

# ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОСАЖДЕНИЯ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАТЕЛЯМИ\*

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

**Ольга Михайловна Шухалова**, канд. техн. наук, руководитель отдела микробиологических исследований

E-mail: o.shukhalova@fncps.ru

**Денис Станиславович Мамыкин**, канд. техн. наук, научный сотрудник отдела микробиологических исследований

E-mail: d.mamykin@fncps.ru

**Татьяна Алексеевна Волкова**, канд. техн. наук, ученый секретарь

E-mail: t.volkova@fncps.ru

Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, г. Углич

В статье представлены результаты сравнительного исследования эффективности осаждения белковых соединений из подсырной сыворотки с использованием природных комплексообразователей, таких как хитозан и пектин. Цель исследования заключалась в сравнительном анализе эффективности осаждения белков подсырной сыворотки с использованием хитозана и пектина в качестве индивидуальных комплексообразователей для разработки усовершенствованного, экономически и технологически сбалансированного метода переработки подсырной сыворотки. Исследовано влияние технологических параметров (рН среды, температуры, концентрации осадителя, продолжительности процесса) на степень извлечения белковых фракций из восстановленной подсырной сыворотки с массовой долей сухих веществ 6,0 %. Установлено, что применение геля-хитозана позволяет достичь максимальной степени осаждения белков 26,51 % при следующих параметрах: рН 4,5 ед., температура 10–20 °С, концентрация хитозана 1,0–1,5 %, продолжительность 20–60 мин. Показано, что использование нейтрализованной формы геля-хитозана и пониженных температур может повышать эффективность процесса. Сравнительный анализ пектинов различного происхождения выявил преимущество цитрусового пектина перед яблочным, максимальная эффективность осаждения составила 19,28 и 15,66 % соответственно, однако оба вида пектина уступают хитозану по способности к осаждению. Полученные результаты демонстрируют возможность осаждения сывороточных белков природными комплексообразователями в мягких температурных условиях без применения высокотемпературной обработки, что имеет значение для энергосбережения при промышленной реализации. Наиболее перспективным направлением дальнейших исследований является комбинированное применение хитозана и пектина для изучения синергетического эффекта, разработка методов селективного фракционирования белков, технико-экономическое сравнение с существующими промышленными способами переработки сыворотки.

**Ключевые слова:** подсырная сыворотка, сывороточные белки, хитозан, пектин, денатурация, кислотно-щелочная коагуляция, изoeлектрическое осаждение

**Для цитирования:** Шухалова, О. М. Исследование эффективности осаждения сывороточных белков комплексообразователями / О. М. Шухалова, Д. С. Мамыкин, Т. А. Волкова // Молочная промышленность. 2026. № 3. С. 38–48. <https://doi.org/10.21603/1019-8946-2026-3-89>

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема рационального использования побочного молочного сырья является одним из основных вызовов современной пищевой биотехнологии. Подсырная сыворотка, образующаяся в огромных объемах при производстве сыров и творога, сохраняет около 50 % сухих веществ молока, включая высокоценные белки, лактозу, витамины и минеральные соли [1]. Длительное время сыворотка рассматривалась преимущественно как отход производства, слив которого в канализацию создавал серьезную экологическую угрозу, вызывая катастрофические последствия для водных экосистем: сброс приводил к снижению уровня растворенного кислорода до 35 000–50 000 мг/л, что влекло за собой массовую гибель водных организмов и нарушение баланса [2]. Согласно эксперт-

ным оценкам, 1 т сыворотки, сброшенная в канализацию, по уровню загрязнения сопоставима с 80 т хозяйственно-бытовых стоков<sup>1</sup>. При этом в России объем переработки сыворотки составляет лишь малую часть от образующегося количества, что многократно усиливает нагрузку на окружающую среду и приводит к потере ценного пищевого сырья. Однако в условиях перехода к экономике замкнутого цикла и ресурсосберегающим технологиям сыворотка приобрела статус стратегического вторичного сырья. Ее глубокая переработка позволяет не только минимизировать экологический ущерб, но и получать продукты с высокой добавленной стоимостью, что превращает убыточный процесс утилизации в рентабельное производство [3].

\*Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FGUS – 2024-0007 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

<sup>1</sup>Сергей Баранов: одна тонна выброшенной сыворотки сопоставима с 80 тоннами канализационных стоков: [Электронный ресурс]. URL: [https://milknews.ru/index/novosti-kompaniy-molochnoy-otrasli/novosti-kompaniy\\_1230.html](https://milknews.ru/index/novosti-kompaniy-molochnoy-otrasli/novosti-kompaniy_1230.html) (дата обращения: 12.02.2026).

Фундаментальный вклад в развитие научных основ переработки молочной сыворотки внесли труды А. Г. Храмцова, И. А. Евдокимова, Л. Р. Алиевой, Е. И. Мельниковой, Г. Б. Гаврилова и других ученых, заложивших методологию комплексного использования сыворотки и создания безотходных технологий [4]. Развитие современных методов переработки, включая мембранные технологии (нанофильтрацию, ультрафильтрацию, обратный осмос, электродиализ), позволяет не только концентрировать и фракционировать ценные компоненты сыворотки, но и решать проблемы переработки ее кислых видов, которые ранее считались технологически сложными [5].

Наибольшую практическую ценность в составе сыворотки представляют сывороточные белки. Основу белкового состава молочной сыворотки (70–80 %) формируют четыре ключевые фракции:  $\beta$ -лактоглобулин (35–50 %), выполняющий функцию переносчика жирорастворимых витаминов;  $\alpha$ -лактальбумин (20–25 %), участвующий в синтезе лактозы; бычий сывороточный альбумин (5–10 %), обеспечивающий транспорт питательных веществ; иммуноглобулины (10–15 %), формирующие пассивный иммунитет. Белки, содержащиеся в подсырной сыворотке, обладают высокой биологической доступностью и содержат все незаменимые аминокислоты, включая лейцин, изолейцин и валин, которые играют важную роль в метаболизме мышечной ткани [6].

На протяжении десятилетий основными способами извлечения белка из сыворотки являлись термическое (тепловая денатурация при 85–95 °С) и изоэлектрическое осаждение (доведение рН до 4,4–4,6 ед., соответствующего изоэлектрической точке основных сывороточных белков) [7]. Различные комбинации термокислотных методов широко изучены, технологически отработаны и достаточно просты в реализации. Однако они обладают рядом недостатков: высокие энергозатраты, отсутствие селективности (осаждается смесь денатурированных белков),

образование мелкодисперсной взвеси, трудно поддающейся сепарации. Перечисленные ограничения стимулировали научный поиск альтернативных, более щадящих и селективных технологий, а также комбинированных подходов, сочетающих различные физико-химические воздействия [4].

В настоящее время общепризнанным является мнение, что наиболее эффективный путь совершенствования технологии – не поиск единственного универсального метода, а комбинирование различных физико-химических воздействий. В этом контексте особую перспективу представляет использование природных комплексообразователей – биополимеров, способных вступать в электростатическое взаимодействие с белковыми молекулами и формировать легко отделяемые комплексы [8].

Среди широкого спектра комплексообразователей (пектин, карбоксиметилцеллюлоза, танин, альгинаты) особое место занимает хитозан – природный линейный полисахарид, способный взаимодействовать с белками и образовывать эмульсии, гели, выступать в качестве стабилизатора и антиоксиданта [9, 10]. Кроме того, хитозан обладает и другими уникальными свойствами [11], такими как способность формировать пленки и полиэлектролитные комплексы, обладает высокой сорбционной активностью, биосовместимостью, биоразлагаемостью и нетоксичностью. Благодаря этому хитозан нашел свое применение в пищевой промышленности, где используется в качестве функциональной добавки [10].

Фундаментальные основы применения хитозана для фракционирования белков молока в России были заложены в работах И. А. Евдокимова, Л. Р. Алиевой и их научной школы. В рамках данных исследований детально изучены механизмы ионного взаимодействия хитозана с казеином и сывороточными белками, оптимизированы технологические параметры процесса, а также разработаны технологии получения белковых концентратов, гипоаллергенной сыворотки и кисломолочных продуктов с хитозаном<sup>2</sup> [12–15].

Однако, несмотря на уникальные функциональные свойства и широкую применимость хитозана, его использование в промышленных масштабах



Источник изображения: freerik.com

<sup>2</sup>Алиева, Л. Р. Разработка технологии напитков из молочной сыворотки с применением хитозана: дис. ... канд. техн. наук 05.18.04 / Алиева Людмила Руслановна. – Ставрополь, 2003. – 190 с. <https://elibrary.ru/nmhprf>



сопряжено с рядом технологических и экономических ограничений. Основным из них является высокая стоимость хитозана по сравнению с такими комплексообразователями, как пектин или танин. Кроме того, использование его высокомолекулярной формы связано с технологическими трудностями: она требует длительного и трудоемкого приготовления геля, включая растворение в уксусной кислоте, последующую нейтрализацию и этап набухания. Перспективным направлением для интенсификации процесса является применение низкомолекулярного хитозана, который растворим в воде, что значительно ускоряет и упрощает подготовку его раствора. Несмотря на указанные ограничения, использование высокомолекулярного хитозана в промышленных масштабах во многом определяется его широкой доступностью на рынке [16].

В качестве альтернативного комплексообразователя в научной литературе рассматривается пектин – анионный полисахарид растительного происхождения. Однако применение пектина сопряжено с не менее сложными проблемами, например, комкованием. Чтобы избежать его, необходимо строго соблюдать температурные режимы и обеспечивать интенсивное перемешивание для полного растворения пектина. Внесение пектина в сухом виде может привести к образованию комков и их медленному набуханию, что усложняет процесс. Также важно стандартизировать процесс его использования данной добавки [17–19].

Отдельно следует упомянуть о высокотехнологичных методах переработки, таких как ультрафильтрация, которая позволяет не только концентрировать белок, но и фракционировать его с высокой степенью чистоты. Однако главным ограничивающим фактором таких методов является высокая стоимость оборудования и мембран, а также необходимость предварительной глубокой очистки сыворотки для предотвращения засорения пор, что делает их рентабельными преимущественно на крупных перерабатывающих комплексах и менее доступными для малых предприятий [20–22].

Таким образом, имеющиеся данные характеризуют эффективность хитозана и пектина как изолированных комплексообразователей для осаждения сывороточных белков. Однако в доступных источниках отсутствуют систематические исследования, направленные на сравнительный анализ этих двух реагентов в идентичных условиях. Отсутствие таких данных не позволяет разработать экономически оптимизированную и технологически стабильную методику получения белкового концентрата, адаптированную для предприятий различного масштаба.

**Цель исследования** заключалась в сравнительном анализе эффективности осаждения белков подсырной сыворотки с использованием хитозана и пектина в качестве индивидуальных комплексообразователей для разработки усовершенствованного, экономически и технологически сбалансированного метода переработки подсырной сыворотки.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования: восстановленная подсырная сыворотка (ООО «Армада Плюс», г. о. Красногорск, Россия) с массовой долей сухих веществ  $6,0 \pm 0,1$  %, исходная и очищенная от белковых фракций (сыворотка осветленная); растворы полисахаридов – яблочный пектин (ИП Семисотов А. В. г. Лобня, Россия), цитрусовый пектин (ИП Гузаиров Ленар Абулгасович, г. Казань, Россия), хитозан (ООО Объединенная компания «ОК», г. Волгоград, Россия).

Для исследования осаждения белковых фракций молочной сыворотки использовали 2 % раствор геля хитозана. Его готовили путем растворения 1 г сухого хитозана в  $100 \text{ см}^3$  2 % раствора уксусной кислоты ( $2 \text{ см}^3$  кислоты (ООО «Химпром-М», г. Ярославль, Россия) на  $98 \text{ см}^3$  воды). Смесь перемешивали

вали 60–90 мин при комнатной температуре до получения однородного прозрачного геля без комков. Хранили в закрытой таре при температуре  $4,0 \pm 1,0$  °C не более 3 суток.

Для приготовления 2 % рабочего раствора пектина 2,0 г сухого порошка (яблочного или цитрусового) постепенно вносили в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, нагретой до 70–75 °C, при постоянном интенсивном перемешивании для предотвращения комкования. Перемешивание продолжали в течение 20–30 мин при той же температуре до получения прозрачного и однородного вязкого раствора. Затем раствор охлаждали до комнатной температуры 23–25 °C. Хранили в холодильнике при  $4,0 \pm 1,0$  °C не более 24 ч.

По истечении времени выдержки сыворотки с индивидуальными комплексообразователями образцы фильтровали через бумажный фильтр для отделения осажженных белковых соединений. Фильтрат собирали для дальнейшего анализа.

Массовую долю общего белка подсырной сыворотки до и после осветления определяли методом Кьельдаля в соответствии с ГОСТ Р 54662 – 2011<sup>3</sup>.

Расчет доли осаждения белка проводили по формуле 1:

$$k = \frac{w_1 - w_2}{w_1} \times 100 \quad (1)$$

где  $k$  – доля осаждения белка, %;  $w_1$  – массовая доля общего белка в подсырной сыворотке, %;  $w_2$  – массовая доля общего белка в осветленной подсырной сыворотке, %.

Достоверность полученных данных подтверждается проведением экспериментов не менее, чем в трехкратной повторности. Результаты представлены в форме «среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение» ( $n = 3$ ). Попарное сравнение образцов для оценки статистически значимых различий проводилось при помощи теста Тьюки. Статистическую обработку полученных данных и построение трехмерной поверхности отклика выполняли в среде статистического программирования R (версия 4.3.1) с использованием пакетов `plotly` и `rgl`.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Оценка влияния технологических факторов на эффективность осаждения белков гелем хитозаном.

На начальном этапе исследования эффективность гелем хитозана оценивали в его естественном кислотном состоянии ( $3,60 \pm 0,02$  ед.) без корректировки pH. План эксперимента, включающий варианты температуры осаждения, времени выдержки и концентрации хитозана, а также эффективность осаждения представлен в таблице 1.

Анализ данных осаждения сывороточных белков гелем хитозаном показал, что эффективность осаждения белка отличались в зависимости от условий процесса. Наибольшая доля осаждения белка ( $21,69 \pm 0,14$  %) достигнута в образце 7: pH 5,0 ед., температура 20 °C, доля хитозана 1,50 %, время 30 мин, что статистически значимо превышало результаты других образцов. Наименее эффективным оказался образец 8: pH 5,0 ед., температура 30 °C, доля хитозана 0,25 %, время 40 мин, с долей

Таблица 1. Эффективность осаждения сывороточных белков гелем хитозаном

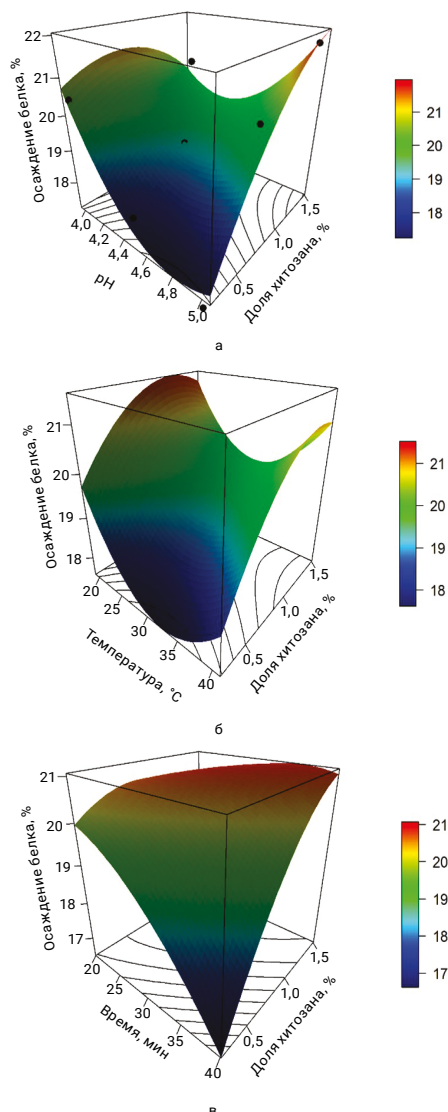
Образец	pH	Температура, °C	Доля хитозана, %	Время, мин	Массовая доля белка в сыворотке после фильтрации, %	Доля осаждения белка, %
1	$4,00 \pm 0,05$	$20,0 \pm 1,0$	$0,25 \pm 0,01$	$20,0 \pm 0,1$	$0,66 \pm 0,03^{ab}$	$20,48 \pm 0,21^{ab}$
2	$4,00 \pm 0,05$	$30,0 \pm 1,0$	$0,75 \pm 0,01$	$30,0 \pm 0,1$	$0,66 \pm 0,02^{ab}$	$20,48 \pm 0,21^{ab}$
3	$4,00 \pm 0,05$	$40,0 \pm 1,0$	$1,50 \pm 0,01$	$40,0 \pm 0,1$	$0,66 \pm 0,04^{ab}$	$20,48 \pm 0,19^{ab}$
4	$4,50 \pm 0,05$	$20,0 \pm 1,0$	$0,75 \pm 0,01$	$40,0 \pm 0,1$	$0,67 \pm 0,03^{abc}$	$19,28 \pm 0,20^{bc}$
5	$4,50 \pm 0,05$	$30,0 \pm 1,0$	$1,50 \pm 0,01$	$20,0 \pm 0,1$	$0,67 \pm 0,02^{abc}$	$19,28 \pm 0,11^{bc}$
6	$4,50 \pm 0,05$	$40,0 \pm 1,0$	$0,25 \pm 0,01$	$30,0 \pm 0,1$	$0,68 \pm 0,03^{bc}$	$18,07 \pm 0,18^{cd}$
7	$5,00 \pm 0,05$	$20,0 \pm 1,0$	$1,50 \pm 0,01$	$30,0 \pm 0,1$	$0,65 \pm 0,02^a$	$21,69 \pm 0,14^a$
8	$5,00 \pm 0,05$	$30,0 \pm 1,0$	$0,25 \pm 0,01$	$40,0 \pm 0,1$	$0,69 \pm 0,04^c$	$16,87 \pm 0,13^d$
9	$5,00 \pm 0,05$	$40,0 \pm 1,0$	$0,75 \pm 0,01$	$20,0 \pm 0,1$	$0,66 \pm 0,02^{ab}$	$20,48 \pm 0,19^{ab}$

Примечание: массовая доля белка в сыворотке до фильтрации  $0,83 \pm 0,03$  %; результаты представлены в форме «среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение» ( $n = 3$ ); данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий ( $p > 0,05$ ).

<sup>3</sup>ГОСТ Р 54662-2011 Сыры и сыры плавленые. Определение массовой доли белка методом Кьельдаля. – М.: Стандартиформ, 2012. – 15 с.

осаждения  $16,87 \pm 0,13$  %. На основании результатов эксперимента построены 3D-поверхности отклика (рис. 1), визуализирующие зависимость выхода осаждения от переменных факторов.

Анализ трехмерной поверхности показывает наличие выраженного экстремума, указывающего на оптимальные условия процесса, при которых достигается максимальная степень отделения белковых фракций (рис. 1а). Построенная поверхность демонстрирует выраженный синергетический эффект между рН и концентрацией хитозана. Наибольшие значения осаждения наблюдаются в области высоких рН (4,8–5,0) и высоких концентраций хитозана (1,3–1,5 %).



**Рисунок 1.** 3D-поверхность отклика совместного влияния факторов на эффективность осаждения белка: а) рН и доля хитозана; б) температура и доля хитозана; в) время выдержки и доля хитозана

Поверхность отклика, описывающая совместное влияние температуры и массовой доли хитозана (рис. 1б), показывает, что максимальная эффективность осаждения достигается в рамках более низких температур (на уровне 20–25 °С) и высоких концентраций хитозана (в диапазоне от 1,0 до 1,5 %). Согласно графику, максимальная эффективность осаждения наблюдается в области значений активной кислотности 5,0 ед. и массовой доли хитозана на уровне 1,2 %.

Анализ поверхности отклика для пары факторов «время – доля хитозана» (рис. 1в) показывает, что осаждение белковых фракций слабее зависит от времени процесса по сравнению с концентрацией осадителя. Наблюдаемая закономерность свидетельствует о том, что концентрация хитозана является более критичным параметром оптимизации, чем продолжительность осаждения в изученном интервале, при этом оптимум наблюдается при средних значениях времени (30–35 мин) и высоких концентрациях хитозана.

Для повышения эффективности осаждения сывороточных белков на втором этапе исследования исходная методика была оптимизирована. Ключевыми изменениями стали использование гель-хитозана с нейтральными значениями рН ( $6,65 \pm 0,05$ ) и внедрение дополнительного температурного режима выдержки при  $5,0 \pm 1,0$  °С (табл. 2).

Согласно данным таблицы 2, все варианты обработки привели к статистически значимому снижению массовой доли белка. Наибольшая эффективность осаждения ( $26,51 \pm 0,20$  %) достигнута в образце 4 – рН 4,5 ед., температура 5 °С, доля хитозана 1,0 %, время 80 мин, образце 5 – рН 4,5 ед.; температура 20 °С, доля хитозана 1,5 %, время 20 мин. Эффективность осаждения в данных образцах статистически не отличается, но достоверно превосходит другие образцы. Отмеченные образцы объединяет значение рН 4,5 ед. при различных комбинациях других факторов. На основании результатов эксперимента построены 3D-поверхности отклика, визуализирующие зависимость выхода осаждения от переменных факторов (рис. 2).

Исследование влияния активной кислотности сыворотки в сочетании с концентрацией хитозана, представленное на трехмерной поверхности (рис. 2а), показало наличие четко выраженного оптимума в диапазоне с наименьшей кислотностью.

Таблица 2. Эффективность осаждения сывороточных белков гель-хитозаном

Образец	pH	Температура, °C	Доля хитозана, %	Время, мин	Массовая доля белка в сыворотке после фильтрации, %	Доля осаждения белка, %
1	4,00 ± 0,05	5,0 ± 1,0	0,50 ± 0,01	20,0 ± 0,1	0,64 ± 0,02 <sup>a</sup>	22,89 ± 0,12 <sup>a</sup>
2	4,00 ± 0,05	20,0 ± 1,0	1,00 ± 0,01	30,0 ± 0,1	0,64 ± 0,02 <sup>a</sup>	22,89 ± 0,17 <sup>a</sup>
3	4,00 ± 0,05	40,0 ± 1,0	1,50 ± 0,01	80,0 ± 0,1	0,64 ± 0,01 <sup>a</sup>	22,89 ± 0,13 <sup>a</sup>
4	4,50 ± 0,05	5,0 ± 1,0	1,00 ± 0,01	80,0 ± 0,1	0,61 ± 0,01 <sup>c</sup>	26,51 ± 0,20 <sup>b</sup>
5	4,50 ± 0,05	20,0 ± 1,0	1,50 ± 0,01	20,0 ± 0,1	0,61 ± 0,01 <sup>c</sup>	26,51 ± 0,16 <sup>b</sup>
6	4,50 ± 0,05	40,0 ± 1,0	0,50 ± 0,01	30,0 ± 0,1	0,64 ± 0,02 <sup>a</sup>	22,89 ± 0,12 <sup>a</sup>
7	5,00 ± 0,05	5,0 ± 1,0	1,50 ± 0,01	30,0 ± 0,1	0,64 ± 0,01 <sup>a</sup>	22,89 ± 0,23 <sup>a</sup>
8	5,00 ± 0,05	20,0 ± 1,0	0,50 ± 0,01	80,0 ± 0,1	0,63 ± 0,02 <sup>ab</sup>	24,10 ± 0,21 <sup>c</sup>
9	5,00 ± 0,05	40,0 ± 1,0	1,00 ± 0,01	20,0 ± 0,1	0,62 ± 0,01 <sup>bc</sup>	25,30 ± 0,17 <sup>d</sup>

Примечание: массовая доля белка в сыворотке до фильтрации  $0,83 \pm 0,03$  %; результаты представлены в форме «среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение» ( $n = 3$ ); данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий ( $p > 0,05$ ).

Максимальные значения осаждения (на уровне 25 %) достигаются в узком диапазоне pH от 4,4 до 4,6 при концентрациях хитозана выше 1,0 %. Графики отчетливо показывают, что доля осветления сыворотки резко снижается как при смещении pH в более кислый диапазон (4,0–4,2 ед.), так и в сторону нейтральных значений (4,8–5,0 ед.).

Анализ трехмерной поверхности, отражающий совместное влияние концентрации хитозана и температуры, позволил выявить неклассическую зависимость (рис. 2б). Максимальная доля осаждения белка (превышающая 24,5 %) наблюдается не при повышенных, а при пониженных температурах, в диапазоне от 10,0 до 20,0 °C, и сочетается с высокими концентрациями хитозана (1,0–1,5 %).

Исследование графика, описывающего зависимость доли осветления от времени и концентрации хитозана (рис. 2в), позволило установить, что продолжительность процесса является значимым фактором. Максимальная эффективность осаждения наблюдается при экспозиции в 50–60 мин и концентрации хитозана 1,0–1,5 %. Полученные данные свидетельствуют: для достижения оптимального результата важен как объем вводимого гель-осадителя, так и запас времени, необходимый для завершения реакций в системе.

Проведенные исследования позволили установить оптимальные параметры процесса осаждения сывороточных белков с использованием гель-хитозана. Максимальная эффективность осаждения ( $26,51 \pm 0,18$  %) достигается при следующих условиях: pH среды 4,4–4,6 ед.; концентрация хитозана 1,0–1,5 %; температура 10–20 °C; время обработки 20–60 мин.

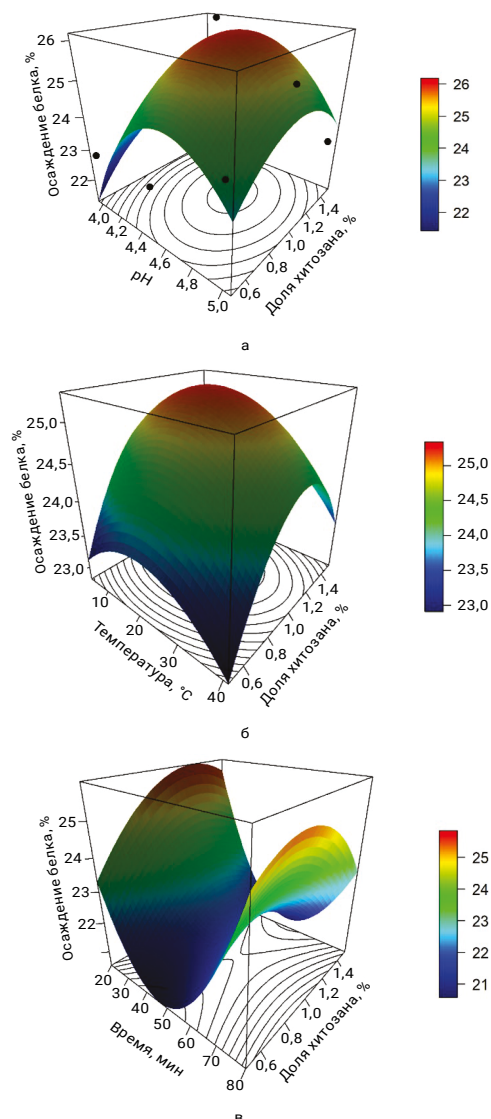


Рисунок 2. 3D-поверхность отклика совместного влияния факторов на эффективность осаждения белка: а) pH и доля хитозана; б) температура и доля хитозана; в) время выдержки и доля хитозана

Полученные результаты демонстрируют возможность эффективного использования гель-хитозана в мягких температурных условиях (10–20 °С), что имеет важное значение для энергосбережения при промышленной реализации процесса. Установленные оптимальные параметры могут быть использованы для разработки промышленной технологии осаждения сывороточных белков с применением гель-хитозана.

### Оценка влияния технологических факторов на эффективность осаждения белков пектином.

В качестве альтернативы хитозану – дорогостоящему биополимеру, перспективным представляется применение пектина. Его ключевое преимущество заключается в экономической эффективности и доступности, поскольку пектин является побочным продуктом переработки широко распространенного растительного сырья: яблочных выжимок, цитрусовых корок и жома сахарной свеклы.

Сравнительная оценка эффективности осаждения белков подсырной сыворотки проводилась с использованием 2 % растворов пектинов различного происхождения – яблочного и цитрусового. На подготовительном этапе установлены существенные различия в органолептических характеристиках и растворимости исследуемых образцов. Раствор цитрусового пектина (рис. 3б) отличался лучшей растворимостью и относительной прозрачностью, тогда как раствор яблочного пектина (рис. 3а) характеризовался интенсивной опалесценцией и наличием коричневого оттенка, что гипотетически свидетельствует о различиях в их химическом составе и степени очистки.

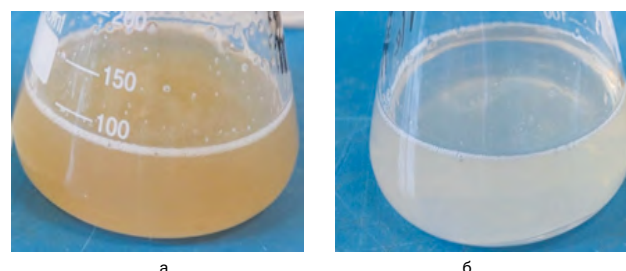


Рисунок 3. Фото 2 % растворов пектина: а) яблочный; б) цитрусовый

Эффективность осаждения сывороточных белков яблочным пектином представлена в таблице 3. Данные таблицы 3 демонстрируют статистически значимое снижение массовой доли белка в сыворотке при различных режимах обработки. Эффективность осаждения варьировалась от 8,43 до 15,66 %, что подтверждает влияние параметров процесса осаждения белка. Наибольшая эффективность была достигнута в образце 2 (15,66 ± 0,14 %) при условиях: рН 4,0, температура 30°С, концентрация пектина 1,00 %, время 30 мин.

На представленной трехмерной поверхности (рис. 4а) исследуется совместное влияние уровня активной кислотности среды и концентрации яблочного пектина на процесс осаждения белков в подсырной сыворотке. Наблюдается четкая зависимость выхода осадка от уровня активной кислотности, при этом максимальные значения осаждения, достигающие 14,0 %, сосредоточены в области низких значений рН (в диапазоне от 4,0 до 4,2) и средней доли пектина (на уровне 1,0–1,5 %).

Изучение влияния температуры и концентрации пектина показывает (рис. 4б), что данный фактор также является важным для эффективности отделения

Таблица 3. Эффективность осаждения сывороточных белков яблочным пектином при различных режимах обработки

Образец	рН	Температура, °С	Доля пектина, %	Время, мин	Массовая доля белка в сыворотке после фильтрации, %	Доля осаждения белка, %
1	4,00 ± 0,05	20,0 ± 1,0	0,25 ± 0,01	20,0 ± 0,1	0,71 ± 0,01 <sup>ab</sup>	14,46 ± 0,11 <sup>ab</sup>
2	4,00 ± 0,05	30,0 ± 1,0	1,00 ± 0,01	30,0 ± 0,1	0,70 ± 0,02 <sup>a</sup>	15,66 ± 0,14 <sup>a</sup>
3	4,00 ± 0,05	40,0 ± 1,0	2,00 ± 0,01	40,0 ± 0,1	0,73 ± 0,02 <sup>b</sup>	12,05 ± 0,12 <sup>cd</sup>
4	4,50 ± 0,05	20,0 ± 1,0	1,00 ± 0,01	40,0 ± 0,1	0,72 ± 0,01 <sup>ab</sup>	13,25 ± 0,15 <sup>bc</sup>
5	4,50 ± 0,05	30,0 ± 1,0	2,00 ± 0,01	20,0 ± 0,1	0,72 ± 0,02 <sup>ab</sup>	13,25 ± 0,09 <sup>bc</sup>
6	4,50 ± 0,05	40,0 ± 1,0	0,25 ± 0,01	30,0 ± 0,1	0,72 ± 0,02 <sup>ab</sup>	13,25 ± 0,12 <sup>bc</sup>
7	5,00 ± 0,05	20,0 ± 1,0	2,00 ± 0,01	30,0 ± 0,1	0,76 ± 0,01 <sup>d</sup>	8,43 ± 0,10 <sup>e</sup>
8	5,00 ± 0,05	30,0 ± 1,0	0,25 ± 0,01	40,0 ± 0,1	0,75 ± 0,01 <sup>cd</sup>	9,64 ± 0,12 <sup>de</sup>
9	5,00 ± 0,05	40,0 ± 1,0	1,00 ± 0,01	20,0 ± 0,1	0,75 ± 0,01 <sup>cd</sup>	9,64 ± 0,15 <sup>de</sup>

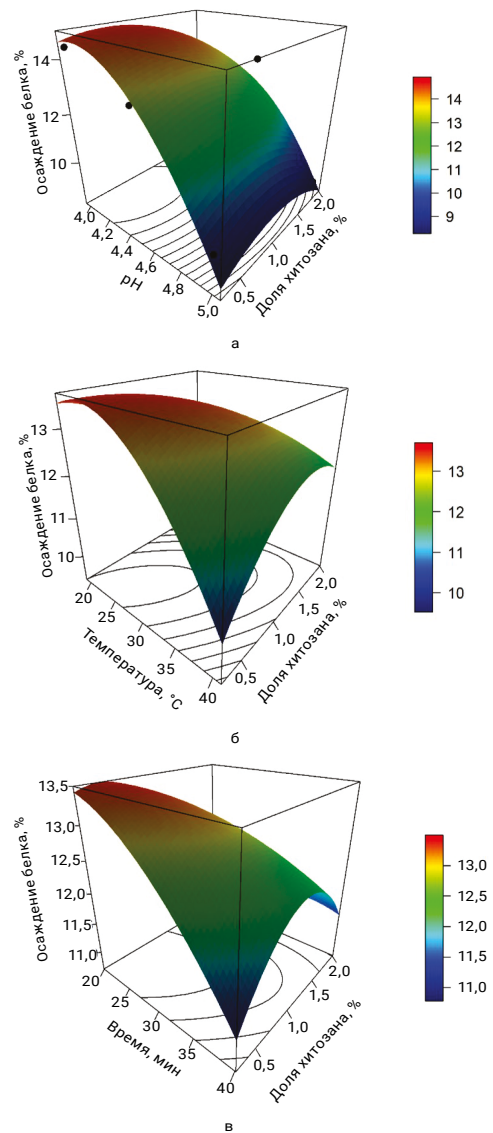
Примечание: массовая доля белка в сыворотке до фильтрации 0,83 ± 0,03 %; результаты представлены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение» (n = 3); данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий (p > 0,05).

белка. Исследование трехмерной поверхности показало, что с повышением температуры от 20 °С до 40 °С процент осаждения закономерно снижается, достигая максимальных значений при низких температурах и концентрации пектина на уровне 1,0 %.

Анализ зависимости осаждения от времени выдержки и доли пектина (рис. 4в) выявляет менее выраженную динамику по сравнению с другими факторами, при этом отмечена сложная, нелинейная взаимосвязь. Вопреки ожидаемому плавному росту, максимальная эффективность осаждения (13 %) наблюдается не в конце, а в середине исследуемого временного интервала (30–35 мин), в сочетании с низкой долей пектина (0,5 %). При дальнейшем увеличении времени до 40 мин эффективность процесса заметно снижается. Аналогичная обратная зависимость прослеживается и для концентрации пектина – увеличение его доли свыше 1,0 % последовательно приводит к уменьшению эффективности отделения белка от сыворотки.

После завершения серии экспериментов с яблочным пектином следующим этапом работы стало исследование осаждающей способности цитрусового пектина. Цитрусовый пектин, получаемый из кожуры апельсинов, лимонов или грейпфрутов, отличается от яблочного пектина как по химическому составу, так и по физико-химическим свойствам. Основные различия между пектинами заключаются в степени этерификации, молекулярной массе и содержании нейтральных сахаров. Данные различия могут существенно влиять на способность к комплексообразованию с белками. Целью данного этапа стало изучение эффективности цитрусового пектина при осаждении сывороточных белков. Исследование проводили по схеме, аналогичной опытам с яблочным пектином: четыре фактора (рН, температура, дозировка и время) варьировались в тех же диапазонах. Такой подход обеспечил сопоставимость результатов и позволил напрямую сравнить эффективность двух типов полисахаридов.

В таблице 4 представлены экспериментальные данные по осаждению сывороточных белков цитрусовым пектином. Применение цитрусового пектина позволило достичь более высокой степени осаждения сывороточных белков по сравнению с яблочным пектином (табл. 3). Наивысшая эффективность отмечена в образце 2, где массовая доля осажденного белка составила  $19,28 \pm 0,16$  %, что на 3,62 % превышает максимальный показатель, достигнутый с яблочным пектином ( $15,66 \pm 0,14$  %).



**Рисунок 4. 3D-поверхность отклика совместного влияния факторов на эффективность осаждения белка: а) рН и доля пектина; б) температура и доля пектина; в) время выдержки и доля пектина**

Несмотря на более низкие значения массовой доли белков в осветленной сыворотке в условиях проведенного эксперимента, абсолютные значения эффективности осаждения остаются технологически недостаточными. Показатель в  $19,28 \pm 0,16$  % свидетельствует о том, что в растворе сохраняется свыше 80 % белков, что ограничивает потенциал метода для нужд молочной промышленности.

Анализ трехмерной поверхности, отражающей совместное влияние активной кислотности и концентрации цитрусового пектина на процесс осаждения белков подсырной сыворотки (рис. 5а), демонстрирует четкую зависимость осаждения белковых фракций от исследуемых факторов. Отмечена область

Таблица 4. Эффективность осаждения сывороточных белков цитрусовым пектином

Образец	pH	Температура, °C	Доля пектина, %	Время, мин	Массовая доля белка в сыворотке после фильтрации, %	Доля осаждения белка, %
1	4,00 ± 0,05	20,0 ± 1,0	0,25 ± 0,01	20,0 ± 0,1	0,68 ± 0,01 <sup>ab</sup>	18,07 ± 0,14 <sup>ab</sup>
2	4,00 ± 0,05	30,0 ± 1,0	1,00 ± 0,01	30,0 ± 0,1	0,67 ± 0,01 <sup>b</sup>	19,28 ± 0,16 <sup>a</sup>
3	4,00 ± 0,05	40,0 ± 1,0	2,00 ± 0,01	40,0 ± 0,1	0,68 ± 0,01 <sup>ab</sup>	18,07 ± 0,12 <sup>ab</sup>
4	4,50 ± 0,05	20,0 ± 1,0	1,00 ± 0,01	40,0 ± 0,1	0,70 ± 0,02 <sup>a</sup>	15,66 ± 0,15 <sup>c</sup>
5	4,50 ± 0,05	30,0 ± 1,0	2,00 ± 0,01	20,0 ± 0,1	0,72 ± 0,01 <sup>c</sup>	13,25 ± 0,11 <sup>d</sup>
6	4,50 ± 0,05	40,0 ± 1,0	0,25 ± 0,01	30,0 ± 0,1	0,70 ± 0,01 <sup>a</sup>	15,66 ± 0,16 <sup>c</sup>
7	5,00 ± 0,05	20,0 ± 1,0	2,00 ± 0,01	30,0 ± 0,1	0,75 ± 0,02 <sup>d</sup>	9,64 ± 0,10 <sup>e</sup>
8	5,00 ± 0,05	30,0 ± 1,0	0,25 ± 0,01	40,0 ± 0,1	0,71 ± 0,02 <sup>ac</sup>	14,46 ± 0,14 <sup>cd</sup>
9	5,00 ± 0,05	40,0 ± 1,0	1,00 ± 0,01	20,0 ± 0,1	0,71 ± 0,01 <sup>ac</sup>	14,46 ± 0,12 <sup>cd</sup>

Примечание: массовая доля белка в сыворотке до фильтрации 0,83 ± 0,03 %; результаты представлены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение» (n = 3); данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий (p > 0,05).

экстремума, в которой осаждение достигает максимальных значений на уровне выше 18,0 %, она локализована в диапазоне низких значений активной кислотности (на уровне 4,0–4,2 ед. pH) и средней доли пектина (1,0 %). При отклонении от полученного оптимума в сторону более высоких значений pH или крайних значений концентрации цитрусового пектина эффективность осаждения заметно снижается, что подтверждает критическую роль кислотности среды и дозировки осадителя в формировании белково-пектиновых комплексов.

Построенный график поверхности (рис. 5б) наглядно демонстрирует влияние температуры и дозировки пектина. Установлено, что роль температурного режима статистически значима, однако его воздействие проявляется слабее. Максимальная степень осаждения, достигающая 17,0 %, наблюдается в области относительно высоких температур (в диапазоне от 30 до 35 °C) и средней концентрации пектина (1,5 %). При этом изменение температуры в изученном диапазоне 20–35 °C оказывает меньшее влияние на процесс по сравнению с вариацией доли пектина несмотря на то, что общая динамика указывает на определенное увеличение выхода осадка с ростом температуры, что, вероятно, связано с кинетическими факторами агрегации.

Анализ 3D-поверхности отклика совместного времени выдержки и доли цитрусового пектина на степень отделения белка (рис. 5в) подтверждает общую тенденцию – максимальные значения эффективности осаждения (свыше 16,0 %) сосредоточены в зоне высоких временных интервалов (20–25 мин) и низких (0,5 %) или средних (1,5 %) концентраций пектина.

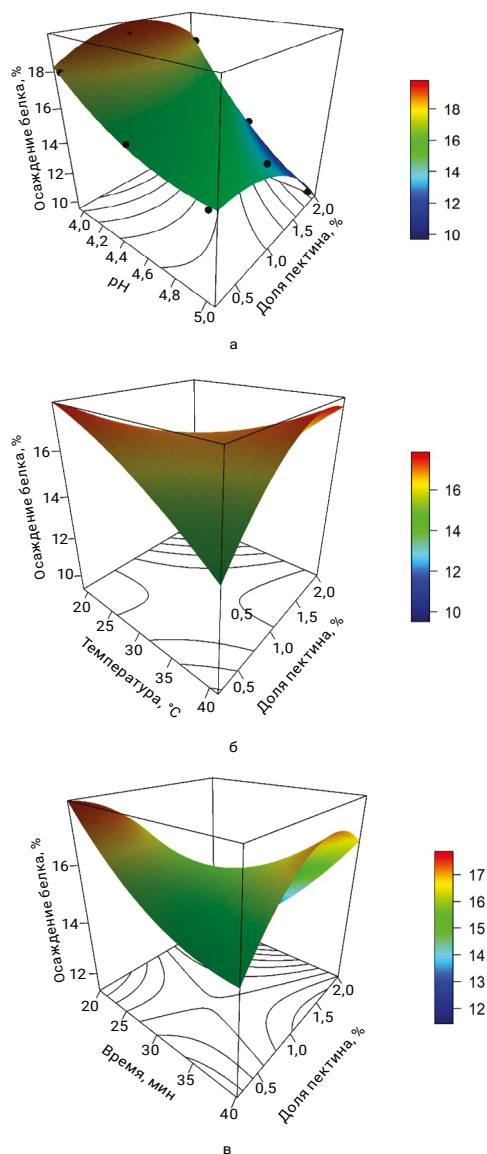


Рисунок 5. 3D-поверхность отклика совместного влияния факторов на эффективность осаждения белка: а) pH и доля пектина; б) температура и доля пектина; в) время выдержки и доля пектина

Таким образом, сравнительный анализ эффективности осаждения сывороточных белков пектинами различного происхождения показал преимущество цитрусового пектина над яблочным.

Вместе с тем абсолютные показатели эффективности осаждения остаются технологически недостаточными для обоих видов пектина – максимальное значение составило  $19,28 \pm 0,16$  % для цитрусового и  $15,66 \pm 0,14$  % для яблочного пектина, что свидетельствует о сохранении в растворе свыше 80 % белковых фракций.

## ВЫВОДЫ

Проведенный комплекс исследований осаждения белков подсырной сыворотки позволил получить данные по эффективности различных методов и установить оптимальные параметры процессов. Установлено, что применение природных комплексообразователей, таких как хитозан и пектин, позволяет осуществлять осаждение в мягких технологических режимах без использования высокотемпературной обработки.

Экспериментально подтверждено, что эффективность осаждения белков гель-хитозаном в значительной степени зависит от активной кислотности среды, концентрации осадителя, температуры и продолжительности процесса. Наибольшая степень осаждения белков с использованием гель-хитозана ( $26,51 \pm 0,18$  %) достигнута при pH 4,5 ед., температуре 5 °С, концентрации хитозана 1,0 % и времени выдержки 80 мин, а также при сопоставимой комбинации параметров – pH 4,5 ед., температура 20 °С, доля хитозана 1,5 %, время 20 мин. Оптимальными же условиями процесса отделения белка определены – pH среды 4,4–4,6 ед., концентрация хитозана 1,0–1,5 %, температура 10–20 °С, продолжительность обработки 20–60 мин.

Сравнительный анализ пектинов различного происхождения выявил преимущество цитрусового пектина перед яблочным – максимальная эффективность осаждения составила  $19,28 \pm 0,16$  и  $15,66 \pm 0,14$  % соответственно. При этом использование пектина в качестве осадителя сопровождается сохранением в растворе более 80 % белковых фракций, что свидетельствует о его более низкой технологической эффективности по сравнению с хитозаном.

Полученные данные могут служить основой для разработки ресурсосберегающих технологий переработки молочной сыворотки, адаптированных для предприятий различной мощности.

Перспективными направлениями исследований для продолжения работы являются: расширение спектра исследуемых биополимеров; комбинированное применение хитозана и пектина с целью изучения синергетического эффекта; разработка методов каскадного селективного фракционирования сывороточных белков при технико-экономическом сравнении с промышленными аналогами. ■

Поступила в редакцию: 25.02.2026

Принята в печать: 05.05.2026

Источник изображений: Getty.com



## EFFECT OF COMPLEXING AGENTS ON WHEY PROTEIN PRECIPITATION

Olga M. Shukhalova, Denis S. Mamykin, Tatiana A. Volkova

All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking – Branch of V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS, Uglich

## ORIGINAL ARTICLE

Chitosan and pectin are natural complexing agents that exert different effects on protein precipitation from cheese whey. The authors compared them as individual complexing agents to develop an economically and technologically feasible method for processing secondary dairy raw materials. The study focused on the effect of process parameters (pH, temperature, precipitant concentration, and process time) on protein extraction from reconstituted cheese whey with 6.0% solids. Chitosan gel achieved a maximum protein precipitation efficiency of 26.51% under the following conditions: pH 4.5, 10–20 °C, 1.0–1.5% chitosan, and 20–80 min. Neutralized chitosan gel and lower temperatures improved process efficiency. Citrus pectin demonstrated a higher performance (19.28%) than apple pectin (15.66%). However, both pectins were inferior to chitosan in terms of precipitation capacity. Precipitating whey proteins with natural complexing agents proved feasible under mild temperatures. They required no high-temperature treatment, which is critical for reducing energy consumption in industrial applications. Further research will investigate the synergistic effect of chitosan and pectin on selective protein fractionation, as well as provide a techno-economic comparative analysis with existing industrial whey processing methods.

**Keywords:** cheese whey, whey proteins, chitosan, pectin, denaturation, acid-base coagulation, isoelectric precipitation

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Farooq, M. A.** Whey protein: A functional and promising material for drug delivery systems recent developments and future prospects / M. A. Farooq [et al.] // *Polymers for Advanced Technologies*. 2019. Vol. 30(9). P. 2183–2191. <https://doi.org/10.1002/pat.4676>
2. **Smithers, G. W.** Whey and whey proteins – From 'gutter-to-gold' / G. W. Smithers // *International Dairy Journal*. 2008. Vol. 18(7). P. 695–704. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.008>
3. **Чеченихина, О. С.** Аспекты централизованной переработки молочной сыворотки и разработка безлактозного напитка на ее основе / О. С. Чеченихина, В.А. Лазарев, Г. Б. Пищиков // *Молочнохозяйственный вестник*. 2025. №4(60). С. 160–170. [https://doi.org/10.52231/2225-4269\\_2025\\_4\\_160](https://doi.org/10.52231/2225-4269_2025_4_160); <https://elibrary.ru/ununcg>
4. **Шухалова, О. М.** Технологические подходы к переработке молочной сыворотки для последующего применения в промышленных целях / О. М. Шухалова, Т. А. Волкова // *Сыроделие и маслоделие*. 2025. № 4. С. 40–46. <https://doi.org/10.21603/2073-4018-2025-4-39>; <https://elibrary.ru/fhxikh>
5. **Фиалкова, Е. А.** Разработка и оптимизация работы аппарата для сгущения НФ-концентрата творожной сыворотки / Е. А. Фиалкова [и др.] // *Молочнохозяйственный вестник*. 2023. № 2(50). С. 184–203. [https://doi.org/10.52231/2225-4269\\_2023\\_2\\_184](https://doi.org/10.52231/2225-4269_2023_2_184); <https://elibrary.ru/tzrjeu>
6. **Davoodi, S. H.** Health-related aspects of milk proteins / S. H. Davoodi [et al.] // *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2016. Vol. 15(3). P. 573–591. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5149046/>
7. **Haas, J.** Effects of high-temperature, short-time pasteurization on milk and whey during commercial whey protein concentrate production / J. Haas [et al.] // *Journal of Dairy Science*. 2025. Vol. 108(1). P. 257–271. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-25493>
8. **Ju, Q.** Emulsion gels formed by complexation or phase-separation using *Artemisia sphaerocephala* Krasch. Polysaccharide/whey protein isolate fibrils: Fabrication and applications / Q. Ju [et al.] // *Food Hydrocolloids*. 2025. Vol. 168. Art. no. 111579. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.111579>
9. **Agnaz, I.** Chitosan: An overview of its properties and applications / I. Aranaz [et al.] // *Polymers*. 2021. Vol. 13(19). Art. no. 3256. <https://doi.org/10.3390/polym13193256>
10. **Курченко, В. П.** Использование хитозана для получения казеина / В.П. Курченко [и др.] // *Молочная промышленность*. 2018. № 4. С. 56–57. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2018-4-56-57>; <https://elibrary.ru/ywigam>
11. **Сулейманова, Л. Р.** Применение хитозана в пищевой и других промышленностях / Л. Р. Сулейманова [и др.] // *Вестник науки*. 2020. Т. 1, № 1(22). С. 197–211. <https://elibrary.ru/gevijl>
12. **Алиева, Л. Р.** Взаимодействие хитозанов с белками молочной сыворотки / Л. Р. Алиева, [и др.] // *Вестник Северо-Кавказского государственного технического университета*. 2012. № 2(31). С. 73–77. <https://elibrary.ru/rcagqn>
13. **Курченко, В. П.** Механизм взаимодействия хитозана с белками молочной сыворотки / В.П. Курченко [и др.] // *Труды Белорусского государственного университета*. 2013. Т. 8(1). С. 45–51. <https://elibrary.ru/zcsoxb>
14. **Evdokimov, I. A.** Usage of chitosan in dairy products production / I. A. Evdokimov [et al.] // *Foods and Raw Materials*. 2015. Vol. 3(2). P. 29–39. <https://doi.org/10.12737/13117>
15. **Буткевич, Т. В.** Использование хитозана в производстве молочных продуктов / Т. В. Буткевич [и др.] // *Труды Белорусского государственного университета*. 2014. Т. 9(2). С. 181–190. <https://elibrary.ru/frshti>
16. **Hasanvand, E.** Fabrication and characterisation of milk proteins-chitosan complex coacervates / E. Hasanvand, S. M. A. Razavi // *International Dairy Journal*. 2023. Vol. 145. Art. no. 105716. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105716>
17. **Gu, X.** Pectin-coated whey protein isolate/zein self-aggregated nanoparticles as curcumin delivery vehicles: Effects of heating, pH, and adding sequence / X. Gu [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024. Vol. 258(1). Art. no. 128892. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128892>
18. **Liu, L.** Effects of de-esterification treatment of lemon pectin on its stable capability against protein precipitation in acidified milk drinks / L. Liu [et al.] // *EFood*. 2023. Vol. 4(3). Art. no. e97. <https://doi.org/10.1002/efd2.97>
19. **Salminen, H.** Complex coacervation and precipitation between soluble pea proteins and apple pectin / H. Salminen [et al.] // *Food Biophysics*. 2022. Vol. 17(3). P. 460–471. <https://doi.org/10.1007/s11483-022-09726-x>
20. **Chen, G. Q.** Separation technologies for whey protein fractionation / G. Q. Chen [et al.] // *Food Engineering Reviews*. 2023. Vol. 15(3). P. 438–465. <https://doi.org/10.1007/s12393-022-09330-2>
21. **Wang, Z. L.**  $\beta$ -Lactoglobulin separation from whey protein: A comprehensive review of isolation and purification techniques and future perspectives / Z. L. Wang [et al.] // *Journal of dairy science*. 2024. Vol. 107(12). P. 11785–11795. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-25321>
22. **Ye, H.** Dual-gating pH-responsive membranes with the heterogeneous structure for whey protein fractionation / H. Ye [et al.] // *Journal of Membrane Science*. 2022. Vol. 641. Art. no. 119849. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2021.119849>