

ЕФЕКТИВНІСТЬ ГІДРОЛІЗУ ЛАКТОЗИ У ВТОРИННІЙ МОЛОЧНІЙ СИРОВИНІ

Романчук І.О.¹, заст. директора з наукової роботи, д.т.н., с.н.с.
<https://orcid.org/0000-0002-3988-0717>

Юдіна Т.І.², д.т.н., професор
<https://orcid.org/0000-0001-9863-878X>

Мінорова А.В.¹, к.т.н., с.н.с.
<https://orcid.org/0000-0002-7557-1444>

Моїсєєва Л.О.¹, к.т.н., с.н.с.
<https://orcid.org/0000-0001-8845-1487>

Серенко А.А.², аспірант
<https://orcid.org/0000-0002-0390-369X>

Бабко Д.Є.¹, м.н.с.
<https://orcid.org/0000-0003-4566-9501>

¹Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна

²Київський національний торговельно-економічний університет, м. Київ, Україна

<https://doi.org/10.31073/foodresources2021-17-13>

Предмет дослідження. З кожним роком збільшується кількість дорослого населення та дітей, які мають проблему зі здоров'ям, пов'язану з лактазною недостатністю, тобто з неможливістю розщеплення лактози, яка міститься в молочних продуктах. Однак молоко та молочні продукти повинні бути обов'язковою складовою щоденного раціону харчування людини, оскільки вони є джерелом білків, жирів, вуглеводів, мінеральних речовин, зокрема, кальцію та вітамінів. Альтернативою для такої категорії споживачів є вживання низьколактозних або безлактозних молочних продуктів, де часткове або повне вилучення лактози досягається шляхом застосування в технології виробництва ферментативного гідролізу. **Метою роботи** є дослідження впливу дози препаратів та тривалості проведення гідролізу лактози ферментативним методом у знежиреному молоці та масляниці на ефективність гідролізу. Кількісне визначення вмісту лактози у вказаних видах сировини при використанні різних ферментних препаратів β -галактозидази дріжджового походження проводили методом рідинної хроматографії, фізико-хімічні показники вторинної молочної сировини визначали за загальноприйнятими стандартизованими методами досліджень. **Результати та обговорення.** Опрацьовано тривалість проведення ферментативного гідролізу лактози та встановлено дози внесення ферментних препаратів β -галактозидази GODO-YNL2 та MAXILACT LGi 5000, які забезпечують розщеплення лактози у молоці знежиреному та масляниці на рівні 85-90% від початкового вмісту. Отримані результати досліджень в подальшому будуть використані при розробці технологій ферментованих молочних продуктів для харчування дітей на основі вторинної молочної сировини.

Ключові слова: лактазна недостатність, молоко знежирене, маслянка, ферментативний гідроліз, ферментні препарати β -галактозидази, раціональні умови проведення гідролізу, ефективність гідролізу лактози

EFFICIENCY OF LACTOSE HYDROLYSIS IN SECONDARY MILK RAW MATERIALS

Irina Romanchuk¹, Deputy Director on Scientific Work,
D-r of Sciences, Technique, Senior Researcher,
<https://orcid.org/0000-0002-3988-0717>

Tatiana Yudina², D-r of Sciences, Technique, Professor,
<https://orcid.org/0000-0001-9863-878X>

Antonina Minorova¹, PhD, Technique, Senior Researcher,
<https://orcid.org/0000-0002-7557-1444>

Lyudmila Moiseeva¹, PhD, Technique, Senior Researcher,
<https://orcid.org/0000-0001-8845-1487>

Anton Serenko², Postgraduate
<https://orcid.org/0000-0002-0390-369X>

Diana Babko¹, Junior Researcher,
<https://orcid.org/0000-0003-4566-9501>

¹Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine

²Kyiv National University of Trade and Economics, Kyiv, Ukraine

<https://doi.org/10.31073/foodresources2021-17-13>

Subject of study. The number of adults and children with health problems associated with lactase deficiency is increasing every year, this meaning the impossibility to break down the lactose contained in dairy products. However, milk and dairy products should be an indispensable mandatory part of the daily diet, as they are a source of protein, fat, carbohydrates, minerals, including calcium and vitamins. An alternative for this category of consumers is the use of low-lactose or lactose-free dairy products, where partial or complete extraction of lactose is achieved through the use of enzymatic hydrolysis in production technology. **The aim of this work** is to study the effect of the dose of preparations and duration of hydrolysis of lactose by enzymatic method in skim milk and buttermilk on the efficiency of hydrolysis. Quantitative determination of lactose content in these types of raw materials using various enzyme preparations of β -galactosidase of yeast origin was performed by liquid chromatography, physicochemical parameters of secondary milk raw materials were determined by generally accepted standardized research methods. **Results and discussion.** The duration of enzymatic hydrolysis of lactose was studied and the doses of enzyme preparations β -galactosidase GODO-YNL2 and MAXILACT LGi 5000 were determined, which ensure the breakdown of lactose in skim milk and butter at the level of 85-90% of the initial content. The obtained research results will be further used in the development of technologies for fermented dairy products for children's nutrition based on secondary milk raw materials.

Key words: lactase deficiency, skimmed milk, buttermilk, enzymatic hydrolysis, β -galactosidase enzyme preparations, rational conditions of hydrolysis, efficiency of lactose hydrolysis

Постановка проблеми. Лактазна недостатність зустрічається практично у всіх вікових групах населення України і є характерною для 15-35 % дорослого населення та 5,8 % дітей. Найвищий рівень захворюваності на лактазну недостатність реєструється серед дітей віком від 10 до 16 років, що збігається з формуванням фізіологічної інсулінорезистентності та критичним періодом ризику виникнення ожиріння у дітей. Основним шляхом зменшення симптомів лактазної недостатності є обмеження або виключення з раціону харчування молока та молочних продуктів [1].

Молоко та молочні продукти є важливою складовою повноцінного раціону людини. Вони є джерелом білків, жирів, вуглеводів, мінеральних речовин, вітамінів. Основним

вуглеводом молока є лактоза. Лактоза молока – єдиний в природі вуглевод, який виконує дві функції: джерела енергії (за її рахунок покривається 30-50% енергозатрат людини) та будівельного матеріалу (галактоза, компонент лактози, входить до складу тканин оболонки головного мозку) [2].

Крім того, молочні продукти є основним джерелом кальцію, то ж дефіцит його прийому у дітей та дорослих може призвести до зменшення щільності кісток, підвищення їх крихкості й спричинити остеопороз [3].

Незважаючи на важливість лактози, зустрічаються випадки, коли її присутність є небажаною. Це пов'язано з недостатньою кількістю або з відсутністю ферменту β -галактозидази в травній системі людини. В результаті цього при вживанні молочних продуктів утворюються органічні кислоти та двоокис вуглецю, що викликає біль та шлунково-кишкові розлади [4].

Непереносимість лактози може спостерігатися у грудних дітей, дорослих та людей похилого віку, але це особливо небезпечно для дітей, оскільки потреба в енергії значно не задоволена, і відбувається використання білка не на специфічні будівельні потреби організму, а як джерело поповнення нестачі енергії [1].

Зменшити вміст лактози в молочних продуктах можливо різними шляхами: збільшенням масової частки інших компонентів, в тому числі і не молочного походження, частковим вилученням молочного цукру методом ультрафільтрації, переведенням чи розщепленням лактози на інші сполуки (лактозула, глюкоза, галактоза), шляхом фізичного чи хімічного впливу тощо. Однак найбільш ефективним методом, що використовується у харчовій промисловості, визнано метод ферментативного гідролізу лактози до її складових глюкози та галактози, який дозволяє не лише частково, але і (за необхідності) повністю вилучити лактозу з молочних продуктів, не впливаючи значно на інші складові молока [4, 5].

Окрім вирішення питання лактазної непереносимості, ферментативний гідроліз дозволяє знизити витрати цукру під час виробництва молочних продуктів, що досягається за рахунок більш високого рівня солодкості глюкози та галактози у порівнянні з лактозою [5].

Питанням використання ферментних препаратів у технологіях молочних продуктів з регульованим нутрієнтним складом займалися М. Heyman [6], М. Lomer [7], В. Misselwitz [8] та ін.

В Україні проводились дослідження щодо застосування ферментних препаратів β -галактозидази у технологіях виробництва молока питного [9], морозива [10], згущених молочних консервах [11], різних видах молочної сироватки [12] тощо.

Але залишилось ряд невирішених питань щодо досліджень ферментативного гідролізу лактози у вторинній молочної сировині, яку в подальшому планується використовувати у виробництві низьколактозних та безлактозних продуктів для харчування дітей.

Мета роботи: встановити ефективність гідролізу лактози ферментними препаратами (ФП) β -галактозидази у вторинній молочної сировині, зокрема у молоці знежиреному та масляниці залежно від дози внесення препаратів.

Матеріали та методи. Для молока знежиреного та масляниці використовували різні дози ФП β -галактозидази дріжджового походження – GODO-YNL2 та MAXILACT LGi 5000. Активна кислотність середовища для внесення ферментних препаратів була 6,76 од. рН (для молока знежиреного) та 6,67 од. рН (для масляниці). Основні фізико-хімічні показники вторинної молочної сировини визначали за загальноприйнятими стандартизованими методами досліджень. Вміст лактози визначали хроматографічним методом з використанням високоефективного рідинного хроматографа LC-20 («Shimadzu») з рефрактометричним детектором, колонка HC-75- Ca^{++} (250×4,7 мм).

Ефективність гідролізу в молочній сировині визначали згідно з формулою, наведеною у [13]:

$$E = \left[\frac{C_p - C_k}{C_p} \right] \cdot 100\% \quad (1)$$

де, E-ефективність гідролізу, %;

C_p - початкова концентрація лактози в сировині до гідролізу г/100г;

C_k - концентрація лактози в гідролізаті молочної сировини г/100г.

Результати досліджень та їх обговорення. При виробництві масла використовується близько 30% сухої речовини молока, а 70% переходить в знежирене молоко і маслянку. Маслянка – побічний продукт високої біологічної цінності, який отримують при виробництві вершкового масла способом збивання і перетворення високожирних вершків. При виробництві 1 т вершкового масла отримують близько 1,5 т маслянки [14]. Цінність маслянки обумовлена наявністю в ній білка, лецитину, молочного жиру тощо. Білки мають такі життєво необхідні амінокислоти, як цистин, лізин, метіонін тощо. В жирі знаходяться високоцінні в біологічному відношенні жирні кислоти: лінолева, ліноленова, які володіють антисклеротичними властивостями. Однак використання маслянки на харчові цілі не перевищує 35% від загального обсягу виробництва [15].

Вторинна молочна сировина має високу біологічну цінність, і, на нашу думку, її доцільно використовувати в технологіях молочних продуктів, у тому числі низьколактозних та безлактозних ферментованих продуктів для харчування дітей.

Визначено основні фізико-хімічні показники вихідної вторинної молочної сировини, які наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Фізико-хімічні показники молока знежиреного та маслянки

Сировина	Кислотність		Масова частка золи, %	Масова частка сухих речовин, %	Масова частка жиру, %	Масова частка лактози, %
	титрована, °Т	активна, од. рН				
Молоко знежирене	15,0±0,1	6,76±0,02	0,72±0,03	8,93±0,04	сліди	5,12±0,03
Маслянка	16,0±0,3	6,67±0,01	0,64±0,02	8,22±0,03	0,50±0,05	4,56±0,04

Ефективність гідролізу лактози за оптимальних для кожного ферментного препарату умов залежить від кислотності середовища, концентрації ферментного препарату та тривалості оброблення.

Завданням наших досліджень було досягнення ефективності гідролізу лактози на рівні 85-90%, оскільки цього достатньо для виробництва низьколактозних та безлактозних ферментованих продуктів для харчування дітей, враховуючи, що в подальшому в технології виробництва передбачено використання штамів мікроорганізмів з високою β-галактозидазною активністю.

Рекомендовані виробником дози внесення для ФП GODO-YNL2 – 0,1%, для ФП MAXILACT LGi 5000 – 0,08%, температура гідролізу 40±1°C та 37±1°C відповідно. Результати попередніх досліджень засвідчили, що при внесенні дози ферменту 0,08% та 0,1% для ФП GODO-YNL2 та дози 0,08% для ФП MAXILACT LGi 5000, ефективність гідролізу лактози була на рівні 100%. Тому з метою економії дорогих ферментних препаратів, зниження собівартості готових продуктів та встановлення при цьому

раціональних параметрів проведення гідролізу лактози у молочній сировині, досліджували дози внесення ферментів β -галактозидази нижчі за ті, що рекомендовані виробником.

В молоці знежиреному та маслянці досліджували дози внесення ФП GODO-YNL2 0,01%, 0,03%, 0,06%. Тривалість процесу ферментативного гідролізу становила від 30 хв до 3,5 годин, періодичність відбору дослідних зразків 30 хв. Ферментативний гідроліз проводили за температури $40 \pm 1^\circ \text{C}$ та кислотності середовища 6,76 од. рН та 6,67 од. рН відповідно.

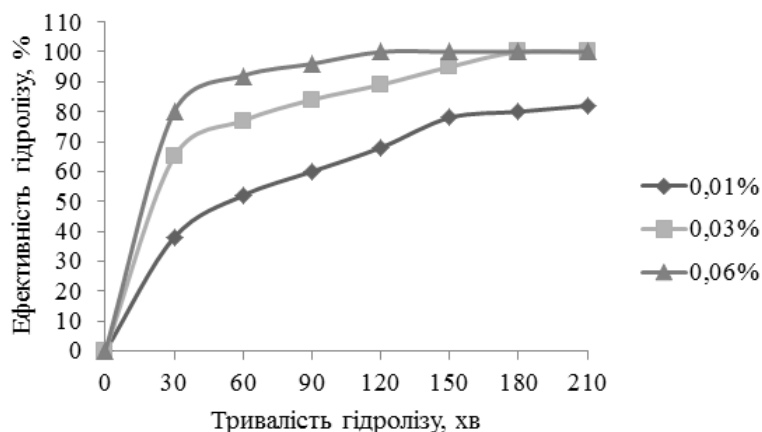


Рис. 1. Вплив дози ФП GODO-YNL2 на ефективність гідролізу лактози у молоці знежиреному

Встановлено (Рис.1.), що для досягнення ефективності гідролізу лактози у знежиреному молоці на рівні близько 90 %, доза внесення ферменту має становити 0,03%, а тривалість проведення гідролізу 3,5 години.

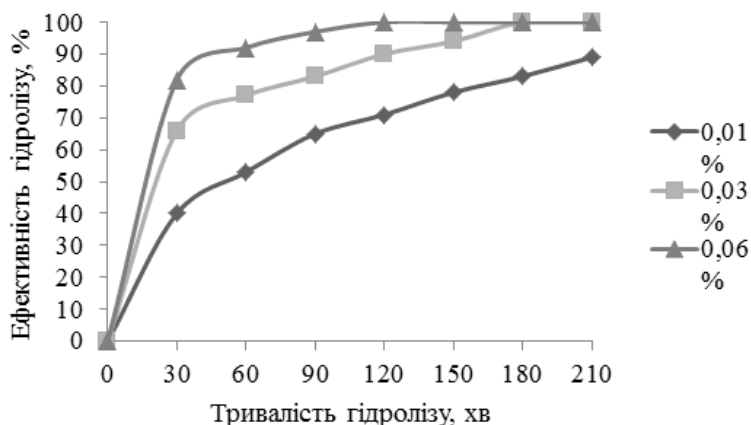


Рис. 2. Вплив дози ФП GODO-YNL2 на ефективність гідролізу лактози у маслянці

Як свідчать отримані дані, що наведені на Рис. 2., ефективність гідролізу лактози в маслянці на рівні близько 90% досягається за рахунок дози внесення ФП GODO-YNL2 0,03% та тривалості ферментативного гідролізу – 2,0 години.

Для встановлення раціональних параметрів ферментативного гідролізу лактози в молоці знежиреному та маслянці з внесенням ФП MAXILACT LGi 5000 проведені дослідження ферментативного гідролізу лактози, де доза внесення ферменту становила 0,02%, 0,04%, 0,06%, тривалість процесу ферментативного гідролізу була від 30 хв до 2,5 годин, періодичність відбору дослідних зразків 30 хв. Ферментативний гідроліз проводили за температури $37 \pm 1^\circ \text{C}$, активна кислотність середовища 6,67 од. рН та 6,67 од. рН відповідно.

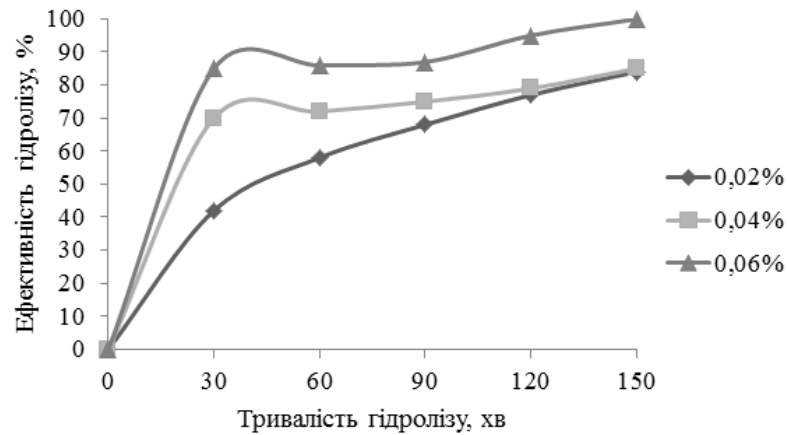


Рис. 3. Вплив дози ФП MAXILACT LGi 5000 на ефективність гідролізу лактози у молоці знежиреному

Встановлено, що ефективність гідролізу лактози в молоці знежиреному на рівні 85%-90% досягається за умови дози внесення вказаного ферменту 0,04% та тривалості гідролізу 2,5 години (Рис. 3).

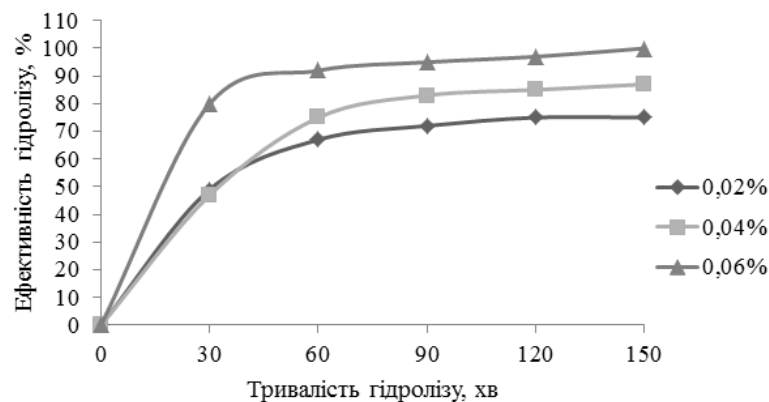


Рис. 4. Вплив дози ФП MAXILACT LGi 5000 на ефективність гідролізу лактози у масляниці

Що стосується раціональних параметрів гідролізу лактози у масляниці, то для досягнення ефективності гідролізу лактози на вказаному рівні, доза внесення ФП має становити 0,04%, тривалість гідролізу – 2,5 години (Рис. 4.).

Висновки. На підставі проведених досліджень встановлено дози внесення ФП дріжджового походження GODO-YNL2, MAXILACT LGi 5000 та опрацьовано тривалість проведення ферментативного гідролізу лактози у молоці знежиреному та масляниці, які забезпечують розщеплення лактози на рівні 85-90% від початкового вмісту та економії при цьому ферментних препаратів. Молоко та маслянку в подальшому планується використовувати як молочну основу у виробництві низьколактозних та безлактозних ферментованих продуктів для харчування дітей.

Бібліографія

1. Сковрцова, В. А., Боровик, Т. Э. Росланцева Е. А. Диетотерапия лактазной недостаточности. *Переработка молока*. 2006. 10. С. 52-54
2. Бедных Б.С., Раманаускас Р.И., Евдокимов И.А., Антипова Т.А. Молочные продукты для питания детей с лактазной недостаточностью. *Молочная промышленность*. 2015. 4. С. 70

3. Staudacher H., Lomer M., Anderson J., Barrett J., Muir J., Irving P., Whelan K. (2012). Fermentable carbohydrate restriction reduces luminal bifidobacteria and gastrointestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome. *J. Nutr* 142, pp 1510-1518 doi: 10.3945 / jn.112.159285

4. Карасева А.В., Куликова И.К., Анисимов Г.С., Слюсарев Г.В. Сравнение свойств промышленных β -галактозидаз для гидролиза лактозы в молочном сырье. *Вестник Северо-Кавказского федерального университета*. 2017. 3(60). С.17-23

5. Дымар О. В., Емельянова Л. Н., Джумок Г. С. Определение оптимальных параметров процесса ферментативного гидролиза лактозы в молочной сыворотке. *Пищевая промышленность: наука и технологии*. 2012. 1(15). С.24-30. ISSN 2073-4794.

6. Heyman M. Lactose intolerance in infants, children, and adolescents. *Pediatrics*. 2006. T. 118. No. 3. P. 1279–1286. doi:10.1542/peds.2006-1721

7. Lomer, M. C. E., Parkes, G. C., Sanderson, J. D. (2008). Lactose intolerance in clinical practice-myths and realities. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, no. 2, pp. 93–103.

8. Misselwitz, B., Pohl, D., Frühauf, H., Fried, M., Vavricka, S. R., Fox, M. Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. *United European gastroenterology journal*, 2013. 3. pp. 151–159.

9. Погосян, А. С. До питания ферментативного гідролізу лактози за допомогою β -галактозидази. *Молочная промышленность*. 2006, 3(28), с 44-45. ISSN 0235-2486.

10. Чагаровская, А. С. Молочное мороженое с гидролизованной лактозой. *Молочная промышленность*. 2008, 5(48), с 68-69.

11. Калинина Е. Д., Романчук И. О. Применения фермента лактазы для гидролиз молочного сахара при производстве сгущенного обезжиренного молока. *Збірник наукових праць Луган. нац. ун-ту, серія: технічні науки*. Луганськ, 2005. С.224-228.

12. Моїсєєва Л.О., Романчук І.О., Мінорова А.В., Рудакова Т.В. Закономірності ферментативного гідролізу лактози у молочній сировині. *Продовольчі ресурси*. 2020. 14. С.165-174. doi.org/10.31073/foodresources2020-14-17.

13. Букуру Л.К., Скворцов Е.В., Багаева Т.В., Канарская З.А. Эффективность применения β – галактозидазы для получения низколактозного напитка на основе молочной сыворотки. *Вестник Казанского технологического университета*. 2017. 13. С.117-119

14. Trubnikova A., Chabanova O., Sharahmatova T., Bondar S., Vikul S. Grounding and Development of Low-Lactose Biologically Active Milk Ice Cream Formula. *Path of Science: International Electronic Scientific. Traektoriâ Nauki Path of Science*, 2018, Vol. 4, No 9, P. 3001–3021. doi: 10.22178/pos.38-7

15. Шарахматова Т.Є., Трубнікова А.А. Цукрозамінники в харчовій промисловості. Програма і матеріали п'ятої міжнародної науково-технічної конференції «Перспективи розвитку м'ясної, молочної та олієжирової галузей у контексті євроінтеграції», (7-8 листопада 2016 р.), Нац. універс. харч. техн. Київ, НУХТ, 2016 р., С. 96–97.

References

1. Skvortsova. V., Borovik. T., Roslantseva E. (2006). Diyetoterapiya laktaznoy nedostatochnosti.[Diet therapy for lactase deficiency]. *Pererabotka moloka [Milk processing]* 10. S. 52- 54 [in Russian].

2. Bednykh B., Ramanauskas R., Evdokimov I., Antipova T. (2015) Molochnyye produkty dlya pitaniya detey s laktaznoy nedostatochnostyu. [Dairy products for the nutrition of children with lactase deficiency] *Molochnaya promyshlennost.[Dairy industry]*. 4. S. 70 [in Russian].

3. Staudacher, H.M; Lomer, M.C.; Anderson, J.L; Barrett, J.S.; Muir J.G.; Irving, P.M.; Whelan, K. (2012). Fermentable carbohydrate restriction reduces luminal bifidobacteria and gastrointestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome. *J. Nutr*, 142, pp 1510-1518 DOI: 10.3945 / jn.112.159285

4. Karaseva A., Kulikova I., Anisimov G., Slyusarev G. (2017) Sravneniye svoystv promyshlennykh β -galaktozidaz dlya gidroliza laktozy v molochnom syrre. [Comparison of the properties of industrial β -galactosidases for hydrolysis of lactose in milk raw materials]. Vesnik Severo- Kavkazskogo federalnogo universiteta. [Bulletin of the North Caucasus Federal University]. 3(60). S.17-23 [in Russian].
5. Dymar O., Emelianova L., Dzhumok G. (2012) Opredeleniye optimalnykh parametrov protsessa fermentativnogo gidroliza laktozy v molochnoy syvorotke. [Determination of the optimal parameters of the process of enzymatic hydrolysis of lactose in milk whey]. Pishchevaya promyshlennost: nauka i tekhnologii. [Food industry: science and technology]. 1(15). S.24-30 [in Russian].
6. Heyman M. (2006). Lactose intolerance in infants, children, and adolescents. Pediatrics. T. 118. No. 3. P. 1279–1286. doi: 10.1542 / peds.2006-1721
7. Lomer, M. C. E., Parkes, G. C., Sanderson, J. D. (2008). Lactose intolerance in clinical practice-myths and realities. Alimentary pharmacology & therapeutics, no. 2, pp. 93–103.
8. Misselwitz, B., Pohl, D., Frühauf, H., Fried, M., Vavricka, S. R., Fox, M. (2013). Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. United European gastroenterology journal, 3, pp. 151–159.
9. Pohosian, A. (2006) Do pytannia fermentatyvnoho hidrolizu laktozy za dopomohoiu β -halaktozydazy. [On the issue of enzymatic hydrolysis of lactose using β -galactosidase]. Molochnaya promyshlennost [Dairy industry]. 3(28), S. 44-45 [in Ukrainian].
10. Chagarovskaya A. (2008) Molochnoye morozhenoye s gidrolizovannoy laktozoy. [Milk ice cream with hydrolyzed lactose]. Molochna promislovist [Dairy industry]. 5(48). S. 68-69. [in Russian].
11. Kalinina E., Romanchuk I. (2005) Primeneniya fermenta laktazy dlya gidroliza molochnogo sakhara pri proizvodstve sgushchenogo obezzhirenogo moloka. [Uses of the lactase enzyme for hydrolysis milk sugar in the production of condensed skim milk]. Zbirnik naukovikh prats Lugan. nats. un-tu. seriya: tekhnichni nauki. Lugansk. [Collection of scientific works Lugan. nat. University, series: technical sciences. Lugansk]. S.224-.228. [in Russian].
12. Moiseyeva L., Romanchuk I., Minorova A., Rudakova T. (2020). Zakonomirnosti fermentatyvnoho hidrolizu laktozy u molochniy syrovyni. [Regularities of enzymatic hydrolysis of lactose in raw milk]. Prodovol'chi resursy. [Food resources]. 14. S.165-174. doi.org/10.31073/foodresources2020-14-17. [in Ukrainian].
13. Bukuru L., Skvortsov E., Bagayeva T., Kanarskaya Z. (2017). Effektivnost primeneniya β – galaktozidazy dlya polucheniya nizkolaktoznogo napitka na osnove molochnoy syvorotki. [Efficiency of β -galactosidase application for obtaining a low-lactose drink based on milk whey]. Vesnyk Kazanskoho tekhnolohycheskoho unyversyteta [Kazan Technological University Bulletin] 13. S.117-119 [in Russian].
14. Trubnikova A., Chabanova O., Sharahmatova T., Bondar S., Vikul S. (2018). Grounding and Development of Low-Lactose Biologically Active Milk Ice Cream Formula. Path of Science: International Electronic Scientific. Traektoriâ Nauki Path of Science, Vol. 4, No 9, P. 3001–3021. doi: 10.22178/pos.38-7.
15. Sharakhmatova T., Trubnikova A. (2016) Tsukrozaminnyky v kharchovii promyslovosti. [Sugar substitutes in the food industry]. Prohrama i materialy piatoi mizhnarodnoi naukovo-tekhnichnoi konferentsii «Perspektyvy rozvytku miasnoi, molochnoi ta oliiezhyrovoi haluzei u konteksti yevrointehratsii». [Programs and materials of the International Scientific and Technical Conference "Perspectives on the development of meat, dairy and oil industries in the context of European integration".] S. 96–97. 7–8 lystopada 2016, Kyiv. [in Ukrainian].