



УДК 664.843.52

DOI:10.31677/2311-0651-2022-35-1-7-17

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ РАССОЛА КВАШЕНОЙ КАПУСТЫ В РЕГИОНЕ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

В.В. Домнышева, аспирант

Д.А. Домнышев, старший преподаватель

А.И. Калмыкова, доктор биологических наук, профессор

Новосибирский государственный аграрный университет

E-mail: v.domnysheva@yandex.ru

Ключевые слова: метабитик, микробиом, сквашивание капусты, видовая принадлежность.

Реферат. В последнее время метаболитные пребиотики набирают все большую популярность. Метабиотики – общее название для группы препаратов, основу которых составляют структурные компоненты пробиотических микроорганизмов и/или их метаболиты, а также сигнальные молекулы, обладающие способностью привести в норму физиологические функции организма, реакции регуляторного, метаболического, поведенческого характера, которые непосредственно связаны с микробиотой организма. Так как микробиом человека зависит от его диетических пристрастий и места его проживания, перед нами стояла задача изучить микроорганизмы, встречающиеся в Западной Сибири. Наибольший интерес представляет рассол квашеной капусты, поскольку он продолжительное время использовался и используется до сих пор для лечения заболеваний кишечника. Анализ сока сквашенной капусты был проведен в несколько этапов. В ходе исследования был определен состав короткоцепочечных жирных кислот (далее – КЦЖК) хроматографическим методом, изучен видовой состав микроорганизмов, а также были выделены чистые культуры путем посева рассола на селективные питательные среды – Сабуро и MRS. Место проведения исследований – микробиологическая лаборатория Испытательного центра Испытательного лабораторного комплекса ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ совместно с испытательной лабораторией на базе ФГБОУ ВО СГУПС, ПЦР-диагностика проводилась в Институте цитологии и генетики СО РАН. Представлены результаты исследования микробного состава рассола, полученного в результате процесса брожения различных сортов белокочанной капусты. В ходе проведения исследований были выделены чистые культуры микроорганизмов, способные быть продуцентами метабитика, имеющие различную морфологию и относящиеся к лактобактериям и лактококкам.

MICROBIOLOGICAL COMPOSITION OF SAUCURATED CABBAGE BRINE IN THE REGION OF WESTERN SIBERIA

V.V. Domnysheva, Postgraduate Student

D.A. Domnyshev, Senior Lecturer

A.I. Kalmykova, Doctor of Biological Sciences, Professor

Novosibirsk State Agrarian University

Key words: *metabiotic, microbiome, cabbage fermentation, species.*

Abstract. *Recently, metabolic probiotics have been gaining more and more popularity. Metabiotics is a common name for a group of drugs based on the structural components of probiotic microorganisms and/or their metabolites. And also, signaling molecules that have the ability to normalize the physiological functions of the body, regulatory, metabolic, behavioral reactions that are directly related to the microbiota of the body. Since the human microbiome depends on his dietary preferences and his place of residence, we were faced with the task of studying microorganisms found in Western Siberia. The leaven of sauerkraut is of the greatest interest, since the juice of this product has been used for a long time and is still used to treat intestinal diseases. The analysis of sauerkraut juice was carried out in several stages. During the study, the composition of short-chain fatty acids (hereinafter referred to as SCFAs) was determined by chromatographic method, the species composition of microorganisms present in the starter culture was studied, and pure cultures were isolated by sowing on selective nutrient media – Saburo and MRS. The place of the research is the microbiological laboratory of the Testing Center of the Testing Laboratory Complex of the Novosibirsk State Agrarian University together with the testing laboratory on the basis of the SSPS, PCR diagnostics was carried out at the Institute of Cytology and Genetics SB RAS. As the results, studies of the microbial composition of brine obtained as a result of the fermentation process of various varieties of white cabbage are presented. In the course of the research, pure cultures of microorganisms capable of being metabiotic producers, having different morphologies and related to lactobacilli and Lactococcus were isolated.*

В последние 15 лет в мировой науке одним из наиболее актуальных направлений стало исследование микробиома человека. Было инициировано два международных исследования: Human Microbiome Project (USA, 2006) и MetaHIT Project (European Commission, 2008).

В ходе исследования было выявлено, что микробиота человека оказывает существенное влияние на поддержание здоровья человека и формирование различных заболеваний [1].

Появились новые продукты и препараты, оказывающие влияние на микробиоту. Среди них – пробиотики (Симбиолакт, Лактобактерин, Бифиформ), пребиотики (компоненты пищи, активизирующие рост нормальной микрофлоры человека) и метабиотики [2].

Метабиотики – общее название для группы препаратов, основу которых составляют структурные компоненты пробиотических микроорганизмов и/или их метаболиты, а также сигнальные молекулы, обладающие способностью привести в норму физиологические функции организма, реакции регуляторного, метаболического, поведенческого характера, которые непосредственно связаны с микробиотой организма.

Чаще всего в современной медицинской и перерабатывающей промышленности для получения метаболитных пробиотиков используют микроорганизмы семейства Lactobacillaceae.

Микробиом человека зависит от его диетических пристрастий и места проживания. Поэтому вполне оправданно использовать для производства метабиотиков микроорганизмы, встречающиеся в данной местности.

Наибольший интерес представляет рассол квашеной капусты, поскольку он продолжительное время использовался и используется до сих пор для лечения заболеваний кишечника.

Вероятность того, что в составе рассола будут находиться микроорганизмы различных семейств и порядков, достаточно велика. Учитывая, что данный продукт является природным, мы предположили, что микроорганизмы в нем будут находиться в мутуалистических взаимоотношениях. Это может позволить выделить консорциум микроорганизмов, с помощью которых можно будет разрабатывать технологию получения метаболитного пробиотика [3, 4].

Процесс сквашивания капусты растянут по времени, поэтому сложно предположить, что в конце процесса сквашивания будут сохраняться те же микроорганизмы, что и в начале [5, 6].

Целью исследования является влияние различных сроков ферментации рассола белокочанной капусты, выращенной в условиях Западной Сибири, на его состав.

Объектом проведенного исследования является рассол квашеной капусты, полученный под воздействием естественных бактериальных культур в результате брожения.

Хроматографическое исследование на газовом хроматомасс-спектрометре марки Shimadzu GCMS-QP2010S было выполнено в испытательной лаборатории Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный университет путей сообщения».

ПЦР-диагностика проводилась в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Посев рассола на селективные питательные среды и дальнейшее микроскопирование проводилось в микробиологической лаборатории Испытательного центра ФГБОУ ВО «Новосибирский ГАУ».

Для исследований был отобран сорт белокочанной капусты Сибирячка-60, выращенный в регионе Западной Сибири.

Квашение капусты осуществлялось по рецептуре и технологии, определенными технологической инструкцией по квашению капусты [7].

Метод исследования рассола на спектр КЦЖК основан на хроматографическом разделении смеси летучих компонентов в продукте и последующем их детектировании пламенно-ионизационным детектором.

Для проведения исследования в испаритель (инжектор) хроматографа микрошприцем вводят 1 мл рассола, подготовленного в соответствии с ГОСТ 6687.0-86, и проводят определения при следующих условиях хроматографирования:

- 1) начальная температура термостата колонок 70 °С;
- 2) выдержка 6 мин;
- 3) скорость нагрева термостата колонок до температуры 180 °С–12 °С/мин;
- 4) выдержка 15 мин;
- 5) температура испарителя (инжектора) 200 °С;
- 6) температура детектора 200 °С;
- 7) коэффициент деления потока 30 : 1;
- 8) скорость потока газа-носителя (азот) 1,3 см³/мин;
- 9) скорость потока воздуха 200 см³/мин;
- 10) скорость потока водорода 20 см³/мин;
- 11) объем пробы 1 мм³.

Записывают хроматограмму продукта. Регистрируют время удерживания и площади пиков определяемых компонентов и идентифицируют пики в соответствии с выдержкой по времени.

Обработку результатов определений выполняют, используя программное обеспечение компьютера, входящего в комплект хроматографа.

ПЦР-диагностика видового состава была проведена с помощью набора Kit в соответствии с инструкциями производителя.

Для проведения микробиологических исследований нами были использованы следующие селективные питательные среды:

- среда Сабуро – среда для выращивания грибов;
- MRS-бульон – среда для выращивания молочнокислых микроорганизмов;
- тиогликолевая среда – среда для выявления титра микроорганизмов

Для проведения исследования по КЦЖК нами были использованы два образца рассола – после 3 и 30 суток ферментации – с целью поиска закваски, продуцирующей больший спектр метаболитов. Анализ методом газовой хроматографии показал следующие результаты.

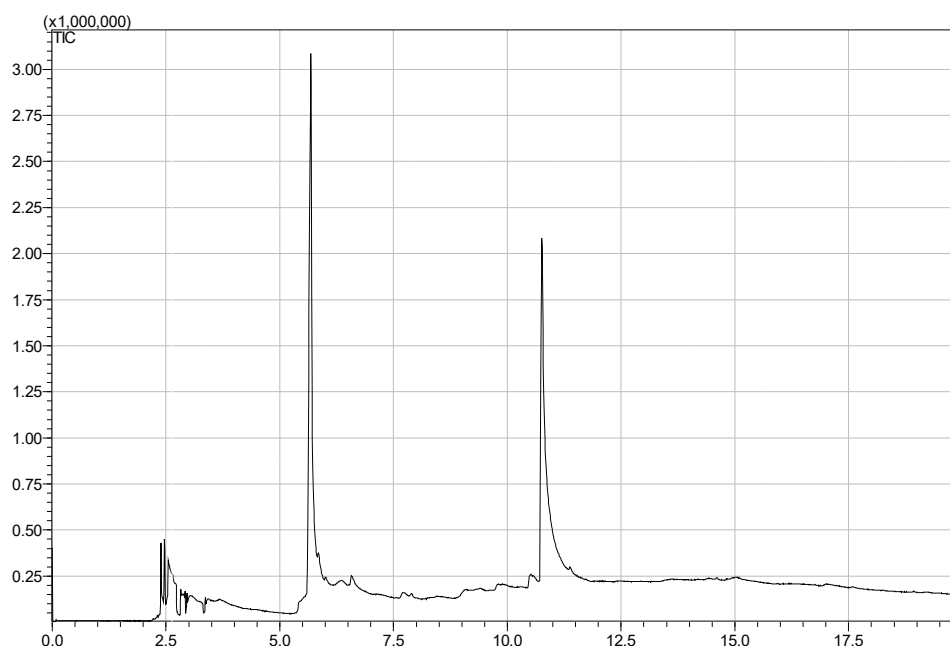


Рис. 1. Хроматограмма образца № 1

– В зависимости от выдержки по времени были идентифицированы следующие вещества (рис. 1):

- 2,5 мин – этанол (C_2H_5OH);
- 6 мин – уксусная кислота (CH_3COOH);
- 10,8 мин – вещество неопределенного состава.

Программно-вычислительный комплекс хроматомасс-спектрометра Shimadzu GCMS-QP2010S позволил определить химическую формулу неизвестного вещества, изображенную на рис. 2.

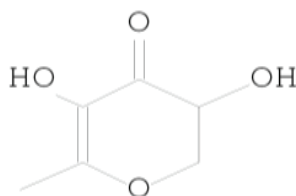


Рис. 2. Фрагмент химической формулы неизвестного вещества

Анализ представленной химической формулы позволил отнести неизвестный компонент к группе полифенольных соединений – биофлавоноидов.

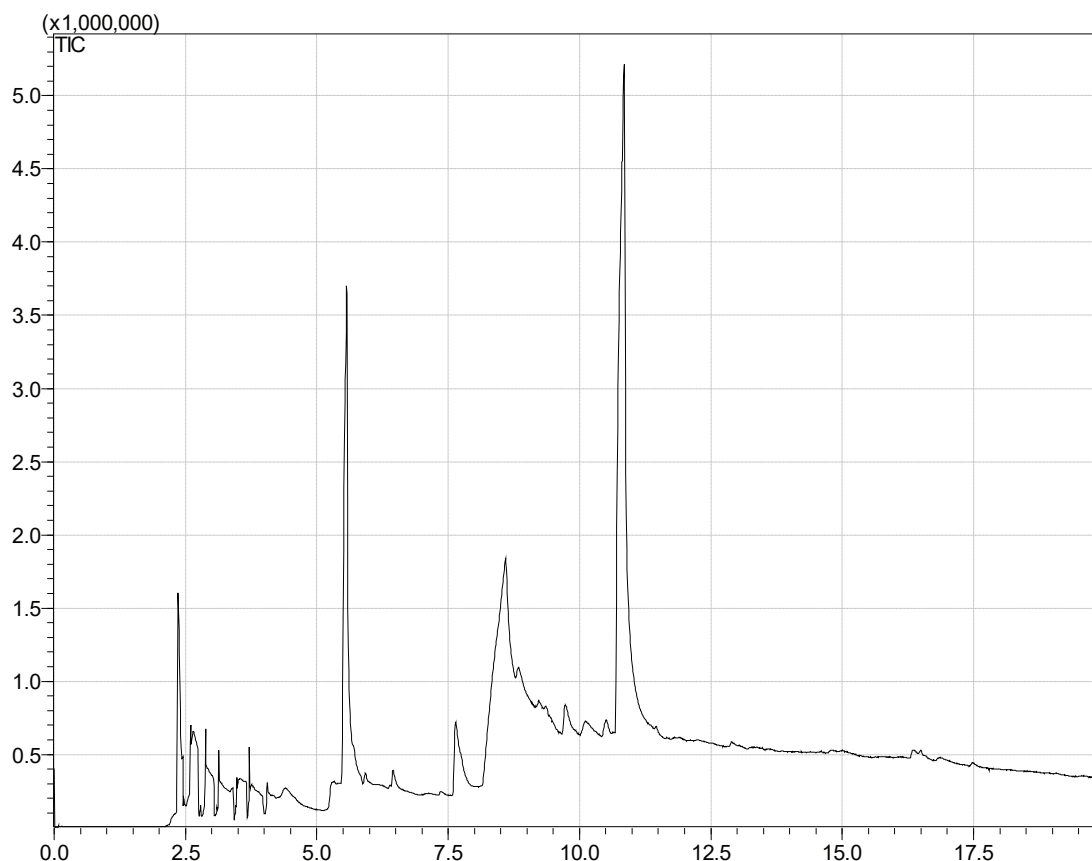


Рис. 3. Хроматограмма образца № 2

На рис. 3 мы видим следующие результаты:

- 2,5 мин – этанол (C_2H_5OH);
- 6 мин – уксусная кислота (CH_3COOH);
- 7,5 мин – диметилтрисульфид (C_2H_6S).

Диметилсульфид (тиобисметан) – органическое соединение, простейший представитель класса тиоэфиров. Бесцветная, подвижная, легковоспламеняющаяся и летучая жидкость. Так как диметилсульфид является промежуточным продуктом при производстве инсектицидов (химических препаратов для уничтожения вредных насекомых), его наличие в малой концентрации может быть объяснимо;

- 8,5 мин – молочная кислота ($CH_3CH(OH)COOH$);
- 10,8 мин – возможный биофлавоноид.

По итогу проведенного исследования можно сделать вывод о том, что второй образец содержит большее разнообразие и концентрацию метаболитов. Установлено также содержание остатков инсектицидов.

В результате анализа двух образцов капустного рассола (3 и 30 суток ферментации) по 16s рибосоме нами были получены результаты, изображенные на рис. 4.

Как видим, и в первом, и во втором образцах преобладают фирмикуты, они составляют от 94 до 97 %.

На втором месте представлены растительные клетки капусты, которые не рассматривались нами в рамках данного исследования.

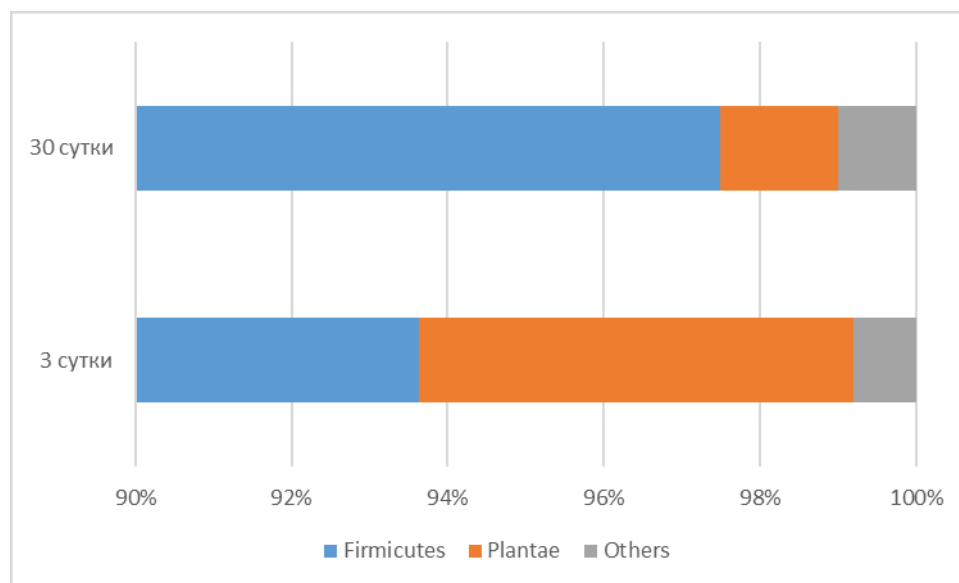


Рис. 4. Типы микроорганизмов, представленных в закваске

На все остальные типы микроорганизмов (протеобактерии, бактероиды, актино- и цианобактерии) приходится всего 1 %, так что в дальнейшем мы будем рассматривать только микроорганизмы типа фирмикуты.

Обращает на себя внимание тот факт, что при длительной ферментации происходит снижение количества растительных клеток и увеличивается доля фирмикутов.

Тип Firmicutes состоит из трех классов (Bacilli, Clostridia и Erysipelotrichia), 26 семейств и 223 родов, что составляет основной бактериальный тип.

У всех бактерий в этом типе есть жесткая клеточная стенка, из которой происходит название Firmicutes (на латыни Firmus означает «твердый» и «цвет лица»). Большинство из них грамположительные, за исключением семейств Veillonellaceae и Syntrophomonadaceae, которые являются грамотрицательными. Бактерии Firmicutes фенотипически разнообразны и могут быть сферическими клетками, прямыми, изогнутыми, спиральными брусками или нитями, с жгутиками или без них, с эндоспорами, устойчивыми к теплу или без них.

Бактерии, классифицируемые в типе Firmicutes, составляют важную часть кишечной флоры человека. Среди них наиболее значимыми являются микроорганизмы вида *Lactobacillus* [6,8].

По своим биохимическим свойствам лактобациллы весьма разнообразны. Объединяет их метаболизм бродильного типа, в результате которого не менее половины углеводов питательной среды расходуется на синтез лактата.

Лактобактерии являются основными составляющими пробиотических продуктов и препаратов. Среди них чаще всего выделяют *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. ramnosus*, *L. plantarum* и некоторые другие. Мы рассмотрим в нашей работе одного представителя молочнокислых бактерий, часто используемого в производстве продуктов, направленных на коррекцию микрофлоры человека, – *Lactobacillus plantarum* [9].

Lactobacillus plantarum играют важнейшую роль при квашении капусты, солении огурцов и подобных процессах, являющихся по своей сути ферментированием овощей, участвуя в них на одном из промежуточных этапов. Гомоферментативные *Lactobacillus plantarum* образуют только молочную кислоту и практически не образуют газы и другие продукты. Они устойчивы к высоким концентрациям поваренной соли, но чувствительны к продуктам обмена гнилостных бактерий, таким как индол, скатол, индолилуксусная и пропионовая кислоты [9]. В

результате интенсивного молочнокислого брожения на этом этапе ферментации содержание молочной кислоты может достигать 1,0 – 2,0 %. В дальнейшем *Lactobacillus plantarum* угнетается собственным продуктом обмена – молочной кислотой и уступает место другим молочнокислым бактериям. *Lactobacillus plantarum* подавляются *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, а также плесневыми грибами *Penicillium gladioli* [10].

Более детальная диагностика микроорганизмов закваски показывает, что на уровне семейств преобладают лактобактерии. Они составляют от 93 до 97 %, т.е. тип фирмикуты полностью представлен молочнокислыми микроорганизмами, что видно на рис. 5. Общая представленность микроорганизмов на уровне рода приведена в таблице. Из таблицы видно, что над всеми другими представителями микроорганизмов доминируют два рода: *Weissella* и *Latilactobacillus*.

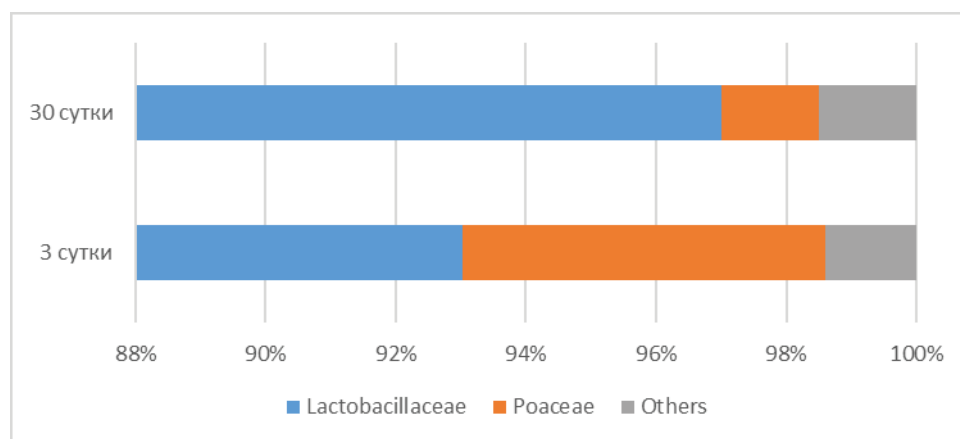


Рис. 5. Семейства микроорганизмов, представленных в капустном рассоле

Представленность микроорганизмов в капустной закваске на уровне рода, %

Род	Время ферментации	
	3 суток	30 суток
<i>Weissella</i>	69	53
<i>Latilactobacillus</i>	24	42
<i>Leuconostoc</i>	0,4	1,5
<i>Lactiplantibacillus</i>	0,4	1,1
<i>Hafniaceae</i>	0,3	0,6
<i>Lactococcus</i>	0,3	0,1
<i>Enterococcus</i>	0,0	0,3
<i>Flavobacterium</i>	0,2	0,1
<i>Erwiniaceae</i>	2,0x10 ²	0,1
<i>Yersiniaceae</i>	1,0x10 ²	0,1
<i>Propionibacteriaceae</i>	0,1	2,0x10 ²
<i>Providencia</i>	1,0x10 ²	0,0
<i>Streptophyta</i>	0,1	0
<i>Chryseobacterium</i>	0,0	0
<i>Sphingobacterium</i>	2,0x10 ²	8,7x10 ³
<i>Sphingopyxis</i>	0	0,0
<i>Oxalobacteraceae</i>	2,0x10 ²	0
<i>Acinetobacter</i>	2,0x10 ²	0
<i>Streptococcus</i>	2,0x10 ²	0
<i>Rhodococcus</i>	1,0x10 ²	8,7x10 ³

Микроорганизмы рода *Weissella* – это род грам-положительных бактерий, которые по современной классификации чаще всего относят к семейству Lactobacillaceae, иногда – к семейству Leconostococcaceae [11].

Таким образом, оба рода схожи по своим физиолого-биохимическим свойствам, но среди представителей рода *Weissella* обнаружены отдельные виды, обладающие высокой вирулентностью и способные вызывать заболевания у человека. Данные микроорганизмы не могут быть использованы при производстве средств коррекции микрофлоры, поэтому мы останавливаемся на выделении чистых культур молочнокислых микроорганизмов рода *Lactobacillus* [12, 13].

Исходя из спектра метаболитов для исследования микробного состава нами были выбраны плотные питательные среды: MRS – для культивирования молочнокислых и уксуснокислых микроорганизмов; Сабуро – для культивирования грибковой флоры [14].

Первоначально посевы инкубировали на плотной питательной среде в течение трех дней при температуре 30°C в анаэробных условиях. На чашках со средой MRS лактобактерии выглядят как белые непрозрачные колонии с прорастанием в агар в виде паучка и без него (рис. 6). Края колоний ровные, слизь на них отсутствует, по размерам колонии мелкие, 1 – 3 мм в диаметре [15].

При микроскопии мазков, окрашенных по Граму, были обнаружены только грам-положительные микроорганизмы: как палочки различных размеров, так и кокки. Известно, что уксуснокислые микроорганизмы относятся к грам-отрицательным, однако нам их обнаружить и выделить не удалось.

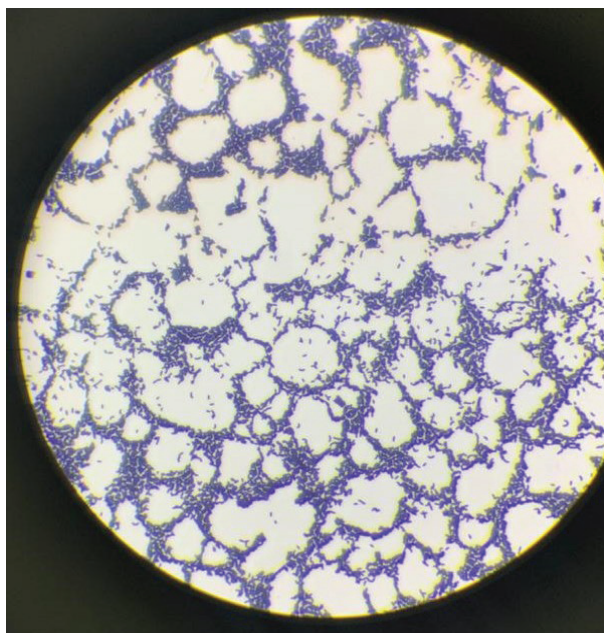


Рис. 6. Микроскопия рассола квашеной капусты, культивированного на среде MRS

На среде Сабуро рост был виден только в образце 3 суток ферментации. Определялись дрожжевая флора и грибы рода *Penicillium*, которые легко отличить по органам плодоношения – специфической метелке (рис. 7). Плесневые грибы были выделены однократно и только на 3-и сутки культивирования.

Дрожжи, не образующие мицелия, выделяли также только на 3-и сутки культивирования, но во всех образцах (рис. 8).

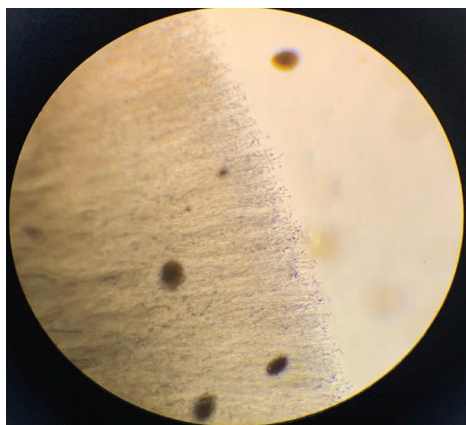


Рис. 7. Микроскопирование колонии гриба рода *Penicillium*

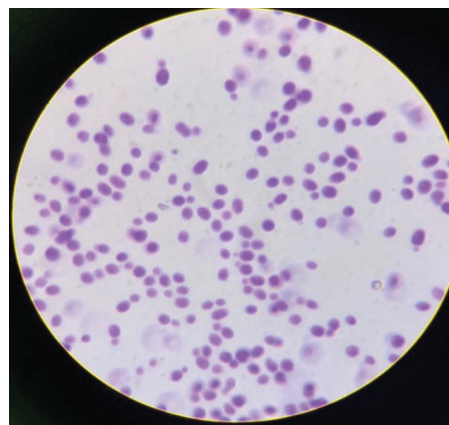


Рис. 8. Культура дрожжей, высеваемых из рассола квашеной капусты

Таким образом, в ходе практического анализа установлено, что рассол после 30 суток ферментации содержит большее разнообразие и концентрацию метаболитов.

В рассоле содержатся микроорганизмы, обладающие гетероферментативным типом брожения с образованием молочной, уксусной кислот и этилового спирта. В основном (98 – 99 % от всех микроорганизмов) в него входят микроорганизмы родов *Weissella* и *Lactobacillus*.

Выделенные чистые культуры микроорганизмов, способных быть продуцентами метабита, имеют различную морфологию и относятся к лактобактериям и лактококкам.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Корниенко Е.А. Метаболическое действие микробиоты и метабитики // РМЖ. – 2016. – Т. 24, № 18. – С. 1196–1201.
2. Омарова Ж.Б., Бепеева А.Е., Какимова Ж.Х. Пробиотики: история и определение // Кузбасс: образование, наука, инновации: материалы инновационного конвента, Новокузнецк, 5 декабря 2014 г. – Новокузнецк: Сиб. гос. индустриал. ун-т, 2014. – С. 157–158.
3. Чернега О.П., Казимирченко О.В. Совершенствование технологии производства квашеной белокочанной капусты с применением молочнокислых бактерий // Известия КГТУ. – 2020. – № 58. – С. 102–115.
4. Глазков С.В., Концев С.В., Самойлов А.В. Биотехнологическая трансформация овощного сырья в процессе направленного ферментирования молочнокислыми микроорганизмами // Овощи России. – 2018. – № 2. – С. 76–79.
5. Посокина Н.Е., Захарова А.И. Молочнокислые микроорганизмы, создающие оптимальные стартовые условия для процесса ферментации капусты белокочанной // Овощи России. – 2019. – № 4 (48). – С. 80–84. – DOI: 10.18619/2072-9146-2019-4-80-84.
6. Ахмедов В.А., Кашева К.А., Гаус О.В. Микробиота кишечника и критические состояния // Медицинский алфавит. – 2020. – № 37. – С. 16–20. – DOI: 10.33667/2078-5631-2020-37-16-20.
7. Шишлова Е.С., Посокина Н.Е., Лялина О.Ю. Основы ферментирования белокочанной капусты // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2018. – Т. 80, № 2(76). – С. 242–248. – DOI: 10.20914/2310-1202-2018-2-242-248.
8. Ивашкин В.Т., Ивашкин К.В. Микробиом человека в приложении к клинической практике // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии – 2017. – Т. 27, № 6. – С. 4–13.
9. Цисарык О.И., Сливка И.Н., Мусий Л.Я. Исследование влияния состава защитной среды на сохранение жизнеспособности лиофилизированных бактерий *L. lactis* и *L. plantarum*, вы-

деленных из традиционной карпатской брынзы // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2017. – Т. 19. № 75. – С. 29–34.

10. Шлыкова А.Н., Устимова Е.А., Белокурова Е.С. Использование стартовых культур микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 и *Lactobacillus fermentum* 39 в производстве квашеной капусты // Неделя науки СПбПУ: материалы научной конференции с международным участием / Высшая школа биотехнологий и пищевых технологий, Санкт-Петербург, 19–24 ноября 2018 г. СПб., 2018. – С. 47–50.

11. Физиолого-биохимические свойства лактобактерий, обуславливающие применение микроорганизмов для создания консерванта / О.О. Бабич, Л.С. Дышлюк, С.А. Сухих, М.И. Зимица // Техника и технология: новые перспективы развития. – 2015. – № XVI. – С. 141–146.

12. Посокина Н.Е., Шишлова Е.С., Захарова А.И. Влияние консорциумов молочнокислых микроорганизмов на динамику активной и титруемой кислотности на основном этапе ферментации белокочанной капусты // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2018. – Т. 80, № 3 (77). – С. 140 – 147. – DOI: 10.20914/2310-1202-2018-3-140-147.

13. Использование молочнокислых бактерий в биотехнологических процессах / Е.В. Светлакова, Н.А. Ожередова, М.Н. Веревкина, А.Н. Кононов // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. – С. 559.

14. Осипова Н.И., Проценко Т.А., Назарова Л.С. Питательная среда для санитарно-микробиологической оценки воздуха [Среда Сабуро, модифицированная нанопорошками карбида кремния, цинка и меди]. // Вестн. Сарат. госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – Саратов, 2011. – № 10. – С. 35–37.

15. Сидоренко О.Д., Жукова Е.В., Пастух О.Н. Биологическая активность лактобактерий природных заквасок // Успехи современной науки. – 2017. – Т. 2, № 10. – С. 34–37.

REFERENCES

1. Kornienko E.A. *RMJ*, 2016, Vol. 24, No. 18, pp. 1196-1201. (In Russ.)
2. Omarova Zh.B., Babaeva A.E., Kakimova J.H., *Kuzbass: education, science and innovation* (Kuzbass: education, science, innovation), Proceedings of the innovation Convention, Novokuznetsk, December 2014, Novokuznetsk, 2014, pp. 157-158. (In Russ.)
3. Chernega O.P. *Izvestiya KSTU*, 2020, No. 58, pp. 102-115. (In Russ.)
4. Glazkov S.V., Koptsev S.V., Samoilov A.V., *Vegetables of Russia*, 2018. No. 2, pp. 76-79. (In Russ.)
5. Posokina N.E., Zakharova A.I., *Vegetables of Russia*, 2019, No. 4 (48), pp. 80-84, DOI: 10.18619/2072-9146-2019-4-80-84. (In Russ.)
6. Akhmedov V.A., Kasheva K.A., Gauss O.V., *Medical alphabet*, 2020, No. 37, pp. 16-20, DOI: 10.33667/2078-5631-2020-37-16-20. (In Russ.)
7. Shishlova E.S., Posokina N.E., Lyalina O.Yu., *Bulletin of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 2018, Vol. 80, No. 2 (76), pp. 242-248, DOI: 10.20914/2310-1202-2018-2-242-248. (In Russ.)
8. Ivashkin V.T. Ivashkin V.C., *Russian journal of gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 2017, Vol. 27, No. 6, pp. 4-13. (In Russ.)
9. Cisarik O.Th., Slivka, I.N., Musy L.Y., *Naukovi Luvska Visnyk of national University veterinarno medicine that biotechnology imeni S.Z. Geckogo*, 2017, Vol. 19, No. 75, pp. 29-34.

10. Shlykova A.N., Ustimova E.A., Belokurova E.S., *SPbPU Science Week* (SPbPU Science Week), Proceedings of the Scientific Conference with International Participation, November 19-24, 2018, St. Petersburg, 2018, pp. 47-50. (In Russ.)
11. Babich O.O., Dyshlyuk L.S., Sukhoi S.A., Zimina M.I., *Technique and technology: new prospects for development*, 2015, No. XVI, pp. 141-146. (In Russ.)
12. Posokina N.E., Shishlova E.S., Zakharova A.I., *Bulletin of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 2018, Vol. 80, No. 3 (77), pp. 140-147, DOI: 10.20914/2310-1202-2018-3-140-147. (In Russ.)
13. Svetlakova E.V., Ozheredova N.A., Verevkina M.N., Kononov A.N., *Modern problems of science and technology education*, 2015, No. 3, pp. 559. (In Russ.)
14. Osipova N.I. *Veterinary medicine. Abstract journal*, 2012, No. 3, pp. 568. (In Russ.)
15. Sidorenko O.D., Zhukova E.V., Pastukh O.N., *Successes of modern Science*, 2017, Vol. 2, No. 10, pp. 34-37. (In Russ.)