

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2026-9-2-306-315>

Поступила 05.05.2026

Поступила после рецензирования 06.06.2026

Принята в печать 10.06.2026

© Мамыкин Д. С., Шухалова О. М., Волкова Т. А., Бородин А. В., Григорьева А. И., 2026

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Открытый доступ

ОЦЕНКА МЕТОДОВ ОСАЖДЕНИЯ БЕЛКОВ ПОДСЫРНОЙ СЫВОРОТКИ ПО ЭФФЕКТИВНОСТИ И ФРАКЦИОННОМУ СОСТАВУ

Мамыкин Д. С.*, Шухалова О. М., Волкова Т. А., Бородин А. В., Григорьева А. И.

Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия, Углич, Ярославская область, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

сывороточные белки, хитозан, денатурация, кислотно-целочная коагуляция, изоэлектрическое осаждение

Подсырная сыворотка является крупнотоннажным побочным продуктом переработки молока и характеризуется высокой биологической ценностью. Однако ее нерациональное использование может приводить к существенной экологической нагрузке. Одним из способов решения данной проблемы является выделение и фракционирование белков, эффективность которых существенно зависит от применяемого метода. В работе проведена сравнительная оценка четырех способов обработки восстановленной подсырной сыворотки (массовая доля сухих веществ 6,0%), таких как осаждение хитозаном (pH 4,5; 20 °C; 1 % геля; 20 мин), термокислотная коагуляция (pH 4,65; 90 °C; 15 мин) с использованием молочной, лимонной, ортофосфорной и соляной кислот, криокислотное осаждение (pH 4,5; минус 18 °C; 24 ч) и ультрафильтрация (спиральные мембраны с порогом отсека 10 кДа). В ходе исследования определяли долю выделенного белка, фракционный состав растворимых азотистых соединений методом гель-фильтрации и удельные операционные затраты. Максимальную эффективность отделения белка обеспечила ультрафильтрация ($65,92 \pm 0,59\%$), которая оказалась на порядок дешевле (≈ 112 руб/м³) всех химических методов. Среди термокислотных вариантов наиболее эффективными показали себя лимонная ($57,83 \pm 0,51\%$) и соляная ($56,63 \pm 0,55\%$) кислоты. Хитозан и криокислотная обработка показали низкую общую эффективность ($26,51 \pm 0,20\%$ и $25,30 \pm 0,15\%$ соответственно). Анализ фракционного состава супернатанта продемонстрировал, что термокислотная коагуляция и ультрафильтрация привели к полному удалению β -лактоглобулина и БСА. Осаждение хитозаном обеспечило сохранение нативного профиля всех основных сывороточных белков и способствовало удалению лишь балластных примесей. Криокислотный метод продемонстрировал уникальную селективность, практически полное удаление пептидов при сохранении нативных α -лактальбумина и β -лактоглобулина. Предложена поэтапная стратегия фракционирования: обработка хитозаном для удаления примесей, отделение пептидов криокислотным способом с последующим выделением нативных белков ультрафильтрацией или термокислотным методом.

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

Received 05.05.2026

Accepted in revised 06.06.2026

Accepted for publication 10.06.2026

© Mamykin D. S., Shukhalova O. M., Volkova T. A., Borodina U. V., Grigorieva A. I., 2026

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

EVALUATION OF CHEESE WHEY PROTEIN PRECIPITATION METHODS BASED ON EFFICIENCY AND FRACTIONAL COMPOSITION

Denis S. Mamykin*, Olga M. Shukhalova, Tatiana A. Volkova, Ulyana V. Borodina, Anastasia I. Grigorieva

All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking, Uglich, Yaroslavl Region, Russia

KEYWORDS:

whey proteins, chitosan, denaturation, acid-base coagulation, isoelectric precipitation

ABSTRACT

Cheese whey is a large-scale by-product of milk processing, characterized by high biological value. However, its irrational use can lead to a serious environmental burden. One of the ways to solve this problem is the isolation of proteins and their fractionation, the efficiency of which significantly depends on the method used. In this work, a comparative assessment of four methods of processing reconstituted cheese whey (6.0% dry matter mass fraction) was carried out, such as chitosan precipitation (pH 4.5; 20 °C; 1% gel; 20 min), thermal acid coagulation (pH 4.65; 90 °C; 15 min) using lactic, citric, phosphoric and hydrochloric acids, cryo-acid precipitation (pH 4.5; -18 °C; 24 h) and ultrafiltration (spiral membranes with a cutoff threshold of 10 kDa). The study determined the proportion of precipitated protein, the fractional composition of soluble nitrogenous compounds using gel filtration, and specific operating costs. Ultrafiltration provided the highest efficiency of protein separation ($65.92 \pm 0.59\%$), which also turned out to be an order of magnitude cheaper (≈ 112 rubles/m³) than all chemical methods. Among the thermal acid options, citric ($57.83 \pm 0.51\%$) and hydrochloric ($56.63 \pm 0.55\%$) acids proved to be the most effective. Chitosan and cryo-acid treatment showed low overall efficiency ($26.51 \pm 0.20\%$ and $25.30 \pm 0.15\%$, respectively). Analysis of the fractional composition of the supernatant showed that thermal acid coagulation and ultrafiltration completely removed β -lactoglobulin and BSA. Chitosan precipitation preserved the native profile of all major whey proteins, removing only ballast impurities. The cryoacid method demonstrated unique selectivity, virtually completely removing peptides while preserving native α -lactalbumin and β -lactoglobulin. A step-by-step fractionation strategy is proposed: treatment with chitosan to remove impurities, cryoacid separation of peptides, followed by isolation of native proteins by ultrafiltration or the thermal acid method.

FUNDING: The article was prepared as part of research carried out on a government assignment № FGUS-2024-0007 V. M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мамыкин, Д. С., Шухалова О. М., Волкова, Т. А., Бородин А. В., Григорьева, А. И. (2026). Оценка методов осаждения белков подсырной сыворотки по эффективности и фракционному составу. *Пищевые системы*, 9(2), 306–315. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2026-9-2-306-315>

FOR CITATION: Mamykin, D. S., Shukhalova, O. M., Volkova, T. A., Borodina, U. V., Grigorieva, A. I. (2026). Evaluation of cheese whey protein precipitation methods based on efficiency and fractional composition. *Food Systems*, 9(2), 306–315. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2026-9-2-306-315>

1. Введение

Подсырная сыворотка является побочным продуктом переработки молока, образующимся в процессе производства сыра. Ее объем составляет от 80 до 90% (в зависимости от технологических факторов и типов сыра) от общего объема молока, направленного на производство сыра [1–3]. Согласно экономическим прогнозам, к 2030 году ежегодный объем образования сыворотки в мире может достичь от 203 до 241 миллионов тонн [2]. Непереработанная подсырная сыворотка представляет серьезную угрозу для окружающей среды и создает экономические проблемы для перерабатывающих предприятий агропромышленного комплекса [4–6]. Сточные воды сыродельных предприятий, содержащие подсырную сыворотку, зачастую не подвергаются первичной обработке и направляются на централизованные очистные сооружения или поля фильтрации, что влечет значительные финансовые затраты по их очистке [6]. Более того, при попадании молочной сыворотки в водоемы высокое содержание в ней легкоокисляемых органических соединений приводит к снижению концентрации растворенного кислорода, а белковые частицы могут вызывать процессы гниения, нанося вред водным организмам и окружающей среде в целом [6–8].

Наряду с проблемой утилизации актуальным является вопрос вторичного использования подсырной сыворотки, обусловленный ее высокой биологической ценностью. Перешедшие в сыворотку составные части молока включают половину сухих веществ исходного сырья, при этом энергетическая ценность достигает 37% [1,3,4,6]. Несмотря на потерю наиболее калорийных компонентов (жира и казеина), подсырная сыворотка является богатым источником биологически активных компонентов, в особенности белков [1,9], среднее содержание которых может достигать до 1% [4].

Белковый состав сыворотки представлен преимущественно β -лактоглобулином (β -Lg), составляющим 50–55% от общего белка, и α -лактальбумином (α -La) с долей 20–25% [10]. Помимо них в подсырной сыворотке присутствуют гликомакропептиды (GMP), бычий сывороточный альбумин (BSA), иммуноглобулины (Ig), лактоферрин (LF), лактопероксидаза (LP), протеозо-пептоны (PP) и др. [4,6,11–14]. Гликомакропептиды содержатся только в подсырной сыворотке, образующейся при производстве сыров с использованием молокосвертывающих ферментных препаратов [14].

Выделение и концентрирование белковых компонентов является основой современной переработки сыворотки. Так, рациональное использование подсырной сыворотки позволяет применять ее в качестве сырья для производства сывороточных белков в виде сухой сыворотки (8–12% белка), концентратов (КСБ, 35–80% белка), изолятов (ИСБ, до 90% белка), гидролизатов (ГСБ, менее 80% белка) и отдельных белковых фракций [3,11–17]. В частности, отдельные фракции и высокоочищенные белки, полученные из подсырной сыворотки, могут использоваться в качестве ингредиентов для специализированного питания, в том числе детского, спортивного и геродиетического [14,18–20], фармацевтических препаратов [14,21] и других пищевых продуктов [14,18], а также для производства пленок для упаковки (например, сыра) [22]. Поскольку эффективность и область применения конечных продуктов напрямую зависят от состава и свойств выделенных белков, возникает необходимость в выборе оптимальных методов их фракционирования. По типу движущей силы все методы осаждения, концентрирования и фракционирования подсырной сыворотки можно разделить на несколько групп:

- баромембранные;
- электромембранные;
- термические;
- диффузионные;
- хроматографические;
- иммуномагнитные;
- гибридные.

Баромембранные методы, движущей силой которых является избыточное давление, включают обратный осмос, нанофильтрацию, ультрафильтрацию, микрофильтрацию и диафильтрацию. Обратный осмос позволяет концентрировать все компоненты сухого остатка сыворотки, в том числе сывороточные белки, при этом образуется высокоочищенный пермеат, который можно использовать как техническую воду. Процесс проводят при температуре $(29 \pm 1)^\circ\text{C}$ и давлении $(2,9 \pm 0,3)$ МПа, повышая содержание сухих веществ до 20% [23–26]. Нанофильтрация (размер пор 1–10 нм, давление 1,5–2,5 МПа) позволяет одновременно концентрировать сыворотку до 24% сухих ве-

ществ и проводить частичную деминерализацию (удаление до 40% одновалентных ионов) [26,27]. При помощи ультрафильтрации с использованием мембран с порогом отсеивания 10 кДа, при температуре ниже 50–55 $^\circ\text{C}$ и давлении 0,1–1,0 МПа получают сывороточные белковые концентраты с содержанием белка 35–80% [26,27]. Однако основным ограничением ультрафильтрации считается низкая селективность при разделении α -La (14 кДа) и β -Lg (18 кДа). В одноступенчатых процессах чистота α -La достигает лишь 40–60% [14]. Для решения этой проблемы применяют комбинацию ультрафильтрации с другими методами, в частности микрофильтрацию (размер пор 0,1–10 мкм, 50–55 $^\circ\text{C}$, TMP 0,1–1,0 бар). Микрофильтрация обеспечивает эффективную предварительную обработку сыворотки с удалением казеиновой пыли, жира и бактерий [9,26]. Дополнительно для повышения чистоты белковых изолятов используют диафильтрацию, позволяющую вымывать лактозу и минеральные вещества и повышать массовую долю белка в сухом веществе до 90% [26].

Методы, основанные на использовании электрического поля (электромембранные), включают электродиализ, электроультрафильтрацию, электродиализ с ультрафильтрационными мембранами и биполярный электродиализ. Классический электродиализ служит предварительной стадией деминерализации для подготовки сыворотки к последующей электроультрафильтрации [28]. Электроультрафильтрация позволяет достичь фактора разделения лактоферрина и α -лактальбумина, равного 9,1, при этом требует высокого энергопотребления и предварительного обессоливания [28]. Электродиализ с ультрафильтрационными мембранами обеспечивает перенос лактоферрина из сыворотки в среднем до 15% (в модельных растворах до 46%), но ограничен адсорбцией белков на мембранах [14,28]. Биполярный электродиализ при снижении уровня активной кислотности в сыворотке до 5,0 ед. pH обеспечивает осаждение более 90% β -лактоглобулина с чистотой до 98%, при этом характеризуется неполным разделением α -La и β -Lg [14,28].

Термические методы, основанные на температурном градиенте, включают простую термическую коагуляцию, кислотно-термическую коагуляцию, термокальциевое осаждение, селективное осаждение и криоконцентрирование. Простая термическая коагуляция (90–95 $^\circ\text{C}$, 5–20 мин) обеспечивает выход 20–40%, но при этом вызывает необратимую денатурацию белков и потерю растворимости [3,9,26,27,29]. Кислотно-термическая коагуляция (pH 4,5 ед., 90–95 $^\circ\text{C}$) более эффективна, так как эффективность отделения белковых фракций достигает 40–55% [3,29,30]. Еще более высокую степень выделения белка (60–65%) обеспечивает безреагентный метод А. Г. Храмова, в котором используют обезжиренное молоко (сквашенное бактериальными культурами до 120 $^\circ\text{T}$, 30% от массы смеси, нагрев до 90 $^\circ\text{C}$) [31]. Другим подходом является термокальциевое осаждение (50 $^\circ\text{C}$, pH 7,3–7,5 ед., ионы Ca^{2+}), которое позволяет осадить α -La, β -Lg и другие белки [26]. Для селективного выделения α -лактальбумина применяют осаждение с использованием тринатрийцитрата (60 г/л, 50 $^\circ\text{C}$, pH 3,4 ед., 120 мин), который обеспечивает чистоту α -La 91,3% [32]. Наряду с тепловыми методами, принципиально иной подход представляет криоконцентрирование, который включает в себя 4 цикла заморозки и позволяет сконцентрировать сухие вещества до 35% при содержании белковых фракций до 20% [3,16,33].

Еще один принцип разделения основан на использовании химического потенциала (концентрационного градиента) — это так называемые диффузионные методы, к которым относятся высаливание, двухфазная экстракция, осаждение хитозаном, полиакриловой и трихлоруксусной кислотами. Высаливание 7% NaCl при pH 2,0 ед. обеспечивает выход β -лактоглобулина до 68% при чистоте на уровне 80% [34]. Более высокую эффективность демонстрирует двухфазная экстракция с использованием полиэтиленгликоля (PEG), которая позволяет выделить до 99% β -Lg (чистота до 95%) и α -La до 97% (чистота до 91%), однако после фракционирования требует удаления PEG [14,26].

Отдельную группу представляют методы осаждения полимерами и кислотами. Осаждение хитозаном при оптимальных условиях позволяет выделить до 90% β -лактоглобулина. Однако метод имеет ограничения, такие как критичность к ионной силе, ингибирование ионами кальция, а также эффективность только на сыворотке с низкой кислотностью [26,35]. Что касается осаждения кислотами, то полиакриловая кислота позволяет неселективно осадить до 70% белковых фракций, а трихлоруксусная кислота — до 87% [26].

Принципиально иной подход к разделению белков реализован в хроматографических методах (ионообменная, аффинная и мем-

¹ Залашко, М. В., Залашко, Л. С. (1976). Микробный синтез на молочной сыворотке. Минск: Наука и техника. — 274 с.

² Алиева, Л. Р. (2021). Научно-практические аспекты направленной биотрансформации белковой системы молока катионным полисахаридом хитозаном для создания технологий молочных продуктов здорового питания [Автореферат диссертации]. Ставрополь: Северо-Кавказский федеральный университет.

бранная хроматография), где разделение происходит за счет сорбционного взаимодействия. Ионообменная хроматография демонстрирует высокие показатели выхода лактоферрина (эффективность до 77 % и чистота до 89 %), лактопероксидазы (эффективность до 92 % и чистота до 99 %) и α -лактальбумина (эффективность до 80 % и чистота до 97 %). Однако для β -лактоглобулина чистота доходит максимум до 50 % из-за близости изоэлектрических точек, при этом метод требует подбора буферов и имеет низкую производительность [14]. Аффинная хроматография обеспечивает чистоту лактоферрина > 95 %, α -лактальбумина — до 90 %, β -лактоглобулина — до 96 % и лактопероксидазы 0 до 80 %. При этом она ограничена высокой стоимостью лигандов и сложностью масштабирования [14]. Мембранная хроматография позволяет удалять до 96 % β -Lg и повышает чистоту α -La, лактоферрина, иммуноглобулина выше 90 % при высокой производительности. Недостатки — низкая емкость, концентрационная поляризация и деградации мембран [14,36].

Альтернативным подходом является магнитная сепарация, основанная на иммобилизации специфических лигандов на магнитных наночастицах — иммуномагнитные методы. Для лактоферрина достигнута связывающая способность до 164 мг/г носителя. Однако десорбция целевого белка требует жестких условий, что приводит к его денатурации [14].

Учитывая ограничения как традиционных, так и специализированных методов, все большее внимание привлекают комбинированные (гибридные) подходы, позволяющие объединить преимущества разных принципов разделения и минимизировать их недостатки. Так, комбинация термической обработки, микрофильтрации и ультрафильтрации позволяет обеспечивать чистоту α -La до 91,3 % и β -Lg до 97,2 % [14]. Сочетание ультрафильтрации и высокого давления для молочной сыворотки позволяет выделить β -Lg > 80 % и обеспечить степень очистки α -La > 80 % [37]. Комбинация ферментативного гидролиза и ультрафильтрации позволяет получить α -La с чистотой до 95 % [14].

Таким образом, проведенный анализ литературных данных свидетельствует о том, что существующие методы выделения белков подсырной сыворотки обладают различными ограничивающими их применение недостатками, такими как низкая селективность, необратимая денатурация, высокая стоимость. Однако большинство опубликованных научных данных получены в различных условиях, что не позволяет напрямую сопоставить методы между собой по ключевым критериям, таким как доля осажденного белка, фракционный состав остаточных растворимых соединений и экономические затраты. В связи с этим необходима прямая сравнительная экспериментальная оценка.

Цель данного исследования — экспериментально определить эффективность выделения сывороточных белков, изменение фракционного состава растворимых азотистых соединений и удельные экономические затраты при использовании различных методов выделения в идентичных условиях.

2. Материалы и методы

Объектами исследования являлись восстановленная дистиллированная вода подсырной сыворотки (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 органических и неорганических кислот в качестве осадителя белковых фракций — ортофосфорная, соляная, молочная, лимонная (ООО «Химпром-М», г. Ярославль, Россия); раствор хитозана (ООО Объединенная компания «ОК», г. Волгоград, Россия).

Выполнен обзор доступных научных литературных источников, соответствующих тематике. Для систематического поиска информации привлекались как международные, так и российские библиографические платформы и репозитории: PubMed (биомедицинская база данных Национального центра биотехнологической информации США), ScienceDirect (издательство Elsevier, Нидерланды), Академия Google (Google Scholar), а также электронные библиотеки eLibrary.ru и «КиберЛенинка».

Для приготовления модельного раствора подсырной сыворотки с массовой долей сухих веществ 6,0 % использовали сухую подсырную сыворотку. Навеску сухого продукта массой ($60,0 \pm 0,1$ г) растворяли в дистиллированной воде, нагретой до температуры (40 ± 1) °С, при постоянном перемешивании до полного исчезновения видимых частиц. Объем доводили до 1,0 дм³ дистиллированной водой. Восстановленную сыворотку фильтровали через бумажный фильтр для удаления нерастворившихся частиц и использовали далее для экспериментов по осаждению белков.

Для исследования осаждения белковых фракций молочной сыворотки использовали 2 % раствор гель-хитозана. Его готовили путем

растворения 1 г сухого хитозана в 100 см³ 2 % раствора уксусной кислоты (2 см³ кислоты на 98 см³ воды). Смесь перемешивали (75 ± 5) минут при комнатной температуре до получения однородного прозрачного геля без комков. Затем доводили гель-хитозан до значений pH ($6,65 \pm 0,05$) 30 %-ным раствором щелочи NaOH. Хранили в закрытой таре при температуре ($4,0 \pm 1,0$) °С не более 3 суток. Восстановленную подсырную сыворотку доводили до температуры (20 ± 1) °С и при перемешивании вносили в нее подготовленный гель хитозана из расчета 10 см³ геля на 1 дм³ сыворотки. Далее активную кислотность смеси доводили до значения pH ($4,50 \pm 0,05$) ед. pH путем добавления раствора молочной кислоты (концентрация 80 %). Смесь выдерживали без перемешивания в течение ($20,0 \pm 0,1$) мин при температуре (20 ± 1) °С (Вариант 1). По истечению времени образец фильтровали через бумажный фильтр для отделения осажденных белковых соединений. Фильтрат собирали для дальнейшего анализа.

Для исследования процесса термокислотного осаждения сывороточных белков были выбраны кислоты различной природы: неорганические (соляная, ортофосфорная) и органические (молочная, лимонная). Активную кислотность восстановленной подсырной сыворотки доводили до pH ($4,65 \pm 0,05$) ед. pH путем пошагового добавления соответствующей кислоты:

- Вариант 2—80,0 % молочная кислота ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$);
- Вариант 3—99,5 % лимонная кислота ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$);
- Вариант 4—85,0 % ортофосфорная кислота (H_4PO_4);
- Вариант 5—35,0 % соляная кислота (HCl).

Подкисленную восстановленную подсырную сыворотку нагревали до температуры (90 ± 1) °С при непрерывном перемешивании и выдерживали при (90 ± 1) °С в течение ($15,0 \pm 0,1$) мин без перемешивания. По окончании выдержки смесь охлаждали до 20–25 °С. После охлаждения образцы фильтровали через бумажный фильтр для отделения осажденных белковых соединений. Фильтрат собирали для дальнейшего анализа.

Оценку влияния осаждения сывороточных белков криокислотным способом проводили путем осаждения сывороточных белков методом комбинированного воздействия низких значений pH и отрицательных температур. Активную кислотность восстановленной сыворотки доводили до значения pH ($4,50 \pm 0,05$) ед. pH путем добавления раствора молочной кислоты (концентрация 80 %). Подкисленные образцы сыворотки помещали в морозильную камеру с установленной температурой минус ($18,0 \pm 1,0$) °С. Продолжительность выдержки при данной температуре составила ($24,0 \pm 0,1$) часа. По истечении времени замораживания образцы извлекали из морозильной камеры и оставляли для дефростации при комнатной температуре ($23,0 \pm 1,0$) °С до полного перехода в жидкое состояние (Вариант 6). Полностью размороженные образцы фильтровали через бумажный фильтр для отделения осажденных сывороточных белков. Фильтрат собирали для дальнейшего анализа.

Для фракционирования белков подсырной сыворотки использовали пилотную ультрафильтрационную установку (УФ) UFALIMA BIS 10000 (ALIMA-BIS Food Processing Technology, Польша). Установка оснащена спиральными мембранными модулями с мембраной типа KOCH NF Dairy-PR O. Эксперименты проводили на двух технологических контурах. Контур 1 NF: толщина прокладки канала — 31 mil (0,787 мм), количество модулей — 4, каждый модуль содержал 3 мембранных элемента. Общая рабочая площадь мембран составляла 198 м². Давление на входе в контур поддерживали на уровне 6,5 бар, температура сыворотки в процессе составляла ($5,7 \pm 0,5$) °С. Контур 2 NF: толщина прокладки канала — 31 mil (0,787 мм), количество модулей — 3, по 3 мембраны в каждом, общая площадь 148 м². Давление на входе — 6,5 бар, температура сыворотки — ($7,5 \pm 0,5$) °С. Перед началом работы мембраны предварительно промывали и калибровали согласно инструкции производителя. Сыворотку подавали из сборной емкости с помощью насоса высокого давления. Фильтрацию проводили в режиме периодического концентрирования. Пермеат собирали для дальнейшего анализа (Вариант 7).

В восстановленной подсырной сыворотке и осветленной сыворотке определяли массовую долю общего белка методом Кельдаля по ГОСТ Р 54662–2011³.

Изменения в количественном и качественном составе белковых фракций оценивали по пептидным профилям, которые получали методом гель-фильтрации высокого разрешения на приборе AKTA pure 25 (Швеция) с использованием хроматографической колонки Superose 6 Increase 10/300 GL (Cytiva, Швеция). Подготовка образца для гель-фильтрации включала взятие навески пробы, растворение ее в растворе буфера, отделение нерастворимых в воде

³ ГОСТ Р 54662–2011 Сыры и сыры плавленые. Определение массовой доли белка методом Кельдаля. М.: Стандартинформ, 2012. — 15 с.

фракций фильтрованием или центрифугированием. Скорость подачи элюента составляла 0,5 см³/мин, элюент — водный раствор 0,01 М Na₂HPO₄·12H₂O, 0,14 М NaCl. Длина волны детектора — 280 нм. Калибровку колонки проводили по времени выхода белковых веществ с известной молекулярной массой: IgG (180 кДа), альдолаза (158 кДа), BSA (69 кДа), овалбумин (43 кДа), β-Lg (36,0 кДа), α-La (14,4 кДа), цитохром С (12,3 кДа), триптофан (0,204 кДа). Калибровочный график был построен на основе логарифмической регрессионной модели⁴.

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, %.

Расчет экономических затрат на переработку 1 м³ подсырной сыворотки различными методами проводился на основе моделирования технологического процесса и калькуляции прямых операционных расходов. В расчете учитывались следующие ключевые компоненты: энергозатраты на термообработку (нагрев, выдержка) или криообработку (охлаждение, заморозка, хранение); стоимость расходных материалов, главным образом, реагентов-осадителей (хитозан, кислоты). Расчет не учитывал амортизационные отчисления на используемое оборудование и затраты на человеческий труд (человеко-часы), так как исследование было сфокусировано на сравнении технологических режимов.

Расчет необходимой тепловой энергии ($Q_{\text{нагрев}}$) для нагрева 1 м³ сыворотки от начальной температуры (T_0) до заданной технологической температуры (T_1) производился по формуле 2:

$$Q_{\text{нагрев}} = m \times c \times \Delta T, \quad (2)$$

где: $Q_{\text{нагрев}}$ — количество необходимой тепловой энергии, кДж; m — масса продукта, принимаемая как 1024 кг для 1 м³, исходя из средней плотности сыворотки (1024 кг/м³), кг; c — удельная теплоемкость сыворотки, принятая равной 3,9 кДж/(кг·°C) на основании литературных данных, кДж/(кг·°C); ΔT — разность между заданной технологической температурой и начальной, °C.

Для учета энергии, затрачиваемой на поддержание температуры в течение времени выдержки, рассчитывались теплотери в окружающую среду через стенки термостатированного танкера по формуле 3:

$$Q_{\text{пот}} = k \times S \times \Delta T' \times t_{\text{выд}}, \quad (3)$$

где: $Q_{\text{пот}}$ — количество энергии, затрачиваемой на поддержание температуры в течение времени выдержки, кДж; k — коэффициент теплопередачи изоляции танкера, принятый за 0,35 Вт/(м²·°C) для стандартного промышленного оборудования, Вт/(м²·°C); S — площадь поверхности теплообмена танкера объемом 1 м³, рассчитанная геометрически (≈ 5,65 м²), м²; $\Delta T'$ — разность температур между продуктом и окружающей средой, °C; $t_{\text{выд}}$ — время выдержки, с.

Суммарные энергозатраты переводились в киловатт-часы (кВт·ч) с учетом коэффициента полезного действия (КПД) теплообменного оборудования, принятого за 0,95 для электрических нагревателей.

Расчет необходимой энергии на охлаждение до точки замерзания проводили по формуле 4:

$$Q_1 = m \times c \times (T_{\text{нач}} - 0), \quad (4)$$

где: Q_1 — количество необходимой энергии на охлаждение до точки замерзания, кДж; m — масса продукта, принимаемая как 1024 кг для 1 м³, исходя из средней плотности сыворотки (1024 кг/м³), кг; c — удельная теплоемкость сыворотки, принятая равной 3,9 кДж/(кг·°C) на основании литературных данных, кДж/(кг·°C); $T_{\text{нач}}$ — начальная температура подсырной сыворотки, °C.

Расчет необходимой энергии на заморозку проводили по формуле 5:

$$Q_2 = m \times L, \quad (5)$$

где: Q_2 — количество необходимой энергии на заморозку, кДж; m — масса продукта, принимаемая как 1024 кг для 1 м³, исходя из средней плотности сыворотки (1024 кг/м³), кг; L — удельная теплота кристаллизации сыворотки, принятая за 280 кДж/кг.

Дополнительно рассчитывались затраты на компенсацию теплотери при хранении в течение 24 часов по формуле, аналогичной $Q_{\text{пот}}$ (формула 3), но с использованием коэффициента k для морозиль-

ного оборудования (0,2 Вт/(м²·°C)) и соответствующей ΔT . Эффективность холодильной установки характеризовалась холодильным коэффициентом (COP). Суммарные теплотери были пересчитаны в фактическое электропотребление, где COP принят равным 2,2.

Стоимость энергоресурсов и реагентов были приняты: тариф на электроэнергию — 7,0 руб. за 1 кВт·ч, что соответствовало среднерыночным промышленным тарифам; стоимость реагентов (хитозан, кислоты) рассчитывалась исходя из их розничных оптовых цен, процентного расхода или фактического расхода.

Итоговые затраты на переработку 1 дм³ сыворотки по каждому исследуемому варианту определялись суммированием затрат на электроэнергию и реагенты.

Достоверность полученных данных подтверждалась проведением экспериментов не менее чем в 3-кратной повторности. Для каждого метода проводилась оценка погрешности, которая складывалась из погрешностей измерения объемов, температур, времени и колебаний рыночных цен на реагенты и электроэнергию. Для статистического анализа использовали стандартные методы, реализованные в программе Microsoft Excel и в программной среде R (версия 4.3.1) с использованием пакетов rcomp и RColorBrewer. Для визуализации взаимосвязи между удельными экономическими затратами и долей осажденного белка построена диаграмма рассеяния. Оценку наличия статистически значимых различий между группами методов предварительно проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), после чего применяли апостериорный тест Тьюки, статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Анализ главных компонент (PCA) проводили на матрице, включающей значения всех идентифицированных белковых фракций для трех повторностей каждого из пяти исследуемых образцов (исходная сыворотка, осветленная сыворотка после хитозана, термокислотной коагуляции, криокислотного осаждения, ультрафильтрации). Данные центрировали и масштабировали (приводили к единичной дисперсии). Вычисление главных компонент выполняли с использованием сингулярного разложения. Результаты визуализированы в виде графика координат объектов в пространстве первых двух главных компонент, где каждая группа образцов обведена окружностью, охватывающей все три повторности. Результаты представлены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение» ($n = 3$).

3. Результаты и обсуждение

В ходе экспериментальной работы проведена сравнительная оценка семи способов обработки подсырной сыворотки, различающихся по физико-химическому принципу воздействия на белковую фазу: осаждение хитозановым гелем (Вариант 1), термокислотная коагуляция (Варианты 2–5), криокислотное осаждение (Вариант 6), а также ультрафильтрация (Вариант 7) как референтный мембранный метод. Для каждого из исследованных вариантов определяли два ключевых параметра, характеризующих технологическую и экономическую эффективность. Полученные данные систематизированы и приведены в Таблице 1.

Таблица 1. Эффективность отделения белка и экономические затраты при различных способах осаждения

Table 1. Efficiency of protein separation and economic costs at different precipitation methods

№ варианта	Способ осаждения белка	МД белка в сыворотке до отделения, %	Доля осаждения белка, %	Затраты на переработку 1 м ³ сыворотки, руб.
1	Хитозановый	0,83 ± 0,03	26,51 ± 0,20 ^a	1156,1 ± 11,6 ^a
2	Термокислотный (молочная кислота)		51,81 ± 0,57 ^b	887,4 ± 8,9 ^b
3	Термокислотный (лимонная кислота)		57,83 ± 0,51 ^c	727,8 ± 7,3 ^b
4	Термокислотный (ортофосфорная кислота)		53,01 ± 0,50 ^b	787,9 ± 7,9 ^b
5	Термокислотный (соляная кислота)		56,63 ± 0,55 ^c	679,3 ± 6,8 ^b
6	Криокислотный		25,30 ± 0,15 ^a	822,5 ± 8,2 ^b
7	Ультрафильтрация		65,92 ± 0,59 ^d	111,9 ± 15,3 ^d

Примечание: результаты представлены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение» ($n = 3$).

Буквенные обозначения указывают на статистически однородные группы в рамках столбца, где образцы с одинаковыми буквами не имеют достоверных различий между собой ($p \geq 0,05$), образцы с разными буквами статистически значимо различаются ($p \leq 0,05$).

⁴ Kuchroo, C. N. Soluble nitrogen in Cheddar cheese: Comparison of extraction procedures / C. N. Kuchroo, P. F. Fox // Milchwissenschaft. — 1982. — Vol. 37. — P. 331–335.

Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) выявил статистически значимые различия между семью способами обработки подсырной сыворотки как по доле осажденного белка ($p < 0,001$), так и по удельным экономическим затратам ($p < 0,001$). Результаты множественных сравнений (тест Тьюки, $\alpha = 0,05$) представлены в Таблице 1 в виде буквенных индексов.

Анализ данных, представленных в Таблице 1, позволил выявить несколько устойчивых закономерностей. По эффективности осаждения ультрафильтрация (Вариант 7) статистически значимо превосходила все химические методы (Варианты 1–6). Полученные значения доли осаждения белка ($65,92 \pm 0,59\%$) оказались несколько ниже характерных для ультрафильтрации подсырной сыворотки (80–99% [38,39]), что объясняется использованием восстановленной сыворотки (частичная агрегация белков), низкой температурой процесса (5–8 °C вместо 40–55 °C) и концентрационной поляризацией в спиральных мембранных модулях. При этом по сравнению с химическими методами ультрафильтрация остается значительно более эффективной.

Среди термокислотных вариантов образцы с лимонной (Вариант 3) и соляной кислотами (Вариант 5) образовали наиболее эффективную подгруппу (с), тогда как молочная (Вариант 2) и ортофосфорная кислоты (Вариант 4) давали достоверно более низкие показатели (b). Отмеченное различие объясняется разной буферной емкостью кислот, что ранее отмечено в работах по термокоагуляции [27,30]. Наименее эффективными оказались хитозановое (Вариант 1) и криокислотное осаждение (Вариант 6), которые между собой не различались ($a, p \geq 0,05$). Низкая эффективность хитозана в исследуемых условиях согласуется с данными, полученными при селективном осаждении хитозаном конкретной белковой фракции [35,40].

По удельным затратам ультрафильтрация (Вариант 7) оказалась на порядок дешевле любого химического метода. Среди химических способов хитозан (Вариант 1) являлся самым дорогим и образовал отдельную статистическую группу, тогда как все остальные методы попали в одну однородную группу. Таким образом, внутри группы химических методов отсутствует прямая зависимость между стоимостью и эффективностью: самый дорогой метод обеспечивает одну из самых низких эффективностей, а более дешевые — вдвое более высокий выход белка.

Для визуального исследования возможной связи между затратами и эффективностью по данным Таблицы 1 построили диаграмму рассеяния (Рисунок 1). Как видно из графика (Рисунок 1А), выделялось обособленное положение ультрафильтрации (Вариант 7) за счет минимальных затрат и максимальной эффективности. Остальные шесть методов расположены в правой части поля рассеяния с более высокими затратами и вариабельной эффективностью, при этом внутри этой группы точки распределены хаотично, без выраженной закономерности.

Количественную оценку монотонной связи дал коэффициент ранговой корреляции Спирмена. При включении всех семи методов (Рисунок 1А) получена статистически значимая отрицательная корреляция, указывающая на то, что в целом снижение затрат сопро-

вождалось повышением доли извлеченного белка. Однако высокая отрицательная связь полностью обусловлена включением в расчет ультрафильтрации. После ее исключения (Рисунок 1Б) и анализа только шести методов корреляция стала статистически незначимой ($\rho = -0,771$; $p = 0,1028$). Следовательно, внутри группы химических способов осаждения отсутствовала достоверная зависимость между экономическими затратами и эффективностью осаждения белка.

Таким образом, проведенный анализ показал, что выбор способа обработки подсырной сыворотки не может определяться только двумя критериями. Решающее значение приобретает селективность метода — его способность преимущественно осаждать определенные белковые фракции, сохраняя при этом в растворе другие ценные компоненты в нативном состоянии. В связи с этим следующим этапом работы являлось исследование фракционного состава водорастворимых азотистых соединений, остающихся в осветленной сыворотке после каждого вида обработки (Рисунок 2 и Таблица 2). Поскольку предварительный анализ показал, что фракционный состав водорастворимых азотистых соединений, остающихся в осветленной сыворотке после термокислотного осаждения (Варианты 2–5), не зависел от вида использованной кислоты, в дальнейшем для этого способа приведены данные, полученные с использованием молочной кислоты (Вариант 2). Она рассматривается как репрезентативный представитель группы термокислотных методов.

Исследование методов осаждения белка из подсырной сыворотки позволило не только оценить их общую эффективность и экономику, но и определить ценность каждого подхода для решения задачи фракционного разделения белков. Исходный состав водорастворимого белка подсырной сыворотки (Рисунок 2 и Таблица 2) представлял собой сложную композицию, где основными целями для выделения могут являться ценные сывороточные протеины — β -лактоглобулин и α -лактальбумин, а также фракция протеозопептонов и пептидов.

Для оценки селективности методов был проведен однофакторный дисперсионный анализ фракционного состава осветленной сыворотки. Установлено, что для всех семи фракций наблюдались статистически значимые различия между пятью методами обработки (во всех случаях $p < 0,001$).

Термокислотные способы (на примере осаждения молочной кислотой — Вариант 2) проявили себя как методы грубого разделения. При общей эффективности осаждения 52–58% (Таблица 1) они привели к денатурации и осаждению основных сывороточных белков. После термокислотной обработки β -лактоглобулин и БСА в осветленной сыворотке полностью отсутствовали, что соответствует литературным данным [41–43]. В осветленной сыворотке доля α -лактальбумина снизилась, вследствие чего удельное содержание протеозопептонов и пептидов возросло. Таким образом, термокислотный способ (Вариант 2) не подходит для получения нативных изолятов, но технологически ценен для эффективного отделения белковой массы, предназначенной для пищевых, комбикормовых или биотехнологических производств, где сохранение нативной структуры не критично [44,45].

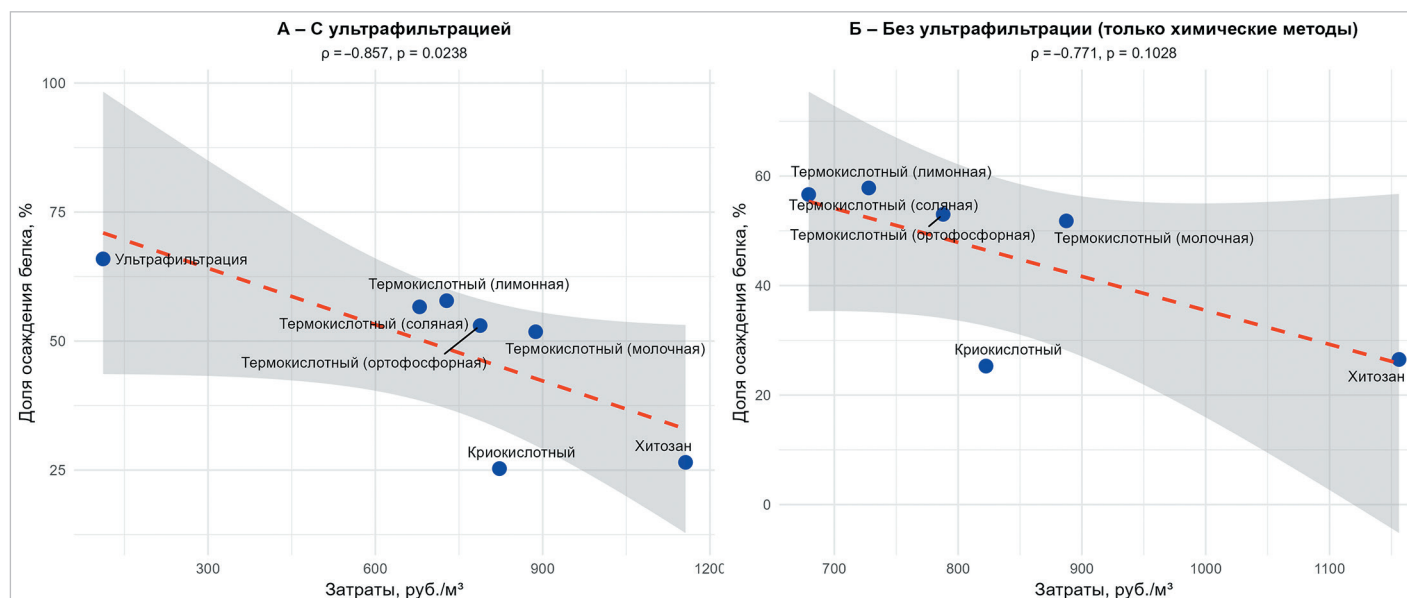


Рисунок 1. Диаграмма рассеяния зависимости доли осажденного белка от удельных затрат на переработку подсырной сыворотки (А — с учетом всех методов (Варианты 1–7), Б — без учета ультрафильтрации (Варианты 1–6))

Figure 1. Scatter plot of the dependence of the proportion of precipitated protein on the specific costs of the cheese whey processing (А — with regard to all methods (variants 1–7), Б — without regard for ultrafiltration (variants 1–6))

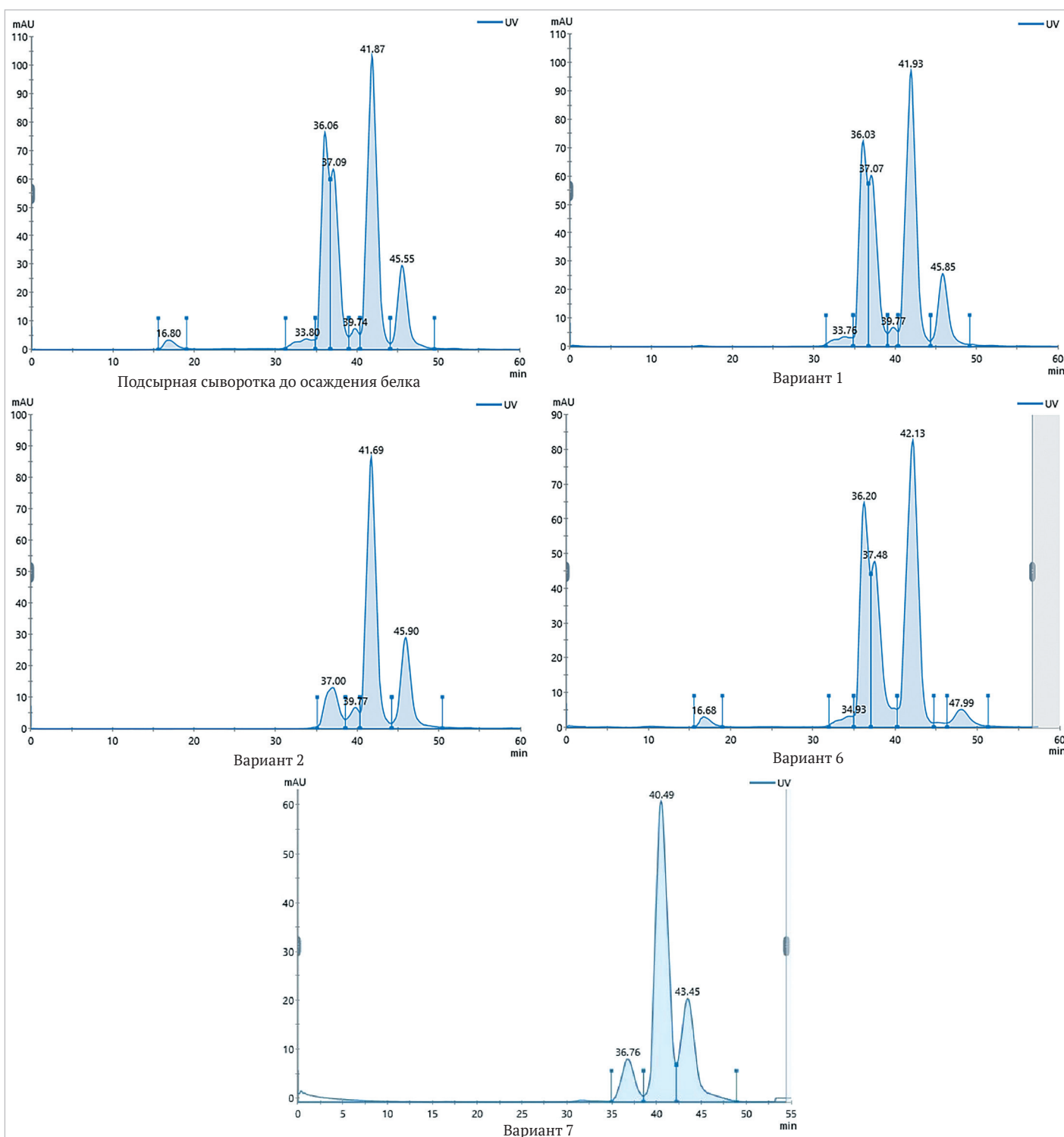


Рисунок 2. Диаграмма молекулярно-массового распределения белковых фракций в водном экстракте осветленной сыворотки
Figure 2. Diagram of molecular weight distribution of protein fractions in the aqueous extract of clarified whey

Таблица 2. Молекулярно-массовое (ММ) распределение растворимых азотистых соединений в водном экстракте осветленной сыворотки

Table 2. Molecular weight (MW) distribution of soluble nitrogenous compounds in the aqueous extract of clarified whey

Белковая фракция*	Исходная подсырная сыворотка	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 6	Вариант 7
Свободный объем, %	1,48 ± 0,15 ^a	0 ^b	0 ^b	1,55 ± 0,16 ^a	0 ^b
БСА, %	2,65 ± 0,27 ^a	2,46 ± 0,25 ^a	0 ^b	2,16 ± 0,22 ^a	0 ^b
β-лактоглобулин, %	23,23 ± 2,23 ^a	23,71 ± 2,37 ^a	0 ^b	26,81 ± 2,68 ^a	0 ^b
α-лактаальбумин, %	20,27 ± 2,07 ^a	20,70 ± 2,07 ^a	13,25 ± 1,33 ^b	22,41 ± 2,24 ^a	9,68 ± 0,97 ^c
Протеозопептоны	40,45 ± 3,38 ^a	41,95 ± 3,98 ^a	64,04 ± 5,95 ^b	43,35 ± 4,34 ^a	63,69 ± 6,37 ^b
Пептиды, %	11,92 ± 1,19 ^a	11,18 ± 1,12 ^a	22,71 ± 2,27 ^b	3,72 ± 0,37 ^c	26,63 ± 2,66 ^b

Примечание: доля от общего количества водорастворимых белковых фракций.

Результаты представлены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение» (n = 3).

Буквенные обозначения указывают на статистически однородные группы в рамках строки, где образцы с одинаковыми буквами не имеют достоверных различий между собой ($p \geq 0,05$), образцы с разными буквами статистически значимо различаются ($p \leq 0,05$).

В противоположность термокислотному методу осаждение хитозаном (Вариант 1), несмотря на невысокую общую эффективность, показало возможности для более тонкого разделения. Статистический анализ не выявил значимых различий между показателями после обработки хитозаном и исходной сывороткой для всех фракций, за исключением полного исчезновения свободного объема. Так, количество β -лактоглобулина, α -лактальбумина, протеозопептона и пептидов осталось на уровне исходных значений ($p > 0,05$). Следовательно, хитозан осаждал преимущественно балластные примеси (сырную пыль, жировые шарики), не затрагивая нативные сывороточные белки. Полученные данные, на первый взгляд, противоречили известному факту о селективности хитозана по отношению к сывороточным белкам [31,40,46]. Однако отмеченное несоответствие обусловлено различиями в целевых задачах. В ранее опубликованных работах оптимизация условий осаждения хитозаном была направлена на достижение максимальной эффективности выделения конкретного белка (например, β -лактоглобулина) [31,40], тогда как в нашем исследовании оценивалась общая доля осажденного белка и изменение фракционного состава в целевых задачах. В ранее опубликованных работах оптимизация условий осаждения хитозаном была направлена на достижение максимальной эффективности выделения конкретного белка (например, β -лактоглобулина) [31,40], тогда как в нашем исследовании оценивалась общая доля осажденного белка и изменение фракционного состава в целевых задачах. В ранее опубликованных работах оптимизация условий осаждения хитозаном была направлена на достижение максимальной эффективности выделения конкретного белка (например, β -лактоглобулина) [31,40], тогда как в нашем исследовании оценивалась общая доля осажденного белка и изменение фракционного состава в целевых задачах. В ранее опубликованных работах оптимизация условий осаждения хитозаном была направлена на достижение максимальной эффективности выделения конкретного белка (например, β -лактоглобулина) [31,40], тогда как в нашем исследовании оценивалась общая доля осажденного белка и изменение фракционного состава в целевых задачах.

Наиболее интересная селективность была продемонстрирована криокислотным методом (Вариант 6). При общей эффективности осаждения ($25,30 \pm 0,15\%$) исследуемый способ обеспечил практически полное удаление фракции пептидов. Тест Тьюки подтвердил, что криокислотный метод статистически отличается от всех остальных. В отличие от традиционного криоконцентрирования, которое не удаляет пептиды селективно, а лишь концентрирует все фракции [16], исследуемая комбинация подкисления и заморозки привела к избирательному осаждению пептидов, предположительно, содержащих высокую долю гидрофобных аминокислот (триптофан, тирозин, фенилаланин, лейцин и ряд других), которыми богаты белки сыворотки. В то же время основные глобулярные белки остались в растворе: количество β -лактоглобулина и α -лактальбумина не имели значимых отличий от исходного уровня. Сохранение нативной структуры α -лактальбумина при замораживании подтверждено в работе Cochachín-Guerra B. в соавторстве с другими исследователями [48], где показано, что *in vitro* перевариваемость белка после криоконцентрирования не отличается от нативного. Таким образом, криокислотная обработка была признана прямым путем для выделения и концентрирования пептидов из подсырной сыворотки с сохранением нативных сывороточных белков в супернатанте.

Ультрафильтрация (Вариант 7), использованная как референтный мембранный метод, по фракционному профилю оказалась близка к термокислотному осаждению. В результате ультрафильтрации было достигнуто полное удаление β -лактоглобулина и БСА, значительное снижение удельного количества α -лактальбумина и накопление протеозопептонов и пептидов. Это объясняется тем, что мембраны с отсечением 10 кДа задерживают большинство глобулярных белков, но пропускают протеозопептоны и пептиды с молекулярной массой менее 10 кДа [36,49]. Статистически ультрафильтрация не отличалась от термокислотного метода по большинству фракций (например, для пептидов оба имели индекс а), за исключением более низкого содержания α -лактальбумина.

Для выявления многомерных закономерностей и визуализации сходства между методами обработки по фракционному составу был выполнен анализ главных компонент (PCA). Данный метод позволил снизить размерность и оценить, какие методы близки по профилю (Рисунок 3).

В результате анализа главных компонент (Рисунок 3) четко выделялись три кластера. Первый кластер объединял исходную сыворотку и образец после осаждения хитозаном (Вариант 1). Точки этих двух групп расположены в области положительных значений PC1 и PC2, что указывало на практически полное сохранение фракционного профиля сывороточных белков после обработки хитозаном. Второй кластер образовывали термокислотное осаждение (Вариант 2)

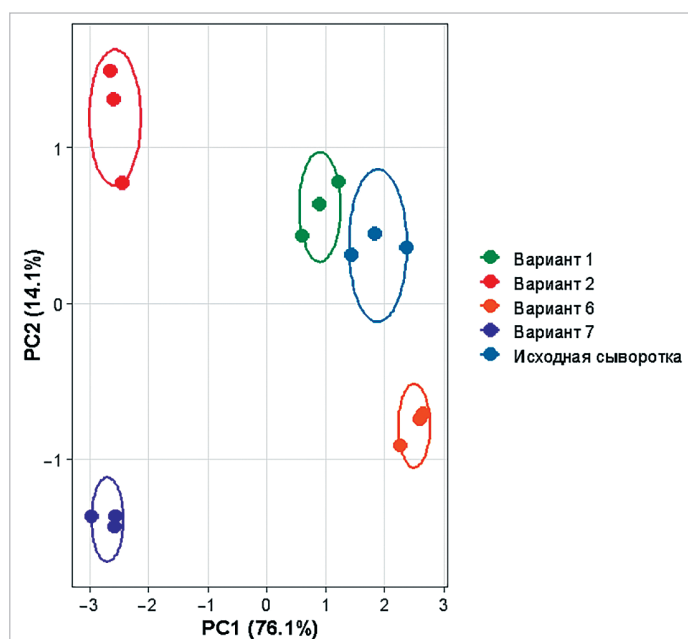


Рисунок 3. Результаты анализа главных компонент (PCA) фракционного состава сыворотки
Figure 3. Results of the principal component analysis (PCA) of the fractional composition of whey

и ультрафильтрация (Вариант 7). Их точки были сконцентрированы в области отрицательных значений PC1, при этом по показателю PC2 группа термокислотного осаждения находилась в положительной области, а группа ультрафильтрации, напротив, в отрицательной. Отмеченное сходство отражало общую черту обоих методов, такую как грубое разделение, сопровождающееся полным удалением β -лактоглобулина и БСА и увеличением удельного количества протеозопептонов и пептидов. Третий кластер был представлен только криокислотным методом (Вариант 6), занимавшим область положительных значений PC1 и отрицательных значений PC2, что соответствовало уникальной селективности этого метода.

На основании графика отмечалось, что окружности групп не перекрывались, свидетельствуя о статистически значимых различиях между фракционными профилями сывороток, осветленными различными методами. Полученные результаты анализа главных компонент согласовывались с выводами дисперсионного анализа и демонстрировали, что для поэтапного фракционирования наиболее перспективны хитозан (Вариант 1 — очистка от примесей) и криокислотный метод (Вариант 6 — удаление пептидов с сохранением нативных белков); тогда как термокислотная коагуляция (Вариант 2) и ультрафильтрация (Вариант 7) показывали сходный профиль, пригодный для получения белковых концентратов без сохранения нативной структуры.

Полученные результаты PCA согласовывались с выводами дисперсионного анализа (ANOVA) и теста Тьюки, а также демонстрировали, что для поэтапного фракционирования наиболее перспективны хитозан (очистка от примесей) и криокислотный метод (удаление пептидов с сохранением нативных белков); термокислотная коагуляция и ультрафильтрация показывали сходный профиль, пригодный для получения белковых концентратов без сохранения нативной структуры.

На основе выявленных закономерностей была предложена поэтапная стратегия фракционирования белков подсырной сыворотки. На первом этапе с помощью криокислотного метода или осаждения хитозаном возможно селективное удаление пептидов и балластных примесей при подготовке сыворотки для дальнейшей переработки. На втором этапе из осветленной сыворотки могут быть выделены целевые нативные белки. Если же задача состоит не в сохранении нативных фракций, а в максимальном извлечении белка для пищевых или кормовых целей, наиболее эффективными остаются термокислотные методы или ультрафильтрация. При этом экономические затраты коррелировали со сложностью задачи. Грубое разделение термокислотными методами обходилось в 680–890 руб./м³, тогда как многоступенчатое выделение нативных фракций с использованием хитозана или криокислотной обработки стоило дороже — от 820 до 1150 руб./м³, что было признано платой за селективность и сохранение биологической ценности получаемых компонентов.

Вместе с тем предложенная стратегия имеет ряд ограничений. Во-первых, осаждение хитозаном критично к ионной силе и pH сывотки, что может потребовать предварительной корректировки состава. Во-вторых, криокислотный метод сложен в аппаратном оформлении (низкотемпературное оборудование) и эффективен только для сывотки с низкой исходной кислотностью. В-третьих, термокислотная коагуляция и ультрафильтрация, несмотря на высокий выход белка, не позволяют получить отдельные фракции в нативном состоянии, что ограничивает их применение в производстве функциональных ингредиентов с заданными биологическими свойствами.

Представленные в работе закономерности могут служить основой для создания гибких и гибридных схем переработки подсырной сывотки, позволяющих в зависимости от целевого продукта выбирать наиболее эффективный и селективный метод осаждения. Дальнейшие исследования целесообразно направить на масштабирование криокислотного и хитозанового методов, оценку их совместимости с мембранными технологиями, а также на углубленный технико-экономический анализ в условиях реального производства.

4. Выводы

В результате сравнительной оценки семи вариантов обработки подсырной сывотки, соответствующих четырем различным физико-химическим способам (осаждение хитозаном, термокислотная коагуляция с четырьмя типами кислот, криокислотное осаждение и ультрафильтрация), установлено, что максимальную эффективность отделения белка ($65,92 \pm 0,59\%$) и минимальные удельные затраты (112 руб./м^3) обеспечивает ультрафильтрация с использованием спиральных мембран с порогом отсека 10 кДа. Полученные значения оказались несколько ниже литературных (80–99%). Это может быть связано с использованием восстановленной сывотки, низкой температурой процесса и с явлением концентрационной поляризации. Среди химических методов термокислотная коагуляция показала высокую эффективность (51,8–57,8%), причем лимонная и соляная кислоты были достоверно эффективнее молочной и ортофосфорной. Данный метод вызывает полную денатурацию β -лактоглобулина и БСА, что делает его пригодным для получения

белковой массы для кормовых, биотехнологических и пищевых производств, где сохранение нативной структуры не требуется. Осаждение хитозаном при исследуемых режимах продемонстрировало низкую общую эффективность ($26,51 \pm 0,20\%$), однако при этом полностью сохранило нативный состав основных сывоточных белков (β -лактоглобулина, α -лактальбумина, протеозопептонов и пептидов) в растворе. Данный метод способствовал удалению преимущественно балластных примесей и жировых частиц, что позволяет рекомендовать хитозан для стадии предварительной очистки сывотки перед выделением целевых нативных фракций. Отмеченная слабая селективность, вызывающая противоречие с литературными данными, объясняется различием целевых параметров. В известных работах оптимизация направлена на максимальный выход индивидуального белка (до 82%), тогда как в настоящем исследовании оценивалась общая доля осажденного белка без специальной оптимизации, что подтверждает решающую роль строгого контроля pH и условий процесса. Наиболее интересная селективность обнаружена у криокислотного метода (pH 4,5, минус 18°C , 24 ч). При низкой общей эффективности ($25,30 \pm 0,15\%$) он обеспечил практически полное удаление пептидов (снижение их доли с $11,92 \pm 1,19\%$ до $3,72 \pm 0,37\%$ при сохранении в растворе нативных β -лактоглобулина и α -лактальбумина, что открывает прямой путь для получения пептидных концентратов из подсырной сывотки. В ходе работы подтверждено, что химические методы (термокислотная коагуляция и осаждение хитозаном) оказались существенно дороже ультрафильтрации ($679\text{--}1156 \text{ руб./м}^3$ против 112 руб./м^3), при этом внутри группы химических методов отсутствует прямая корреляция между стоимостью и эффективностью осаждения белка. На основе выявленных закономерностей предложена поэтапная стратегия фракционирования: на первом этапе целесообразно использовать криокислотную обработку для удаления пептидов или осаждение хитозаном для очистки от примесей; на втором этапе — выделять нативные сывоточные белки мягкими мембранными методами либо получать белковый концентрат с помощью термокислотной коагуляции, предназначенный для пищевых, комбикормовых или биотехнологических производств, где сохранение нативной структуры не критично.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Vanany, I., Wangsa, I. D., Jeremi, N. A. (2024). A multi-objective mixed-integer linear model for sustainable dairy supply chain with food waste and environmental pollutants. *Process Integration and Optimization for Sustainability*, 8, 723–740. <https://doi.org/10.1007/s41660-023-00382-3>
- Buchanan, D., Martindale, W., Romeih, E., Hebishy, E. (2023). Recent advances in whey processing and valorisation: Technological and environmental perspectives. *International Journal of Dairy Technology*, 76(2), 291–312. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12935>
- Mota, J., Moura-Alves, M., Teixeira, A. F., Nóbrega, R., Lameirão, D., Gonçalves, C. (2026). From cheese whey to functional ingredients: Upcycling whey proteins for cardiovascular and immunomodulatory health — evidence mapping and perspectives from Portugal. *Foods*, 15(5), Article 908. <https://doi.org/10.3390/foods15050908>
- Sukmana, H., Rizwana, I., Dobozi, R., Al-Tayawi, A. N., Szabó, B. P., Özer, B. et al. (2025). A review of various protein separation techniques and valorization of cheese whey and buttermilk. *European Food Research and Technology*, 251(12), 4263–4279. <https://doi.org/10.1007/s00217-025-04877-w>
- Костенко, К. В., Костенко, Е. Г., Пойдун, Ф. А., Рехман, З. А., Аскерова, А. С., Голик, Д. Б. и др. (2026). Оптимизация процесса восстановления вторичных молочных продуктов с применением ультразвуковой обработки и исследование их стабильности. *Аграрный вестник Урала*, 26(1), 140–151. [Kostenko, K. V., Kostenko, E. G., Poydun, F. A., Rekhman, Z. A., Askerova, A. S., Golik, D. B. et al. (2026). Optimization of the regeneration process for secondary dairy products using ultrasonic treatment and a study of their stability. *Agrarian Bulletin of the Urals*, 26(1), 140–151. (In Russian)] <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2026-26-01-140-151>
- Свириденко, Ю. Я., Кравченко, Е. Ф., Яковлева, О. А. (2008). Использование молочной сывотки и локальная очистка сточных вод. *Молочная промышленность*, 11, 58–60. [Sviredenko, Yu. Ya., Kravchenko, E. F., Yakovleva, O. A. (2008). Milk whey application and local purification of effluents. *Dairy Industry*, 11, 58–60. (In Russian)]
- Semproli, R., Cassano, L., Ballabio, G., Cappelletti, G., Speranza, G., Donzella, S. et al. (2025). Upcycling cheese whey permeate into fully bio-based surfactants through fermentation and biocatalysis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 109(1), Article 270. <https://doi.org/10.1007/s00253-025-13630-y>
- Usmani, Z., Sharma, M., Gaffey, J., Sharma, M., Dewhurst, R. J., Moreau, B. et al. (2022). Valorization of dairy waste and by-products through microbial bioprocesses. *Bioresource Technology*, 346, Article 126444. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126444>
- Mirzakulova, A., Sarsembaeva, T., Suleimenova, Z., Kowalski, Ł., Gajdzik, B., Wolniak, R. et al. (2025). Whey: Composition, processing, application, and prospects in functional and nutritional beverages — A review. *Foods*, 14(18), Article 3245. <https://doi.org/10.3390/foods14183245>
- Tsermoula, P., Khakimov, B., Nielsen, J. H., Engelsen, S. B. (2021). WHEY-The waste-stream that became more valuable than the food product. *Trends in Food Science and Technology*, 118(Part A), 230–241. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.025>
- Juthi, L. M., Kabir, T., Podder, N., Bhuiyan, M. H. R., Yeasmen, N., Aziz, M. G. (2025). Separation and characterization of whey protein powder from cheese by-product. *Applied Food Research*, 5(2), Article 101398. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101398>
- Kumar, L. R. G., Mohanan, V., Pavithra, P. A., Anas, K. K. (2026). Encapsulation of squalene in oil-in-water emulsions: Utilization of heat-polymerized whey proteins as emulsifiers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 352, Article 151090. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2026.151090>
- Chawla, R., Roy, S., Malik, B. (2023). Valorisation of Whey for Development of Different Types of Food Products Including Fermented Beverages. Chapter in a book: *Whey Valorization*. Springer, Singapore, 2023. https://doi.org/10.1007/978-981-99-5459-9_11
- Chen, G. Q., Qu, Y., Gras, S. L., Kentish, S. E. (2023). Separation technologies for whey protein fractionation. *Food Engineering Reviews*, 15(3), 438–465. <https://doi.org/10.1007/s12393-022-09330-2>
- Prabhakaran, G. S., Molitor, M., Govindasamy-Lucey, S., Lucey, J. A. (2024). Heat-stable whey protein isolate made using isoelectric precipitation and clarification. *Journal of Dairy Science*, 107(9), 6629–6642. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-24671>
- Lamkaddam, I. U., Vega, E., Colón, J., Ponsá, S., Llenas, L., Mora, M. (2023). Progressive freeze concentration of cheese whey for protein and lactose recovery. *International Dairy Journal*, 139, Article 105572. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105572>
- Al Kader, H., Gill, H., Truong, T. (2023). Demineralisation and recovery of whey proteins from commercial full-fat salty Cheddar whey using size-exclusion chromatography. *Food Chemistry*, 405(1–3), Article 134831. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134831>
- Pellegrino, L., Hogenboom, J. A., Rosi, V., Sindaco, M., Gerna, S., D'Incecco, P. (2022). Focus on the protein fraction of sports nutrition supplements. *Molecules*, 27(11), Article 3487. <https://doi.org/10.3390/molecules27113487>
- Patel, S. (2015). Functional food relevance of whey protein: A review of recent findings and scopes ahead. *Journal of Functional Foods*, 19(10), 308–319. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.040>
- Cereda, E., Pisati, R., Rondanelli, M., Caccialanza, R. (2022). Whey protein, leucine- and vitamin-D-enriched oral nutritional supplementation for the treatment of sarcopenia. *Nutrients*, 14(7), Article 1524. <https://doi.org/10.3390/nu14071524>
- Ryan, M. P., Walsh, G. (2016). The biotechnological potential of whey. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 15(3), 479–498. <https://doi.org/10.1007/s11157-016-9402-1>

22. Uribarrena, M., Rovira-Cal, E., Urbina, L., Suárez, M. J., Aymerich, E., Guerrero, P. et al. (2024). Valorization of cheese whey: Closing the loop from protein extraction to whey protein film composting. *Green Chemistry*, 26(7), 4103–4111. <https://doi.org/10.1039/D3GC004304E>
23. Гаврилов, Г. Б., Гаврилов, Б. Г. (2009). Закономерности мембранного концентрирования сыровоточных белков. *Техника и технология пищевых производств*, 1(12), 26–29. [Gavrilov, G. B., Gavrilov, B. G. (2009). Laws membran concentration whey fibers. *Food Processing: Techniques and Technology*, 1(12), 26–29. (In Russian)]
24. Храмов, А. Г. (2021). Технологический прорыв агропищевых инноваций молочного дела на примере универсального сельхозсырья. Обратный осмос. *Аграрно-пищевые инновации*, 2(14), 7–20. [Khramtsov, A. G. (2021). Technological breakthrough of agrarian-and-food innovations in dairy case for example of universal agricultural raw materials. Reverse osmosis. *Agrarian-and-Food Innovations*, 2(14), 7–20. (In Russian)] <https://doi.org/10.31208/2618-7353-2021-14-7-20>
25. Abish, Z. A., Alibekov, R. S., Tarapoulouzi, M., Bakhtybekova, A. R., Kobzhasarova, Z. I. (2024). Review in deep processing of whey. *Cogent Food and Agriculture*, 10(1), Article 2415380. <https://doi.org/10.1080/23311932.2024.2415380>
26. Paladii, I. V., Vrabie, E. G., Sprinchan, K. G., Bologa, M. K. (2021). Whey: Review. Part 2. Treatment processes and methods. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry*, 57, 651–666. <https://doi.org/10.3103/S1068375521060119>
27. Pires, A. F., Marnotes, N. G., Rubio, O. D., Garcia, A. C., Pereira, C. D. (2021). Dairy by-products: A review on the valorization of whey and second cheese whey. *Foods*, 10(5), Article 1067. <https://doi.org/10.3390/foods10051067>
28. Khalid, M., Ghasem, N., Yang, X., Schroen, K., Nazir, A. (2025). Progress in membrane technology for the enrichment of individual whey proteins. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 64(40), 19305–19321. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5c00643>
29. Барковская, И. А., Кручинин, А. Г. (2024). Исследование процесса селективной термоденатурации белков молочной сыворотки. *Пищевая промышленность*, 11, 34–37. [Barkovskaya, I. A., Kruchinin, A. G. (2024). Study of the process of selective thermodenaturation of whey proteins. *Food Industry*, 11, 34–37. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.11.11.006>
30. Casas, V. E. G., Pérez, J. V., Companioni, R. S., García, N. D. (2021). Protein recovery from residual bovine whey: Influence of acid thermo-coagulation. *Revista Bionatura*, 6(1), 1602–1607. <https://doi.org/10.21931/RB/2021.06.01.24>
31. Храмов, А. Г. (2014). Логистика формирования технологической платформы получения биокластеров жира и белков из молочной сыворотки. *Техника и технология пищевых производств*, 2(33), 102–107. [Hramtsov, A. G. (2014). Formation logistics of technological platform for obtaining lipid and protein bio-clusters from whey. *Food Processing: Techniques and Technology*, 2(33), 102–107. (In Russian)]
32. Toro-Sierra, J., Tolkach, A., Kulozik, U. (2013). 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 and Bioprocess Technology*, 6(4), 1032–1043. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0732-2>
33. Aider, M., De Halleux, D., Akbache, A. (2007). Whey cryoconcentration and impact on its composition. *Journal of Food Engineering*, 82(1), 92–102. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.024>
34. Hanušová, J., Mihulova, M., Diblíková, L., Čurda, L. (2014). Influence of salts on selective coagulation of whey proteins and their application in the isolation of β -lactoglobulin. *Czech Journal of Food Sciences*, 32(1), 77–81. <https://doi.org/10.17221/524/2012-CJFS>
35. He, L., Ma, J., Lu, H., Li, Q., Liang, T., Shang, J. (2026). Recovery of active proteins from whey via a novel hybrid process of chitosan extraction and electrodiagnosis with ultrafiltration membrane. *Chemical Engineering Science*, 330, Article 123849. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2026.123849>
36. Nath, A., Zin, M. M., Molnár, M. A., Bánvölgyi, S., Gáspár, I., Vatai, G. et al. (2022). Membrane chromatography and fractionation of proteins from whey – A review. *Processes*, 10(5), Article 1025. <https://doi.org/10.3390/pr10051025>
37. Romo, M., Bou, R., Castellari, M., Felipe, X. (2026). Caprine and bovine cheese whey valorization: High-pressure processing for α -lactalbumin fractionation from whey concentrates. *International Dairy Journal*, 175, Article 106553. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2026.106553>
38. Rama, G. R., Timmers, L. F. S. M., de Souza, C. F. V. (2021). Ultrafiltration of cheese whey: Achieving high protein rejection and sustaining membrane efficiency. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(11), Article e15908. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15908>
39. Wang, W. Q., Han, X., Yi, H., Zhang, L. W. (2018). The ultrafiltration efficiency and mechanism of transglutaminase enzymatic membrane reactor (EMR) for protein recovery from cheese whey. *International Dairy Journal*, 80, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.12.012>
40. Casal, E., Montilla, A., Moreno, F. J., Olano, A., Corzo, N. (2006). Use of chitosan for selective removal of β -lactoglobulin from whey. *Journal of Dairy Science*, 89(5), 1384–1389. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72206-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72206-8)
41. Cheng, Z., van Leusden, P., Eisner, M. D., Ahné, L. (2026). Effect of the protein content and amount of native whey protein on properties of heat and acid-induced milk gels. *International Dairy Journal*, 179, Article 106643. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2026.106643>
42. Anema, S. G. (2021). Heat-induced changes in caseins and casein micelles, including interactions with denatured whey proteins. *International Dairy Journal*, 122, Article 105136. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105136>
43. Kharlamova, A., Nicolai, T., Chassenieux, C. (2019). Heat-induced gelation of mixtures of casein micelles with whey protein aggregates. *Food Hydrocolloids*, 92(4), 198–207. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.048>
44. El-Tanboly, E. S., El-Hofi, M. K., Khorshid, (2017). Recovery of cheese whey, a by-product from the dairy industry for use as an animal feed. *Journal of Nutrition and Health Food Engineering*, 6(5), 148–153. <https://doi.org/10.15406/jnhfe.2017.06.00215>
45. Sebastián-Nicolás, J. L., González-Olivares, L. G., Vázquez-Rodríguez, G. A., Lucho-Constantino, C. A., Castañeda-Ovando, A., Cruz-Guerrero, A. E. (2020). Valorization of whey using a biorefinery. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 14(5), 1010–1027. <https://doi.org/10.1002/bbb.2100>
46. Souza, H. K. S., Gonçalves, M. D. P., Gómez, J. (2011). Effect of Chitosan Degradation on its Interaction with β -Lactoglobulin. *Biomacromolecules*, 12(4), 1015–1023. <https://doi.org/10.1021/bm101356g>
47. Jarto, I., Lucey, J. A., Molitor, M. S., Smith, K. E. (2015). Utilisation of chitosan flocculation of residual lipids and microfiltration for the production of low fat, clear WPC 80. *International Journal of Dairy Technology*, 68(4), 471–477. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12249>
48. Cochachín-Guerra, B., Moreno-Cuevas, J., Carvajal-Mena, N. (2023). Effects of concentration by block freezing and vacuum evaporation on the physicochemical properties and digestibility of whey. *CyTA-Journal of Food*, 21(1), 313–320. <https://doi.org/10.1080/19476337.2023.2196321>
49. Dobozi, R., Jákó, Z. P., Beszédes, S., Szabó, B. P., Kertész, S. (2026). Investigating the separation efficiency of ultrafiltration/diafiltration (UF/DF) of whey by dielectric measurements. *Sustainable Chemistry*, 7(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/suschem7010001>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Мамыкин Денис Станиславович — кандидат технических наук, научный сотрудник, отдел микробиологических исследований, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 E-mail: d.mamykin@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2145-1439 * автор для контактов	Denis S. Mamykin, Candidate of Technical Sciences, Researcher, Department of Microbiological Research, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia E-mail: d.mamykin@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2145-1439 * corresponding author
Шухалова Ольга Михайловна — кандидат технических наук, руководитель, отдел микробиологических исследований, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 E-mail: o.shukhalova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7665-8517	Olga M. Shukhalova, Candidate of Technical Sciences, Supervisor, Department of Microbiological Research, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia E-mail: o.shukhalova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7665-8517
Волкова Татьяна Алексеевна — кандидат технических наук, ученый секретарь, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 E-mail: t.volkova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1863-009X	Tatiana A. Volkova, Candidate of Technical Sciences, scientific secretary, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia E-mail: t.volkova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1863-009X
Бородина Ульяна Владимировна — инженер I категории, отдел микробиологических исследований, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 E-mail: u.borodina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0001-7948-8840	Ulyana V. Borodina, 1st Category Engineer, Department of Microbiological Research, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia E-mail: u.borodina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0001-7948-8840

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Григорьева Анастасия Игоревна — младший научный сотрудник, отдел физико-химических и биохимических исследований, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 E-mail: a.grigoriyeva@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4364-0342	Anastasia I. Grigorieva, Junior Researcher, Department of Physical, Chemical and Biochemical Research, All-Russian Scientific Research Institute of Butter and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia E-mail: a.grigoriyeva@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4364-0342
Критерии авторства	Contribution
Концептуализация — Мамыкин Д. С. и Шухалова О. М.; методология — Мамыкин Д. С., Шухалова О. М., Волкова Т. А.; исследование — Бородина У. В. и Григорьева А. И.; обработка и анализ данных — Мамыкин Д. С., Шухалова О. М., Волкова Т. А.; написание статьи и редактирование — Мамыкин Д. С., Шухалова О. М., Волкова Т. А., Бородина У. В. Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	Conceptualization — Denis S. Mamykin, Olga M. Shukhalova; methodology — Denis S. Mamykin, Olga M. Shukhalova, Tatiana A. Volkova; investigation — Ulyana V. Borodina, Anastasia I. Grigorieva; data curation and analysis — Denis S. Mamykin, Olga M. Shukhalova, Tatiana A. Volkova; writing-article and editing — Denis S. Mamykin, Olga M. Shukhalova, Tatiana A. Volkova, Ulyana V. Borodina. Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare that there is no conflict of interest.