

## **СУЧАСНІ НАПРЯМИ РОЗВИТКУ ТЕХНОЛОГІЇ ХАРЧОВИХ ВИРОБНИЦТВ**

УДК 661.746.2

**Давидович О. Я.,**

*oksana\_davydovych@ukr.net, ORCID ID: 0000-0002-4227-3950,*

*Researcher ID F-5143-2019,*

*к.т.н., доц., доцент кафедри харчових технологій,*

*Львівський торговельно-економічний університет, м. Львів*

**Спринь Х. Р.,**

*hrystyna.spryn@gmail.com,*

*бакалавр, Львівський торговельно-економічний університет, м. Львів*

### **МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ МОЛОЧНОЇ КИСЛОТИ У ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ**

**Анотація.** На сучасному етапі додавання молочної кислоти в процесі виготовлення продуктів харчування є надзвичайно поширеним не лише в Україні, але і у всьому світі. Висока біодоступність та багатогранність технологічних дій обумовлюють затребуваність цієї добавки в різних галузях харчової промисловості. Так, молочна кислота використовується як консервант, антиоксидант та регулятор кислотності під кодом харчової добавки Е 270 і є важливим компонентом багаточисельних продуктів харчування. Для визначення її концентрації на сьогодні використовують колориметричний, спектрофотометричний, флуориметричний, ензиматичний методи та високоефективну рідинну хроматографію. Через те, що сама по собі кислота молочна є присутня у всіх кисломолочних продуктах (внаслідок молочнокислого бродіння), а також її активно використовує велика частина виробників цих продуктів для підтримання балансу кислотності протягом оптимально визначеного терміну, є доцільним дослідити її концентрацію у цих продуктах. З цією метою було відібрано 5-ть зразків йогуртів 2,5 % жирності, а кількість молочної кислоти визначали двохстадійним ензиматично-хімічним методом із утворенням Берлінської блакиті (ББ). Цей метод запатентований співробітниками відділу аналітичних біотехнологій НАН України і застосовується для вимірювання рівня даної сполуки у різноманітних харчових продуктах та біологічних рідинах. Метод ґрунтується на використанні ФЦ  $b_2$ , його субстрату (лактату) і фериціаніду ( $Fe^{3+}$ ). Встановлено найбільшу концентрацію L-лактату у йогурту Польського полуниця з шматочками фруктів ТМ Mlekovita – 125,6 ммоль/л, а найменшу – у йогуртів з наповнювачем «Полуниця» ТМ Дольче Lactel та з наповнювачем фруктовим «Полуниця» ТМ Простоквашино – відповідно 64,75 і 64,0 ммоль/л. Необхідно зазначити також: проаналізувавши склад відібраних зразків йогуртів встановлено, що для регулювання кислотності виробники використовують лимонну кислоту та її солі, а саме: цитрат натрію. Таким чином, визначена кількість молочної кислоти у відібраних зразках йогуртів накопичилася під час молочнокислого бродіння. У результаті проведених експериментальних досліджень нами доведено, що метод ФЦ  $b_2$ -ББ є точним та економічно вигідним, оскільки не вимагає великих затрат на реактиви та є зручним у використанні в аналітичній практиці. У перспективі є доцільним проведення дослідження концентрації молочної кислоти зазначеним методом і в інших харчових продуктах, технологічною схемою виробництва яких передбачено необхідність оцінки перебігу молочнокислого бродіння і відповідно тестування якості готової продукції.

**Ключові слова:** молочна кислота, йогурти, методи визначення, L-лактат.

**Davydovych O. Ya.,**

*oksana\_davydovych@ukr.net, ORCID ID: 0000-0002-4227-3950,*

*Researcher ID F-5143-2019,*

*Ph.D., Associate Professor; Associate Professor of the Department of Food Technologies,*

*Lviv University of Trade and Economics, Lviv*

**Sprin H. R.,**

*hrystyna.spryn@gmail.com,*

*Bachelor's degree student, Lviv University of Trade and Economics, Lviv*

## **METHODS FOR DETERMINING THE CONCENTRATION OF LACTIC ACID IN FOOD PRODUCTS**

**Abstract.** *At the present stage, the addition of lactic acid in the process of food production is extremely common not only in Ukraine but also around the world. High bioavailability and versatility of technological actions determine the demand for this additive in various sectors of the food industry. Thus, lactic acid is used as a preservative, antioxidant and acidity regulator under the additive code E 270 and is an important component of many foods. To determine its concentration, colorimetric, spectrophotometric, fluorometric, enzymatic methods as well as high-performance liquid chromatography are currently used. As lactic acid itself is present in all fermented milk products (due to lactic acid fermentation), and it is actively used by most manufacturers of these products to maintain acidity balance for an optimal period, it is advisable to investigate its concentration in these products. For this purpose, 5 samples of yogurt with 2,5 % fat content were taken, and the amount of lactic acid was determined by a two-stage enzymatic-chemical method with the formation of Berlin Blue (BB). This method is patented by the staff of the Department of Analytical Biotechnology of the National Academy of Sciences of Ukraine and is used to measure the level of this compound in various foods and biological fluids. The method is based on the use of FC b<sub>2</sub>, its substrate (lactate) and ferricyanide (Fe<sup>3+</sup>). The highest concentration of L-lactate was found in Polish strawberry yogurt with fruit slices TM Mlekovita – 125,6 mmol/l, and the lowest in yogurts with filler “Strawberry” TM Dolce Lactel and with fruit filler “Strawberry” TM Prostokvashino 64,75 and 64,0 mmol/l. It should also be noted that after analyzing the composition of selected samples of yogurt, it was found that to regulate the acidity, manufacturers use citric acid and its salts, namely sodium citrate. Thereby a certain amount of lactic acid in the selected samples of yogurt accumulated during lactic acid fermentation. Thus, as a result of experimental research, we have proved that the FC b<sub>2</sub>-BB method is accurate and cost-effective, as it does not require large costs for reagents and is convenient to use in analytical practice. In the future, it is advisable to study the concentration of lactic acid by this method in other foods, the technological scheme of production of which provides for the need to assess the course of lactic acid fermentation and, accordingly, to test the quality of finished products.*

**Key words:** lactic acid, yogurts, methods of determination, L-lactate.

**JEL Classification:** L60, L66

**DOI:** <https://doi.org/10.36477/2522-1221-2022-30-06>

**Постановка проблеми.** Молочна кислота – промислово важливий продукт з великим і ринком споживання, що швидко розширюється. У всьому світі попит на молочну кислоту оцінюється приблизно 130-150 тис. тонн на рік.

На сучасному етапі додавання молочної кислоти в процесі виготовлення продуктів харчування носить глобальні масштаби не лише в Україні, але і у всьому світі. Провідні американські, західноєвропейські та японські підприємства, які випускають харчову продукцію, акцентують увагу на тому, що молочна кислота – надійний природний консервант, вона поліпшує смак готових виробів, профілактично діє і лікує деякі

захворювання шлунка та кишечника, заміняє оцтову і лимонну кислоти. Так, останнім часом простежується тенденція до ширшого використання молочної кислоти замість оцтової [1].

В Україні виготовляють молочну кислоту таких видів: хімічно чисту, фармакопейну, харчову та технічну. Харчова молочна кислота повинна відповідати вимогам ДСТУ 4621:2006 “Кислота молочна харчова. Загальні технічні умови”. Відповідно до вимог державного стандарту харчову молочну кислоту виготовляють трьох концентрацій – 40 %; 60 %; 80 %, а в залежності від показників якості – наступних сортів: вищого (для 40 %) та першого (для 40 %, 60 %) [2].

Молочна кислота відноситься до прямих функціонально- і органолептикокоректуючих фізіологічно нешкідливих харчових добавок, допустиме добове споживання яких не нормується, а максимальний рівень додавання до продукту визначається технологічними інструкціями та рецептурами. Висока біодоступність та багатогранність технологічних дій обумовлюють затребуваність цієї добавки в різних галузях харчової промисловості. Так, молочна кислота використовується як консервант, антиоксидант та регулятор кислотності під кодом харчової добавки Е 270 і є важливим компонентом багаточисельних продуктів харчування. Необхідно зазначити, що продукти на основі молочної кислоти дозволено включати навіть у дитяче харчування [1].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Незважаючи на те, що молочна кислота відноситься до фізіологічно нешкідливих харчових добавок і її допустиме добове споживання не нормується, однак визначення молочної кислоти має важливе значення у бродильному виробництві та використовується в молочній промисловості для оцінки перебігу молочнокислого бродіння у промислових умовах та для тестування якості готової продукції [3, 4]. Також запропоновано біосенсори для оцінки рівня лактату у вині [5], молоці [6], тому існує низка біосенсорів для визначення лактату, націлених на оцінку якості харчових та супутніх продуктів.

Молочна кислота – найпростіша хоральна карбонова кислота, яка може існувати у вигляді двох оптичних ізомерів: D-(-)-молочна кислота, L-(+)-молочна кислота та їх рацемічної суміші. Для визначення її концентрації на сьогодні використовують колориметричний, спектрофотометричний, флуориметричний, ензиматичний методи та високоефективну рідинну хроматографію [7, 4].

Колориметричний метод для визначення лактату винайдений Баркером у 1941 р. Лактат під впливом  $H_2SO_4$  або  $H_2PO_4$  перетворюється в ацетальдегід, який вступає в кольорову реакцію з р-гідроксифенілом у присутності іонів міді з утворенням сполуки фіолетового кольору. Інтенсивність кольорової реакції, визначеної при довжині хвилі 560 нм, корелює з концентрацією лактату. Діапазон визначення складає від  $1 \cdot 10^{-5}$  до  $1,3 \cdot 10^{-4}$  М [7]. Колориметрія є найдешевшим та найдоступнішим методом, що і визначає його популярність, однак при цьому є менш специфічним, чутливим та селективним і відтак менш надійним методом.

Ензимо-колориметричний метод. У каскаді реакції аналіту з реактивами для утворення забарвленої сполуки використовуються ензими. Так, метод, запропонований Suman S. et al., базується на вимірюванні пероксиду водню, що утворюється при окисненні лактату лактатоксидазою [8].  $H_2O_2$  вступає в кольорову реакцію з 4-амінофеназоном та фенолом. Отриманий барвник рожевого кольору абсорбує при 520 нм. Межа визначення лактату складає 0,1 мМ.

Ензимо-спектрофотометричний метод. Лактат окиснюється до пірувату за допомогою лактатдегідрогенази, що використовує НАД як кофермент, відновлюючи його до НАДН. Відновлений НАДН абсорбує у діапазоні 340 нм, інтенсивність абсорбції прямо пропорційна концентрації лактату [7].

Ензимо-флуориметричний метод визначення лактату базується на утворенні НАДН при окисненні лактату лактатдегідрогеназою. Зміни в концентрації НАДН вимірюються за його природною флуоресцентністю, що вимірюється на флуориметрі. Концентрація НАДН прямо пропорційна концентрації лактату. Так, Хуе Q. та колеги використали ензимо-флуориметричний метод для аналізу лактату та пірувату у присутності лактатдегідрогенази [9].

До переваг ензиматичних методів належать висока селективність, специфічність та чутливість. Однак собівартість ензимів залишається досить високою.

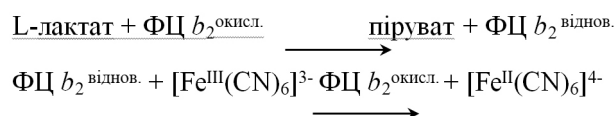
Високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) для визначення лактату вперше була застосована у 1987 р. Schneideretal. При застосуванні даного методу досліджуваний зразок елюють через катіонообмінну колонку з розведеною  $H_2SO_4$ , при цьому різний рН рухомої фази дозволяє відділити лактат від інших органічних кислот, присутніх у зразку. Після цього використовують УФ-детекцію для визначення концентрації лактату.

Усі описані методи мають низку недоліків: неабсолютна селективність, необхідність використання екзогенного кофактору та додаткових зв'язуючих реагентів чи ферментів, що додатково підвищує вартість методів та ускладнює процедуру аналізу [10].

Більш точним методом визначення кількості лактату є метод із формуванням Берлінської блакиті (ББ) на основі ФЦ  $b_2$ . У клітинах дріжджів мітохондріальний ФЦ  $b_2$  каталізує дегідрогенізацію L-лактату до пірувату, переносючи електрони з L-лактату через флавінмононуклеотид (FMN)

на проміжний акцептор електронів – групу гему фермента [11]. Кінцевим акцептором електронів *in vivo* є цитохром *c*. Прямого перенесення електронів від відновленої групи FMNH<sub>2</sub> інтактного ферменту до цитохрому *c* не виявлено, що підтверджує проміжну акумуляцію електронів у групі гему.

Був описаний метод визначення лактату з використанням ФЦ *b*<sub>2</sub> із клітин дріжджів *Hansenula anomala* [12]. В основу методу була покладена здатність ФЦ *b*<sub>2</sub> переносити електрон, що утворювався унаслідок ензиматичного окислення лактату до пірувату, на гексаціаноферат (III) з утворенням відновленого гексаціаноферату (II):

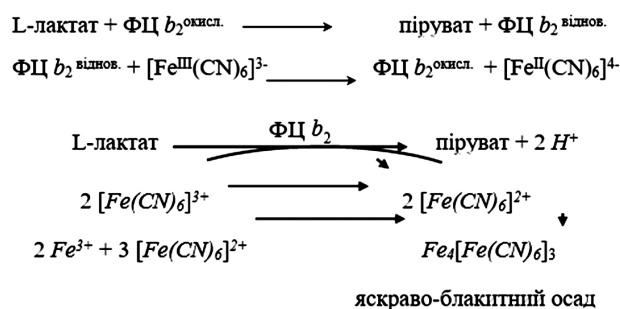


Внаслідок описаних реакцій змінюється оптична густина реакційної суміші, що робить можливим проведення колориметричного аналізу. Світлопоглинання реакційної суміші вимірюють у видимій ділянці спектра при 420 нм [13].

**Постановка завдання.** Сама по собі кислота молочна є присутня у всіх кисломолочних продуктах (внаслідок молочнокислого бродіння), а також її активно використовує велика частина виробників кисломолочних продуктів для підтримання балансу кислотності протягом оптимально визначеного терміну. Тому основним нашим завданням було визначити концентрацію молочної кислоти у йогуртах, оскільки вони користуються підвищеним попитом у споживачів та мають значну частку в обсязі виробництва кисломолочної продукції.

**Виклад основного матеріалу дослідження.** Кількість молочної кислоти у йогуртах визначали двофазним ензиматично-хімічним методом із утворенням Берлінської блакиті (ББ). Цей метод запатентований співробітниками відділу аналітичних біотехнологій НАН України і застосовується для вимірювання рівня даної сполуки у різноманітних харчових продуктах та біологічних рідинах. Метод ґрунтується на використанні ФЦ *b*<sub>2</sub>, його субстрату (лактату) і фериціаніду (Fe<sup>3+</sup>). Такий підхід (формування ББ за використання ФЦ *b*<sub>2</sub> і його субстрату, лактату) було вперше застосовано зі зворотною метою: візуалізувати активний фермент у поліакриламідному гелі [13, 14].

Утворення колоїдного розчину (наночастинок ББ) свідчить про наявність L-лактату, а яскравість кольору ББ – про концентрацію аналіту.



Нами було побудовано калібрувальний графік залежності оптичної щільності при E<sub>680</sub> від концентрації L-лактату у вихідній пробі (стандартній) (рис. 1).

Із рис. 1 видно, що зміна оптичної густини суміші лінійно залежить від концентрації внесеного у зразок L-лактату від 0,1 до 10 мМ, що свідчить про широкий діапазон лінійності методу.

Визначення L-лактату проводили за калібрувальним графіком (рис. 1) або за формулою, яку застосовували після проведення методу:

$$[\text{Lact}] = \frac{E_{680}}{E_{st}} \times C_{st}$$

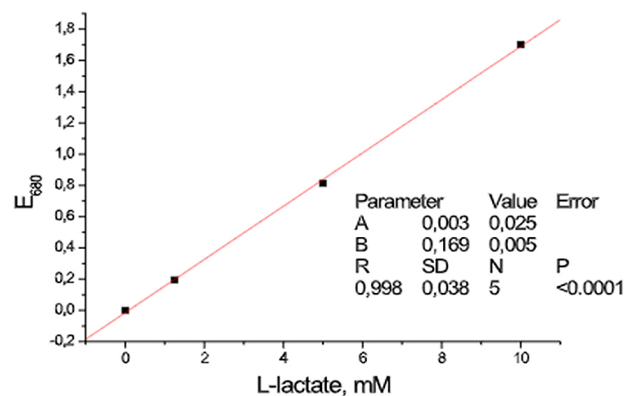
де [Lact] – концентрація L-лактату у пробі; E<sub>680</sub> – екстинкція отриманого продукту в досліджуваній пробі;

E<sub>st</sub> – екстинкція калібрувального зразку L-лактату;

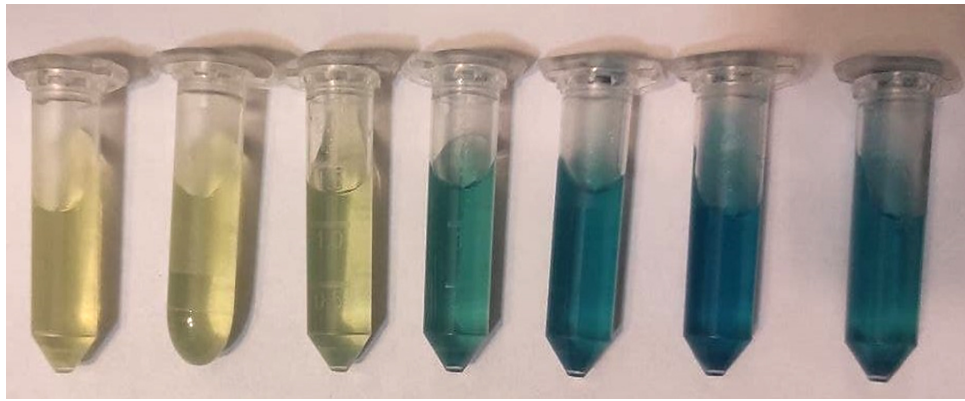
C<sub>st</sub> – концентрація (мМ) калібрувального зразку L-лактату.

Коректно проведене вимірювання концентрації молочної кислоти при проведенні ензиматично-хімічної реакції додатково засвідчує візуальне забарвлення продуктів реакції – перехід від світло-зеленого до насиченого синього залежно від концентрації L-лактату в зразку (рис. 2).

Для визначення концентрації L-лактату нами було відібрано 5-ть зразків йогуртів 2,5 % жирності. Характеристика зразків наведена у табл. 1.



**Рис. 1.** Калібрувальний графік визначення L-лактату (умови ензиматичної стадії реакції: 0,04 Од./мл ФЦ *b*<sub>2</sub> в РС, 30 хв, 37 °С)



0 1 1,5 2 5 10 15 mM

**Рис. 2.** Зміна насиченості забарвлення утвореного продукту (ББ) залежно від концентрації L-лактату в пробі. Стандартні зразки з різними концентраціями L-лактату (mM)

Таблиця 1

**Характеристика зразків йогуртів, відібраних для визначення концентрації L-лактату двохстадійним ензиматично-хімічним методом із утворенням Берлінської блакиті**

№ з/п	Показники	Характеристика				
		Зразок № 1	Зразок № 2	Зразок № 3	Зразок № 4	Зразок № 5
1	2	3	4	5	6	7
1	Найменування	Йогурт з наповнювачем «Полуниця» 2,5 % жирності ТМ Дольче Lactel	Йогурт з наповнювачем фруктовим «Полуниця-суніця» 2,5 % жирності ТМ Чудо	Біфідойогурт з біфідобактеріями ActiRegularis з наповнювачем «Полуниця-суніця» 2,5 % жирності ТМ Активія	Йогурт Польський полуниця з шматочками фруктів 2,5 % жирності ТМ Mlekovita	Йогурт з фруктовим наповнювачем «Полуниця» 2,5 % жирності ТМ Простоквашино
2	Виробник	ТОВ «Молочний Дім» (Дніпропетровська обл., м. Павлоград)	ПАТ «Вімм-Білл-Данн Україна» (Київська обл., м. Вишневе)	ТОВ «Данон Дніпро» (м. Херсон)	Спольдзісльна Млечарска Млековіта (м. Високі Мазовацкі, Польща)	ПАТ «Кременчуцький міськмолокозавод» (Полтавська обл., м. Кременчук)
3	Нормативний документ	ТУ У 00447847.001-99	ТУ У 15.5-19492247-002-2002	ТУ У 15.5-31489175-010:2008	PL 20131601 WE	ТУ У 15.5-25027034-019-01
4	Вміст (за даними на етикетці): білків жирів вуглеводів	2,25 2,5 12,5	3,1 2,5 13,4	3,3 2,5 13,4	2,8 2,5 12,0	3,1 2,5 10,5
5	Енергетична цінність 100 г, ккал	81,5	88,5	89,0	82,0	76,9
6	Термін та умови зберігання	Термін зберігання не більше 30 діб. Зберігати за температури (4±2) °С	Термін зберігання не більше 30 діб. Зберігати при температурі від 4 до 6 °С	Термін зберігання не більше 30 діб. Зберігати за температури (4±2) °С і відносної вологості повітря не більше 80 %	Термін зберігання не більше 30 діб. Зберігати при температурі від 2 до 8 °С	Термін зберігання не більше 30 діб. Зберігати за температури (4±2) °С і відносної вологості повітря не більше 80 %

1	2	3	4	5	6	7
7	Склад	Молоко нормалізоване, фруктовий наповнювач пастеризований «Полуниця» (7,6 %) (60,0 % полуниця; цукровий сироп; цукор; модифікований крохмаль кукурудзяний; ароматизатори полуниці, регулятор кислотності цитрат натрію; натуральні барвники: карамелізований цукровий сироп, кармін; стабілізатор карагенан; регулятор кислотності лимонна кислота; цукор; закваска бактеріальна)	Молоко коров'яче незбиране, наповнювач пастеризований «Полуниця-суниця» – 11,2 % (цукор; полуниця – 39,5 %; вода питна; загущувач – модифікований крохмаль кукурудзяний; ароматизатори полуниці; суниця – 0,5 %; барвники натуральні – морквяний концентрат, кармін, масло смоли паприки; регулятори кислотності – лимонна кислота, цитрат натрію), молоко коров'яче знежирене, цукор, стабілізаційна система (ацетилований крохмаль адіпат, желатин, гуарова камедь), молоко сухе знежирене, йогуртна закваска	Молоко нормалізоване 84 %, наповнювач «полуниця-суниця» 8 % (полуниця 50 %, вода питна, цукор, крохмаль, пюре суниці 0,2 %, ароматизатор суниці, барвник карміни, регулятор кислотності цитрат натрію), цукор, стабілізатори: крохмаль, желатин; закваски бактеріальні, пробіотик ActiRegularis®. Може містити сліди глютену, горіхів, яєць та соєвого лецитину.	Молоко коров'яче пастеризоване, полуниця (9 %), цукор, крохмаль, стабілізатор пектин, концентрат із моркви і бурякового соку, ароматизатор, живі культури йогуртових бактерій	Молоко коров'яче незбиране, молоко знежирене, фруктовий наповнювач «Полуниця» (цукор білий кристалічний, полуниця, модифікований крохмаль Е 1442, натуральні та ідентичні натуральним ароматизатори полуниці, натуральний барвник: кармін Е 120, регулятор кислотності: лимонна кислота Е330), цукор білий кристалічний, стабілізатор (желатин, крохмаль, модифікований крохмаль Е 1422, амідований пектин Е 440), чисті культури молочнокислих бактерій
8	Кількість молочнокислих бактерій, КУО в 1 мл	Не менше $1 \cdot 10^7$	Не менше $1 \cdot 10^7$	Не менше $1 \cdot 10^7$	Не зазначено	Не менше $1 \cdot 10^7$
9	Маса нетто, г	290	270	260	350	200

Результати визначення кількості L-лактату двохстадійним ензиматично-хімічним методом із утворенням Берлінської блакиті наведено на рис. 3.

Як видно з даних рис. 3, найбільша концентрація L-лактату виявлена у йогурту Польського полуниця з шматочками фруктів 2,5 % жирності ТМ Mlekovita – 125,6 ммоль/л, а найменша – у йогуртів із наповнювачем “Полуниця” 2,5 % жирності ТМ Дольче Lactel та з наповнювачем фруктовим “Полуниця” 2,5 % жирності ТМ Простоквашино – відповідно 64,75 і 64,0 ммоль/л. Необхідно зазначити також: проаналізувавши склад відібраних зразків йогуртів, нами встановлено, що для регулювання кислотності виробники використовують лимонну кислоту та її солі, а саме: цитрат натрію. Таким чином, визначена

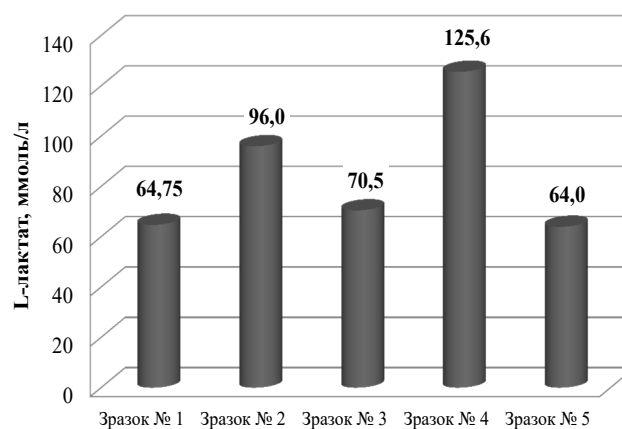


Рис. 3. Кількість L-лактату в йогуртах, відібраних для дослідження двохстадійним ензиматично-хімічним методом із утворенням Берлінської блакиті, ммоль/л

кількість молочної кислоти у відібраних зразках йогуртів 2,5 % жирності накопичилася під час молочнокислого бродіння.

**Висновки і перспективи подальших досліджень у даному напрямі.** Таким чином, у результаті проведених експериментальних досліджень нами доведено, що метод ФЦ  $b_2$ -ББ є точним та економічно вигідним, оскільки не вимагає великих затрат на реактиви та є зручним у використанні в аналітичній практиці.

На перспективу буде проведено дослідження концентрації молочної кислоти і в інших харчових продуктах цим методом, технологічною схемою виробництва яких передбачено необхідність оцінки перебігу молочнокислого бродіння і відповідно тестування якості готової продукції.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Давидович О. Я., Спринь Х. Р. Молочна кислота: значення та використання у харчовій промисловості. *Інновації в управлінні асортиментом, якістю та безпекою товарів і послуг* : матеріали ІХ-ої міжнародної наук.-практ. конф. (м. Львів, 9 грудня 2021 р.). Львів : Видавництво «Растр-7», 2021. С. 70–73.

2. ДСТУ 4621:2006. Кислота молочна харчова. Загальні технічні умови. [Batra B., Narwal V., Pundir C. S. An amperometric lactate biosensor based on lactate dehydrogenase immobilized onto graphene oxide nanoparticles-modified pencil graphite electrode. *Engineering in Life Sciences*. 2016. Vol. 16. № 8. P. 786–794.

3. Bravo I. Revenga-Parra M., Pariente F., Lorenzo E. Reagent-less and robust biosensor for direct determination of lactate in food samples. *Sensors*. 2017. Vol. 17. № 1. P. 144.

4. Mazzei F., Botrè F., Favero G. Peroxidase based biosensors for the selective determination of d,l-lactic acid and l-malic acid in wines. *Microchemical Journal*. 2007. Vol. 87. № 1. P. 81–86.

5. Marrazza G., Cagnini A., Mascini M. L- and d-lactate assay in real milk samples with immobilized enzyme reactors and graphite electrode. *Talanta*. 1994. Vol. 41. № 6. P. 1007–10014.

6. Pundir C. S., Narwal V., Batra B. Determination of lactic acid with special emphasis on biosensing methods: a review. *Biosensors and Bioelectronics*. 2016. Vol. 86. P. 777–790.

7. Suman S., Singhal R., Sharma A. L. [et al.]. Development of a lactate biosensor based on conducting copolymer bound lactate oxidase. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2005. Vol. 107. № 2. P. 768–772.

8. Xue Q., Yeung E. S. Indirect fluorescence determination of lactate and pyruvate in single erythrocytes by capillary electrophoresis. *Journal*

*of Chromatography A*. 1994. Vol. 661. № 1–2. P. 287–295.

9. Biagi S1., Ghimenti S., Onor M. B. E. Simultaneous determination of lactate and pyruvate in human sweat using reversed-phase high-performance liquid chromatography: a noninvasive approach. *Biomed Chromatogr*. P. 1408–1500.

10. Fleischmann G., Lederer F., Müller F. Flavin-protein interactions in flavocytochrome  $b_2$  as studied by NMR after reconstitution of the enzyme with  $^{13}\text{C}$ - and  $^{15}\text{N}$ -labelled flavin. *European Journal of Biochemistry*. 2000. Vol. 267. № 16. P. 5156–5167.

11. Смуток О. В. L- і D-лактат селективні оксидоредуктази, рекомбінантні клітини дріжджів *Ogataea polymyxa* та нанорозмірні матеріали для розробки нових ензиматичних і біосенсорних підходів кількісного аналізу молочної кислоти : автореф. дис. ... док. біол. наук: 03.00.07. Львів, 2019. 40 с.

12. Gaida G. Z., Stel'mashchuk S. Ya., Smutok O. V., Gonchar M. V. A new method of visualization of the enzymatic activity of flavocytochrome  $b_2$  in electrophoretograms. *Appl. Biochem. Microbiol*. 2003. Vol. 39. № 2. P. 221–223.

13. Smutok O., Gayda G., Shuhmann W., Gonchar M. Development of L-lactate-selective biosensors based on thermostable yeast L-lactate: cytochromec-oxidoreductase. InBook: "Investigations on sensor systems and technologies". Edited by Anna V. El'skaya, Vitaliy D. Pokhodenko. Kyiv: Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine, 2006. P. 39–45.

#### REFERENCES:

1. Davydovych, O. Ya. and Spryn', Kh. R. (2021), Molochna kyslota: znachennia ta vykorystannia u kharchovij promyslovosti. *Innovatsii v upravlinni asortymentom, iakistiu ta bezpekoiu tovariv i posluh* : materialy IKh-oi mizhnarodnoi nauk.-prakt. konf. (m. L'viv, 9 hrudnia 2021 r.), Vydavnytstvo "Rastr-7", L'viv, s. 70–73.

2. DSTU 4621:2006. Kyslota molochna kharchova. Zahal'ni tekhnichni umovy. Chynnyj vid 2008-03-01. Vyd. ofits. (2007), Derzhspozhyvstandart Ukrainy, Kyiv, 28 s.

3. Batra B., Narwal V. and Pundir C. S. (2016), An amperometric lactate biosensor based on lactate dehydrogenase immobilized onto graphene oxide nanoparticles-modified pencil graphite electrode, *Engineering in Life Sciences*, vol. 16, no. 8, pp. 786–794.

4. Bravo I. Revenga-Parra M., Pariente F. and Lorenzo E. (2017), Reagent-less and robust biosensor for direct determination of lactate in food samples, *Sensors*, vol. 17, no. 1, pp. 144.

5. Mazzei F., Botrè F. and Favero G. (2007), Peroxidase based biosensors for the selective determination of d,l-lactic acid and l-malic acid

in wines, *Microchemical Journal*, vol. 87, no. 1, pp. 81–86.

6. Marrazza G., Cagnini A. and Mascini M. (1994), L- and d-lactate assay in real milk samples with immobilized enzyme reactors and graphite electrode, *Talanta*, vol. 41, no. 6, pp. 1007–10014.

7. Pundir C. S., Narwal V. and Batra B. (2016), Determination of lactic acid with special emphasis on biosensing methods: a review, *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 86, pp. 777–790.

8. Suman S., Singhal R., Sharma A. L. [et al.] (2005), Development of a lactate biosensor based on conducting copolymer bound lactate oxidase, *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 107, no. 2, pp. 768–772.

9. Xue Q. and Yeung E. S. (1994), Indirect fluorescence determination of lactate and pyruvate in single erythrocytes by capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A.*, vol. 661, no. 1–2, pp. 287–295.

10. Biagi S1., Ghimenti S. and Onor M. B. E., Simultaneous determination of lactate and pyruvate in human sweat using reversed-phase high-performance liquid chromatography: a noninvasive approach, *Biomed Chromatogr.* Pp. 1408–1500.

11. Fleischmann G., Lederer F. and Müller F. (2000), Flavin-protein interactions in flavocytochrome

$b_2$  as studied by NMR after reconstitution of the enzyme with  $^{13}\text{C}$ - and  $^{15}\text{N}$ -labelled Flavin, *European Journal of Biochemistry*, vol. 267, no. 16, pp. 5156–5167.

12. Smutok, O. V. (2019), L- i D-laktat selektyvni oksydoreduktazy, rekombinantni klityny drizhdzhiv *Ogataea polymprpha* ta nanorozmirni materialy dlia rozrobky novykh enzymatychnykh i biosensornykh pidkhodiv kil'kisnoho analizu molochnoi kysloty : avtoref. dys. ... dok. biol. nauk: 03.00.07. L'viv, 40 s.

13. Gaida G. Z., Stel'mashchuk S. Ya., Smutok O. V. and Gonchar M. V. (2003), A new method of visualization of the enzymatic activity of flavocytochrome  $b_2$  in electrophoretograms, *Appl. Biochem. Microbiol.*, vol. 39, no. 2, pp. 221–223.

14. Smutok O., Gayda G., Shuhmann W. and Gonchar M. (2006), *Development of L-lactate-selective biosensors based on thermostable yeast L-lactate: cytochromec-oxidoreductase.* InBook: "Investigations on sensor systemsandtechnologies", Edited by Anna V. El'skaya, Vitaliy D. Pokhodenk, Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, pp. 39–45.

*Стаття надійшла до редакції 28.03.2022*