 %) в тех специфических случаях, когда требования к чистоте конечного продукта оправдывают существенно более высокие производственные издержки. Меньший уровень деминерализации приведет к получению продукта с низкими органолептическими показателями, которые прежде всего выражаются в неприятном солоновато-горьковатом вкусе продукта.

Таким образом, метод электродиализа обеспечивает эффективную и управляемую деминерализацию с характерной двухстадийной кинетикой и выраженной селективностью к одновалентным ионам. Выбор оптимального уровня деминерализации (70 % или 90 % УД) должен базироваться на комплексном анализе исходных характеристик сырья (прежде всего зольности), требуемых спецификаций конечного продукта и минимизации энергопотребления.

С учетом проведенных исследований можно сделать вывод, что комбинация нанофильтрации и диафильтрации подсырной сыворотки позволяет повысить степень её деминерализации с ~29,0 % до ~45,9 %. Однако это улучшение не приводит к пропорциональному росту эффективности последующей кристаллизации лактозы. Степень кристаллизации увеличивается лишь незначительно (с ~74,0 % до ~76,0 %), при этом растут потери лактозы и небелкового азота в пермеат. Следовательно, использование ресурсоёмкой диафильтрации в качестве стандартной операции для обычной подсырной сыворотки нецелесообразно и может быть оправдано только для сырья с аномально высокой исходной зольностью.

Также установлено, что промывка кристаллов лактозы после центрифугирования не только повышает чистоту кристаллической фракции, но и позволяет целенаправленно регулировать состав межкристаллической жидкости - делактозированной сыворотки. Путем подбора режимов промывки, температура воды (20,0 – 30,0) °С, объем (50,0 – 90,0) % от массы кристаллов)) удается увеличить массовую долю белка в сухом остатке делактозированной сыворотки более чем в 2,5 раза, до уровня свыше 26,0 %). Это превращает её из побочного продукта в высокобелковый концентрат с повышенной пищевой ценностью.

Сравнительное изучение методов мембранной емкостной деионизации (МЕДИ) и электродиализа для деминерализации делактозированной сыворотки выявило их кардинально разные возможности. МЕДИ даже с предварительным раскислением сырья обеспечивает максимальную степень деминерализации лишь около 35,9 %, что недостаточно для получения продукта с хорошими органолептическими показателями. В то же время электродиализ позволяет достичь глубокой деминерализации (>90,0 %), однако процесс имеет двухстадийную кинетику с резким падением скорости на второй стадии. Технологически и экономически оптимальным решением является остановка процесса электродиализа на уровне деминерализации ~70,0 %, что обеспечивает значительное снижение уровня деминерализации при приемлемых энергозатратах. Дальнейшая очистка до 90,0 % возможна, но требует существенного увеличения времени и расхода энергии.

## ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЛАКТОЗЫ В ДЕЛАКТОЗИРОВАННОЙ СЫВОРОТКЕ МЕТОДОМ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА

### 4.1. Систематический анализ факторов, детерминирующих каталитическую активность промышленных препаратов $\beta$ -галактозидазы

При ферментативном гидролизе лактозы происходит разрыв  $\beta$ -О-гликозидных связей между  $\beta$ -D-галактозой и D-глюкозой с образованием соответствующих моносахаров при участии фермента  $\beta$ -галактозидазы (лактазы). Как уже упоминалось в главе 1,  $\beta$ -галактозидаза, лактаза, КФ 3.2.1.23 – фермент класса гидролаз, способный катализировать одновременно реакции гидролиза и трансгалактозилирования лактозы [140].

Соотношение гидролитической и трансгалактозилирующей активности фермента в значительной степени определяется его продуцентом [141]. Например,  $\beta$ -галактозидазы *Aspergillus oryzae* и *Bacillus circulans* обладают более выраженной трансгалактозилирующей активностью, тогда как ферменты из *Kluveromices fragilis* и *Kluveromices lactis* проявляют высокую гидролитическую активность [142]. Поэтому при проведении исследований были использованы ферментные препараты  $\beta$ -галактозидаз, продуцируемых именно *Kluveromyces lactis* (глава 2).

$\beta$ -галактозидаза *K. lactis* относится к группе GH 2 семейства гликозилгидролаз [143]. Это внутриклеточная  $\beta$ -галактозидаза, которой свойственна высокая молекулярная масса олигомерной молекулы, выраженная зависимость каталитической активности от ионов двухвалентных металлов –  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ , высокая термо- и pH-чувствительность [144].

Фермент имеет тетрамерную структуру, состоящую из четырёх субъединиц, образующих асимметричный олигомер (рисунок 4.1). Мономеры А–С и В–D (рисунок 4.1 а) образуют два идентичных димера, внутри которых они связаны по оси некристаллографической (локальной) симметрии.

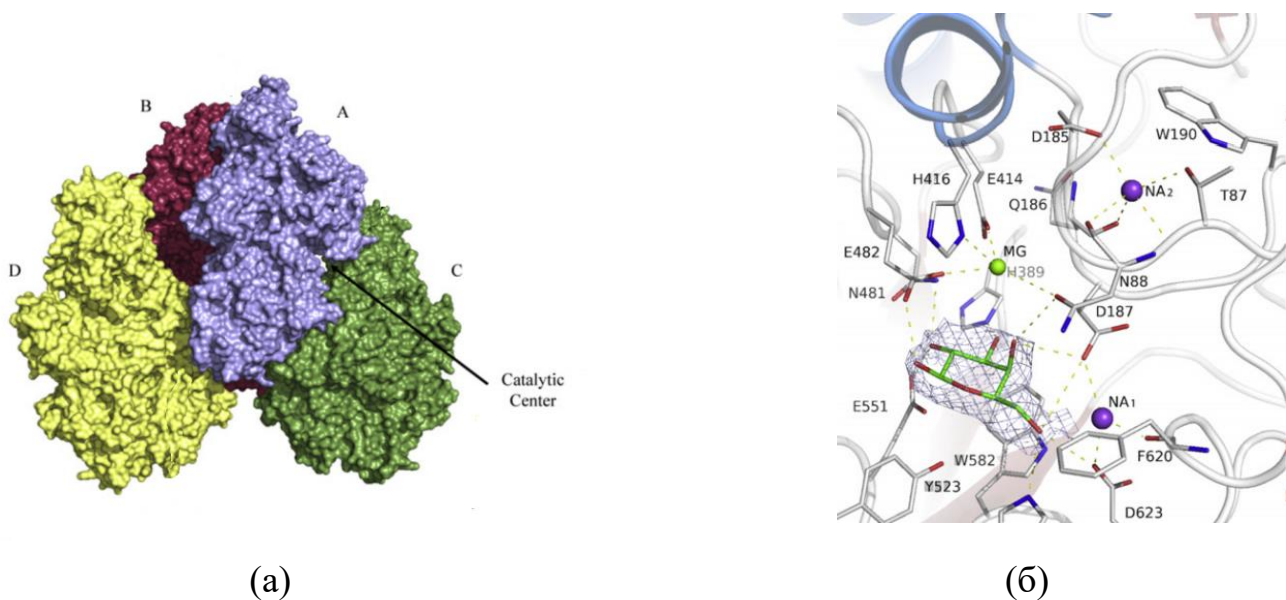


Рисунок 4.1 – Структура тетрамера  $\beta$ -галактозидазы *K. Lactis* 568 [143].

Считается, что за счет этого происходит сближение активных центров фермента, расположенных внутри каждого димера, около узкого «канала» шириной примерно 10 Å (рисунок 4.2 б), обеспечивающего доступ растворенных форм субстрата к активным центрам фермента. Существует гипотеза, что тетрамер формируется по принципу «dimer of dimers», дословно как «димер димеров» и проявляют активность в двух олигомерных формах – димерной и тетрамерной [141]. Причем энергия, требуемая для диссоциации тетрамера на два димера (6 ккал/моль), значительно ниже, чем энергия для разъединения субъединиц внутри димера (20 ккал/моль), что объясняет динамическое равновесие между этими формами в растворе. При диссоциации на мономеры  $\beta$ -галактозидазы теряют свою активность [145]

В пределах каждого мономера, 1023 аминокислоты образуют пять четко определенных структурных домена. Третий (центральный) домен (остатки 334-627), представляет собой так называемый триозофосфатизомеразу (ТИМ) или « $\alpha\delta\beta\delta$ -бочонок» с активным центром.

Структура 2 и 3 доменов отличается от структуры бактериальных ферментов, например, *Escherichia coli*. Ряд исследований связывает это с наличием уникальной аминокислотной последовательности (с 420 по 443 аминокислотный остаток), которая расположена рядом с активными центрами фермента и, предположительно, способна образовывать множество связей с агликонной частью лактозы – галактозой. В какой-то мере это может объяснить высокое сродство  $\beta$ -галактозидаз *K. lactis* к лактозе и, соответственно, необычайно высокую гидролитическую активность [141]. Благодаря этому  $\beta$ -галактозидазы, продуцируемые *K. Lactis*, находят широкое применение в молочной промышленности для получения низко- и безлактозных продуктов [142,146]. Можно отметить, что в ряде работ показана также эффективность этих гидролаз и в синтезе галактоолигосахаридов, который может доминировать при высоких концентрациях лактозы [147].

Механизм гидролиза, катализируемого  $\beta$ -галактозидазой, включает образование фермент-галактозилного комплекса с одновременным высвобождением глюкозы (рисунок 4.2.) на первом этапе.

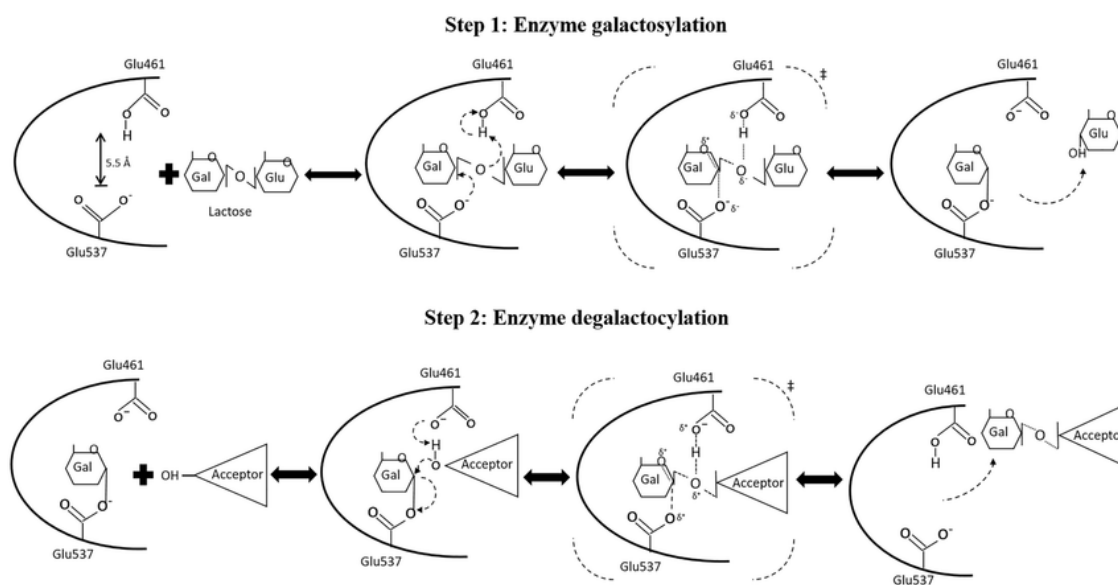


Рисунок 4.2 – Схема каталитического механизма гидролиза и трансгалактозилрования лактозы  $\beta$ -галактозидазой (*Gal* и *Glu*: остатки галактозы и глюкозы, соответственно. *Acceptor*: соответствует гидроксильному нуклеофилу воды (гидролиз) или органического соединения (трансгалактозилрование) [148].

Основная роль отводится остатку Glu461 (рисунок 4.3), который формирует водородную связь с гидроксильной группой C<sub>2</sub> и более слабую связь с гидроксильной группой C<sub>3</sub>. Гидроксильная группа C<sub>3</sub> также участвует в образовании водородной связи с Glu537 [148].

Каталитический цикл включает переход субстрата из «поверхностного» (*shallow*) в «глубокий» (*deep*) режим связывания, необходимый для протонирования галактозидного кислорода остатком Glu461 (рисунок 4.3).

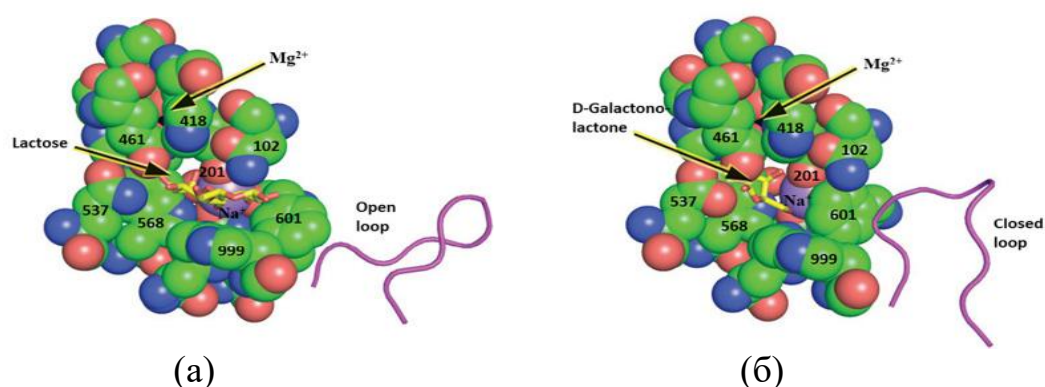


Рисунок 4.3 – Модели активного центра нативной β-галактозидазы: (а) лактоза, связанная с Trp-999; (б) d-галактонолактон, связанный в глубоком режиме с Trp-568 [143].

В процессе этого перехода Glu461 разрывает контакт с гидроксильной группой C<sub>3</sub>, карбоксильная группа Glu537 теряет связь с гидроксильной группой C<sub>3</sub> и отдаляется на 3 Å от аномерного атома углерода галактозы. Это приводит к формированию карбокатион-подобного переходного состояния, стабилизируемого остатками Trp568, Asn460 и Glu461, и последующему высвобождению глюкозы [143]. В переходном состоянии Glu537 непосредственно взаимодействует с гидроксильной группой C<sub>2</sub>, а гидроксильная группа C<sub>3</sub> опосредованно, через молекулу воды, связывается с His391 и His357.

Гидроксильные группы C<sub>4</sub> и C<sub>6</sub> сохраняют связи с субстратом, хотя энергия этих связей изменяется. Остаток Glu537 вместе с аномерным атомом углерода галактозы формирует ковалентный интермедиат, через который образуется переходное состояние: остаток Tyr503 выступает в роли кислотного катализатора,

а Glu461 – в роли основного, активируя молекулу воды или иного акцептора для гидролиза ковалентной связи. Если акцептором служит вода, продуктами полного гидролиза лактозы являются глюкоза и галактоза, если акцептором является молекула моно- или олигосахаридов – продуктом реакции будут являться галактоолигосахариды (рисунок 4.2) [145,148].

В зависимости от происхождения разные виды  $\beta$ -галактозидаз различаются по своей активности и свойствам. Для направленного ферментативного гидролиза необходимо обращать внимание на оптимальные значения pH и температуры, а также наличие активаторов и ингибиторов для данного вида фермента, которые, как правило, оговариваются производителем ферментов. Что касается  $\beta$ -галактозидазы *K. Lactis*, то рядом исследований отмечено [142, 143, 148], что ее каталитическую активность помимо температурного режима, pH и ионного баланса определяется также и составом реакционной среды.

Например, при синтезе олигосахаридов, в частности лактулозы, максимальный выход достигается при специфичном соотношении 15 % лактозы и 30 % фруктозы, при этом высокая начальная концентрация лактозы остается необходимым условием эффективного трансгалактозилирования [148]. Тогда как пониженные концентрации лактозы, напротив, способствуют образованию продуктов гидролиза.

Температурный оптимум нативного фермента  $\beta$ -галактозидазы находится в физиологическом диапазоне (37,0 – 50,0) °С. Считается, что иммобилизация фермента позволяет не только повысить термостабильность, но и целенаправленно сместить температурный оптимум в зависимости от технологических требований, что приводит как к повышению эффективности работы фермента, но и к его значительному удорожанию. С учетом целевого назначения процесса гидролиза лактозы молочного сырья, для молочной промышленности наиболее характерно использование жидких ферментов [149], поэтому в рамках выполняемых исследований использование иммобилизованных ферментов не рассматривалось.

Специфика проведения гидролиза лактозы в молочном сырье с целью снижения ее содержания, заключается в том, что, в отличие от классических ферментативных процессов, продукты реакции не выделяются из реакционной среды. Поэтому режимы пост-ферментативной обработки реакционной среды (молока, молочной сыворотки) остаются щадящими. Чаще всего процесс ограничивается тепловой инактивацией фермента при температурных режимах, не приводящих к критическим изменениям белковой и углеводной части сырья, включая реакции меланоидинообразования.

С учетом этого, для предотвращения неконтролируемого роста контаминантой и остаточной микрофлоры в молочной промышленности принято использовать «холодные» режимы гидролиза: низкая температура с длительным временем выдержки [113,150]. Поэтому в рамках данного исследования основное внимание было уделено упомянутому режиму.

Гидролиз лактозы  $\beta$ - галактозидазами *K. Lactis* протекает при слабокислых значениях pH, практически приближенных к нейтральным – (6,5 – 7,0), что коррелирует с естественным значением pH молока. Оптимум, как указывалось выше, детерминирован конформацией активного центра фермента и состоянием ионизируемых групп Glu, участвующих в катализе и связывании субстрата. Отклонение от указанного диапазона в кислую или щелочную сторону приводит к конформационным изменениям белковой молекулы, снижая ее активность и стабильность, а также может нарушает электростатические взаимодействия, необходимые для формирования фермент-субстратного комплекса [141].

Таким образом, контроль и возможность корректировки pH среды выступают ключевым технологическим параметром, позволяющим управлять эффективностью биоконверсии лактозы в молочном сырье. С этой точки зрения использование процесса электродиализа (глава 3), является этапом, на котором осуществляется не только удаление минеральной составляющей делактозированной сыворотки, но и, при необходимости, регулировка кислотности. Согласно данным [139, 151] основным преимуществом регулирования кислотности в процессе электродиализной обработки является

одновременное удаление ионов, поступающих с подщелачивающим агентом, что позволяет лимитировать уровень зольности при одновременном повышении pH.

Также неглубокий уровень деминерализации, позволяет сохранить большинство многовалентных ионов (рисунок 3.12), в частности  $Mg^{2+}$  и  $Mn^{2+}$ , которые проявляют выраженные активирующие и стабилизирующие свойства, не только защищая фермент от термической денатурации, но и непосредственно участвуя в организации каталитического центра [148]

Значимым фактором стабилизации четвертичной структуры и каталитической активности  $\beta$ -галактозидаз выступает ионный состав среды [142]. Антагонистический эффект демонстрируют ионы  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ , причем ингибирующее действие кальция представляет особую проблему при работе с молочными субстратами, естественно обогащенными катионом кальция. Моновалентные катионы ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $NH_4^+$ ) выполняют структурообразующую функцию, вероятно, ограничивая конформационную подвижность полипептидной цепи, причем их стабилизирующая эффективность проявляет субстратную специфичность [142].

Таким образом, согласно данным литературы, каталитическая активность  $\beta$ -галактозидазы *K. lactis* регулируется совокупностью факторов, опосредованных при прочих равных условиях (температура и продолжительность процесса) составом ферментационной среды. В случае использования делактозированной сыворотки в качестве системы для гомогенного гидролиза лактозы, контроль процесса без изменения качественных характеристик и безопасности готового продукта представляется возможным посредством варьирования следующих параметров: уровня активной кислотности (pH) и компонентного состава.

Электродиализ позволяет точно регулировать pH среды до оптимального для фермента значения, хотя такая коррекция не всегда необходима, а значительная коррекция может быть даже нежелательной, поскольку искусственное изменение pH сопряжено с риском дестабилизации белковых молекул и снижением растворимости. Поэтому в рамках данного исследования целью работы являлось установление зависимости активности  $\beta$ -галактозидазы от

динамики изменения минеральной фракции продукта в процессе электродиализа. Предполагалось, что основным фактором является степень деминерализации, которая, воздействуя на баланс одновалентных и двухвалентных ионов, вызывает конформационные изменения в активном центре фермента, что, в свою очередь, модулирует его активность и отражается на кинетике и эффективности гидролиза.

#### **4.2. Сравнение каталитической активности ферментных препаратов $\beta$ -галактозидаз *K. Lactis* при гидролизе лактозы в делактозированной сыворотке**

Проведенный анализ факторов каталитической активности промышленных препаратов  $\beta$ -галактозидазы установил значимость влияния стандартных параметров, включая состав ферментационной среды и температурный режим. При этом проведение гидролитического процесса непосредственно в молочном сырье сопряжено с некоторыми ограничениями, обусловленными свойствами самого субстрата. В частности, белковые компоненты сырья обладают высокой чувствительностью к кислотности среды, что повышает риск их коагуляции и потери стабильности (глава 1). Таким образом, вариация ключевых параметров гомогенного ферментативного гидролиза делактозированной сыворотки лимитирована довольно узким интервалом технологически допустимых значений. В данных условиях широта ассортимента ферментных препаратов позволяет минимизировать сложность технологического проектирования посредством выбора препарата, изначально адаптированного к работе в регламентированных условиях.

В соответствии с вышесказанным, целью исследований, проводимых в данной части работы, является выбор ферментных препаратов для гидролиза, не

требующих значительной корректировки рН делактозированной сыворотки и оценка влияния на активность  $\beta$ -галактозидаз деминерализации сырья в процессе электродиализа.

Критериями отбора ферментных препаратов  $\beta$ -галактозидаз *K. Lactis* послужили коммерческая доступность препаратов и их целевое назначение: гидролиз лактозы в молочном сырье. Анализ представленных на рынке ферментных препаратов позволил отобрать для решения поставленных задач два вида дрожжевой  $\beta$ -галактозидазы *K. Lactis*: Biolactase L20 (Kerry Bio-Science, Франция), приложение А и, альтернативный, Mayalact L 5000® («MAYASAN A.S.», Турция), приложение Б. Данные препараты представляют собой высокоочищенные стандартизированные жидкие формы  $\beta$ -галактозидазы (лактазы) нейтрального типа, полученные методом ферментации штаммов дрожжей *Kluveromyces lactis*.

Основные физико-химические и каталитические характеристики исследованных препаратов систематизированы в таблице 2.1.

В качестве объекта исследования использовались образцы делактозированной сыворотки, выработанные в полупромышленных условиях, согласно параметрам, определенным в главе 3. Подсырная сыворотка, прошедшая механическую очистку, тепловую обработку и концентрирование методом нанофильтрации на промышленной установке (ООО "Юговской комбинат молочных продуктов"), сгущалась на ротационном испарителе до массовой доли СВ (55,0 – 60,0) %. Затем сгущенный продукт помещался в лабораторный биореактор с перемешивающим устройством, где в течение (16,0 - 16,5) ч проводился процесс кристаллизации. Кристаллы лактозы отделялись путем центрифугирования в течение 30,0 минут при 3500 об/мин. Фугат, делактозированная сыворотка без промывных вод, резервировался при температуре (4,0 – 6,0) °С. Кристаллы промывались дистиллированной водой, промывные воды после отделения кристаллов, смешивались с частью фугата и направлялись на электродиализную обработку.

Всего в процессе лабораторной выработки для исследования процесса гидролиза лактозы было отобрано 4 образца (таблица 4.1), состав и свойства которых приведены в таблице 4.2.

Таблица 4.1 – Перечень образцов для исследования гидролиза лактозы

№ образца	Вид делактозированной сыворотки
Образец № 1	Делактозированная сыворотка недеминерализованная (УД 0 %),
Образец № 2	Делактозированная сыворотка деминерализованная (УД 70 %),
Образец № 3	Делактозированная сыворотка деминерализованная (УД 90 %)
Образец № 4	Делактозированная сыворотка без промывных вод (фугат)

Таблица 4.2 – Состав и свойства образцов делактозированной сыворотки

Показатель	Делактозированная сыворотка			
	УД 0 %	УД 70 %	УД 90 %	без промывных вод
Массовая доля белка в СВ, %	25,08 ± 0,75	28,34 ± 1,67	28,68 ± 2,64	20,65 ± 0,54
Массовая доля лактозы в СВ, %	57,56 ± 1,48	65,73 ± 2,53	67,54 ± 0,86	55,65 ± 1,56
Массовая доля золы в СВ, %	12,61 ± 0,44	2,34 ± 0,21	0,96 ± 0,13	16,18 ± 0,49
Массовая доля жира в СВ, %	1,69 ± 0,08	1,95 ± 0,38	2,01 ± 0,08	2,68 ± 0,10
Массовая доля сухих веществ, %	23,83 ± 0,71	21,50 ± 0,52	20,16 ± 0, 52	35,42 ± 0,67
pH, ед.	5,83 ± 0,23	6,53 ± 0,16	6,51 ± 0,26	5,60 ± 0,16

Образец № 1 использовался для сравнение каталитической активности выбранных ферментных препаратов  $\beta$ -галактозидаз *K. Lactis*. Образцы № 1 – 4 – для исследования процесса гидролиза лактозы в делактозированной сыворотке с различным уровнем деминерализации в следующей серии экспериментов (глава 4.3).

Для сравнения активности выбранных ферментных препаратов Biolactase L20 и Mayalact L 5000 в качестве ферментативной среды использовалась делактозированная сыворотка (образец № 1, таблица 4.2) без электродиализной обработки.

Процесс гидролиза проводился в биореакторе (глава 2) с мешалкой, при температуре, так называемого «холодного режима»: (10,0 ± 2,0) °С. Максимальная

((1,1 – 1,2) мл/л) и минимальная ((0,6 – 0,7) мл/л) дозировки фермента BIOLACTASE L20 были выбрана согласно рекомендациям производителя (приложение А) для «холодного» режима гидролиза, с достижением степени гидролиза, 90,0 %, через 24 ч. Поскольку по содержанию белка образцы делактозированной сыворотки были более приближены к обезжиренному молоку, использовались дозировки, рекомендуемые именно для этого вида сырья. Для сравнения динамики гидролиза препаратом Mayalact L 5000 использовались идентичные дозировки фермента.

Производителями ферментных препаратов Mayalact L 5000 и Biolactase L20 в качестве оптимального рН рекомендован диапазон (6,6 – 7,8) и (6,0 – 7,0), Приложения А, Б, соответственно. С учетом того, что делактозированная сыворотка до электродиализной обработки имеет рН, близкий к нижнему пределу Biolactase L20, корректировка кислотности в этой серии экспериментов не проводилась. Эффективность процесса гидролиза контролировалась по изменению точки замерзания сырья через каждый час гидролиза.

При построении графической зависимости использовалась величина абсолютной депрессии температуры замерзания сырья ( $\Delta T$ ): абсолютная величина разности температур точки замерзания в  $i$ -й момент времени гидролиза и исходной температуры замерзания сырья.

Анализ полученных полиномиальных моделей (рисунок 4.4, уравнения 4.1 – 4.4), связывающих интенсивность депрессии температуры замерзания ( $\Delta T$ ) с продолжительностью гидролиза, свидетельствует о нелинейном характере процесса, что хорошо согласуется с данными [147 – 149].

$$y_1 = -0,0116x^2 + 0,1512x + 0,0066 \quad (4.1)$$

$$y_2 = -0,0027x^2 + 0,0748x - 0,0086 \quad (4.2)$$

$$y_3 = -0,0067x^2 + 0,1058x - 0,0007 \quad (4.3)$$

$$y_4 = 0,0004x^2 + 0,0444x + 0,0052 \quad (4.4)$$

где:

$x$  – продолжительность процесса гидролиза, ч

$y_1$  и  $y_2$  – степень гидролиза лактозы образцов с BIOLACTASE L20 с дозировкой фермента 0,6 мл/л и 1,2 мл/л, соответственно;

$y_3$  и  $y_4$  – степень гидролиза лактозы образцов с Mayalact L 5000 с дозировкой фермента 0,6 мл/л и 1,2 мл/л, соответственно.

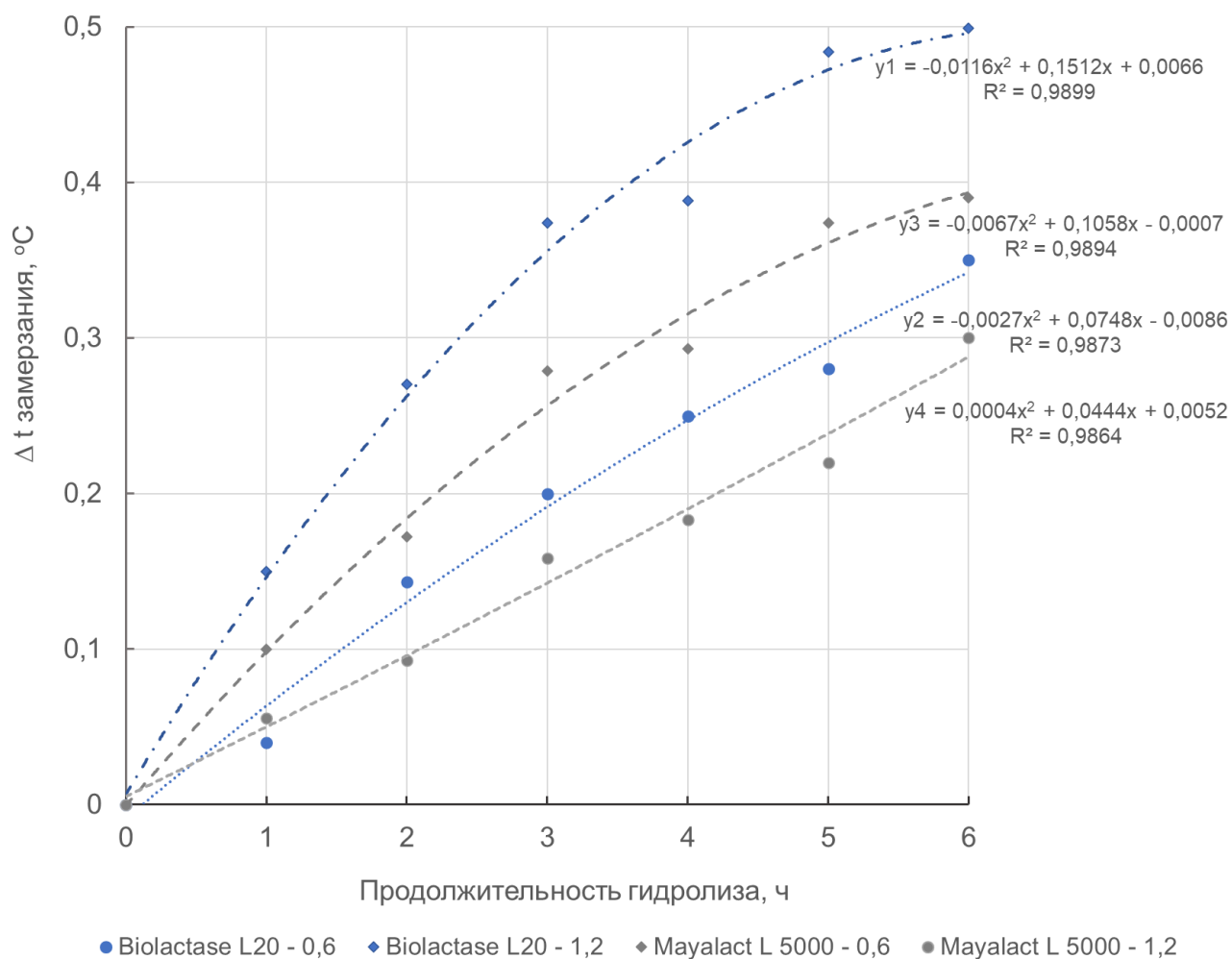


Рисунок 4.4 – Динамика депрессии температуры замерзания делактозированной сыворотки в процессе ферментативного гидролиза препаратами Mayalact L 5000 и Biolactase L20

Отрицательный знак квадратичного коэффициента в большинстве моделей указывает на затухающий характер скорости гидролиза. Обычно для ферментативных реакций это проявляется в том, что начальная стадия, характеризующаяся максимальной скоростью реакции за счет высокой концентрации субстрата и свободного фермента, постепенно сменяется стадией замедления [140]. Однако малые значения коэффициентов при квадратичных

членах, особенно для моделей  $y_4$  (Mayalact L 5000, дозировка 0,6 мл/л) и  $y_2$  (Biolactase L20, дозировка 0,6 мл/л), в совокупности с условиями проведения процесса (низкие температуры и короткая продолжительность), указывают на то, что в наблюдаемом временном интервале доминирует линейная составляющая зависимости, характерная для начального этапа гидролиза при низкой температуре. При этом степень отклонения от линейности служит индикатором скорости процесса: активный гидролиз ( $y_1$  – Biolactase L20, дозировка 1,2 мл/л) приводит к раннему отклонению от линейного закона, вероятно, вследствие снижения количества свободного фермента [152], тогда как пассивный процесс ( $y_4$  – Mayalact L 5000, дозировка 0,6 мл/л) сохраняет линейный характер с постоянной скоростью в течение всего исследованного интервала.

Как показали результаты следующего эксперимента, проводимого также в холодных условиях при дозах обоих препаратов, составляющих максимальную от рекомендуемой для Biolactase L20 (1,2 мл/л), через 24,0 ч гидролиза в образце, гидролизуемом Biolactase L20, степень гидролиза, определяемая по увеличению доли редуцирующих сахаров [153] в делактозированной сыворотке, составила  $(85,2 \pm 1,6) \%$ , тогда как для образца Mayalact L 5000 –  $(70,2 \pm 2,5) \%$ .

Важно отметить, что гидролиз проводился при pH 5,8, что несколько ниже оптимума используемых лактаз (pH 6,0 – 7,0). Несмотря на это, оба фермента продемонстрировали довольно высокую эффективность, особенно препарат Biolactase L20. Это свидетельствует о их устойчивой активности в широком диапазоне pH, что является важным преимуществом при обработке сыворотки, т.к. не требуется корректировки кислотности сырья.

Проведенные исследования позволили сделать вывод о том, что Biolactase L20 будет являться предпочтительным препаратом для проведения гидролиза в делактозированной сыворотке, однако гидролиз с Mayalact L 5000 также возможен, но с уточнением дозировок и продолжительности гидролиза.

### **4.3. Изучение влияния уровня деминерализации делактозированной сыворотки на каталитическую активность $\beta$ -галактозидазы *K. Lactis***

Приведенный ранее анализ факторов, определяющих каталитическую активность промышленных препаратов  $\beta$ -галактозидазы, выявил, что их эффективность в технологических процессах в значительной степени зависит от компонентного состава ферментативной среды. Применительно к технологии делактозированной сыворотки, особенно важным и легко корректируемым фактором является концентрация минеральных веществ, которые могут оказывать как активирующее, так и ингибирующее действие на фермент. Поэтому основной задачей исследований на данном этапе стала оценка влияния степени деминерализации сыворотки на эффективность гидролиза остаточной лактозы.

Помимо этого, объекты исследования (таблицы 4.1, 4.2), рассматривались, как образцы делактозированной сыворотки, полученные на разных этапах технологического цикла: отделение кристаллов (образец №4), промывка (образец №1), деминерализация (образец №2, 3). Соответственно, в задачи данной главы входило также определение оптимальной стадии для проведения гидролиза при обосновании проектных решений технологической линии.

В качестве объектов исследования использовались образцы делактозированной сыворотки (№ 1 – 4, таблица 4.2), выработанные согласно процедуре, описанной в главе 4.2.

Сравнительный анализ компонентного состава образцов (рисунок 4.5) показывает, что образцы делактозированной сыворотки, существенно отличаются от основных субстратов, обезжиренного молока и молочной сыворотки, рекомендации для которых даны в спецификациях ферментов (приложения А, Б). Более того, что компонентные профили обезжиренного молока и молочной сыворотки, подсырной, в частности, также различны (рисунок 4.5).

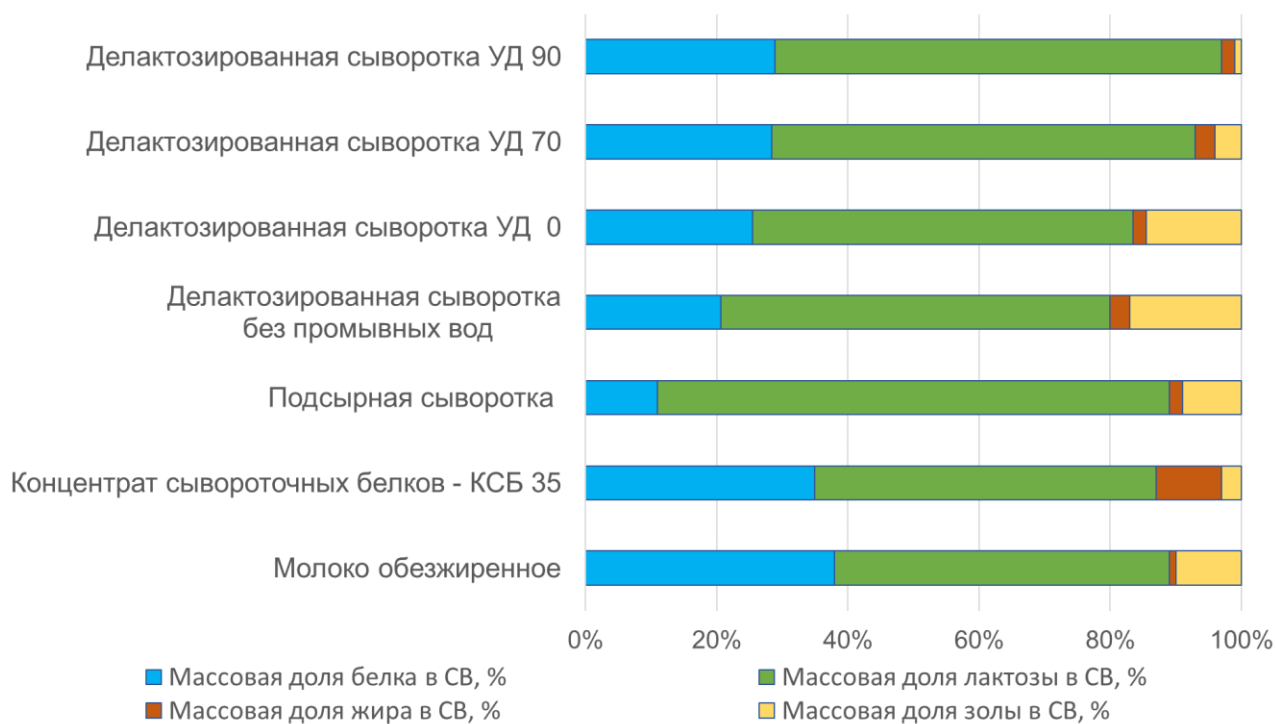


Рисунок 4.5 – Компонентный профиль молочного сырья для гидролиза лактозы (\*расчётный состав на основании литературных данных)

Для подсырной сыворотки характерно высокое содержание лактозы ( $\geq 70,0\%$ ) и относительно низкое содержание белка ( $\approx 11,0\%$ ) в сухом остатке. Тогда как в обезжиренном молоке отмечается обратное соотношение: максимальная доля белка ( $\geq 36,0\%$ ) при умеренном содержании лактозы (около  $50,0\%$ ) в сухом остатке.

Такой компонентный состав определяет различные условия для работы гидролаз: высокая концентрация лактозы при низкой вязкости в подсырной сыворотке создает оптимальные условия для диффузии фермента и гидролиза [154]. В то время как более сложный компонентный состав молока с преобладанием белковой фракции может оказывать ингибирующее влияние на активность фермента [155].

В образцах делактозированной сыворотки, с учетом электродиализной обработки, наблюдается существенный разброс по содержанию минеральных веществ. Наибольшая массовая доля золы в сухом остатке отмечается в образцах без промывных вод и недеминерализованной (УД 0 %) делактозированной

сыворотке, тогда как в деминерализованных образцах УД 70 % и УД 90 % этот показатель снижается до  $(2,34 \pm 0,21)$  и  $(0,96 \pm 0,13)$  (рисунок 4.5, таблица 4.2), соответственно. При этом массовая доля белка в сухом остатке во всех образцах делактозированной сыворотки существенно превышает показатель для подсырной сыворотки, а повышение степени деминерализации до 90,0 % приводит к увеличению доли белка в сухом остатке до  $(28,68 \pm 2,64)$  %. Это в целом приближает систему скорее к концентрату сывороточных белков (КСБ-35) или молоку (рисунок 4.5).

Особый интерес представляет изменение ионного состава в зависимости от глубины деминерализации. Согласно полученным данным (рисунок 3.12), с увеличением степени деминерализации происходит не просто снижение общего содержания золы, но и изменение соотношения одно- и двухвалентных ионов. Двухвалентные ионы кальция удаляются менее эффективно, в то время как содержание одновалентных ионов натрия может значительно снижаться, особенно при глубокой деминерализации. Это приводит к изменению ионного баланса в системе, что может оказывать комплексное влияние на активность  $\beta$ -галактозидазы. Удаление ионов кальция снижает их потенциальное ингибирующее действие [143]. Но присутствие ионов натрия может способствовать повышению ферментативной активности, поскольку именно одновалентные ионы часто выступают в роли активаторов для многих гидролаз, включая и  $\beta$ -галактозидазы, продуцируемые *K Lactis*, как уже отмечалось выше [152].

Поэтому можно предположить, что влияние деминерализации на активность  $\beta$ -галактозидазы не является однозначным, поскольку может определяться не только степенью удаления минеральных веществ, но и изменением соотношения между различными группами ионов.

При этом следует учитывать, еще один фактор: повышенная концентрация сухих веществ и белка в сухом остатке может увеличивать вязкость системы, ограничивая массоперенос и снижая диффузионную подвижность молекул фермента и вероятность их контакта с субстратом [156].

С учетом выявленных отличий в составе делактозированной сыворотки от классических субстратов  $\beta$ -галактозидазы (обезжиренное молоко и молочная сыворотка), была проведена серия экспериментов для уточнение оптимальной дозы фермента, обеспечивающий степень гидролиза лактозы не менее 80,0 %. Одновременно была проведена оценка целесообразности проведения гидролиза в делактозированной сыворотке, получаемой на этапе отделения кристаллов лактозы, до промывки.

Схема проведения эксперимента, представлена в таблице 4.3.

Таблица 4.3 – Условия проведения эксперимента влияния корректировки минерального состава делактозированной сыворотки на эффективность гидролиза

№ образца	Массовая доля СВ, %	Соотношение в СВ лактоза / белок / зола	Дозировка фермента, мл/л
4	35,42±0,67	1,0 / 0,4 / 0,3	0,9 ± 0,10
4	35,42±0,67	1,0 / 0,4 / 0,3	1,2 ± 0,10
4	35,42±0,67	1,0 / 0,4 / 0,3	2,4 ± 0,10
1	23,83±0,71	1,0 / 0,4 / 0,2	0,9 ± 0,10
1	23,83±0,71	1,0 / 0,4 / 0,2	1,2 ± 0,10
1	23,83±0,71	1,0 / 0,4 / 0,2	2,4 ± 0,10

Выбор условий эксперимента обоснован задачей оценки влияния дозы фермента и массовой доли сухих веществ на эффективность гидролиза. Для этого отобраны образцы № 1 и 4, сходные по соотношению лактоза/белок/зола, но отличающиеся по массовой доле сухих веществ и зольности. Дозы ферментных препаратов варьировали в трех режимах: средняя и максимальная из рекомендованных для молока (глава 4.2), а также заведомо избыточная.

Для проведения исследований образцы № 1 и 4 (таблица 4.2), помещались в биореактор (глава 2) с мешалкой, при температуре, холодного режима: (10,0 ± 2,0) °С. Затем проводилось дозирование ферментного препарата и образец выдерживался при перемешивании в течение 24,0 ч. Для контроля процесса отбирались пробы образца до и после термостатирования, затем определялась степень гидролиза лактозы согласно [153].

Анализ экспериментальных данных (рисунок 4.6) показал выраженную зависимость степени гидролиза от дозировки фермента для обоих образцов. Для образца №4, с более высокой массовой долей сухих веществ и золы, увеличение дозировки фермента с 0,9 до 1,2 мл/л привело к относительному росту степени гидролиза на 11,11 %. Последующее возрастание количества фермента до 2,4 мл/л обуславливает дальнейшее увеличение степени гидролиза на 7,14% относительно уровня, достигнутого при дозировке 1,2 мл/л. В целом, прирост дозировки от минимального значения 0,9 мл/л до максимального 2,4 мл/л обеспечивает суммарное относительное увеличение степени гидролиза на 19,05 %.

Аналогичная тенденция наблюдается для образца №1 с меньшей массовой долей сухих веществ и соотношением лактоза/белок/зола – 1,0 / 0,4 / 0,2. Однако влияние дозировки фермента в данном случае является более значительным.

Так, повышение дозировки с 0,9 до 1,2 мл/л приводит к относительному увеличению степени гидролиза на 11,84 %. При последующем росте количества фермента до 2,4 мл/л достигается дополнительное относительное увеличение на 10,59 %.

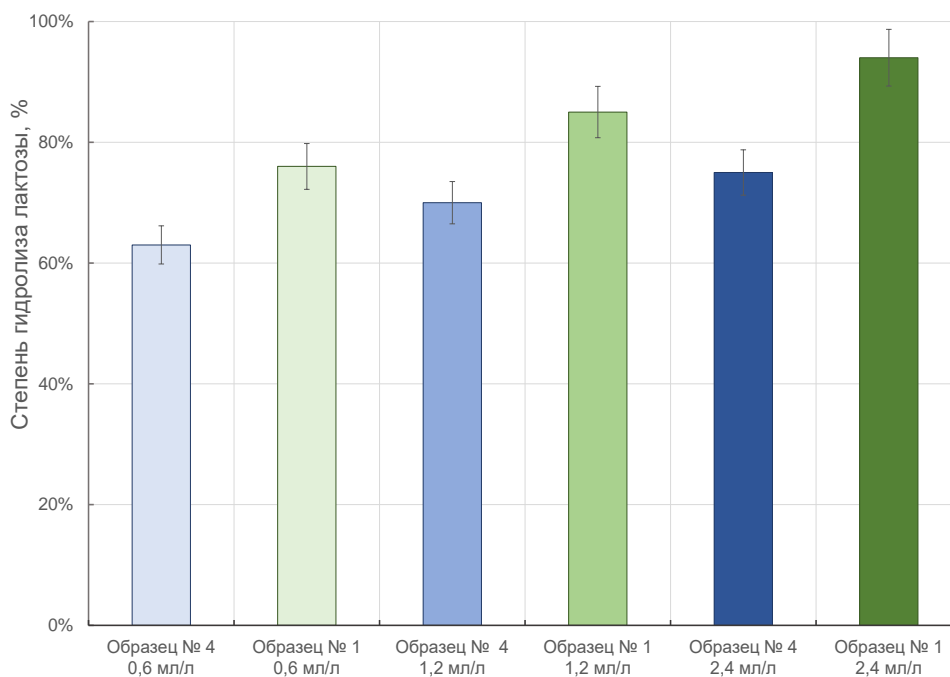


Рисунок 4.6 – Зависимость степени гидролиза лактозы в образцах с делактозированной сывороткой от дозировки ферментного препарата Biolactase L20, температура гидролиза ( $8,0 \pm 2,0$ ) °С, продолжительность 24,0 ч

Более высокие дозы фермента при использовании недеминерализованной делактозированной сыворотки действительно приводят к статистически значимому увеличению степени гидролиза. Совокупный относительный прирост показателя при увеличении дозировки от 0,9 до 2,4 мл/л составляет 23,68 %. Однако наблюдаемый прирост эффективности имеет нелинейный характер и демонстрирует тенденцию к снижению при дальнейшем увеличении количества фермента, особенно в диапазоне высоких дозировок и повышенной концентрации сухих веществ.

С учетом полученных закономерностей и высокой стоимостью ферментных препаратов, можно сделать вывод, что повышение дозы ферментного препарата Biolactase L20 ведет к существенному удорожанию конечного продукта без пропорционального технологического выигрыша. В связи с этим, целесообразность применения высоких дозировок, таких как 2,4 мл/л, может быть оправдана исключительно при необходимости выработки специализированных партий продукта со значительным снижением содержания лактозы.

Таким образом, сравнительный анализ результатов исследований показывает, что эффективность гидролиза, выраженная в относительном приросте степени гидролиза на единицу изменения дозировки фермента, выше для образца №1 с меньшей массовой долей сухих веществ и несколько сниженным содержанием золы, что указывает на значимое влияние состава субстрата на кинетику ферментативного процесса.

Лимитирующее воздействие наиболее вероятно объясняется совокупным влиянием повышения концентрации субстрата и вязкости системы. Повышение массовой доли лактозы может смещать равновесие реакции в сторону гликозилирования. Причем образующиеся при этом олигосахариды в данном процессе относятся к нежелательным побочным продуктам гидролиза, поскольку обратимо дезактивируют иммобилизованную  $\beta$ -галактозидазу и снижают выход глюкозы и галактозы [148].

Динамическая вязкость образцов, измеренная согласно главе 2 при температуре гидролиза  $(8,0 \pm 2,0) ^\circ\text{C}$ , составила  $(12,4 \pm 2,9) \text{ мПа}\cdot\text{с}$  и  $(28,2 \pm 3,1) \text{ мПа}\cdot\text{с}$ , соответственно.

Сравнение степени гидролиза при одинаковых дозировках фермента (рисунок 4.6) показало снижение эффективности гидролиза для всех образцов №4 по сравнению с образцами №1. В целом, результаты согласуются с данными [157], которые подтвердили, что повышение вязкости ферментационной смеси может стабилизировать фермент, но одновременно резко снижать скорость реакции из-за затрудненного массообмена.

Исходя из вышесказанного, на основании анализа экспериментальных данных доза фермента 1,2 мл/л выбрана оптимальной, поскольку обеспечивает достижения степени гидролиза лактозы  $>80\%$ , демонстрируя значительный скачок эффективности по сравнению с 0,9 мл/л. Дальнейшее увеличение дозы до 2,4 мл/л приводит к тому, что прирост конверсии становится непропорционально низким (7 – 10 %) относительно двукратного роста концентрации фермента. Таким образом, с точки зрения экономической целесообразности, доза фермента 1,2 мл/л минимизирует удельные затраты при гарантированной степени гидролиза, тогда как применение 2,4 мл/л приводит к неоправданному удорожанию процесса без существенного технологического выигрыша.

Целью следующей серии экспериментов было исследование влияния уровня деминерализации на динамику и степень гидролиза лактозы.

Эксперимент проводился следующим образом. Образцы № 1, 2 и 3 (таблица 4.2), помещались в биореактор (глава 2) с мешалкой, при температуре  $(8,0 \pm 2,0) ^\circ\text{C}$ , выдерживались при перемешивании в течение (12,0 – 12,5) ч.

Для контроля процесса отбирались пробы через каждый час термостатирования, затем определялась степень гидролиза лактозы согласно [153].

Анализ кинетических кривых ферментативного гидролиза лактозы в образцах делактозированной сыворотки с различной степенью деминерализации

(рисунок 4.7) выявил существенное нелинейное влияние ионного состава субстрата на динамику процесса.

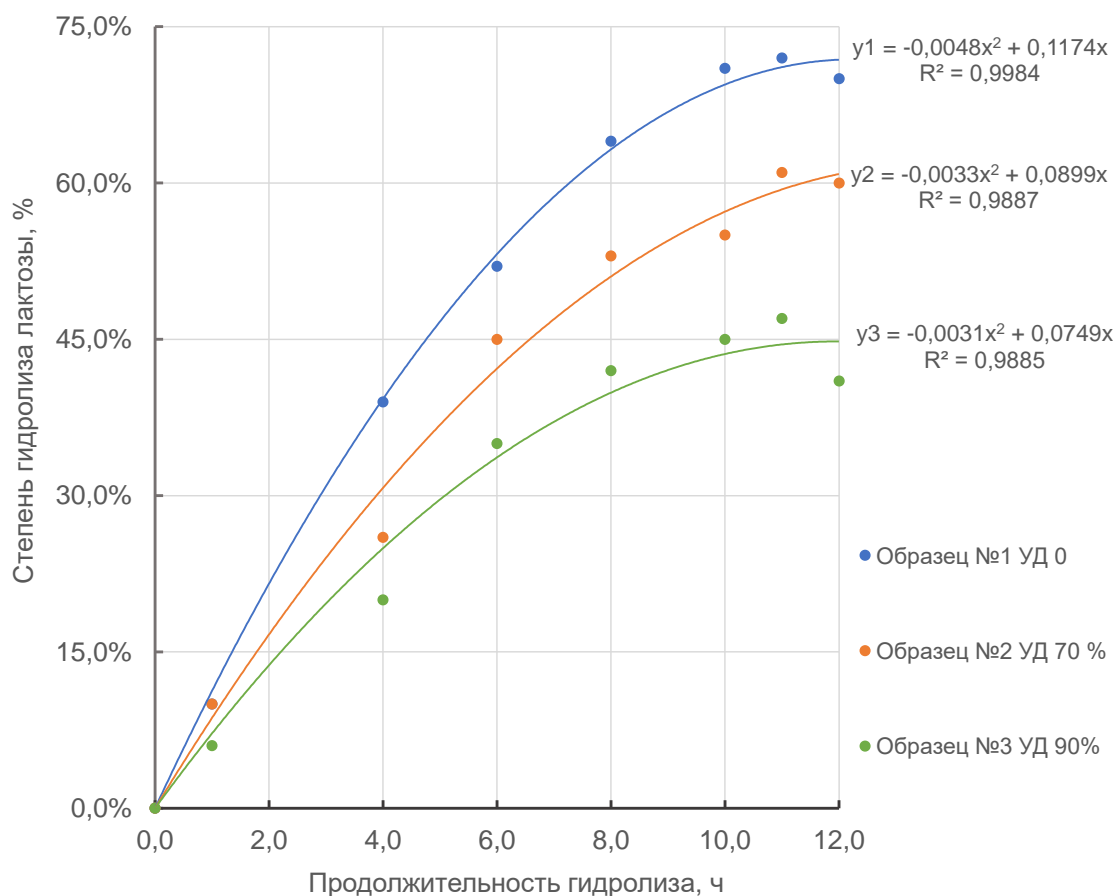


Рисунок 4.7 – Зависимость степени гидролиза лактозы от уровня деминерализации делактозированной сыворотки, температура: (8,0 – 10,0) °С, дозировка фермента: 1,2 мл/ 1л продукта

Установлено, что с увеличением уровня деминерализации до 90,0% наблюдаются закономерные изменения кинетических параметров, описываемых квадратичными уравнениями 4.5 – 4.7.

$$y_1 = -0,0048 \cdot x^2 + 0,1174 \cdot x \quad (4.5)$$

$$y_2 = -0,0033 \cdot x^2 + 0,0899 \cdot x \quad (4.6)$$

$$y_3 = -0,0031 \cdot x^2 + 0,0749 \cdot x \quad (4.7)$$

где:

$x$  – продолжительность процесса гидролиза, ч

$y_1$  – степень гидролиза лактозы образца без деминерализации;

$u_2$  – степень гидролиза лактозы образца с уровнем деминерализации 70,0 %;

$u_3$  – степень гидролиза лактозы образца с уровнем деминерализации 90,0 %.

Максимальная начальная скорость гидролиза наблюдается в недеминерализованном образце (УД 0 %) делактозированной сыворотки, что подтверждается наибольшим значением линейного коэффициента в уравнении (4.5). С увеличением степени деминерализации до 70 % и 90 % происходит последовательное снижение начальной скорости реакции, о чем свидетельствует уменьшение линейного коэффициента в уравнениях (4.6) и (4.7), соответственно. Параллельно отмечается ослабление ингибирующего эффекта, выражающееся в уменьшении абсолютного значения квадратичного коэффициента  $a$  с (-0,0048) до (-0,0031), однако с учетом малых значений, можно считать этот эффект незначительным.

Выявленная кинетическая закономерность коррелирует с изменением соотношения одновалентных и двухвалентных катионов ( $[Na^+ + K^+] / [Ca^+ + Mg^+]$ ), которое снижается с 2,12 при УД 0 % до 0,76 при УД 90 %. Вполне вероятно, что полученные данные свидетельствуют о том, что высокая начальная скорость в образце №1 обусловлена оптимальным ионным балансом, где преобладание одновалентных ионов создает благоприятные условия для первичного связывания субстрата с активным центром  $\beta$ -галактозидазы. В свою очередь, процесс глубокой деминерализации, сопровождающийся активным удалением одновалентных ионов и относительным увеличением доли двухвалентных, приводит к снижению начальной скорости, но в некоторой степени повышает стабильность фермента, что выражается в более линейном характере кинетических кривых, аналогично данным [157].

В целом, на основании анализа экспериментальных данных можно заключить, что наиболее целесообразно проводить гидролиз делактозированной сыворотки после смешивания промывных вод с межкристаллической жидкостью, полученной на этапе отделения кристаллов. Поскольку степень деминерализации оказывает значимое влияние на гидролитическую активность  $\beta$ -галактозидазы в делактозированной сыворотке, наибольшая начальная скорость гидролиза

достигается при оптимальном соотношении  $[Na^{+}+K^{+}]/[Ca^{+}+Mg^{+}]$ , равном 2,12, в недеминерализованном образце (рисунок 4.7). Активное удаление одновалентных катионов в процессе деминерализации смещает этот баланс, что последовательно снижает начальную скорость реакции. Соответственно, для достижения максимальной эффективности начальной стадии гидролиза необходима минимальная деминерализация, сохраняющая естественный ионный состав сырья.

Таким образом, исследование процесса снижения содержания лактозы в делактозированной сыворотке методом ферментативного гидролиза позволило установить ключевые факторы, влияющие на эффективность ферментативного гидролиза лактозы в делактозированной сыворотке с использованием  $\beta$ -галактозидазы *K. lactis*. Установлено, что каталитическая активность фермента в значительной степени детерминирована ионным составом среды, в частности, соотношением одновалентных ( $Na^{+}$ ,  $K^{+}$ ) и двухвалентных ( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ) катионов. Сравнительный анализ коммерческих препаратов показал более высокую эффективность Biolactase L20 по сравнению с Mayalact L 5000 в условиях, приближенных к нативным параметрам сырья (pH ~5,8, 10,0 °C).

Эксперименты выявили, что степень деминерализации сыворотки существенно влияет на кинетику процесса. Наибольшая начальная скорость гидролиза наблюдается в недеминерализованном образце при оптимальном соотношении  $[Na^{+} + K^{+}]/[Ca^{2+} + Mg^{2+}] \approx 2,12$ . Глубокая деминерализация (70 – 90 %), приводящая к удалению активирующих одновалентных ионов, снижает эффективность процесса.

Для производства стандартного продукта с пониженным содержанием лактозы, удовлетворяющего большинству технологических и потребительских требований, целесообразно использовать недеминерализованную делактозированную сыворотку, полученную после этапа промывки кристаллов, и препарат Biolactase L20 в стандартной дозировке 1,2 мл/л.

Повышение дозировки фермента, хотя и приводит к статистически значимому росту степени гидролиза (совокупный прирост до 23,68 % при увеличении дозы с 0,9 до 2,4 мл/л), характеризуется нелинейной зависимостью и

снижающейся отдачей, что в сочетании с высокой стоимостью препарата делает применение высоких доз экономически неоправданным для стандартного производства. Использование дозировок выше 1,2 мл/л может быть применимо только для выработки специализированной продукции с экстремально низким содержанием лактозы.

#### **4.4. Исследование влияния корректировки углеводного состава на процессы обезвоживания системы «низколактозная сыворотка»**

Согласно априорной информации, ферментативный гидролиз лактозы до моносахаридов индуцирует целый спектр комплексных изменений физико-химических свойств низколактозной сыворотки как пищевой системы [147, 158, 159]. Возрастает содержание редуцирующих сахаров, что напрямую влияет на восстановительную способность и вероятность протекания реакций Майяра [159]. Значительно повышается сладость за счет более высоких коэффициентов сладости глюкозы и галактозы по сравнению с лактозой [160]. Также, поскольку глюкоза и галактоза обладают более высокой растворимостью, снижается тенденция системы к кристаллизации в перенасыщенных растворах [161]. Изменение углеводного состава напрямую воздействует на реологические характеристики системы: снижение средней молекулярной массы сахаров способствует уменьшению вязкости, однако эффект может быть нивелирован или обращен из-за возникновения состояний перенасыщения и изменений в межмолекулярных взаимодействиях [162].

Важно подчеркнуть, что в делактозированной сыворотке гидролиз протекает в присутствии белков, что формирует многокомпонентную матрицу [163], в которой компоненты способны к специфическим взаимодействиям друг с

другом. Совокупное взаимодействие продуктов гидролиза и белкового компонента влияет как на кинетику кристаллизации, так и на реологическое и термическое поведение системы при обезвоживании [163]. Изменения в растворимости системы с гидролизованной лактозой, подавление кристаллизации лактозы в присутствии моносахаров и белков оказывают прямое воздействие на кинетику высыхания, температуру стеклования распыляемых частиц и, как следствие, на физические характеристики получаемого готового сухого продукта, в частности гигроскопичность, склонность к агломерации и структурно-механические свойства, что в конечном итоге влияет на функциональные свойства продукта, включая и стабильность при хранении [161].

С учетом вышеизложенных предпосылок целью следующей серии экспериментов было сравнительное исследование влияния модифицированного углеводного состава на реологические свойства системы низколактозной сыворотки в сравнении с делактозированной при концентрировании и сушке.

В рамках данной работы реологические свойства модельных систем, имитирующих концентрированную делактозированную и низколактозную сыворотку, оценивались по динамической вязкости. Выбор методики обусловлен тем, что динамическая вязкость является относительно легко контролируемым параметром, наиболее точно характеризующим поведение концентрированных белково-углеводных системы, которые как правило представляют из себя неньютоновские жидкости, при скоростях сдвига, соответствующих реальным условиям перекачки и распыления [158, 164].

Для проведения исследований были составлены модельные системы (таблица 4.4), содержащие в разном соотношении лактозу и сывороточные белки (аналог делактозированной сыворотки), либо глюкозу и сывороточные белки (аналог низколактозной сыворотки).

Для приготовления образцов использовались сахар молочный (лактоза) пищевой, ГОСТ 33567-2015, РФ, глюкоза пищевая, ГОСТ Р 70295-2022, ООО «Роспланта», РФ, изолят сывороточных белков (ИСБ), ТУ 10.51.56.-038.00426012-2024, АО «Молвест».

Таблица 4.4 – Условный углеводно-белковый состав модельных систем для исследования динамической вязкости

№ образца	Расчётное содержание компонента (г) в 100 г сухого остатка		
	лактозы	глюкозы	общего белка
1	90,0	-	10,0
2	70,0	-	30,0
3	-	90,0	10,0
4	-	70,0	30,0

Подготовка образцов осуществлялась следующим образом: расчётное количество ИСБ восстанавливалось до массовой доли сухих веществ 20,0 % водой с температурой (45,0 – 50,0) °С, затем в подготовленный восстановленный ИСБ постепенно добавлялись углеводные компоненты в соотношении, обеспечивающем состав сухого остатка, приведенный в таблице 4.4. Для обеспечения полного растворения лактозы и глюкозы образцы медленно подогревались при перемешивании до температуры (65,0 – 70,0) °С и выдерживались (15,0 – 20,0) мин. Массовая доля сухих веществ образцов составляла (50,6 ± 1,5) %. Затем образцы постепенно охлаждались при постоянном перемешивании, при достижении образцами температуры 60,0 °С, 30,0 °С и 20,0 °С проводился замер динамической вязкости на вискозиметре Брукфильда DV-II+ Pro (глава 2). Результаты эксперимента представлены на рисунках 4.8, 4.9.

Все исследуемые образцы при температуре 60,0 °С являлись легкотекучими жидкостями, однако при снижении температуры были зафиксированы визуальные изменения их реологических свойств и фазового состояния. Образцы № 2 и 4, содержащих 30,0 % белка в сухом остатке, при охлаждении становились более тягучими. В то же время система образца №1, содержащая около 10,0 % белка в сухом остатке, при охлаждении достигала состояния перенасыщения лактозы, поэтому визуально наблюдалось расслоение системы за счет формирования кристаллической лактозы.

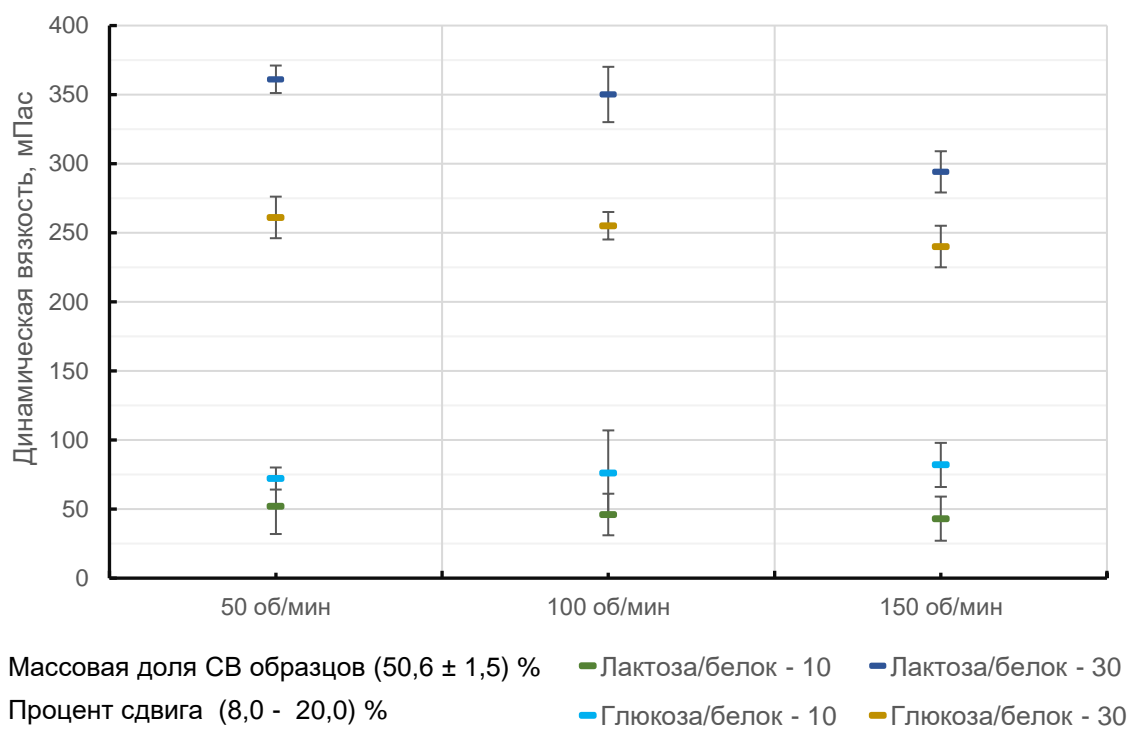


Рисунок 4.8 – Зависимость динамической вязкости модельных систем от скорости сдвига при температуре измерения (31,0 – 30,0) °С и массовой доле сухих веществ (50,6 ± 1,5) %

Напротив, система образца № 3 не проявляла признаков кристаллизации, а её визуальная консистенция оставалась неизменной в исследуемом температурном интервале.

Проведённый реологический анализ при фиксированной температуре (31,0 – 30,0) °С и массовой доле сухих веществ (50,6 ± 1,5) % количественно подтвердил данные визуальных наблюдений. Графические зависимости динамической вязкости от скорости сдвига (рисунок 4.8) для модельных систем № 2 и 4 демонстрируют неньютоновский характер их течения, характерный для псевдопластичных сдвигообразующихся сред [162, 165]. Системы образцов №1 и 3 проявляли более низкую вязкость на всех скоростях сдвига по сравнению с системами № 2 и 4. При этом в рамках одного соотношения углеводов/белок образцы на основе глюкозы демонстрировали сопоставимую или несколько повышенную вязкость относительно систем с лактозой (рисунок 4.8). Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что увеличение доли белка с

10,0 % до 30,0 % ведёт к формированию более прочной пространственной структуры, разрушаемой при сдвиге, в то время как различия между углеводными компонентами (лактоза/моносахара) могут быть обусловлены их молекулярной массой, гидратационной способностью и спецификой взаимодействия с белковыми макромолекулами [162, 165].

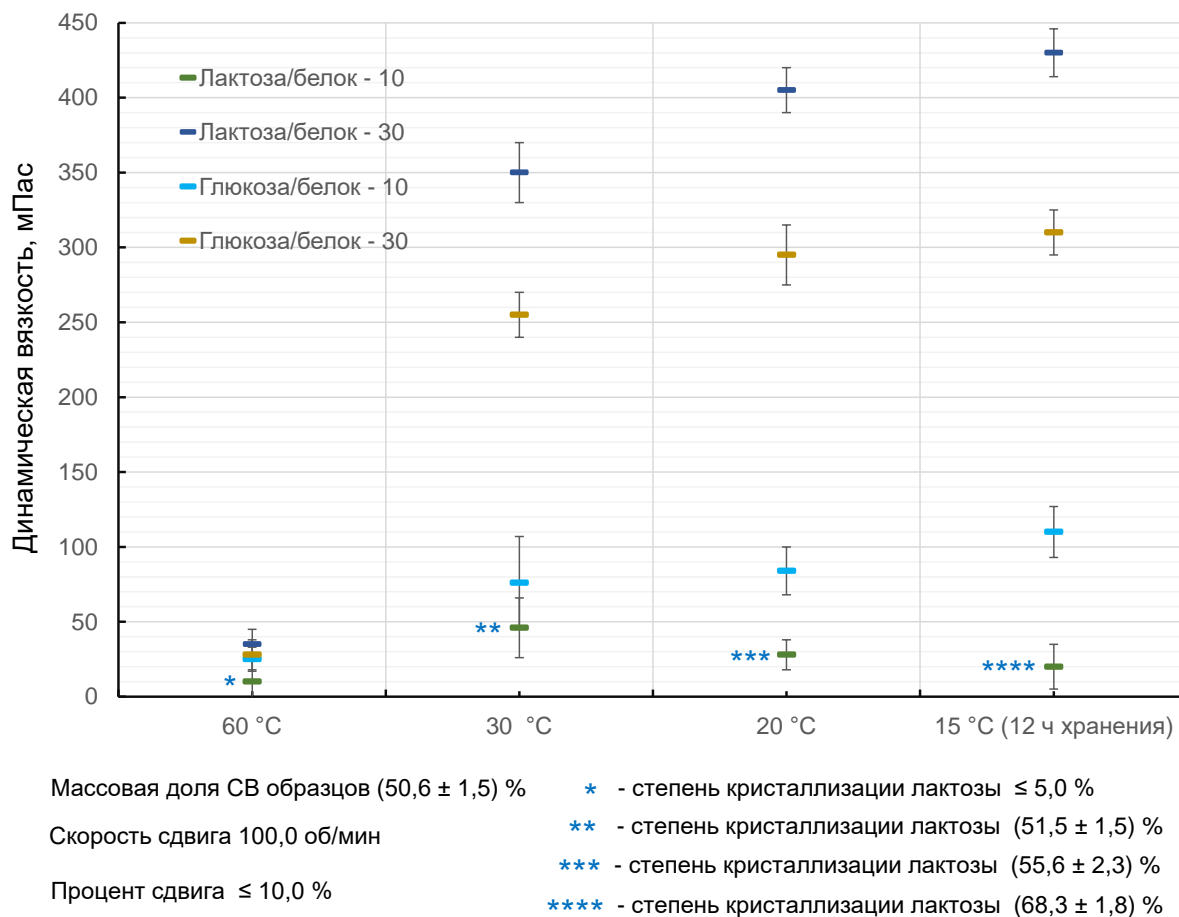


Рисунок 4.9 – Влияние компонентного состава и температуры на динамическую вязкость белково-углеводных модельных систем.

Анализ диаграммы, отражающей влияние компонентного состава и температуры на динамическую вязкость белково-углеводных модельных систем (рисунок 4.9), показывает, что тип углеводного компонента является значимым фактором, определяющим реологическое поведение системы. Образцы № 1 и 2, на основе лактозы, демонстрируют более высокие значения вязкости по сравнению с системами с глюкозой при одинаковых температурных условиях и соотношении белка. Это различие напрямую связано со способностью лактозы к

кристаллизации, которая существенно изменяет структурно-механические свойства концентрата [135]. Вторым значимым фактором выступает массовая доля белка: увеличение его содержания в сухом остатке с 10,0 % до 30,0 % закономерно повышает вязкость для всех типов систем, что объясняется ростом концентрации высокомолекулярного полимера в растворе.

Снижение температуры с 60,0 °С до 30,0 °С (рисунок 4.9) вызывало резкое увеличение динамической вязкости для всех исследуемых систем, что является термодинамически ожидаемым и связано со снижением кинетической энергии молекул и соответствующим усилением межмолекулярных взаимодействий [162]. Однако дальнейшая динамика при охлаждении до 15,0°С и изотермического хранения в течение 12,0 ч выявила кардинальные различия, обусловленные фазовым поведением углеводной составляющей.

Системы с более высоким содержанием белка (образец № 2 и 4) демонстрировали продолжающийся монотонный рост вязкости по мере снижения температуры и в ходе последующего хранения. Такое поведение указывает на протекание медленных релаксационных процессов и, вероятно, на развитие холодной гелефикации или продолжающуюся агрегацию белковых молекул. При этом высокое содержание белка, по-видимому, подавляло кристаллизацию сахаров, стабилизируя раствор.

Напротив, поведение системы образца №1, характеризующееся пиком вязкости при 30,0 °С с последующим резким снижением, свидетельствует о том, что охлаждение приводит к выраженному пересыщению раствора. Соответственно, при хранении при низкой температуре происходит массивная кристаллизация лактозы, что приводит к удалению части растворенного сахара из жидкой фазы и снижению концентрации сухих веществ в межкристалльной жидкости. Совокупность этих факторов объясняет наблюдаемое значительное падение динамической вязкости в точке «15,0 °С, 12 ч хранения».

Образец №3, глюкозная система с содержанием белка в сухом остатке 10,0 %, показал более высокую и стабильную вязкость после хранения. Это связано с тем, что глюкоза в данной концентрационной области даже при 15,0 °С

не достигает степени пересыщения, достаточной для спонтанной кристаллизации. Следовательно, система остается гомогенным раствором.

Напротив, при высоком содержании белка (30 %) система с лактозой становится более вязкой, чем с глюкозой. В этом случае кристаллизация лактозы, вероятно, кинетически заторможена высоким содержанием белка. Таким образом, дисахарид лактоза, не выпадая в осадок, проявляет более сильное структурообразующее действие на белковую матрицу по сравнению с моносахаридом глюкозой.

Таким образом, наблюдаемые закономерности изменения вязкости являются результатом конкуренции двух процессов: реологического увеличения вязкости при охлаждении и фазового перехода (кристаллизации лактозы). Доминирование того или иного процесса определяется соотношением белок/сахарид и типом углевода, что необходимо учитывать при проектировании стабильных пищевых систем.

Согласно априорной информации, ферментативный гидролиз лактозы до моносахаридов индуцирует целый спектр комплексных изменений физико-химических свойств низколактозной сыворотки как пищевой системы [147, 158, 159]. Возрастает содержание редуцирующих сахаров, что напрямую влияет на восстановительную способность и вероятность протекания реакций Майяра [159]. Значительно повышается сладость за счет более высоких коэффициентов сладости глюкозы и галактозы по сравнению с лактозой [160]. Также, поскольку глюкоза и галактоза обладают более высокой растворимостью, снижается тенденция системы к кристаллизации в перенасыщенных растворах [161]. Изменение углеводного состава напрямую воздействует на реологические характеристики системы: снижение средней молекулярной массы сахаров способствует уменьшению вязкости, однако эффект может быть нивелирован или обращен из-за возникновения состояний перенасыщения и изменений в межмолекулярных взаимодействиях [162].

Важно подчеркнуть, что в делактозированной сыворотке гидролиз протекает в присутствии белков, что формирует многокомпонентную матрицу

[163], в которой компоненты способны к специфическим взаимодействиям друг с другом. Совокупное взаимодействие продуктов гидролиза и белкового компонента влияет как на кинетику кристаллизации, так и на реологическое и термическое поведение системы при обезвоживании [163]. Изменения в растворимости системы с гидролизованной лактозой, подавление кристаллизации лактозы в присутствии моносахаров и белков оказывают прямое воздействие на кинетику высыхания, температуру стеклования распыляемых частиц и, как следствие, на физические характеристики получаемого готового сухого продукта, в частности гигроскопичность, склонность к агломерации и структурно-механические свойства, что в конечном итоге влияет на функциональные свойства продукта, включая и стабильность при хранении [161].

С учетом вышеизложенных предпосылок целью следующей серии экспериментов было сравнительное исследование влияния модифицированного углеводного состава на реологические свойства системы низколактозной сыворотки в сравнении с делактозированной при концентрировании и сушке.

Оценка влияния изменения компонентного состава делактозированной и низколактозной сыворотки на процесс распылительной сушки была проведена в лабораторных условиях с использованием лабораторной сушильной установки Mini Spray Dryer B-290. В качестве объекта исследования использовались модельные системы, согласно таблице 4.4, температура сушки находилась в пределах, используемых для сушки молочной сыворотки в производственных условиях ( $170,0 \pm 5,0$ ) °С. В качестве выходного параметра фиксировались массовая доля сухих веществ готового продукта и выход сухого продукта по сухому остатку. Выход сухого продукта определялся как процент сухого остатка сухого продукта, определенного по [166], от сухого остатка сырья, подаваемого на сушку. В образце №3 предварительно проводилась кристаллизация лактозы по [102]. В образцах № 1, 2 и 4 кристаллизации сахаров не наблюдалось. Результаты исследований приведены на рисунке 4.10.

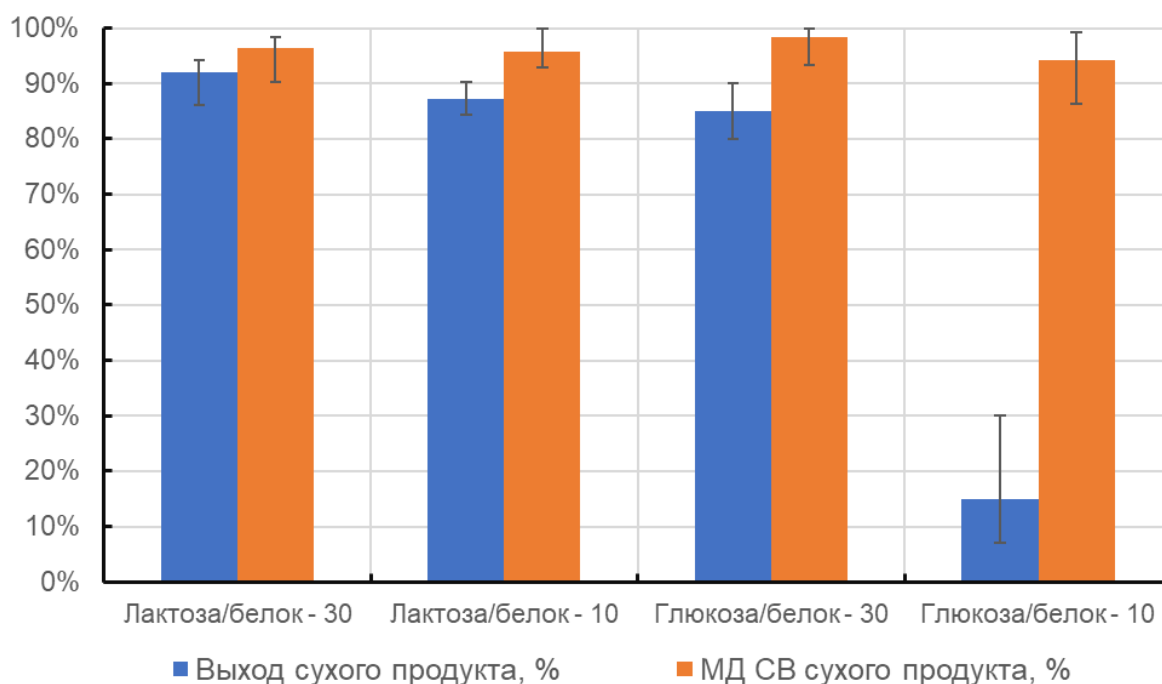


Рисунок 4.10 – Влияние массовой доли белка в сухом остатке на выход сухого продукта при распылительной сушке: МД СВ – массовая доля сухих веществ, %, режимы сушки: температура сушки 170 °С, скорость подачи 32 мл/мин, аспиратор 100 %, распыляемый поток газа 40 мм

На основании анализа экспериментальных данных установлено стабилизирующее влияние белкового компонента на процесс распылительной сушки белково-углеводных систем. Повышение массовой доли белка в сухом остатке с 10,0 до 30,0% приводит к статистически значимому росту выхода продукта для систем на основе обоих углеводов. Наиболее выраженный эффект наблюдается в системе глюкоза-белок, где выход возрастает с  $(15,0 \pm 2,0) \%$  до  $(85,0 \pm 3,0) \%$ . В системе лактоза-белок увеличение выхода до  $(92,0 \pm 1,0) \%$  также подтверждает стабилизирующую функцию белка.

Физико-химический механизм наблюдаемого явления может быть объяснён изменением температур стеклования ( $T_g$ ) бинарных систем. Глюкоза (моносахарид) характеризуется низкой температурой стеклования ( $T_g \approx 31,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ), что обуславливает её склонность к пластификации и адгезии в процессе сушки.

Лактоза (дисахарид) обладает более высокой  $T_g \approx 101,0 \text{ }^\circ\text{C}$ . Белковые компоненты, как правило, имеют высокие значения  $T_g (>150 \text{ }^\circ\text{C})$  [22]. Введение

белка в углеводную матрицу приводит к увеличению средней температуры стеклования композиции, что снижает липкость частиц в температурном диапазоне процесса сушки [158].

Критически низкий выход системы глюкоза-белок (10 % белка) при 94,0 % СВ и обильное налипание невысушенного продукта на стенки сушильной камеры при проведении эксперимента, объясняется недостаточной концентрацией компонента с высокой температурой стеклования для стабилизации матрицы углевод-белковой фракции.

Повышение доли белка до 30,0 % смещает фазовое состояние системы в область более высоких  $T_g$ , обеспечивая сохранение стеклообразного состояния частиц. Для системы лактоза-белок изначально высокая  $T_g$  углевода обеспечивает приемлемые технологические параметры даже при низком содержании белка, однако оптимальные результаты достигаются при синергетическом сочетании двух высоко- $T_g$  компонентов: лактоза и белок 30 %.

Таким образом, стабилизирующий эффект белка в процессах сушки коррелирует с его способностью повышать температуру стеклования многокомпонентных систем. Как правило, при сушке систем с низкой температурой стеклования принято использовать порядка (20,0 – 30,0) % компонентов с высоким  $T_g$  (белки, мальтодекстрины) для обеспечения реологических характеристик, необходимых для эффективного проведения процесса [23, 163].

С учетом результатов проведенных исследований, можно предположить, что системы «делактозированная и низколактозная сыворотки» с повышенным содержанием белка должны обладать достаточной стабильностью для распылительной сушки, придавая готовому продукту приемлемые физико-химические характеристики (гигроскопичность, склонность к агломерации и стабильность при хранении) [158].

Для проверки этого предположения были подготовлены образцы делактозированной и низколактозной сыворотки (таблица 4.5), выработанные в лабораторных условиях.

Таблица 4.5 – Состав делактозированной и низколактозной сыворотки

Показатель	Делактозированная сыворотка УД 70 %	Низколактозная сыворотка УД 70 %
Массовая доля белка, %	6,39 ± 0,14	7,02 ± 0,21
Массовая доля углеводов, включая лактозу, %	15,29 ± 0,46	16,23 ± 0,81
из них лактозы, %	14,93 ± 0,81	2,7 ± 0,46
Массовая доля лактозы в СВ, %	64,1 ± 0,25	11,7 ± 0,25
Массовая доля золы, %	0,84 ± 0,08	0,87 ± 0,11
Массовая доля сухих веществ, %	23,24 ± 0,16	23,62 ± 0,18
Степень гидролиза, %	-	86,3 ± 4,13

Делактозированная сыворотка с уровнем деминерализации 70,0 % вырабатывалась согласно процедуре, описанной в главе 4.2, для получения низколактозной сыворотки в делактозированной сыворотке до процесса деминерализации проводился гидролиз лактозы препаратом Biolactase L20. Затем полученные образцы сгущались на лабораторном ротационном испарителе (глава 2) до массовой доли сухих веществ (50,0 ± 2,0) %. Выбранный диапазон содержания сухих веществ обеспечивал при подаче на распылительное устройство сушильной установки вязкость не превышающую 100 мПа/с при температуре подачи (40,0 – 45,0) °С, которая оговаривается [163] как критическая при сушке в промышленных условиях. Процесс сушки проводился при температуре на входе: (170,0 ± 5,0) °С которая оптимальна для быстрого испарения влаги без термической деградации и температурой на выходе: (90,0 ± 5,0) °С для поддержания сохранности термолабильных компонентов. Скорость подачи раствора составляла 32,0 мл/мин. Контроль, по аналогии с модельными системами, выхода продукта по сухим веществам и массовая доля сухих веществ высушенных образцов, подтвердил верность предположения.

Выход делактозированной сыворотки составил (93,6 ± 2,3) %, при массовой доле сухих веществ (96,5 ± 1,2) %. Выход низколактозной сыворотки составил (92,6 ± 3,2) %, при массовой доле сухих веществ (93,5 ± 2,3) %.

Поскольку присутствие гигроскопичных моносахаров (глюкозы, галактозы) принципиально меняет водосорбционное поведение, одним из объектов

исследования стала гигроскопичность готовых сухих продуктов. Были изучены изотермы сорбции влаги (рисунок 4.11) и склонность к агломерации порошков, полученных из низколактозной и делактозированной сыворотки (рисунок 4.12).

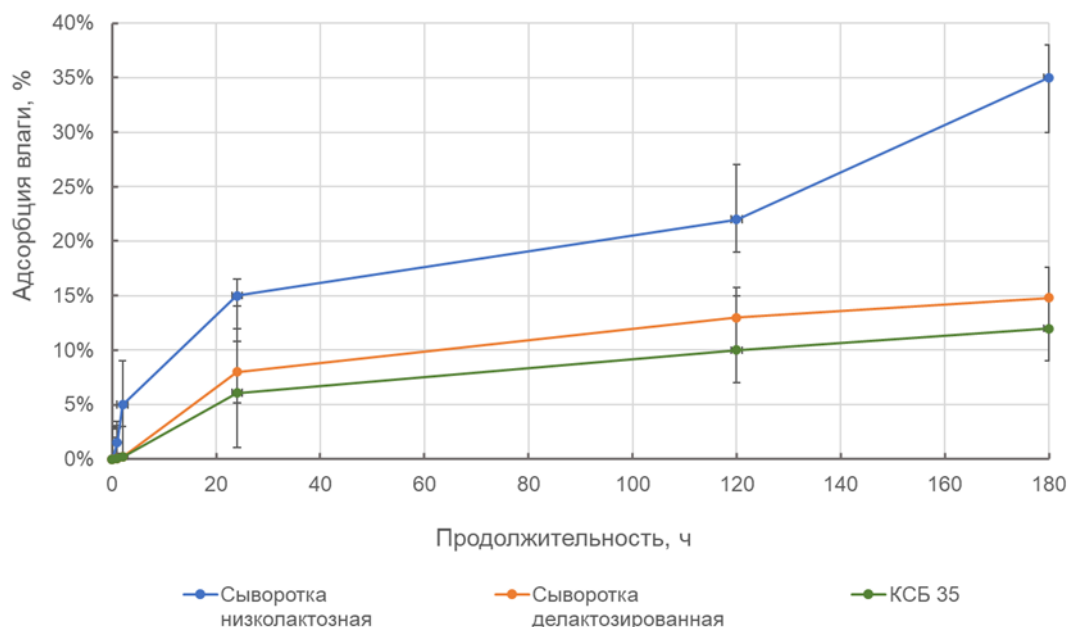


Рисунок 4.11 – Кривые адсорбции влаги сухой делактозированной и низколактозной сыворотки при 25,0 °С,  $\varphi_{\text{возд}}$  85,0 %

Анализ изотерм сорбции влаги (рисунок 4.11) выявляет выраженную корреляцию между гигроскопичностью и химическим составом образцов. Наибольшую начальную скорость сорбции и максимальное равновесное влагосодержание демонстрирует образец низколактозной сыворотки, что связано с присутствием в ее составе значительной доли высокогигроскопичных моносахаров (глюкоза, галактоза), преимущественно в аморфном, метастабильном состоянии. Изотерма данного образца характеризуется резким подъемом на начальном участке, что свидетельствует об активном хемосорбционном связывании молекул воды с полярными группами сахаров, с последующим выходом на высокое плато, типичное для процессов капиллярной конденсации и пластификации аморфной матрицы [102]. Делактозированная сыворотка сорбирует влагу заметно менее активно; её кривая адсорбции идет

ниже и приближается к поведению, взятого для сравнения концентрат сывороточного белка (КСБ-35), который демонстрирует низкую гигроскопичность, типичную для белковых продуктов.

Сухие образцы были заложены на хранение в негерметичных условиях с целью моделирования более жёстких режимов хранения по сравнению с обычно применяемыми для сухих молочных продуктов [125, 167]. Согласно данным визуального наблюдения, уже через 2 недели хранения (рисунок 4.12) низколактозная сыворотка начинала образовывать агломераты, которые легко разрушались при незначительном механическом воздействии. По истечении 3 месяцев хранения отмечалось выраженное слеживание продукта: формировались крупные, механически прочные комки, не поддающиеся разрушению, а также наблюдалось заметное потемнение образца.



Рисунок 4.12 – Лабораторные образцы сухой делактозированной и низколактозной сыворотки после хранения в негерметичной таре

Это свидетельствует о повышенной гигроскопичности сухой низколактозной сыворотки и её выраженной склонности к структурным и

реологическим изменениям при взаимодействии с влагой окружающей среды, что приводит к укрупнению частиц, образованию устойчивых агломератов и ухудшению технологических свойств продукта. В связи с этим при разработке и промышленной реализации технологии производства низколактозной сыворотки необходимо учитывать особенности её физико-химического состава, в том числе снижение содержания лактозы и изменение соотношения сухих веществ, что требует обоснованного подбора барьерных упаковочных материалов с низкой паро- и газопроницаемостью, а также строгой регламентации условий хранения по показателям температуры и относительной влажности воздуха для предотвращения снижения сыпучести и обеспечения стабильности потребительских и функциональных характеристик продукта в течение установленного срока годности.

Таким образом, в ходе выполнения исследований, установлены основные закономерности ферментативного снижения содержания лактозы в делактозированной сыворотке с использованием  $\beta$ -галактозидазы *Kluyveromyces lactis*. Показано, что каталитическая активность фермента определяется не только его природой и дозировкой, но и совокупностью факторов среды, включая концентрацию сухих веществ и, в особенности, ионный состав.

Сравнительный анализ промышленных препаратов  $\beta$ -галактозидазы *K. lactis* показал преимущество препарата Biolactase L20, который продемонстрировал более высокую скорость и степень гидролиза лактозы в условиях, близких к рекомендованным производителем фермента ( $\text{pH} \approx 5,8$ ;  $(8 - 10) \text{ }^\circ\text{C}$ ). Увеличение дозировки фермента выше 1,2 мл/л приводит к нелинейному росту степени гидролиза и характеризуется снижающейся технологической и экономической эффективностью, что ограничивает целесообразность применения повышенных доз в стандартных производственных условиях.

Экспериментально доказано, что степень деминерализации делактозированной сыворотки оказывает существенное влияние на кинетику ферментативного гидролиза. Наибольшая начальная скорость реакции достигается в недеминерализованной сыворотке при оптимальном соотношении

одновалентных и двухвалентных катионов ( $[\text{Na}^+ + \text{K}^+]/[\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}] \approx 2,12$ ), тогда как глубокая деминерализация (70,0 – 90,0) % приводит к снижению активности фермента вследствие удаления активирующих одновалентных ионов и изменения ионного баланса. На основании полученных данных обосновано, что оптимальной стадией проведения гидролиза является обработка делактозированной сыворотки после промывки кристаллов лактозы и до глубокой деминерализации, что обеспечивает максимальную эффективность процесса при сохранении технологической целесообразности.

Гидролиз лактозы принципиально изменяет реологические, фазовые и сушильные свойства сыворотки: моносахара подавляют кристаллизацию, но повышают гигроскопичность и технологические риски при сушке и хранении, тогда как повышенное содержание белка стабилизирует систему, улучшает выход при распылительной сушке и формирует сухие продукты с удовлетворительными физико-химическими характеристиками.

## ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ СУХОЙ НИЗКОЛАКТОЗНОЙ СЫВОРОТКИ И ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ С УЧЕТОМ ТРЕБОВАНИЙ НАССР

### 5.1. Разработка технологии сухой низколактозной сыворотки

На основании проведенных исследований была разработана технология двух видов сухой молочной сыворотки с пониженным содержанием лактозы:

- делактозированная, с использованием физико-химического способа снижения массовой доли лактозы в сухом остатке продукта (кристаллизация);
- низколактозная, с использованием физико-химического и ферментативного способа снижения массовой доли лактозы в сухом остатке продукта (кристаллизация и гидролиз).

Разработанная технология предусматривает производство продукта, который предназначен для использования в рецептурах пищевых продуктов, включая продукты детского питания за счет максимального сохранения сывороточных белков, при контроле уровня минеральных веществ методом электродиализной обработки.

Особенностями процесса получения низколактозной сыворотки является:

- использование сладкой сыворотки от сыров, в технологии которых при отделении сыворотки от сырного зерна используются низкие температуры, как следствие минимальная денатурация белков;
- мягкая тепловая обработка, обеспечивающая минимальную денатурацию белков;
- использование пленочных вакуум-выпарных установок для минимизации теплового воздействия;

- режимы кристаллизации, обеспечивающие получение крупных кристаллов лактозы ((200 – 400 мкм): медленное охлаждение 2...3 °С/ч, низкая скорость перемешивания, продолжительность (12,0 – 18,0) ч);
- обязательная промывка кристаллов, при (20,0 – 25,0) °С, для минимизации потерь белка, с возвратом промывных вод в технологический цикл;
- ферментативный гидролиз делактозированной сыворотки для понижения концентрации лактозы, степень гидролиза не ниже 80 %;
- деминерализация путем электродиализной обработки для удаления солей до уровня не ниже 70,0 %, что приводит к повышению белка в сухих веществах готового продукта;
- сгущение до (48,0 – 50,0) % и распылительная сушка.

Преимуществом разработанной технологии является повышение содержания белка до уровня не ниже 30,0 % в СВ, в зависимости от содержания белка в исходном сырье и степени деминерализации, улучшенные органолептические показатели.

Процесс получения делактозированной сыворотки предусматривает операции, представленные на рисунке 5.1.

Приемка и оценка качества сырья. В качестве сырья для производства низколактозной сыворотки используется подсырная сыворотка. Сыворотку принимают партиями. При приемке сырья партия определяется как количество продукции, однородное по составу и качеству, имеющее одно наименование, упакованное в одинаковую тару, произведенное одним изготовителем в соответствии с единым техническим документом на одном типе оборудования в рамках одного технологического цикла, по одинаковому режиму, с одной датой производства и сопровождаемое товаросопроводительной документацией, обеспечивающей прослеживаемость. Для молочной сыворотки в цистернах партией считается продукция каждой цистерны или ее секции. Для контроля качества отбирают объединенную пробу от каждой партии.

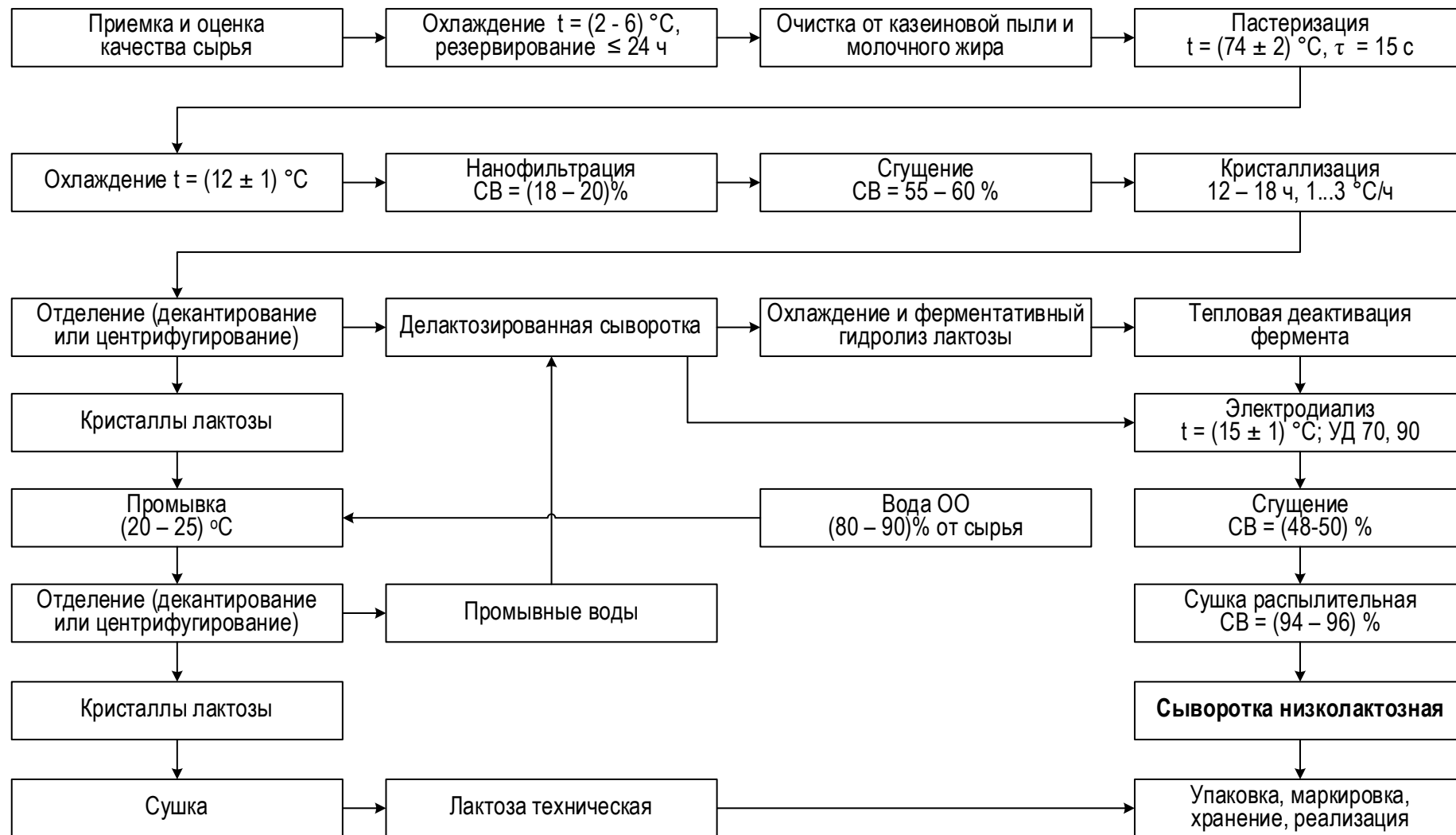


Рисунок 5.1 – Технология получения сухой низколактозной сыворотки

Объем объединенной пробы составляет не менее 1,0 дм<sup>3</sup>. По результатам проверки приемке подлежит только продукция в упаковке и с маркировкой, которая соответствует требованиям нормативных и технических документов РФ и таможенного союза.

Температуру, массу нетто определяют в каждой цистерне или ее секции. Отбор проб для определения органолептических показателей проводят перед отбором проб для определения физико-химических показателей от каждой цистерны или ее секции.

При обнаружении механических примесей, плесени для молочной сыворотки в цистернах, включенных в выборку, контролю подлежит каждая единица партии. По результатам контроля приемке подлежит только продукция, соответствующая требованиям нормативных и технических документов, действующих на территории государства, принявшего стандарт.

После оценки качества, согласно ГОСТ 34352-2017, сыворотку охлаждают в пластинчатом охладителе до температуры (2,0 – 6,0) °С и резервируют до 24,0 часов.

Следующим этапом является очистка сыворотки на последовательно установленных центробежных сепараторах от остатков казеиновой пыли и молочного жира. Далее молочную сыворотку подвергают тепловой обработке. Основная цель пастеризации – предотвратить развитие нежелательной микрофлоры. Источниками микрофлоры могут быть специально вводимые закваски при производстве основного продукта; возможно также обсеменение посторонней микрофлорой при сборе и хранении молочной сыворотки. Кроме того, при пастеризации подсырной сыворотки инактивируются остатки сычужного фермента, присутствие которого в ряде случаев при дальнейшей переработке молочной сыворотки нежелательно. Пастеризацию молочной сыворотки проводят в пластинчатой пастеризационно-охладительной установке при температуре (74,0 ± 2,0) °С с выдержкой 15,0 с.

После пастеризации молочную сыворотку охлаждают до (12,0 ± 1,0) °С и отправляют на нанофильтрацию. Процесс нанофильтрации осуществляют при

температуре  $(12,0 \pm 1,0)$  °С и давлении  $(20,0 - 25,0)$  бар через мембраны, специально разработанные для фильтрации молочного сырья. Типовой фактор концентрирования –  $(4,5 - 6,0)$ , который напрямую зависит от содержания сухих веществ в поступающей молочной сыворотке. После нанофильтрации ретентат, концентрированная сыворотка, поступает в промежуточную ёмкость с системой охлаждения, где накапливается для следующего этапа. Массовая доля сухих веществ в ретентате составляет  $(18,0 - 20,0)$  %, степень деминерализации варьируется в пределах  $(15,0 - 35,0)$  % в зависимости от состава входящей молочной сыворотки. Образующийся нанофильтрационный пермеат накапливается в резервуаре для дальнейшего хранения и утилизации либо переработке методом обратного осмоса.

Как только ёмкость наполнена, ретентат отправляется на сгущение. Сгущение ретентата проводят в пленочных вакуум-выпарных установках для минимизации теплового воздействия до содержания СВ  $(55 - 60)$  %.

Далее сгущенный ретентат отправляют в кристаллизатор на  $(12 - 18)$  часов. Кристаллообразование начинается с момента заполнения кристаллизатора. Режимы кристаллизации: медленное охлаждение  $(1,0 - 3,0)$  °С/ч, низкая скорость перемешивания, для обеспечения получения крупных кристаллов лактозы  $(200 - 400)$  мкм.

Кристаллы лактозы от мелассы отделяются декантере, промываются подготовленной водой при температуре  $(25,0 - 26,0)$  °С. Влажные кристаллы лактозы отправляются на сушку в псевдоожиженном слое, размол и фасовку.

Промывные воды возвращаются в технологический цикл для минимизации потерь белка, смешиваются с первичной межкристаллической жидкостью и формируют делактозированную сыворотку с содержанием сухих веществ  $(20,0 - 23,0)$  %.

При производстве делактозированной сыворотки (рисунок 5.1), для того чтобы повысить содержание белка в гидролизованной делактозированной сыворотке, ее отправляют на электродиализную обработку для удаления солей. Электродиализ проводится при температуре  $(15,0 \pm 1,0)$  °С с автоматическим

контролем УЭП в дилуате. Для электродиализа используется вода, подкисленная азотной или соляной кислотой, полученная из обратноосмотической или водопроводной воды, отвечающей критериям производителя оборудования. Уровень деминерализации определяется требованиями к готовому продукту и может достигать 90,0 %. При использовании продукта на кормовые цели допускается не проводить процесс деминерализации, однако следует учитывать, что продукт будет обладать соленым вкусом, а в процессе сушки может происходить налипание продукта на стенки сушильного оборудования, что отражено в акте опытно-промышленной выработки недеминерализованной делактозированной сыворотки (приложение В).

При использовании сухой делактозированной сыворотки в качестве ингредиента пищевых продуктов, для повышения органолептических показателей, рекомендуемый уровень деминерализации составляет не менее 70,0 %. При использовании сухой делактозированной сыворотки в качестве ингредиента детских продуктов, рекомендуемый уровень деминерализации составляет не менее 90,0 %, при этом продукт приближается по органолептическим показателям к КСБ-35, что отражено в акте пилотной выработки деминерализованной делактозированной сыворотки (приложение Г).

После электродиализа деминерализованный продукт сгущается на пленочных вакуум-выпарных установках до содержания сухих веществ (48,0 – 50,0) % и направляется на распылительную сушилку.

Для получения негигроскопичного продукта с высокими функционально-технологическими характеристиками используется двухступенчатая распылительная сушилка. На первой ступени сырье, с температурой (45,0 – 50,0) °С через насос высокого давления поступает в сушильную камеру, где распыляется дисковым или форсуночным распылителем, температура воздуха на первой ступени составляет (180,0 ± 5,0) °С. Отработанный сушильный агент через циклонный и/или рукавный фильтр очищается от унесенной тонкой фракции порошка и направляется в атмосферу. Задержанный при фильтрации порошок

используется для агломерации и направляется пневмотранспортной системой в зону распыления сушильной камеры. Эффективность сушки на первой ступени сушильной камеры может обеспечиваться досушкой на второй ступени – виброфлюидном дне, либо в первой секции виброфлюидного желоба. Виброфлюидный желоб может использоваться как для досушки, так и для охлаждения сухого продукта. Температура порошка на выходе из сушильной камеры составляет (40,0 – 50,0) °С. После прохождения виброжелоба охлаждения порошок с содержанием сухих веществ (94,0 – 96,0) % с температурой не более 25 °С направляется в накопительный бункер для дальнейшей фасовки.

Сухую делактозированную сыворотку упаковывают в транспортную упаковку, в бумажные мешки с мешками-вкладышами, масса нетто транспортной упаковочной единицы – не более 25 кг. Температура хранения – не выше 20 °С. Относительная влажность воздуха – не более 80 %. Сухой продукт хранят в транспортной упаковке, уложенной на рейках, решётках, поддонах, в чистых, сухих и хорошо вентилируемых помещениях. Совместное хранение с другими пищевыми продуктами со специфическим запахом не допускается.

Срок годности сухой низколактозной сыворотки устанавливает изготовитель в зависимости от особенностей технологического процесса изготовления, применяемых упаковочных материалов, условий хранения.

При выработке низколактозной сыворотки, делактозированная сыворотка с СВ (20,0 – 23,0) % подается в пластинчатый охладитель для охлаждения до температуры (6,0 – 10,0) °С и направляется на ферментативный гидролиз. Для проведения гидролиза в ферментер дозируется препарат β-галактозидазы Biolactase L20 или аналог, дозировка фермента Biolactase L20: (1,1 – 1,2) мл на 1,0 л продукта, рН (5,8 – 6,0), степень гидролиза не ниже 80,0 %. При использовании аналога потребуется корректировка дозы фермента, которая должна быть выполнена с учетом рекомендации производителя фермента.

Гидролизованную сыворотку отправляют на тепловую деактивацию фермента Biolactase L20 при температуре (72 – 75) °С с выдержкой (2 – 5) минут.

После проводится электродиализная обработка при температуре  $(15 \pm 1) ^\circ\text{C}$  с автоматическим контролем УЭП в дилуате до уровня деминерализации 70 %.

Далее деминерализованный продукт отправляют на сгущение до содержания сухих веществ  $(48,0 - 50,0)$  % и распылительную сушку до содержания сухих веществ  $(94,0 - 96,0)$  %.

На сыворотку молочную низколактозную деминерализованную сухую утверждены нормативные документы: ТУ 10.51.55.150-016-37676459-2025 и ТИ 10.51.55.150-016-37676459-2025 (приложения Д, Е). Технология производства сухой деминерализованной делактозированной и низколактозной сыворотки апробирована на производстве АО «Молочный комбинат «Ставропольский». Акты опытно-производственных выработок приведены в приложении Ж.

Состав и свойства сухой низколактозной сыворотки приведены в таблице 5.1.

Таблица 5.1 – Состав и свойства сухой низколактозной сыворотки

Параметр	Сыворотка низколактозная деминерализованная	
	УД 70 % (делактозированная)	УД 70 % (низколактозная)
1	2	3
Внешний вид	Мелкий легкосыпучий порошок, мелкие комочки рассыпаются при легком механическом воздействии	
Вкус, запах	Чистые, свойственные сухой сыворотке, без посторонних привкусов и запахов	
Цвет	Кремовый, с желтым оттенком	
Массовая доля сухих веществ, %	$96,67 \pm 0,50$	$96,72 \pm 0,35$
Массовая доля общего белка, %	$27,54 \pm 2,07$	$27,82 \pm 1,23$
Массовая доля углеводов, включая лактозу, %	$63,03 \pm 2,01$	$65,00 \pm 2,26$
Массовая доля жира, %	$1,89 \pm 0,21$	$2,2 \pm 0,20$
Массовая доля золы, %	$2,24 \pm 0,19$	$0,93 \pm 0,13$
Индекс растворимости, мл	$0,3 - 0,4$	$0,3 - 0,4$
Активная кислотность (10 % р-ра)	$6,2 - 6,3$	$6,2 - 6,3$
Количество мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов, КОЕ/г	$(1,2 - 3,4) * 10^4$	$(2,6 - 4,9) * 10^4$

Продолжение таблицы 5.1

1		2	3
Объем (масса) продукта, г, в которой обнаруживают:	БГКП (колиформы)	0,1	0,1
	Патогенные (в том числе сальмонеллы)	25	25
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1
	<i>Listeria monocytogenes</i>	25	25
Дрожжи, КОЕ/г		5 - 13	6 - 10
Плесени, КОЕ/г		26 - 37	16 - 24

## 5.2. Определение хранимоспособности сухой низколактозной сыворотки

Хранимоспособность пищевой продукции определяется как способность продуктов питания сохранять исходные химические, физические и органолептические характеристики в течение установленного нормативными документами периода хранения. Этот показатель отражает устойчивость продукта к различным видам порчи (микробиологической, биохимической, физической) при соблюдении рекомендованных условий хранения (температурного режима, влажности, освещенности и др.).

Согласно ГОСТ Р 51074-2003 «Продукты пищевые. Информация для потребителя» [168], сроки хранения устанавливаются производителем на основании:

- лабораторных исследований;
- технологических возможностей продукта;
- требований технических регламентов.

Сухая низколактозная сыворотка по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям должна соответствовать

требованиям ГОСТ Р 53456-2022 «Концентраты сывороточных белков сухие. Технические условия» [125], как наиболее близкому стандарту по химическому составу продукта.

Для определения и обоснования допустимых сроков годности контролировались органолептические показатели, массовая доля влаги, массовая доля белка в сухом веществе и микробиологические показатели в процессе хранения при температуре  $(20 \pm 2)$  °С и относительной влажности воздуха – не более 80 %. Из микробиологических показателей определяли количество молочнокислых микроорганизмов, бактерии группы кишечных палочек (БГКП), дрожжи и плесени. Периодичность контроля составляла сразу после выработки, через 1 месяц, 3 месяца, 6 месяцев, 12 месяцев и 18 месяцев после выработки.

Результаты исследований хранимоспособности сухой низколактозной сыворотки по органолептическим и физико-химическим показателям представлены в таблице 5.2. Массовая доля общего белка в процессе хранения незначительно уменьшается, в допустимых пределах нормы. Выработанный продукт стабилен по органолептическим показателям в течение всего срока хранения.

Микробиологические показатели сухой низколактозной сыворотки в процессе хранения представлены в таблице 5.3.

Анализ микробиологических исследований показал, что в готовых продуктах не наблюдалось посторонней микрофлоры. На 18 месяц хранения КМАФАнМ составляло  $(5,6 \pm 0,5) \cdot 10^4$  КОЕ/ г для низколактозной сыворотки с УД 70 % и  $(5,9 \pm 0,5) \cdot 10^4$  – для низколактозной сыворотки с УД 70 %, что превышает нормируемый показатель на  $(0,6 - 0,9)$ . БГКП не обнаружены в рекомендуемом объеме продукта в течение всего срока хранения. Количество плесеней не превышало значения, установленного в ГОСТ Р 53456-2022. Количество дрожжей для низколактозной сыворотки с УД 70 % не превышало значения, установленного в нормативном документе, а в низколактозной сыворотке с УД 70 % количестве дрожжей превысило на порядок  $(0,1 - 0,4)$ .

Таблица 5.2 – Органолептические и физико-химические показатели сухой делактозированной и низколактозной сыворотки в процессе хранения

Наименование образца	Продолжительность хранения, месяцы	Массовая доля влаги, %	Массовая доля общего белка, %	Органолептические показатели
Сухая делактозированная сыворотка	УД 70 %			
	0	3,33 ± 0,50	27,54 ± 2,07	Мелкий легкосыпучий порошок, мелкие комочки рассыпаются при легком механическом воздействии. Вкус и запах чистые, свойственные сухой сыворотке, без посторонних привкусов и запахов. Цвет кремовый, с желтым оттенком.
	1	3,45 ± 0,50	27,34 ± 1,80	
	3	3,8 ± 0,50	26,95 ± 2,15	
	6	4,2 ± 0,50	26,54 ± 2,35	
	12	4,8 ± 0,50	26,15 ± 2,50	Мелкий сыпучий порошок, единичные комочки агломерируются в крупные комочки. Вкус и запах чистые, свойственные сухой сыворотке, с незначительным затхлым запахом. Цвет кремовый, с желтым оттенком.
	18	6,1 ± 0,50	27,54 ± 2,50	
Сухая низколактозная сыворотка	УД 70 %			
	0	3,28 ± 0,35	27,82 ± 1,23	Мелкий легкосыпучий порошок, мелкие комочки рассыпаются при легком механическом воздействии. Вкус и запах чистые, свойственные сухой сыворотке, без посторонних привкусов и запахов. Цвет кремовый, с желтым оттенком.
	1	3,38 ± 0,50	27,72 ± 1,50	
	3	3,76 ± 0,50	27,34 ± 1,80	
	6	3,98 ± 0,50	27,12 ± 1,85	
	12	4,58 ± 0,50	26,52 ± 2,10	Мелкий сыпучий порошок, единичные комочки агломерируются в крупные комочки. Вкус и запах чистые, свойственные сухой сыворотке, с незначительным посторонним запахом. Цвет кремовый, с желтым оттенком.
	18	5,28 ± 0,50	25,82 ± 2,30	

Таблица 5.3 – Микробиологические показатели сухой делактозированной и низколактозной сыворотки в процессе хранения

Наименование образца	Микробиологические показатели				
	Продолжительность хранения, месяцы	КМАФАнМ, КОЕ/г	БГКП (колиформы) в 0,1 г продукта	Дрожжи, КОЕ/г	Плесени, КОЕ/г
Сухая делактозированная сыворотка	УД 70 %				
	0	$(1,2 \pm 0,2) \cdot 10^4$	не обнаружены	$(0,9 \pm 0,4) \cdot 10^1$	$(2,6 \pm 0,2) \cdot 10^1$
	1	$(2,3 \pm 0,2) \cdot 10^4$	не обнаружены	$(1,6 \pm 0,4) \cdot 10^1$	$(2,9 \pm 0,4) \cdot 10^1$
	3	$(2,9 \pm 0,2) \cdot 10^4$	не обнаружены	$(2,2 \pm 0,4) \cdot 10^1$	$(3,2 \pm 0,3) \cdot 10^1$
	6	$(3,4 \pm 0,5) \cdot 10^4$	не обнаружены	$(3,1 \pm 0,4) \cdot 10^1$	$(3,7 \pm 0,4) \cdot 10^1$
	12	$(4,2 \pm 0,5) \cdot 10^4$	не обнаружены	$(4,2 \pm 0,4) \cdot 10^1$	$(4,8 \pm 0,5) \cdot 10^1$
	18	$(5,6 \pm 0,5) \cdot 10^4$	не обнаружены	$(5,1 \pm 0,4) \cdot 10^1$	$(5,9 \pm 0,4) \cdot 10^1$
Сухая низколактозная сыворотка	УД 70 %				
	0	$(2,6 \pm 0,2) \cdot 10^4$	не обнаружены	$(0,8 \pm 0,2) \cdot 10^1$	$(1,6 \pm 0,2) \cdot 10^1$
	1	$(3,2 \pm 0,2) \cdot 10^4$	не обнаружены	$(1,4 \pm 0,4) \cdot 10^1$	$(1,9 \pm 0,4) \cdot 10^1$
	3	$(3,9 \pm 0,2) \cdot 10^4$	не обнаружены	$(2,0 \pm 0,3) \cdot 10^1$	$(2,4 \pm 0,3) \cdot 10^1$
	6	$(4,5 \pm 0,3) \cdot 10^4$	не обнаружены	$(2,8 \pm 0,4) \cdot 10^1$	$(3,1 \pm 0,4) \cdot 10^1$
	12	$(4,9 \pm 0,5) \cdot 10^4$	не обнаружены	$(3,6 \pm 0,5) \cdot 10^1$	$(3,8 \pm 0,5) \cdot 10^1$
	18	$(5,9 \pm 0,5) \cdot 10^4$	не обнаружены	$(4,6 \pm 0,4) \cdot 10^1$	$(4,9 \pm 0,4) \cdot 10^1$

На основе комплексной оценки органолептических, физико-химических и микробиологических показателей установлен срок хранения готового продукта 12 месяцев при температуре  $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$  и относительной влажности воздуха не более 80 %.

### 5.3. Оценка безопасности разработанной технологии с учетом требований НАССР

В настоящее время гарантией выпуска безопасной пищевой продукции являются разработка, внедрение и поддержание в рабочем состоянии системы управления безопасностью на основе принципов НАССР (ХАССП) (Hazard analysis and critical control points – анализ рисков и определение критических контрольных точек).

Система основана на принципах обязательного обеспечения безопасности и нацелена на предупреждение возникновения условий, способствующих появлению потенциально опасных факторов при производстве, хранении и реализации пищевой продукции.

С учетом требований НАССР в ходе технологического процесса должен осуществляться физико-химический и микробиологический контроль, а также должны контролироваться визуальные и органолептические параметры [8].

Критические контрольные точки определялись методом «дерева принятия решений». Перечень критических контрольных точек (ККТ) и контрольных точек качества (КТК) для производства сухой низколактозной сыворотки представлены в таблице 5.4.

Таблица 5.4 – Перечень критических контрольных точек и контрольных точек качества при разработке технологии сухой низколактозной сыворотки

Контрольная точка	Наименование операции технологического процесса	Наименование контрольных параметров
1	2	3
КТК 1	Приемка и оценка качества сырья	внешний вид и консистенция, цвет, вкус, запах; титруемая кислотность, плотность, группа чистоты, температура заморозки, содержание сухих веществ, массовая доля жира; КМАФАнМ, соматические клетки, БГКП, патогенные микроорганизмы (в том числе сальмонеллы, стафилококки <i>S. aureus</i> , листерии <i>L. monocytogenes</i> )

Продолжение таблицы 5.4

1	2	3
ККТ 1	Пастеризация	температура пастеризации, время выдержки, определение фосфатазы и пероксидазы; КМАФАнМ, БГКП
КТК 2	Нано-фильтрация	внешний вид и консистенция, цвет, вкус, запах; содержание сухих веществ, массовая доля истинного белка в сухих веществах; массовая доля небелкового азота в сухих веществах; массовая доля лактозы в сухих веществах; массовая доля лактатов в сухих веществах; массовая доля золы в сухих веществах; массовая доля жира в сухих веществах; степень деминерализации
КТК 3	Сгущение	внешний вид и консистенция, цвет, вкус, запах; содержание сухих веществ, массовая доля белка в сухих веществах; массовая доля лактозы в сухих веществах
КТК 4	Кристаллизация	внешний вид и консистенция, цвет, вкус, запах; содержание сухих веществ, массовая доля белка в сухих веществах; массовая доля лактозы в сухих веществах
КТК 5	Делакто-зированная сыворотка	внешний вид и консистенция, цвет, вкус, запах; содержание сухих веществ, массовая доля белка в сухих веществах; массовая доля лактозы в сухих веществах; массовая доля золы в сухих веществах; активная кислотность; КМАФАнМ, БГКП, дрожжи, плесени, патогенные микроорганизмы (в том числе сальмонеллы, стафилококки <i>S. aureus</i> )
ККТ2	Тепловая деактивация фермента	температура деактивации фермента, время выдержки; определение наличия фермента
КТК 6	Электро-диализ	внешний вид и консистенция, цвет, вкус, запах; содержание сухих веществ, массовая доля золы в сухих веществах; активная кислотность; электропроводность; уровень деминерализации
КТК 7	Сушка	внешний вид и консистенция, цвет, вкус, запах; содержание сухих веществ, массовая доля белка в сухих веществах; массовая доля лактозы в сухих веществах
КТК 8	Сыворотка низко-лактозная	внешний вид и консистенция, цвет, вкус, запах; содержание сухих веществ, массовая доля белка в сухих веществах; массовая доля лактозы в сухих веществах; массовая доля золы в сухих веществах; массовая доля жира в сухих веществах; КМАФАнМ, БГКП, дрожжи, плесени, патогенные микроорганизмы (в том числе сальмонеллы, стафилококки <i>S. aureus</i> )

Регулярное и постоянное изменение, наблюдение, оценка всех аспектов комплексной переработки молочного сырья и реализации готовой продукции позволяет гарантировать соответствие параметров заданным нормативам и критическим пределам. Мониторинг позволяет оценить безопасность выпускаемой продукции для здоровья человека [169 – 171].

#### **5.4. Экономическая эффективность производства сухой низколактозной сыворотки**

Рынок низколактозных молочных продуктов демонстрирует устойчивый рост, постепенно трансформируясь из узкоспециализированного сегмента для лиц с непереносимостью лактозы в категорию массового спроса [164]. Однако помимо хорошо известных потребителю готовых безлактозных продуктов, значительный потенциал развития кроется в секторе функциональных ингредиентов, где особая роль принадлежит делактозированной сыворотке.

Трансформация восприятия молочной сыворотки – от побочного продукта сыроделия до ценного источника белков и биологически активных компонентов [2] – создает принципиально новые возможности для переработчиков. Несмотря на значительные объемы образования сыворотки в России, уровень ее глубокой переработки остается недостаточно высоким [3]. В этой связи организация производства делактозированной сыворотки решает двуединую задачу: способствует эффективной утилизации вторичного сырья и позволяет создавать продукт с высокой добавленной стоимостью. Растущий мировой спрос на сывороточные продукты с пониженным содержанием лактозы [2, 164] подтверждает актуальность этого направления, что полностью соответствует как глобальным трендам здорового питания, так и конкретным потребностям российского рынка в качественных и доступных специализированных продуктах [5].

Таким образом, внедрение технологии получения делактозированной сыворотки обладает значительным практическим потенциалом для молокоперерабатывающих предприятий. Данный подход позволяет комплексно решить ряд стратегических задач: повысить эффективность использования сырья, освоить выпуск продуктов с высокой добавленной стоимостью и занять нишу на динамично растущем рынке специализированного питания. Для российских

производителей это приобретает особую актуальность в контексте политики импортозамещения и поиска путей повышения рентабельности производства.

Для объективной оценки экономической целесообразности был проведен сравнительный анализ. Экономический расчет производства сухой низколактозной сыворотки (вариант 2) выполнен в сопоставлении с контрольным вариантом – традиционной линией по производству концентрата сывороточных белков КСБ-35 и деминерализованного пермеата распылительной сушки (вариант 1). Все расчеты выполнены в ценах, актуальных на ноябрь 2025 года.

Расчет технико-экономических показателей разработанной технологии представлен в приложении 3. В таблице 5.5 приведена экономическая оценка производства сухой низколактозной сыворотки.

Таблица 5.5 – Экономическая оценка производства сухой низколактозной сыворотки

Показатель	Единица измерения	Вариант	
		1 (аналог)	2 (проектируемый)
Годовой объем производства	т	9900	9900
Полная себестоимость 1 т продукции, в том числе: сырье и основные материалы, заработная плата	руб.	93 116,90	88 765,90
Прибыль от реализации 1 т продукции	руб.	36483,10	38 734,10
Затраты на 1 рубль товарной продукции	руб.	0,72	0,70
Уровень рентабельности производства	%	39,18	43,64

Таким образом, оценка экономической эффективности показала рентабельность и окупаемость разработанной технологии. Дальнейшее развитие этого направления может стать перспективным вектором роста для молочной отрасли, позволяя переработчикам не только увеличивать добавленную стоимость продукции, но и укреплять свои позиции на динамично развивающемся рынке функциональных и специализированных пищевых продуктов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. На основании научно-технических и литературных данных обоснован выбор кристаллизации и ферментативного гидролиза в качестве методов направленного снижения содержания лактозы во вторичном молочном сырье, включая подсырную сыворотку.

2. Установлено, что применение диафильтрации при нанофильтрационной обработке подсырной сыворотки повышает степень удаления минеральных веществ с  $(29,56 \pm 0,35) \%$  до  $(46,0 \pm 3,5) \%$ , но не оказывает значительного влияния на эффективность кристаллизации лактозы: степень кристаллизации значимо не увеличивается и составляет  $(65,0 - 67,0) \%$ , морфология и средний размер кристаллов не изменяются.

3. Показано, что изменения компонентного состава делактозированной сыворотки при использовании промывки кристаллов лактозы лимитируются растворимостью лактозы: повышение объема промывной воды интенсифицирует переход углевода в раствор, снижая массовую долю белка в сухом остатке.

4. На основании полного двухфакторного эксперимента определены оптимальные условия промывки кристаллов лактозы: температура  $(20,0 - 30,0) ^\circ\text{C}$ , количество промывной воды  $(50 - 90) \%$  от массы сырья, которые позволяют повысить содержание белка в сухом остатке делактозированной сыворотке до  $26,0 \%$ , что в 2,5 раза превышает значение параметра в исходном сырье.

5. Установлено, что удаление одно- и двухвалентных ионов в процессе мембранной емкостной деионизации делактозированной сыворотки протекает более равномерно, чем при электродиализной обработке, однако максимальная степень деминерализации  $36,0 \%$  не позволяет использовать метод для достижения глубоких степеней деминерализации.

6. Подтверждено, что процесс электродиализа делактозированной сыворотки обеспечивает уровень деминерализации более 90,0 % при повышении массовой доле белка в сухом остатке более 28,0 %; процесс характеризуется двухстадийной кинетикой с выраженным снижением скорости на завершающей стадии.

7. Установлено, что ионный состав делактозированной сыворотки оказывает определяющее влияние на каталитическую активность  $\beta$ -галактозидазы. Наибольшая скорость гидролиза достигается при естественном для сырья соотношении одновалентных и двухвалентных катионов ( $[\text{Na}^++\text{K}^+]/[\text{Ca}^{2++}\text{Mg}^{2+}] \approx 2,12$ ). Глубокая деминерализация, смещающая баланс в сторону двухвалентных ионов, приводит к снижению ферментативной активности на (20,0 – 25,0) % относительно недеминерализованного сырья.

8. Подтверждено, что использование препарата  $\beta$ -галактозидазы K. Lactis с активностью не менее 20000 GU/мл при гидролизе лактозы в делактозированной недеминерализованной сыворотке с массовой долей сухих веществ ( $23,83 \pm 0,71$ ) в дозе 1,2 мл/л обеспечивает степень гидролиза лактозы более 80 % за 24,0 ч при температуре (8 – 10) °С, что является технологически целесообразным решением.

9. Установлено, что повышение массовой доли белка в сухом остатке делактозированной и низколактозной сыворотки до 28,0 % исключает необходимость этапа кристаллизации лактозы перед сушкой и при массовой доле сухих веществ (48,0 – 50,0) % обеспечивает вязкость сырья до 100 мПа·с при температуре подачи сырья на распылительную сушку (40,0 – 45,0) °С.

10. Разработана технология сыворотки молочной низколактозной деминерализованной сухой с учетом требований НАССР, позволяющая вырабатывать линейку сухих продуктов с разным уровнем деминерализации и степенью делактозирования. На разработанную технологию утверждена техническая документация (ТУ, ТИ 10.51.55.150-016-37676459-2025), проведены опытно-промышленные выработки. Оценка экономической эффективности показала рентабельность и окупаемость разработанной технологии.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

$\alpha$ -La	$\alpha$ -лактальбумин
$\beta$ -Lg	$\beta$ -лактоглобулин
BCAA	Незаменимые аминокислоты с разветвленной цепью
EDX	Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия
НАССР	Hazard Analysis and Critical Control Points – Анализ опасных факторов и критические контрольные точки
IDF	Международная молочная федерация
Ig	Иммуноглобулин
IGF	Инсулиноподобный фактор роста
ISO	Международная организация по стандартизации
K <sub>dw</sub>	Коэффициент диафильтрационной воды
K <sub>ww</sub>	Коэффициент воды для промывки
LF	Лактоферрин
LP	Лактопероксидаза
MFGM	Мембраны жировых глобул молока
MWCO	Отсечка по молекулярной массе
NANA	N-ацетилглюкозамин и N-ацетилнейраминовая кислота
p	Достоверность результатов
pH	Водородный показатель
ppm	Миллионная доля
T <sub>g</sub>	Температура стеклования
TGF- $\beta$	Трансформирующий фактор роста бета
АО	Акционерное общество

БГКП	Бактерии группы кишечных палочек
БГКП	Бактерии группы кишечных палочек
БПК	Биохимическая потребность кислорода
ВАК РФ	Высшая аттестационная комиссия Российской Федерации
ГМП	Гликомакропептид
ГОСТ	Международный государственный стандарт
ГОСТ Р	Национальный государственный стандарт, действующий в России
ДЛС	Делактозирванная сыворотка
ИСБ	Изолят сывороточного белка
КемГУ	Кемеровский государственный университет
КИП	Контрольно-измерительный прибор
ККТ	Критическая контрольная точка
КМАФАнМ	Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов
КОЕ	Колониеобразующая единица
КСБ	Концентрат сывороточного белка
КТК	Критическая точка качества
КФ	Класс фермента
м.д.	Массовая доля
МДЛ в СВ	Массовая доля лактозы в сухом веществе
МЕДИ	Метод мембранной емкостной деионизации
МК	Молочный комбинат
МС	Молочная сыворотка
НИИ	Научно-исследовательский институт
НФ	Наночелювтрация
ОО	Обратный осмос
ООО	Общество с ограниченной ответственностью

РФ	Российская Федерация
СВ	Сухие вещества
СГ	Степень гидролиза лактозы
СИП-мойка	Система автоматической очистки и дезинфекции технологического оборудования и трубопроводов без его разборки и ручной обработки
СК Л	Степень кристаллизации лактозы
СКФУ	Северо-Кавказский федеральный университет
ТИ	Технологическая инструкция
ТИМ	Триозофосфатизомераза
т.д.	Так далее
т.п.	Тому подобное
ТР ТС	Технический регламент Таможенного союза
ТУ	Технические условия
УД	Уровень деминерализации
УФ	Ультрафильтрация
УЭП	Удельная электропроводность
ХПК	Химическая потребность кислорода

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Современные направления глубокой переработки молочной сыворотки / Д. Н. Володин, В. К. Топалов, И. К. Куликова [и др.]. – Текст : непосредственный // Сыроделие и маслоделие. – 2025. – № 2. – С. 4–6.
2. Храмцов, А. Г. Феномен молочной сыворотки / А. Г. Храмцов. – Санкт-Петербург : Профессия, 2011. – 804 с. – Текст : непосредственный.
3. Храмцов, А. Г. Новации молочной сыворотки / А. Г. Храмцов. – Санкт-Петербург : Профессия, 2016. – 490 с. – Текст : непосредственный.
4. Лукин, А. А. Применение молочной сыворотки в технологии продуктов питания / А. А. Лукин. – Текст : непосредственный // Наука ЮУрГУ. Секции технических наук : материалы 67-й научной конференции / Южно-Уральский государственный университет. – Челябинск : Издательский центр ЮУрГУ, 2015. – Ч. 48, № 34. – С. 523–527.
5. Технология продуктов из вторичного молочного сырья / А. Г. Храмцов, С. В. Василисин, С. А. Рябцева, Т. С. Воротникова. – Санкт-Петербург : ГИОРД, 2009. – 424 с. – Текст : непосредственный.
6. Официальный сайт Федеральной службы государственной статистики. – URL: <https://rosstat.gov.ru/> (дата обращения: 17.11.2025). – Текст : электронный.
7. Review in deep processing of whey / A. A. Zhansaya, R. S. Alibekova, M. Tarapoulouzib [et al.]. – Text : direct // Food Science & Technology. – 2024. – Vol. 10, N 1. – DOI: 10.1080/23311932.2024.2415380.
8. Development of new functional fermented product: Mulberry-Whey beverage / T. S. AbdulAlim, A. F. Zayan, P. H. Campelo, A. M. Bakry. – Text : direct // Journal of Nutrition, Food Research and Technology. – 2018. – Vol. 1, N 3. – P. 64–69. – DOI: 10.30881/jnfrt.00013.
9. Пути решения импортозамещения молочной продукции. Продукты из молочной сыворотки / И. А. Евдокимов, Б. В. Чаблин, М. С. Золоторева, Д. Н.

Володин. – Текст : непосредственный // Переработка молока. – 2015. – № 3. – С. 10–14.

10. Сенкевич, Т. Молочная сыворотка: переработка и использование в агропромышленном комплексе / Т. Сенкевич, К. Л. Ридель. – Москва : Агропромиздат, 1989. – 270 с. – Текст : непосредственный.

11. The effect of whey on performance, gut health and bone morphology parameters in broiler chicks / V. Tsiouris, M. G. Kontominas, G. Filioussis [et al.]. – Text : direct // Foods. – 2020. – Vol. 9, N 5. – P. 588. – DOI: 10.3390/foods9050588.

12. Probiotics as antibiotic alternatives for human and animal applications / H. N. Rabetafika, A. Razafindralambo, B. Ebenso, H. L. Razafindralambo. – Text : direct // Encyclopedia. – 2023. – Vol. 3, N 2. – P. 561–581. – DOI: 10.3390/encyclopedia3020040.

13. Production of a potentially probiotic product for animal feed and evaluation of some of its probiotic properties / R. Agregán-Pérez, E. Alonso-González, J. C. Mejuto, N. Pérez-Guerra. – Text : direct // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22, N 18. – P. 10004. – DOI: 10.3390/ijms221810004.

14. Different effects of soy and whey on linear bone growth and growth pattern in young male Sprague-Dawley rats / M. Bar-Maisels, C. Menahem, Y. Gabet [et al.]. – Text : direct // Frontiers in Nutrition. – 2021. – Vol. 8. – P. 739607. – DOI: 10.3389/fnut.2021.739607.

15. Cassano, A. Barometric membrane technologies for plant protein purification / A. Cassano, C. Conidi. – Text : direct // Green protein processing technologies from plants: Novel extraction and purification methods for product development / ed. by A. J. Hernández-Álvarez, M. Mondor, M. G. Nosworthy. – Cham : Springer, 2023. – P. 61–87. – DOI: 10.1007/978-3-031-16968-7\_3.

16. Whey protein concentrate (WPC) production: Environmental impact assessment / J. Bacenetti, L. Bava, A. Schievano, M. Zucali. – Text : direct // Journal of Food Engineering. – 2018. – Vol. 224. – P. 139–147. – DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2017.12.018.

17. Poonia, A. Whey production status, types, characterization and functional properties / A. Poonia, V. Rao, B. Mann. – Text : direct // Whey valorization: Innovations, technological advancements and sustainable exploitation / ed. by A. Trajkovska Petkoska. – Singapore : Springer, 2023. – DOI: 10.1007/978-981-99-5459-9\_1.
18. Recent trends in developing whey products by advanced technologies / S. A. Arab, M. Kaemipoor, R. Alkhaleel, A. Mahdian. – Text : direct // Scholars Academic Journal of Biosciences. – 2023. – Vol. 11, N 2. – P. 74–79. – DOI: 10.36347/sajb.2023.v11i02.006.
19. Whey valorization-innovative strategies for sustainable development and value-added product creation / B. Soumati, M. Atmani, A. Benabderrahmane, M. Benjelloun. – Text : direct // Journal of Ecological Engineering. – 2023. – Vol. 24, N 10. – P. 86–104. – DOI: 10.12911/22998993/169505.
20. Whey filtration: A review of products, application, and pretreatment with transglutaminase enzyme / M. Rosseto, C. V. T. Rigueto, K. S. Gomes [et al.]. – Text : direct // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2024. – Vol. 104, N 6. – P. 3185–3196. – DOI: 10.1002/jsfa.13248.
21. Effects of conventional processing methods on whey proteins in production of native whey powder / K. Muuronen, R. Partanen, H.-J. Heidebrecht, U. Kulozik. – Text : direct // International Dairy Journal. – 2021. – Vol. 116. – P. 104959. – DOI: 10.1016/j.idairyj.2020.104959.
22. Kelly, P. M. Manufacture of Milk and Whey Products: Whey Powder, Demineralized Whey Powder and Delactosed Whey / P. M. Kelly. – Text : direct // Reference Module in Food Science / ed. by P. L. H. McSweeney, J. P. McNamara. – London : Academic Press, 2021. – Vol. 5. – P. 174–185. – DOI: 10.1016/B978-0-12-818766-1.00162-8.
23. Nishanthi, M. Compositional and structural properties of whey proteins of sweet, acid and salty whey concentrates and their respective spray dried powders / M. Nishanthi, J. Chandrapala, T. Vasiljevic. – Text : direct // International Dairy Journal. – 2017. – Vol. 74. – P. 49–56. – DOI: 10.1016/j.idairyj.2017.01.002.

24. Chandrajith, V. G. G. Applications of whey as a valuable ingredient in food industry / V. G. G. Chandrajith, G. A. D. V. Karunasena. – Text : direct // Dairy and Veterinary Sciences Journal. – 2018. – Vol. 6, N 5. – P. 555698. – DOI: 10.19080/JDVS.2018.06.555698.
25. Clare, D. Bioactive milk peptides: A prospectus / D. Clare, H. Swaisgood. – Text : direct // Journal of Dairy Science. – 2000. – Vol. 83, N 6. – P. 1187–1195.
26. Barba, F. J. An integrated approach for the valorization of cheese whey / F. J. Barba. – Text : direct // Foods. – 2021. – Vol. 10, N 3. – P. 564. – DOI: 10.3390/foods10030564.
27. Mohamed, N. E. Chemical and biological evaluation of whey / N. E. Mohamed, M. M. Anwar. – Text : direct // Egyptian Journal of Radiation Sciences and Applications. – 2013. – Vol. 26, N 1–2. – P. 55–71.
28. Hernández-Ledesma, B. Bioactive components of ovine and caprine cheese whey / B. Hernández-Ledesma, M. Ramos, J. Á. Gómez-Ruiz. – Text : direct // Small Ruminant Research. – 2011. – Vol. 101, Issues 1–3. – P. 196–204. – ISSN 0921-4488. – DOI: 10.1016/j.smallrumres.2011.09.040.
29. Dalal, A. Attenuation of hydrogen peroxide-mediated oxidative stress by Brassica juncea annexin-3 counteracts thiol-specific antioxidant (TSA1) deficiency in *Saccharomyces cerevisiae* / A. Dalal. – Text : direct // FEBS Letters. – 2014. – Vol. 588, N 4. – P. 584–593. – DOI: 10.1016/j.febslet.2013.12.026.
30. Oliveira, D. L. Milk oligosaccharides: A review / D. L. Oliveira. – Text : direct // International Journal of Dairy Technology. – 2015. – Vol. 68, N 3. – P. 305–321. – DOI: 10.1111/1471-0307.12209.
31. Whey protein / H. Gangurde, P. Patil, M. Chordiya, N. Baste. – Text : direct // Scholars' Research Journal. – 2011. – Vol. 1, N 2. – P. 69–77. – DOI: 10.4103/2249-5975.99663.
32. Possibilities of whey utilisation / R. Božanić, I. Barukčić, K.L. Jakopović, L. Tratnik. – Text : direct // Austin Journal of Nutrition and Food Sciences. – 2014. – Vol. 2, N 7. – P. 1040. – P. 1–7. – DOI: 10.13140/RG.2.2.36452.68489.

33. Cochachin-Carrera, B. Effects of concentration by block freezing and vacuum evaporation on the physicochemical properties and digestibility of whey / B. Cochachin-Carrera, J. Moren-Cuevas, N. Carvajal-Mena. – Text : direct // *CyTA-Journal of Food*. – 2023. – Vol. 21, N 1. – P. 313–320. – DOI: 10.1080/19476337.2023.2196321.
34. Whey protein / H. Gangurde, P.S. Patil, M. Chordiya, N.S. Baste. – Text : direct // *Scholars' Research Journal*. – 2011. – Vol. 1, N 2. – P. 69.
35. Barukčić, I. Valorisation of whey and buttermilk for production of functional beverages – An overview of current possibilities / I. Barukčić, J. K. Lisak, R. Božanić. – Text : direct // *Food Technology and Biotechnology*. – 2019. – Vol. 57, N 4. – P. 448–460. – DOI: 10.17113/ftb.57.04.19.6460.
36. Kowalik-Klimczak, A. The possibilities of using membrane filtration in the dairy industry / A. Kowalik-Klimczak. – Text : direct // *Journal of Machine onstruction and Maintenance*. – 2017. – Vol. 105, N 2. – P. 99–106.
37. Михайленко, И. Г. Мембранные технологии и переработка молочной сыворотки / И. Г. Михайленко, В. Г. Будрик. – Текст : непосредственный // *Инновационные исследования и разработки для научного обеспечения производства и хранения экологически безопасной сельскохозяйственной и пищевой продукции : сборник материалов III Международной научно-практической конференции*, Краснодар, 2019. – Краснодар : ВНИИТТИ, 2019. – Ч. 2. – С. 608–612.
38. Akpinar-Bayizit, A. Membrane processes in production of functional whey components / A. Akpinar-Bayizit, T. Ozcan, L. Yilmaz-Ersan // *Mljekarstvo*. – 2009. – Vol. 59, N 4. – P. 282–288.
39. Золоторева, М. С. Мембранные процессы в технологии переработки сыворотки / М. С. Золоторева, В. К. Топалов. – Текст : непосредственный // *Переработка молока*. – 2014. – № 5. – С. 10 – 12.
40. Mikhaylin, S. Fouling on ion-exchange membranes: Classification, characterization and strategies of prevention and control / S. Mikhaylin, L. Bazinet/ –

Text : direct // *Advances in Colloid and Interface Science*. – 2016. – Vol. 229. – P. 34–56. – DOI: 10.1016/j.cis.2015.12.006.

41. Гаврилова, Н. Б. Исследование процесса гидролиза лактозы обезжиренного молока-сырья для производства сырного продукта / Н. Б. Гаврилова, Д. С. Рябкова. – Текст : непосредственный // *Техника и технология пищевых производств*. – 2011. – № 4. – С. 1–3.

42. Misun, D. Batch and continuous hydrolysis of ovine whey proteins / D. Misun, L. Curda, P. Jelen. – Text : direct // *Small Ruminant Research*. – 2008. – Vol. 79, N 1. – P. 51–56.

43. Pereira, C. D. Valorization of by-products from ovine cheese manufacture: clarification by thermocalcic precipitation/microfiltration before ultrafiltration / C. D. Pereira, O. Diaz, A. Cobos. – Text : direct // *International Dairy Journal*. – 2002. – Vol. 12, N 9. – P. 773–783.

44. Joyce, A.M. Controlling denaturation and aggregation of whey proteins during thermal processing by modifying temperature and calcium concentration / A. M. Joyce, A. Kelly, J. O'Mahony. – Text : direct // *International Journal of Dairy Technology*. – 2018. – Vol. 71, N 2. – P. 446–453.

45. Asenjo, J. Aqueous two-phase systems for protein separation: Phase separation and applications / J. Asenjo, B. Andrews. – Text : direct // *Journal of Chromatography A*. – 2012. – Vol. 1238. – P. 1–10. – DOI: 10.1016/j.chroma.2012.03.049.

46. Glyk, A. PEG–salt aqueous two-phase systems: an attractive and versatile liquid–liquid extraction technology for the downstream processing of proteins and enzymes / A. Glyk, T. Scheper, S. Beutel. – Text : direct // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2015. – Vol. 99, N 16. – P. 6599–6616. – DOI: 10.1007/s00253-015-6779-7.

47. Aqueous two phase systems for the recovery of biomolecules – A review / S. Raja, V. R. Murty, V. Thivaharan, V. Rajasekar. – Text : direct // *Science and Technology*. – 2011. – Vol. 1, N 1. – P. 7–16. – DOI: 10.5923/j.scit.20110101.02.

48. Prazeres, A. R. Cheese whey management: a review / A. R. Prazeres, F. Carvalho, J. Rivas. – Text : direct // Journal of Environmental Management. – 2012. – Vol. 110. – P. 48–68. – DOI: 10.1016/j.jenvman.2012.05.018.
49. Su, H. Preparation of a surface molecular-imprinted adsorbent for Ni<sup>2+</sup> based on *Penicillium chrysogenum* / H. Su, Z. Wang, T. Tan. – Text : direct // Journal of Chemical Technology & Biotechnology. – 2005. – Vol. 80, N 4. – P. 439–445.
50. Short communication: biosorption of Ni<sup>2+</sup> by the surface molecular imprinting adsorbent / H. Su, Y. Zhao, J. Li, T. Tan. – Text : direct // Process Biochemistry. – 2006. – Vol. 41, N 6. – P. 1422–1426.
51. Sternberg, M. Cheese whey proteins isolated with polyacrylic acid / M. Sternberg, J. P. Chiang, N. J. Eberts. – Text : direct // Journal of Dairy Science. – 1975. – Vol. 59, N 6. – P. 1042–1050.
52. Rossa, R. One-step separation from lactose: recovery and purification of major cheese-whey proteins by hydroxyapatite – a flexible procedure suitable for small- and medium-scale preparations / R. Rossa, A. D’Elia, P. Riccio. – Text : direct // Protein Expression and Purification. – 2001. – Vol. 21, N 1. – P. 165–172.
53. Ismail, B. Basic Principles of Chromatography / B. Ismail, S.S. Nielsen. – Text : direct // Food Analysis / ed. S.S. Nielsen. – Boston, MA : Springer, 2010. – P. 473–498. – DOI: 10.1007/978-1-4419-1478-1\_27.
54. Etzel, M. R. Manufacture and use of dairy protein fractions / M. R. Etzel. – Text : direct // The Journal of Nutrition. – 2004. – Vol. 134, N 4. – P. 996S–1002S.
55. El-Sayed, M. M. H. Purification of the two major proteins from whey concentrate using a cation-exchange selective adsorption process / M. M. H. El-Sayed, H. A. Chase. – Text : direct // Biotechnology Progress. – 2010. – Vol. 26, N 1. – P. 192–199.
56. Santos, M.J. Fractionation of the major whey proteins and isolation of  $\beta$ -Lactoglobulin variants by anion exchange chromatography / M.J. Santos, J. Teixeira, L.R. Rodrigues. – Text : direct // Separation and Purification Technology. – 2012. – Vol. 90. – P. 133–139.

57. Application of ion exchanger in the separation of whey proteins and lactin from milk whey / D. Stanic, J. Radosavljevic, M. Stojadinovic, T. C. Velickovic. – Text : direct // Ion Exchange Technology II: Applications / ed. Inamuddin, M. Luqman. – Dordrecht : Springer, 2012. – P. 35–63.
58. Gerstner, J. A. Membrane chromatographic systems for high throughput protein separations / J. A. Gerstner, R. Hamilton, S. M. Cramer. – Text : direct // Journal of Chromatography A. – 1992. – Vol. 596, N 2. – P. 173–180.
59. Perfusive ion-exchange chromatographic materials with high capacity / B.C. Neuville, A. Lamprou, M. Morbidelli, M. Soos. – Text : direct // Journal of Chromatography A. – 2014. – Vol. 1374. – P. 180–188.
60. Urban, J. Polymethacrylate monolithic columns for capillary liquid chromatography / J. Urban, P. Jandera. – Text : direct // Journal of Separation Science. – 2008. – Vol. 31, N 14. – P. 2521–2540.
61. Kawai, T. Protein binding to polymer brush, based on ion-exchange, hydrophobic, and affinity interactions / T. Kawai, K. Saito, W. Lee. – Text : direct // Journal of Chromatography B. – 2003. – Vol. 790, N 1–2. – P. 131–142.
62. Affinity Membranes and Monoliths for Protein Purification / E. Lalli, J. Silva, C. Boi, G. Sarti. – Text : direct // Membranes. – 2019. – Vol. 10, N 1. – P. 1. – DOI: 10.3390/membranes10010001.
63. Isolation of bovine lactoferrin, lactoperoxidase and enzymatically prepared lactoferricin from proteolytic digestion of bovine lactoferrin using adsorptive membrane chromatography / K. Plate, S. Beutel, H. Buchholz [et al.]. – Text : direct // Journal of Chromatography A. – 2006. – Vol. 1117, N 1. – P. 81–86.
64. Voswinkel, L. Fractionation of whey proteins by means of membrane adsorption chromatography / L. Voswinkel, U. Kulozik. – Text : direct // Procedia Food Science. – 2011. – Vol. 1. – P. 900–906.
65. Fractionation of dairy based functional peptides using ion-exchange membrane adsorption chromatography and cross-flow electro membrane filtration / E. Leeb, A. Holder, T. Letzel [et al.]. – Text : direct // International Dairy Journal. – 2014. – Vol. 38, N 2. – P. 116–122.

66. Studies on the fractionation of beta-lactoglobulin from casein whey using ultrafiltration and ion-exchange membrane chromatography / S. Bhattacharjee, R. Gopal, S. Prabhakar [et al.]. – Text : direct // Journal of Membrane Science. – 2006. – Vol. 275, N 1–2. – P. 141–150. – DOI: 10.1016/j.memsci.2005.09.013.
67. A short review on process and applications of reverse osmosis / R. M. Garud, S. V. Kore, V. S. Kore, G. S. Kulkarni. – Text : direct // Universal Journal of Environmental Research & Technology. – 2011. – Vol. 1, N 3. – P. 233–238.
68. Cassa, A. Recovery of Flavonoids from Orange Press Liquor by an Integrated Membrane Process / A. Cassa, C. Conidi, R. Ruby-Figueroa. – Text : direct // Membranes. – 2014. – Vol. 4, N 3. – P. 509–524. – DOI: 10.3390/membranes4030509.
69. Membrane Technology for Energy Saving: Principles, Techniques, Applications, Challenges, and Prospects / A.I. Osman, Z. Chen, A.M. Elgarahy [et al.]. – Text : direct // Advanced Energy and Sustainability Research. – 2024. – Vol. 5, N 1. – P. 2400011. – DOI: 10.1002/aesr.202400011.
70. Component Partitioning during Microfiltration and Diafiltration of Whey Protein Concentrate in the Production of Whey Protein Isolate / T. F. Mestawet, T. C. France, P. G. J. Mulcahy, J. A. O'Mahony. – Text : direct // International Dairy Journal. – 2024. – Vol. 157. – P. 106006. – DOI: 10.1016/j.idairyj.2024.106006.
71. Шухалова, О. М. Способы переработки и последующего использования молочной сыворотки. Часть I / О. М. Шухалова, Т. А. Волкова. – Текст : непосредственный // Пищевая промышленность. – 2025. – № 8. – С. 61–65. – DOI: 10.52653/PPI.2025.8.8.019.
72. Yorgun, M. S. Performance comparison of ultrafiltration, nanofiltration and reverse osmosis on whey treatment / M. S. Yorgun, I. A. Balcioglu, O. Saygin. – Text : direct // Desalination. – 2008. – Vol. 229, N 1–3. – P. 204–216.
73. Fat removal from whey to obtain proteins and lactose / R. R. Souza, M. L. Gimenes, S. A. Costa, C. M. Müller. – Text : direct // Informacion Tecnologica. – 2008. – Vol. 19, N 3. – P. 41–50.
74. Membrane fouling during ultra- and microfiltration of whey and whey proteins at different environmental conditions: The role of aggregated whey proteins as

fouling initiators / T. Steinhauer, M. Marx, K. Bogendörfer, U. Kulozik. – Text : direct // *Journal of Membrane Science*. – 2015. – Vol. 489. – P. 20–27. – DOI: 10.1016/j.memsci.2015.04.002.

75. García, L.F. Microfiltration applied to dairy streams: removal of bacteria / L.F. García, S. Blanco, F. Rodríguez. – Text : direct // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2013. – Vol. 93, N 2. – P. 187–196.

76. Baruah, G.L. Global model for optimizing crossflow microfiltration and ultrafiltration processes: a new predictive and design tool / G.L. Baruah, A. Venkiteshwaran, G. Belfort. – Text : direct // *Biotechnology Progress*. – 2005. – Vol. 21, N 4. – P. 1013–1025. – DOI: 10.1021/bp050184r.

77. Integrating Whey Processing: Ultrafiltration, Nanofiltration, and Water Reuse from Diafiltration / V.B. Brião, J. Mossmann, B. Seguenka [et al.]. – Text : direct // *Membranes*. – 2024. – Vol. 14, N 9. – P. 191. – DOI: 10.3390/membranes14090191.

78. Microbiological Stability of Nanofiltered Permeate after Reverse Osmosis / A. Gavrish, V. Kravtsov, G. Anisimov [et al.]. – Text : direct // *Dairy Industry*. – 2025, N 2. – P. 78–83. – DOI: 10.21603/1019-8946-2025-2-36.

79. Nambiar, A. Countercurrent staged diafiltration for formulation of high value proteins / A. Nambiar, Y. Li, A.L. Zydney. – Text : direct // *Biotechnology and Bioengineering*. – 2018. – Vol. 115, N 1. – P. 139–144.

80. Nelson, B.K. A microfiltration process to maximize removal of serum proteins from skim milk before cheese making / B.K. Nelson, D.M. Barbano. – Text : direct // *Journal of Dairy Science*. – 2005. – Vol. 88, N 5. – P. 1891–1900.

81. Whey protein concentration by ultrafiltration and study of functional properties / S. Iltchenco, D. Preci, C. Bonifacino [et al.]. – Text : direct // *Ciência Rural*. – 2018. – Vol. 48, N 5. – P. e20170706.

82. Baldasso, C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration / C. Baldasso, T.C. Barros, I.C. Tessaro. – Text : direct // *Desalination*. – 2011. – Vol. 278, N 1 – 3. – P. 381–386.

83. Design and modeling of a nanocomposite system for demineralization of sweet whey / M. Rezapour, M. Esmaili, M. Mahmoudian [et al.]. – Text : direct // *Scientific Reports*. – 2025. – Vol. 15. – P. 4824. – DOI: 10.1038/s41598-025-89009-w.
84. Concentration of Milk and Whey by Membrane Technologies in Alternative Cascade Modes / P. Meyer, M. Hartinger, S. Sigler [et al.]. – Text : direct // *Food and Bioprocess Technology*. – 2017. – Vol. 10, N 4. – P. 674–686. – DOI: 10.1007/s11947-016-1848-1.
85. Potential of Membrane Separation Processes in Cheese Whey Fractionation and Separation / A. Hinkova, P. Zidova, V. Pour [et al.]. – Text : direct // *Procedia Engineering*. – 2012. – Vol. 42. – P. 1425–1440. – DOI: 10.1016/j.proeng.2012.07.536.
86. Recovery of lactose from acid whey by nanofiltration: An experimental study / M. Roselli, R. Onesti, C. Boi, S. Bandini. – Text : direct // *Separation and Purification Technology*. – 2025. – Vol. 353, Part B. – P. 128303. – DOI: 10.1016/j.seppur.2024.128303.
87. Юрова, Е. А. Деминерализованная молочная сыворотка как основное сырье для производства продуктов специализированного питания / Е. А. Юрова, Т. В. Кобзева, С. А. Фильчакова. – Текст : электронный // *Пищевая промышленность*. – 2022. – № 3. – С. 25–28. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/demineralizovannaya-molochnaya-syvorotka-kak-osnovnoe-syr'e-dlya-proizvodstva-produktov-spetsializirovanogo-pitaniya> (дата обращения: 09.12.2025).
88. Dairy wastewater treatment by membrane systems. A review / S. Velpula, K.S. Umapathy, A. Thyarla [et al.]. – Text : direct // *International Journal of Pure & Applied Bioscience*. – 2017. – Vol. 5, N 6. – P. 389–402.
89. Эффективность деминерализации молочной сыворотки: анализ методов и оптимизация их использования / Д. Н. Володин, В. К. Топалов, И. К. Куликова и др. – Текст : непосредственный // *Молочная промышленность*. – 2024. – № 4. – С. 50–55. – DOI: 10.21603/1019-8946-2024-4-6.
90. Khetsomphou, E. Feasibility and performances of an electro dialysis stack fully composed of hierarchical ion-exchange membranes for demineralization of a

complex food solution / E. Khetsomphou, M.L. Donten, L. Bazinet. – Text : direct // Journal of Industrial and Engineering Chemistry. – 2025. – In Press. – DOI: 10.1016/j.jiec.2025.05.003.

91. Bazinet, L. Electrodialytic processes: market overview, membrane phenomena, recent developments and sustainable strategies / L. Bazinet, T.R. Geoffroy. – Text : direct // Membranes. – 2020. – Vol. 10, N 9. – P. 221. – DOI: 10.3390/membranes10090221.

92. Nielsen, E.N. Improving electrodialysis separation efficiency of minerals from acid whey by nano-filtration pre-processing / E. N. Nielsen, L. H. Skibsted, S. R. Yazdi, A. Merkel, L. M. Ahrné. – Text : direct // International Journal of Dairy Technology. – 2022. – Vol. 75, N 4. – P. 820–830. – DOI: 10.1111/1471-0307.12893.

93. Гнездилова, А. И. Технологические аспекты мелассообразования при кристаллизации лактозы / А. И. Гнездилова. – Текст : непосредственный // Молочнохозяйственный вестник. – 2019. – № 4 (36). – С. 155–164.

94. Ketogenic Diet and Microbiota: Friends or Enemies? / A. Paoli, L. Mancin, A. Bianco [et al.]. – Text : direct // Genes. – 2019. – Vol. 10, N 7. – P. 534. – DOI: 10.3390/genes10070534.

95. Milk beverage base with lactose removed with ultrafiltration: Effect of fat and protein concentration on sensory and physical properties / A.J. Hernandez, T. Truong, D.M. Barbano, M.A. Drake. – Text : direct // Journal of Dairy Science. – 2024. – Vol. 107, N 1. – P. 169–183. – DOI: 10.3168/jds.2023-23715.

96. Полянский, К. К. Кристаллизация лактозы: физико-химические основы / К. К. Полянский, А. Г. Шестов. – Воронеж : Изд-во Воронежского университета, 1995. – 184 с. – Текст : непосредственный.

97. Патент № 2658441 Российская Федерация, МПК А23С 21/02, С13В 30/02. Способ получения молочного сахара с поточной кристаллизацией лактозы : № 2017146544/10 : заявл. 27.12.2017 : опубл. 21.06.2018 / Евдокимов И. А., Шрамко М. И., Анисимов Г. С., Храмцов А.Г., Рябцева С. А., Куликова И. К., Кравцов В. А., Метель В. С.; патентообладатель Молочный комбинат «Ставропольский». – Бюл. № 17. – 8 с. – Текст : непосредственный.

98. Червецов, В. В. Теоретические и практические аспекты интенсификации процесса кристаллизации при производстве молочной продукции : специальность 05.18.12 «Процессы и аппараты пищевых производств» : диссертация на соискание ученой степени доктора технических наук / Червецов Виктор Владимирович. – Москва, 2012. – 323 с. – Текст : непосредственный.

99. Lactose crystallization: Integrating machine learning with process analytical technologies / Y.J. Cha, A. Mittal, F.J.J. Lee [et al.]. – Text : direct // Food and Bioproducts Processing. – 2025. – Vol. 151. – P. 64–72. – DOI: 10.1016/j.fbp.2025.02.008.

100. Сравнительное исследование гранулометрического состава затравочных материалов, используемых при кристаллизации лактозы / И. А. Евдокимов, И. К. Куликова, А. С. Гридин и др. – Текст : непосредственный // Современная наука и инновации. – 2025. – № 1. – С. 82–89. – DOI: 10.37493/2307-910X.2025.1.7.

101. Виноградова, Ю. В. Теоретические и практические аспекты процесса кристаллизация лактозы в производстве сгущенных молочных консервов с сахаром / Ю. В. Виноградова, А. И. Гнездилова. – Текст : электронный // Молочно-хозяйственный вестник. – 2018. – № 3 (31). – С. 147–157. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/teoreticheskie-i-prakticheskie-aspekty-protsessy-kristallizatsiya-laktozy-v-proizvodstve-sguschennyh-molochnyh-konservov-s-saharom> (дата обращения: 10.10.2025).

102. Гридин, А. С. Разработка технологии низкогигроскопичного сывороточного пермеата распылительной сушки : специальность 4.3.3. «Пищевые системы» : диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук / Гридин Александр Сергеевич. – Ставрополь, 2024. – 179 с. – Текст : непосредственный.

103. Designing a lactose crystallization process based on dynamic metastable limit / S.Y. Wong, R.K. Bund, R.K. Connelly, R.W. Hartel. – Text : direct // Journal of

Food Engineering. – 2012. – Vol. 111, N 4. – P. 642–654. – DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2012.03.003.

104. Harper, W.J. Lactose and Lactose Derivatives / W.J. Harper. – Text : direct // Whey and Lactose Processing / ed. J.G. Zadow. – Dordrecht : Springer, 1992. – P. 317–360. – DOI: 10.1007/978-94-011-2894-0\_9.

105. Pandalaneni, K. Evaluating the crystallization of lactose at different cooling rates from milk and whey permeates in terms of crystal yield and purity / K. Pandalaneni, J.K. Amamcharla. – Text : direct // Journal of Dairy Science. – 2018. – Vol. 101, N 10. – P. 8805–8821. – DOI: 10.3168/jds.2018-14846.

106. Шохалов, В. А. Совершенствование процесса кристаллизации лактозы в производстве молочного сахара / В. А. Шохалов, А. И. Гнездилова, В. Н. Шохалова. – Текст : непосредственный // Молочная промышленность. – 2024. – № 2. – С. 48–52. – DOI: 10.21603/1019-8946-2024-2-7.

107. Encyclopedia of Dairy Sciences / ed. P.L.H. McSweeney, J.P. McNamara. – 3rd ed. – Vol. 1. – United States: Academic Press, 2021. – 800 p. – Text : direct.

108. Patent N 3615664 United States, IPC A23C 21/00. Treatment of Whey : N US 3615664 A : filed 04.12.1969 : publ. 26.10.1971 / Francis Leo H.; applicant and patentee Francis Leo H. – Text : direct.

109. Славоросова, Е. В. Разработка кристаллизатора-выпаривателя для переработки НФ-концентрата молочной сыворотки: 05.18.12 «Процессы и аппараты пищевых производств»: диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук / Славоросова Елена Викторовна. – Вологда, 2021. – 194 с. – Текст : непосредственный.

110. А. с. 976929 СССР, МПК А23С 21/02. Способ производства молочной сыворотки с гидролизованной лактозой : № 2891192/28-13 : заявл. 06.03.1980 : опубл. 06.03.1982 / Храмцов А. Г., Василисина В. В., Чеботарева Н. Г., Тихомирова А.С., Куликова А. К. ; заявитель Северо-Кавказский филиал ВНИИМП ; Воронежский технологический ин-т ; Ин-т биохимии им. А. Н. Баха АН СССР. – Бюл. № 9. – 4 с. – Текст : непосредственный.

111. Патент № 2353657 Российская Федерация, МПК C13K 5/00, A23C 21/00. Способ получения низколактозной молочной сыворотки : № 2007123260/13 : заявл. 20.06.2007 : опубл. 27.04.2009 / Храмцов А. Г., Евдокимов И. А., Топалов В. К., Куликова И. К. ; патентообладатель Ставропольский государственный аграрный ун-т. – Бюл. № 12. – 7 с. – Текст : непосредственный.

112. Патент 2495595 Российская Федерация, МПК A23L 1/06. Способ производства сывороточного напитка : № 2012141899/10 : заявл. 02.10.2012 : опубл. 20.10.2013 / Володин Д. Н., Топалов В. К., Куликова И. К., Хазов Д. С. ; патентообладатель Ставропольский государственный аграрный ун-т. – Бюл. № 29. – 6 с. – Текст : непосредственный.

113. Czyzewska, K. Encapsulated NOLATM Fit 5500 Lactase—An economically beneficial way to obtain lactose-free milk at low temperature / A. Czyzewska, A. Trusek. – Text : direct // Catalysts. – 2021. – Vol. 11. – Iss. 4. – P. 527. – DOI: 10.3390/catal11040527.

114. ГОСТ 29246-91. Консервы молочные сухие. Методы определения влаги = Dry canned milk. Methods for determination of moisture : межгосударственный стандарт : издание официальное : дата введения 1993-07-01. – Москва : Стандартиформ, 2009. – 5 с. – Текст : непосредственный.

115. ГОСТ 34454-2018. Продукция молочная. Определение массовой доли белка методом Кьельдаля = Dairy products. Determination of protein content by the Kjeldahl method : межгосударственный стандарт : принят Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 августа 2018 г. N 111-П) : дата введения 2019-07-01. / подготовлен Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности. – Москва : Стандартиформ, 2018. – 12 с. – Текст : непосредственный.

116. ГОСТ 33567-2015. Сахар молочный. Технические условия : межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 08 декабря 2015 г. № 2117-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33567–2015: введен в действие в

качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2016 г. : введен впервые : дата введения 2016-07-01. – Москва : Стандартинформ, 2015. – 22 с. – Текст : непосредственный.

117. ГОСТ 29248-91. Консервы молочные. Йодометрический метод определения сахаров = Canned milk. Iodometric method for determination of sugar : межгосударственный стандарт : утвержден и введен в действие Постановлением Комитета стандартизации и метрологии СССР от 29.12.91 N 2331 : дата введения 1993-07-01 / разработан и внесен ТК по стандартизации 186 «Молоко и молочные продукты». – Москва : Стандартинформ, 1991. – 7 с. – Текст : непосредственный.

118. ГОСТ 5867-90. Молоко и молочные продукты. Методы определения жира = Milk and dairy products. Method of determination of fat : межгосударственный стандарт : утвержден и введен в действие Постановлением Государственного комитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 26.07.90 № 2293 : дата введения 1991-07-01 / разработан и внесен Всесоюзным научно-исследовательским и конструкторским институтом молочной промышленности ; Научно-производственным объединением маслодельной и сыродельной промышленности «Углич» ; Союзным научно-исследовательским институтом приборостроения. – Москва : Стандартинформ, 1990. – 13 с. – Текст : непосредственный.

119. ГОСТ 30626-98. Продукты молочные сухие для детского питания. Общие технические условия = Dry milk products for infant feeding. General specifications : межгосударственный стандарт : принят Межгосударственным Советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол N 14-98 от 12 ноября 1998 года) : дата введения 2000-10-01 / разработан Межгосударственным Техническим комитетом по стандартизации МТК 186 «Молоко и молочные продукты», Научно-исследовательским институтом детского питания Российской академии сельскохозяйственных наук. – Москва : Стандартинформ, 1998. – 8 с. – Текст : непосредственный.

120. ГОСТ 3624-92. Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности = Milk and milk products. Titrimetric methods of

acidity determination : межгосударственный стандарт : утвержден и введен в действие Постановлением Комитета стандартизации и метрологии СССР от 12.02.92 № 145 : дата введения 1994-01-01 / разработчики: Гераймович О. А., Фетисов Е. А., Парамонова Р. В., Панов В. П., Еремина В. И., Васильева Н. В. – Москва : Стандартинформ, 2009. – 8 с. – Текст : непосредственный.

121. ГОСТ 32892-2014. Молоко и молочная продукция. Метод измерения активной кислотности (рН) = Milk and dairy products. Method of pH determination : межгосударственный стандарт : принят Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол N 68-П от 30 июля 2014 г.) : введен впервые : дата введения 2016-01-01. / подготовлен Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом маслоделия и сыроделия Российской академии сельскохозяйственных наук (ВНИИМС Россельхозакадемии). – Москва : Стандартинформ, 2015. – 14 с. – Текст : непосредственный.

122. ГОСТ 10444.15-94. Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов = Food products. Methods for determination of quantity of mesophilic aerobes and facultative anaerobes : межгосударственный стандарт : принят Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол N 6 от 21 октября 1994 г.) : дата введения 1996-01-01 / разработан Всероссийским научно-исследовательским институтом консервной и овощесушильной промышленности (ВНИИКОП) и Техническим комитетом по стандартизации ТК 93 «Продукты переработки плодов и овощей». – Москва : Стандартинформ, 2009. – 8 с. – Текст : непосредственный.

123. ГОСТ 31747-2012. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий) = Food products. Methods for detection and quantity determination of coliforms : принят Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 1 октября 2012 г. N 51) : введен впервые : дата введения 2014-01-01 / подготовлен Всероссийским научно-исследовательским

институтом консервной и овощесушильной промышленности (ВНИИКОП). – Москва : Стандартинформ, 2010. – 7 с. – Текст : непосредственный.

124. ГОСТ 33566-2013. Молоко и молочная продукция. Определение дрожжей и плесневых грибов = Milk and dairy products. Determination of yeast and mould : принят Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 12 ноября 2015 г. N 82-П) : введен впервые : дата введения 2015-01-01 / разработан Всероссийским научно-исследовательским институтом маслоделия и сыроделия (ВНИИМС), Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности (ВНИМИ). – Москва : Стандартинформ, 2016. – 16 с. – Текст : непосредственный.

125. ГОСТ Р 53456-2022. Концентраты сывороточных белков сухие. Технические условия = Whey protein concentrates. Specifications : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 15 сентября 2022 г. N 937-ст : введен впервые : дата введения 2023-01-01 / разработан Всероссийским научно-исследовательским институтом маслоделия и сыроделия – филиалом Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН (ВНИИМС – филиал ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН). – Москва : Стандартинформ, 2022. – 10 с. – Текст : непосредственный.

126. Parween, R. Elemental analysis of cow's milk applying SEM-EDX spectroscopy technique / R. Parween. – Text : direct // FUUAST J. Biol. – 2016. – Vol. 6, N 2. – С. 161–164.

127. Determining the effect of nanofiltration on the nutritional and biological value of whey / I. Puryhin, Y. Nazarenko, T. Synenko [et al.]. – Text : direct // Eastern-European Journal of Enterprise Technologies. – 2025. – Vol. 5, N 11 (143). – P. 71–78. – DOI: 10.15587/1729-4061.2025.339914.

128. Integrating Whey Processing: Ultrafiltration, Nanofiltration, and Water Reuse from Diafiltration / V. B. Brião, J. Mossmann, B. Seguenka [et al.]. – Text : direct // Membranes. – 2024. – Vol. 14, N 9. – P. 191. – DOI: 10.3390/membranes14090191.

129. Pan, K. A study of demineralization of whey by nanofiltration membrane / K. Pan. – Text : direct // *Desalination*. – 2011. – Vol. 267, N 2–3. – P. 217–221.

130. Recovery of lactose from acid whey by nanofiltration: An experimental study / M. Roselli, R. Onesti, C. Boi, S. Bandini. – Text : direct // *Separation and Purification Technology*. – 2025. – Vol. 353. – P. 128303. – DOI: 10.1016/j.seppur.2024.128303.

131. A study of demineralization of whey by nanofiltration membrane / K. Pan, Q. Song, L. Wang, B. Cao. – Text : direct // *Desalination*. – 2011. – Vol. 267, N 2. – P. 217–221. – DOI: 10.1016/j.desal.2010.09.029.

132. Cooling crystallization of lactose in the presence of whey protein and lactic acid impurities / C. Darmali, S. Mansouri, N. Yazdanpanah, M. W. Woo. – Text : direct // *Journal of Food Engineering*. – 2021. – Vol. 311. – P. 110729. – DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2021.110729.

133. Crystallization of Lactose–Protein Solutions in the Presence of Flavonoids / Y. I. Sánchez-García, N. Gutiérrez-Méndez, L. L. Landeros-Martínez [et al.]. – Text : direct // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2022. – Vol. 70, N 8. – P. 2684–2694. – DOI: 10.1021/acs.jafc.1c05315.

134. Interactions between Lactose-Proteins-Minerals in Dairy Systems / Y. Zhao, J. Saxena, T. Truong, J. Chandrapala. – Text : electronic // *A Review*. – IntechOpen, 2024. – 13 September. – DOI: 10.5772/intechopen.1006359. – URL: <https://www.intechopen.com/online-first/interactions-between-lactose-proteins-minerals-in-dairy-systems-a-review> (дата обращения: 15.10.2024).

135. Goulart, D. Principles of lactose crystallization and rheology of milk protein concentrate / D. Goulart. – Text : direct // *Research Society and Development*. – 2021. – Vol. 10, N 15. – P. 1–21. – DOI: 10.33448/rsd-v10i15.23028.

136. Патент № 0835609 A1 Европейский патент, МПК A23C9/144, A23C9/146, B01D61/48. Способ деминерализации сладкой сыворотки и его использование = Procédé de déminéralisation de lactosérum doux de fromagerie et ses utilisations : № EP97202935 : заявл. 15.09.1997 : опубл. 15.04.1998. / M. Cheveron,

R. Verrocal ; патентообладатель Société des Produits Nestlé S.A. – Бюл. № 1998/15. – 11 с. – Текст : непосредственный.

137. Патент 2874951 A1 Европейский патент, МПК C02F1/469. Способ очистки воды с использованием емкостной деионизации = A method for purification of water using capacitive deionisation : заявл. 10.06.2013 : опублик. 26.05.2015 / Гхош С., Венкатарагхаван Р., Анирудх А., Джониан А. Т. – Бюл. № 2015/21. – Текст : непосредственный.

138. Вольфкович, Ю. М. Емкостная деионизация воды (обзор) / Ю. М. Вольфкович. – Текст : непосредственный // Электрохимия. – 2020. – Т. 56, № 1. – С. 20–55. – DOI: 10.31857/S0424857020010090.

139. Bazinet, L. Effect of demineralization on whey acidity and flavor profile / L. Bazinet. – Text : direct // Food Res Int. – 2023.

140. Блиадзе, В. Г. Сравнительная оценка ферментных препаратов  $\beta$ -галактозидаз / В. Г. Блиадзе, Ю. И. Крысанова, Д. Н. Калугина. – Текст : непосредственный // Пищевая промышленность. – 2023. – № 8. – С. 101-106.

141. A Review on the Various Sources of  $\beta$ -Galactosidase and Its Lactose Hydrolysis Property / P. Kalathinathan, A. Sain, K. Pulicherla, G. K. Muthukaliannan. – Text : direct // Current Microbiology. – 2023. – Vol. 80, Iss. 4. – P. N 122. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03220-4>.

142. Sources of  $\beta$ -galactosidase and its applications in food industry / S. Saqib, A. Akram, S. A. Halim et al. – Text : direct // 3 Biotech. – 2017. – Vol. 7, N 1. – P. 79. – DOI: 10.1007/s13205-017-0645-5.

143. Shafi, A. Structural and functional insights of  $\beta$ -galactosidase and its potential applications / A. Shafi, Q. Husain. – Text : electronic // Glycoside Hydrolases. – Academic Press. – 2023. – P. 323–347. – DOI: 10.1016/B978-0-323-91805-3.00017-4. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323918053000174> (дата обращения: 15.10.2023).

144.  $\beta$ -Galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: Characterization, production, immobilization and applications. A review / T. L. Albuquerque, M. de Sousa, N. C. G. e Silva et al. – Text : direct // International Journal of Biological

Macromolecules. – 2021. – Vol. 191. – P. 881–898. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.133>.

145. Рябцева, С. А. Особенности получения галактоолигосахаридов с использованием дрожжей *Kluuveromyces* / С. А. Рябцева, М. А. Шпак, С. Н. Сазанова. – Текст : непосредственный // Техника и технология пищевых производств. – 2025. – Т. 55, № 3. – С. 581–606. – URL: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2590> (дата обращения: 15.10.2023).

146. Király M. Advances in  $\beta$ -Galactosidase Research: A Systematic Review from Molecular Mechanisms to Enzyme Delivery Systems / M. Király, Á. T. Barna, N. Kállai-Szabó, B. D. Kiss, I. Antal, K. Ludányi. – Text : electronic // *Pharmaceutics*. – 2025. – Vol. 17, no. 12. – P. 1538. – DOI: [10.3390/pharmaceutics17121538](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17121538). – PMID: 41471052. – PMCID: PMC12736528. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17121538> (дата обращения: 17.01.2026).

147. Effect of process parameters on the  $\beta$ -galactosidase hydrolysis of lactose and galactooligosaccharide formation in concentrated skim milk / P. Singh, S. Arora, P. S. Rao et al. – Text : direct // *Food Chemistry*. – 2022. – Vol. 393. – P. 133355. – DOI: [10.1016/j.foodchem.2022.133355](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133355).

148. Conventional and non-conventional applications of  $\beta$ -galactosidases / C. Vera, C. Guerrero, C. Aburto et al. – Text : direct // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. – 2020. – Vol. 1868, Iss. 1. – P. 140271.

149. Majore, K. The comparison of commercially available  $\beta$ -galactosidases for dairy industry: review / K. Majore, I. Ciprovica. – Text : direct // *Rural Development Research*. – 2017. – Vol. 23. – P. 32-37. – DOI: [10.22616/rrd.23.2017.032](https://doi.org/10.22616/rrd.23.2017.032).

150. Сравнение свойств промышленных талактозидаз для гидролиза лактозы в молочном сырье / А. В. Карасева, И. К. Куликова, Г. С. Анисимов, Г. В. Слюсарев. – Текст : непосредственный // Вестник Северо-Кавказского федерального университета. – 2017. – № 3. – С. 17–23.

151. Патент № 2515096 Российская Федерация, МПК В01D 61/42. Способ регулирования кислотности сыворотки в процессе электродиализа : № 2012145182/10 : заявл. 24.10.2012 : опубл. 10.05.2014 / Донских А. Н. и др.;

патентообладатель Инновационные пищевые технологии. – Бюл. № 13. – Текст : непосредственный.

152. Popescu, L. Effect of Temperature, pH and Amount of Enzyme Used in the Lactose Hydrolysis of Milk / L. Popescu, V. Bulgaru, R. Siminiuc. – Text : direct // Food and Nutrition Sciences. – 2021. – Vol. 12. – P. 1243-1254. – DOI: <https://doi.org/10.4236/fns.2021.1212091>.

153. Эрешова, В. Д. Разработка технологии низколактозного мороженого : 05.18.04 «Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук / Эрешова Вероника Джораевна ; Северо-Кавказский государственный технический ун-т. – Ставрополь, 2011. – 25 с. – Текст : непосредственный.

154. Ферментативный гидролиз как перспективный метод переработки лактозосодержащего сырья / А. Г. Храмцов, А.Д. Лодыгин, Н. А. Перевышина, Э. М. Иорданян. – Текст : непосредственный // Вестник Северо-Кавказского федерального университета. – 2013. – № 2. – С. 105–108.

155. Технологические и методические аспекты производства низко- и безлактозных молочных продуктов / Ю. В. Никитина, Е. В. Топникова, О. В. Лепилкина, О. Г. Кашникова. – Текст : непосредственный // Пищевые системы. – 2021. – Т. 4, № 2. – С. 144–153. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-4-2-144-153>; <https://www.elibrary.ru/dayuyn>.

156. Sutay Kocabaş, D. Hydrolytic enzymes in the dairy industry: Applications, market and future perspectives / D. Sutay Kocabaş, J. Lyne, Z. Ustunol . – Text : direct // Trends in Food Science & Technology. – 2022. – Vol. 119. – P. 467–475. ISSN 0924-2244. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.12.013.

157. Demirhan, E. Effect of impeller speed and viscosity on whey lactose hydrolysis and  $\beta$ -galactosidase stability / E. Demirhan, D. K. Apar, B. Özbek. – Text : direct // Chemical Engineering Communications. – 2007. – Vol. 194, N 8. – P. 1078–1093. – DOI: 10.1080/00986440701293298.

158. Schuck P. Dairy powders / P. Schuck. – Text : direct // Handbook of Food Powders / ed. by B. Bhandari, N. Bansal, M. Zhang, P. Schuck. – 2nd ed. – Duxford, UK : Elsevier, 2024. – P. 357–374. – DOI: 10.1016/B978-0-323-98820-9.00072-7.

159. Physico-chemical aspects of lactose hydrolysed milk system along with detection and mitigation of maillard reaction products / P. Singh, P. S. Rao, V. Sharma, S. Arora. – Text : direct // Trends in Food Science & Technology. – 2021. – Vol. 107. – P. 57-67. – DOI: 10.1016/j.tifs.2020.11.030.

160. Huppertz, T. Lactose in dairy ingredients: Effect on processing and storage stability / T. Huppertz, I. Gazi. – Text : direct // Journal of Dairy Science. – 2016. – Vol. 99, N 1. – P. 6843–6851. – DOI: 10.3168/jds.2015-10033.

161. Crystal size, a key character of lactose crystallization affecting microstructure, surface chemistry and reconstitution of milk powder / X. Qi, K. G. Malmos, van den F. W. J. Berg [et al.]. – Text : direct // Food Research International. – 2024. – Vol. 177. – P. 113872. – DOI: 10.1016/j.foodres.2023.113872.

162. Varnier K. Aqueous viscosity of carbohydrates: Experimental data, activity coefficient modeling, and prediction with artificial neural network-molecular descriptors / K. Varnier. – Text : direct // Journal of Molecular Liquids. – 2021. – Vol. 322. – P. 114932.

163. Investigation of breakage behavior and its effects on spray-dried agglomerated whey protein-lactose powders: Effect of protein and lactose contents / J. Han, J. Fitzpatrick, K. Cronin [et al.]. – Text : direct // Journal of Dairy Science. – 2022. – Vol. 105, N 11. – P. 8750–8764. – DOI: 10.3168/jds.2021-21452.

164. Барыкина, Е. С. Технология производства сывороточного протеина / Е. С. Барыкина, О. П. Неверова. – Текст : электронный // Журнал биологических наук и сельского хозяйства. – 2025. – № 5. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/tehnologiya-proizvodstva-syvorotochnogo-proteina> (дата обращения: 06.12.2025).

165. Структурно-механические свойства консервированного молочного продукта с сахаром на основе концентрата сывороточных белков / А. И. Гнездилова, Ю. В. Виноградова, Т. Ю. Бурмагина, А. В. Музыкантова. –

Текст : электронный // Пищевая промышленность. – 2019. – № 3. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/strukturno-mehanicheskie-svoystva-konservirovannogo-molochnogo-produkta-s-saharom-na-osnove-kontsentrata-syvorotochnyh-belkov> (дата обращения: 09.12.2025).

166. ГОСТ Р 8.894-2015. Государственная система обеспечения единства измерений. Молоко и молочные продукты. Инфракрасный термогравиметрический метод определения массовой доли влаги и сухого вещества. – Введ. 2016-07-01. – Москва : Стандартинформ, 2016. – IV, 12 с.

167. ГОСТ 35005-2023. Сыворотка молочная деминерализованная. Технические условия = Demineralized dairy whey. Specifications : межгосударственный стандарт : издание официальное : принят Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 сентября 2023 г. N 165-П) : введен впервые : дата введения 2025-01-01 / разработан Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности (ВНИМИ), Северо-Кавказским федеральным университетом (Северо-Кавказский федеральный университет). – Москва : Стандартинформ, 2023. – 26 с. – Текст : непосредственный.

168. ГОСТ Р 51074-2003. Продукты пищевые. Информация для потребителя. Общие требования = Food products. Information for consumer. General requirements : национальный стандарт Российской Федерации : утвержден и введен в действие Постановлением Госстандарта России от 29 декабря 2003 г. № 401-ст : издание официальное : введен впервые : дата введения 2005-01-01 / разработан Всероссийским научно-исследовательским центром стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ (ВНИЦСМВ). – Москва : Стандартинформ, 2006. – 25 с. – Текст : непосредственный.

169. Круглов, К. С. ХАССП. Практическое руководство по внедрению / К. С. Круглов. – Санкт-Петербург : Речь, 2023. – 286 с. – (Библиотека технолога и менеджера). – Текст : непосредственный.

170. Маюрникова, Л. А. ХАССП на предприятиях общественного питания : учебное пособие для вузов / Л. А. Маюрникова, Г. А. Губаненко, А. А. Кокшаров. – Санкт-Петербург : Лань, 2025. – 196 с. – Текст : непосредственный .

171. ГОСТ Р 51705.1-2024. Системы менеджмента качества. Управление качеством и безопасностью пищевых продуктов на основе принципов ХАССП. Общие требования = Quality management systems. Food products quality and safety management on HACCP principles. General requirements : национальный стандарт Российской Федерации : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 апреля 2024 г. № 564-ст : дата введения 2024-11-01 / разработан ВНИИСЕРТ. – Москва : Институт стандартизации, 2024. – 20 с. – Текст : непосредственный.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### Приложение А. Техническая характеристика препарата **Biolactase L20**

**Наименование продукта: Biolactase L20**

**Код продукта: 5B06976**

**Производитель: Kerry Bio-Science**

#### Общее описание

**Biolactase L20** это фермент лактаза, полученный путем ферментации штаммов *Kluyveromyces lactis*.

Лактаза ( $\beta$ -D-галактозидаза) расщепляет лактозу на составляющие моносахариды, глюкозу и галактозу. Эти моносахара относительно сладкие (примерно на 80 % в сравнении с сахарозой) и в 3 – 4 раза лучше растворимы, чем лактоза сама по себе.

#### Область применения

Производство молока и молочных продуктов с пониженным содержанием лактозы для людей не усваивающих лактозу.

**Молочные напитки:** При производстве ароматизированных молочных напитков произведенных с применением лактазы, добавление сахара можно снизить без снижения эффекта сладости. Количество ароматизатора также может быть снижено.

**Сгущенное молоко:** Применение лактазы помогает избежать кристаллизации молочного сахара в процессе хранения и таким образом снизить риск загустения продукта вызванного коагуляцией казеина на кристаллах лактозы.

**Ферментированные молочные продукты:** Обычно, молоко гидролизованное **Biolactase L20** сквашивается быстрее, чем молоко, не обработанное ферментным препаратом. При производстве творога, сметаны, йогурта и т.д. период от момента внесения закваски до момента достижения необходимого уровня pH в молоке, обработанном **Biolactase L20**, сокращается. К тому же йогурт получается более сладким. При производстве йогурта с фруктами

количество подсластителя может быть снижено, что приведет к снижению калорийности продуктов.

**Мороженое:** Обработка смеси для производства мороженого **Biolactase L20**, препятствует кристаллизации лактозы. Это позволяет избежать песчанистой консистенции в готовом продукте даже при увеличении сывороточного порошка. Также обработка смеси ферментным препаратом способствует увеличению сливочного вкуса в готовом продукте.

**Обработка сыворотки:** После обработки **Biolactase L20** сыворотка может быть очищена и концентрирована до состояния сиропа для использования в различных пищевых продуктах. Без очищения сиропы хорошо подходят для корма скота. **Biolactase L20** можно использовать, как при производстве отдельных партий товара, так и постоянно.

### Использование

**Biolactase L20** применяется для конверсии лактозы в молоке.

Дозировка зависит от желаемой степени гидролиза, температуры и pH молока, времени реакции и типа молока/субстрата. Для предотвращения нежелательного роста микроорганизмов рекомендуется обработать молоко при  $t$  6 – 10 °C в течение 12 – 24 часов. Как альтернатива, может применяться обработка при  $t$  37 °C в течение 6 часов, несмотря на то, что этот способ менее обычен.

#### *При температуре $t$ 6°C*

-80 % гидролиз может быть получен при типичной дозировке 0,07 – 0,12 % в течение 24 часов

-100 % гидролиз может быть получен при типичной дозировке 0,18 – 0,24 % в течение 24 часов

#### *При температуре $t$ 37°C*

-80 % гидролиз может быть получен при типичной дозировке 0,07 – 0,09 % в течение 6 часов

-100 % гидролиз может быть получен при типичной дозировке 0,14 – 0,17 % в течение 6 часов

Для подбора дозировки в случае особого применения, необходимо выполнить ряд испытаний.

### **Спецификация**

**Внешний вид** Biolactase L20 светло-коричневый жидкий ферментный препарат.

**Состав** лактаза, полученная ферментацией штаммов *Kluyveromyces lactis*.

**Технические данные** активность лактазы минимально 20,000 GU/мл, продукт имеет кошерный, халалный сертификаты

**Правовой статус Biolactase L20** отвечает требованиям для пищевых ферментов, обозначенным FCC/JECFA. Необходимо также проконсультироваться с местным законодательством по пищевым продуктам в отношении особых применений и необходимого декларирования. Закон может меняться от страны к стране.

**Упаковка и хранение Biolactase L20** поставляется в 25 килограммовых пластиковых бочках. Как правило, при транспортировке охлаждения не требуется, но при длительном хранении необходимо поддерживать температуру не выше 10°C. Хранение продукта при более низких температурах позволяет сохранить 95% активности ферментного препарата, как минимум в течение 18 месяцев. По истечении этого срока рекомендуется проводить переоценку.

**Меры предосторожности** Продукт не горюч, полностью смешивается с водой и безопасен при использовании согласно инструкции. Пары фермента могут вызывать аллергию при вдыхании. В случае попадания в глаза или на кожу следует обильно промыть водой.

### **Температурный профиль**

Оптимальная температура для **Biolactase L20**  $t$  37 °C. При использовании препарата выше указанной температуры, продукт становится нестабильным и быстро теряет активность. Поэтому рекомендуется использовать **Biolactase L20** при  $t$  не выше 37 °C.

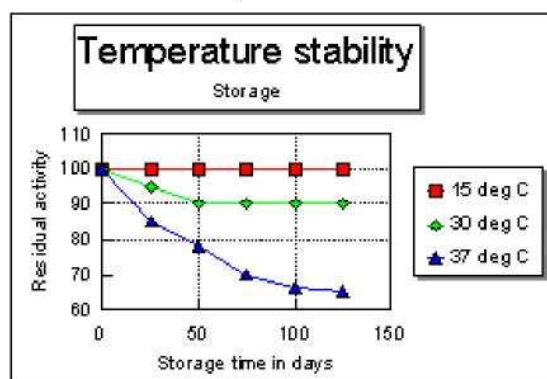
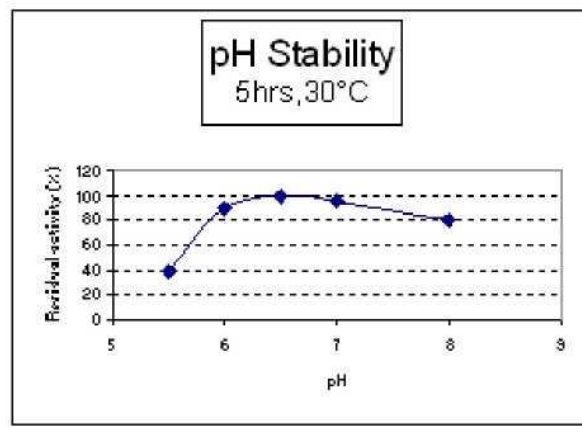
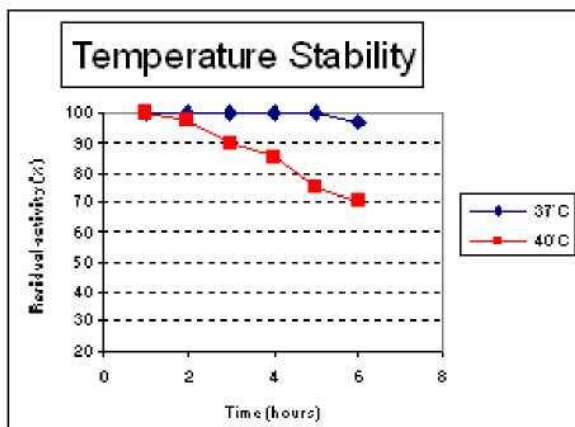
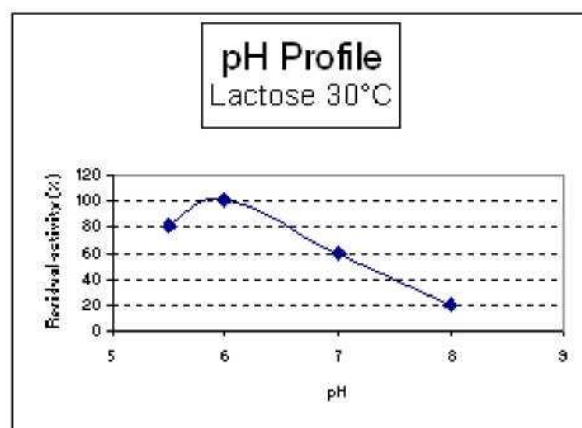
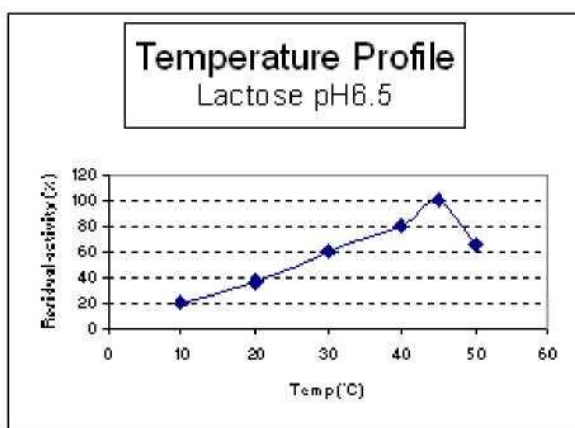
### **pH профиль**

Необходимая степень гидролиза может быть получена путем выбора дозы внесения ферментного препарата, времени реакции и температуры, но pH должен оставаться в пределах от 6 до 7.

Оптимальный pH для **Biolactase L20** – 6,0.

Product Data Sheet Biolactase L20 (5B06976)

Профили активности **Biolactase L20**



## Приложение Б. Техническая характеристика препарата Майалакт 5000



# MAYASAN®

Gıda Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi

### Майалакт® 5000 применение для сыворотки

Сыворотка, концентрат сывороточного белка и сывороточный белок для потребления человеком.

В результате частичного гидролиза лактозы увеличивается сладость готового продукта и растворимость сахаров. В зависимости от концентрации смесь глюкозы и галактозы на 65-80% сладше сахаров.

При непрерывном гидролизе сыворотки или сывороточного пермеата может образовываться концентрированный сироп, содержащий до 75% сухого вещества, что делает возможным его хранение в жидком состоянии.

Микробиологически устойчивый сироп, содержащий до 75% твердых веществ, может быть приготовлен и применяется для различных целей.

Гидролизованная сыворотка может заменить и сахарозу, и молоко.

При использовании **Майалакт® 5000** необходимая дозировка зависит от температуры, pH, имеющегося времени и требуемой степени гидролиза.

**Майалакт® 5000** активен при более низких температурах, даже вплоть до 5°C.

Это свойство является особенно важным, так как рост бактерий, вызывающий порчу, при такой низкой температуре очень умеренный. Достаточная активность поддерживается для обработки молока (или сыворотки) в течение ночного периода хранения.

Наиболее распространенным методом гидролиза концентрата сладкой сыворотки является:

Дозировка: 0,5 г / 1л

Концентрация сыворотки: 28-50%, pH 5.8-6.3

Температура: 38-40°C

Продолжительность гидролиза: 12-30 часов

Степень гидролиза: 70-90%.

Возможна дальнейшая концентрация до 70-80% сухого вещества.

Желательно не допускать быстрого охлаждения до 15-20°C.



Fabrika 1: Çoban Çeşme Mah. Sülün Sok. No.: 11 34196 Yenibosna - Bahçelievler / İstanbul

Tel.: +90 212 639 65 65 (Pbx) Telefax: +90 212 652 22 49

Fabrika 2: Omerli Cad. No:1 8 Hadimkoy 34555 İstanbul

Tel.: +90 212 639 81 81

Sic. Tic. No.: 153549/101023 Marmara KurumlarV.D. 61 30044652

<http://www.mayasan.com> e-mail: [muhassebe@mayasan.com](mailto:muhassebe@mayasan.com)



**СПЕЦИФИКАЦИЯ ПРОДУКТА**

<b>ПРОДУКТ</b>	Майалакт® 5000
<b>ХАРАКТЕРИСТИКИ</b>	
<b>ОПИСАНИЕ</b>	Майалакт 5000 представляет собой β-галактозидазу, которая гидролизует лактозу на глюкозу и галактозу.
<b>СОСТАВ</b>	β-галактозидаза (5%) Глицерол (52%) Вода (44%)
<b>АКТИВНОСТЬ</b>	> 5000 NLU/г
<b>ЦВЕТ</b>	Светло-желтый
<b>ХРАНЕНИЕ</b>	Рекомендованная температура хранения от 0 до 10°C. При соблюдении условий производительность продукта максимальная, и его срок годности составляет 2 года.

**ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Активность	5000 NLU/г
Плотность	1,15 г/мл
Тяжелые металлы	< = 30 ppm
Свинец	< = 5 ppm
Мышьяк	< = 3 ppm
Ртуть	< = 0.5 ppm
Кадмий	< = 0.5 ppm

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ**

Общее микробное число	< = 100 КОЕ/г
Бактерии группы кишечной палочки	< = 30 КОЕ/г
Сальмонелла (в 25г)	отсутствует
E.coli (в 25г)	отсутствует

**ДОЗИРОВКА**

Размер дозировки зависит от следующих условий:

- Условия обработки (длительность гидролиза, температура)
- Формулы продукта (к примеру: содержания жира в молоке)
- Необходимый уровень лактозы в конечном продукте

Типичная рекомендуемая дозировка на систему выработки:

- Концентрация МАЙАЛАКТ®5000: 0,5-1 г / 1кг
- Температура гидролиза: 4° С
- Продолжительность гидролиза: 24 часа
- Содержание жира в молоке\*: 3.5%
- Необходимый уровень лактозы: 0.01 г лактозы / 100 мл молока

\*Концентрацию фермента необходимо увеличить при уменьшении процента жирности молока.

#### АКТИВНОСТЬ, УРОВЕНЬ-pH И ТЕМПЕРАТУРА

Оптимальная условия гидролиза - pH 6,6-6,8; температура 37°C.

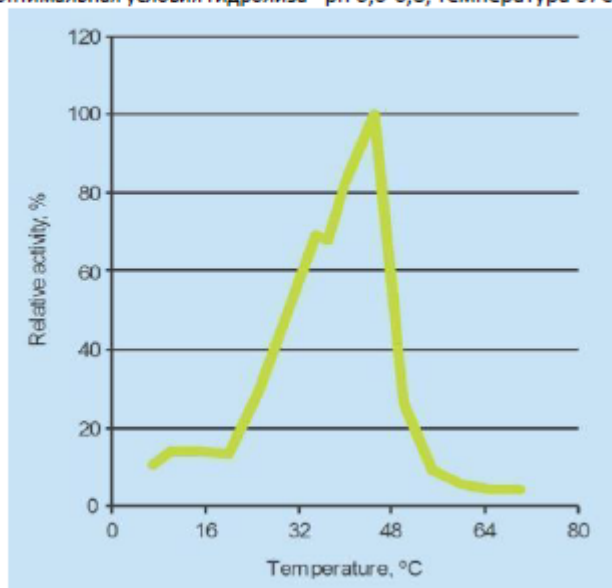


График 1. Температура (°C) и относительная активность (%) МАЙЛАКТа®

При дозировка 0,5 г/1 кг:

- требуемое время для 70–80% гидролиза: 2,5 часа при 37°C и 15 часов при 6°C.
- требуемое время для 30 – 35% гидролиза: 20 мин. при 37°C и 6,5 часов при 6°C.

УПАКОВКА

Канистры по 1 кг

# Приложение В. Акт опытно-промышленной выработки делактозированной сыворотки



## АКТ опытно-промышленной выработки делактозированной сыворотки

Комиссия в составе:

Главный технолог ООО "ЮКМП" Григорьев В.А.

Главный инженер ООО "ЮКМП" Семиков Н.П.

аспирант кафедры прикладной биотехнологии «Северо-Кавказского федерального университета» Хазов Д.С.

составили настоящий акт о том, что на ООО "ЮКМП" в период с 12 по 17 января 2023 г. была проведена опытно-промышленная выработка сухой делактозированной сыворотки.

В соответствии с проектом технологической инструкции, разработанной на кафедре прикладной биотехнологии СКФУ, технологический процесс осуществлялся в следующей последовательности:

1. приемка подсырной сыворотки, оценка качества по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям;
2. охлаждение и резервирование молочной сыворотки при температуре (2,0 – 6,0) °С, 6,0 часов;
3. очистка молочной сыворотки последовательно на вибросите, от остатков казеиновой пыли, и сепараторах сливоотделителях от молочного жира, при температуре (40,0 – 45,0) °С;
4. пастеризация обезжиренной сыворотки при температуре (74,0 ± 2,0) °С с выдержкой (15,0 – 20,0) с в пластинчатой пастеризационно-охладительной установке;
5. нанофльтрация сыворотки при температуре (12,0 ± 1,0) °С и давлении (20,0 – 25,0) бар при факторе концентрирования – (4,5 – 6,0) до содержания сухих веществ в ретентате (18,0 – 20,0) %.
6. сгущение ретентата (концентрированной сыворотки) в вакуум-выпарных установках до массовой доли сухих веществ (55,0 – 56,0) %;
7. кристаллизация в течение 16,5 часов при низкой скорости перемешивания и медленном охлаждении для получения крупных кристаллов лактозы;
8. отделение кристаллов лактозы от межкристаллической жидкости с использованием центрифуги ОГШ;
9. промывка кристаллов обратноосмотической водой с температурой (25 – 26) °С в количестве 90% от массы первичных влажных кристаллов;
10. отделение промытых кристаллов и возврат вторичных влажных кристаллов в основное производство;
11. сгущение делактозированной сыворотки в вакуум-выпарных установках до содержания сухих веществ (43,0 – 45,0) % для предупреждения проблем при перекачивании и подачи продукта на сушку;
12. сушка делактозированной сыворотки на распылительной сушилке до содержания сухих веществ (94,0 – 96,0) % при температуре воздуха в сушильной башне (180,0 ± 5,0) °С;
13. упаковка опытной партии сухой делактозированной сыворотки в бумажные мешки с мешками-вкладышами, масса нетто транспортной упаковочной единицы 15 кг.

Опытно-промышленные образцы сухой делактозированной сыворотки оценивали по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели сухой делактозированной сыворотки

Параметр	Сыворотка сухая делактозированная	
Внешний вид	Мелкий сыпучий порошок, комочки трудно рассыпаются при механическом воздействии	
Вкус, запах	Чистый запах, свойственный сухой сыворотке, без посторонних запахов, вкус соленый, горьковатый	
Цвет	Кремовый, с желтым оттенком	
Массовая доля сухих веществ, %	96,67 ± 0,50	
Массовая доля общего белка, %	26,54 ± 2,07	
Массовая доля углеводов, включая лактозу, %	63,03 ± 2,01	
Массовая доля жира, %	1,89 ± 0,21	
Массовая доля золы, %	2,24 ± 0,19	
Индекс растворимости, мл	0,3 – 0,4	
Количество мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов, КОЕ/г	(1,2 – 3,4) * 10 <sup>4</sup>	
Дрожжи, КОЕ/г	5 - 13	
Плесени, КОЕ/г	26 - 37	
Объем (масса) продукта, г, в которой не обнаруживают:	БГКП (колиформы)	0,1
	Патогенные (в том числе сальмонеллы)	25
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1
	<i>Listeria monocytogenes</i>	25

#### Выводы и рекомендации комиссии:

Сухая делактозированная сыворотка удовлетворяет требованиям ТР ТС 033/2013 "О безопасности молока и молочной продукции" (с изменениями на 23 июня 2023 года), рекомендованным как для сухой сыворотки молочной, так и для сухих концентратов сывороточных белков.

Однако сухой продукт имеет низкие органолептические показатели: солоновато-горьковатый вкус, низкую насыпную плотность, высокую слеживаемость: комочки готового продукта плохо разрушались при механическом воздействии. В процессе сушки отмечалось повышенное налипание продукта на стенки сушильной башни.

С учетом этого, комиссия рекомендует для улучшения органолептических показателей и оптимизации процесса сушки провести электродиализную обработку для удаления солей из делактозированной сыворотки, а также уточнить массовую долю сухих веществ сырья при подаче на распылительную сушку.

Члены комиссии:  
Главный технолог ООО "ЮКМП"

 Григорьев В.А.

Главный инженер ООО "ЮКМП"

Семиков Н.П.

аспирант кафедры прикладной биотехнологии СКФУ

 Хазов Д.С.

# Приложение Г. Акт опытно-экспериментальной выработки низколактозной концентрированной сыворотки

ОТВЕРЖДАЮ  
Операционный директор  
ООО «Лужский Молочный Комбинат»  
Хлымогоров В.Д.  
«18» января 2023 г.



## АКТ опытно-экспериментальной выработки низколактозной концентрированной сыворотки

Комиссия в составе главного технолога Горловой Е.М., мастера цеха Малохиной С.Н. и аспиранта СКФУ Хазова Д.С. составили настоящий акт о том, что с целью уточнения параметров процесса электродиализной обработки гидролизованной делактозированной сыворотки в период с 5 по 7 февраля 2023 г. на базе ООО «Лужский Молочный Комбинат» были проведены опытно-экспериментальные выработки низколактозной деминерализованной сыворотки по технологическому регламенту, представленному кафедрой прикладной биотехнологии, факультета пищевой инженерии и биотехнологий имени академика А.Г. Храмцова, «Северо-Кавказского федерального университета».

Молочную сыворотку подсырную концентрированную с использованием промышленной нанофильтрационной установки после очистки от жира и казеиновой пыли сгущали в вакуум-выпарной установке до массовой доли сухих веществ (55,0 – 56,0) %, затем сгущенный продукт направлялся в кристаллизаторы. Кристаллизация проводилась в течение 16,5 часов при низкой скорости перемешивания и медленном темпе охлаждения (2,0 – 2,5) °С/ час. Степень кристаллизации лактозы составила (67,8 - 68,2) %, размеры кристаллов, измеренные по методу Л.В. Чекулаевой, составили (150 - 400) мкм, с преобладанием фракции более 300 мкм. Кристаллы лактозы от межкристаллической жидкости отделяли с использованием полупромышленного декантера и направляли в кристаллизатор, куда была добавлена обратносмотическая вода в количестве 90% от массы кристаллов, с температурой (25 – 26) °С. После добавления воды смесь перемешивали 15 минут, отделяли промывные воды от кристаллов и смешивали с межкристаллической жидкостью.

Полученную делактозированную сыворотку в количестве 2000 л направляли в емкость с рубашкой при температуре (8,0±1,0) °С. Для проведения ферментативного гидролиза в ёмкость вносили ферментный препарат Биолактоза 20 в количестве 2,4 л.

Продолжительность гидролиза составила 18,5 часов, степень гидролиза, определенная с использованием модифицированного йодометрического метода, описанного в проекте технологической инструкции на выработку делактозированной и низколактозной сыворотки, составила более 80,0 %. Полученный после гидролиза продукт направлялся на пилотную электродиализную установку MEGA P15 1 x EDR-250 для удаления минеральных веществ до 90% уровня. В процессе электродиализа отбирались пробы: в момент подачи сырья на установку, при снижении удельной электропроводности на 50,0 % и на 70,0 %. Процесс деминерализации считался законченным при снижении показателя удельной электропроводности на (92,0 – 95,0) %. Уровень деминерализации подтверждался определением массовой доли золы в деминерализованных образцах производственной лабораторией ООО «Лужский Молочный Комбинат». В таблице представлены органолептические и физико-химические показатели низколактозной деминерализованной сыворотки.

Таблица – Органолептические и физико-химические показатели низколактозной сыворотки с разным уровнем деминерализации

Параметры	Удельная электропроводность образцов, мСм/см				Методы исследования
	19,2	9,50	5,70	1,9	
Массовая доля в образце:					
общего белка, %	5,6±0,11	5,65±0,17	5,65±0,15	5,61±0,12	ГОСТ 34454-2018
зола, %	2,8±0,10	1,45±0,09	0,77±0,19	0,3±0,09	ГОСТ 35005-2023
жира, %	0,4±0,08	0,41±0,08	0,42±0,08	0,43±0,08	ГОСТ 5867—2023
углеводов, включая лактозу, %	12,9±0,26	13,20±0,31	13,30±0,27	13,45±0,21	ГОСТ 35005-2023
сухих веществ, %	22,30±0,45	20,90±0,21	20,32±0,18	19,83±0,22	ГОСТ Р 54668-2011
Степень деминерализации, %	-	48 - 50%	71 - 73 %	89 - 90%	расчетный

Проведённая органолептическая оценка по ГОСТ Р ИСО 22935-3-2011 показала, что образцы деминерализованной гидролизованной подсырной сыворотки имели выраженный сладкий вкус за счет гидролиза лактозы.

Однако, образец с 50,0% степенью деминерализации обладал выраженным солёным вкусом, доминирующим над сладостью. Образец с 70% степенью деминерализации имел чистый сладкий вкус, характерный для гидролизованной сыворотки, без посторонних привкусов. Образец с 90% степенью деминерализации был максимально нейтральным.

Таким образом, лишь при уровне деминерализации 70% гидролизованная сыворотка приобретала сбалансированный сладкий профиль, полностью лишённый маскирующей солёности, присущей менее очищенным образцам.

На основании проведенных опытно-экспериментальных выработок комиссия рекомендует при использовании низколактозной сыворотки на пищевые цели устанавливать уровень деминерализации не менее 70,0 %. В случае использования низколактозной деминерализованной сыворотки в продуктах детского питания требуется деминерализации более 90,0 % с формированием минерального профиля.

Члены комиссии:

Главный технолог

Мастер цеха

Аспирант кафедры  
прикладной биотехнологии СКФУ

Горлова Е.М.

Малюхина С.Н.

Хазов Д.С.

**Приложение Д. Технические условия ТУ 10.51.55.150-016-37676459-2025.**

**Сыворотка молочная низколактозная деминерализованная сухая**

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ  
«Юговской Комбинат Молочных Продуктов»  
(ООО «ЮКМП»)

ОКС (67.100.99)

Группа  
Н17  
ОКПД-2 10.51.55.150

«УТВЕРЖДАЮ»  
ИО Генерального директора ООО «ЮКМП»

«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.



**СЫВОРОТКА МОЛОЧНАЯ НИЗКОЛАКТОЗНАЯ  
ДЕМИНЕРАЛИЗОВАННАЯ СУХАЯ**

Технические условия  
ТУ 10.51.55.150-016-37676459-2025  
Утверждены впервые

Дата введения в действие  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.  
РАЗРАБОТАНО ООО «ЮКМП»

г. Пермь 2025

**Приложение Е. Технологическая инструкция ТИ 10.51.55.150-016-37676459-2025. Сыворотка молочная низколактозная деминерализованная сухая**

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ  
«Юговской Комбинат Молочных Продуктов»  
(ООО «ЮКМП»)

ОКС (67.100.99)

Группа  
Н17  
ОКПД-2 10.51.55.150

«УТВЕРЖДАЮ»  
ИО Генерального директора ООО «ЮКМП»



Осипов Е.А.

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2026 г.

**СЫВОРОТКА МОЛОЧНАЯ НИЗКОЛАКТОЗНАЯ  
ДЕМИНЕРАЛИЗОВАННАЯ СУХАЯ  
Технологическая инструкция  
ТИ 10.51.55.150-016-37676459-2025  
Утверждены впервые**

Дата введения в действие

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2026 г.

РАЗРАБОТАНО ООО «ЮКМП»

г. Пермь 2025

# Приложение Ж. Акт опытно-промышленной выработки низколактозной сыворотки

УТВЕРЖДАЮ  
Генеральный директор  
АО «МК «Ставропольский»  
Анисимов С.В.  
«06» марта 2023 г.



## АКТ опытно-промышленной выработки низколактозной сыворотки

Настоящий акт составлен комиссией, в составе инженера-технолога цеха по производству сухих молочных продуктов АО «МК «Ставропольский» Рудковского А.В. и сотрудников «Северо-Кавказского федерального университета» – заведующего базовой кафедрой технологии молока и молочных продуктов, профессора, Евдокимова И.А. и аспиранта кафедры прикладной биотехнологии Хазова Д.С. о том, что в период с 01.03.2023 по 04.03.2023 на базе АО «МК «Ставропольский» были проведены опытно-промышленные выработки сухой делактозированной и низколактозной сыворотки.

Последовательность технологических операций (рисунок 1 и 2) определена на основе проекта технологической инструкции на производство сухой делактозированной и низколактозной сыворотки, с корректировками, внесенными с учетом реальных производственных условий АО «МК «Ставропольский».



Рисунок 1 – Технологические этапы выработки делактозированной сыворотки.

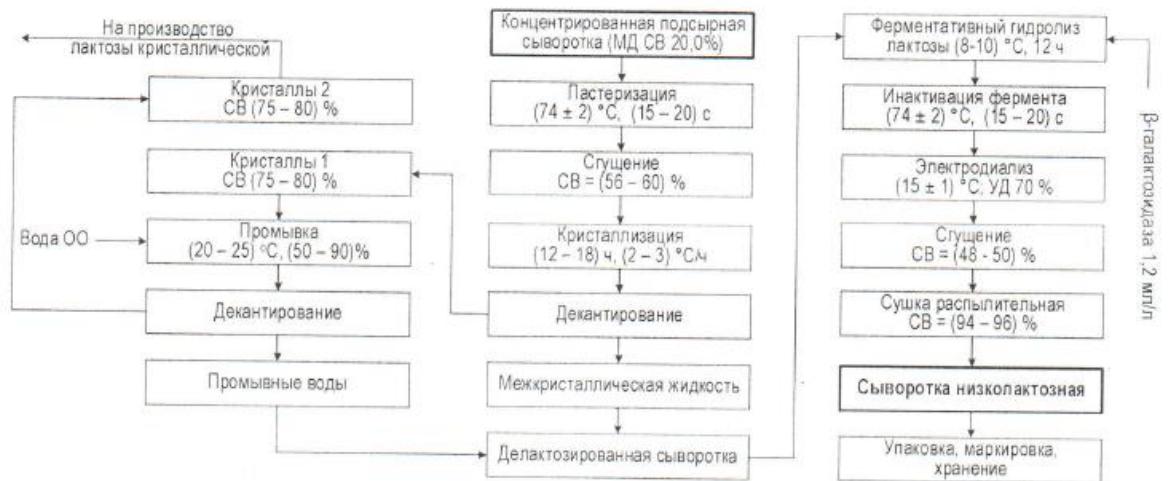


Рисунок 2 – Технологические этапы выработки низколактозной сыворотки.

По окончании процесса производства сухие продукты расфасовывались в бумажные мешки с мешками-вкладышами, масса нетто транспортной упаковочной единицы составляла 25 кг.

Органолептическая, физико-химическая и микробиологическая оценка проводилась в производственной лаборатории АО «МК «Ставропольский», в лабораториях кафедры прикладной биотехнологии, СКФУ.

Итоговые результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Состав и свойства сухой низколактозной сыворотки

Параметр	Сыворотка деминерализованная	
	Д70 (делактозированная)	Д70 (низколактозная)
Внешний вид	Мелкий легкосыпучий порошок, мелкие комочки рассыпаются при легком механическом воздействии	
Вкус, запах	Чистые, свойственные сухой сыворотке, без посторонних привкусов и запахов	
Цвет	Кремовый, с желтым оттенком	
Массовая доля сухих веществ, %	96,67 ± 0,50	96,72 ± 0,35
Массовая доля общего белка, %	27,54 ± 2,07	27,82 ± 1,23
Массовая доля углеводов, включая лактозу, %	63,03 ± 2,01	65,00 ± 2,26
Массовая доля жира, %	1,89 ± 0,21	2,2 ± 0,20
Массовая доля золы, %	2,24 ± 0,19	0,93 ± 0,13
Индекс растворимости, мл	0,3 – 0,4	0,3 – 0,4
Активная кислотность (10 % р-ра)	6,2 – 6,3	6,2 – 6,3
Количество мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов, КОЕ/г	(1,2 – 3,4) * 10 <sup>4</sup>	(2,6 – 4,9) * 10 <sup>4</sup>
Объем (масса) продукта, г, в которой не обнаруживают БГКП (колиформы)	0,1	0,1
Дрожжи, КОЕ/г	5 - 13	6 - 10
Плесени, КОЕ/г	26 - 37	16 - 24




Комиссией отмечены следующие особенности проведения технологических этапов выработки делактозированной и низколактозной сыворотки. На переработку в качестве сырья использовалась сыворотка, сконцентрированная методом нанофильтрационной обработки, сыворотка для гарантии получения микробиологически чистого продукта была подвергнута дополнительной тепловой обработке при режимах, указанных в схеме (рис.1,2). Процесс сгущения проводился в вакуум-выпарном аппарате циркуляционного типа при температуре  $(60,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$ . Сгущенное сырье кристаллизовалось с использованием кристаллизатора-охлаждителя периодического действия, по ускоренному режиму: скорость охлаждения  $(2,0 - 3,0) ^\circ\text{C/ч}$ , скорость мешалки  $(10,0 - 15,0)$  об/мин, время кристаллизации  $(14,0 - 14,5)$  ч. Кристаллы лактозы отделялись на декантере, промывка кристаллов осуществлялась в потоке, промывные воды смешивались с первичной межкристаллической жидкостью, и полученная делактозированная сыворотка, направлялась на ферментативный гидролиз, либо на деминерализацию с использованием процесса непрерывного электродиализа. Процесс электродиализа делактозированной и низколактозной сыворотки протекал с одинаковой эффективностью. Сгущение делактозированной и низколактозной сыворотки также проводилось на циркуляционном вакуум-выпарном аппарате, сгущенные продукты высушивались на распылительной сушилке. При сушке низколактозной сыворотки отмечался легкий налет на стенках сушильной башни и более интенсивное пыление при фасовке.

Анализ готовой продукции показал соответствие органолептических, физико-химических и микробиологических показателей заявленным в проекте технологической инструкции характеристикам, а также соответствие микробиологических характеристик, указанных в табл.1, требованиям ТР ТС 033/2013 (ред. 23 июня 2023 года) для сухих молочных продуктов.

Для полного подтверждения микробиологического соответствия продуктов требованиям ТР ТС 033/2013 (ред. 23 июня 2023 года) рекомендовано передать образцы сухой делактозированной и низколактозной сыворотки на анализ в аккредитованную лабораторию.

С учетом состава полученных сухих продуктов комиссия рекомендует в наименовании продукта включить термин «продукт переработки молока делактозированный (или низколактозный) с повышенным содержанием белка».

По мнению членов комиссии, технология получения сухой делактозированной и низколактозной сыворотки, может быть реализована на предприятиях молочной промышленности.

<p>От АО «МК «Ставропольский»</p>  <p>Рудковский А.В.</p>	<p>От «Северо-Кавказского федерального университета»</p>  <p>Евдокимов И. А.</p>  <p>Хазов Д. С.</p>
--	---

### Приложение 3. Расчет технико-экономических показателей разработанной технологии

Затраты на оборудование для варианта 1 (традиционного: выработка КСБ-35 и сухого пермеата) составляют 19 550 000 евро, а для проектируемого варианта (варианта 2) = 14 500 000 евро.

#### 1) Определение капитальных вложений.

Капитальные вложения для проектируемого варианта определяются по формуле:

$$K_T = Z_{об} + Z_{п} + Z_3, \quad (3.1)$$

где  $Z_{об}$  – затраты на оборудование, содержат преysкурantную стоимость (по оптовой цене)  $Z_о$  и транспортные расходы по доставке  $Z_д$  с затратами на монтаж  $Z_м$  (15 % от стоимости оборудования);

$Z_{п}$  – затраты на приобретение приспособлений и инструментов (принимаем в размере 10 % от стоимости оборудования);

$Z_3$  – затраты на планировку и строительство производственных площадей, расходы на планировку  $Z_п$  (принимаем на уровне 3 % от строительных затрат) и расхода на строительство цеха  $Z_{сц}$ ;

Расходы на стройку цеха определяем по формуле:

$$Z_{сц} = K_{пр} \cdot P_{общ} \cdot C_{пл}, \quad (3.2)$$

где  $K_{пр}$  – коэффициент на проходы и проезды (принимаем  $K_{пр} = 3$ );

$P_{общ}$  - общая площадь под технологическим оборудованием, м<sup>2</sup>

Площадь технологического оборудования составляет для варианта 1 – 600 м<sup>2</sup>, а для варианта 2 – 500 м<sup>2</sup> соответственно.

$C_{пл}$  – стоимость 1 м<sup>3</sup> производственной площади (9500 руб.).

Расчет капитальных вложений представлен в таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Расчет капитальных вложений

Показатель	Вариант 1, руб.	Вариант 2, руб.
$Z_о$	1 819 714 000,00	1 349 660 000,00
$Z_д + Z_м$	272 957 100,00	202 449 000,00
$Z_{об}$	2 092 671 100,00	1 552 109 000,00
$Z_{п}$	209 267 110,00	155 210 900,00
$Z_3$	17 613 000,00	14 677 500,00
$K_T$	2 319 551 210,00	1 721 997 400,00

2) Стоимость энергоносителей  $Z_{тэ}$  определяем из расчета цены на основные виды энергоносителей (энергия – 4,6 руб. за 1 кВт/час; вода – 4 руб. за м<sup>3</sup>; пар – 0,5 руб. за кг) и расхода энергоносителей (за сутки):

**а) Расчет для производства вариант 1:**

- электроэнергия:  $4,6 \cdot 1329,6 = 6116,16$  руб.;

- пар:  $0,5 \cdot 198600,0 = 99300,00$  руб.;

- вода:  $4 \cdot 673,372 = 2693,49$  руб.

ИТОГО:  $Z_{тэ}=108190,65$  руб.

**б) Расчет для производства вариант 2:**

- электроэнергия:  $4,6 \cdot 1254,6 = 5771,16$  руб.;

- пар:  $0,5 \cdot 188600,0 = 94300,00$  руб.;

- вода:  $4 \cdot 468,600 = 1874,40$  руб.

ИТОГО:  $Z_{тэ}=101945,56$  руб.

3) Расчет себестоимости проводим по следующим элементам:

Расчет себестоимости проводим по следующим элементам:

1. Затраты сырья и основных материалов на годовой выпуск продукции
2. В сутки перерабатывается 500 тонн молочной сыворотки стоимостью 3,5 руб. за 1 кг, что составляет  $500000 \cdot 3,5 = 1750000$  руб. при 330 рабочих днях.

3. Стоимость вспомогательных материалов

Стоимость вспомогательных материалов принимаем в размере 10 % от стоимости сырья и основных материалов.

$$C_{всп} = 0,1 \cdot 1750000 = 175\ 000 \text{ руб.}$$

3. Расходы на электроэнергию и другие материалы (см. выше)

4. Расходы на заработную плату

Технологическую трудоемкость производства 1 т продукта определим по формуле:

$$T_p = (P_p \cdot Ч) / O, \tag{3.3}$$

где  $P_p$  – продолжительность смены, ч;

Ч – численность рабочих, чел;

О – объем производства продукции в сутки (принят из материального расчета и равен 30 т/сут.), т.

Для каждого из продуктов:

$$T_p^1 = (8 \cdot 4) / 10 = 3,2 \text{ чел.-ч.}$$

$$T_p^2 = (8 \cdot 8) / 10 = 6,4 \text{ чел.-ч.}$$

Расценку на 1 т продукции рассчитываем по формуле:

$$P_{ц} = T_{\text{час}} \cdot T_p, \quad (3.4)$$

где  $T_{\text{час}}$  – часовая тарифная ставка (принимаем  $T_{\text{час}} = 62,5$  руб.)

Для двух продуктов:

$$P_{ц}^1 = 62,5 \cdot 3,2 = 200,00 \text{ руб.}$$

$$P_{ц}^2 = 62,5 \cdot 6,4 = 400,00 \text{ руб.}$$

Сдельный фонд заработной платы:

$$З_{\text{сд}} = O_{\text{г}} \cdot P_{ц}, \quad (3.5)$$

где  $O_{\text{г}}$  – годовой объем производства продукции, т, который равен:

$$O_{\text{г}} = O \cdot Д, \quad (3.6)$$

где  $Д$  – число дней работы предприятия в году.

Для каждого продукта:

$$O_{\text{г}}^1 = 30 \cdot 330 = 9900 \text{ т.}$$

$$O_{\text{г}}^2 = 30 \cdot 330 = 9900 \text{ т.}$$

$$З_{\text{сд}}^1 = 9900 \cdot 200 = 1980,0 \text{ тыс. руб.}$$

$$З_{\text{сд}}^2 = 9900 \cdot 400 = 3960,0 \text{ тыс. руб.}$$

Величину доплат принимаем равной 20% от сдельного фонда:

$$Д^1 = 0,2 \cdot 1980,0 = 396,0 \text{ тыс. руб.}$$

$$Д^2 = 0,2 \cdot 3960,0 = 792,0 \text{ тыс. руб.}$$

Тогда основной фонд заработной платы:

$$З_{\text{осн}} = З_{\text{сд}} + Д. \quad (3.7)$$

$$З_{\text{осн}}^1 = 1980,0 + 396,0 = 2376,0 \text{ тыс. руб.}$$

$$З_{\text{осн}}^2 = 3960,0 + 792,0 = 4752,0 \text{ тыс. руб.}$$

Дополнительная заработная плата составляет 10% от основного фонда:

$$З_{\text{доп}}^1 = 0,1 \cdot 2376,0 = 237,6 \text{ тыс. руб.}$$

$$З_{\text{доп}}^2 = 0,1 \cdot 4752,0 = 475,2 \text{ тыс. руб.}$$

Общий фонд заработной платы:

$$З_{\text{общ}} = З_{\text{осн}} + З_{\text{доп}}. \quad (3.8)$$

$$З_{\text{общ}}^1 = 2376,0 + 237,6 = 2613,6 \text{ тыс. руб.}$$

$$З_{\text{общ}}^2 = 4752,0 + 475,2 = 5227,2 \text{ тыс. руб.}$$

4. Отчисления на социальные нужды составляют 26 % от заработной платы основных производственных рабочих:

$$С_{\text{соц}}^1 = 0,26 \cdot 2613,6 = 679,536 \text{ тыс. руб.}$$

$$С_{\text{соц}}^2 = 0,26 \cdot 5227,2 = 1359,072 \text{ тыс. руб.}$$

5. Амортизационные отчисления определяем по формуле:

$$P_a = (K_T \cdot N_a) / 100, \quad (3.9)$$

где  $N_a$  – норма амортизационных отчислений, % (принимаем 7 %)

$$P_a^1 = (2\,319\,551\,210,00 \times 7) / 100 = 162\,368\,584,70 \text{ руб.}$$

$$P_a^2 = (1\,721\,997\,400,00 \times 7) / 100 = 120\,539\,818,00 \text{ руб.}$$

6. Общехозяйственные расходы принимаем в размере 25 % от заработной платы основных рабочих:

$$С_{\text{ох}}^1 = 0,25 \cdot 2613,6 = 653,4 \text{ тыс. руб.}$$

$$С_{\text{ох}}^2 = 0,25 \cdot 5227,2 = 1306,8 \text{ тыс. руб.}$$

6. Расходы по содержанию и эксплуатации оборудования принимаем в размере 30% от заработной платы основных рабочих:

$$С_{\text{обор}}^1 = 0,3 \cdot 2613,6 = 784,08 \text{ тыс. руб.}$$

$$С_{\text{обор}}^2 = 0,3 \cdot 5227,2 = 1568,16 \text{ тыс. руб.}$$

Производственная себестоимость продукции:

$$С_{\text{произв}} = С + С_{\text{всп}} + З_{\text{тз}} + З_{\text{общ}} + С_{\text{соц}} + P_a + С_{\text{обор}} + С_{\text{ох}}. \quad (3.10)$$

$$С_{\text{произв}}^1 = 1750000 \times 330 + 175000 \times 330 + 108190,65 \times 330 + 2613600 + 653400 + 162\,368\,584,70 + 784080 + 653400 = 838\,052\,115,20 \text{ руб.}$$

$$С_{\text{произв}}^2 = 1750000 \times 330 + 175000 \times 330 + 101945,56 \times 330 + 5227200 + 1359072 + 120\,539\,818,00 + 1568160 + 1306800 = 798\,893\,084,80 \text{ руб.}$$

Коммерческие расходы принимаем в размере 10 % от производственной себестоимости:

$$C_{\text{ком}}^1 = 0,1 \cdot 838\,052\,115,20 = 83\,805\,211,52 \text{ руб.}$$

$$C_{\text{ком}}^2 = 0,1 \cdot 798\,893\,084,80 = 79\,889\,308,48 \text{ руб.}$$

Полная себестоимость продукции определяется по формуле:

$$C_{\text{полн}} = C_{\text{произв}} + C_{\text{ком}}. \quad (3.11)$$

$$C_{\text{полн}}^1 = 838\,052\,115,20 + 83\,805\,211,52 = 921\,857\,326,72 \text{ руб.}$$

$$C_{\text{полн}}^2 = 798\,893\,084,80 + 79\,889\,308,48 = 878\,782\,393,28 \text{ руб.}$$

Определение экономической эффективности проекта

Затраты на 1 рубль товарной продукции определим по формуле:

$$З = C_{\text{полн}} / Ц, \quad (3.12)$$

где Ц – действующая оптовая цена за 1 т продукта, руб. (при объеме производства 9900 т продукта в год)

$$З^1 = 921\,857\,326,72 / (129\,600 \times 9\,900) = 0,72 \text{ руб.}$$

$$З^2 = 878\,782\,393,28 / (127\,500 \times 9\,900) = 0,70 \text{ руб.}$$

Рассчитаем прибыль от реализации годовой продукции:

$$П = Ц - C_{\text{полн}}. \quad (3.13)$$

$$П^1 = 129\,600 \times 9\,900 - 921\,857\,326,72 = 361\,182\,673,28 \text{ руб.}$$

$$П^2 = 127\,500 \times 9\,900 - 878\,782\,393,28 = 383\,467\,606,72 \text{ руб.}$$

Уровень рентабельности производства найдем по формуле:

$$Р = (П / C_{\text{полн}}) \cdot 100. \quad (3.14)$$

$$Р^1 = (361\,182\,673,28 / 921\,857\,326,72) \cdot 100 = 39,18\%.$$

$$Р^2 = (383\,467\,606,72 / 878\,782\,393,28) \cdot 100 = 43,64\%.$$

Срок окупаемости капитальных вложений определим по формуле:

$$Т = К / П_{\text{год}}, \quad (3.15)$$

где П<sub>год</sub> – годовая прибыль от реализации продукции, руб.

$$Т^1 = 2\,319\,551\,210,00 / 361\,182\,673,28 = 6,42 \text{ года}$$

$$Т^2 = 1\,721\,997\,400,00 / 383\,467\,606,72 = 4,49 \text{ года}$$

Экономическая оценка производства сухой низколактозной сыворотки представлена в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Экономическая оценка производства сухой низколактозной сыворотки

Показатель	Единица измерения	Вариант	
		1 (аналог)	2 (проектируемый)
Годовой объем производства	т	9900	9900
Полная себестоимость 1 т продукции, в том числе:	руб.	93 116,90	88 765,90
сырье и основные материалы,		3500,00	3500,00
заработная плата		264,00	528,00
Прибыль от реализации 1 т продукции	руб.	36483,10	38 734,10
Затраты на 1 рубль товарной продукции	руб.	0,72	0,70
Уровень рентабельности производства	%	39,18	43,64