

Молочная сыворотка: обзор работ.

Часть 2. Процессы и методы обработки

И. В. Паладий, *Е. Г. Врабие, К. Г. Спринчан, М. К. Болога

*Институт прикладной физики,
г. Кишинев, MD-2028, Молдова, *e-mail: vrabie657@yahoo.com*

Поступила в редакцию 08.09.2020

После доработки 16.10.2020

Принята к публикации 16.10.2020

Рассмотрено современное состояние вопроса изучения молочной сыворотки. Представлены процессы и методы обработки молочной сыворотки: термические, химические, физико-химические, биотехнологические, электрофизические. Описаны термическое и изоэлектрическое осаждения белков с использованием реагентов и коагулянтов, а также основные мембранные методы обработки: обратный осмос, диафильтрация, микрофильтрация, ультрафильтрация, нанофильтрация. Отмечены возможности эффективного разделения сывороточных белков сочетанием мембранных и других методов. Изложены хроматографические методы фракционирования сывороточных белков: хроматография с симуляцией подвижного слоя, высокоградиентная хроматография с магнитной ловушкой, избирательная (селективная) адсорбция, хроматография смещения, мембранная адсорбция, которые обеспечивают высокую степень разделения. Описаны высокопористые хроматографические материалы, обеспечивающие высокую скорость потока, биотехнологические методы переработки – биосинтез лактулозы, ферментативный гидролиз лактозы и сывороточных белков, аэробное и анаэробное сбраживание. Проанализированы электрофизические методы переработки молочной сыворотки (электродиализ, электроактивация), а также электрохимическая активация как явление и технология, как новый перспективный метод обработки, позволяющий обеспечить безотходный цикл получения ценных компонентов для создания полезных производных из молочной сыворотки без использования реагентов. Подчеркнуто, что в зависимости от применяемых режимов получают белково-минеральные концентраты с predetermined белковым или минеральным составом при одновременной изомеризации лактозы в лактулозу. Выявлено, что экономичность методов обработки молочной сыворотки обеспечивается значительным повышением эффективности технологических процессов, уменьшением затрат труда, сокращением времени обработки и материалов, улучшением качества и функциональных свойств конечных продуктов.

Ключевые слова: процессы и методы обработки молочной сыворотки: термические, химические, физико-химические, биотехнологические, электрофизические

УДК 637.344.2

<https://doi.org/10.52577/eom.2021.57.3.83>

ВВЕДЕНИЕ

Обработка молочной сыворотки (МС) требует все более эффективных технических и технологических решений, обеспечивающих рациональное и более полное использование ее компонентов и учитывающих экологическую составляющую, связанную с безотходной переработкой. Для повышения эффективности обработки молочной сыворотки и максимального выделения ценных веществ, при обеспечении высокой экономичности необходимо обоснованно подходить к выбору метода обработки МС с учетом технологических, конструктивных и экологических характеристик, возможностей управления процессами [1].

Интерес к использованию сывороточного белка значительно растет благодаря его функциональным свойствам, таким как связывание воды, растворимость, гелеобразование, эмульгирование, пенообразование и т.д. Исследования по созданию и разработке новых методов и техно-

логий должны обеспечить оптимальное использование компонентов МС, особенно сывороточных белков, для получения новых производных и безотходного цикла производства.

МЕТОДЫ И ПРОЦЕССЫ ОБРАБОТКИ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ

Наиболее распространенными процессами и методами обработки МС являются: термические, химические, физико-химические, биотехнологические, электрофизические. В таблице приведены методы обработки сыворотки, используемые в самых различных отраслях промышленности, которые позволяют выделять ценные компоненты и получать новые производные, предназначенные в том числе для здоровья.

1. *Термическое и изоэлектрическое осаждение.* Осаждение белков молочной сыворотки происходит посредством высоких температур (тепловое осаждение), путем вариации рН до достижения изоэлектрической точки

Таблица. Методы и процессы переработки молочной сыворотки

Методы	Процесс	Ссылки
Термические	Термокоагуляция	Castro-Rosas, J., et al., (2012) [2]
Химические	Использование реагентов (солей, кислот). Комплексообразование, осаждение с коагулянтами	Pessato, T. B., et al., (2019) [3]; Ghadermazi, R., et al., (2019) [4]; Perumalsamy, M., et al., (2012) [5]; Domínguez-Puerto, R., et al., (2018) [6]
Физико-химические	Обратный осмос; диафильтрация; микрофильтрация; ультрафильтрация; нанофильтрация; диализ; ионный обмен	Arunkumar, A., et al., (2015) [7]; Wang, W., et al., (2018) [8]; Choi, J., et al., (2019) [9]; Marx, M., et al., (2018) [10]; Heidebrecht, H. J., et al., (2018) [11]; Fuciños, C., et al., (2019) [12]
Биотехнологические	Биосинтез; микробная и энзимная обработка	Pagliano, G., et al., (2018) [13]; Escalante, H., et al., (2018) [14]; Rico, C., et al., (2015) [15]
Электрофизические	Электродиализ, электроактивация	Merkel, A., et al., (2018) [16]; Merkel, A., et al., (2017) [17]; Kareb, O., et al., (2017) [18]; Kareb, O., et al., (2018) [19]; Vrabie, E., et al., (2019) [20]; Simova, H., et al., (2010) [21]

(изоэлектрическое осаждение), осаждения кальцием при умеренных температурах (термокальциевое осаждение) [22].

Термическое осаждение, или термокоагуляция, представляет собой метод, основанный на чувствительности сывороточных белков к нагреванию. Его недостатком является денатурация белков [23, 24].

Изоэлектрическое осаждение основывается на осаждении при соответствующих значениях pH и концентрации ионов [23, 24].

Термокальциевое осаждение основано на образовании агрегатов липидонерастворимых фосфатов кальция при умеренных температурах (50°C), нейтральном pH (7,3–7,5) и присутствии кальция. Белки связаны с вышеупомянутыми фосфатными агрегатами [23, 24]. Метод используется при производстве лактальбумина, смеси денатурированного α -лактальбумина, β -лактоглобулина и других сывороточных белков. Денатурация сывороточных белков при термической обработке приводит к получению производных с пониженными функциональными свойствами [25, 26].

2. *Осаждение с использованием реагентов* используется для селективного разделения белков. Сывороточные белки могут быть выделены методом двухфазной водной экстракции (ДВЭ) [27], которая является альтернативой тепловым процессам и позволяет разделение белков [28, 29]. В системах ДВЭ разделение жидкость-жидкость происходит через смеси двух полимеров или полимера и соли, которые при определенных концентрациях образуют истинный раствор в одной фазе, а в другой вызывают образование двух несмешивающихся

фаз, среди которых биомолекулы, присутствующие в смеси, впоследствии также разделяются [30]. ДВЭ была применена и для селективного разделения белков, концентрацию которых определяли в отдельных фазах [27, 31, 32].

Двухфазная водная система (ДВС) может использовать в качестве пластового полимера и полиэтиленгликоль (ПЭГ-4000 и -6000), сульфат натрия, карбонат натрия и цитрат натрия. Они экономически доступны и образуют двухфазную систему с другими нейтральными полимерами, а также солями. Растворы полиэтилена, фосфата калия, сульфата натрия и хлорида натрия готовят в следующих соотношениях [%]: 50, 40, 30, 35 и 40 соответственно. Двухфазные водные системы готовили смешиванием соответствующих количеств ПЭГ и солей и центрифугировали при 15000 об/мин в течение 10 минут для двухфазного разделения. Концентрацию белка в отдельных фазах определяли методом восстановления Фолина. Определялись также коэффициенты распределения и производительности. Использование ПЭГ-4000 с концентрацией 50% и солей с концентрацией 40% при pH 5,4 и температуре 35°C позволяет получить максимальную производительность (~90%) и коэффициент распределения ~20% [33].

3. *Применение коагулянтов для осаждения белков*, таких как полифосфат и гексаметафосфат натрия, соли железа и полиэлектролиты, является эффективным методом осаждения и экстракции сывороточных белков, но требует дополнительных операций для отделения белков от коагулянта [22].

Использование природного полимера хитозана позволяет осаждать сывороточные белки с получением чистой лактозы в супернатанте. Этот коагулянт представляет собой высокомолекулярный катионный линейный полимер, полученный деацетилированием хитина (b (1-4)-N-ацетил-D-глюкозамина) из панциря ракообразных. Лактоза из депротеинизированной сыворотки, обработанной хитозаном, имеет чистоту 99,89% [34, 35].

Штернберг [36] сравнил эффективность двух коагулянтов на основе осаждения сыворотки с полиакриловой и трихлоруксусной кислотами и обнаружил более высокую эффективность последней с выходом белка 85,7–86,7% по сравнению с полиакриловой кислотой (62,2–68,4%). Выделение белков с помощью полиакриловой кислоты позволяет получить белый осадок белка – полиакрилата при pH 3,8–4,2, остальные сухие вещества составляют ~30% от исходного объема [22, 36].

4. *Мембранные процессы.* Основными мембранными методами обработки молочной сыворотки являются: обратный осмос (ОО), диафильтрация (ДФ), микрофильтрация (МФ), ультрафильтрация (УФ), нанофильтрация (НФ). Более эффективное разделение сывороточных белков возможно благодаря сочетанию мембранных и других методов [37]. Движущей силой всех мембранных процессов является разность давлений и градиентов концентраций, которая приводит к разделению веществ через полупроницаемую мембрану.

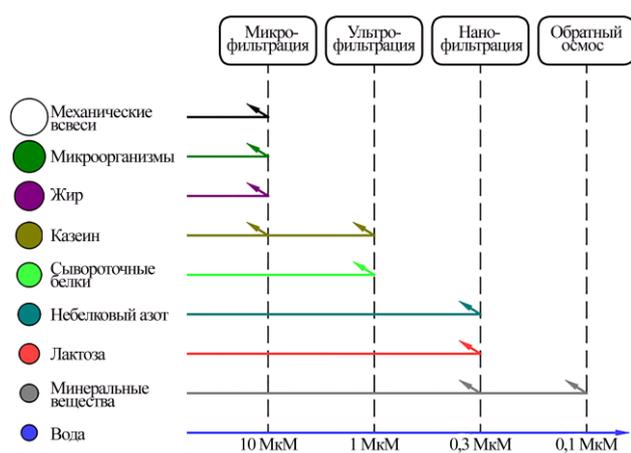


Рис. 1. Режимы мембранной фильтрации по типу фильтруемых элементов [38].

Применение мембранных методов в обработке молочной сыворотки позволяет: концентрирование МС до содержания 24% сухих веществ с помощью обратного осмоса и нанофильтрации перед выпариванием и сушки; получение изолята сывороточных белков (ИСБ) с содержанием 90% белка (ИСБ90); выделение белково-сывороточного концентрата (35–80%

белка); трансформацию лактозы в более ценные продукты путем ферментации (например, этанола или молочной кислоты) или ферментативного гидролиза в мембранных реакторах непрерывного действия; фракционирование МС для получения добавок повышенного качества; микрофильтрацию МС в качестве предварительной обработки для дальнейшей ультрафильтрации; последующие концентрацию и деминерализацию МС и ультрафильтрационного пермиата нанофильтрацией (рис. 1) [37–39].

Обратный осмос (ОО) – это процесс фильтрации растворов под высоким давлением через полупроницаемую мембрану, размер пор которой позволяет проходить только небольшому количеству растворенных веществ с очень низкой молекулярной массой, пропускающую растворитель и задерживающую молекулы либо ионы растворенных веществ [40]. В основе метода лежит явление осмоса – самопроизвольного перехода растворителя через полупроницаемую перегородку в раствор. Давление, при котором наступает равновесие, называется осмотическим. Если со стороны раствора приложить давление, превышающее осмотическое, то перенос растворителя будет происходить в обратном направлении, что нашло отражение в названии процесса «обратный осмос» [41, 42]. ОО используется для концентрирования молока и сыворотки, извлечения твердых частиц из различных дисперсных сред, в том числе из молока и молочной сыворотки. Ограничивающими факторами ОО являются осмотическое давление, вязкость и растворимость лактозы и солей кальция, присутствующих в МС, которые могут осаждаться, особенно если температура и pH не регулируются [37].

В молочной промышленности обратный осмос позволяет концентрировать технологические жидкости от 10 до 25% содержания сухих веществ (СВ) и представляет собой более дешевый метод, чем обычное выпаривание. Низкие температуры, при которых проходит процесс, практически предотвращают потерю летучих, ценных компонентов и денатурацию при нагреве, например денатурацию белков. Применение обратного осмоса позволяет использовать воду повторно, что значительно экономит ее расходы. Обратный осмос в молочной промышленности стал незаменимым при концентрации сыворотки для изготовления сыров, концентрации молока, обессоливании сыворотки и очистке сточных вод [43].

Обратный осмос для концентрации сыворотки используется в сочетании с другими мембранными процессами. Например, для выделения

сывороточного пермеата, содержащего лактозу, он применяется в сочетании с ультрафильтрацией. В побочных продуктах после такой обработки значительно снижается уровень биологического и химического потребления кислорода (БПК и ХПК). Для концентрации лактозы используют также тарелочные и рамочные обратноосмотические модули. После ультрафильтрации пермеат пропускают через две параллельные обратноосмотические линии, где он проходит деминерализацию, а третья линия обратного осмоса восстанавливает и очищает воду для системы ультрафильтрации [43].

Диафильтрация (ДФ) – это вариант мембранного разделения, при котором происходит очистка одного или нескольких компонентов раствора от примесей другого/других компонентов. При диафильтрации в раствор вводится растворитель (обычно чистая вода) с расходом, равным количеству отбираемого пермеата. Компонент, по отношению к которому мембрана высоко-селективна, задерживается ею и очищается от компонента, по отношению к которому мембрана низкоселективна, поскольку он переходит вместе с растворителем в пермеат [44, 45].

Для более полной очистки белкового концентрата, получаемого в результате УФ, от лактозы применяют диафильтрацию. Это частный случай УФ, при которой полученный белковый концентрат разбавляют деминерализованной водой и вновь подвергают УФ до исходной массовой доли сухих веществ. Некоторая часть лактозы и минеральных веществ при этом вымывается из белкового концентрата и проходит вместе с растворителем через мембрану. Белково-сывороточный концентрат (БСК), полученный методом УФ, имеет высокую растворимость в воде, хорошие эмульгирующие, пенообразующие и гелеобразующие свойства [46]. Диафильтрация используется для получения белково-сывороточного концентрата с высоким содержанием белка, для устранения высоких концентраций остаточного продукта, обеспечения высокой степени очистки и в то же время высокой производительности процесса [47, 48].

Микрофильтрация (МФ) представляет собой метод мембранного фильтрования под низким давлением. Для переработки сыворотки используют, как правило, керамические трубчатые или полисульфонамидные спиральные мембраны. МФ эффективно применяют для предварительной обработки сырья с целью снижения бактериальной обсемененности сыворотки и удаления жира. Поры микрофильтрационных керамических мембран обеспечивают эффек-

тивную задержку мельчайших частиц казеиновой пыли, жира, бактерий и спор [49].

Микрофильтрация представляет собой предварительную обработку для ультрафильтрации и обозначает процесс, аналогичный УФ, но с мембраной, размер пор которой больше, что позволяет проходить частицам с размером в диапазоне 0,2–2 мкм. Сыворotka обычно содержит небольшое количество жира и казеина, и, поскольку разделение центрифугированием не устраняет их полностью, МФ используется для снижения соотношения жир–белок до 0,001–0,003. Кроме того, некоторые осажденные соли могут быть удалены с помощью МФ, а также позволит значительное снижение микробной нагрузки [50].

Разделение белков молочной сыворотки микрофильтрацией (размер пор 0,05–0,2 мкм) можно проводить в периодическом или непрерывном режиме. В промышленных процессах используется непрерывная фильтрация благодаря более простому контролю и более длительной фильтрации. В МФ молока традиционно использовались керамические мембраны, которые могут выдерживать высокие температуры, низкие и высокие значения pH. Микрофильтрацию традиционно проводят при 50–55°C с трансмембранным давлением 0,1–1,0 бар и высокими тангенциальными скоростями потока (>6 м/с). Трубчатые керамические мембраны способны обеспечить скорость потока пермеата 55–65 л/(м²·час) при среднем коэффициенте концентрации от 1 до 4. Более низкие температуры фильтрации и более высокие трансмембранные давления приводят к уменьшенному потоку пермеата и более высокой задержке сывороточного белка. При промышленной микрофильтрации молока керамические мембраны (0,05–0,2 мкм) нуждаются в высоком тангенциальном потоке для достижения больших потоков пермеата [39, 51, 52]. Применение керамических мембран с порами 0,2–1,8 мкм позволяет удалять из молока бактерии.

Содержание бактерий в молоке, профильтрованном через мембраны с размером пор 1,4 мкм, снижается на два порядка без заметной задержки белков. Данная технология дает возможность значительно повысить уровень пастеризации молока и снизить денатурацию белков по сравнению с обычной тепловой пастеризацией [53]. Микрофильтрация была исследована также для удаления остаточных липидов из сыворотки перед УФ и ее стерилизации. Это часто включает термическую обработку и/или корректировку pH для агрегации липидов и фосфатов кальция [54].

Ультрафильтрация (УФ) представляет собой разновидность мембранной фильтрации, при

которой взвешенные твердые частицы и растворенные вещества с высокой молекулярной массой сохраняются в так называемом ретентате, в то время как вода и растворенные вещества с низкой молекулярной массой могут проходить через мембрану в пермеат (фильтрат). Этот процесс разделения используется в промышленности и научных исследованиях для очистки и концентрирования белковых растворов. Ультрафильтрация и микрофильтрация основываются на разных способностях поглощения и различных скоростях диффузии. Ультрафильтрация используется для более эффективного разделения сложных смесей [55].

В молочной промышленности ультрафильтрацию проводят с полимерными или керамическими мембранами, получая поток ретентата, который может быть дополнительно обработан путем испарения, сушки или распыления. УФ позволяет варьировать соотношение концентраций между компонентами сыворотки, благодаря удержанию белков и селективной проницаемости лактозы, минералов, воды и соединений с низкой молекулярной массой [48].

При ультрафильтрации молочную сыворотку одновременно фракционируют, очищают и концентрируют, получая белково-сывороточный концентрат высокого качества. УФ управляется градиентом давления, что составляет порядка 275,9 кПа, температура поддерживается в пределах 50–60°C с использованием полисульфоновых мембран с размером пор от 10^{-1} – 10^{-2} мкм. Имеются четыре основные конфигурации ультрафильтрационных мембранных модулей: трубчатые, с голыми волокнами, спирально намотанные и плоские пластины [39].

Ультрафильтрационные методы позволяют получить БСК с содержанием белка в пределах 34–90%, которое может быть увеличено путем модификации процесса при комбинации с диафильтрацией (ДФ), что позволяет удерживать содержание лактозы и минеральных веществ. Полученный таким образом БСК можно использовать для увеличения содержания белка в продуктах, избегая денатурации, что благоприятно для использования их в качестве добавок [39].

Нанофильтрация (НФ) – относительно новый метод мембранной фильтрации для разделения сухих веществ с низкой растворимостью в воде, таких как природные и синтетические органические вещества, с использованием нанометровых пор (1–10 нм) меньше, чем при микрофильтрации и ультрафильтрации. Нанофильтрация получает все более широкое применение в пищевой промышленности, особенно в молочной, для одновременной

концентрации и частичной деминерализации. Используемые мембраны преимущественно создаются из полимерных пленок. Материалы, которые обычно используются, включают полиэтилентерефталат или металлы, такие как алюминий. Размеры пор контролируются значениями pH, температуры и временем при плотности пор от 1 до 10^6 на см^2 [39, 54]. Мембраны для нанофильтрации изготовлены из полиэтилентерефталата и других подобных материалов путем обработки полимерной тонкой пленки с частицами под воздействием высоких энергий, вследствие чего поры «выгравированы» в мембрану. Мембраны, созданные из металла, например из оксида алюминия, изготавливаются электрохимически для нанесения тонкого слоя оксида алюминия из металлического алюминия в кислой среде [56].

Использование нанофильтрации широко распространено в разных отраслях промышленности, в том числе молочной, и особую роль играет в фармацевтической, в первую очередь для молекулярного разделения [57]. Нанофильтрация позволяет обрабатывать большие объемы и в непрерывном потоке. Основные ее недостатки – высокая стоимость и сложность технического обслуживания [58].

Нанофильтрация является важным процессом в молочной промышленности для разделения низкомолекулярных веществ и минералов, который позволяет концентрировать сыворотку до 20–24% содержания жира и пермеат после ультрафильтрационной обработки МС [54]. При НФ достигаются частичная деминерализация и концентрирование продукта. Она повышает органолептические показатели, позволяет уменьшить объемы получаемой сыворотки, сокращая транспортные расходы и затраты на производство сухой сыворотки [59].

5. *Хроматографическое фракционирование сывороточных белков.* Хроматографическими называют многостадийные методы разделения, при которых компоненты распределяются между неподвижной и подвижной фазами. Неподвижная фаза может быть твердым веществом, жидкостью или гелем, нанесенным на твердый носитель, может помещаться в колонку, наноситься в виде тонкого слоя или пленки и т.д. [60]. Подвижная фаза может быть газом, жидкостью или сверхкритическим газом (флюидом). Разделение, основано на адсорбции, распределении (разделении) масс, ионном обмене, опирающихся на различия физико-химических свойств молекул, таких как размер, масса, объем и т.д. Различают разные виды хроматографии в зависимости от основного носителя и целей исследований: бумажную; тонкослойную; газовую;

жидкостную и др. Процессы хроматографического разделения веществ совершенствуются в зависимости от целей исследований [60].

Ионообменная хроматография (ИХ) – один из методов, используемых для производства изолятов сывороточных белков, основан на обратимом взаимодействии между функциональными группами белков и ионообменными смолами. Выделение белков молочной сыворотки, благодаря их свойствам осаждаются при разных изоэлектрических точках, позволяет отделить две группы сывороточных белков: основные белки (β -лактоглобулин (β -Lg), α -лактальбумин (α -La) и бычий сывороточный альбумин (BSA)), которые заряжены отрицательно при pH 6,2–6,4, и минорные белки лактоферрин (LF) и лактопероксидаза (LP), которые имеют положительный заряд [61].

Катионные смолы (отрицательно заряженные) используются для удержания положительно заряженных белков (LF и LP). При одном и том же pH основные белки заряжены отрицательно, таким образом, они не удерживаются смолой, получая фракцию, богатую этими белками. Лактоферрин и лактопероксидаза выделяются при элюировании щелочными растворами. Затем фракции промывают и сушат распылением [62]. Ионообменная хроматография может работать при двух условиях: селективная адсорбция белков молочной сыворотки и селективное элюирование белков, задержанных ионообменной смолой. Разделение сывороточных белков с помощью анионообменной хроматографии состоит в создании условий, в которых сывороточные белки связываются и впоследствии элюируются из колонки, обычно путем изменения pH буферного раствора или увеличения концентрации соли. Первичной задачей в выделении сывороточных белков является отделение двух основных белковых фракций: α -La от β -Lg [63].

Катионообменная хроматография – метод, используемый для выделения и разделения сывороточных белков, особенно LF и LP, а также для выделения иммуноглобулинов (Ig). Эти белки заряжены положительно в очень широком диапазоне pH, что позволяет оптимизировать условия, при которых α -La и β -Lg не будут адсорбироваться на матрице. Это имеет особое значение из-за того, что IgG, LP и LF не присутствуют в высоких концентрациях в сыворотке, в отличие от α -La и β -Lg [63].

Хроматография с симуляцией подвижного слоя (ХСПС) основана на симуляции противоточного режима между твердой и жидкой фазами путем переключения клапанов на ряд колонок

или движения колонок по карусели. Ввод исходного материала и извлечение анализируемого вещества являются одновременными и непрерывными, создавая впечатление движущегося слоя. Противоточный режим позволяет более эффективно использовать адсорбент и жидкие потоки, что приводит к таким преимуществам, как более высокая производительность и концентрация продукта, низкий расход буфера, эффективное использование сырья и более высокая чистота продукта (рис. 2) [64, 65].

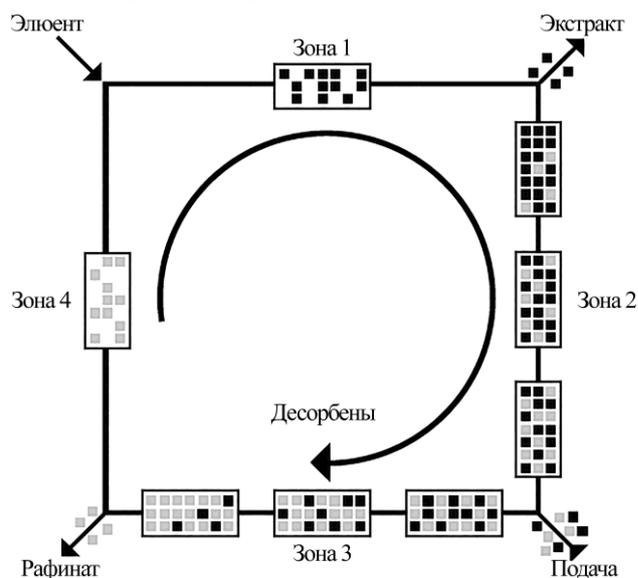


Рис. 2. Принцип ХСПС, используемой для разделения лактозы: зона 1 и зона 4 включают по одной колонке каждая, зона 2 и зона 3 – по три колонки [65].

Высокоградиентная хроматография с магнитной ловушкой (ВХМЛ) основана на адсорбции белка на суперпарамагнитных, то есть магниточувствительных частицах, которые при приложении магнитного поля втягиваются в непористые подложки микронного размера без «магнитной памяти» [66]. Из-за очень маленького размера и прочного материала, используемого для изготовления этих носителей, такие матрицы обеспечивают кратчайшее время адсорбции и менее склонны к засорению, чем пористые адсорбенты [66–69]. Быстрый сбор носителей в сильно намагниченном фильтре и последующая легкая десорбция и извлечение связанного белка с носителей позволяют значительно повысить скорость обработки [70].

Хиболл-Нильсен и др. [67] разработали суперпарамагнитные катиониты и применили ВХМЛ для отделения основных белков из сладкой МС. Впоследствии они описали получение суперпарамагнитных анионитов и их использование вместе с суперпарамагнитными катионитами при фракционировании МС. Исходная молочная сыворотка обрабатывалась суперпарамагнитным катионитом для адсорбции

основных белков с последующей обработкой супернатанта суперпарамагнитным анионитом [69].

На начальной стадии катионообмена количественное удаление LF и LP достигалось с некоторым одновременным связыванием иммуноглобулинов (Ig). Иммуноглобулины были отделены от двух других белков путем десорбции с низкой концентрацией NaCl ($\leq 0,4$ M), тогда как LF и LC были затем коэлюированы в значительно более чистой форме. Анионит адсорбировал β -Lg селективно, обеспечивая отделение от остальных белков, но во время элюирования выделилось небольшое количество β -Lg высокой чистоты [67, 71].

Избирательная (селективная) адсорбция.

При избирательной (селективной) хроматографии разделение веществ происходит за счет выборочной их адсорбции на неподвижной фазе. Селективная адсорбция обусловлена сродством того или иного соединения к твердому адсорбенту, что определяется полярными взаимодействиями их молекул. К адсорбционной хроматографии относят: ионообменную, жидкостную, бумажную, тонкослойную, газоадсорбционную [72].

Селективная адсорбция до недавнего времени не использовалась. Ионообменники сами по себе не являются селективными матрицами, поскольку могут адсорбировать множество белков с аналогичными значениями изоэлектрической точки pI. Улучшения селективной адсорбции на ионообменнике можно достигнуть путем использования специфических свойств целевого белка, одним из которых является их размер. Однако до сих пор нет носителей для ионообменников, которые позволили бы селективную адсорбцию низкомолекулярных белков [73].

Боливар и др. [74] разработали анионообменную подложку для селективной адсорбции низкомолекулярных белков путем активации аминной подложки (препарат MANAE-Sephrose) глутаральдегидом и дополнительного покрытия поверхности подложки бычьим сывороточным альбумином (BSA). В этом случае «пустые места» генерируются двумя соседними молекулами BSA. В нижней части этих «пустот» некоторые из моноаминоэтил-N-аминоэтильных групп готовы для связывания небольших молекул, которые достаточно малы для размещения между двумя молекулами BSA на существующей подложке. Поскольку поверхность BSA способна адсорбировать многие белки, что снижает селективность системы, покрытие молекул иммобилизованного декстраном BSA

снижает адсорбцию белка на поверхности BSA (рис. 3). Эта новая подложка (матрица) оценена при селективной адсорбции низкомолекулярных сывороточных белков, β -Lg и α -La, тогда как другие более крупные белки задерживаются в супернатанте [75, 76].

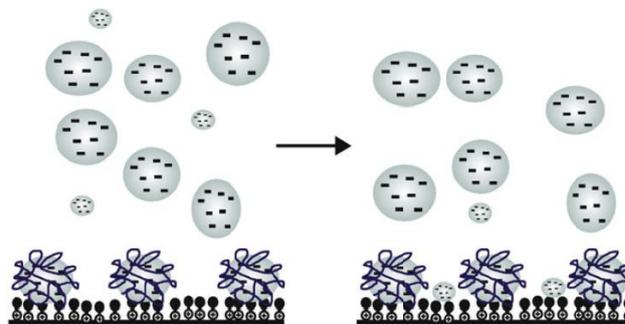


Рис. 3. Схематическое изображение аминоклутаральдегидной подложки, покрытой белками, модифицированными декстраном: с поверхностью подложки могут взаимодействовать только белки небольшого размера [74].

Хроматография смещения – метод разделения веществ, который позволяет получить более высокие концентрации определенного компонента за счет вытеснения растворенным веществом, которое сорбируется интенсивнее, чем компоненты исходной смеси [77]. Принцип состоит в том, что образец загружается на верх колонки и перемещается с раствором, который является более сильным сорбентом, чем компоненты исходной смеси. В результате компоненты разделяются на последовательные «прямоугольные» зоны высококонцентрированных чистых веществ [78]. Хроматография смещения позволяет получать продукты с более высокой концентрацией, более высокой чистоты и увеличивать пропускную способность по сравнению с другими хроматографическими способами разделения [78, 79].

Основной принцип хроматографии смещения: на матрице имеется только конечное число участков связывания для растворенных веществ (стационарная фаза), а если участок занят одной молекулой, он недоступен для других. Как и в любой хроматографии, устанавливается равновесие между молекулами данного вида, связанными с матрицей, и молекулами того же вида, которые не присутствуют в растворе. Поскольку число участков связывания конечно, концентрация свободных молекул в растворе велика относительно константы диссоциации для этих участков, и они будут в основном заполнены. Молекула с высокими способностями «вытеснения» к матрице конкурирует эффективнее за связывающие участки, оставляя подвижную фазу обогащенной растворенным веществом с более низким сродством. Поток подвижной фазы через

колонку преимущественно уносит раствор с более низким сродством, и, таким образом, при высокой концентрации раствор с более высоким сродством в конечном итоге вытесняет молекулы с меньшим сродством [80, 81].

Недостатки хроматографии смещения: наложения между каждой парой компонентов; смешанная зона должна быть обработана отдельно для сохранения чистоты отделенных компонентов; трудная интерпретация смежных зон, особенно если механизм смещения не полностью разработан; время, необходимое для регенерации, ограничивает пропускную способность [81].

Хроматография смещения применяется для разделения аминокислот и редкоземельных элементов; разделения изотопов; очистки белков от сложных смесей; разделения веществ с низкой молекулярной массой для очистки белков в системах ионного обмена [82]. Она хорошо подходит для количественного отделения очищенных белков от сложных смесей. Используется и для разделения белков молочной сыворотки, особенно с гидроксипатитом – очень полезной ионообменной матрицей, обладающей многими преимуществами, такими как простота изготовления, нетоксичность, возможность регенерации, низкая цена. Гидроксипатитная хроматография сыворотки в основном основана на вытеснении ионов, когда вытеснители, фосфат или органические кислоты, образуют более сильные комплексы с кальцием, чем карбоксильные группы адсорбированных белков [83, 84].

Россано и др. [83] представили метод, основанный на использовании самодельного гидроксипатита для одностадийного отделения лактина (неадсорбированного) от сывороточных белков (адсорбированных). Общая фракция белка может быть элюирована 0,4 М фосфатом при pH 7,0. Приблизительно 56% белков, в основном α -La и IgG, были элюированы 0,4 М фосфатом при pH 5,0. Другие основные белки, β -LG и BSA, элюировали 0,4 М фосфатом при pH 6,0. Фракции наносили на колонку Superdex 75 для окончательной очистки гельфильтрацией. Основными преимуществами этой процедуры являются: а) одноэтапное количественное разделение между лактином и белками; б) высокая гибкость в извлечении белков от конкретных белков до общих белковых фракций; в) очистка сывороточных белков в нативной форме [71].

Шлаттерер и др. [85] успешно отделили β -Lg от других сывороточных белков с помощью гидроксипатитовой хроматографии (Macro-Prep Ceramic hydroxyapatite Bio-Rad, Мюнхен,

Германия) с градиентом фторидионов с фосфатным буферным раствором в качестве вытесняющего агента. β -Lg был полностью элюирован в пике при концентрации фторида приблизительно 0,6 моль/л. Чистота β -Lg в этой фракции составляла по меньшей мере 96% со следами IgG, BSA и LF, которые с успехом были удалены с помощью Superdex.

Нг и Йошитаке [86] описали метод керамической хроматографии в смешанном режиме (керамический гидроксипатит СНТ, Bio-Rad, Мюнхен, Германия) для фракционирования в одной колонке LF из МС. Получилось удалить LP, который обычно загрязняет LF, очищенный другими методами, из-за сходства молекулярной массы и их изоэлектрических свойств. LP первоначально десорбировалась из матрицы в изокритических условиях. LF был получен без активности LP и других основных сывороточных белков, таких как α -La и β -Lg. Процесс обладает всеми характеристиками производительности, необходимыми для успешного применения в биотехнологической промышленности (простота, высокая эффективность, низкие затраты) [87].

Высокопористые хроматографические материалы, обеспечивающие высокую скорость потока. Макропористые хроматографические материалы – это технология, используемая для извлечения белков из пищевых потоков с использованием высоких скоростей, исключая необходимость в нескольких стадиях обработки и, следовательно, большие затраты. Такие материалы обеспечивают незначительное снижение давления на колонке, поэтому высокие потоки легко достижимы [71]. Основное преимущество макропористых сред состоит в том, что даже присутствующие на внутренних поверхностях функциональные группы адсорбируют белки с минимальными диффузионными ограничениями, поскольку они находятся в конвективном потоке [88–90].

Ограничения классической хроматографии, возникающие из-за диффузии молекул на внутренние поверхности, где они могут связываться, уменьшаются путем введения материалов большой пористости. Кроме того, такие материалы обеспечивают незначительный перепад давления в колонке, поэтому легко достижимы высокие скорости потока. Основное преимущество макропористых сред состоит в том, что даже присутствующие на внутренних поверхностях функциональные группы адсорбируют белки с минимальными диффузионными ограничениями, поскольку они находятся внутри конвекционного потока [71]. Типы хроматографии на основе этих материалов:

мембранно-конвективная жидкостная; перфузионная; хроматография с непрерывным слоем.

Мембранно-конвективная жидкостная хроматография – это метод, в котором для выделения белков используются пористые целлюлозные мембраны с размером пор 1,2 мкм [91].

В *перфузионной хроматографии* применяются насадочные колонки, в которых частицы имеют бидисперсную пористую структуру: а) с размером сквозных пор 600–800 нм для пересекающихся частиц; б) диффузионные поры 50–150 нм, которые выравнивают сквозные поры [92].

Хроматография с непрерывным слоем основана на полимеризации новейших мономеров и иономеров непосредственно в хроматографической колонке [93]. Полимерные цепи объединяются в плотную сеть узлов, состоящую из микрочастиц со средним диаметром 200 нм, причем каналы между узлами достаточно велики (диаметр 7–15 мкм) для обеспечения высокой конвективной скорости потока [71].

Мембранная адсорбция. Обычные хроматографические процессы демонстрируют огромные недостатки для быстрой и надежной переработки сыворотки, так как в случае больших объемов требуются длительные циклы и сложные системы управления процессом. Некоторые из этих ограничений могут быть преодолены с помощью мембранной хроматографии, в которой адсорбционная мембрана используется в качестве стационарной фазы, объединяющей принципы хроматографии и мембранного разделения в одном устройстве. Хроматографические мембраны модифицированы специфическими лигандами или функциональными группами для связывания молекул-мишеней и обеспечения быстрого связывания, поскольку адсорбционные лиганды находятся на пути конвективного потока через поры мембраны [71].

Мембранные хроматографические системы обычно имеют размеры пор в диапазоне микрофльтрации (0,02–10 мкм), поскольку они не разделяются на основе молекулярного размера и могут обеспечивать высокие скорости потока, низкие перепады давления, легкую упаковку колонки, а также низкий уровень засорения, что делает их идеальными для разделения белков в производственных условиях [94, 95].

Коммерческие мембранные системы для лабораторных и промышленных масштабов, изготовленные на основе ионного обмена, представляют собой системы с сильнокислотной (сульфоновая кислота), сильнощелочной (четвертичный аммоний), слабокислой (карбо-

новая кислота) и слабощелочной (диэтиламин) основами [96, 97].

Плате и др. [98] разработали новую последующую процедуру для выделения сывороточного LF и LP из сладкой сыворотки в лабораторных условиях с использованием катионообменных мембранных систем (SartobindS, Sartorius, Goettingen, Germany). Эта быстрая, надежная и эффективная процедура была расширена до промышленного масштабного модуля для очистки концентрата сладкой МС с выделением LF более чем 90% (7 г LF за цикл для модулей 2 м²) [98, 99].

б. *Биотехнологическими методами переработки молочной сыворотки* являются: биосинтез лактулозы; ферментативный гидролиз лактозы, сывороточных белков; аэробное и анаэробное сбраживание. Биосинтез лактулозы состоит из ферментативного гидролиза дисахарида лактозы до моносахаридов глюкозы и галактозы и может быть осуществлен с помощью гидролиза и реакций переноса катализируемыми гликозидазой (например, β-галактозидазы) или прямой изомеризации лактозы в лактулозу с целлобиозо-2-эпимеразой [22, 100–104].

Гидролиз сыворотки можно проводить двумя методами: ферментативным (сбраживанием) и кислотным. Химический или кислотный гидролиз осуществляется путем добавления кислоты, такой как серная, и имеет некоторые недостатки: вызывает денатурацию белка; требует предварительной деминерализации молочной сыворотки, поскольку минеральные соли инактивируют кислоту; приводит к образованию коричневого цвета (результат реакций Майяра и требует обесцвечивания активированным углем); способствует формированию нежелательных побочных продуктов.

Ферментативный гидролиз проводится с использованием фермента лактазы (β-галактозидаза, ЕС 3.2.1.32), который обнаруживается у животных, растений, бактерий, грибов и дрожжей [105].

Ферментативный синтез лактулозы из лактозы обусловлен составом, концентрацией субстрата и фермента, температурой, рН среды и режимом обработки. Концентрация фермента значительно влияет на селективность реакций; при более высокой концентрации ферментов (≥15 ед/мл) первичный гидролиз лактозы и вторичный гидролиз (разложение лактулозы) осуществляются быстрее [106]. Контролируемый ферментативный гидролиз сывороточных белков может улучшить функциональные свойства гидролизата и обеспечить более приятный вкус; также могут быть устранены аллергенные свойства [107, 108].

Ферментативный гидролиз сывороточных белков заключается в гидролизе белково-сывороточных концентратов (БСК, 80%) при оптимальных температурах (50–60°C) и pH 7–8 с помощью различных ферментов (протеазы *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus oryzae* и *Aspergillus sojae* и др.), в результате чего получают гидролизаты сывороточного белка. После ферментативного гидролиза пептидные связи белка расщепляются, образуются новые аминокислоты и обнаруживается аминокислота для каждой «разорванной» пептидной связи. Количество вновь образованных аминокислот вызывает линейное увеличение аминного азота [109, 110].

Аэробное сбраживание может быть классифицировано в соответствии с разными критериями по виду и условиям обработки, такими как: режим подачи (периодические, полупериодические или непрерывные реакторы); температура (психрофильные, мезофильные и термофильные реакторы); содержание сухого вещества (реакторы с высоким или низким содержанием сухого вещества); сложность (одноступенчатые, полиреакторы); форма реактора (горизонтальная, вертикальная), способ удерживания микроорганизмов в реакторе (фиксированная пленка, суспендированный рост или гибрид); влажность субстрата (влажное или сухое расщепление) [111–115].

Аэробное сбраживание характеризуется относительно быстрой деградацией органического вещества при комнатной температуре (22–24°C), требующей определенного промежутка времени гидравлического удержания. Однако высокая органическая нагрузка сырой сыворотки делает аэробное сбраживание недостаточным для получения конечных продуктов. Оптимальное отношение углевода/азота/фосфора (C/N/P) в аэробных процессах составляет приблизительно 100/5/1 по сравнению с 500/5/1 в анаэробных процессах [116].

Анаэробное сбраживание представляет собой трехэтапный процесс обработки молочной сыворотки: сокращение выбросов загрязняющих веществ; получение энергии; выделение питательных веществ [117]. Анаэробное сбраживание зависит от физико-химического состава МС (органический состав, значения pH среды и окислительные свойства); вида инокулянта (поддержание стабильного буфера); конфигурации реактора (возможности рециркуляции стоков) [118]. Осуществляется различными микроорганизмами, такими как обязательно анаэробными штаммами видов *Clostridium* (*Clostridium butyricum*, *Clostridium pasteurianum* и *Clostridium beijerinckii*) и факультативно анаэроб-

ными видами, такими как *Enterobacter*, *Citrobacter* spp и *Escherichia coli*, а также смешанными микробиологическими сообществами в мезофильных (30–38°C) или термофильных условиях (55°C) [22].

Анаэробное сбраживание включает деградацию и стабилизацию органического вещества микроорганизмами в анаэробных условиях и способствует образованию биогаза (смесь углекислого газа и метана) и биомассы. Этот сложный процесс состоит из трех последовательных этапов: гидролиз лактозы (и белков); ферментация; метаногенез. Проводится при содействии нескольких смешанных видов бактерий. В процессе метаногенеза около 90% гидролизованного органического вещества превращается в биогаз. Подсчитано, что из одного литра молочной сыворотки можно получить 45 литров биогаза, содержащего 55% метана. Из литра сыворотки может быть произведено 20 литров метана, что эквивалентно 739 кДж [22]. Анаэробное сбраживание не распространено широко в молочной промышленности из-за низких скоростей реакции и относительной нестабильности процесса в обычных реакторах [119–125].

Сбраживание для получения этанола. Для получения этанола, помимо сырой молочной сыворотки, в качестве сырья могут использоваться: раствор из сывороточного порошка; пермеат после ультрафильтрации и депротеинизированная молочная сыворотка. Их сбраживание для получения этанола требует определенной группы микроорганизмов, таких как: *Torula cremoris*; *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces marxianus*; *Candida pseudotropicalis*; *Saccharomyces cerevisiae* и др. Реакция, описывающая биотрансформацию лактозы в этанол, теоретически показывает максимальное значение 0,538 кг этанола на килограмм потребляемой лактозы. Спиртовое брожение лактозы из молочной сыворотки или сывороточного пермеата экономически не конкурентоспособно по сравнению с другими субстратами, такими как тростниковый сахар, кукурузный крахмал, лигноцеллюлозная биомасса и т.д. [125].

Сбраживание для получения водорода. Анаэробные процессы сбраживания сыворотки, разбавленной сыворотки, раствора сывороточного порошка и порошка сывороточного пермеата позволили получить водород. Теоретически процесс позволяет получить выход 8 моль водорода на моль лактозы. Биогазовая смесь, образующаяся при производстве водорода, также содержит метан и углекислый газ. Производство водорода может быть увеличено путем контроля

основных параметров, таких как: рН в нейтральных или слабокислых условиях рН (4–7,5); преобладающие микроорганизмы; композиция субстрата; температура; влажность; время гидравлического удержания; добавление металлов, дрожжевого экстракта, питательных веществ и т.д. Метаногенные микроорганизмы, потребляющие водород, снижают его производство. В этом процессе в основном используются: реакторы с непрерывной мешалкой, периодические реакторы и реакторы с наклонным анаэробным илом. В реакторе с непрерывной мешалкой время гидравлического удержания составляет от 6 до 84 часов по сравнению с 12 часами для реакторов с наклонным анаэробным илом и 24–280 часами для периодических. Как правило, периодические реакторы приводят к более высокому проценту получаемого водорода (50–88%), чем остальные конфигурации (20–60%) [125].

Сбраживание для получения молочной кислоты. Пермеат, имеющий низкое содержание белка, высокую концентрацию лактозы и минеральных солей, позволяет получить молочную кислоту преимущественно из ультрафильтрата молочной сыворотки.

В производстве молочной кислоты используются следующие микроорганизмы: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*; *Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus delbrueckii*; *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*; *Lactobacillus salivarius*; *Pediococcus* и др. Отдельные исследования указывают также на использование смешанных культур с синергетическим эффектом. Производство молочной кислоты из МС или пермеата без пищевых добавок ограничено в промышленных масштабах из-за низкой производительности (производство молочной кислоты: 3,8–12 кг/м³, время гидравлического удержания 48–56 ч, температура 23–37°C). Пищевые добавки являются ключевым фактором, который ограничивает эффективность процесса. Замена дополнительных добавок (дрожжевой экстракт, пептон, соевая мука, сывороточный белок, глюкозная среда, MgSO₄, MnSO₄, (NH₄)₂SO₄) протеолитическими ферментами или микроорганизмами удваивает выход молочной кислоты [125].

7. *Электрофизические методы переработки молочной сыворотки (электродиализ, электроактивация).* Электродиализ – это электрохимический процесс переноса ионов через мембрану под действием электрического поля. На скорость переноса ионов в электродиализных системах влияют температура, скорость потока, состав рабочей жидкости, приложенное напряжение. Электродиализная обработка

обеспечивает 90% уровень деминерализации МС без существенного изменения количественного состава других компонентов, входящих в ее состав. Продукт хорошо подвергается процессам вакуумного сгущения, кристаллизации, сушки, имеет улучшенные технологические и органолептические показатели и более широкий спектр применения, включая цельномолочную продукцию [126]. Электродиализ позволяет снизить содержание минеральных веществ в молочной сыворотке благодаря ее прохождению через слабое электрическое поле электролизных модулей, оснащенных ионселективными мембранами. При электродиализе, в зависимости от поставленных целей, используют ионоселективные мембраны разных видов: биселективные, катионообменные, анионообменные [127].

Катионообменные мембраны содержат ковалентно-отрицательные связанные группы, например сульфоновую кислоту. Они пропускают катионы и задерживают анионы [126, 128].

Противоположное явление происходит на анионных мембранах. В этом случае положительно заряженными группами являются четвертичные амины. Таким образом, пропуская постоянный электрический ток, катионы солей, содержащихся в сыворотке и рабочем растворе, движутся к катоду, а анионы – к аноду. Электродиализ молочной сыворотки состоит в ее попеременном прохождении через блоки, разделенные ионообменными мембранами, где происходит перенос солей МС к вспомогательным растворам соседних камер [127, 129]. В результате ионной миграции сыворотка обессоливается, а вспомогательный раствор концентрируется. Процессы обессоливания и концентрации электродиализом протекают одновременно и тесно взаимосвязаны. При изменении направления электрического тока процесс протекает в противоположном направлении. То же самое произойдет при использовании катионо- и анионообменных мембран [128, 129].

Электрохимическая активация (электроактивация). Электрохимическая активация (ЭХА) как физико-химический процесс – это совокупность осуществляемых в условиях минимального выделения тепла электрохимических и электрофизических воздействий на воду с содержащимися в ней ионами и молекулами растворенных веществ в области пространственного заряда у поверхности электрода (анода либо катода) электрохимической системы при неравновесном переносе заряда электронами через границу электрод-электролит [130].

В результате электрохимической активации вода переходит в метастабильное (активированное) состояние, которое характеризуется

аномальными значениями физико-химических параметров, в том числе окислительно-восстановительного потенциала, связанного с активностью электронов в воде, электропроводности, рН и других параметров. Самопроизвольно изменяясь во времени, возмущенные предшествующим внешним воздействием параметры и свойства воды постепенно достигают равновесных значений в результате релаксации [131].

Процесс получения электрохимически активированных воды и растворов относится к крайне неравновесным и является объектом изучения интенсивно развивающейся новой области химии – синергетики в химических процессах и химической технологии. Если в традиционной прикладной электрохимии основной задачей является выявление параметров оптимального *приближения* электрохимического процесса к равновесным условиям, то для электрохимической активации важным является определение параметров оптимального *удаления* от условий равновесного протекания электрохимических реакций [132].

Электроактивация является новым направлением обработки воды и жидкостей, в том числе молочной сыворотки, развивая новые технологические направления. Одно из них, основанное на электролизе водных растворов, позволяет трансформировать лактозу в лактулозу путем электроактивации МС [133–135]. Новый продукт, обогащенный лактулозой, используется в качестве ценного ингредиента с доказанным пребиотическим эффектом.

Метод электроактивации позволяет осуществить изомеризацию лактозы в лактулозу обоими механизмами одновременно известными в биохимии углеводами: L-A-трансформация; перегруппировка Амадори. Хотя электроактивация является методом без использования химических реагентов, механизм перегруппировки L-A-трансформация осуществляется за счет накопления гидроксильных ионов, которые образуются в результате диссоциации воды. Наличие активированных аминокрупп как при активации белковых соединений, так и азотсодержащих соединений небелкового происхождения, присутствующих в МС, приводит к изомеризации путем перегруппировки Амадори, при которой лактоза реагирует с аминами благодаря присутствию аминокислот в МС, а также креатина, креатинина, карбамида, мочевой кислоты, которые способствуют образованию и гидролизу лактулозамина. Образующийся лактулозилламин перегруппируется и превращается в лактулозамин, который затем распадается на лактулозу и амины [136, 137]. При электроизо-

меризации лактозы для получения лактулозы используются реакторы с различными конструктивными и геометрическими параметрами [138, 139].

Обработка молочной сыворотки требует все более эффективных технических и технологических решений, учитывающих как рациональное и более полное использование ее компонентов, так и экологическую составляющую, связанную с безотходной переработкой. Одним из удачных технологических решений является электрофизическая обработка МС с выделением белково-минерального концентрата (БМК) и одновременной изомеризацией лактозы в лактулозу на основании электрохимической активации (ЭХА) жидкости [87]. Белково-минеральный концентрат имеет высокую биологическую ценность благодаря наличию всех заменимых и незаменимых аминокислот.

Для повышения эффективности выделения сывороточных белков и снижения удельных энергетических затрат необходимо обоснованно подходить к выбору электрохимического реактора с учетом таких конструктивных характеристик, как расстояние между электродами и между электродами и мембраной. Геометрическая форма должна исключать наличие нефункциональных зон, что в целом должно обеспечить высокую производительность обработки МС при правильно подобранном электрохимическом реакторе [140].

Преимущества ЭХА заключаются в возможности полного исключения или значительного сокращения химических реагентов в технологических процессах активации водных растворов различного назначения, а также исключения или резкого сокращения необходимости очистки сточных вод. Экономичность предопределена значительным повышением эффективности технологических процессов как за счет уменьшения затрат труда, времени и материалов, так и улучшением качества и функциональных свойств конечных продуктов. Получение БМК зависит от режимов электрофизической обработки (особенно от плотности электрического тока) и затрат энергии на единицу объема, от вариации рН, окислительно-восстановительного потенциала, температуры [87, 141].

При воздействии электрического тока на содержание сухих веществ молочной сыворотки (около 6%), включающей более 200 компонентов, происходит множество меж- и внутримолекулярных процессов, генерирующих изменения выделения сывороточных белков в БМК. Основные механизмы образования белковых соединений при электроактивации – это ионная флоатация и высаливание белков, обусловленные

действием различных механизмов коагуляции и комплексообразования. Электрофракционирование (или электрофизическая обработка) молочной сыворотки позволяет выделить одновременно две основные фракции: белково-минеральные концентраты и депротеинезированную сыворотку (ДС). Белково-минеральные концентраты, в свою очередь, в зависимости от режимов обработки, получают обогащенными разными белковыми фракциями: β -лактоглобулинами или α -лактальбуминами. При определенных режимах обработки получают БМК, обогащенные лактоферрином и иммуноглобулинами. Способ является безотходным и позволяет одновременно изомеризировать лактозу в лактулозу, которая содержится в депротеинезированной сыворотке, обогащенной минералами, аминокислотами и олигосахаридами. Исследования геометрических и конструктивных особенностей электролизеров для различных целей электрофракционирования молочной сыворотки и сокращения энергозатрат при электрофизической обработке представляют растущий интерес и заслуживают продолжения [87, 141].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основе анализа значительного количества публикаций и накопленного опыта в части химического состава, классификации и производных следует подчеркнуть очевидность и целесообразность использования молочной сыворотки для извлечения и широкого потребления содержащихся ценных компонентов сухого вещества. Разнообразный белковый состав позволяет создать множество сывороточных белковых производных из МС, таких как сухая МС/сывороточный порошок; сухая деминерализованная сыворотка – 25, 50 и 90%; сывороточный порошок без лактозы; белково-сывороточные концентраты с содержанием 34, 50, 60, 75 и 80% белка; изоляты сывороточного белка; гидролизаты сывороточного белка; белково-минеральные концентраты; лактоза (промышленная, пищевая, фармацевтическая); производные лактозы – лактитол, лактулоза, галактоолигосахариды; отдельные белки (лактоферрин, лактопероксидаза, гликомакропептиды); молочные минералы; пермеат.

Многочисленные функциональные и пищевые свойства сывороточных белков и продуктов на их основе позволяют обеспечить применение производных молочной сыворотки в широких разветвлениях пищевой промышленности.

Целебные свойства молочной сыворотки и ее производных, такие как антиоксидантные, иммуномодуляторные и стимуляторные, проти-

воопухолевые, обусловленные различными механизмами действия, связанными с их функциональными свойствами, позволяют получить разнообразный спектр биологически активных добавок, применяемых в фармацевтической отрасли.

Выделение и получение ценных продуктов из молочной сыворотки определяют возможность применения различных методов, основанных на определенных процессах обработки МС или их комбинировании для эффективной экстракции ценных компонентов, создания безотходных циклов обработки при одновременном сокращении энергетических затрат и соблюдении высоких экологических требований (см. часть I).

Описанные процессы и методы обработки молочной сыворотки, такие как термические, химические, физико-химические, биотехнологические, электрофизические, позволяют разнообразить спектр полученных ценных производных из МС.

Мембранные методы, включающие обратный осмос, диафильтрацию, микрофильтрацию, ультрафильтрацию, нанофильтрацию, позволяют осуществить эффективное разделение сывороточных белков благодаря также сочетанию мембранных и других методов. Хроматографические методы фракционирования, такие как: хроматография с симуляцией подвижного слоя, высокоградиентная хроматография с магнитной ловушкой, избирательная (селективная) адсорбция, хроматография смещения, мембранная адсорбция, обеспечивают высокую степень разделения. Биотехнологическими методами (биосинтез лактулозы; ферментативный гидролиз лактозы, сывороточных белков; аэробное и анаэробное сбраживание) производят разные биологически активные добавки. Контролируемые процессы ферментации рассматриваются при производстве молочной кислоты, этанола, водорода, гидролиза белков.

Электрофизические методы переработки молочной сыворотки включают электродиализ и электроактивацию. Электрохимическая активация является новым перспективным методом обработки, позволяющим создать безотходный цикл обработки с получением ценных компонентов для формирования полезных производных из молочной сыворотки без использования реагентов. В зависимости от применяемых режимов обработки получают белково-минеральные концентраты с определенным белковым или минеральным составом при одновременной изомеризации лактозы в лактулозу.

Экономичность выбранных методов обработки молочной сыворотки обеспечивается значительным повышением эффективности технологических процессов как за счет уменьшения затрат труда, сокращения времени и экономии материалов, так и улучшения качества и функциональных свойств конечных продуктов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках проекта ANCD 20.80009.5007.06 (2020 - 2023) «Интенсификация процессов переноса и обработки в электрических, электромагнитных, кавитационных полях; практичность».

ЛИТЕРАТУРА

- Спринчан, Е.Г., Оптимизация выделения белков при электрофизической обработке молочной сыворотки, *ЭОМ*, 2010, т. 46, № 6, с. 81.
- Castro-Rosas, J., Guerrero-Rodríguez, W., Rodríguez-Miranda, J., Páez-Lerma, J., et al., Optimization of thermal protein precipitation from acid whey, *J. Food Process. Preserv.*, 2013, vol. 37, no. 5, p. 924. doi:10.1111/j.1745-4549.2012.00728.
- Pessato, T.B., de Carvalho, N.C., de Figueiredo, D., et al., Complexation of whey protein with caffeic acid or (-)-epigallocatechin-3-gallate as a strategy to induce oral tolerance to whey allergenic proteins, *Int. Immunopharmacol.*, 2019, vol. 68, p. 115.
- Ghadermazi, R., Asl, A.K., Tamjidi, F., Optimization of whey protein isolate-quince seed mucilage complex coacervation, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2019, vol. 131, p. 368.
- Perumalsamy, M., Murugesan, T., Extraction of cheese whey proteins (α -lactalbumin and β -lactoglobulin) from dairy effluents using environmentally benign aqueous biphasic system, *Int. J. Chem. Environ. Eng.*, 2012, vol. 3, no.1, p. 50.
- Domínguez-Puerto, R., Valle-Guadarrama, S., Guerra-Ramírez, D., Hahn-Schlam, F.F., Purification and concentration of cheese whey proteins through aqueous two-phase extraction, *CyTA - Journal of Food*, 2018, vol. 16, p. 452.
- Arunkumar, A., Etzel, M.R., Negatively charged tangential flow ultrafiltration membranes for whey protein concentration, *J. Membr. Sci.*, 2015, vol. 475, p. 340.
- Wang, W., Han, X., Yi, H., Zhang, L., The ultrafiltration efficiency and mechanism of transglutaminase enzymatic membrane reactor (EMR) for protein recovery from cheese whey, *Int. Dairy J.*, 2018, vol. 80, p. 52.
- Choi, J., Im, S., Jang, A., Application of a volume retarded osmosis-low pressure membrane hybrid process for treatment of acid whey, *Chemosphere*, 2019, vol. 219, p. 261.
- Marx, M., Bernauer, S., Kulozik, U., Manufacturing of reverse osmosis whey concentrates with extended shelf life and high protein nativity, *Int. Dairy J.*, 2018, vol. 86, p. 57.
- Heidebrecht, H.J., Kainz, B., Schopf, R., Godl, K., et al., Data concerning the chromatographic isolation of bovine IgG from milk- and colostrum whey, *Data in Brief*, 2018, vol. 21, p. 527. doi: 10.1016/j.dib.2018.09.115.
- Fuciños, C., Fuciños, P., Estévez, N., Pastrana, L.M., et al., One-step chromatographic method to purify α -lactalbumin from whey for nanotube synthesis purposes, *Food Chem.*, 2019, vol. 275, p. 480. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.09.144.
- Pagliano, G., Ventrino, V., Panico, A., Romano, I., et al., The effect of bacterial and archaeal populations on an anaerobic process fed with mozzarella cheese whey and buttermilk, *J. Environ. Manage.*, 2018, vol. 217, p. 110. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.03.085.
- Escalante, H., Castro, L., Amaya, M.P., Jaimes, L., et al., Anaerobic digestion of cheese whey: Energetic and nutritional potential for the dairy sector in developing countries, *Waste Management*, 2018, vol. 71, p. 711. doi: 10.1016/j.wasman.2017.09.026.
- Rico, C., Muñoz, N., Rico, J.L., Anaerobic co-digestion of cheese whey and the screened liquid fraction of dairy manure in a single continuously stirred tank reactor process: Limits in co-substrate ratios and organic loading rate, *Bioresour. Technol.*, 2015, vol. 189, p. 327. doi: 10.1016/j.biortech.2015.04.032.
- Merkel, A., Ashrafi, A.M., Ečera, J., Bipolar membrane electrodialysis assisted pH correction of milk whey, *J. Membr. Sci.*, 2018, vol. 555, p. 185.
- Merkel, A., Ashrafi, A.M., Ondrušek, M., The use of electrodialysis for recovery of sodium hydroxide from the high alkaline solution as a model of mercerization waste water, *J. Water Process. Eng.*, 2017, vol. 20, p. 123.
- Kareb, O., Goma, A., Champagne, C., Jean, J., et al., Electro-activation of sweet defatted whey: Impact on the induced Maillard reaction products and bioactive peptides, *Food Chem.*, 2017, vol. 221, p. 590. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.11.134.
- Kareb, O., Champagne, C., Jean, J., Goma, A., et al., Effect of electro-activated sweet whey on growth of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, and *Streptococcus* strains under model growth conditions, *Food Res. Int.*, 2018, vol. 103, p. 316. doi: 10.1016/j.foodres.2017.10.060.
- Vrabie, E., Bologa, M., Paladii, I., Stepurina, T., et al., Electrical processing of whey. Role of construction, technological and energy characteristics of reactors, *Surf. Eng. Appl. Electrochem.*, 2019, vol. 55, p. 197.
- Simova, H., Kysela, V., Černín, A., Demineralization of natural sweet whey by electrodialysis at pilot-plant scale, *Desalin. Water Treat.*, 2010, vol. 14, p. 170.
- Prazeres, A.R., Carvalho, F., Rivas, J., Cheese whey management: a review, *J. Environ. Manage.*, 2012, vol. 110, p. 48. doi: 10.1016/j.jenvman.2012.05.018.

23. Misun, D., Curda, L., Jelen, P., Batch and continuous hydrolysis of ovine whey proteins, *Small Ruminant Res.*, 2008, vol. 79, no. 1, p. 51.
24. Pereira, C.D., Diaz, O., Cobos, A., Valorization of by-products from ovine cheese manufacture: clarification by thermocalcic precipitation/microfiltration before ultrafiltration, *Int. Dairy J.*, 2002, vol. 12, no. 9, p. 773.
25. Toro-Sierra, J., Tolkach, A., Kulozik, U., Fractionation of α -Lactalbumin and β -Lactoglobulin from whey protein isolate using selective thermal aggregation, an optimized membrane separation procedure and resolubilization techniques at pilot plant scale, *Food Bioproc. Tech.*, 2013, vol. 6, p. 1032.
26. Wolz, M., Kulozik, U., Thermal denaturation kinetics of whey proteins at high protein concentrations, *Int. Dairy J.*, 2015, vol. 49, p. 95.
27. Joyce, A.M., Kelly, A., O'Mahony, J., Controlling denaturation and aggregation of whey proteins during thermal processing by modifying temperature and calcium concentration, *Int. J. Dairy Technol.*, 2018, vol. 71, no. 2, p. 446.
28. Asenjo, J., Andrews, B., Aqueous two-phase systems for protein separation: Phase separation and applications, *J. Chromatogr. A.*, 2012, vol. 1238, p. 1. doi: 10.1016/j.chroma.2012.03.049.
29. Glyk, A., Scheper, T., Beutel, S., PEG-salt aqueous two-phase systems: an attractive and versatile liquid-liquid extraction technology for the downstream processing of proteins and enzymes, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2015, vol. 99, no. 16, p. 6599. doi:10.1007/s00253-015-6779-7.
30. Raja, S., Murty, V. R., Thivaharan, V., Rajasekar, V., et al., Aqueous two phase systems for the recovery of biomolecules – A review, *Science and Technology*, 2011, vol. 1, p. 7. doi:10.5923/j.scit.20110101.02.
31. Gai, Q., Qu, F., Zhang, T., Zhang, Y., Integration of carboxyl modified magnetic particles and aqueous two-phase extraction for selective separation of proteins, *Talanta*, 2011, vol. 85, p. 304. doi:10.1016/j.talanta.2011.03.055.
32. Nitsawang, S., Hatti-Kaul, R., Kanasawud, P., Purification of papain from *Carica papaya* latex: Aqueous two-phase extraction versus two-step salt precipitation, *Enzyme Microb. Technol.*, 2006, vol. 39, p. 1103. doi: 10.1016/j.enzmictec.2006.02.013.
33. Ponni, M.M., Shamnamol, G.K., Extraction of cheese whey protein from dairy effluent by using polyethylene glycol and sodium sulphate, *Int. J. Innov. Res. Sci. Eng. Technol.*, 2015, vol. 4, no. 3, p. 868.
34. Su, H., Wang, Z., Tan, T., Preparation of a surface molecular-imprinted adsorbent for Ni₂ based on *Penicillium chrysogenum*, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2005, vol. 80, no. 4, p. 439.
35. Su, H., Zhao, Y., Li, J., Tan, T., Short communication: biosorption of Ni₂. By the surface molecular imprinting adsorbent, *Process Biochem.*, 2006, vol. 41, no. 6, p. 1422.
36. Sternberg, M., Chiang, J.P., Eberts, N.J., Cheese whey proteins isolated with polyacrylic acid, *J. Dairy Sci.*, 1975, vol. 59, no. 6, p. 1042.
37. Kowalik-Klimczak, A., The possibilities of using membrane filtration in the dairy industry, *J. of Machine Construction and Maintenance*, 2017, vol. 105, no. 2, p. 99.
38. Михайленко, И.Г., Будрик, В.Г., Мембранные технологии и переработка молочной сыворотки, *Сборник материалов: III Международной научно-практической конференции «Инновационные исследования и разработки для научного обеспечения производства и хранения экологически безопасной сельскохозяйственной и пищевой продукции»*, Краснодар, ФГБНУ ВНИИТТИ, 2019, часть 2, с. 608.
39. Akpınar-Bayizit, A., Ozcan, T., Yılmaz-Ersan, L., Membrane processes in production of functional whey components, *Mljekarstvo*, 2009, vol. 59, no. 4, p. 282.
40. Yorgun, M.S., Balcioglu, I.A., Saygin, O., Performance comparison of ultrafiltration, nanofiltration and reverse osmosis on whey treatment, *Desalination*, 2008, vol. 229, no. 1–3, p. 204.
41. Золоторева, М.С., Топалов, В.К., Мембранные процессы в технологии переработки сыворотки, *Переработка молока*, 2014, № 5, с. 10.
42. Garud, R.M., Kore, S.V., Kore, V.S., Kulkarni, G.S., A short review on process and applications of reverse osmosis, *Univers. J. Environ. Res. Technol.*, 2011, vol. 1, no. 3, p. 233.
43. Velpula, S., Umapathy, K.S., Thyarla, A., Srikanth, K. et al., Dairy wastewater treatment by membrane systems. A review, *Int. J. Pure App. Biosci.*, 2017, vol. 5, no. 6, p. 389.
44. Gavazzi-April, C., Benoit, S., Doyen, A., Britten, M., et al., Preparation of milk protein concentrates by ultrafiltration and continuous diafiltration: Effect of process design on overall efficiency, *J. Dairy Sci.*, 2018, vol. 101, no. 11, p. 9670.
45. Tan, R., Franzreb, M., Continuous ultrafiltration/diafiltration using a 3D-printed two membrane single pass module, *Biotechnol. Bioeng.*, 2019, vol. 117, p. 654.
46. Nambiar, A., Li, Y., Zydney, A.L., Countercurrent staged diafiltration for formulation of high value proteins, *Biotechnol. Bioeng.*, 2018, vol. 115, no. 1, p. 139.
47. Ebersold, M.F., Zydney, A.L., The effect of membrane properties on the separation of protein charge variants using UF, *J. Memb. Sci.*, 2004, vol. 243, p. 379.
48. Baldasso, C., Barros, T.C., Tessaro, I.C., Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration, *Desalination*, 2011, vol. 278, p. 381.
49. Евдокимов, И.А., Володин, Д.Н., Сомов, В.С., Чаблин, Б.В., и др., Мембранные технологии в

- молочном производстве, *Молочная промышленность*, 2013, № 9, с. 15.
50. Steinhauer, T., Marx, M., Bogendörfer, K., Kulozik, U., Membrane fouling during ultra- and microfiltration of whey and whey proteins at different environmental conditions: The role of aggregated whey proteins as fouling initiators, *J. Membr. Sci.*, 2015, vol. 489, p. 20. doi: 10.1016/j.memsci.2015.04.002.
 51. Baruah, G.L., Venkiteswaran, A., Belfort, G., Global model for optimizing crossflow microfiltration and ultrafiltration processes: a new predictive and design tool, *Biotechnol. Prog.*, 2005, vol. 21, no. 4, p. 1013. doi: 10.1021/bp050184r.
 52. Nelson, B.K., Barbano, D.M., A microfiltration process to maximize removal of serum proteins from skin milk before cheese making, *J. Dairy Sci.*, 2005, vol. 88, p. 1891.
 53. García, L.F., Blanco, S., Rodríguez, F., Microfiltration applied to dairy streams: removal of bacteria, *J. Sci. Food Agric.*, 2013, vol. 93, no.2, p. 187.
 54. Barukčić, I., Božanić, R., Kulozik, U., Influence of process temperature and microfiltration pre-treatment on flux and fouling intensity during cross-flow ultrafiltration of sweet whey using ceramic membranes, *Int. Dairy J.*, 2015, vol. 51, p. 1.
 55. Iltchenco, S., Preci, D., Bonifacino, C., Franco Fragua, E., et al., Whey protein concentration by ultrafiltration and study of functional properties, *Ciência Rural*, 2018, vol. 48, no. 5, p. 1.
 56. Hinkova, A., Zidova, P., Pour, V., Bubník, Z., et al., Potential of Membrane Separation Processes in Cheese Whey Fractionation and Separation, *Procedia Eng.*, 2012, vol. 42, p. 1425. doi: 10.1016/j.proeng.2012.07.536.
 57. Kumar, P., Sharma, N., Ranjan, R., Kumar, S., et al., Perspective of membrane technology in dairy industry: a review, *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 2013, vol. 26, no. 9, p. 1347. doi: 10.5713/ajas.2013.13082.
 58. Atra, R., Vatai, G., Bekassy-Molnar, E., Balint, A., Investigation of ultra- and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose, *J. Food Eng.*, 2005, vol. 67, p. 325.
 59. Rice, G., Kentish, S., O'Connor, A., Stevens, G., et al., Fouling behaviour during the nanofiltration of dairy ultrafiltration permeate, *Desalination*, 2006, vol. 199, p. 239.
 60. Ismail, B., Nielsen, S.S, Basic Principles of Chromatography, Food Analysis, (editor) Nielsen, S.S., Boston, MA., Springer, 2010, p. 473-498 doi:10.1007/978-1-4419-1478-1_27
 61. Etzel, M.R., Manufacture and use of dairy protein fractions, *J. Nutr.*, 2004, vol. 134, no. 4, p. 996.
 62. El-Sayed, M.M.H., Chase, H.A., Purification of the two major proteins from whey concentrate using a cation-exchange selective adsorption process, *Biotechnol. Prog.*, 2010, vol. 26, no. 1, p. 192.
 63. Santos, M.J., Teixeira, J., Rodrigues, L.R., Fractionation of the major whey proteins and isolation of β -Lactoglobulin variants by anion exchange chromatography, *Sep. Purif. Technol.*, 2012, vol. 90, p. 133.
 64. Andersson, J., Mattiasson, B. Simulated moving bed technology with a simplified approach for protein purification. Separation of lactoperoxidase and lactoferrin from whey protein concentrate, *J. Chromatogr. A*, 2006, vol. 1107, no. 1–2, p. 88.
 65. Geisser, A., Hendrich, T., Boehm, G., et al. Separation of lactose from human milk oligosaccharides with simulated moving bed chromatography, *J. Chromatogr. A.*, 2005, vol. 1092, no. 1, p. 17.
 66. Sturaro, A., Marchi, M.D., Masi, A., Cassandro, M., Quantification of whey proteins by reversed phase-HPLC and effectiveness of mid-infrared spectroscopy for their rapid prediction in sweet whey, *J. Dairy Sci.*, 2016, vol. 99, no. 1, p. 68.
 67. Heeboll-Nielsen, A., Justesen, S.F.L., Hobbey, T.J., Thomas, O.R.T., Super paramagnetic cation-exchange adsorbents for bioproduct recovery from crude process liquors by high-gradient magnetic fishing, *Sep. Sci. Technol.*, 2004, vol. 39, no. 12, p. 2891. doi: 10.1081/SS-200028791.
 68. Heeboll-Nielsen, A., Choewsmiddelberg, A.P.J., Thomas, O.R.T., Efficient inclusion body processing using chemical extraction and high-gradient magnetic fishing, *Biotechnol. Prog.*, 2003, vol. 19, no. 3, p. 887.
 69. Heeboll-Nielsen, A., Justesen, S.F.L., Thomas, O.R.T., Fractionation of whey proteins with high-capacity super paramagnetic ion-exchangers, *J. Biotechnol.*, 2004, vol. 113, no. 1–3, p. 247.
 70. Hubbuch, J.J., Matthiesen, D.B., Hobbey, T.J. et al., High-gradient magnetic separation versus expanded bed adsorption: a first principle comparison, *Bioseparation*, 2001, vol. 10, p. 99.
 71. Stanic, D., Radosavljevic, J., Stojadinovic, M., Velickovic, T.C., *Application of ion exchanger in the separation of whey proteins and lactin from milk whey*, *Ion Exchange Technology II*, Inamuddin D., Luqman M., (eds), Dordrecht: Springer, 2012, p. 35–63.
 72. Tsonev, L.I., Hirsh, A.G., Theory and applications of a novel ion-exchange chromatographic technology using controlled pH gradients for separating proteins on anionic and cationic stationary phases, *J. Chromatogr. A.*, 2008, vol. 1200, no. 2, p. 166.
 73. Pessela, B. C., Munilla, R., Betancor, L., Fuentes, M., et al., Ion-exchange using poorly activated supports, an easy way for purification of large proteins, *J. Chromatogr. A.*, 2004, vol. 1034, no. 1–2, p. 155.
 74. Bolivar, J.M., Batalla, P., Mateo, C., Carrascosa, A.V., et al., Selective adsorption of small proteins on large pore anion-exchangers coated with medium size proteins, *Colloid Surf. B. Biointerfaces.*, 2010, vol. 78, no. 1, p. 140.
 75. Blanc, F., Bernard, H., Alessandri, S., Bublin, M., et al., Update on optimized purification and characterization of natural milk allergens, *Mol. Nutr. Food Res.*, 2008, vol. 52, no. S2, p. 166.

76. Li, X., Luo, Z.L., Chen, H.B., Cao, Y.S., Isolation and antigenicity evaluation of beta-lactoglobulin from buffalo milk, *Afr. J. Biotechnol.*, 2008, vol. 7, no. 13, p. 2258.
77. Pinto, N.D., Frey, D., Displacement chromatography of proteins using a retained pH front in a hydrophobic charge induction chromatography column, *J. Chromatogr. A.*, 2015, vol. 1387, p. 53.
78. Tugcu, N., Purification of proteins using displacement chromatography, *Methods Mol. Biol. (Clifton, N.J.)*, 2008, vol. 421, p. 71. doi: 10.1007/978-1-59745-582-4_6.
79. Kalász, H., Displacement Chromatography, *J. Chromatogr. Sci.*, 2003, vol. 41, p. 281. doi: 10.1093/chromsci/41.6.281.
80. Zhao, G., Sun, Y., Displacement chromatography of proteins on hydrophobic charge induction adsorbent column, *J. Chromatogr. A.*, 2007, vol. 1165, no. 1–2, p. 109.
81. Srajer Gajdosik, M., Clifton, J., Josic, D., Sample displacement chromatography as a method for purification of proteins and peptides from complex mixtures, *J. Chromatogr. A.*, 2012, vol. 1239, p. 1.
82. Giovannini, R., Freitag, R., Continuous separation of multicomponent protein mixtures by annular displacement chromatography, *Biotechnol. Prog.*, 2002, vol. 18, no. 6, p. 1324.
83. Rossano R., D'Elia A., Riccio P., 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, *Protein Express Purif.*, 2001, vol. 21, no. 1, p. 165.
84. Cummings, L.J., Snyder, M.A., Brisack, K., Protein chromatography on hydroxyapatite columns, *Method Enzymol.*, 2009, vol. 463, p. 387.
85. Schlatterer, B., Baeker, R., Schlatterer, K., Improved purification of beta-lactoglobulin from acid whey by means of ceramic hydroxyapatite chromatography with sodium fluoride as a displacer, *J. Chromatogr. B.*, 2004, vol. 807, no. 2, p. 223.
86. Ng, P.K., Yoshitake, T. Purification of lactoferrin using hydroxyapatite, *J. Chromatogr. B.*, 2010, vol. 878, no. 13–14, p. 976.
87. Tercinier, L., Ye, A., Anema, S., Singh, A., et al., Characterisation of milk protein adsorption onto hydroxyapatite, *Int. Dairy J.*, 2017, vol. 66, p. 27.
88. Dainiak, M.B., Kumar, A., Plieva, F.M., Galaev, I.Y., et al., Integrated isolation of antibody fragments from microbial cell culture fluids using supermacro porous cryogels, *J. Chromatogr. A.*, 2004, vol. 1045, no. 1–2, p. 93.
89. Jungbauer, A., Hahn, R., Monoliths for fast bioseparation and bioconversion and their applications in biotechnology, *J. Sep. Sci.*, 2004, vol. 27, no. 10–11, p. 767.
90. Lozinsky, V., Plieva, F., Galaev, I. et al., The potential of polymeric cryogels in bioseparation, *Bioseparation*, 2001, vol. 10, no. 4, p. 163.
91. Gerstner J.A., Hamilton R., Cramer S.M., Membrane chromatographic systems for high through put protein separations. *J Chromatogr A.* 1992, vol. 596, no. 2, p. 173.
92. Neuville, B.C., Lamprou, A., Morbidelli, M., Soos, M., Perfusive ion-exchange chromatographic materials with high capacity, *J. Chromatogr. A.*, 2014, vol. 1374, p. 180.
93. Urban, J., Jandera, P., Polymethacrylate monolithic columns for capillary liquid chromatography, *J. Sep. Sci.*, 2008, vol. 31, no. 14, p. 2521.
94. Kawai, T., Saito, K., Lee, W., Protein binding to polymer brush, based on ion-exchange, hydrophobic, and affinity interactions, *J. Chromatogr. B.*, 2003, vol. 790, no. 1–2, p. 131.
95. Lalli, E., Silva, J., Boi, C., Sarti, G., Affinity Membranes and Monoliths for Protein Purification, *Membranes*, 2019, vol. 10, p. 1.
96. Voswinkel, L., Kulozik, U., Fractionation of whey proteins by means of membrane adsorption chromatography, *Procedia Food Sci.*, 2011, vol. 1, p. 900.
97. Leeb, E., Holder, A., Letzel, T., Cheison, S.C., et al., Fractionation of dairy based functional peptides using ion-exchange membrane adsorption chromatography and cross-flow electro membrane filtration, *Int. Dairy J.*, 2014, vol. 38, p. 116.
98. Plate, K., Beutel, S., Buchholz, H., Demmer, W., et al., Isolation of bovine lactoferrin, lactoperoxidase and enzymatically prepared lactoferricin from proteolytic digestion of bovine lactoferrin using adsorptive membrane chromatography, *J. Chromatogr. A.*, 2006, vol. 1117, no. 1, p. 81.
99. Wang, H., Yang, R., Hua, X., Zhao, W., et al., Enzymatic production of lactulose and 1-lactulose: current state and perspectives, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2013, vol. 97, no. 14, p. 6167.
100. Panesar, P.S., Kumari, S., Lactulose: production, purification and potential applications, *Biotechnol. Adv.*, 2011, vol. 29, no. 6, p. 940.
101. Song, Y.S., Lee, H.U., Park, C., Kim, S.W., Optimization of lactulose synthesis from whey lactose by immobilized β -galactosidase and glucose isomerase, *Carbohydr. Res.*, 2013, vol. 369, p. 1.
102. Song, Y.S., Lee, H.U., Park, C., Kim, S.W., Batch and continuous synthesis of lactulose from whey lactose by immobilized β -galactosidase, *Food Chem.*, 2013, vol. 136, no. 2, p. 689.
103. Illanes, A., Whey upgrading by enzyme biocatalysis, *Electron. J. Biotechnol.*, 2011, vol. 14, no. 6, p. 9.
104. Ryan, M., Walsh, G., The biotechnological potential of whey, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 2016, vol. 15, p. 479.
105. Sitanggang, A.B., Drews, A., Kraume, M., Development of a continuous membrane reactor process for enzyme-catalyzed lactulose synthesis, *Biochem. Eng. J.*, 2016, vol. 109, p. 65.

106. Bhattacharjee, S., Sarker, D., Kinetic study of enzymatic hydrolysis of lactose in whey, *Int. J. Chem. Eng. Res.*, 2017, vol. 9, no. 2, p. 223.
107. Mota, M.V.T., Ferreira, I.M.P.L.V.O., Oliveira, M.B.P., Rocha, C., et al., Enzymatic Hydrolysis of Whey Protein Concentrates: Peptide HPLC Profiles, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 2004, vol. 27, no. 16, p. 2625.
108. Bikash C., Ghosh, Prasad, L.N., Saha N.P., Enzymatic hydrolysis of whey and its analysis, *J. Food Sci. Technol.*, 2017, vol. 54, no. 6, p. 1476.
109. Morais, H.A., Silvestre, M.P.C., Silva, M.R.V., Silva, D.M., et al., Enzymatic hydrolysis of whey protein concentrate: effect of enzyme type and enzyme: substrate ratio on peptide profile, *J. Food Sci. Technol.*, 2015, vol. 52, no. 1, p. 201.
110. Stamatelatos, K., Giantsiou, N., Diamantis, V., Alexandridis, C., et al., Biogas production from cheese whey wastewater: laboratory- and full-scale studies, *Water Sci. Technol.*, 2014, vol. 69, no. 6, p. 1320.
111. Goli, A., Shamiri, A., Khosroyar, S., Talaiekhazani, A., et al., A review on different aerobic and anaerobic treatment methods in dairy industry wastewater, *J. Environ. Treat. Tech.*, 2019, vol. 6, no.1, p. 113.
112. Bajpai, P., *Anaerobic reactors used for waste water treatment, Anaerobic technology in pulp and paper industry*, Singapore: Springer, 2017. p. 37–53.
113. Tatoulis, T.I., Tekerlekopoulou, A.G., Akrotas, C., Pavlou, S., et al., Aerobic biological treatment of second cheese whey in suspended and attached growth reactors, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2015, vol. 90, p. 2040.
114. Aspasia, A., Chatzipaschali, A., Stamatis, G., Biotechnological utilization with a focus on anaerobic treatment of cheese whey: current status and prospects, *Energies*, 2012, vol. 5, p. 3492. doi: 10.3390/en5093492.
115. Kataki, S., West, H., Clarke, M., Baruah, D., Phosphorus recovery as struvite from farm, municipal and industrial waste: Feedstock suitability, methods and pre-treatments, *Waste Manage*, 2016, vol. 49, p. 437.
116. Escalante, H., Castro, L., Besson, V., Jaimes-Estevez, J., Feasibility of the anaerobic process of cheese whey in a plug flow reactor (PFR), *Ingenieria, Investigacion y Tecnologia*, 2017, vol. 8, no. 3, p. 265.
117. Hassan, A., Nelson, B., Invited review: anaerobic fermentation of dairy food wastewater, *J. Dairy Sci.*, 2012, vol. 95, no. 11, p. 6188.
118. Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S., Inhibition of anaerobic digestion process: a review, *Bioresour. Technol.*, 2008, vol. 99, no. 10, p. 4044. doi: 10.1016/j.biortech.2007.01.057.
119. Najafpour, G.D., Hashemiyeh, B.A., Asadi, M., Ghasemi, M.B., Biological treatment of dairy wastewater in an up flow anaerobic sludge-fixed film bioreactor, *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci.*, 2008, vol. 4, p. 251.
120. Kelleher, B.P., Leahy, J.J., Henihan, A.M., O'Dwyer, T.F., et al., Advances in poultry litter disposal technology-A review. *Bioresour. Technol.* 2002, vol. 83, p. 27.
121. Audic, J.L., Chaufer, B., Daufin, G., Non-food applications of milk components and dairy co-products: A review, *Lait*, 2003, vol. 83, p. 417.
122. Dereli, R.K., Zee, F.P., Ozturk, I., Lier, J.V., Treatment of cheese whey by a cross-flow anaerobic membrane bioreactor: Biological and filtration performance, *Environ. Res.*, 2019, vol. 168, p. 109.
123. Frigon, J., Breton, J., Bruneau, T., Moletta, R., et al., The treatment of cheese whey wastewater by sequential anaerobic and aerobic steps in a single digester at pilot scale, *Bioresour. Technol.*, 2009, vol. 100, no. 18, p. 4156.
124. Gannoun, H., Khelifi, E., Bouallagui, H., Touhami, Y., et al., Ecological clarification of cheese whey prior to anaerobic digestion in up flow anaerobic filter, *Bioresour. Technol.* 2008, vol. 99, p. 6105.
125. Pilarska, A., Pilarski, K., Witaszek, K., Waliszewska, H., et al., Treatment of dairy waste by anaerobic co-digestion with sewage sludge, *Ecol. Chem. Eng. S.*, 2016, vol. 23, p. 115.
126. Гаршина Т.И., Переработка молочной сыворотки с помощью электродиализа, *Молочная промышленность*, 2012, № 11, с. 55.
127. Merkel, A., Ashrafi, A.M., An investigation on the application of pulsed electro dialysis reversal in whey desalination, *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20, no. 8, p. 1918. doi: 10.3390/ijms20081918.
128. Greiter, M., Novalin, S., Wendland, M., Kulbe, K., Desalination of whey by electro dialysis and ion exchange resins: Analysis of both processes with regard to sustainability by calculating their cumulative energy demand, *J. Membr. Sci.*, 2002, vol. 210, no. 1, p. 91.
129. Хоменков, А., Ильина, С.Ю., Кайгородова, О., Использование электродиализа в процессе переработки молочной сыворотки, *Научный диалог: Молодой учёный*, 2018, с. 31. doi: 10.18411/spc-22-01-2018-09.
130. Бахир В.М., Задорожний Ю.Г., Леонов Б.И., Паничева С.А., и др., *Электрохимическая активация: очистка воды и получение полезных растворов*, М.: ВНИИИМТ, 2001, с. 176.
131. Бахир, В.М., Электрохимическая активация: ключ к экологически чистым технологиям водоподготовки, *Водоснабжение И Канализация*, 2012, № 1–2, с. 89.
132. Bologa, M., Sprinchan, E., Bologa, Al., Recovery of lactulose products and protein-mineral concentrate, *Surf. Eng. Appl. Electrochem.*, 2008, vol. 44, p. 410. doi: 10.3103/S1068375508050128.
133. Aider, M., Gimenez-Vidal, M., Lactulose synthesis by electroisomerization of lactose: Effect of lactose

concentration and electric current density, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2012, vol. 16, p. 163.

134. Храпцов, А.Г., Евдокимов, И.А., Рябцева, С.А., Суюнчева Б.О., Изучение процесса изомеризации лактозы в лактулозу при электроактивации молочной сыворотки, *СевКавГТУ*, 2004, № 10, с. 25.
135. Sara C., Silverio E.A., Macedo, J.A.T., Rodrigues, R., Biocatalytic approaches using lactulose: end product compared with substrate, comprehensive review, *Food Science and Food Safety*, 2016, vol. 15, p. 878. doi: 10.1111/1541-4337.12215.
136. Синельников Б.М., Храпцов А.Г., Евдокимов И.А., Рябцев С.А., и др., *Лактоза и ее производные*, СПб.: Профессия, 2007, с. 768.
137. Permyakov, S., Uversky, V., Veprintsev, D., Cherskaya, A., et al., Mutating aspartate in the calcium-binding site of α -lactalbumin: effects on the protein stability and cation binding, *Protein Eng.*, 2001, vol. 14, no. 10, p. 785.
138. Ait Aissa, A., Aider, M., Lactose isomerization into lactulose in an electro-activation reactor and high-performance liquid chromatography (HPLC) monitoring of the process, *J. Food Eng.*, 2013, vol. 119, p. 115.
139. Djouab, A., Aider, M., Whey permeate integral valorisation via in situ conversion of lactose into lactulose in an electro-activation reactor modulated by anion and cation exchange membranes, *Int. Dairy J.*, 2019, vol. 89, p. 6.
140. Sprinchan, (Vrabie), E., Bologa, M., Stepurina T., Bologa Al., et al., Peculiarities of the electric activation of whey, *Surf. Eng. Appl. Electrochem.*, 2011, vol. 47, p. 66.
141. Bologa, M.K., Vrabie, E.G., Stepurina, T.G. Peculiarities of Mineralization of Concentrates at Electrophysical Treatment of Milk Whey, *Surf. Eng. Appl. Electrochem.*, 2013, vol. 49, no. 6, p. 504. doi: 10.3103/S1068375513060057.

Summary

The current state of the art on studying of whey is considered. The processes and methods of whey processing (thermal, chemical, physicochemical, biotechnological, and electrophysical) are presented. Thermal and isoelectric precipitation of proteins, using reagents and coagulants, as well as the main membrane processing methods (reverse osmosis, diafiltration, microfiltration, ultrafiltration, and nanofiltration) are described. Possibilities of effective separation of whey proteins by a combination of membrane and other methods are noted. Chromatographic methods for fractionation of whey proteins (chromatography with imitation of a moving bed, high-gradient chromatography with a magnetic trap, selective adsorption, displacement chromatography, membrane adsorption), which provide a high degree of separation, are described. Highly porous chromatographic materials providing a high flow rate, biotechnological processing methods – biosynthesis of lactulose, enzymatic hydrolysis of lactose and whey proteins, aerobic and anaerobic fermentation are considered. Electrophysical methods of processing whey (electrodialysis, electroactivation), which include electrodialysis and electroactivation, as well as electrochemical activation as a phenomenon and technology, as a new promising processing method that allows to create a waste-free cycle for obtaining valuable components and useful derivatives from whey without the use of reagents are analyzed. It is emphasized that, depending on the regimes used, protein-mineral concentrates with a predetermined protein or mineral composition are obtained with the simultaneous isomerization of lactose into lactulose. It is stated that the efficiency of methods for processing whey is ensured by a significant increase in the efficiency of technological processes, a decrease in labor costs, a reduction in the processing time and materials, and an improvement in the quality and functional properties of the final products.

Keywords: processes and methods of whey treatment, thermal, chemical, physico-chemical, biotechnological, electrophysical