

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Jernej LEBAN

**NAČINI PREDELAVE SIROTKE KOT REŠEVANJE  
OKOLJEVARSTVENIH PROBLEMOV V MLEKARSTVU**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2006

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Jernej LEBAN

**NAČINI PREDELAVE SIROTKE KOT REŠEVANJE OKOLJEVARSTVENIH  
PROBLEMOV V MLEKARSTVU**

DIPLOMSKO DELO  
Visokošolski strokovni študij

**WHEY UTILIZATION AS SOLUTION OF ENVIRONMENTAL  
PROBLEMS IN DAIRY INDUSTRY**

GRADUATION THESIS  
Higher professional studies

Ljubljana, 2006

Diplomsko delo je zaključek Visokošolskega strokovnega študija kmetijstvo - zootehnika. Opravljeno je bilo na Oddelku za zootehniko, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Komisija za dodiplomski študij Oddelka za zootehniko je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Franca Viktorja Nekrepa.

Recenzent: doc. dr. Bogdan Perko

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: doc. dr. Stanko KAVČIČ

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: prof. dr. Franc Viktor NEKREP

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: doc. dr. Bogdan PERKO

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora:

Jernej Leban

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Vs
DK	UDK 637.1:504.06(043.2)=863
KG	mlekarstvo/sirotka/predelava/varstvo okolja
KK	AGRIS T01
AV	LEBAN, Jernej
SA	NEKREP, Franc Viktor (mentor)
KZ	SI-1230 Domžale, Groblje 3
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
LI	2006
IN	NAČINI PREDELAVE SIROTKE KOT REŠEVANJE OKOLJEVARSTVENIH PROBLEMOV V MLEKARSTVU
TD	Diplomsko delo (visokošolski strokovni študij)
OP	IX, 70 str., 16 pregl., 4 sl., 56 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Z uporabo sirotke, zaradi njenih neugodnih učinkov na okolje na eni in zaradi izrabe koristnih lastnosti na drugi strani, se ukvarjajo tako raziskovalci kot tehnologi. Sirotka predstavlja 85% prostornine in vsebuje 50% vseh hranilnih snovi uporabljenega mleka v sirarstvu. 70% hranil v sirotki predstavlja laktoza, kar je večina onesnaževalnega bremena sirotke, ki ga v sanitarnih parametrih izrazimo s 30 do 50 g BPK <sub>5</sub> in 60 do 65 g KPK vrednosti na liter tekočine. Najpogosteje omenjeni postopki za izkoriščanje sestavin sirotke so evaporacija, sušenje, toplotna denaturacija, gelska filtracija, ultrafiltracija, diafiltracija, mikrofiltracija, reverzna osmoza, ločevanje s hidroksiapatitom, ionska izmenjava, elektrodializa in nanofiltracija. V prehrani ljudi in živali jo uporabljamo v tekoči obliki ali kot sirotko v prahu. Za istočasno reševanje okoljevarstvenih problemov pa so razvili postopke kot so izraba sirotke za rast biomase, najpogosteje pri pridobivanju enoceličnega proteina, laktoperoksidaze, laktoferina, etanola, acetona, butanola, mlečne kisline in bioplina. V skrajnem primeru pa lahko sirotko odstranimo iz odpadnih vod v klasičnih aerobnih postopkih čiščenja odpadk. V delu smo opisali in komentirali našete postopke.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Vs
- DC UDK 637.1:504.06(043.2)=863
- CX dairy industry/whey/utilization/environmental protection
- CC AGRIS T01
- AU LEBAN, Jernej
- AA NEKREP, Franc Viktor (supervisor)
- PP SI-1230 Domžale, Groblje 3
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Zootechnical Department
- PY 2006
- TI WHEY UTILIZATION AS A SOLUTION OF ENVIRONMENTAL PROBLEMS IN DAIRY INDUSTRY
- DT Graduation Thesis (Higher professional studies)
- NO IX, 70 p., 16 tab., 4 fig., 56 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB Whey utilization has been the subject of much research, due to its environmental contamination or because of its useful properties. Whey presents 85% of the volume and contains 50% of the nutrients of milk used in dairy industry. 70% of the nutrients in whey presents lactose, which is the major cause for pollution load of whey: 30 to 50 g BOD<sub>5</sub> and 60 to 65 g COD per liter. Most commonly used procedures for whey utilization are evaporation, drying, denaturation, gel filtration, ultrafiltration, diafiltration, microfiltration, reverse osmosis, separation with hidroxyapatit, ion exchange, electrodialysis and nanofiltration. Whey can be consumed by people or animals in liquid or in powder state. Many procedures have been developed as a solution of environmental problems of whey, such as biomass production, mostly for single cell protein production, production of lactoperoksidaze, lactoferin, ethanol, acetone, butanol, lactic acid and biogas. If nothing else, whey can be removed from waste waters by classical aerobic waste water treatment. In this work the most commonly used procedures are discussed.

## KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key words documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
Okrajšave in simboli	IX
<b>1 UVOD</b>	<b>11</b>
1.1 OPIS PROBLEMA	11
1.2 CILJI DIPLOMSKE NALOGE	12
<b>2 SESTAVA SIROTKE</b>	<b>15</b>
<b>3 SIROTKA V PREHRANI ŽIVALI</b>	<b>21</b>
3.1 TEKOČA SIROTKA V PREHRANI PRAŠIČEV	22
<b>3.1.1 Tekoča sirotka v prehrani odstavljenih pujskov</b>	<b>22</b>
<b>3.1.2 Tekoča sirotka v prehrani prašičev pitancev</b>	<b>23</b>
<b>4 SIROTKA V PREHRANI LJUDI</b>	<b>24</b>
4.1 TEKOČA SIROTKA	24
4.2 SIROTKINE PIJAČE	25
4.3 SIROTKA V PRAHU	27
<b>5 POSTOPKI ZGOŠČEVANJA IN LOČEVANJA SESTAVIN SIROTKE</b>	<b>30</b>
5.1 KLASIČNA EVAPORACIJA	30
5.2 SUŠENJE SIROTKE	30
<b>5.2.1 Spray sistem sušenja sirotke</b>	<b>30</b>
5.2.1.1 Enostopenjski spray sistem	30
5.2.1.2 Dvostopenjski spray sistem	31
5.2.1.3 Trostopenjski spray sistem	31
<b>5.2.2 Valjni sistem sušenja sirotke</b>	<b>31</b>
5.3 TOPLOTNA DENATURACIJA	31
5.4 GELSKA FILTRACIJA	33
5.5 ULTRAFILTRACIJA	33

5.6	DIAFILTRACIJA	34
5.7	MIKROFILTRACIJA	34
5.8	REVERZNA OSMOZA	35
5.9	LOČEVANJE PROTEINOV IN LAKTOZE S HIDROKSIAPATITOM	35
<b>6</b>	<b>POSTOPKI DEMINERALIZACIJE SIROTKE</b>	<b>37</b>
6.1	IONSKA IZMENJAVA	37
6.2	ELEKTRODIALIZA	38
6.3	NANOFILTRACIJA	39
<b>7</b>	<b>ZMANJŠANJE ONESNAŽEVALNEGA UČINKA SIROTKE Z RASTJO MIKROBNE BIOMASE</b>	<b>40</b>
<b>8</b>	<b>SIROTKA KOT GOJIŠČE</b>	<b>44</b>
<b>9</b>	<b>PROIZVODNJA LAKTOPEROKSIDAZE IN LAKTOFERINA</b>	<b>48</b>
<b>10</b>	<b>PRIDOBIVANJE ETANOLA IZ SIROTKE</b>	<b>49</b>
<b>11</b>	<b>PRIDOBIVANJE ACETONA, BUTANOLA in ETANOLA IZ SIROTKE</b>	<b>52</b>
<b>12</b>	<b>PRIDOBIVANJE MLEČNE KISLINE IZ SIROTKE</b>	<b>53</b>
<b>13</b>	<b>PRIDOBIVANJE BIOPLINA IZ SIROTKE</b>	<b>56</b>
13.1	ENOFAZNI PROCES ANAEROBNE PRESNOVE SIROTKE	57
13.2	DVOFAZNI PROCES ANAEROBNE PRESNOVE SIROTKE	58
<b>14</b>	<b>OBDELAVA ODPLAK Z VSEBOVANO SIROTKO</b>	<b>60</b>
<b>15</b>	<b>SKLEPI</b>	<b>62</b>
<b>16</b>	<b>POVZETEK</b>	<b>64</b>
<b>17</b>	<b>VIRI</b>	<b>66</b>
	<b>ZAHVALA</b>	

## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Sestava suhe snovi v sirotki (% od celotne SS) proizvedene po različnih metodah ločevanja kazeina (Sloth in Kjaergaard, 1977, cit. po Sienkiewicz in Riedel, 1990)	15
Preglednica 2: Sestava in lastnosti sirotke (Hramcov, 1979, cit. po Tratnik, 1998)	16
Preglednica 3: Sestava suhe snovi (Hramcov, 1976, cit. po Tratnik, 1998)	16
Preglednica 4: Delež proteinov v sirotki (Bird, 1996, cit po Tratnik, 1998)	17
Preglednica 5: Biološka vrednost (BV) proteinov sirotke in drugih proteinov (Werner, 1981, cit. po Tratnik 1998)	17
Preglednica 6: Esencialne aminokisljine (g/100g proteinov) kazeina ter laktoalbumina (Webb in sod., 1974, cit. po Tratnik 1998)	18
Preglednica 7: Delež aminokisljin (mg/l) v sirotki (Davidov in Faingar, 1971, cit po Tratnik, 1998)	18
Preglednica 8: Količina kalcija in fosforja (mg/100g) v sirotki (Hramcov, 1979, cit. po Tratnik, 1998; Bylund, 1995, cit. po Tratnik, 1998)	18
Preglednica 9: Odstotek in velikost maščobnih kroglic v mleku in v sirotki (Hramcov, 1979, cit. po Tratnik, 1998)	19
Preglednica 10: Količina mlečne kisline (%) v sirotki (Hramcov, 1979, cit. po Tratnik, 1998)	19
Preglednica 11: Različica pitanja z "normalnimi" deleži sirotke v obrokih (Burgstaller, 1991, cit. po Šalehar in sod., 1995)	23
Preglednica 12: Zadrževanje nekaterih sestavin sirotke ob uporabi membran za nanofiltracijo (Bird, 1996, cit. po Tratnik, 1998)	39
Preglednica 13: Vsebnost ionov v 3-krat koncentrirani sladki sirotki (SS 18-20%) po evaporaciji (Chaveron in sod., 1979. cit. po Greiter in sod., 2002) in po nanofiltraciji (Greiter in sod., 2002)	39
Preglednica 14: Vpliv rastnih pospeševalcev na rast <i>B. bifidum</i> na sirotki (Mahalakshmi in Murthy, 2000)	46
Preglednica 15: Zmanjšanje kemične potrebe po kisiku v odplaki (Ghaly, 1996)	59
Preglednica 16: Primerjava različnih obdelovalnih procesov sirotke (Farizoglu in sod., 2004)	60



## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Shema komercialne izrabe sirotke (Gonzalez, 1996)	14
Slika 2: $\alpha$ -oblika in $\beta$ -oblika laktoze (Tratnik, 1998)	20
Slika 3: Masno ravnotežje v predlaganih kombinacijah predelovanja (Atra in sod., 2005)	29
Slika 4: Prikaz izolacije laktoperoksidaze (LP) in laktoferina (LF) iz sirotke (Bylund, 1995, cit. po Tratnik, 1998)	48

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AAFEB	anaerobni reaktor z vrtinčeno plastjo (angl. Anaerobic Attached-Film Expanded-Bed reactor)
ABE	aceton-butanol_ etanol proces
adhB	alkoholna dehidrogenaza
AP	anaerobna laguna (angl. Anaerobic Pond)
ARBC	anaerobni ploščni bioreaktor (horizontalni ali vertikalni) (angl. Anaerobic Rotating Biological Contact)
BPK	biološka potrošnja kisika
BV	biološka vrednost
CFU	Colony Forming Units
DCM	Delignified Cellulosic Material
DSFFR	precejalni filtrski bioreaktor (angl. Downflow Stationary Fixed-Bed reactor)
DUHR	hibridni bioreaktor (angl. Downflow-Upflow Hybrid reactor)
FBR	reaktor z razširjeno plastjo mulja (angl. Fluidized-Bed reactor)
HRT	hidravlični zadrževalni čas (angl. Hydraulic Retention Time)
JLMBR	Jet Loop Membrane Bioreactor
KPK	kemična potreba po kisiku
LF	laktoferin
LP	laktoperoksidaza
MF	mikrofiltracija
MnP	mangan peroksidaza
NPN	neproteinski dušik (angl. Non Protein Nitrogen)
Pdc	piruvat dekarboksilaza
PHB	poli-3-hidroksibutirat
RO	reverzna osmoza
S DFA	polkontinuirni anaerobni bioreaktor z dodajanjem flokulanta (angl. Semicontinuous Digester with Flocculent Addition)
SS	suha snov
ŠE	škrobne enote

TSUAD	dvostopenjski anaerobni bioreaktor (angl. Two-Stage Unmixed Anaerobic Digester)
UASB	anaerobni bioreaktor z muljno posteljico (angl. Up-flow Anaerobic Sludge-Blanket reactor)
UF	ultrafiltracija
USDA	Kmetijsko ministrstvo ZDA (angl. United States Department of Agriculture)

## 1 UVOD

Sirotka je vzporedni proizvod v tehnološkem procesu proizvodnje sira ali kazeina, je vodna faza, ki se oddvoji od sesirjenih sestavin mleka (Tratnik, 1998). Medtem, ko so sirotko v preteklosti uporabljali le za krmo ali jo celo izpuščali v kanalizacijo, iščejo danes možnosti za njeno izkoriščanje, bodisi v prehranske bodisi v druge namene. Vse ostrejši predpisi v zvezi z varstvom okolja in nova spoznanja o vrednosti sirotke, so – ob novih tehničnih možnostih – v zadnjih letih bistveno spremenili njeno uporabo (Slanovec, 1982).

### 1.1 OPIS PROBLEMA

Onesnaževalno breme sirotke predstavlja, izraženo v pomembnejših kemijskih sanitarnih kazalcih: 30 – 50 g BPK<sub>5</sub>, 60 - 65 g KPK in 1,2 g suspendirane snovi (Bonnet in sod., 1999). Sirotka predstavlja 85-90% teže mleka uporabljenega v sirarstvu (Ghaly in Singh, 1985, cit. po Bullock in sod., 1995). Sirotka vsebuje okoli 50% celotne suhe snovi iz mleka (Scott, 1993, cit. po Rech in sod., 1999). Zaradi visoke vsebnosti organskih substanc, predvsem laktoze (70% celotne SS), ima sirotka visoko stopnjo BPK<sub>5</sub> v odplaki, odvisno od uporabljenega načina proizvodnje sira. Za primerjavo, 5000 litrov sirotke predstavlja enakovredno breme kot količina komunalne odplake, ki jo dnevno proizvede 2000 ljudi (Ponsano in Castro-Gomez, 1995, cit. po Rech in sod., 1999). Predvidena količina sirotke proizvedene na svetu je okoli  $4,0 \times 10^7$  ton na leto (Tejayadi in Cheryan, 1995, cit. po Rech in sod., 1999). Če bi uporabili vse sirotkine beljakovine za prehrano, bi lahko pokrili potrebe po beljakovinah živalskega izvora za skoraj 68 milijonov ljudi (Slanovec, 1982).

Sirotka je močno onesnaževalo, ki v velikih količinah nastaja v sirarski industriji in se v večini primerov, brez kakršne koli obdelave, znajde v rekah in potokih (Ben-Hassan in Ghaly, 1994, cit. po Leite in sod., 2000; Ferrat, 1980, cit. po Leite in sod., 2000; Ghaly in Singh, 1989, cit. po Leite in sod., 2000). Onesnaževalni učinek sirotke gre pripisati predvsem njeni vsebnosti laktoze (Ferrat, 1980, cit. po Leite in sod., 2000; Juengst, 1979, cit. po Leite in sod., 2000). Uporaba sirotke dolgo časa ni skrbela nikogar v sirarski

industriji in sirotka je bila enostavno zavržena brez predhodne obdelave (Bonnet in sod., 1999).

Sirotke ni primerno nanašati na zemljo ali vnašati v tla, saj se tako izločajo velike količine ogljikovega monoksida (>535 ppm) in relativno majhne količine metana (<37,1 ppm) iz prsti. Količina metana je indikator anaerobnih procesov v prsti in je povezana z zmanjšanjem količine kisika v prsti. Ker visoka raven CO predstavlja resno nevarnost okolju je treba vsakršno agronomsko rabo sirotke skrbno preučiti (Bullock in sod., 1995).

## 1.2 CILJI DIPLOMSKE NALOGE

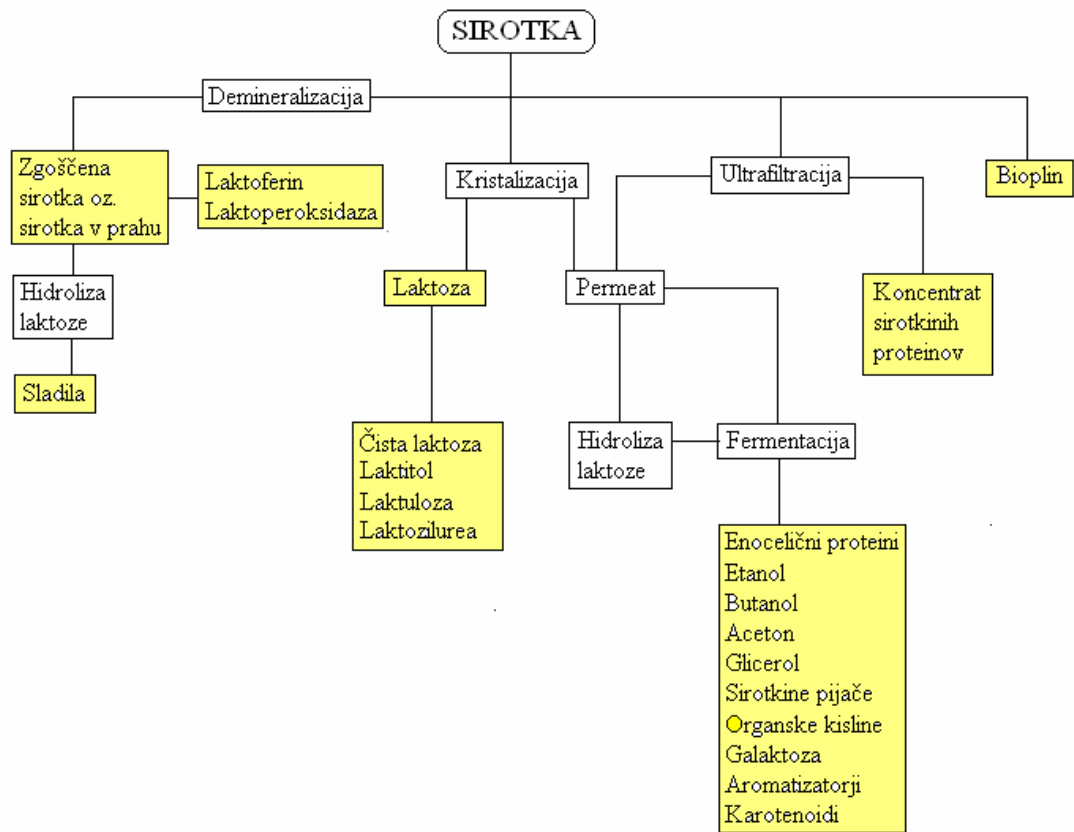
Sodobni koncepti varstva okolja temeljijo na preprečevanju pojava obremenjenosti okolja. V Sloveniji smo pred obsežno nadomestitvijo zastarelih tehnologij, kar je pomembna priložnost za dosledno upoštevanje načela preventive, če ga bomo izkoristili na okolju sprejemljiv način. Posodobitev in optimizacija tehnoloških procesov je pomembna tudi zaradi pozitivnega ekonomskega učinka ob racionalnejši uporabi surovin in energije. Ob tem prihaja v ospredje načelo ravnanja z odpadki pri samem viru nastajanja, s tem pa nujnost razvoja ekonomskega in zakonodajnega sistema, ki zagotavlja smotrno rabo surovin in energije z zmanjšanjem emisij na najmanjšo stopnjo (NPVO, 1999).

Za preprečevanje onesnaževanja s sirotko ter za iskanje njene uporabnosti so bile razvite različne, zapletene in drage, bolj ali manj zanesljive tehnologije (Mawson, 1994, cit. po Bonnet in sod., 1999).

Izpuščanje sirotke v odpadne vode, brez predhodne drage obdelave teh odplak predstavlja lahko resen vir vodnega onesnaževanja. Rešitev ponujajo postopki njene izrabe. Danes poznamo mnogo načinov predelave sirotke z izrabo njenih dragocenih sestavin (koncentracija, frakcioniranje, sušenje, fermentacija, hidroliza, itd.), ko pridobimo številne proizvode večje vrednosti (laktoza, koncentrat sirotkinih proteinov, sirotka v prahu, laktoalbumini, laktoglobulini, sečnina, galaktoza, glukoza, sirup, pijače, alkohol, enocelični proteini) (Carić in Milanović, 1995, cit. po Djurić in sod., 2004). V ta namen so

se razvili procesi predelave sirotke v etanol, biomaso, organske kisline in amino kisline (Irvine in Hill, 1985, cit. po Tahoun in sod., 1999).

Ker postaja rešitev problemov onesnaževanja s sirotko vse bolj nujna zaradi vse večjih količin proizvedene sirotke, centralizacije mlečnopredelovalne industrije in vse strožjih zakonskih zahtev glede kvalitete odplak so v tej nalogi opisati glavni postopki obdelave in predelave sirotke. Hkrati je navedena vsakršna možnost izrabe sirotke, ki pripomore k varovanju okolja. V nalogi je opisana tudi sestava sirotke. Ker k varovanju okolja pripomore katerikoli postopek predelave sirotke, predelava v biomaso, v energijo, izkoriščanje sirotke v zdravstvene, prehranske, kozmetične idr. namene, se diplomsko delo ne omejuje na specifične postopke ampak zajema široko paleto obdelovalnih in predelovalnih postopkov (Slika 1). Prvi cilj te naloge je prikazati možne načine izrabe oz. obdelave sirotke s ciljem njenega odstranjevanja, zaradi njenega učinka na okolje ter tudi zaradi njenih dragocenih sestavin. Glavni cilj tega diplomskega dela pa je v spoznanju, da je sirotka kot odpadki iz mlečnopredelovalne industrije tudi obnovljiv vir energije. V razvitih deželah so odpadki iz mesnopredelovalne in sirarske industrije že obravnavani kot obnovljivi viri energije, bodisi zaradi njihove pretvorbe v energetske bogate spojine kot so etanol, metan, biodiesel, kot tudi zaradi drugih oblik izrabe ogljika. Sirotka pa ima še to prednost pred ostalimi odpadki, da je lahko uporabljena kot krma za živali oz. hrana za ljudi. Obenem je odličen vir esencialnih aminokislin ter kot taka visokovreden prehranski proizvod, ki se lahko uspešno trži. Menim, da bi ta spoznanja morala zadostovati za uvrstitev odpadkov iz mlečnopredelovalne (sirotka) in mesnopredelovalne industrije v kategorijo obnovljivih virov energije, saj bi se tako lažje črpala državna, kot tudi evropska sredstva, ki so namenjena uvajanju alternativnih virov energije.



Slika 1: Shema komercialne izrabe sirotke (Gonzalez, 1996)

## 2 SESTAVA SIROTKE

Sirotka je vzporedni proizvod v tehnološkem procesu proizvodnje sira ali kazeina. Lastnosti in sestava sirotke (Preglednica 1) so odvisne od tehnološkega postopka pridelave osnovnega proizvoda in od kakovosti uporabljenega mleka (Tratnik, 1998). Gostota sirotke variira od 1,018 – 1,027 kg/m<sup>3</sup> za sladko sirotko, ter od 1,019 – 1,026 kg/m<sup>3</sup> za kislno sirotko (Sienkiewicz in Riedel, 1990), škrobna vrednost sirotke je od 5,0 ŠE do 6,4 ŠE (Šabec in Fischione, 1968), njena kalorična vrednost pa znaša 360 Kcal oz. 1512 KJ energetske vrednosti (Knez, 2005).

Preglednica 1: Sestava suhe snovi v sirotki (% od celotne SS) proizvedene po različnih metodah ločevanja kazeina (Sloth in Kjaergaard, 1977, cit. po Sienkiewicz in Riedel, 1990)

	SIRIŠČNO LOČEVANJE				KISLINSKO LOČEVANJE					
					Biološko			Kemično		
	Mlečno- kislinske bakterije	Jogurtove bakterije	HCl	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Mlečna kislina					
pH ločevanja	6,7	6,4	5,8	5,4	4,6	4,3	4,0	4,5	4,5	4,5
Laktoza	77,1	76,4	73,8	70,9	65,5	64,3	62,2	75,2	74,2	71,6
Pepel	7,3	7,7	8,6	9,8	10,8	11,4	11,4	12,2	12,3	10,1
Mlečna kislina	2,0	2,2	3,7	5,1	10,3	10,9	13,9	2,0	2,0	7,9
Maščoba	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,8	0,8	0,6	0,6	0,6
Skupni proteini	12,2	13,1	13,4	13,5	13,3	12,4	12,3	10,9	10,9	10,4
Kazein	2,9	3,0	2,9	2,8	2,8	2,8	2,8	2,5	2,6	2,4
Sirotkini proteini	6,0	6,5	6,8	6,7	5,8	5,5	5,4	5,6	5,4	5,5
Neproteinski dušik	3,2	3,7	3,7	4,0	4,7	4,0	4,2	2,8	2,8	2,7



Preglednica 2: Sestava in lastnosti sirotke\* (Hramcov, 1979, cit. po Tratnik, 1998)

Sestava in lastnosti	Sladka sirotka <sup>1</sup>		Kisla sirotka <sup>2</sup>	
Suha snov (%)	4,5-7,2	6,5	4,2-7,4	6,0
Laktoza (%)	3,9-4,9	4,5	3,2-5,1	4,2
Proteini (%)	0,5-1,1	0,7	0,5-1,4	0,8
Pepel (%)	0,3-0,8	0,5	0,5-0,8	0,6
Maščoba (%)	0,3-0,5	0,4	0,05-0,4	0,2
Gostota (kg/m <sup>3</sup> )	1018-1027	1023	1019-1026	1023

\*Sirotka iz proizvodnje (1) siriščnih sirov, (2) svežih sirov

Pod sladko sirotko razumemo tisto sirotko, pri kateri se kazein izloča predvsem s pomočjo sirišča, kisl pa je posledica kislinske koagulacije mleka (Preglednica 2) (Knez, 2005).

Po kislosti lahko sirotko razdelimo v tri skupine (Zadrow, 1993, cit. po Tratnik, 1998).

- Sladka sirotka: vrednosti pH od 5,8 do 6,6
- Srednje kisl sirotka: vrednosti pH od 5,0 do 5,8
- Kisl sirotka: vrednosti pH manj kot 5,0

V sirotko prehaja okoli 50% suhe snovi mleka. Največji delež suhe snovi predstavlja laktoza (okoli 70%), sledijo sirotkini proteini, minerali in maščoba (Preglednica 3) (Tratnik, 1998).

Preglednica 3: Sestava suhe snovi (Hramcov, 1976, cit. po Tratnik, 1998)

Sestava Suhe snovi	(g/100 ml)	(%) od celotne SS
Laktoza	4,66	71,7
Proteini sirotke	0,91	14,0
Mineralne snovi	0,50	7,7
Mlečna maščoba	0,37	5,7
Ostalo	0,06	0,9
SKUPAJ	6,50	100

Proteini sirotke (Preglednica 4) so neobčutljivi na kislinsko in encimsko razgradnjo, zato med koagulacijo mleka ostanejo nespremenjeni, po ločevanju kazeina pa v celoti preidejo v sirotko. Zaradi tega je količina proteinov v sladki in v kisl sirotki zelo podobna, medtem ko delež prostih aminokislin precej variira, v odvisnosti od stopnje hidrolize kazeina (Tratnik, 1998).

Preglednica 4: Delež proteinov v sirotki (Bird, 1996, cit. po Tratnik, 1998)

Proteini v sirotki	(%) od vseh
$\beta$ -laktoglobulin	50
$\alpha$ -laktalbumin	22
Imunoglobulini	12
Proteoza-peptoni	10
albumin krvnega seruma	5
Ostalo	1

Sirotka vsebuje hranilno visokovredne proteine (Preglednica 5), ki se odlikujejo z velikim deležem esencialnih aminokislin, posebno cistina. Večja biološka vrednost (BV) sirotkinih proteinov od proteinov mleka je posledica večjega deleža lizina (40% več) ter večjih deležev cistina in metionina (2,5-krat več) (Tratnik, 1998).

Preglednica 5: Biološka vrednost (BV) proteinov sirotke in drugih proteinov (Werner, 1981, cit. po Tratnik, 1998)

Proteini	Sirotka	Jajca	Mleko	Govedina	Kazein	Krompir	Moka
BV	104	100	92	78	73	69	45

Ugotovljeno je bilo, da se toplotno denaturirani laktoalbumini kvantitativno 100% resorbirajo, kazein pa le 75%, najverjetneje zaradi različnih deležev esencialnih aminokislin (Preglednica 6). Za izkoriščanje proteinov v organizmu je najpomembnejše razmerje med cistinom in metioninom, ki je v proteinih sirotke 10-krat večje kot v kazeinu. Proteini sirotke imajo tudi odlične funkcionalne lastnosti: dobro topnost, viskoznost, sposobnost penjenja, sposobnost želiranja, emulgiranja ter sposobnost vezave vode. Zaradi tega se koncentracije sirotkinih proteinov največ uporabljajo v številnih prehranskih proizvodih, posebno za pripravo hrane za dojenčke in diabetike (Tratnik, 1998).

Preglednica 6: Esencialne aminokisliline (g/100g proteinov) kazeina ter laktoalbumina (Webb in sod., 1974, cit. po Tratnik 1998).

Aminokisliline	Kazein	Laktoalbumin
Triptofan	1,3	2,2
Treonin	4,3	5,2
Izolevcin	6,6	6,2
Levcin	10,0	12,3
Lizin	8,0	9,1
Metionin	3,1	2,3
Cistin	0,38	3,4
Fenilalanin	5,4	4,4
Tirozin	5,8	3,8
Valin	7,4	5,7

Delež prostih aminokislin (Preglednica 7) je v sladki sirotki približno štirikrat, v kisli sirotki pa desetkrat večji kot v mleku. Posebno visoko hranilno vrednost sirotki pripisujemo zaradi velike vsebnosti cistina, metionina in lizina (Tratnik, 1998).

Preglednica 7: Delež aminokislin (mg/l) v sirotki (Davidov in Faingar, 1971, cit. po Tratnik, 1998)

Sirotka	proste aminokisliline		vezane v proteinih	
	Skupne	esencialne	skupne	esencialne
sladka	132,7	51,0	6.490	3.356
kisla	450,0	356,0	5.590	2.849

V sladki ali kisli sirotki je najbolj spremenljiva sestava mineralnih snovi zaradi različnih biokemijskih procesov v tehnologiji proizvodnje sirov. V sirotko prehajajo skoraj vse raztopljene soli in mikroelementi iz mleka ter tudi soli dodane v proizvodnji sira. Kalcij in fosfor se delno zadržita v kazeinu sira, odvisno od načina in stopnje hidrolize kazeina, medtem ko se ostale mineralne snovi nahajajo v sirotki v istih deležih kot v mleku. Kisla sirotka vsebuje večjo količino mineralnih snovi kot sladka. Razlika med sladko in kislno sirotko je tudi v količini kalcija in fosforja (Preglednica 8), ker je pri večji kislosti večja tudi topnost soli in Ca-fosfata (Tratnik, 1998).

Preglednica 8: Količina kalcija in fosforja (mg/100g) v sirotki (Hramcov, 1979, cit. po Tratnik, 1998).

Sirotka	Kalcij	Fosfor
Sladka	56	51
Kisla	63	58

Iz mleka prehajajo v sirotko tudi vodotopni vitamini, vitamini topni v maščobah pa le delno, odvisno od količine maščobe, ki ostane po proizvodnji sira. Delež vitaminov je spremenljiv in odvisen predvsem od načina shranjevanja sirotke. V splošnem velja, da lahko en liter sirotke zadovolji dnevne potrebe odraslega človeka po vitaminih B-skupine. Količina riboflavina (B<sub>2</sub>) v sirotki je celo večja kot v mleku zaradi prispevka mlečnokislinskih bakterij v proizvodnji sira. Sirotka ima zaradi vsebnosti riboflavina rumeno-zeleno barvo in se uporablja za pridobivanje koncentriranega riboflavina (Tratnik, 1998).

Mlečna maščoba se v veliki meri zadrži v siru, vendar manjši del maščobe vedno preide tudi v sirotko. Manj maščobe vsebuje kislina sirotka, ker se sveži siri proizvajajo predvsem iz posnetega mleka. V primerjavi z mlečno maščobo v mleku je mlečna maščoba v sirotki bolje razpršena in vsebuje večji odstotek manjših maščobnih kroglic (Preglednica 9) (Tratnik, 1998).

Preglednica 9: Odstotek in velikost maščobnih kroglic v mleku in v sirotki (Hramcov, 1979, cit. po Tratnik, 1998).

Maščobne kroglice	Manjše od 2 $\mu$	2,5-4,7 $\mu$	Večje od 4,7 $\mu$
Mleko (%)	51,9	47,9	0,2
Sirotka (%)	72,6	25,5	1,9

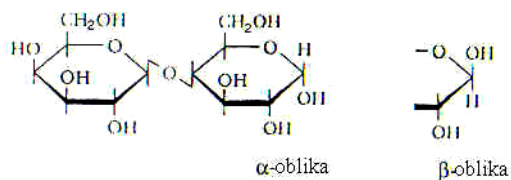
Količina mlečne kisline v sirotki (Preglednica 10) je zelo spremenljiva in je odvisna od postopka pridelave sira, načina hranjenja sirotke ter od mikrobne združbe v sirotki (Tratnik, 1998).

Preglednica 10: Količina mlečne kisline (%) v sirotki (Hramcov, 1979, cit. po Tratnik, 1998)

Sirotka	Prosta mlečna kislina		Vezana mlečna kislina (kot laktat)		Skupna mlečna kislina	
	min.-max.	Srednja vrednost	min.- max.	Srednja vrednost	min.-max.	Srednja vrednost
Sladka	0,11-0,14	0,12	0,62-0,65	0,64	0,70-0,73	0,76
Kisla	0,15-0,19	0,14	0,77-1,11	0,94	0,92-1,24	1,08

V surovi sirotki je zaslediti tri hlapne maščobne kisline in sicer očetno kislino (9,2 mg/l), propionsko kislino (8,5 mg/l) in n-masleno kislino (200 mg/l) (Ghaly, 1996).

Laktoza je disaharid ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ) sestavljen iz molekul  $\alpha$ -D-glukoze in  $\beta$ -D-galakoze. Laktoza se v mleku pojavlja v dveh oblikah, ki sta strukturno izomerični,  $\alpha$ -oblika in  $\beta$ -oblika laktoze, ki se razlikujeta po položaju H in OH skupine na prvem C atomu glukozidnega dela laktoze (Slika 2). Določena temperatura mleka pomeni tudi določeno razmerje  $\alpha$ - in  $\beta$ - oblike, saj je  $\beta$ - oblika laktoze bolj topna od  $\alpha$ - oblike. Denimo, pri sobni temperaturi je v mleku prisotne 37,3%  $\alpha$ -laktoze in 62,7%  $\beta$ -laktoze, od skupne količine laktoze. S spremembo temperature se tudi njun delež spreminja, kar pomeni, da ena oblika laktoze prehaja v drugo, temu pojavu pravimo mutarotacija. Mutarotacija ima važno vlogo v komercialnih procesih kristalizacije laktoze. V praksi je važna kristalizacija  $\alpha$ -laktoze (ker kristalizira hitreje kot  $\beta$ -laktoza) (Tratnik, 1998).



Slika 2:  $\alpha$ -oblika in  $\beta$ -oblika laktoze (Tratnik, 1998)

Laktozo dobimo iz sirotke čisto ali pa pomešano z drugimi snovmi. Kadar želimo izkoristiti specifične vplive laktoze, bomo uporabili bolj čisto. Če pa gre predvsem za to, da izkoristimo sirotko kot kompleksno hranilo, je pogosteje bolje pustiti sirotko, da se prej skisa, ker številni organizmi lažje izkoristijo mlečno kislino kot laktozo (Perdih, 1996).

Procesi gojenja mikrobnih kultur na sirotki se danes smatrajo za najbolj donosno alternativno izrabo laktoze iz sirotke (Castillo, 1990, cit. po Gonzalez, 1996).

Sienkiewicz in Riedel (1990) omenjata druge alternativne možnosti izkoriščanja laktoze:

- Laktitol: ker je sladilna moč laktitola nizka (kalorična vrednost 2kcal/g) se ponuja kot dodatek v nizkokalorčno hrano.
- Laktuloza: je visokovreden disaharid, uveljavljen v farmaciji. Njena sladilna moč predstavlja 48 – 62% sladilne moči saharoze.
- Laktozilurea: je uporabljena kot neproteinski vir dušika pri krmljenju prežvekovalcev.
- Galaktoza: se uporablja kot zamenjava za sorbitol (Kosaric in Asher, 1985, cit. po Gonzalez, 1996).

### 3 SIROTKA V PREHRANI ŽIVALI

Sirotko največ uporabljamo za prehrano svinj v tekočem, koncentriranem stanju ali v obliki prahu. Uporablja se tudi v prehrani telet in perutnine, vendar le kot dodatek obrokom (Miletič, 1994).

Zaradi ločevalnega učinka siriščne koagulacije mleka je sirotka osiromašena energije (1,1 MJ/kg), v maščobi topnih vitaminov, kalcija in fosforja. Kvantitativno je revnejši vir proteinov kot mleko, vendar največji delež proteinov predstavljajo  $\beta$ -laktoglobulini, ki so zelo dobre kvalitete. Ponavadi s sirotko v tekočem stanju krmimo prašiče po volji. Sušeno posneto mleko in sirotka sta uporabna kot sestavina v mlečnih nadomestkih pri krmljenju telet. Nasprotno od tistih v posnetem mleku, se sirotkini proteini ne zasirijo v siriščniku, zato lahko povzročijo prebavne motnje, če je količina, vključena v obrok, prevelika (McDonald in sod., 1995).

Mlečna produktivnost krav, katerim pitna voda je popolnoma ali delno zamenjana s sirotko, ostaja nespremenjena. Krave, ki preema sirotko kot edini vir tekočine, zaužijejo 29 % skupne SS v obliki sirotkine SS, teleta med 28 % in 31 % skupno zaužite SS. Krava lahko zaužije do 90 kg tekoče sirotke na dan. Povprečno dnevno zaužitje 75 kg sirotke predstavlja cca. 27 ton sirotke/kravo/leto. Za pitance je maksimalna priporočljiva dnevna količina zaužite sirotke 37 l. Če krmimo govedo s sirotko se količina zaužitega sena ali žitaric zmanjša za 0,7 do 1 kg/dan za vsak kilogram zaužite SS sirotke (Sienkiewicz in Riedel, 1990).

Tekočo sirotko so krmili kozam (5,5 kg/dan) kot dodatni vir energije. Izboljšala se je kvaliteta mleka, donos mleka (iz 2,65 kg/dan na 2,88 kg/dan), količina maščobe (iz 2,72% na 2,89%), povečala se je vsebnost suhe snovi in koncentracija energije v obroku. Pomembnost in praktični interes za izkoriščanje sirotke kot krmne komponente v prehrani koza ima dvojno prednost: znižuje stroške krmljenja in preprečuje negativen vpliv na okolje (Rapetti in sod., 1995).

### 3.1 TEKOČA SIROTKA V PREHRANI PRAŠIČEV

Sirotka ima visoko hranljivo vrednost za farmske živali. Največkrat je uporabljena v prehrani prašičev v treh oblikah: kot posušena sirotka, zgoščena sirotka in tekoča sirotka. Tekoča sirotka ima nizko vsebnost suhe snovi, v povprečju 6-7 %, katere sestavni del so pretežno laktoza in proteini. Visok delež laktoze v sirotki je odličen vir energije, medtem ko imajo proteini v sirotki visoko biološko vrednost. Dodatno je sirotka tudi vir vodotopnih vitaminov skupine B, delež pepela v sirotki pa je vir kalcija in fosforja (Maswaure in Mandisodza, 1995).

#### 3.1.1 Tekoča sirotka v prehrani odstavljenih pujskov

Tekoča sirotka je tradicionalno hranilo v prehrani prašičev. Kljub temu krmljenje tekoče sirotke odstavljenim pujskom ni v praksi, predvsem zaradi strahu pred zmanjšanjem krmilne higijene in povečanjem rizika poodstavitvene diareje (driske). Novejše raziskave so pokazale, da je sveža sladka sirotka lahko vključena v prehrano odstavljenih pujskov. Lahko jo krmimo zmešano s koncentratom ali pa ločeno po volji, v obeh primerih je rezultat krmljenja s sirotko izboljššan prirast, pri čemer je vpliv driske na smrtnost komaj 0,2%. Mešanje manjše količine tekoče sirotke z žitno-sojinim koncentratom zvišuje konzumacijo obroka pri odstavljenih pujskih. Konzumacija krme je večja, če koncentrat mešamo s sirotko, kot če ga mešamo z vodo. Pri ločenem krmljenju z suhim koncentratom ter sirotko po volji je opaziti 7-kratno povečanje konzumacije sirotke pri odstavljenih pujskih med 5. in 9. tednom starosti, točneje to pomeni porast zauživanja sirotke iz 0,66 l/pujška/dan na 4,7 l/pujška/dan v 4 tednih. Porast v konzumaciji sirotke med rastjo prašičev nam namiguje na boljše izkoriščanje sirotke pri starejših prašičih. Največja korist krmljenja prašičev s tekočo sladko sirotko po volji je prihranek pri krmu (10,2%), še posebej je to opazno pri velikih zaužitih količinah sirotke. Četudi krmimo odstavljenega pujske s tekočo sladko sirotko le za relativno kratko obdobje (4 tedne), je prihranek na krmu opazen tudi v nadaljnjem razvoju prašiča (Maswaure in Mandisodza, 1995).

### 3.1.2 Tekoča sirotka v prehrani prašičev pitancev

Okvirno velja, da ima 14 kg sladke ali 17 kg zakisane sirotke približno tako prehransko vrednost kot 1 kg ječmena. V strokovni literaturi je več modelov za pitanje prašičev s sirotko. Deleži sirotke v obrokih so zelo različni (Preglednica 11), od takih, ki priporočajo največ 8 litrov/dan, pa do takih, ko jo damo pitancu do 25 litrov/dan. Če pitamo s sirotko, jo dajemo v eno korito, koncentrat pa v drugo. Le če dajemo manjše količine, ki jih prašiči sprti požro, lahko oboje zmešamo ali dajemo v isto korito. Dodatno napajanje je potrebno le prvi teden, ko sirotko šele uvajamo, kasneje sirotka zadosti potrebe po vodi (Šalehar in sod., 1995).

Preglednica 11: Različica pitanja z "normalnimi" deleži sirotke v obrokih (Burgstaller, 1991, cit. po Šalehar in sod., 1995)

Teden pitanja	Telesna masa (kg)	Bek-1 oz. Bek-2 <sup>1</sup> (kg/dan)	Sirotka (litrov/dan)
1.	25,0 – 28,5	1,3	1
2.	28,5 – 33,0	1,3	3
3.	33,0 – 37,5	1,4	4
4.	37,5 – 42,0	1,4	6
5.	42,0 – 47,0	1,5	7
6.	47,0 – 52,0	1,5	9
7.	52,0 – 57,0	1,5	11
8.	57,0 – 62,0	1,5	13
9.	62,0 – 67,5	1,5	15
10.	67,5 – 73,0	1,6	15
11.	73,0 – 78,0	1,7	15
12.	78,0 – 83,0	1,8	15
13.	83,0 – 88,0	1,9	15
14.	88,0 – 92,5	1,9	15
15.	92,5 – 97,0	2,2	12
16.	97,0 – 101,5	2,3	12
17.	101,5 – 105,0	2,4	12
Skupaj:	25,0 – 105,0	200	1260

1) Bek-1 = 17-18% SB, Bek-2 = 14% SB



## 4 SIROTKA V PREHRANI LJUDI

Za prehrano uporabljamo iz sirotke zlasti njene beljakovine, katere pridobimo iz nje.. Tako pridobimo sirarsko ali albuminsko skuto, ki jo lahko uživamo v svežem stanju, konzervirano ali jo celo posušimo v dimu. Tudi sire izdelujejo iz sirotkinih beljakovin. Poznana medu podobna je sladica "Mysost" v skandinavskih deželah, ki jo izdelujejo iz sirotke, ter sirotkini siri, kakor je npr. italijanski Mascarpin. Iz sirotke prirejajo še osvežujoče pijače, ki jim dodajo še sadnih sokov, zelišč, vina ipd. (Šabec in Fischione, 1968).

Poseben pomen ima sirotka kot zdravilna pijača. Ugotovili so, da sirotka zelo ugodno učinkuje na peristaltiko črevesja.. Zaradi odličnih učinkov smatrajo sirotko kot edinstven "diuretikum" in potemtakem za uspešno zdravilo pri ledvičnih boleznih. Mimo tega je sirotka uspešno dražilo za živahnjše izločanje žolča. Lakto- in riboflavin iz sirotke vplivata ugodno na prebavo; temu vitaminu pripisujejo, da pospešuje prebavo ogljikovih hidratov in da povečuje odlaganje glikogena v jetrih in mišicah. Ugoden vpliv laktoflavina so opazili še pri delovanju dihalnih organov (Šabec in Fischione, 1968).

### 4.1 TEKOČA SIROTKA

Sestava in temperatura sirotke vplivajo na razvoj bakterij, zato jo je potrebno čimprej ohladiti. Za kratkočasno shranjevanje (10-15 ur) je dovolj, da se jo ohladi pod 5°C. Če jo hočemo shraniti za daljši čas, je potrebna toplotna obdelava pri pogojih "srednje do kratkotrajne pasterizacije" (72-74°C / 15-20s) ali pa je dovolj termoliza (65°C / 15s), zaradi termolabilnih proteinov sirotke. Če zakonski predpisi dovoljujejo se lahko sirotko tudi konzervira: z dodatkom formaldehida (0,03%), vodikovega peroksida (0,03%, 30%-raztopine), natrijevega bisulfit (0,4%, preračunano na SO<sub>2</sub>) ter z benzojsko ali propionsko kislino (0,3%), kar je odvisno od nadaljnje predelave (Tratnik, 1998).

Yetim in sod. (2001) so raziskovali zamenjavo ledu z sirotko v proizvodnji frankfurtskih tipov klobas. Opazili so izboljšano stabilnost emulzije, povečano količino pepela in zvišano vrednost pH. Dobljeni rezultati so pokazali, da se sveža sirotka lahko dodaja

frankfurtskim tipom klobas, kar pripomore k varovanju okolja, saj z izkoriščanjem dragocenega, a največkrat zavrženega živalskega proizvoda, pridobimo koristen prehrabeni proizvod z minimalnimi vloženi stroški.

## 4.2 SIROTKINE PIJAČE

Ker ima sirotka neprivlačen okus, relativno visoko laktozno-glukozno stopnjo in pretirano kislost, posebej če spada v razred kisle sirotke, je bilo mnogo postopkov predelave razvitih v želji po izboljšanju njenih karakteristik, ki bi omogočile uporabo v prehrani ljudi. Prvi je že leta 1976 Bangert predlagal pijačo s sirotke z dodatkom pomarančnega koncentrata in citronske kisline kot kisave. Od takrat je bilo predlaganih mnogo pijač, predvsem z pomarančnimi in citrusnimi okusi (Scibelli, 1980, cit. po Djurić in sod., 2004; Remer, 1982, cit. po Djurić in sod., 2004; Dahlen, 1984, cit. po Djurić in sod., 2004; Girsh, 1999, 2001, cit. po Djurić in sod., 2004; Schroder, 2002, cit. po Djurić in sod., 2004).

Kasneje so uporabili tudi mnogo drugih sadežev, med drugimi grenivko, mandarino, banano, mango, papaja, jabolko, breskev, češnjo, melono ali marelico itd. (Girsh, 1999, 2001, cit. po Djurić in sod., 2004).

Posebej zdrave so jagode (kosmulja, borovnica, jagoda, malina, robidnica, črni ribez, murve) in če jih okrepimo z virom železa, vplivajo te sirotkine pijače na vrednost hemoglobina (Miglioranza in sod., 2003, cit. po Djurić in sod., 2004).

Nemška kooperacija Danone ima na tržišču dve izraziti sirotkini pijači, FrumixX ter FreshDrink. Prva je mlečna pijača za otroke narejena iz mleka in sirotke in 6 % sadja, druga pa je osnovana na sirotki (47 %), jogurtu (28 %) in sadnem soku (12 %). Tudi ostala mlečnopredelovalna industrija sledi trendu, tako imamo iz mlekarne Muller sadno-sirotkino pijačo Froop, Meggle proizvaja Frucht Drink, t.j. sadno-sirotkina pijača z okusom malin, limone, jabolka ali pomaranče in marakuje. Avstrijska tovarna Nom ima na tržišču proizvod imenovan Refresh, ki je pijača iz fermentiranega sirotkinega koncentrata, z dodatkom 15 % sadja, probiotičnimi kulturami ter vitamini (Kacvinsky, 2005).

Plod prizadevanj, da bi izkoristili sirotko v prehrani, so tudi fermentirane sirotkine pijače. Znani so poskusi priprave sirotkine pijače z dodatkom cepiva (*Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbruckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*). Po 24 urah inkubacije je pripravek primeren za uživanje. Napitke pripravljajo tudi iz deproteinizirane sirotke, ki so lahko fermentirani ali nefermentirani. Brezbeljakovinsko sirotko fermentirajo z mlečnokislinskimi mikroorganizmi, filtrirajo, koncentrirajo v razmerju 7:1, dodajo sladkor in arome, stekleničijo in pasterizirajo. Iz take sirotke izdelujejo tudi pijače, ki vsebujejo do 1 % alkohola (fermentacija s kvasovkami ali kefirnimi zrci). Patentirani so tudi recepti za izdelavo sirotkinega piva in vina, nadalje beljakovinsko obogatenih sirotkinih napitkov, itd. (Slanovec, 1982).

Na Finskem so se ubadali z problemom *Lactobacillus casei* GG, ki ne fermentira laktoze ima pa koristne probiotske lastnosti. Te bakterije mlečne kisline so uporabili v proizvodnji napitka "Gefilus", ki je osnovan na bazi demineralizirane sirotke ali koncentrata sirotkinih proteinov z hidrolizirano laktozo. Ta fermentirani napitek aromatizirajo z dodatkom sadnega soka ali sadne arome, osladijo pa s fruktozo (Kosikowski in Mistry, 1997, cit. po Tratnik, 1998).

Kot alternativna izraba sirotke se ponuja priprava alkoholnih napitkov. Proizvodnja alkoholnih pijač ima potencial za ustvarjanje dodane vrednosti. Raziskovali so uporabo termotolerantnih imobiliziranih kvasovk vrste *Kluyveromyces marxianus* za fermentacijo sirotke pri višjih temperaturah. Celice kvasovke so bile imobilizirane na podlagi iz DCM (Delignified Cellulosic Material). DCM je organski nosilec, ki se je izkazal kot dober podporni material za imobilizacijo celic *Saccharomyces cerevisiae* (Bardi in Koutinas, 1994, cit. po Kourkoutas in sod., 2002) ter kvasovk kefirja (*Athanasiadis in sod.*, 1999, cit. po Kourkoutas in sod., 2002).

Fermentacija je najbolje potekala pri temperaturi 45 °C, ko je bila dosežena koncentracija etanola po 72 urah vrenja od 1,2 do 7,3 g/l. Nizke koncentracije etanola so verjetno posledica zaradi povečanega hlapenja etanola med fermentiranjem ob visoki temperaturi (45 °C). Da bi preprečili hlapenje etanola so uporabili vodno oviro nasičeno s CO<sub>2</sub>. Koncentracije etanola so se povečale v primerjavi z fermentacijami brez vodne ovire.

Izkazalo se je, da je DCM prava podlaga za termofilne kvasovke iz rodu *Kluyveromyces marxianus* pri visokotemperaturni fermentaciji sirotke. To omogoča proizvodnjo fermentiranega surovega materiala za proizvodnjo alkoholnih pijač. Fermentacijski časi so bili kratki in koncentracija hlapnih sestavin je v mejah običajnih alkoholnih pijač. Dodatno je fermentirana sirotka vsebovala nizke vsebnosti amilnih alkoholov ter je imela privlačen okus. Iz predhodnih ocen je zaključiti, da je proizvod dobre kvalitete z značilnim aromatičnim potencialom, konec koncev bi lahko ta proces vodil v delno izrabo velikih količin sirotke, ki se jo je težko znebiti (Kourkoutas in sod., 2002).

#### 4.3 SIROTKA V PRAHU

Z kombinacijo nanofiltracije in diafiltracije je omogočena proizvodnja demineralizirane sirotke v prahu (Tratnik, 1998).

Specifikacija ministrstva za kmetijstvo v ZDA (USDA) navaja, da mora suh koncentrat sirotkinih proteinov vsebovati od 25% do 89,9% proteinov, ne več kot 10% mlečne maščobe, ne več kot 5% vlage in naj vrednost pH ni višja od 7,0 (USDA, 2003).

Vse več se uporablja v prehrani ljudi. V proizvodnji kruha in peciva sirotka izboljšuje razteznost testa, kot tudi okus in barvo proizvoda, zato sirotka postopno zamenjuje mleko v prahu (Miletič, 1994).

Koncentrate sirotkinih proteinov se lahko dodaja v koncentracijah do 250 g/kg v koruzno, riževo ali krompirjevo moko, skratka v jedi, ki vsebujejo bistven delež škroba (Onwulata in sod., 2001).

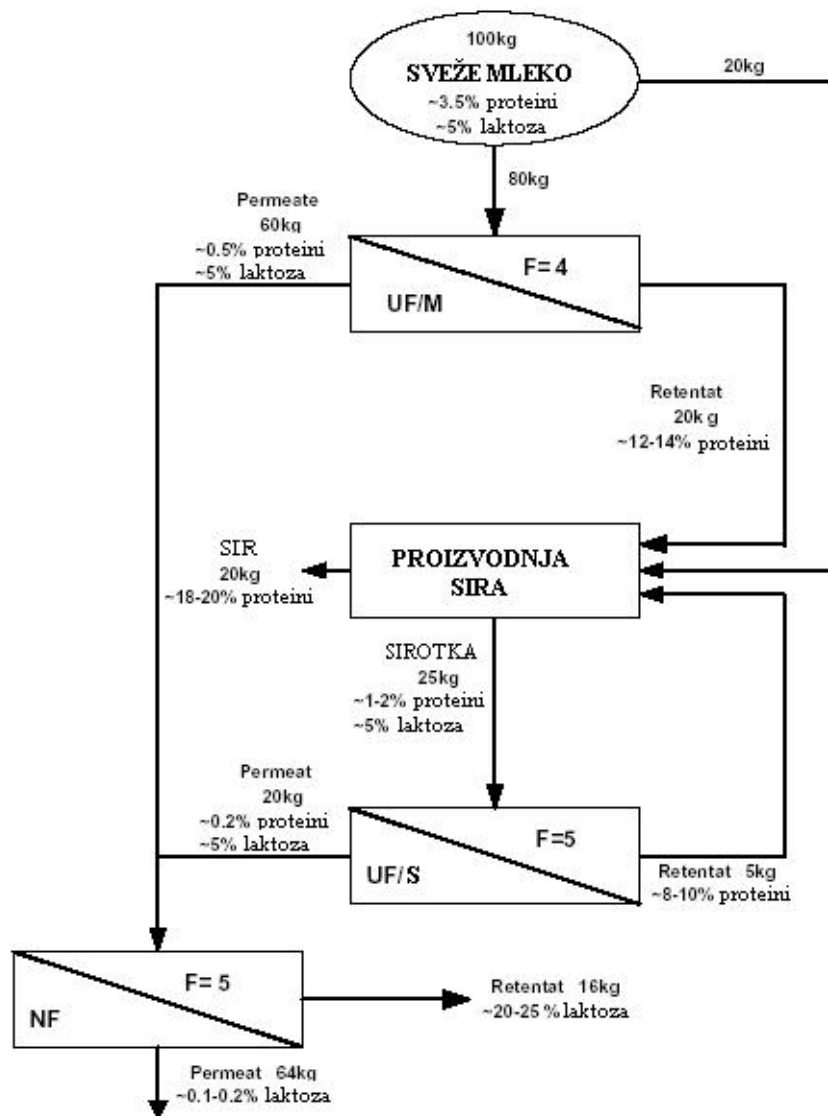
Koncentrat sirotkinih proteinov se lahko koristi tudi kot zamenjava za mlečno maščobo. To spoznanje pomeni važen napredek v proizvodnji dietetičnega sira z manj maščobe, še posebej v proizvodnji kremnih sirov. Koncentrat sirotkinih proteinov iz sirotke se lahko vrne oz. doda svežemu siru, vendar je vključevanje sirotkinih proteinov v sveži sir možno šele po toplotni denaturaciji. Tako proizveden sveži sir je obogaten z večjo količino sirotkinih proteinov ter naj bi poleg večje hranilne vrednosti in prebavljivosti tudi

zmanjšal nevarnost pojavljanja karcinoma in stimulirajoče deloval na imunsko odpornost telesa. Večje zadrževanje mineralnih snovi (največ kalcija) med procesom ultrafiltracije sirotke je možno predhodno preprečiti deloma z demineralizacijo (ionsko izmenjavo ali elektrodializo) ali z dekalifikacijo sirotke ali z uporabo diafiltracije, ki omogoča izpiranje večje količine mineralnih snovi in laktoze. Z dodajanjem koncentrata sirotkinih proteinov v mleko, med vrenjem nastane nekoliko nežnejša konsistenca koaguluma, ki pa je homogena, z zmanjšano možnostjo prehajanja sirotke na površino (sinereza), kot ob dodatku UF mleka ali mleka v prahu. Diafiltrirani ali demineralizirani koncentradi proteinov sirotke vplivajo na boljši okus, na tvorbo aromatskih substanc ter na bolj gladko strukturo koaguluma (Tratnik, 1998).

Atra in sod. (2005) so raziskovali izkoriščanje sirotke ter zmanjšanje količine odpadne vode v sirarski industriji. Z uporabo predhodne koncentracije mleka, koncentracije sirotke za vključitev proteinov v sir in koncentracije laktoze (Slika 3) so izboljšali kvaliteto sira ter postavili osnovo za okolju prijaznejšo in čistejšo tehnologijo.

Nekatere karakteristike spodnjega procesa so:

- Zadrževalna sposobnost proteinov pri UF membranah znaša od 92-98 %, ob hitrosti toka permeata  $30 \text{ l}/(\text{m}^2 \text{ h})$  ter uporabi nizkega pritiska ( $\sim 3 \text{ bar}$ ).
- Za kazeinske in albuminske proteine je najprimernejša temperatura UF  $\sim 50 \text{ }^\circ\text{C}$  ob nizki viskoznosti raztopine. Višanje temperature je omejeno zaradi razgradnje proteinov in poškodb membranskega materiala.
- Po nanofiltraciji je bila koncentracija laktoze v retentatu 25 % pri pretoku  $40 \text{ L}/(\text{m}^2/\text{h})$  in pritisku 20 bar.
- Permeatna voda je po NF vsebovala vsega 0,1 – 0,3 % laktoze, torej jo je možno uporabljati za več namenov (čiščenje, namakanje) ali pa jo lahko izlijemo v odtočni kanal (Atra in sod., 2005).



F – koncentracijski faktor

$$F = V_V / V_R$$

$V_V$  – volumen vstopne snovi (L);  $V_R$  – volumen retentata (L);

Slika 3: Masno ravnotežje v predlaganih kombinacijah predelovanja (Atra in sod., 2005).

## **5 POSTOPKI ZGOŠČEVANJA IN LOČEVANJA SESTAVIN SIROTKE**

### **5.1 KLASIČNA EVAPORACIJA**

Klasična evaporacija sirotke poteka v dvostopenjski, trostopenjski ali večstopenjski uparilni postaji (največ do 7 uparilnikov). S povečevanjem števila uparilnikov se stroški porabe energije zmanjšujejo, zaradi sekundarne pare predhodnega uparilnika. Zgoščena sirotka se po sušenju lahko uporablja v številnih prehrabnih proizvodih kot sirotka ali laktoza v prahu (Tratnik, 1998).

### **5.2 SUŠENJE SIROTKE**

Priporočljivo je ohladiti sirotko pod 10 °C čimprej po izlitju iz sirnih kotlov, da se zmanjša mikrobna aktivnost. Priporočljivo je tudi predhodno odstranjevanje t.i. »sirnega prahu« z postopkom bistrenja ter odstranjevanje maščobe s centrifugacijo. Vsakršno pomanjkanje higiene v postopku povečuje stopnjo kislosti, zmanjšuje kvaliteto končnega produkta ter povzroča težave med sušenjem (Pisecky, 2004).

#### **5.2.1 Spray sistem sušenja sirotke**

Pri spray sistemu sušenja je proizvod izpostavljen nizkim temperaturam med procesom sušenja zaradi pretvorbe beta-laktoze v alfa-laktozo ter nadaljnje kristalizacije. Rezultat je prah, ki je nehigroskopičen (Pisecky, 2004).

Na osnovi spray sistema so bili razviti različni tipi sušilnikov. Od enostavnega enostopenjskega spray sušilnika do dvo- in tro-stopenjskih ter različnih kombinacij spray sušilnikov z evaporatorji in filtratorji (SprayDryers, 2006).

##### **5.2.1.1 Enostopenjski spray sistem**

Enostopenjski spray sistem se uporablja samo kadar proizveden prah dosega zahtevane higienske standarde brez dodatne obdelave (SprayDryers, 2006).

#### 5.2.1.2 Dvostopenjski spray sistem

Dvostopenjski spray sistem je sestavljen iz sušilne komore ter fiksne ali vibrajoe valjčne plošče, ki je montirana pod sušilno komoro in je namenjena nadaljnjemu sušenju in/ali ohlajanju proizvoda (SprayDryers, 2006).

#### 5.2.1.3 Trostopenjski spray sistem

Trostopenjski spray sistem je sestavljen iz valjčnega sistema, ki je montiran v sušilni komori ter dodatnega zunanega valjčnega sistema za nadaljnje sušenje in/ali ohlajanje. (SprayDryers, 2006).

### 5.2.2 Valjni sistem sušenja sirotke

Preden snov vstopi v valjni sušilnik mora iti skozi postopek kopičenja snovi, najpogosteje so to procesi kristalizacije, koagulacije ali polimerizacije, katerim sledi mehanično odvajanje vode. Moderni valjni sistemi sušenja zahtevajo visoke sanitarne standarde, zmožnost samopraznitve ter avtomatični čistilni sistem. Pogosto je valjni sistem kombiniran s spray sistemom sušenja. Razvit je tudi vibracijski valjni sistem, ki optimizira proizvodnjo (FluidBed Dryers, 2006).

## 5.3 TOPLOTNA DENATURACIJA

Toplotna denaturacija. Pri denaturaciji sirotkinih proteinov sirotko segrevamo na temperaturo za določen čas (opt. 90-95 °C, 10-20 min.). Tako dosežemo denaturacijo in koagulacijo termolabilnih sirotkinih proteinov, ki so potem uporabni v prehrabene namene (Tratnik, 1998).

Proteinska denaturacija vključuje spremembo naravne strukture proteinov, z izjemo primarnih kovalentnih vezi med aminokislinami. Tako je proces denaturacije omejen na spremembo sekundarne in terciarne strukture proteinskih molekul. Denaturacija vključuje odvijanje alfa strukture proteinskih kroglic, oblikovanje t.i. "slučajnih skupkov", cepitev dveh do treh kovalentnih vezi ali 20-40 ostalih vezi znotraj molekule proteina, cepljenje vodikove vezi, kar pripomore k ustvarjanju novih vezi in "agregacijo" molekul.



Reverzibilno denaturacijo (vrnitev v naravno strukturno stanje) preprečimo s podaljšano toplotno obdelavo. Imunoglobulini so najobčutljivejši za toplotno obdelavo, slede jim serum-albumini,  $\beta$ -laktoglobulini in  $\alpha$ -laktalbumini, medtem ko so proteoza in peptoni termostabilni (Tratnik, 1998).

Toplotna denaturacija omogoča ob prisotnosti kisline obarjanje sirotkinih proteinov. Oborino ločimo od sirotke s filtracijo, centrifugiranjem ali dreniranjem. Vsebuje približno 77% vode, 16% beljakovin, 3,5% laktoze, 2,5% maščobe, 1,0% pepela in ima vrednost pH 6,0. Hranilna vrednost tako pridobljenih beljakovin ni zmanjšana. Alfa Laval je razvil sistem za pridobivanje sirotkinih beljakovin s pomočjo toplotne obdelave in obarjanja (Centry Whey), ki posneto sirotko segreje na približno 95° C in drži pri tej temperaturi 30 minut. Pri tem beljakovine denaturirajo. Ploščni izmenjevalec toplote pogosto zamenjuje ali pa dopolnjuje injektor za direktno vbrizgavanje pare, pri čemer se sirotka segreje na 75 do 95° C. Sirotki nato uravnajo vrednost pH na območje okoli izoelektrične točke, na 4,5. Siroški sirotki dodajo v ta namen mlečno kislino (0,5 litra 80% mlečne kisline na 1000 L sirotke). Kislini sirotki dodajo mlečno kislino le po potrebi. V cevnem vzdrževalcu toplote se denaturirane beljakovine v 30 sekundah izkosmičijo, po vmesnem ohlajanju pa se v separatorju ločijo od tekočine. Po tem postopku pridobljene sirotkine beljakovine lahko tudi sušimo (Slanovec, 1982).

Pri temperaturni denaturaciji termolabilnih frakcij (90° C) se izloča vsega 20-25% proteinov. Nepopolno izločanje je pogojeno z zaščitnim delovanjem prisotnih elektrolitov v sirotki, tako da prevlada negativni naboj, ki je osnovni faktor stabilnosti proteinov (Tratnik, 1998).

Postopek toplotne denaturacije se lahko pospeši in izboljša z dodatkom kisline ali baze, s čimer se prilagaja vrednost pH-izoelektrična točka reakcije, kar vodi do razdvajanja ionskih vezi proteinov in pripomore k denaturaciji. Z načinom toplotne denaturacije z zakisanjem sirotke se izloči 10-15% več proteinov. Optimalna reakcija postopka z zakisanjem se pojavlja pri vrednosti pH = 4,4-4,6. Za maksimalno izločanje proteinov iz sladke sirotke se mora izvajati toplotna denaturacija pri temperaturi  $92,5 \pm 2,5^\circ \text{C}$  ob blagem mešanju ter z zakisanjem do vrednosti  $\text{pH} = 4,5 \pm 0,1$ . Po 5 minutnem mirovanju

opravimo nevtralizacijo na vrednost  $\text{pH}=6,25\pm 0,25$ , sledi ponovno mirovanje za 15 minut. S tem kombiniranim postopkom toplotne denaturacije ob kislinsko-baznem postopku se izloči 50-55% proteinov iz sladke sirotke (Tratnik, 1998).

Poleg kislinsko-baznega postopka se je kot dober pokazal način toplotne obdelave kombiniran z kalcijevim kloridom (0,9-1%), pri katerem prav tako dosežemo izločevanje preko 50% proteinov (Tratnik, 1998).

Proces denaturacije se lahko pospeši tudi z dodatkom kalcijevih ali cinkovih ionov, ki se aktivno vežejo na površino proteinske molekule in tako zmanjšujejo stabilnost proteinov ter omogočajo koagulacijo. Tudi dodajanje kuhinjske soli ima vpliv na izločanje sirotkinih proteinov v vseh štirih načinih koagulacije: toplotnem, kislinskem, kislinsko-baznem ter v načinu koagulacije s pomočjo  $\text{CaCl}_2$  (Tratnik, 1998).

#### 5.4 GELSKA FILTRACIJA

Gelska filtracija omogoča pripravo polproizvoda za farmacevtske namene ob sočasni možnosti pridobivanja laktoze. Sirotko najprej očistijo delcev sirnine, nato jo koncentrirajo na približno 50% suhe snovi. Sledi hlajenje, pri čemer laktoza kristalizira in jo odstranijo s centrifugiranjem. Preostalo sirotko ločijo s filtracijo v štiri ali več frakcij, kar omogoča ločitev albuminov in globulinov. Posamezne frakcije vsebujejo različno količino beljakovin, laktoze, maščobe in pepela. Sledi končna koncentracija in sušenje sirotkinih beljakovin. Izdelan prah jih vsebuje do 75 % (Slanovec, 1982).

#### 5.5 ULTRAFILTRACIJA

Ultrafiltracija (UF) je tlačni proces filtracije skozi polpropustne membrane s premerom por med  $0,001\ \mu\text{m}$  do  $0,02\ \mu\text{m}$ . Proces ultrafiltracije se izrablja za proizvodnjo koncentrata sirotkinih proteinov z željeno količino proteinov, laktoze in mineralnih snovi, odvisno od stopnje ultrafiltracije. Pri ultrafiltraciji sirotke se na membrani zadržijo predvsem velike molekule (proteini in mlečna maščoba). Med UF sirotke prihaja po celotni površini membran do "dinamične membrane", ki je sestavljena iz natrpanih mikroorganizmov,

maščobe, mineralnih snovi in denaturiranih proteinov sirotke. Kadar postane "koncentracijska polarizacija" (zaradi povečanja deleža suhe snovi, predvsem proteinov) tako močna, da sledi zamašitev membrane, takrat postanejo lastnosti membran sekundarnega pomena. Na pretok permeata pri UF sladke sirotke precej vplivata temperatura procesa in vrednost pH sirotke. Oba dejavnika delujeta na topnost Ca-fosfata, ki je glavni krivec za mašenje membran. Večji pretok permeata je dosežen, če se iz sirotke izloči okoli 40% topnega kalcija, to se lahko doseže z dodatkom 0,2% Na-citrata ali pa delno demineralizacijo pred procesom UF. Pri UF demineralizirane sirotke se zaradi nižanja ionske napetosti zmanjšuje disperzija proteinov, ki takrat teže k agregaciji, zato je pretok permeata slabši. Večji pretok dosežemo s predhodno dekalifikacijo sirotke (Tratnik, 1998).

Pred procesom ultrafiltracije je dobro izvesti vsaj osnovno predhodno obdelavo sirotke. Netopne snovi lahko ločujemo z filtracijo ali bistrenjem, s centrifugalno separacijo lahko znižamo količino mlečne maščobe na minimum in potem sirotko pasteriziramo, vendar je zaradi termolabilnih proteinov sirotke bolje izvesti mikrofiltracijo. Da dosežemo predhodno usedanje Ca-fosfata lahko pred procesom UF sirotko segrejemo, vendar največ na 60° C (30 min), zaradi termolabilnih proteinov (Tratnik, 1998).

## 5.6 DIAFILTRACIJA

Diafiltracija je postopek ultrafiltracije z dodatkom demineralizirane vode. Tako je možno doseči želeni koncentrat proteinov, laktoze in mineralnih snovi. Pri tem postopku dosežemo koncentrat proteinov sirotke s približno 80% proteinov v SS (Tratnik, 1998).

## 5.7 MIKROFILTRACIJA

Mikrofiltracija (MF) je nizek-tlačna membranska filtracija (0,1 – 0,5 bar), ki izloča delce velikosti od 0,05 do 10 µm. S pravim izborom membran dosežemo izločevanje bakterij, izločevanje maščobnih kroglic, lipoproteinov ter ostankov kazeina (Tratnik, 1998).

## 5.8 REVERZNA OSMOZA

Reverzna (obratna) osmoza (RO) je tlačno-membranski proces filtracije, ki temelji na načelu difuzije, procesu, ki je obraten od osmoze. Membrane za RO imajo pore premera od 0,0001 do 0,001  $\mu\text{m}$ , tako da se v koncentrat (retentat) odvedejo makromolekule in molekule manjših molarnih mas, permeat pa je teoretično čista voda. RO se uporablja namesto tradicionalnega uparjanja zaradi velikega energetskega prihranka. Dodatna prednost je tudi večja kakovost in hranljivost zgoščene sirotke. Uporablja za koncentriranje do največ 30% skupne suhe snovi sirotke (Tratnik, 1998).

Povečanje koncentracije SS v sirotki med RO zmanjšuje pretok permeata, ker narašča tlak raztopine to pa povečuje prehod topnih delcev skozi membrano. Hitrost pretoka (m/s) in turbulenca sirotke imata največji vpliv na učinkovitost RO. V praksi se pri procesu RO uporabljajo nižje temperature (okoli 10-20° C), da se prepreči topljenje Ca-fosfata ter tudi zaradi vpliva temperature na bakteriološko kakovost proizvoda. Če se uporabi temperatura koncentriranja od 30° C do 35° C, brez predhodne obdelave sladke sirotke, se zmanjša ekonomičnost procesa zaradi zmanjšane pretoka permeata. Razlog za to je predvsem topljenje koloidnega Ca-fosfata, katerega topnost se pri nevtralnih vrednostih pH hitro znižuje. (Tratnik, 1998).

## 5.9 LOČEVANJE PROTEINOV IN LAKTOZE Z HIDROKSIAPATITOM

Rekuperacija sirotkinih proteinov in laktoze predstavlja pomembno nalogo tako v okoljevarstvenih kot v prehranskih ciljih. Optimizacija predelave sirotke zahteva kvantitativno ločevanje sirotkinih proteinov od laktoze, nižanje stroškov, neškodljiv vpliv na okolje, fleksibilnost v pridobivanju proteinov in prilagoditev procesa na tip in količino sirotke na voljo (Rossano in sod., 2001).

Rossano in sod. (2001) so predstavili metodo, ki temelji na uporabi cenovno ugodnega in netoksičnega hidroksiapatita (oblika kalcijevega fosfata –  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) za enokoračno ločevanje laktoze (neadsorbirane) od sirotkinih proteinov (adsorbiranih). Rekuperacija proteinov je izvedljiva z visoko fleksibilnostjo. Okoli 56% proteinov,

primarno  $\alpha$ -laktoalbuminov in imunoglobulinov, je bilo izločenih pri vrednosti pH 5,0. Ostali glavni proteini se izločijo pri vrednosti pH 6,0. Obe frakciji proteinov, izločenih pri vrednosti pH 5,0 in pH 6,0 so dodatno očistili v postopku gelske filtracije. Ta metoda zagotavlja večjo fleksibilnost pri pridobivanju sirotkinih proteinov ter kvantitativno ločevanje proteinov od laktoze kot uporaba postopkov ultrafiltracije in nanofiltracije.

## 6 POSTOPKI DEMINERALIZACIJE SIROTKE

Demineralizacija sirotke je danes pomemben proces, ki omogoča pridobivanje raznovrstnih proizvodov iz sirotke, kar je še posebno važno v proizvodnji otroške in dietetične hrane. Postopki, ki se uporabljajo za demineralizacijo sirotke so: ionska izmenjava, elektrodializa in nanofiltracija (Tratnik, 1998).

### 6.1 IONSKA IZMENJAVA

Uvedba ionskih izmenjevalcev za odstranitev arome in tipičnega slano-trpkega okusa sirotke se omenja že leta 1949. Ta proces se uporablja kot predhodni postopek pri pridelavi raznih proizvodov iz sirotke: mlečne kisline, laktoalbumina, etilnega alkohola, laktoze, laktoznega sirupa, laktitola, koncentrata sirotkinih proteinov. Demineralizacija sirotke je zasnovana na bazi močno kislih in slabo bazičnih ionskih izmenjevalcev. To so polimeri makroporozne strukture, katerih kakovost mora odgovarjati uporabi v prehranski industriji. Kationski izmenjevalec zamenjuje svoje vodikove ione za katione iz sirotke, medtem ko se v anionskem izmenjevalcu hidroksilni ioni zamenjujejo z negativnimi ioni soli ob nastanku vode (Tratnik, 1998).

Prednosti procesa demineralizacije z ionskimi izmenjevalci v primerjavi z elektrodializo so: enostavnejši proces, nižji stroški, večja stopnja demineralizacije, krajši čas procesa. Proces poteka pri nižjih temperaturah, kar omejuje bakteriološko aktivnost, hkrati pa stene ionskih izmenjevalcev delujejo kot bakterijski filtri, tako da se število bakterij v demineralizirani sirotki zmanjša za 30-50%. Če je sirotka predhodno deproteinizirana lahko proces poteka pri temperaturah višjih od 50° C (Tratnik, 1998).

Glavna pomanjkljivost procesa je kopičenje sirotkinih proteinov zaradi spremenljivosti vrednosti pH med procesom na stenah ionskih izmenjevalcev, predvsem na anionskem izmenjevalcu, ker imajo proteini sirotke negativni naboj. Posledična pomanjkljivost je velika poraba kemikalij za regeneracijo ionskih izmenjevalcev in velika količina odpadne vode (efluenta) (Tratnik, 1998).

Pri pridobivanju sirotkinih beljakovin, laktoze, laktatov, mlečne kisline, kvasa, vitamina B<sub>11</sub>, pri izdelavi sirotkinih pijač, pri njenem izkoriščanju kot gojišče za pridobivanje penicilina, itn. sirotka ne sme vsebovati nitratov. Če dodajamo mleku za sir do 20 g nitratov na 100 litrov, preide približno 90% KNO v sirotko. Z nitrati onesnaženo sirotko je zato treba predhodno očistiti, kar dosežemo običajno s pomočjo anionskih izmenjevalnih kolon (Slanovec, 1982).

## 6.2 ELEKTRODIALIZA

Elektrodializa je membranski proces, ki je zasnovan na elektrokemijskih zakonih gibanja ionov v električnem polju med anodo in katodo. Anode in katode so sestavljene iz ionsko-selektivnih membran, prepustnih za pozitivne ali negativne ione, ne pa za vodo. Elektrodializa je osnovana tako, da sirotka prehaja v prostor med dvema membranama, tekočina za izpiranje pa v prostore med prehajanjem sirotke. Pri tem se pozitivno nabiti ioni sirotke pomikajo proti katodi, negativno nabiti pa proti anodi ter se koncentrirajo v tekočini za izpiranje. Relativno slabo izločanje Ca<sup>2+</sup> iz sirotke z elektrodializo v primerjavi z ionsko izmenjavo je lahko prednost postopka, če sirotko uporabimo za pripravo hrane za dojenčke (Tratnik, 1998).

Učinkovitost elektrodialize je tudi odvisna od koncentracijske polarizacije zaradi precipitata mineralov in proteinov na membranah, zato je priporočljiva predhodna obdelava (bistrenje) sirotke. Priporočljiva je tudi predhodna koncentracija (do 30% SS) za boljšo ekonomičnost procesa. Čeprav višje temperature povečujejo ionsko gibljivost, so le-te omejene na 30-40° C zaradi omejene odpornosti membran in denaturacije termolabilnih proteinov sirotke. Proces se dodatno draži zaradi kratke življenjske dobe membran ter njihovega čiščenja. Za elektrodializo je potrebno 40-50 krat več električne energije kot za ionsko izmenjavo (Tratnik, 1998).

V poskusu, ki so ga opravili Greiter in sod. (2002) so uporabili trikrat zgoščeno, nanofiltrirano, delno razsoljeno sirotko za poskus razsoljevanja z ionsko izmenjavo in elektrodializo. Ionska izmenjava je končni produkt razsolila za 99%, elektrodializa pa za 90%. Donos procesa ionske izmenjave je bil 3,7 m<sup>3</sup> odpadne vode z 36,3 kg pepela in

organskim bremenom 26 kg KPK/m<sup>3</sup> uporabljene sirotke. Elektrodializa je proizvedla 1,25 m<sup>3</sup> odpadne vode z 8,1 kg pepela in organskim bremenom 8,4 kg KPK/m<sup>3</sup> (Greiter in sod., 2002).

### 6.3 NANOFILTRACIJA

Nanofiltracija (NF) ali ultraosmoza ali hiperfiltracija, je postopek tlačne pretočne filtracije (20 – 30 bar), ki se uporablja za ločevanje snovi z nižjimi molekularnimi masami (Preglednica 12), predvsem na bazi spiralnih ali cevastih membran. Te membrane omogočajo izločanje NaCl iz slane sirotke. Po uparjevanju in sušenju permeata je omogočena ponovna uporaba NaCl, s čimer dosežemo prihranke v sirarski industriji (Tratnik, 1998).

Preglednica 12: Zadrževanje nekaterih sestavin sirotke ob uporabi membran za nanofiltracijo (Bird, 1996, cit. po Tratnik, 1998)

Sestavine	Proteini	NPN <sup>1</sup>	Laktoza	NaCl	Fosfati	Ca	Mg	K
Zadrževanje (%)	100	50	99+	20-25	95	93-95	95	15-20

<sup>1)</sup> NPN – Nепroteinski dušik (angl. Non Protein Nitrogen)

Preglednica 13: Vsebnost ionov v 3-krat koncentrirani sladki sirotki (SS 18-20%) po evaporaciji (Chaveron in sod., 1979, cit. po Greiter in sod., 2002) in po nanofiltraciji (Greiter in sod., 2002).

Ion	Koncentracija (mg/l)	
	Evaporirana sirotka	Nanofiltrirana sirotka
Na <sup>+</sup>	1120	725
K <sup>+</sup>	4490	2590
Ca <sup>2+</sup>	900	895
Mg <sup>2+</sup>	220	225
Cl <sup>-</sup>	3400	835
PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	3500	2935
Skupaj	13630	8200



## 7 ZMANJŠEVANJE ONESNAŽEVALNEGA UČINKA SIROTKE Z RASTJO MIKROBNE BIOMASE

Med številnimi opisanimi procesi za komercialno proizvodnjo mikrobne biomase iz sirotke izstopata dunajski proces in t.i. »Bel« proces (po sirarni Le Bel v Franciji, ki je proces patentiral leta 1955) (Yves, 1979, cit. po Gonzalez, 1996; Moulin in Galzy, 1984, cit. po Gonzalez, 1996). V primeru »Bel« procesa so uporabljene tri vrste kvasovk (*Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Torulopsis bovina*) gojene na sirotki nepretrgano, za dobo več kot enega leta, pri vrednosti pH 3,5 in temperaturi 38 °C (Castillo, 1990, cit. po Gonzalez, 1996). Pred inkubacijo se sirotko pasterizira, da obdrži primerno bakteriološko sestavo (Mawson, 1994, cit. po Gonzalez, 1996). Kvasovka *Torulopsis bovina* ne raste direktno na laktozi, ampak se hrani z etanolom, ki ga proizvajajo kvasovke vrst *Kluyveromyces* (Moulin in Galzy, 1984, cit. po Gonzalez, 1984). Donos suhih kvasovk je 50% teže uporabljene laktoze. Takšna biomasa je sestavljena iz 48-52 % beljakovin z uravnoveženo sestavo esencialnih aminokislin, bogata na lizinu ter vitaminih B-skupine. Ta produkt se je imenoval 'Protibel' (Yves, 1979, cit. po Gonzalez, 1996).

V dunajskem procesu je uporabljena ena vrsta kvasovk, *Candida intermedia* (Moulin in Galzy, 1984, cit. po Gonzalez, 1996).

Leta 1983 je podjetje Nutrisearch Company uvedlo industrijski postopek proizvodnje kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*, gojene na sirotki. Proces sestavlja hidroliza laktoze v sirotki, kateri sledi fermentacija glukoze in galaktoze (Castillo, 1990, cit. po Gonzalez, 1996).

Preučevana je bila učinkovitost fermentacije sirotke s kvasovko *Kluyveromyces fragilis* za proizvodnjo enoceličnega proteina ter zmanjšanje onesnaženja s sirotko. V šaržnih pogojih celične rasti naletimo na štiri ključne faze: faza prilagajanja (lag), eksponentna faza, stacionarna faza in faza propadanja. Okoli 99% laktoze in 90,6% topne KPK je bilo izrabljeno po 28 urah. Izginjanje skupne KPK je posledica celične presnove in rasti. Koncentracija skupnega dušika je ostala nespremenjena, ker je vsebnost organskega

dušika naraščala med eksponentno fazo in nato padala med smrtno fazo. Vsebnost pepela je tudi ostala nespremenjena, medtem ko je bila opažena precejšnja redukcija (56%) hlapnih snovi. Izločanje biomase z ultrafiltracijo je končno znižalo skupno KPK za 98% od začetne vrednosti v surovi sirotki (Ghaly in Kamal, 2004).

Nadebudne kvasovke iz vrste *Kluyveromyces marxianus* so lahko uporabne za zmanjšanje onesnaževanja s sirotko, saj izrabljajo laktozo v sirotki (Ghaly in Singh, 1989, cit. po Souza in Morais, 2001). Kvasovke vrste *K. marxianus* so bile doslej uporabljene v industrijske namene, predvsem zaradi njihovih fizioloških karakteristik in donosa bioproizvodov, npr. hidrolitičnih encimov in krmne biomase (Waker, 1998, cit. po Souza in Morais, 2001), ribonukleotidov, oligosaharidov in oligopeptidov (Belem in Lee, 1998, cit. po Souza in Morais, 2001). Rekombinirane linije kvasovk *Kluyveromyces marxianus* rastejo na sirotki s specifično hitrostjo rasti 0,34 /h in z doprinosom 5,5 g suhih celic / L. Začetna koncentracija laktoze nima vpliva na specifično hitrost rasti kot tudi dodajanje dušika ne vpliva na maksimalno rast kvasine. Proizvodnja biomase (5,5 g/L) in donos biomase (1,6 g celic/g laktoze) namigujeta na dober sistem za proizvodnjo biomasno odvisnih bioproduktov, brez kakršnih koli dodatnih fermentacijskih stroškov (Souza in Morais, 2001).

Protozoi *Tetrahymena pyriformis* je bil izbran kot mikroorganizem sposoben zmanjšanja in/ali spreminjanja biološke sestave sirotke, zato da se zmanjša njen onesnaževalni učinek. Nekateri migetalkarji, vključujoč *Tetrahymeno*, so sposobni izločati encime v gojišče ter s tem dati gojišču veliko biotehnološko vrednost (Munro, 1985, cit. po Bonnet in sod., 1998).

V prvem delu raziskave, so opazovali razlike med sirotko biološko obdelano z kulturo migetalkarjev vrste *Tetrahymena pyriformis* (500.000 celic/ml, vrednost pH=konstantna z  $\text{CaCO}_3$ ,  $T_{\text{okolja}}$ , 6 dni) v primerjavi s surovo sirotko. Ugotovili so hitrejši padec koncentracije laktoze v prisotnosti migetalkarjev, čeprav je ta sestavina do konca poskusa popolnoma izginila tudi v navadni sirotki. Po treh dneh je bila koncentracija proteinov močno zmanjšana (za 66,6% z in 53% brez migetalkarjev) in je bila skoraj nična po šestih dneh (za 91,6% z in 100% brez migetalkarjev). Gojiščni pogoji so bili v dodatni raziskavi

podobni, le da so tokrat kulturo postavili v fermentator, jo mešali (80 obrati/min), kontrolirali oskrbo s kisikom (10-20 % nasičenost) ter uravnavali vrednost pH. Pri biološki obdelavi sirotke v fermentatorju so bili rezultati podobni gornjim. Po šestih dneh gojenja v prisotnosti migetalkarjev se je KPK znižala za 86 %, laktoze je bilo za 97,5 % manj, proteinov pa ni bilo več moč zaslediti (100 % znižanje vsebnosti) (Bonnet in sod., 1998).

Novejši pristop h koristni izrabi sirotke je gojenje micelija užitne gobe *Ganoderma lucidium*, pri čemer služi sirotka kot gojišče. Največja rast micelija na sirotki je bila pri vrednosti pH 4,2 in temperaturi 28,3° C. Predvidene in eksperimentalne vrednosti teže micelija, pri optimalnih pogojih, so bile 18,1±0,9 oz. 20,1±0,8 g/l izsušenih micelijev. Zmanjšanje KPK se je gibalo med 80,7 in 93,1% z minimalnim ostankom 3,5±0,1 g/l KPK. Velika moč porabe substrata, skupaj z visoko vsebnostjo polisaharidov (1,2 g/l) pri optimalnih pogojih nam namiguje, da bi gojenje micelija gobe *Ganoderma lucidium* ponudilo cenovno učinkovito rešitev za alternativno obdelavo sirotke kot odpadne vode (Lee in sod., 2003).

»Surfaktanti« so površinsko aktivne snovi, ki zmanjšujejo površinsko napetost (detergenti), ki dodani v odpadno vodo povečujejo njeno sposobnost čiščenja (Nekrep, 1992).

Interes za mikrobnе surfaktante v zadnjih letih vztrajno narašča zaradi njihove raznovrstnosti, okolju prijazne narave, možnosti produkcije preko fermentacije ter možnosti njihove uporabe pri reševanju onesnaženosti z olji, v zdravstvenem varstvu ter zaradi uporabnosti v živilsko predelovalni industriji (Banat in sod. 2000, cit. po Dubey in Juwarkar, 2001).

Sevi vrste *Pseudomonas*, ki so značilni talni organizmi, lahko rastejo na ogljikovodikih, številnih sladkorjih, maščobah, polisaharidih, idr. (Raspor in sod., 1996). Proizvodnjo biosurfaktantov iz industrijskih odplak (sirotka) s pomočjo *Pseudomonas aeruginosa* sta raziskovala Dubey in Juwarkar (2001). Pri gojenju se je izrabljala sirotka za bakterijsko rast in proizvodnjo biosurfaktantov. Število celic je iz začetnih  $1 \times 10^5$  cfu/ml naraslo na

$64 \times 10^9$  cfu/ml v 48 urah, pri čemer je bil donos biosurfaktantov 0,92 g/l. Po izločitvi biosurfaktantov iz fermentirane odplake se je KPK sirotke zmanjšal za 87 %. Koncentracija skupnih kislin, dušika in fosfatov v obdelani sirotki se je zmanjšala za 88%, 95% in 93%. Izolirani biosurfaktanti so imeli močno površinsko aktivnost, saj so učinkovito zmanjšali površinsko napetost vode iz 72 na 27 mN/m ter oblikovali 100% stabilno emulzijo sestavljeno iz različnih v vodi netopnih sestavin, kot so hidrokarbonati, surova olja, kerozin, pesticidi in aktivno blato.

## 8 SIROTKA KOT GOJIŠČE

Že iz hitre kvarljivosti toplotno neobdelane sirotke lahko zaključimo, da sirotka predstavlja ugodno okolje za rast in s tem tudi proizvodnjo mikroorganizmov, tako tistih za pridobivanje mikrobne biomase, kot mikrobnih metabolitov (Tratnik, 1998).

Velik del za življenje človeka nujnih industrijskih proizvodov pridobimo s pomočjo mikroorganizmov. Ne le ekonomska, vse bolj nas tudi tehnološka, predvsem pa naravovarstvena logika pri izbiri tehnologij silita v izbiro biotehnologij namesto kemijske sinteze. Biološka alternativa je energetsko varčnejša in za okolje manj obremenjujoča tako v nastajanju odpadne toplote, toksičnih zračnih emisij in tehnoloških odplak. V prihodnje naj bi se današnjim pridružile nove, še učinkovitejše proizvodne tehnologije, prav tako pa tudi tehnologije za odstranjevanje onesnaženja in razstrupljanja (Nekrep, 1996).

Dokazano je tudi, da koncentradi sirotkinih proteinov stimulirajo rast in aktivnost nekaterih mlečnokislinskih bakterij in to bolj vrste *Streptococcus* kot *Lactobacillus*. Stimulativno delovanje koncentrata sirotkinih proteinov je posebno važno za podporo rasti bakterij *Lactobacillus acidophilus* in *Bifidobacterium spp.*, ki imajo počasnejšo rast v mleku (predvsem bifidobakterije). Glede na navedeno se UF-koncentrati sirotkinih proteinov lahko uporabljajo za pripravo mikrobnih kultur (Tratnik, 1998).

Že dolgo je poznana izdelava kisave iz sirotke. Kisava je močno kislja sirotka, ki smo ji odvzeli albumine in globuline. Uporabljajo jo ponekod pri izdelavi albuminske skute. Vsebuje mlečnokislinske mikroorganizme, ki jih poznamo pri izdelavi trdih sirov. Predvsem je pomemben *Lactobacillus helveticus*, zaželen pa je tudi prisotnost kvasovke *Candida crusei*, ki tvori tanko mrenico na površini kisave. Kvasovka uravnava zakisanje in oskrbuje ostale mikroorganizme z beljakovinami in vitamini (Slanovec, 1982).

Raziskovali so uporabo beljakovinsko hidrolizirane sladke sirotke kot gojišča za proizvodnjo  $\beta$ -galaktozidaze (laktaze), encima uporabnega v proizvodnji mleka z znižano stopnjo laktoze. To je pomemben produkt, uporaben za ljudi, ki trpijo za laktozno intoleranco (Kardel in sod., 1995, cit. po Rech in sod., 1999; Pivarnik in sod., 1995, cit. po

Rech in sod., 1999). Uporabili so dva seva kvasovk *Kluyveromyces marxianus*, CBS 712 in CBS 6556. Najboljša rast je bila dosežena pri vrednosti pH 5,5 in temperaturi 37° C. Sev CBS 6556 je rasel v sirotki brez dodatkov, medtem ko je sev CBS 712 potreboval dopolnilo sirotke z kvasnim ekstraktom. Oba seva sta proizvedla enako količino  $\beta$ -galaktozidaze. Za optimizacijo procesa je sev CBS 6556 rasel v koncentrirani sirotki, kar je zagotovilo višjo produkcijo  $\beta$ -galaktozidaze (Rech in sod., 1999).

Surova sirotka je uporabna tudi kot poceni gojišče za pridelavo mangan peroksidaze (MnP). MnP je eden glavnih ligninolitčnih encimov, uporabnih za razgradnjo trdovratnih sestavin rastlinske biomase ter za razbarvanje odplak. Ta encim proizvajajo številne bele gnilobne glive. Proizvodnja MnP z uporabo surove sirotke kot edinega substrata je dosegla učinkovit nivo, okoli 190 U/l, torej vrednost, ki je primerljiva z proizvodnjo na dragih sintetičnih gojiščih (175-250 U/l) (Feijoo in sod., 1999).

Raziskovali so proizvodnjo poli-3-hidroksibutirat, PHB, z rekombinantno spremenjenimi bakterijami *Escherichia coli* iz sirotke kot vira ogljika. PHB sintetizirajo številne bakterije kot energetsko rezervo celic, pozornost pa je pritegnil kot kandidat za biorazgradljiv plastični material. V *E. coli* so prenesli gene iz *Alcaligenes eutrophus* z namenom biosinteze polyhidroksialkanoatov, kamor uvrščamo tudi PHB. Najvišja proizvedena koncentracija PHB je bila 5,2 g/l, vsebnost PHB pa je dosegla 81% suhe celične teže. Različni sevi rekombinantne *E. coli* imajo veliko sposobnost za pretvorbo sirotke, ki bi lahko onesnaževala okolje, v okolju prijazen PHB polimer. Pretvorba sirotke v PHB tudi občutno zmanjšuje stroške proizvodnje PHB, kar naredi proizvod bolj konkurenčen obstoječim polimerom pridobivanih iz nafte (Lee in sod., 1997).

Bifidobakterije igrajo pomembno vlogo v zdravju ljudi, vključujoč povečanje odpornosti proti infekcijam pri dojenčkih. Opravljena je bila raziskava o razvoju cenovno ugodnega gojišča, temelječega na sirotki, za rast *B. bifidum*. V literaturi omenjeni rastni pospeševalci so bili vključeni v sirotko in ovrednoteni glede na aktivnost rasti bifidobakterij. Določen je bil tudi vpliv okolja na rast v gojišču s sirotko. Glede na dobljene rezultate so oblikovali na sirotki temeljeno gojišče za rast *B. bifidum*. To gojišče je sestavljeno iz sirotke z dodatkom N-acetilglukozamina (1 mg/ml) in kvasnega ekstrakta (10 mg/ml), v prisotnosti

natrijevega tioglikolata (0,1 %), za rast pri vrednosti pH 6,8 in temperaturi 37° C (Mahalakshmi in Murthy, 2000).

Preglednica 14: Vpliv rastnih pospeševalcev na rast *B. bifidum* na sirotki (Mahalakshmi in Murthy, 2000).

Št. vzorca	Rastni pospeševalec	cfu/ml <sup>1</sup>
1	Sirotko brez dodatka	2,00 x 10 <sup>5</sup> ± 0,1
2	Sirotko + kazein	3,50 x 10 <sup>6</sup> ± 0,3
3	Sirotko + pepton	5,20 x 10 <sup>6</sup> ± 0,5
4	Sirotko + tripton	5,30 x 10 <sup>6</sup> ± 0,4
5	Sirotko + kvasni ekstrakt	5,40 x 10 <sup>6</sup> ± 0,1
6	Sirotko + izvleček govejega kazeina	5,50 x 10 <sup>6</sup> ± 0,3
7	Sirotko + pepton + kazein	5,50 x 10 <sup>6</sup> ± 0,3
8	Sirotko + kazein + izvleček govejega kazeina	5,60 x 10 <sup>6</sup> ± 0,3
9	Sirotko + tripton + kazein	6,00 x 10 <sup>6</sup> ± 0,5
10	Sirotko + kvasni ekstrakt + kazein	6,00 x 10 <sup>6</sup> ± 0,1
11	Sirotko + pepton + tripton	7,00 x 10 <sup>6</sup> ± 0,2
12	Sirotko + pepton + izvleček govejega kazeina	7,30 x 10 <sup>6</sup> ± 0,2
13	Sirotko + tripton + izvleček govejega kazeina	7,50 x 10 <sup>6</sup> ± 0,3
14	Sirotko + kvasni ekstrakt + pepton	8,70 x 10 <sup>6</sup> ± 0,4
15	Sirotko + kvasni ekstrakt + tripton	8,90 x 10 <sup>6</sup> ± 0,1
16	Sirotko + kvasni ekstrakt + izvleček govejega kazeina	9,20 x 10 <sup>6</sup> ± 0,1
17	Sirotko + glukozamin	1,70 x 10 <sup>7</sup> ± 0,1
18	Sirotko + kazein + glukozamin	1,73 x 10 <sup>7</sup> ± 0,2
19	Sirotko + pepton + glukozamin	1,76 x 10 <sup>7</sup> ± 0,3
20	Sirotko + tripton + glukozamin	1,76 x 10 <sup>7</sup> ± 0,1
21	Sirotko + izvleček govejega kazeina + glukozamin	1,96 x 10 <sup>7</sup> ± 0,1
22	Sirotko + kvasni ekstrakt + glukozamin	1,99 x 10 <sup>7</sup> ± 0,1

1) cfu/ml – colony forming units per milliliter

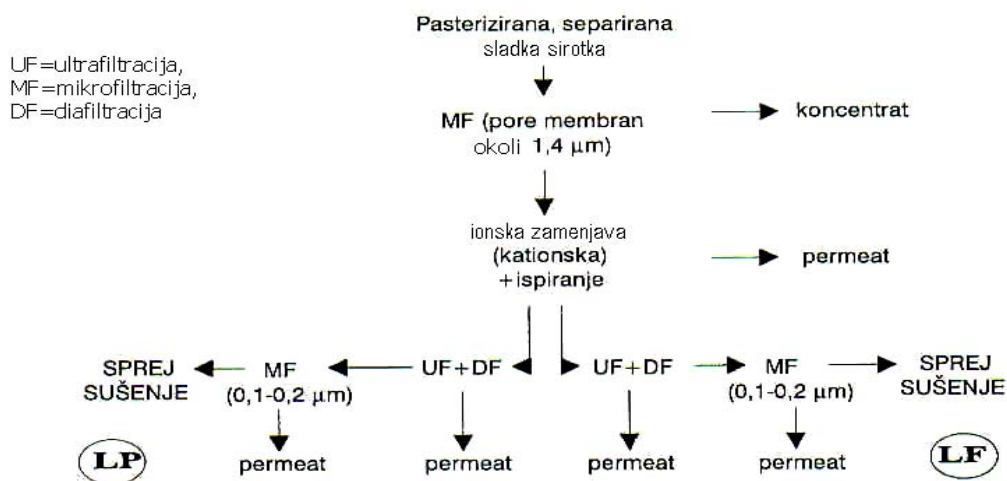
Raziskovali so tudi produkcijo celic *Bifidobacterium longum* v MRS gojišču z dodatkom sirotkinega permeata med šaržnim gojenjem in nepretrganim gojenjem z imobiliziranimi celicami. Po 12 urnem šaržnem gojenju z dodatkom sirotkinega permeata ter kontrolirano vrednostjo pH na 5,5, je bila populacija celic približno dvakrat večja ( $1,7 \pm 0,5 \times 10^{10}$  cfu/ml) kot v MRS gojišču brez dodatka sirotkinega permeata. Sirotkin permeat je cenovno ugoden vir laktoze in drugih sestavin, ki so koristne za povečanje rasti bifidobakterijskih celic v MRS gojišču. Celična imobilizacija na naravnih polimerih, ki je bila razvita za proizvodnjo biomase med nepretrgano fermentacijo, ima mnogo prednosti: visoko volumetrično proizvodnjo, stabilno razmerje med sevi v mešanih imobiliziranih kulturah,

zaščito pred izpiranjem med nepretrganim gojenjem, zmanjšano dovzetnost za okužbo z bakteriofagi, povečano stabilnost plazmidov in zaščito pred strižnimi silami v mešalnem reaktorju (Champagne in sod., 1994, cit. po Doleyres in sod., 2002; Lamboley in sod., 1997,1999,2001, cit. po Doleyres in sod., 2002; Macedo in sod., 1999; cit. po Doleyres in sod., 2002). Nepretrgano gojenje imobiliziranih celic *B. longum* v MRS gojišču, obogatenem s sirotko, je doseglo največjo koncentracijo celic ( $4,9\pm 0,9 \times 10^9$  cfu/ml) pri razredčitveni stopnji 0,5/h. Največja volumetrična proizvodnja ( $6,9\pm 0,4 \times 10^9$  cfu/ml/h) je bila dosežena pri razredčitveni stopnji 2,0/h in je bila približno 9,5-krat večja kot med fermentacijo s šaržnim načinom gojenja pri optimalni vrednosti pH 5,5 ( $7,2 \times 10^8$  cfu/ml/h) (Doleyres in sod., 2002).



## 9 PROIZVODNJA LAKTOPEROKSIDAZE IN LAKTOFERINA

S povezovanjem postopkov v predelavi sirotke je omogočena proizvodnja različnih proizvodov. Postopki koncentriranja in demineralizacije se pogosto kombinirajo s tradicionalnim procesom uparjanja. Tako dosežemo izolacijo laktoperoksidaze (LP) in laktoferina (LF) iz sirotke (Slika 4). Ta dva bioaktivna proteina omogočata proizvodnjo “zdrave hrane”, hrane za otroke in zobne paste (Tratnik, 1998).



Slika 4: Prikaz izolacije laktoperoksidaze (LP) in laktoferina (LF) iz sirotke (Bylund, 1995, cit. po Tratnik, 1998).

## 10 PRIDOBIVANJE ETANOLA IZ SIROTKE

Iz sestave sirotke je razvidno, da vsebuje sirotka podobno količino laktoze kot mleko, zato predstavlja cenejši izvor za pridobivanje laktoze in različnih proizvodov iz njene razgradnje (alkohola, mlečne kisline, hidrolizirane laktoze) (Tratnik, 1998).

Alkoholno fermentacijo najdemo pri številnih glivah, kvasovkah in le pri nekaterih bakterijah (Nekrep, 1996).

V prisotnosti kisika praktično vse kvasovke lahko oksidirajo sladkorje z respiracijskim sistemom v mitohondrijih. Prav tako je velika večina kvasovk sposobna pretvoriti sladkor v etanol in ogljikov dioksid. Kadar kisik ni vpleten v proces konverzije, ta poteka pri anaerobnih pogojih. Lahko pa se etanol pojavlja kot stranski proizvod metabolizma tudi v primerih aerobnega procesa ob zadostni količini sladkorjev v mediju. V okolje se izločajo še številni encimi in metaboliti, ki spreminjajo delovno okolje organizma v njemu neugodno. Ko je okolje toliko spremenjeno bodisi zaradi izčrpanja limitnega substrata bodisi zaradi akumulacije izločkov celice (npr. etanola), se rast ustavi (Strathern in sod., cit. po Raspor, 1996).

Alkoholna fermentacija sirotke z mikroorganizmi je eden od načinov, kako zmanjšati njen onesnaževalni učinek na okolje. Mnogo organizmov, ki so sposobni fermentirati sirotko je bilo preizkušenih, a je bila produkcija etanola v glavnem nizka (Farahnak in sod., 1986, cit. po Leite in sod., 2000; Janssens in sod., 1984, cit. po Leite in sod., 2000; Porro in sod., 1992, cit. po Leite in sod., 2000; Terrel in sod., 1984; cit. po Leite in sod., 2000).

Razvoj rekombinantne DNA tehnologije je omogočil konstrukcijo novih linij, katere so sposobne izražati gene, ki izvirajo iz drugih organizmov. Geni, vključeni v pot produkcije etanola z *E. coli* so: *pdc* - genski zapis za piruvat dekarboksilazo, ki je odgovoren za dekarboksilacijo piruvata v acetaldehid in *adhB* – genski zapis za alkoholno dehidrogenazo II, ki reducira acetaldehide v etanol. *E. coli* preoblikovana s temi geni je bila sposobna fermentacije mnogih substratov z visoko učinkovitostjo (Alterthum in Ingram, 1989, cit. po Leite in sod., 2000).

Fermentacija sirotke z rekombinantno in etanogeno *E. coli* KO11, brez dodatkov hranil, se je izkazala s slabo proizvodnjo etanola. Takšna fermentacija je po 96 urah proizvedla 8,3g etanola/L, kar teoretično predstavlja 38% donos. Bistven limitirajoč faktor pri fermentaciji sirotke z *E. coli* je dušik, ker dušik v proteinih ni dostopen temu organizmu (*E. coli*). Dopolnitev sirotke s hranili je povečala maksimalen donos na 96% v 72 urah in z produktivnostjo 20,1g etanola/L. Dodatek 0,5% ekstrakta kvasine v sirotko skrajša čas fermentacije do max. donosa (36 ur), teoretični donos pa se skoraj podvoji (74%). Podobne rezultate dosežemo z dodajanjem 0,2% amonijevega sulfata ( $\text{NH}_4^+$ ), saj je maksimalni teoretični donos etanola po 72 urah 62% (Leite in sod., 2000).

Nekatere sledi kovin lahko delujejo kot kofaktorji za encime, druge kot sestavine komponent, nekatere v oksidacijsko-redukcijskih reakcijah (Brock in sod., 1994; Neidhardt in sod., 1990; cit. po Leite in sod., 2000). Dodajanje  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Ca}^{++}$  in  $\text{Fe}^{++}$  v gojišče poveča doprinos etanola (Beall in sod., 1989, cit. po Leite in sod., 2000).

Dodajanje  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Mn}^{++}$ ,  $\text{Ca}^{++}$  in tiamina (Thi) v sirotko, ki že vsebuje 0,5 % kvasni ekstrakt, se je izkazalo z 86 % teoretičnim donosom etanola že po 24 urah. Pozitivni učinek kovin v sledih je čutiti le v prisotnosti vira dušika (Leite in sod., 2000).

Raziskovali so pridobivanje etanola iz slane sirotke z uporabo rekombinantnih sevov *Saccharomyces cerevisiae*. V predhodnih poskusih uporabe laktoze za produkcijo alkohola je največjo težavo predstavljala nezmožnost fermentacije laktoze s strani *Saccharomyces cerevisiae*. Znano je da *Kluyveromyces fragilis* fermentira laktozo, vendar se le del laktoze preoblikuje v alkohol, verjetno zaradi alkoholne inhibicije (O'Leary in sod., 1977, cit. po Tahoun in sod., 1999).

Da bi premagali to težavo so proizvedli genetsko spremenjene linije *S. cerevisiae*, ki so sposobni izražati  $\beta$ -galaktozidazno aktivnost za biokonverzijo laktoze v sirotki v etanol. To so opravili z zlitjem protoplastov industrijskih sevov *S. cerevisiae* ATCC 4126, ki fermentira saharozo, glukozo in fruktozo ter *K. fragilis* CBS 638, ki fermentira laktozo, glukozo in galaktozo (El-Nemr, 1996, cit. po Tahoun in sod., 1999).

V Egiptu je največ mleka spremenjenega v sir po soljenju z NaCl do koncentracije 6 g/dl (w/v), zato je bil namen poiskati primeren sev kvasovk, ki učinkovito spreminjajo laktozo v slani sirotki v etanol. Izmed sedmih rekombinantnih sevov kvasovk je bil najprimernejši SK-23, ki je lahko rasel v koncentraciji 6 g/dl (w/v) NaCl ter imel doprinos etanola 4,14 ml/dl (v/v) v sirotki z vsebnostjo laktoze 4,6 g/dl (w/v) (Tahoun in sod., 1999).

Proizvodnjo etanola iz sirotke s pomočjo kvasovk *Candida pseudotropicalis* ter vpliv prezračevanja med aerobnim postopkom sta proučevala Ghaly in El-Taweel (1995). Rezultati so pokazali, da ima mikroaeracija vpliv na maksimalno koncentracijo celic ter na specifično hitrost rasti celic. Izboljšala se je sposobnost preživetja celic kvasovk, povečala se je hitrost izrabe substrata ter donos etanola. Najboljši rezultati so bili doseženi ob nivoju mikroaeracije 0,1 v/v/min in koncentraciji laktoze 150 g/l. Donos etanola je znašal 98,3%, produkcija etanola (g/l/h) pa je bila pod temi pogoji za 35% boljša kot ob isti koncentraciji laktoze a brez mikroaeracije.

## 11 PROIZVODNJA ACETONA, BUTANOLA in ETANOLA IZ SIROTKE

Kombiniran proces fermentacije aceton-butanol-etanol (ABE) pridobiva pozornost kot proces, ki proizvaja gorivo na bazi obnovljivih virov. Tradicionalni proces fermentativnega vrenja ima dve pomanjkljivosti, ki ovirata komercialni razvoj. Prva je nizka prostorninska proizvodnja, druga pa huda inhibicija produktov, ki spremlja proces, tako da koncentracija ABE v izplenu redko preseže 20g/L. Te težave se lahko rešuje z genetsko manipulacijo bakterije *Clostridium acetobutylicum* ali z razvijanjem procesa izločanja in produkcije ABE (Maddox, 1989, cit. po Maddox, 1995).

Proizvodne rešitve so bile dobljene na račun koncentriranja produkta ter izdatnejšega izkoriščanja sladkorja, še posebej pri bioreaktorjih z neprekinjenim pretokom, kar pa je privedlo do težav pri izločanju proizvoda iz razredčene raztopine in odstranjevanjem velikih količin odpadnih vod. Rešitev tega problema je vračanje iztoka iz bioreaktorjev, da dosežemo celotno izrabo sladkorja in večjo koncentracijo produkta, toda inhibicija produktov to ves čas ovira (Qureshi in Maddox, 1995).

Koncept integriranega fermentativnega/produkcijskega izločanja je bil vpeljan v ABE fermentacijski proces z uporabo različnih dodelovalnih postopkov, vključujoč adsorpcijo, plinskim ločevanje, pervaporacijo, ekstrakcijo tekoče-tekoče in reverzno osmozo (Maddox, 1989, cit. po Qureshi in Maddox, 1995), pri čemer imata največji potencial pervaporacija in ekstrakcija tekoče-tekoče (Groot in sod., 1992, cit. po Qureshi in Maddox, 1995).

## 12 PRIDOBIVANJE MLEČNE KISLINE IZ SIROTKE

Sirotka vsebuje laktozo, ki je primeren substrat za proizvodnjo produktov z dodano vrednostjo ob uporabi biokemijskih procesov konverzije. Tak proizvod je tudi mlečna kislina, ki je uporabna v kemični, farmacevtski ali prehrabeni industriji. Mlečna kislina je prav tako uporabna za proizvodnjo nekaterih organskih kislin in biorazgradljive plastike (Lipinsky in Sinclair, 1986, cit. po Tango in Ghaly, 1999).

Mlečnokislinsko fermentacijo najdemo pri mlečnokislinskih bakterijah, pri vrstah *Bacillus*, tudi pri nekaterih protozoidih in glivah (in tudi v mišičnih celicah). Je odgovorna za kisanje mlečnih izdelkov: jogurta, sira, masla, kisle smetane idr., kar jim zagotavlja trajnost. Nekateri bakterije proizvajajo samo mlečno kislino – to so homofermentatorji, druge izdelujejo še druge reducirane produkte, kot etanol, CO<sub>2</sub>, ... – to so heterofermentatorji (Nekrep, 1996).

Zahteve po čisti mlečni kislini so narasle zaradi njene uporabe v proizvodnji poli(mlečne kisline), biorazgradljivega polimera, kot tudi njene uporabe v prehrabeni in kozmetični industriji (Senthuran in sod., 1999).

Obstaja tudi poseben interes za laktobacile kot starterske kulture, razen tega pa lahko s postopki genskega inženirstva dobimo zelene produkte z izboljšanimi lastnostmi. Za industrijsko proizvodnjo fermentiranih živil, ki so higiensko varna in ponovljive kvalitete, obenem pa zelo raznolika, je potrebno poznavanje metabolizma, ekologije in genetike udeleženih laktobacilov (Vogel, 1996).

Mikroaeracija ima vpliv na rast celic *Lactobacillus helveticus*, na izkoriščanje laktoze ter donos mlečne kisline v pogojih fermentacije. Za fermentacijo laktoze se je izkazal najboljši nivo mikroaeracije z 0,1 v/v/min in koncentracijo laktoze 75 g/l. Produkcija mlečne kisline se je pri koncentraciji laktoze 50 g/l povečala za 67,5% (od 0,80 do 1,34 g/l/h) ob povečanju mikroaeracije iz 0,00 na 0,1 v/v/min. Izkoristek laktoze variira od 57,3 do 87,0%, odvisno od nivoja mikroaeracije in začetne koncentracije laktoze v substratu.

Koncentracija mlečne kisline se je ob mikroeraciji povečala iz 23,3 na 40,3% (Tango in Ghaly, 1999).

Tango in Ghaly (1999) sta opazovala temperaturo in vrednost pH med procesom fermentacije sirotke z *Lactobacillus helveticus* v šaržnem bioreaktorju. Vrednost pH je vztrajno padala iz začetne 4,4 na manj kot 3,0, zaradi nastanka mlečne kisline. Naraščanje temperature fermentacije iz 23 na 42° C (brez kontrole vrednosti pH) je stopnjevalo izkoriščanje laktoze za 26,6% in produkcijo mlečne kisline za 6,2 g/l. Maksimalna specifična stopnja rasti (0,25/h), izkoriščanje laktoze (60,6% - od začetne koncentracije) in mlečno kislinška produkcija (10,0 g/l) so bili doseženi pri kontrolirani temperaturi 42 °C. Rezultati so pokazali potrebo po kontroli, tako temperature kot vrednosti pH med fermentacijo mlečne kisline iz sirotke v šaržnem reaktorju, da se izognemo zmanjšanju donosa (Tango in Ghaly, 1999).

V novejši raziskavi so opravili fermentacijo sirotke z *Lactobacillus helveticus* pri kontrolirani vrednosti pH (5,5) in temperaturi 42° C, vendar z različnimi koncentracijami laktoze (50 – 150 g/l). Rezultati so pokazali, da ima povišanje koncentracije laktoze zaviralni vpliv na učinkovitost konverzije v mlečno kislino ob podaljševanju lag faze in fermentacijskega časa. Zmanjševala se je tudi specifična stopnja rasti, maksimalno število celic, stopnja izkoriščanja laktoze in stopnja mlečnokislinske produkcije. Optimalna koncentracija laktoze za mlečnokislinsko proizvodnjo je bila 75 g/l, čeprav *Lactobacillus helveticus* tolerira koncentracijo do 100 g/l. Z uporabo ekstrakta kvasovk in/ali mikroeracijo se poveča število celic, specifična stopnja rasti, celični donos, poraba laktoze, koncentracija, donos in stopnja izplena mlečne kisline ter skrajša trajanje adaptivne (lag) faze in čas fermentacije. Iz rezultatov lahko sklepamo, da energijska neusklajenost anabolizma in katabolizma povzroča največjo oviro procesa (Ghaly in sod., 2004).

Obetajoč način izkoriščanja laktoze v sirotki je uporaba sirotke kot poceni vira ogljika za proizvodnjo organskih kislin s pomočjo fermentacije (Roy in sod., 1987, cit. po Mathews in Fu, 1999).

Visoka kislinska toleranca je značilna odlika *Lactobacillus plantarum*, kar omogoča proces fermentacije brez nevarnosti kontaminacije. *L. plantarum* je najbrž najbolj koristna izmed splošno uporabnih bakterij za konverzijo laktoze v mlečno kislino, ker ne samo izkorišča laktozo z visoko stopnjo konverzije ampak izkorišča tudi druga hranila, kot so proteini v sirotki (Leh in Charles, 1989, cit. po Mathews in Fu, 1999).

Mlečno kislinska fermentacija s to bakterijo je homolaktična, z optimalno vrednostjo pH za rast celic in kislinsko proizvodnjo med 5 in 6. Anaerobna fermentacija ima za 2,3-krat večji donos mlečne kisline in 2-krat večjo hitrost celične rasti kot pa aerobna fermentacija, medtem ko je donos celične biomase le 80% donosa pri aerobni fermentaciji. Visok donos mlečne kisline (0,95 – 1,03 w/w), hitrost konverzije (1,05 w/w), toleranca okolja z nizko vrednostjo pH in velika hitrost celične rasti napoveduje visok potencial uporabe *L. plantarum* za mlečno-kislinsko fermentacijo v industrijske namene (Fu in Mathews, 1999).



### 13 PRIDOBIVANJE BIOPLINA IZ SIROTKE

Pri iskanju gospodarnih rešitev obdelave odplak z velikim organskim bremenom, največ jih nastaja prav v živilskih industrijah, se je v zadnjih desetletjih kot konkurenčna tehnologija konvencionalnim aerobnim postopkom čiščenja odpadnih vod prebila v ospredje anaerobna obdelava, saj ob rezultatu odstranitve organskega onesnaženja ponuja tudi koristen stranski proizvod – gorljivo plinsko mešanico znano kot bioplin. Nedvomno se tudi pri razmišljanju o izrabi sirotke kar sama ponuja rešitev, ki temelji na biološkem procesu metanogeneze, v katerem imajo najpomembnejšo vlogo arhejski mikroorganizmi in na katerem je utemeljen proces anaerobne obdelave odpadnih vod. Pojav je že učinkovito izkoriščen v okoljevarstvenih tehnologijah, kjer se posebno obnese pri čiščenju industrijskih odpadnih vod, močno obremenjenih z organskim onesnaženjem (Nekrep, 1992).

Anaerobno presnavljanje omogočajo medsebojno odvisne torej simbiotske populacije heterotrofnih mikroorganizmov, ki so sposobni v odsotnosti kisika izkoriščati raznolik spekter substratov za sintezo novih celic ter proizvodnjo raznovrstnih končnih produktov. Navadno proces anaerobne presnove sestavljajo štiri faze (Ghaly in Ben-Hassan, 1989, cit. po Ghaly, 1996).

Prva faza (utekočinjenje) zajema hidrolizo ter konverzijo netopnega materiala v topnega in redukcijo polimerov v monomere. Druga faza (acidogeneza) zajema fermentacijo monomerov v raznovrstne končne produkte, kot so hlapne kisline, alkoholi, CO<sub>2</sub> in vodik. V tretji fazi se hlapni kislinski produkti presnovijo do očetne kisline, CO<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>, ki nato preide v četrto fazo metanogeneze v kateri se bodisi očetna kislina razgradi do metana in CO<sub>2</sub> ali pa v predhodnih stopnjah proizveden vodik reducira CO<sub>2</sub> do metana (Nekrep, 1992).

Anaerobna presnova je lahko uporabna kot prva stopnja v procesih biološke obdelave, ki služijo razgradnji in odstranitvi onesnaževala, ali pa so v večstopenjskih aerobnih postopkih stopnja stabilizacije aerobno pridobljenega poživiljenega blata in v obeh

primerih služi za proizvodnjo bioplina (Ghaly in Ben-Hassan, 1989, cit. po Ghaly, 1996; Parsons, 1984, cit. po Ghaly, 1996; Kugleman in Jerri, 1981, cit. po Ghaly, 1996).

Plin proizveden z anaerobno presnovo je nato lahko izkoriščen kot energetski vir v direktnem sežigu ali kot energent za pogon eksplozijskih motorjev ali plinskih turbin (Ghaly, 1996).

V dosedanjih raziskavah o proizvodnji bioplina ter potencialnem zmanjšanju onesnaževanja z anaerobno obdelavo sirotke je več avtorjev poročalo o nizki produktivnosti bioplina ter nizkem donosu metana, kar je povzročeno z nizko vrednostjo pH fermentirane sirotke. Laktoza v sirotki je zlahka razgrajena z acidogenimi mikroorganizmi, kar pa zaradi hitrega povečanja kislosti povzroči kislinsko inhibicijo metanogeneze (Schroder in De Haast, 1989, cit. po Ghaly, 1996).

V kislem okolju prihaja tudi do živahne rasti bakterij z majhno specifično aktivnostjo ter slabo stabilnostjo, kar vodi v majhno učinkovitost obdelave. (Ghaly in Pyke, 1991, cit. po Ghaly, 1996; Yan in sod., 1989, cit. po Ghaly, 1996; Schroder in De Haast, 1989, cit. po Ghaly, 1996; Nordstedt in Thomas, 1985, cit. po Ghaly, 1996).

### 13.1 ENOFAZNI PROCESI ANAEROBNE PRESNOVE SIROTKE

Preučevali so tudi proizvodnjo metana v anaerobnih bioreaktorjih s pripeto biomaso na različnih nosilnih materialih. Najbolje se je obnesel bioreaktor z ogljem kot podpornim materialom. Pri zadrževalnem času dveh dni so dosegli 81% zmanjšanje KPK ter skupno proizvodnjo plina 6,7 l/dan/l reaktorja z visoko vsebnostjo metana (72%) (Madamwar in sod., 1995).

V želji po izboljšavi procesa anaerobne presnove slane sirotke v filtrskih bioreaktorjih so raziskovali vpliv različnih količin in tipov surfaktantov na proces. Dosegli so do 70% povečanje pridelave plina z višjo vsebnostjo metana (77%) in izboljšanje biodegradacije (Madamwar in Patel, 1998).

Madamwar in Patel (1997) sta proučevala tudi anaerobno obdelavo slane sirotke z uporabo horizontalnih ali vertikalnih anaerobnih ploščnih bioreaktorjev ali bioloških kontaktorjev (anaerobic rotating biological contact – ARBC). Najbolje se je izkazal vertikalni valjast tip ARBC reaktorja s tridnevnim hidravličnim zadrževalnim časom pri temperaturi 37° C. Maksimalna produkcija plina je dosegla 4,1 l/dan/l reaktorja z 74% vsebnostjo metana in 85% znižanjem KPK.

### 13.2 DVOFAZNI PROCES ANAEROBNE PRESNOVE SIROTKE

Probleme s kontrolo vrednosti pH v metanogenezi so učinkovito razrešili v dvofaznem procesu anaerobne presnove (prvi bioreaktor = acidogenezna faza, drugi bioreaktor = metanogenezna faza) sirotke pri čemer se je občutno povečala količina pridobljenega bioplina (za faktor 2,7-3,0 pri spremembi vrednosti pH iz 3,3 na 5,7-6,0) ter zmanjšal obseg onesnaženja merjen s KPK ter ostankom trdnih delcev. Optimalna vrednost pH za proces metanogeneze je v obsegu od 6,8 – 7,2. Višja temperatura in/ali daljši zadrževalni čas pomenita nižjo koncentracijo hlapnih kislin (Ghaly, 1996).

V bioplinu, ki je proizveden brez kontrole vrednosti pH (3,3) je odstotek metana v izhodni posodi nižji (20,2%), kot ob kontrolirani vrednosti pH med 5,7-6,0 ko dosežemo 70,9% metana v plinu. Na delež metana v bioplinu nimata bistvenega vpliva niti temperatura niti zadrževalni čas, medtem ko ta dva faktorja odločilno vplivata na količino proizvedenega plina. Ob kontroli vrednosti pH v izhodni komori (5,7-6,0) je produkcija metana narasla za 8-10 krat v primerjavi z produkcijo pri vrednosti pH 3,3 (Ghaly, 1996).

Skupna vsebnost preostanka netopne snovi v odplaki je tudi odvisna od zadrževalnega časa in temperature fermentacije. Z zvišanjem temperature ali podaljšanjem zadrževalnega časa vplivamo na zmanjšanje skupne vsebnosti netopne snovi v odplaki. Velik vpliv na vsebnost netopnih snovi v odplaki ima tudi vrednost pH. Pri vrednosti pH 3,3 se sposobnost odstranjevanja netopnih snovi giblje med 11,4% in 19,6%, medtem ko je pri vrednosti pH 5,7-6,0 sposobnost odstranjevanja gibala od 43,7% do 49,0% (Ghaly, 1996).

Podobno velja za kemijsko potrebo po kisiku (KPK), ko povišanje temperature in/ali zadrževalnega časa zmanjša KPK v odplaki. Na znižanje KPK v odplaki vplivamo tudi z zvišanjem vrednosti pH, do ravni pri kateri je proces metanogeneze optimalen (Preglednica 15) (Ghaly, 1996).

Preglednica 15: Zmanjšanje kemične potrebe po kisiku v odplaki (Ghaly, 1996)

KPK Redukcija	Brez kontrole vrednosti pH (3,3)		S kontrolo vrednosti pH (5,7-6,0)	
	SKPK reduk.	TKPK reduk.	SKPK reduk.	TKPK reduk.
Količina (mg/l)	360 – 11260	6630 – 13020	20400 – 26010	21640 – 27530
Količina (%)	0,5 – 15,6	9,5 – 18,7	28,2 – 36,0	31,1 – 39,5

SKPK – Skupna KPK; TKPK – Topna KPK;

V gornji tabeli je znižanje TKPK večje od znižanja SKPK zaradi konverzije topnih materialov v netopne mikrobne celice (Ghaly, 1996).

## 14 OBDELAVA ODPLAK Z VSEBOVANO SIROTKO

Za čiščenje zmerno in visoko obremenjenih industrijskih odpadnih vod so razvili visokozmogljive aerobne biološke reaktorje, ki imajo v primerjavi z običajnimi postopki aerobne obdelave odplak visoke sposobnosti razgradnje onesnaženja združene z kompaktno konstrukcijo in okolju prijaznim delovanjem (Lubbecke in sod., 1995, cit. po Farizoglu in sod., 2004).

Raziskovali so učinkovitost obdelave sirotke z »Jet Loop« membranskim bioreaktorjem (JLMBR). Ta sistem se je izkazal z odlično prilagodljivostjo in fleksibilnostjo, kar je glede na širok spekter organskih snovi v sirotki posebej zaželeno. Reaktor se je najbolje obnašal pri stopnji obremenjenosti z 22,2 kg KPK/m<sup>3</sup> na dan in pri zadrževalnem času aktivnega blata 1,6 dni. Pri teh pogojih je bila učinkovitost odstranjevanja onesnaženja 97 %. Slaba lastnost tega reaktorja je slaba usedljivost aktivnega blata. V primerjavi z drugimi reaktorji (Preglednica 16) se je JLMBR izkazal dober za obdelavo odplake z visoko stopnjo KPK (Farizoglu in sod., 2004).

Preglednica 16: Primerjava različnih obdelovalnih procesov sirotke<sup>a</sup> (Farizoglu in sod., 2004)

Tip reaktorja	T (°C)	HRT <sup>b</sup> (dni)	S <sub>0</sub> (kg KPK/m <sup>3</sup> )	B <sub>v</sub> (kg KPK/m <sup>3</sup> /dan)	Učinkovitost (%)
DSFFR	35	5	13	2,6	88
FBR	35	0,4	7	7,7	90
AAFEB	35	0,6 – 0,7	5 – 15	8,2 – 22	61 – 92
AnRBC	35	5	64	10,2	76
SDFA	4,3		69,8	16,1	99
UASB	33	5	5 – 28,7	0,9 – 6	97 – 99
UASB	22-30	5,4 – 6,8	47 – 55	7 – 9,5	90 – 94
DUHR	35	7	68	10	97
TSUAD		10	69,6	7	32,5
AP		8	4,4	0,55	63
JLMBR	24 ± 2	1,6 <sup>b</sup>	35,2	22,2	96 – 97
JLMBR	24 ± 2	1,6 <sup>b</sup>	27,3	15	98,8

<sup>a</sup> DSFFR: downflow stationary fixed-bed reactor (precejalni filtrski bioreaktor); FBR: fluidized-bed reactor (reaktor z razširjeno plastjo mulja); AAFEB: anaerobic attached-film expanded-bed reactor (anaerobni reaktor z vrtinčeno plastjo); SDFA: semicontinuous digester with flocculent addition (polkontinuirni anaerobni bioreaktor z dodajanjem flokulanta); UASB: up-flow anaerobic sludge-blanket reactor (anaerobni bioreaktor z muljno posteljico); DUHR: downflow-upflow hybrid reactor (hibridni bioreaktor); TSUAD: two-stage unmixed anaerobic digester (dvostopenjski anaerobni bioreaktor); AP: anaerobic pond (anaerobna laguna);

<sup>b</sup> HRT (Hydraulic retention time) = hidravlični zadrževalni čas

$S_0$  – koncentracija KPK vhodne odplake (kg KPK/m<sup>3</sup>)

$B_v$  – prostorninska bremenitev (kg KPK/ m<sup>3</sup>/dan)

Opravljeni so bili poizkusi termofilne aeracije goveje gnojevke z dodatkom sirotke. Izkazalo se je, da v šaržnih pogojih aeracije gnojevke ( $T = 55\text{--}60\text{ }^\circ\text{C}$ ) dodajanje sirotke v zmes znižuje vrednost pH zmesi ( $\text{pH} < 5$ ), kar delno zmanjša mikrobnost aktivnost ter tako podaljša zadrževalne čase. Sirotka tako deluje kot pufer ter tudi zmanjša izgube dušika (4%) (Heinonen-Tanski in sod., 2005).

## 15 SKLEPI

“... Naslednje stoletje bo “doba biologije”, kot je bila to stoletje “doba fizike in astronomije”. Izrecno bodo dežele, ki bodo znale povezati, analizirati in posredovati biološke informacije v prednosti pri doseganju ekonomskega in znanstvenega napredka...” je leta 1998 izjavil profesor Robert May, eden vodilnih znanstvenikov Velike Britanije na znanstveni konferenci v Avstraliji (Nekrep, 2002).

“... Le popraskali smo po površju razvoja obnovljivih virov energije, ki temeljijo na kmetijski proizvodnji – etanol, biodiesel, biomasa, veter, metan, vodik, ... Vse kar lahko proizvedemo iz soda nafte, lahko proizvedemo na lastnih kmetijah. Ni nam treba vrtati za nafto v okoljsko zavarovanih območjih in ni nam treba biti prepuščen milosti tujih naftnih proizvajalcev...” je 28. junija 2001 izjavil ameriški senator Tom Harkin (Nekrep, 2002).

V tem stoletju bo človeštvo po predvidevanjih doseglo in preseгло 10 milijard ljudi. Potrebe po hrani ne bodo le kvantitativno, ampak tudi kvalitativno večje (Nekrep, 2002)

Farmacevtska industrija vse bolj krepi delež t.i. biofarmacevtskih sredstev, v ozadju katerih tiči razvoj v biotehnologiji. Biotehnologiji danes soglasno pripisujejo ključno vlogo pri oblikovanju naše prihodnosti. Pomembne učinke pričakujemo od nje v: zaščiti zdravja, proizvodnji hrane in pri varovanju okolja, torej v smereh, ki jih je mogoče najbolje označiti z opisom “izboljšanje kvalitete življenja”. Za biotehnologijo je značilno, da omogoča razvoj dejavnosti, tehnik, tehnologij. Tehnika rekombinantne DNK in celična fuzija, sekvenciranje bioloških molekul, proteinski inženiring, zagotavljanje genske ekspresije in njeno vpreganje v voz fermentacijskih tehnologij in tehnik celične kulture so odprle možnosti aplikacij na številnih področjih. Pomemben sklop pozitivnega prispevka biotehnologije predstavljajo depolucijske tehnologije in postopki zdravljenja ekosistemov – bioremediacija (Nekrep, 2002).

Že v zgodnjih osemdesetih letih je nastal koncept t.i. biodružbe, katerega značilnost je tesna vezanost na možnosti, ki jih ponujajo nove tehnologije, konkretnije biotehnologija. K odpadkom iz živinoreje štejemo tudi odpadne vode iz priprave mleka. Pravilno

odstranjevanje in/ali izraba živalskih odpadkov močno izboljša učinkovitost (gospodarnost) in ohranja čisto in zdravo okolje. Postopki obdelave morajo biti del celostne rejske in predelovalne tehnologije in morajo upoštevati varovanje krogotoka hranil (Nekrep, 2002).

Največ površinskih vodotokov je prekomerno onesnaženih (29% v 3. in 4. razredu), pri čemer se onesnaženje širi v povirja rek. Točkovni viri onesnaženja niso sanirani v zelenem obsegu. Znatno del industrije še vedno izpušča odpadno vodo v vodotoke brez čiščenja. Na pospešeno iskanje rešitev že vpliva leta 1995 izdana uredba o taksi za obremenjevanje vode (Uradni list RS, št. 41/95), s katero so povzročitelji z ekonomskim mehanizmom prisiljeni v iskanje ustreznih rešitev (NPVO, 1999).

Vse omenjeno govori v prid tehnološki izrabi sirotke, bodisi iz prehranskih, zdravstvenih, političnih, okoljevarstvenih, znanstvenih, gospodarskih, ekonomskih in drugih razlogov. Skrajni čas je že, da začnemo izkoriščati sirotko, saj načinov za njeno izrabo je na pretek.



## 16 POVZETEK

Sirotka, kot stranski produkt pri izdelavi sira je v razvitih državah 50% izkoriščena, ostala je obdelovana kot odpadna voda. Nanjo se plačujejo takse zaradi onesnaževanja vode, ker je obremenjena z visoko stopnjo KPK in BPK<sub>5</sub>, nitrati in solmi. Zahteva po njenem izkoriščanju je prisotna že vrsto let, vendar so v preteklih letih večino tehnoloških postopkov opustili zaradi energetske potratnosti. Tako je zamrla proizvodnja sirotke v prahu s sušenjem, proizvodnja etanola, bioplina ter laktoze prav tako, kot se niso obnesli tudi drugi postopki odstranjevanja/izkoriščanja, zaradi majhne vsebnosti suhe snovi v sirotki, oz. velikih količin vode, ki jo je treba transportirati. Navkljub vsemu so nekatere mlekarne oddajale sirotko za krmljenje prašičem, kar pa je tudi zamrlo zaradi težkega vzdrževanja higiene na farmah, čeprav je jasno dokazano, da imajo prašiči večji prirast ob njenem zauživanju. Ugotovili so tudi boljšo mlečnost koz ob njenem zauživanju.

Z razvojem novih tehnologij pa so se postopki precej izboljšali in pocenili. Uvedba filtracij v mlekarstvo industrijo je privedla do vrste novih proizvodov in hitrejše in cenejšo proizvodnjo starih. Tako lahko danes iz sirotke pridobimo vsako njeno sestavino: beljakovine, laktozo, soli, vitamine, vodo ter jih znova uporabimo in s tem ustvarjamo prihranek. Z razvojem biotehnologije se je razpon izdelkov še povečal. Tehnologija rekombinantne DNA je odprla okno v nov svet, saj z njo lahko izboljšamo donose (etanola, bioplina), zmanjšamo onesnaževalno breme sirotke ter pridobimo nekatere proizvode, o katerih v preteklosti niso razmišljali (biorazgradljiva plastika, krmno biomaso, vodik).

Tudi zdravilnih učinkovin sirotke lahko farmacevtska industrija pridobi marsikateri proizvod. Vključena je tudi v vsakodnevno prehrano ljudi, v obliki nekaterih jogurtov, ki so obogateni z bakterijami črevesne mikrobne združbe, ki rastejo na sirotki, v proizvodnji topljenih in diabetičnih sirov, kjer sirotkine beljakovine lahko nadomestijo mlečno maščobo v siru. V prehrani dojenčkov je sirotka že dolgo znana zaradi sestave beljakovin, ki so najboljši približek humanemu mleku.

Vsakršna izraba sirotke je ekološko upravičena, je trajnostna in pripomore k boljši "kvaliteti življenja". V NPVO se omenja potreba po uvajanju novih tehnologij; vemo pa da bo potreba po hrani vse večja na eni strani in da biotehnologija vsak dan prinaša nove rešitve na drugi strani. Vsa znanost, politika, ekologija in gospodarstvo govorijo v prid izkoriščanju sirotke. Konec koncev imamo Slovenci težave pri izkoriščanju sredstev evropske pomoči, hkrati pa se nam samo pri sirotki odpira veliko možnosti za investicije v programe v kmetijskem sektorju, ki je s sredstvi zadovoljivo oskrbljen. Mogoče bi bilo treba sirotko uvrstiti med obnovljive vire energije.

## 17 VIRI

- Atra R., Vatai G., Bekassy-Molnar E., Balint A. 2005. Investigation of ultra- and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. *Journal of Food Engineering*, 67: 325-332 <http://www.sciencedirect.com> (28. feb. 2005)
- Bonnet J.L., Bogaerts P., Bohatier J. 1999. Biological treatment of whey by *Tetrahymena pyriformis* and impact study on laboratory-scale wastewater lagoon process. *Chemosphere*, 38, 13: 2979-2993 <http://www.sciencedirect.com> (15. mar. 2005)
- Bullock K.D., Hansen L.C., Poe E.S., 1995. Carbon monoxide production from land applied cheese whey. *Bioresource Technology*, 54: 231-233 <http://www.sciencedirect.com> (15. mar. 2005)
- Djurić M., Carić M., Milanović S., Tekić M., Panić M. 2004. Development of whey-based beverages. *European Food Research Technology*, 219: 321-328 <http://www.sciencedirect.com> (11. mar. 2005)
- Doleyres Y., Paquin C., LeRoy M., Lacroix C. 2002. *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 cell production during free- and immobilized-cell cultures in MRS-whey permeate medium. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60: 168-173 <http://www.sciencedirect.com> (11. mar. 2005)
- Farizoglu B., Keskinler B., Yildiz E., Nuhoglu A. 2004. Cheese whey treatment performance of an aerobic jet loop membrane bioreactor. *Process Biochemistry*, 39: 2283-2291 <http://www.sciencedirect.com> (13. okt. 2005)
- Feijoo G., Moreira M.T., Roca E., Lema J.M. 1999. Use of cheese whey as a substrate to produce manganese peroxidase by *Bjerkandera* sp BOS55. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 23: 86-90 <http://www.sciencedirect.com> (11. mar. 2005)
- FluidBed Dryers. Evaporator dryer technologies, Inc. <http://www.evapdryertech.com/pdf/fluidBed.pdf> (17. jan. 2006)
- Fu W., Mathews A.P. 1999. Lactic acid production from lactose by *Lactobacillus plantarum*: kinetic model and effect of pH, substrate and oxygen. *Biochemical Engineering Journal*, 3: 163-170 <http://www.sciencedirect.com> (28. feb. 2005)
- Ghaly A.E. & El-Taweel A.A. 1995. Effect of micro-aeration on the growth of *Candida pseudotropicalis* and production of ethanol during batch fermentation of cheese whey. *Bioresource Technology*, 52: 203-217 <http://www.sciencedirect.com> (28. feb. 2005)
- Ghaly A.E. 1996. A comparative study of anaerobic digestion of acid cheese whey and dairy manure in a two-stage reactor. *Bioresource Technology*, 58: 61-72 <http://www.sciencedirect.com> (15. mar. 2005)

- Ghaly A.E., Tango M.S.A., Mahmoud N.S., Avery A.C. 2004. Batch propagation of *Lactobacillus helveticus* for production of lactic acid from lactose concentrated cheese whey with microaeration and nutrient supplementation. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 20: 65-75 <http://www.sciencedirect.com> (11. mar. 2005)
- Ghaly A.E., Kamal M.A. 2004. Submerged yeast fermentation of acid cheese whey for protein production and pollution potential reduction. *Water research*, 38: 631-644 <http://www.sciencedirect.com> (17. maj 2005)
- Gonzales S.M.I. 1996. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. *Bioresource technology*, 57: 1-11 <http://www.sciencedirect.com> (21. dec. 2004)
- Greiter M., Novalin S., Wendland M., Kulbe K.D., Fischer J. 2002. Desalination of whey by electrodialysis and ion exchange resins: analysis of both processes with regard to sustainability by calculating their cumulative energy demand. *Journal of Membrane Science*, 210: 91-102 <http://www.sciencedirect.com> (28. feb. 2005)
- Heinonen-Tanski H., Kiuru T., Ruuskanen J., Korhonen K., Koivunen J., Ruokojarvi A. 2005. Thermophilic aeration of cattle slurry with whey and/or jam wastes. *Bioresource Technology*, 96: 247-252 <http://www.sciencedirect.com> (31. mar. 2005)
- Kacvinsky A. M. 2005. Whey beverages: Stabilizer and process technology options: 4th International Whey Conference, Chicago, 11-14 sept. 2005. <http://www.iwc-2005.org/presentations/kacvinsky.pdf> (19. jan. 2006)
- Knez M.I. Njegovo veličanstvo sirotka. Raziskave in razvoji, 1011 – Ljubljana, Večna pot 15 <http://members.tripod.com/zacetek/sirotka/> (26. sept. 2005).
- Kourkoutas Y., Dimitropoulou S., Kanellaki M., Merchant R., Nigam P., Banat I.M., Koutinas A.A. 2002. High-temperature alcoholic fermentation of whey using *Kluyveromyces marxianus* IMB3 yeast immobilized on delignified cellulosic material. *Bioresource Technology*, 82, 2: 177-181 <http://www.sciencedirect.com> (23. jun. 2005)
- Lee S.Y., Middelberg A.P.J., Lee Y.K. 1997. Poly(3-hydroxybutyrate) production from whey using recombinant *Escherichia coli*. *Biotechnology Letters*, 19, 10: 1033-1035 <http://www.sciencedirect.com> (11. mar. 2005)
- Lee H., Song M., Yu Y., Hwang S. 2003. Production of *Ganoderma lucidum* mycelium using cheese whey as an alternative substrate: response surface analysis and biokinetics. *Biochemical Engineering Journal*, 15, 2: 93-99 <http://www.sciencedirect.com> (28. feb. 2005)
- Leite A.R., Guimaraes W.V., De Araujo E.F., Silva D.O. 2000. Fermentation of sweet whey by recombinant *Escherichia Coli* KO11. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31: 212-215 <http://www.sciencedirect.com> (22. okt. 2004)

- Madamwar D., Patel P., Desai M. 1995. Biomethanation of cheese whey using anaerobic upflow fixed film reactor. *Journal of fermentation and bioengineering*, 79, 4: 398-399 <http://www.sciencedirect.com> (17. maj 2005)
- Madamwar D. in Patel C. 1997. Biomethanation of salty cheese whey using an anaerobic rotating biological contact reactor. *Journal of fermentation and Bioengineering*, 83, 5: 502-504 <http://www.sciencedirect.com> (17. maj 2005)
- Madamwar D. in Patel P. 1998. Surfactants in anaerobic digestion of salty cheese whey using upflow fixed film reactor for improved biomethanation. *Process Biochemistry*, 33, 2: 199-203 <http://www.sciencedirect.com> (17. maj 2005)
- Mahalakshmi R., Murthy V.V.P.S. 2000. Growth of *Bifidobacterium bifidum* in whey-based media. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 25: 177-179 <http://www.sciencedirect.com> (11. mar. 2005)
- Maswaure S.M., Mandisodza K.T. 1995. An evaluation of the performance of weaner pigs fed diets incorporating fresh sweet liquid whey. *Animal Feed Science and Technology*, 54: 193-201 <http://www.sciencedirect.com> (31. mar. 2005)
- McDonald P., Edwards R. A., Greenhalgh J.F.D., Morgan C.A. 1995. *Animal Nutrition – Fifth Edition*. New York, Longman Scientific & Technical: 607 str.
- Miletič S. 1994. *Mlijeko i Mliječni proizvodi*. Zagreb, Hrvatsko mljekarsko društvo: 273 str.
- NPVO - Nacionalni Program Varstva Okolja. Ur.l. RS št. 83-3953/99 14.10.1999, 124 str. [http://www.arso.gov.si/poročila/nacionalni\\_program\\_varstva\\_okolja/npvo.pdf](http://www.arso.gov.si/poročila/nacionalni_program_varstva_okolja/npvo.pdf) (16. mar. 2005)
- Nekrep F.V. 1996. Bakterije in arheje. V: *Biotehnologija. Osnovna znanja*. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Bia: 15-49
- Nekrep F.V. 1992. Anaerobna tehnologija čiščenja. V: *Biotehnologija. Osnovna znanja*. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Bia: 539–552
- Nekrep F.V. 2002. Predavanje Varstvo okolja v živinoreji: Predavanje 8: Biotehnologija za naravovarstvo. [http://www.bfro.uni-lj.si/zoo/studij/dodipl/eko/varoksp2002/2001/predavanje\\_8.htm](http://www.bfro.uni-lj.si/zoo/studij/dodipl/eko/varoksp2002/2001/predavanje_8.htm) (19. jan. 2006)
- Onwulata C.I., Smith P.W., Konstance R.P., Holsinger V.H. 2001. Incorporation of whey products in extruded corn, potato and rice snacks. *Food Research International*, 34: 679-687 <http://www.sciencedirect.com> (21. apr. 2005)

- Qureshi N., Maddox I.S. 1995. Continuous Production of Acetone-Butanol-Ethanol using immobilized cells of *Clostridium acetobutylicum* and Integration with Product removal by Liquid Liquid extraction. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80, 2: 185-189 <http://www.sciencedirect.com> (28. feb. 2005)
- Pankratz T. M. 2001. Environmental engineering Dictionary and Directory. Florida, Lewis Publishers: 335 str.  
[http://www.environetbase.com/ejournals/books/book\\_summary/summary.asp?id=24](http://www.environetbase.com/ejournals/books/book_summary/summary.asp?id=24) (11. mar. 2005)
- Perdih A. 1996. Izbor in pripraba substratov. V: *Biotehnologija. Osnovna znanja*. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Bia: 367-382
- Pisecky J. 2004. Spray drying in the cheese industry. V: *IDF Symposium on cheese*, Praga, 21-25 mar. 2004. [http://www.niroinc.com/html/drying/spray\\_drying1.htm](http://www.niroinc.com/html/drying/spray_drying1.htm) (17. jan. 2006)
- Rapetti L., Falaschi U., Lodi R., Vezzoli F., Tamburini A., Greppi G.F., Enne G. 1995. The effect of liquid whey fed to dairy goats on milk yield and quality. *Small Ruminant Research*, 16: 215-220 <http://www.sciencedirect.com> (15. mar. 2005)
- Raspor P. 1996. Kvasovke. V: *Biotehnologija. Osnovna znanja*. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Bia: 69-93
- Rech R., Cassini C.F., Secchi A., Ayub M.A.Z. 1999. Utilization of protein-hydrolyzed cheese whey for production of  $\beta$ -galactosidase by *Kluyveromyces marxianus*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 23: 91-96  
<http://www.sciencedirect.com> (11. mar. 2005)
- Rassano R., D'Elia A., Riccio P. 2001. One-step separation from lactose: Recovery and purification of major cheese-whey proteins by hydroxyapatite – A flexible procedure suitable for small- and medium scale preparations. *Protein Expression and Purification*, 21: 165-169 <http://www.sciencedirect.com> (28. feb. 2005)
- Senthuran A., Senthuran V., Hatti-Kaul R., Mattiasson B. 1999. Lactic acid production by immobilized *Lactobacillus casei* in recycle batch reactor: a step towards optimization. *Journal of Biotechnology*, 73: 61-70 <http://www.sciencedirect.com> (28. feb. 2005)
- Sienkiewicz T., Riedel C.L., 1990. Whey and whey utilization – Possibilities for utilization in agriculture and foodstuffs production. Bonn, Verlag Th. Mann: 379 str.
- Slanovec T. 1982. *Sirarstvo*. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 175 str.
- Souza C.G. Jr., MacDonald-Ledingham W., Morais M.A. Jr. 2001. Utilisation of cheese whey as an alternative growth medium for recombinant strains of *Kluyveromyces marxianus*. *Biotechnology Letters*, 23: 1413-1416  
<http://www.sciencedirect.com> (11. mar. 2005)

Spray Dryers. Evaporator dryer technologies, Inc.

[http://www.evapdryertech.com/Technologies\\_Drying\\_TallFormDryers.asp](http://www.evapdryertech.com/Technologies_Drying_TallFormDryers.asp)

(17. jan. 2006)

Šabec S., Fischione A. 1968. Sirarstvo. Ljubljana, DZS: 157 str.

Šalehar A. 1995. Prašičereja. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 278 str.

Tahoun K.M., El-Nemr M.T., Shata H.O. 1999. Ethanol from lactose in salted cheese whey by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. Lebensmittelchemie Untersuchung Forschungsanstalt, 208: 60-64 <http://www.sciencedirect.com> (11. mar. 2005)

Tango M.S.A., Ghaly A.E. 1999. Effect of temperature on lactic acid production from cheese whey using *Lactobacillus helveticus* under batch conditions. Biomass and Bioenergy, 16: 61-78 <http://www.sciencedirect.com> (28. feb. 2005)

Tango M.S.A., Ghaly A.E. 1999. Amelioration of lactic acid production from cheese whey using micro-aeration. Biomass and Bioenergy, 17: 221-238 <http://www.sciencedirect.com> (28. feb. 2005)

Tratnik L. 1998. Mlijeko – tehnologija, biokemija i mikrobiologija. Zagreb, Hrvatska mljekarska zadruga: 391 str.

USDA - Specifications for Dry Whey Protein Concentrate, April 18, 2003: 4 str.

[http://www.ams.usda.gov/dairy/dry\\_whey\\_prot\\_conc.pdf](http://www.ams.usda.gov/dairy/dry_whey_prot_conc.pdf) (6. jun. 2005)

Vogel R.F. 1996. Specifične metode genske tehnologije pri laktobacilih. V: Biotehnologija. Osnovna znanja. Raspor P. (ur). Ljubljana, Bia: 229-244

Yetim H., Muller W.D., Eber M. 2001. Using fluid whey in comminuted meat products: effect on technological, chemical and sensory properties of frankfurter-type sausage. Food Research International, 34: 97-101 <http://www.sciencedirect.com> (21. apr. 2005)

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem se prof. dr. Franc Viktor Nekrepu, ker mi je omogočil opravljanje diplomske naloge ter mi pomagal pri njenem nastajanju.

Zahvaljujem se doc. dr. Bogdanu Perko za njegovo recenzijo in informacije o sirotki..

Zahvaljujem se staršem, ker so mi pomagali ter stali ob strani med študijem.



Leban J. Načini predelave sirotke kot reševanje okoljevarstvenih problemov v mlekarstvu.

Dipl. delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za zootehniko, 2006

---