

*А.В. Мелещенко, к.э.н., доцент, Е.Д. Шегидевич  
Институт мясо-молочной промышленности, Минск, Республика Беларусь*

## АЛГОРИТМ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛКОВОГО СОСТАВА МОЛОКА-СЫРЬЯ МЕТОДОМ КЬЕЛЬДАЛЯ

*A. Meliashchenia, K. Shehidzevich  
Institute for Meat and Dairy Industry, Minsk, Republic of Belarus*

## RESEARCH ALGORITHM OF THE PROTEIN COMPOSITION OF RAW MILK BY THE KYELDAL METHOD

*e-mail: aleksmel@tut.by, ek.sheg@yandex.ru*

*Изучены особенности определения белкового состава молока сырого в соответствии с нормативными документами стран-участниц ЕАЭС. На основании проведенных исследований для предприятий молокоперерабатывающей отрасли разработан алгоритм, устанавливающий последовательность определения критериев, характеризующих белковый состав молока-сырья, методом Кьельдаля.*

*The details of determining the protein composition of raw milk in accordance with the regulatory documents of the EAEU member-countries were studied. Based on the researches has been developed an algorithm for the dairy industry that establishes the sequence for determining the criteria characterizing the protein composition of raw milk using the Kjeldahl method.*

**Ключевые слова:** молоко-сырье; метод Кьельдаля; небелковый азот; истинный белок; фальсификация молока-сырья.

**Keywords:** raw milk; Kjeldahl method; non-protein nitrogen; true protein; adulteration of raw milk.

**Введение.** Актуальным вопросом для молочной отрасли Республики Беларусь является введение в нормативные документы дополнительных показателей идентификации молока-сырья по белковому составу. В 2017 году на территории Российской Федерации было утверждено и введено в действие изменение №2 в ГОСТ Р 52054 «Молоко коровье сырое. Технические условия» [1]. Указанное изменение дополнило перечень контролируемых в молоке-сырье показателей следующими параметрами: содержание небелкового азота, массовая доля истинного белка, содержание мочевины (рисунок 1). Определение новых показателей не является обязательным и проводится по усмотрению производителя, то есть в добровольном порядке.

Необходимость в установлении дополнительных критериев исследования молока-сырья в Российской Федерации возникла в связи с тем, что «недобросовестные» производители фальсифицировали молоко-сырье по белку путем внесения сухих молочных компонентов, добавления азотистых соединений, использования кормов с повышенным уровнем азотсодержащих соединений. Представленные способы использовались для повышения массовой доли белка и, соответственно, получения большей выгоды при сдаче молока на переработку. Повышенное значение массовой доли белка при указанных видах фальсификации обусловлено используемым методом контроля данного показателя. Чаще всего массовая доля белка определяется методом Кьельдаля, с помощью которого устанавливают не белок, а массовую долю азотистых соединений. Затем, путем умножения полученного значения содержания азота на коэффициент 6,38, получают

значение массовой доли общего белка в молоке. Таким образом, в получаемом значении представлен не только белок, но и другие небелковые азотистые соединения [2].

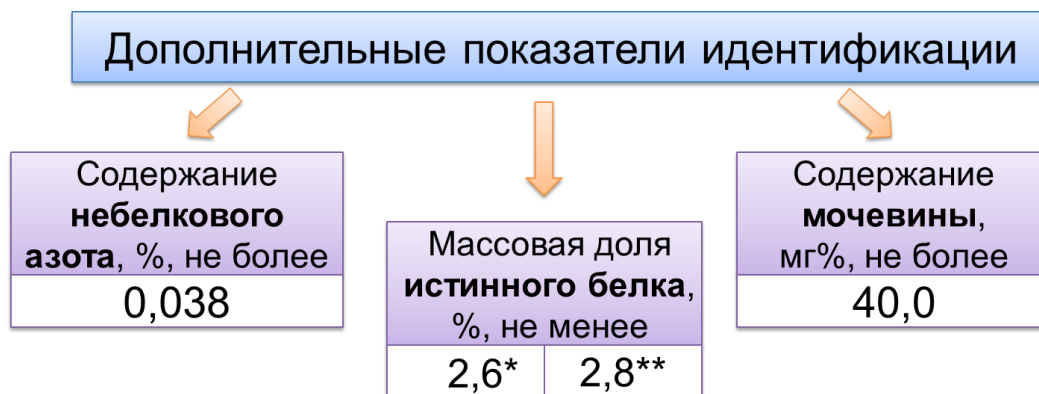


Рисунок 1 – Дополнительные показатели идентификации молока-сырья

(\* – для первого и второго сорта, \*\* – для высшего сорта)

Источник данных: собственная разработка.

Следует рассмотреть особенности молока-сырья, фальсифицированного указанными способами. При использовании сыворотки как дополнительного белоксодержащего компонента, природное соотношение (1:3) между сывороточными белками и казеиновой фракцией нарушается. Сывороточные белки, являющиеся термолабильными, находятся в избытке по отношению к казеиновой фракции, что приводит к коагуляции и со-коагуляции сывороточных белков при попытке пастеризации молока, фальсифицированного сывороткой [3]. При фальсификации молока-сырья путем добавления азотсодержащих соединений получают молочное сырье с искусственным высоким белком. При этом процесс сычужного свертывания или сквашивания протекает совсем не по классической схеме, а зачастую вообще останавливается. Таким образом, фальсификация молока-сырья по белковому составу оказывает значительное влияние на последующие стадии процесса его переработки [2].

С учетом разработки в настоящее время изменения в государственный стандарт Республики Беларусь на молоко коровье сырое и существованием описанных выше способов искусственного завышения содержания белка, актуальными задачами являются изучение современных методов определения белкового состава молока-сырья и разработка алгоритма его исследования, устанавливающего последовательности определения и оценки новых показателей.

**Материалы и методы исследований.** В качестве материалов при выполнении работы была изучена и проанализирована информация ряда литературных источников, а также нормативных правовых актов в области технического нормирования и стандартизации молочной отрасли, действующих на территории Республики Беларусь и ЕАЭС.

**Результаты и их обсуждение.** Основным документом, устанавливающим требования к молоку-сырью в нашей республике, является СТБ 1598-2006 «Молоко коровье сырое. Технические условия». В стандарте определена базисная норма для показателя «массовая доля белка», значение которой составляет 3,0% [4]. В приложении №6 Технического регламента ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции», распространяющегося на молоко и молочную продукцию, выпускаемую в обращение на единой территории Таможенного союза, установлено, что массовая доля белка сырого коровьего молока составляет не менее 2,8% [5]. Таким образом, в указанных выше документах единственным нормируемым

показателем, характеризующим белковый состав молока, является «массовая доля белка».

Массовая доля белка – интегральный показатель, включающий в себя не только белки, но и азотистые соединения (мочевина, пептиды, отдельные аминокислоты, другие продукты распада белка). Исходя из практических соображений, содержание белка в молоке необходимо оценивать по следующим показателям: содержание сырого белка, содержание чистого белка (истинного белка), содержание казеина, содержание неказеинового азота, содержание небелковых азотистых соединений (NPN), содержание сывороточных белков [6, 7]. Соотношение между указанными показателями представлено на рисунке 2.

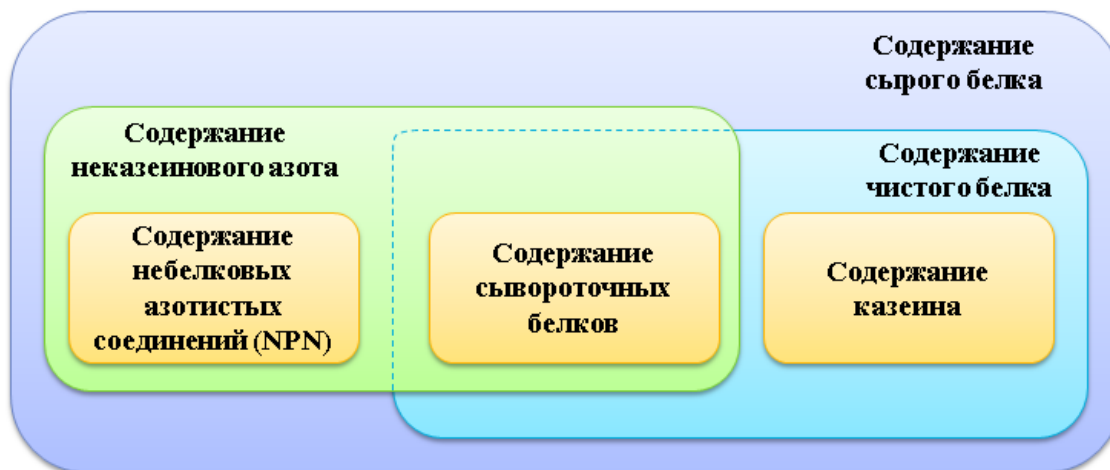


Рисунок 2 – Взаимосвязь между основными показателями, характеризующими содержание молочных белков  
 Источник данных: собственная разработка.

Анализ научно-практической литературы и технических нормативно-правовых актов показал, что показатель «содержание сырого белка» аналогичен показателю массовая доля белка установленному в [4] и [5]. Содержание чистого (истинного) белка характеризуется значением содержания сырого белка за вычетом содержания небелковых азотистых соединений. Содержание казеина в молоке составляет 2,6–3,2%, на казеин приходится 78–82% от общего количества молочных белков [6]. Содержание сывороточных белков – 0,4–0,8%, их доля от общего количества молочных белков составляет 15–22% [8]. Содержание небелковых азотистых соединений составляет около 200–500 мг/дм<sup>3</sup>. Это соответствует 2–8% общего количества азота, определяемого по Кьельдалю [6]. В государственном стандарте Российской Федерации на молоко сырое [1] содержание небелкового азота не должно превышать 0,038%.

На изменчивость белковости молока влияют генетические и паратипические факторы. К паратипическим относятся уровень и полноценность кормления, физиологическое состояние, здоровье и система содержания животных, сезон года [9]. Порода животных оказывает большое влияние на химический состав молока и выход молочных продуктов, то есть каждой породе присуща соответствующая концентрация белка в молоке [10].

Стандартные методы анализа общего содержания белка и содержания отдельных фракций представлены в таблице 1. Обзор стандартных методов анализа показателей, характеризующих белковый состав молока, показал, что универсальным методом для их определения является метод Кьельдаля [12]. Метод Кьельдаля в настоящее время на международном уровне признан в качестве арбитражного метода

измерения содержания белка в молочных продуктах, и перечислен в качестве такого в Кодекс Алиментариус.

Таблица 1 – Стандартные методы анализа общего содержания белка и содержания отдельных фракций

Показатель	Код стандарта	Наименование стандарта
Массовая доля белка	ГОСТ 25179-2014	Молоко и молочные продукты. Методы определения массовой доли белка
	ГОСТ 23327-98	Молоко и молочные продукты. Метод измерения массовой доли общего азота по Кьельдалю и определение массовой доли белка
	ГОСТ ISO 8968-3-2013	Молоко. Определение содержания азота. Часть 3. Метод дигерирования в блоке (полумикроэкспресс-метод)
	СТБ ISO 8968-1-2008	Молоко. Определение содержания азота. Часть 1. Метод Кьельдаля
Массовая доля сывороточных белков	ГОСТ Р 54756-2011	Молоко и продукция молочная. Определение массовой доли сывороточных белков методом Кьельдаля
Содержание небелковых азотистых соединений	ГОСТ Р 55246-2012	Молоко и молочные продукты. Определение содержания небелкового азота с применением метода Кьельдаля
Содержание казеинового азота	СТБ ISO 17997-1-2012	Молоко. Определение содержания казеинового азота. Часть 1. Косвенный метод (арбитражный метод)

Источник данных: [5, 11].

Методом Кьельдаля проводят определение содержания отдельных фракций молочных белков, для этого необходимо их предварительное выделение. Последовательность выделения фракций молочных белков в соответствии с техническими нормативно-правовыми актами, указанными в таблице 1, представлена в виде схемы на рисунке 3.

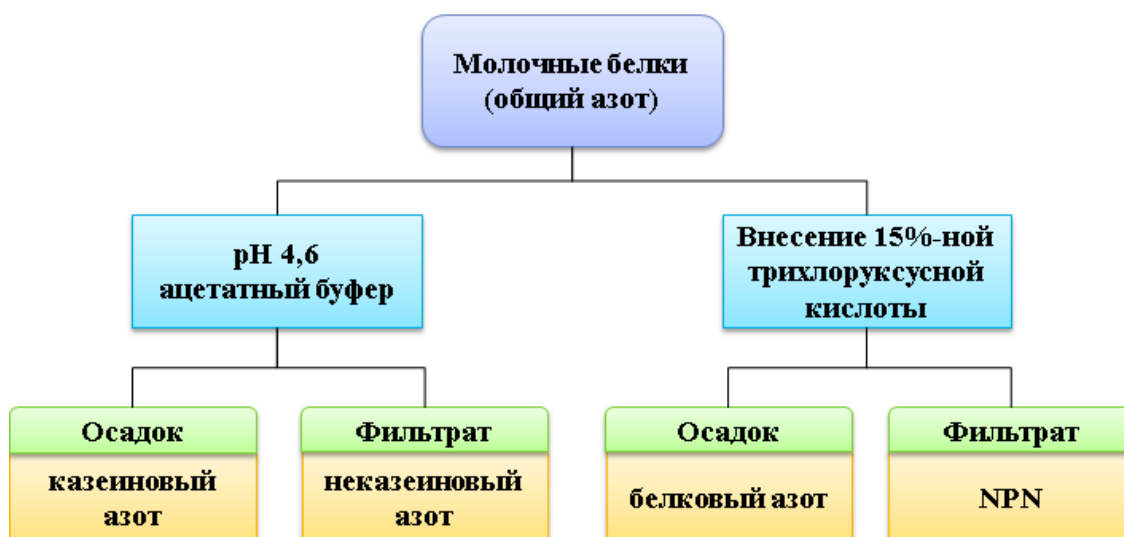


Рисунок 3 – Порядок фракционирования молочных белков

Источник данных: [6]

Определение основных параметров, характеризующих белковый состав молока, проводят следующим образом:

а) массовая доля белка – общее содержание азота по Кьельдалю, умноженное на коэффициент 6,38;

б) истинный белок – разность между общим содержанием азота и содержанием небелковых азотистых соединений, умноженная на коэффициент 6,38;

в) массовая доля казеина – разность между общим содержанием азота и содержанием неказеинового азота, умноженная на коэффициент 6,38;

г) содержание неказеинового азота – содержание азота в фильтрате после отделения казеина при рН 4,6 в ацетатном буфере;

д) содержание небелковых азотистых соединений (массовая доля небелкового азота) – содержание азота в фильтрате после осаждения белков 15%-ной трихлоруксусной кислотой;

е) массовая доля сывороточных белков – разность между содержанием неказеинового азота и содержанием небелковых азотистых соединений, умноженная на коэффициент 6,28 [6].

Следует отметить, что на территории Российской Федерации введен в действие ГОСТ Р «Молоко и продукция молочная. Определение массовой доли сывороточных белков методом Кьельдаля», что позволяет проводить определение содержания сывороточных белков не только расчетным путем.

*Алгоритм исследования белкового сырого молока методом Кьельдаля.* На основании представленных результатов анализа литературных источников и технических нормативно-правовых актов в области стандартизации и нормирования молочной отрасли был разработан алгоритм проведения исследования белкового состава молока-сырья (рисунок 4), который состоит из пяти этапов.

Первый этап – это определение массовой доли белка, его проводят в соответствии с ГОСТ 23327-98 [14].

На втором этапе определяют содержание казеинового азота в соответствии с СТБ ISO 17997-1-2012. В соответствии с СТБ ISO 17997-1-2012 в подготовленной для исследования пробе проводится осаждение казеиновой фракции белков молока-сырья с использованием ацетатного буфера. Последующее исследование содержания неказеинового азота осуществляют методом Кьельдаля путем исследования фильтрата, полученного при удалении образовавшегося осадка казеиновой фракции [15].

Третий этап – определение содержания небелковых азотистых соединений (небелкового азота) в соответствии с ГОСТ Р 54756-2011 [16]. Следует отметить, что в настоящее время ведется разработка межгосударственного стандарта ГОСТ «Молоко и молочная продукция. Определение содержания небелкового азота с применением метода Кьельдаля». Проект стандарта разработан на основе ГОСТ Р 55246 и проходит публичное обсуждение в первой редакции [17].

На четвертом этапе проводят определение массовой доли сывороточных белков расчетным путем по формуле (1):

$$W_{\text{СЫВ}} = 6,28 * (W_{\text{НКА}} - W_{\text{НА}}), \quad (1)$$

где  $W_{\text{СЫВ}}$  – массовая доля сывороточных белков, %;

$W_{\text{НКА}}$  – содержанием неказеинового азота, %;

$W_{\text{НА}}$  – массовая доля небелкового азота, %.

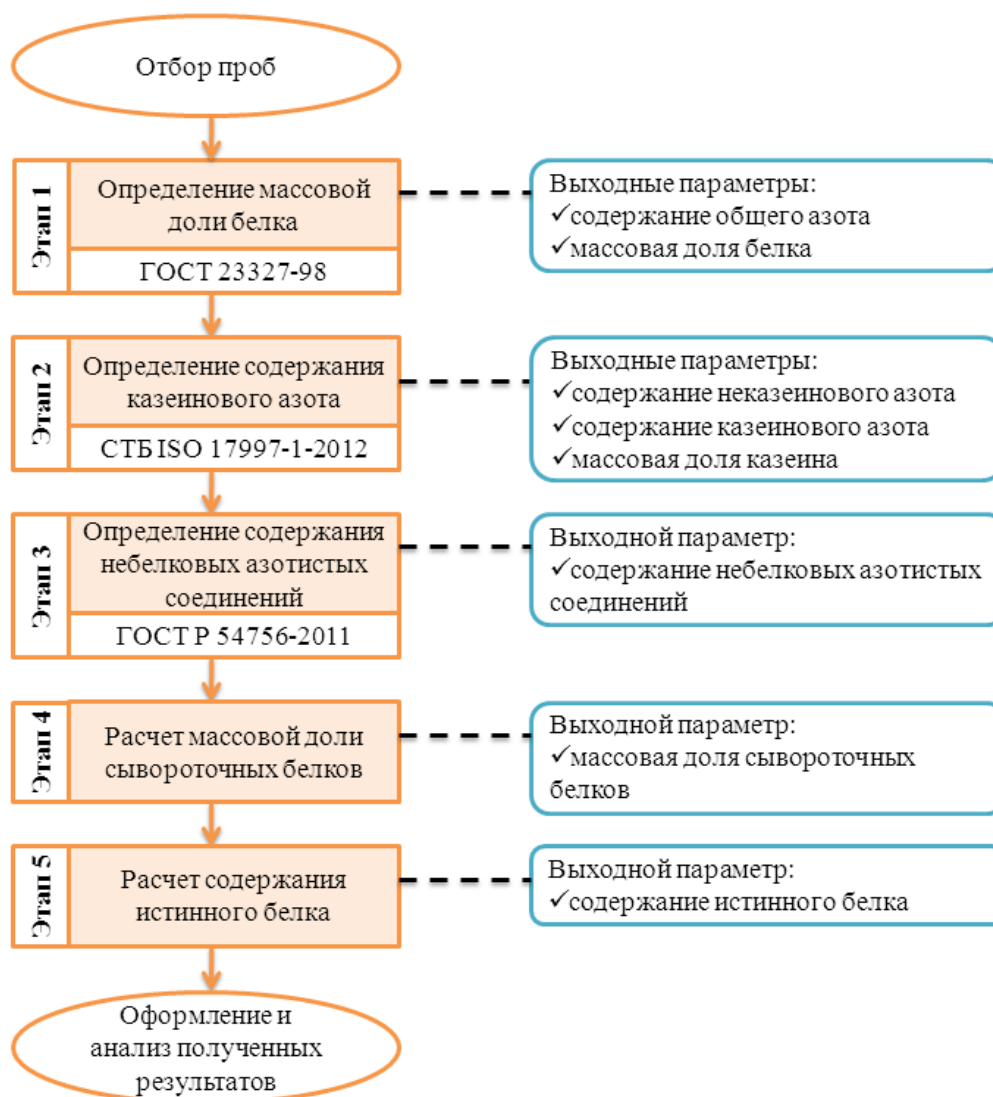


Рисунок 4 – Алгоритм исследования белкового состава молока-сырья методом Кьельдаля  
Источник данных: собственная разработка.

Определение массовой доли сывороточных белков возможно проводить также в соответствии с ГОСТ Р 54756 «Молоко и продукция молочная. Определение массовой доли сывороточных белков методом Кьельдаля» [13], на основе которого разработан проект стандарта ГОСТ «Молоко и молочная продукция. Определение массовой доли сывороточных белков методом Кьельдаля». Документ прошел все необходимые процедуры обсуждения в формате окончательной редакции и по плану межгосударственной стандартизации должен быть утвержден в 2020 году [17].

На пятом этапе осуществляется расчет содержания истинного белка по формуле:

$$W_{\text{ИБ}} = 6,38 * (W_{\text{ОА}} - W_{\text{НА}}), \quad (2)$$

где  $W_{\text{ИБ}}$  – содержание истинного белка, %;  
 $W_{\text{ОА}}$  – общее содержание азота, %.

Рекомендуемая форма представления получаемых результатов установлена в виде таблицы 2.

Таблица 2 – Рекомендуемая форма представления результатов анализа белкового состава молока сырого

Шифр образца молока-сырья	Массовая доля (содержание) азота, %				Массовая доля (содержание), %			
	общего	неказеинового	казеинового	небелкового	белка	казеина	сывороточных белков	истинного белка

Источник данных: собственная разработка.

Анализ полученных результатов осуществляется путем их сравнения со значениями представленными в нормативной документации и литературных источниках. Установленная последовательность исследования молока-сырья способствует получению данных не только об общем содержания белка, но и об отдельных фракциях – казеина и сывороточных белков. Нарушение природного соотношения между содержанием казеина и сывороточных белков может свидетельствовать о фальсификации молока-сырья белками молочного или немолочного происхождения. В описанной ситуации необходимо более детальное рассмотрение каждой фракции белков молока-сырья, что возможно при проведении его идентификации в соответствии с ГОСТ 33528-2015 «Молоко и молочные продукты. Идентификация белкового состава электрофоретическим методом в полиакриламидном геле».

**Закключение.** В результате изучения и анализа ТНПА в области технического нормирования молочной отрасли и литературных источников, разработан алгоритм, устанавливающий последовательность проведения исследования белкового состава молока сырье методом Кьельдаля.

Полученные результаты могут быть использованы при мониторинге белкового состава поступающего на молокоперерабатывающие предприятия молока-сырья, что является актуальным для выявления причин при возникновении проблемных вопросов в процессе переработки.

**Список использованных источников**

1. Молоко коровье сырое. Технические условия: ГОСТ Р 52054-2003. – Введ. 01.01.04. – Москва: Стандартинформ, 2008. – 20 с.

2. Абдуллаева, Л.В. О дополнительных показателях качества сырого молока / Л.В. Абдуллаева // Молочная промышленность. – 2015. – №3. – С. 12–13.

3. Коваленко, Д.Н. Фальсификация молока и молочных продуктов / Д.Н. Коваленко // Переработка молока. – 2011. – №3. – С. 8–11.

4. Молоко коровье сырое. Технические условия: СТБ 1598-2006. – Введ. 01.08.06. – Минск: Белорус. гос. ин-т стандартизации и сертификации, 2006. – 20 с.

5. О безопасности молока и молочной продукции: ТР ТС 033/2013: принят 09.10.2013: вступ. в силу 01.05.2014 / Евраз. экон. комис. – Минск: Белорус. гос. ин-т стандартизации и

1. Moloko korov'e syroe. Tehnicheskie uslovija [Raw cow's milk. Technical specifications]: GOST R 52054-2003. – Vved. 01.01.04. – Moskva: Standartinform, 2008. – 20 s.

2. Abdullaeva, L.V. O dopolnitel'nyh pokazatel'jah kachestva syrogo moloka [About additional raw milk quality indicators] / L.V. Abdullaeva // Molochnaja promyshlennost'. – 2015. – №3. – S. 12–13.

3. Kovalenko, D.N. Fal'sifikacija moloka i molochnyh produktov [Falsification of milk and dairy products ] / D.N. Kovalenko // Pererabotka moloka. – 2011. – №3. – S. 8–11.

4. Moloko korov'e syroe. Tehnicheskie uslovija [Raw cow's milk. Technical specifications]: STB 1598-2006. – Vved. 01.08.06. – Minsk: Belorus. gos. in-t standartizacii i sertifikacii, 2006. – 20 s.

5. O bezopasnosti moloka i molochnoj produkcii [About the safety of milk and dairy products]: TR TS 033/2013: prinjat 09.10.2013: vstup. v silu 01.05.2014 / Evraz. jekon. komis. – Minsk:

сертификации, 2013. – 100 с.

6. Тепел, А. Химия и физика молока: пер. с нем. / А. Тепел; под ред. С.А. Фильчаковой. – СПб.: Профессия, 2012. – 832 с.

7. Advanced Dairy Chemistry Volume 1A: Proteins: Basic Aspects, 4th Edition / Paul L.H. McSweeney, Patrick F. Fox. – Springer, 2013. – 548 p.

8. Состав и свойства молока как сырья для молочной промышленности. Справочник / под ред. Я.И. Костина. – М.: Агропромиздат, 1986. – 239 с.

9. Хаертдинов, Р. Влияние сезона на качество и белковый состав молока / Р. Хаертдинов, Н. Мухаметгалиев, А. Гатауллин // Молочное и мясное скотоводство. – 2004. – №2. – С. 2–4.

10. Тетерева, Л.И. Белковые и небелковые азотистые вещества коровьего молока / Л.И. Тетерева, О.В. Лепилкина; Л.П. Витушкина // Повышение конкурентоспособности отечеств. продуктов сыроделия и маслоделия / Всерос. науч.-исслед. ин-т маслоделия и сыроделия, 2012. – С. 199–202.

11. Национальный фонд технических нормативных правовых актов Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.tnra.by> – Дата доступа: 20.12.2020.

12. Молоко и молочные продукты. Метод измерения массовой доли общего азота по Кьельдалю и определение массовой доли белка: ГОСТ 23327-98. – Введ. 01.01.00. – Москва: Стандартинформ, 2009. – 8 с.

13. Молоко и продукция молочная. Определение массовой доли сывороточных белков методом Кьельдаля: ГОСТ Р 54756-2011. – Введ. 01.01.13. – Москва: Стандартинформ, 2012. – 10 с.

14. Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу: ГОСТ 26809-86. – Введ. 01.01.87. – Москва: Стандартинформ, 2009. – 9 с.

15. Молоко. Определение содержания казеинового азота. Часть 1. Косвенный метод (арбитражный метод): СТБ ISO 17997-1-2012. – Введ. 01.01.13. – Минск: Беларус. гос. ин-т стандартизации и сертификации, 2012. – 12 с.

16. Молоко и продукция молочная. Определение массовой доли сывороточных белков методом Кьельдаля: ГОСТ Р 54756-2011. – Введ. 01.01.13. – Москва: Стандартинформ, 2012. – 10 с.

Belorus. gos. in-t standartizacii i sertifikacii, 2013. – 100 s.

6. Tepel, A. Himija i fizika moloka [Chemistry and Physics of Milk]: per. s nem. / A. Tepel; pod red. S.A. Fil'chakovoj. – SPb.: Professija, 2012. – 832 s.

8. Sostav i svojstva moloka kak syr'ja dlja molochnoj promyshlennosti. Spravochnik [The composition and properties of milk as a raw material for the dairy industry. Reference book] / pod red. Ja.I. Kostina. – M.: Agropromizdat, 1986. – 239 s.

9. Haertdinov, R. Vlijanie sezona na kachestvo i belkovyj sostav moloka [The influence of the season on the quality and protein composition of milk] / R. Haertdinov, N. Muhametgaliev, A. Gataullin // Molochnoe i mjasnoe skotovodstvo. – 2004. – №2. – S. 2–4.

10. Tetereva, L.I. Belkovye i nebelkovye azotistye veshhestva korov'ego moloka [Protein and non-protein nitrogenous substances of cow's milk] / L.I. Tetereva, O.V. Lepilkina; L.P. Vitushkina // Povyshenie konkurentosposobnosti otechestv. produktov syrodeliya i maslodeliya / Vseros. nauch.-issled. in-t maslodeliya i syrodeliya, 2012. – S. 199–202.

11. Nacional'nyj fond tehniceskix normativnyh pravovyh aktov Respubliki Belarus' [National Fund of Technical Regulations of the Republic of Belarus] [Elektronnyj resurs]. – Rezhim dostupa: <http://www.tnra.by> – Data dostupa: 20.12.2020.

12. Moloko i molochnye produkty. Metod izmerenija massovoj doli obshhego azota po K'el'dalju i opredelenie massovoj doli belka [Milk and dairy products. The method of measuring the mass content of total nitrogen according to Kjeldahl and determining the mass content of protein]: GOST 23327-98. – Vved. 01.01.00. – Moskva: Standartinform, 2009. – 8 s.

13. Moloko i produkcija molochnaja. Opredelenie massovoj doli syvorotochnyh belkov metodom K'el'dalja [Milk and dairy products. Determination of the mass content of whey proteins by the Kjeldahl method]: GOST R 54756-2011. – Vved. 01.01.13. – Moskva: Standartinform, 2012. – 10 s.

14. Moloko i molochnye produkty. Pravila priemki, metody otbora i podgotovka prob k analizu [Milk and dairy products. Acceptance procedure, sampling procedure and sample preparation for analysis]: GOST 26809-86. – Vved. 01.01.87. – Moskva: Standartinform, 2009. – 9 s.

15. Moloko. Opredelenie soderzhaniya kazeinovogo azota. Chast' 1. Kosvennyj metod (arbitrazhnyj metod) [Milk. Determination of casein nitrogen content. Part 1. Indirect method (reference method)]: STB ISO 17997-1-2012. – Vved. 01.01.13. – Minsk: Belorus. gos. in-t standartizacii i sertifikacii, 2012. – 12 s.

16. Moloko i produkcija molochnaja. Opredelenie massovoj doli syvorotochnyh belkov metodom K'el'dalja [Milk and dairy products. Determination of the mass content of whey proteins by the Kjeldahl method]: GOST R 54756-2011. – Vved.



17. Юрова, Е.А. Стандартизация методик измерений показателей качества и безопасности молока и продуктов его переработки / Е.А. Юрова, С.А. Фильчакова, Т.В. Кобзева // Переработка молока. – 2019. – №11 – С. 6–11.

01.01.13. – Moskva: Standartinform, 2012. – 10 s.  
17. Jurova, E.A. Standartizacija metodik izmerenij pokazatelej kachestva i bezopasnosti moloka i produktov ego pererabotki [Standardization of methods for measuring the quality and safety of milk and its products] / E.A. Jurova, S.A. Fil'chakova, T.V. Kobzeva // Pererabotka moloka. – 2019. – №11 – S. 6–11.