Министерство образования и науки Российской Федерации
федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Институт природных ресурсов
Направление подготовки 18.04.01 Химическая технология
Кафедрафизической и аналитической химии

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Тема работы
Микробиологический синтез метилэтилкетона углеводородокисляющими микроорганизмами рода *Pseudomonas rathonis*

УДК 661.727:579

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ4Г	Макаренко Евгения Юрьевна		

Руководитель

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент кафедры ФАХ	Асташкина А.П.	к.х.н., доцент		

КОНСУЛЬТАНТЫ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент кафедры менеджмента	Криницына З.В.	к.т.н., доцент		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент кафедры ЭБЖ	Шеховцова Н.С.	к.х.н.,доцент		

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Зав. Кафедрой	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
ФАХ	Пестряков А.Н.	д.х.н., профессор		

Томск – 2016г.

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Институт природных ресурсов
Направление подготовки 18.04.01 Химическая технология
Уровень образования магистратура
Кафедра физической и аналитической химии
Период выполнения (весенний семестр 2015/2016 учебного года)

Форма представления работы:

магистерская диссертация

(бакалаврская работа, дипломный проект/работа, магистерская диссертация)

КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН
выполнения выпускной квалификационной работы

Срок сдачи студентом выполненной работы:	7.06.2016г.

Дата контроля	Название раздела (модуля) / вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
21.04.2015г.	*Литературный обзор по теме*	*20*
14.05.2015г.	*Методики эксперимента*	*30*
20.05.2015г.	*Обсуждение результатов*	*50*

Составил преподаватель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент кафедры ФАХ	**Асташкина А.П.**	к.х.н., доцент		

СОГЛАСОВАНО:

Зав. кафедрой	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
ФАХ ИПР	**Пестряков А.Н.**	**д.х.н., профессор**		

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
Высшего профессионального образования
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт природных ресурсов
Направление подготовки (специальность) Химическая технология (Инжиниринг в биотехнологии и фармацевтическом производстве)
Кафедра физической и аналитической химии

УТВЕРЖДАЮ:
Зав. кафедрой
_____Пестряков А.Н.

Задание
На выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

Магистерской диссертации

Студенту:

Группа	ФИО
2ДМ4Г	Макаренко Евгении Юрьевне

Тема работы:

Микробиологический синтез метилэтилкетона углеводородокисляющими микроорганизмами рода *Pseudomonas rathonis*	
Утверждена приказом директора ИПР	

Срок сдачи студентом выполненной работы:	7.06.2016

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

Исходные данные к работе	Провести литературный обзор по тематике научно-исследовательской работы, а именно: проработать информацию о метилэтилкетоне, условиях, влияющих на ее синтез; в экспериментальной части описать использованное оборудование, представить методики проведения экспериментов; проанализировать полученные результаты, сделать выводы, заключение; проанализировать ресурсоэффективность проекта; провести анализ социальной ответственности.
Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов	Введение; литературный обзор; экспериментальная часть; результаты и их обсуждения; финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение; социальная ответственность; заключение.
Перечень графического материала	
Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы	
Раздел	Консультант
«Социальная ответственность»	Шеховцова Н.С.
«Финансковый менеджмент,	Криницина З.В.

ресурсоэффективность и ресурсосбережение»	
Название разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:	
Literature review	Литературный обзор

Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику	

Задание выдал руководитель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Асташкина А.П.	к.х.н., доцент		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ4Г	Макаренко Е.Ю.		

Реферат

Выпускная квалификационная работа изложена на ___ страницах, содержит 27 рисуноков, 27 таблиц, 55 источников литературы, 2 приложения.

Ключевые слова: метилэтилкетон, бутиловый спирт, бутанол-1, бутанол-2, 2-метилпропанол-2, микробиологический синтез, *Pseudomonas rathonis.*

Объект исследования: в данной работе объектом исследования является МЭК.

Цель работы – Выбор оптимальных условий микробиологического синтеза метилэтилкетона из бутанола-1, бутанола-2 и 2-метилпропанола-2 углеводородокисляющими бактериями рода *Pseudomonas rathonis.*

В ходе работы была исследована жизнеспособность бактерий рода *Pseudomonas rathonis* на минеральной питательной среде с бутиловыми спиртами. Результаты показали, что бутиловые спирты можно использовать в качестве источника углерода. Установлено, скорость роста для каждой культуры на различных углеводородах индивидуальна и специфична. Проведено газохроматографическое исследование остаточных углеводородов в ходе деструкции бутиловых спиртов микроорганизмами рода *Pseudomonas rathonis.* Установлено, что в реакционной смеси присутствует МЭК. Рассчитано, наибольший выход МЭК наблюдается через 12 часов биосинтеза при использовании 2-метилпропанола-2 в качестве субстрата.

В результате микробиологического синтеза впервые из бутанола-2 и 2-метилпропанол-2 был получен метилэтилкетон.

Результаты исследования могут быть использованы в качестве экономически и экологически выгодного метода получения метилэтилкетона.

Выпускная квалификационная работа выполнена на кафедре ФАХ.

Руководитель: к.х.н, доцент А.П. Асташкина.

Выполнил: магистрант группы 2ДМ4Г Е.Ю. Макаренко.

Сокращения, Обозначения, Нормативные

МЭК – метилэтилкетон

КОЕ – колонии образующие единицы

МПБ – мясо-пептонный бульон

МПА – мясо-пептонный агар

МО – микроорганизмы

ати – избыточное атмосферное давление

Оглавление	
Введение	
1 Обзор литературы	
1.1 Общая характеристика метилэтилкетона	
1.1.2 Физические свойства	
1.1.3 Химические свойства	
1.2 Применение МЭК	
1.3 Промышленное получение МЭК	
1.3.1 Получение метилэтилкетона на основе н-бутена	
1.3.2 Дегидрирование втор-бутилового спирта	
1.3.3 Окисление н-бутенов в присутствии хлоридов палладия и меди (Waker-npouecc)	
1.4 Микробиологический синтез ценных органических веществ	
1.4.1 Источники углеродного питания	
1.4.2 Характеристика продуцентов	
1.4.3 Методы культивирования продуцентов	
2 Объекты и методы исследования	
2.1 Характеристика объекта исследования	
2.2 Приготовление питательных сред	
2.2.1 Приготовление минеральной среды Адкинса	
2.2.2 Приготовление мясо-пептонного бульона (МПБ)	
2.2.3 Приготовление мясо-пептонногоагара (МПА)	
2.3 Методики проведения эксперимента	
2.3.1 Методика определения чистоты углеводородов (бутанол-1, бутанол-2, 2-метилпропанол-2)	
2.3.2 Микробиологический синтез МЭК на питательной среде с бутиловыми спиртами	
2.3.3 Методика определения количества колоний по методу Мак-Креди.	
2.4 Химический анализ объектов исследования	
2.4.1 Методика проведения жидкостно-жидкостной экстракции	
2.4.2 Методика газохроматографического анализа остаточных углеводородов в ходе деструкции бутиловых спиртов	
3 Результаты проведенного исследования	
3.1 Исследование жизнеспособность бактерий рода *Pseudomonasrathonis*	
3.2 Хроматографический анализ метилэтилкетона	
3.3 Хроматографическое исследование метилэтилкетона в ходе биотрансформации бутиловых спиртов	
3.3.1 Хроматографический анализ МЭК в ходе деструкции бутанола-1 микроорганизмами рода *Pseudomonas rathonis*	
3.3.2 Хроматографический анализ МЭК в ходе деструкции бутанола-2 микроорганизмами рода *Pseudomonas rathonis*	
3.3.3 Хроматографический анализ МЭК в ходе деструкции 2-	

метипропанала-2 микроорганизмами рода *Pseudomonas rathonis*	
3.4 Количественное определение МЭК в реакционной смеси	
4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	
4.1 Предпроектный анализ	
4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования	
4.1.2 Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения	
4.1.3 Диаграмма Исикава	
4.1.4 SWOT-анализ	
4.1.5 Оценка готовности проекта к коммерциализации	
4.1.6 Методы коммерциализации результатов научно-технического исследования	
4.2 Инициация проекта	
4.2.1 Организационная структура проекта	
4.3 Планирование управления научно-техническим проектом	
4.3.1 Организационная структура проекта	
4.3.2 Контрольные события проекта	
4.3.3 План проекта	
4.4 Бюджет научного исследования	
4.4.1 Затраты на сырье и материалы	
4.4.2 Амортизация используемых приборов	
4.4.3 Расчет затрат на электроэнергию	
4.4.4 Расчет основной заработной платы	
4.5 Потенциальные риски	
4.6 Оценка сравнительной эффективности исследования	
4.6.1 Интегральный показатель эффективности разработки и аналога	
5. Профессиональная социальная ответственность	
5.1 Анализ вредных и опасных факторов	
5.2 Экологическая безопасность	
5.3 Безопасность в чрезвычайных ситуациях	
5.4 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности	
Заключение	
Список используемых источников	
Приложение А	
Приложение Б	

Введение

Классический химический синтез органических соединений имеет ряд недостатков: многостадийность, длительность термической обработки, высокие энергозатраты, дороговизна реагентов, поэтому необходимо разрабатывать альтернативные методы получения важных органических соединений как в материальном плане, так и в экологическом. Наиболее перспективным является синтез с использованием микроорганизмов, который нашел широкое применение в области медицины, пищевой промышленности, сельском хозяйстве. Путем микробиологического синтеза осуществляют получение антибиотиков, ферментов, витаминов, алкалоидов и т.п. Однако данные по применению микробиологического синтеза для получения органических соединений химической промышленности отсутствуют.

Таким образом, целью нашей работы было выбрать оптимальные условия микробиологического синтеза метилэтилкетона из бутанола-1, бутанола-2 и 2-метилпропанола-2 углеводородокисляющими бактериями рода *Pseudomonas rathonis.*

Для достижения поставленной цели был сформулированы следующие задачи:

1. Исследовать жизнеспособность бактерий рода *Pseudomonas rathonis* на питательной среде с использованием в качестве источников углерода бутиловых спиртов
2. Провести хроматографическое исследование остаточных углеводородов в ходе биотрансформации бутиловых спиртов микроорганизмами рода *Pseudomonas rathonis.*
3. Выбрать оптимальные условия биотрансформации бутиловых спиртов.

Научная новизна

Получен метилэтилкетон в ходе микробиологического синтеза из бутиловых спиртов углеводородокисляющими микроорганизмами рода *Pseudomona srathonis.*

Практическая значимость

На сегодняшний день информация по получению МЭК микробиологическим синтезом отсутствует. В ходе исследования микробиологического синтеза метилэтилкетона из бутанола-1, бутанола-2 и 2-метилпропанола-2 углеводородокисляющими бактериями рода *Pseudomonas rathonis* был обнаружен МЭК. Полученные данные в настоящем исследовании, представляют собой несомненный практический и экономический интерес и могут быть использованы как альтернативный метод получения метлэтилкетона.

Апробация работы

Основные результаты работы докладывались и обсуждались:

- на Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» 17 – 20 мая 2016 (г. Томск);
- на Всероссийской международной конференции «Актуальные вопросы химической технологии и защиты окружающей среды», г. Чебоксары, 26-27 ноября 2015 г.;
- на Международной научно-практической конференции «Интеграция науки, образования и производства – основа реализации Плана нации», г.Караганда, (Сагиновские чтения №7) 10-11 декабря 2015г.

Публикации

Результаты проведенных исследований отражены в 3 печатных работах.

Объем и структура работы.

Работа изложена на __ страницах, содержит __ таблиц, __ рисунков и 55 источников. Работа состоит из введения, 5 глав, заключения, списка

использованных источников и приложений. Во введении раскрыта актуальность темы диссертации, определены цели и задачи исследования, сформулированы научная новизна и практическая значимость работы. В первой главе приведен литературный обзор, в котором рассмотрены общие сведения о получение метилэтилкетона и микробологическом синтезе ценных органических веществ. Во второй главе описаны условия экспериментов, объекты, методы и методики проведения исследования. Третья глава посвящена микробиологическому синтезу метилэтилкетона из бутанола-1, бутанола-2 и 2-метилпропанола-2 углеводородокисляющими бактериями рода *Pseudomonas rathonis*. Проведено исследование жизнеспособности бактерий рода *Pseudomonas rathonis*на бутиловых спиртах. Приведены результаты газохроматографического анализа метилэтилкетона в ходе деструкции бутиловых спиртов углеводородокисляющими микроорганизмами. В четвертой главе приведен анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения, методы коммерциализации результатов научно-технического исследования, определены экономические и финансовые эффективности применения результатов исследования, а также потенциальные потребители результатов исследования. В пятой главе проанализирован характер действия, разработанных в работе решений, с точки зрения социальной ответственности за моральные, общественные, экологические возможные негативные последствия и ущерб здоровью человека в результате их внедрения. Выявлены основные техносферные опасности и вредности, степень воздействия их на человека, общество и природную среду, и представлены подходы минимизации их воздействий и защиты от них.

1 Обзор литературы

1.1 Общая характеристика метилэтилкетона

Метилэтилкетон (МЭК) является химическим гомологом ацетона. Обладая рядом ценных свойств, он находит широкое применение в различных областях промышленности. Его название в системе ИЮПАК 2-бутанон. Другое название метилэтилкетона – метилацетон [1].

МЭК является вторым звеном гомологического ряда алифатических кетонов и наряду с ацетоном это важнейший коммерчески производимый кетон в промышленности. МЭК хорошо реагирует с целым рядом химических веществ и химических классов, в том числе трет-бутоксидом калия, хлороформ, перекисью водорода, и сильными окислителями (например, хлорсульфоновой, серной и азотной кислотами). Он может также реагировать с основаниями и сильными восстановители. Бурные реакции протекают с хлороформом в присутствии оснований, при добавлении к перекиси водорода и азотной кислоте образуются взрывчатые пероксиды [1-2].

Метилэтилкетон встречается в природе в вулканах, при лесных пожарах, и как продукт биологического разложения. Он выделяется некоторыми деревьями, и, в небольших количествах, найден в некоторых фруктах и овощах. Источниками МЭК в окружающую среду являются выхлопные газы от двигателей внутреннего сгорания, а также промышленной деятельности: такой как газификация угля. Так же найден в существенных количествах в табачном дыме [3].

1.1.2 Физические свойства

Метилэтилкетон это горючая, бесцветная жидкость с острым, сладким запахом, напоминающим запах ацетона. Он растворим в воде 4/1 и смешивается со спиртом, эфиром, ацетоном и бензолом. Он легче, чем вода и

остается на поверхности. Это несимметричный или смешанный алифатический кетон.Он образует двух- и трехкомпонентные азеотропные смеси в сочетании с водой и другими различными органическими растворителями. Основные физические свойства МЭК представлены в таблице 1[4].

Таблица 1 Физические свойства МЭК

Свойство	**Значение**
Молекулярная масса	72,10
Точка кипения	79.6oC
Точка плавления	86.35oC
Давление пара	90,6 ммрт.ст. при 25oC
Плотность паров	2,41 (воздух = 1)
Плотность / удельный вес	0,805 при -20 / 4oC

1.1.3Химические свойства

МЭК стабилен при нормальных условиях и при отсутствии воздуха. Он неомыляемый и не образует коррозионных продуктов в процессе гидролиза. Он устойчив в свету и теплу. Он разлагается только после длительного воздействия ультрафиолетовых лучей. Он может широко использоваться в химическом синтезе. Его химическая активность сконцентрирована на карбонильной группе и прилегающих к ней атом водорода. При надлежащих условиях могут быть осуществлены реакции кондесации, аммонолизации и галогенирование. Некоторые типичные реакции описаны ниже[3].

Самоконденсация. При альдольной конденсация 2 моль МЭК образуется гидроксикетон, который легко обезвоживается до ненасыщенного кетона (рис. 1):

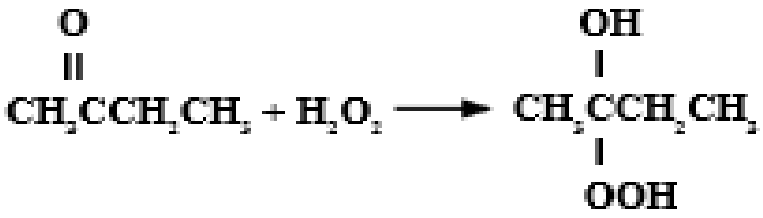

Рисунок 1 – Образование ненасыщенного кетона

Взаимодействие с альдегидом дает высший кетон, а также кеталь и циклические соединения, в зависимости от условий проведения реакции. Кетоны образуются путем конденсации МЭК с алифатическим эфиром. Втор-бутиламин получают взаимодействием с МЭК водным раствором аммиака и водорода:

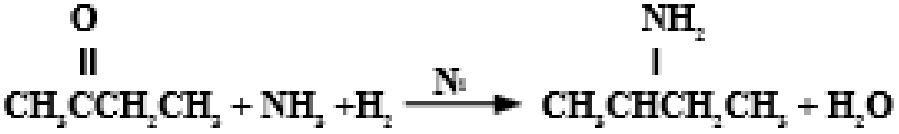

Рисунок 2 – Получение втор-бутиламина

Избыток МЭК в этой реакции, будет производить ди-втор-бутиламин. Реагируя, МЭК с ацетиленом дает метил пентанол, наркотическое соединение[4].

1.2 Применение МЭК

МЭК потребляется в больших количествах в различных отраслях промышленности и сферах применения (таблица 2).

Таблица 2 – Использование МЭК в промышленности

Отрасль промышленности	**Практическое приминение**
Производство клея	Растворитель вязкого покрытия
Гальванопокрытие	Холодный очищающий растворитель
Гальванопокрытие	Обезжиривание в парах растворителя
Лаборатория химических веществ	Экстрагирование растворителями
Машиностроение производство и ремонт	Экстрагирование
Обезжиривание металла	Экстрагирование
Производствокраски	Экстрагирование

Снятие краски	Экстрагирование
Бумажное покрытие	Экстрагирование
Производство пестицидов (инсектицидов)	Экстрагирование
Печать	Растворители для флексографической и глубокой печати

МЭК производится в больших количествах. Более половины мирового спроса на МЭК приходится на лакокрасочную промышленность. Он растворяет многие вещества и используется в качестве растворителя в процессах с участием камеди, смолы, ацетата целлюлозы, нитроцеллюлозных покрытий, виниловых пленок, в производстве синтетического каучука, пластмасс, текстильных материалов, в производстве парафина, а также домашних продуктов: такие как лаки, растворители, и в качестве чистящего средства. В основном метилэтилкетон применяется как низкокипящий растворитель для покрытия нитроцеллюлозных, акриловых и виниловых поверхностей [5]. Его преимущество состоит в том, что можно получить растворы низкой вязкости, с высоким содержанием твердых частиц, не оказывая влияния на свойства пленки. Эти лаки используются в автомобильной, электротехнической продукции и мебельной промышленности. МЭК также может использоваться в производстве клеев на основе каучука и типографских красок. Его высокая скорость испарения делает его популярным для клеев на латексной основе, низкотемпературных клеев и в качестве азеотропного растворителя для типографских красок. Он также является одним из растворителей, используемых в производстве магнитной ленты. Также МЭК является растворителем, необходимым для проведения полимеризации полистирола, акрилонитрил-бутадиен-стирола (АБС), и стирол-бутадиенового каучука (SBR). Производный от МЭК, пероксид метилэтилкетона, используют в качестве катализатора для инициирования полимеризации полиэфирных смол, используемых в стеклопластах [6].

Несмотря на довольно большой объем производства МЭК, спрос на него постоянно возрастает в среднем на 7% в год, так как развитие промышленности красок и покрытий способствует росту рынка МЭК. Ведущим производителем метилэтилкетона является Азиатско-Тихоокеанский регион, доля Китая в мировых мощностях увеличивается с каждым годом. В России в настоящее время МЭК не производится и вся потребность в нем удовлетворяется за счет импорта. Отсутствие собственного производства МЭК объясняется, прежде всего, отсутствием эффективной технологии его получения [5].

1.3 Промышленное получение МЭК

В настоящее время основным промышленным методом получения МЭК является гидратация (сернокислотная или прямая) н-бутилена с образованием втор-бутилового спирта (ВБС) с последующим окислением или дегидрированием в целевой продукт. Метод получения МЭК окислением ВБС широко практикуется в Западной Европе, Азии, Латинской Америке. В США небольшое количество МЭК получают в качестве побочного продукта при окислении н-бутана и низших углеводородов в уксусную кислоту и другие кислородсодержащие продукты [3-4].

1.3.1 Получение метилэтилкетона на основе н-бутена

Основная часть промышленного получения метилэтилкетона основывается на каталитическом окислении или дегидрировании в паровой или жидкой фазе бутанола-2, получаемого сернокислотной или прямой гидратацией н-бутена [6-7].

Сернокислотный метод получения бутанола-2 из н-бутенов имеет следующие этапы: обработку (поглощение) н-бутенов 75-85% серной

кислотой; гидролиз бутилсерной кислоты, отгонку и выделение азеотропабутанола-2 с водой; регенерацию слабых растворов серной кислоты [9].

При всей простоте реакции взаимодействия н-бутенов с серной кислотой процесс является достаточно сложным. При использовании серной кислоты с высокой концентрацией появляются серьезные затруднения, связанные с подбором материалов конструкции и типом реакционного оборудования, образованием большого объема побочных трудно утилизируемых продуктов (полимеров).

Точное аппаратурно-технологическое оснащение узла гидролиза-отпаркибутанола-2 во многом определяет показатели всего процесса (выход спирта и побочных продуктов, расход водяного пара). При температуре отгонки (около 100°С) проходят катализируемые серной кислотой реакции дегидрирования бутанола-2 и полимеризации образующихся н-бутиленов. При наибольшем выходе бутанола-2 концентрация серной кислоты на выходе из отпарной колонны равна 20-40%.

При анализе способов концентрирования переработанной серной кислоты появляются определенные затруднения, такие каккаррозия, образование сернокислотного пара, и разложением серной кислоты с выделением диоксида серы, особенно сильным при наличии в ней органических примесей. В серной кислоте, которая циркулирует в системе, накапливаются высококипящие органические соединения, это требует периодической ее очистки и полной замены.

Из этого следует, что данное производство метлэтилкетона, основанное на сернокислотной гидратации н-бутенов с получением бутанола-2 на промежуточной стадии, имеет ряд недостатков (высокие энерго затраты в следствие сложной системы регенерации серной кислоты, коррозию оборудования, большое количество побочных продуктов, выбросы в окружающую среду) [9-10].

1.3.2 Дегидрирование втор-бутилового спирта

Окисление втор-бутилового спирта протекает в присутствии различных катализаторов, состоящих из металлов или их сплавов, а также окислов металлов. Известны катализаторы парофазного окисления втор-бутилового спирта в метилэтилкетон, которые представляют собой трегерные катализаторы, с серебром, нанесенным на цеолитный носитель синтетический или природный [10,11].

Главный недостаток при использовании таких катализаторов окисления является низкая селективность. Так, при использовании наиболее активного и селективного катализатора в оптимальных условиях(550°С, объемная скорость 16 $ч^{-1}$, молярное отношение O_2/спирт равно 0.5) выход метилэтилкетона составляет 86.6 % при конверсии втор-бутилового спирта 96% [9].

Так же получение метилэтилкетона возможно методом высокотемпературного некаталитического окисления втор-бутилового спирта перекисью водорода [12]. Процесс проводят при 460-560°С и объемном соотношении бутанола-2 и 25-35% перекиси водорода, равном 1:(1.7-3.5). Наибольший выход метилэтилкетона равен 44.2%. Но результаты ставятся по сомнение, так как при протекании процесса при 460-560°С возможно воспламенение реакционной массы в реакторе, и основными продуктами превращения бутанола-2 являются диоксид углерода и вода (выход МЭК при этом не превышает 10%).

Для того, чтобы повысить выход МЭК, уменьшить оббьем отходов, повысить качество продукта и упростить аппаратурное оформление был предложен метод окисления бутанола-2 перекисью водорода при 220-350°С, мольном соотношении бутанола-2 и 50% перекиси водорода (1.0-5.0):1 и при времени контактирования 2-12с [8].

Так же одним из способов получении метилэтилкетона является МЭК дегидрирование втор-бутилового спирта на цинк-медных катализаторах при

480°С. Выход МЭК составляет 70-80% при селективности 75-85% [13]. Недостатком процесса является низкая стабильность катализаторов. Так же известен метод получения метилэтилкетона окислительным дегидрированием втор-бутилового спирта на скелетном цинк-медном катализаторе при 275-280°С в присутствии кислорода при мольном соотношении ВБС:O_2 равном 1:(0.3-0.5), и объемной скорости спирто-воздушной смеси 0.2 ч-1 . Выход метилэтилкетона составляет 91% [14]. Недостатками данного способа являются: небольшой выход целевого продукта, наличие в нем примесей метилвинилкетона и низкую удельную производительность катализатора. Так же был предложен метод получения МЭК путем окислительного дегидрирования втор-бутилового-спирта кислородсодержащим газом в две стадии при повышенной температуре [15]. В начале проводят окислительное дегидрирование втор-бутилового спирта с серебряным катализатором при 290-550°С, объемной скорости подачи вторичного бутилового спирта 6-24 ч-1 и мольном отношении кислород : втор-бутилового спирта равном 0.4-0.6, а на второй стадии температуру понижают до 180-330°С, объемной скорости 6-18 ч-1 в присутствии цинк-медного окисного катализатора. Конверсия втор-бутилового спирта составляет 92.8%, выход метилэтилкетона на превращенный спирт 96.6%.

1.3.3 Окисление н-бутенов в присутствии хлоридов палладия и меди (Waker-npouecc)

Хорошо известен метод получения МЭК прямым окислением н-бутенов в присутствии катализатора - водного раствора хлоридов палладия и меди **(**Waker-процесс) [16-18].

Известны два вида этого процесса: одностадийный, в котором кислород и н-бутен контактируют с раствором солей $PdCl_2$ и $CuCl_2$ [18], и двухстадийный, когда кислород и олефинвступают в контакт с раствором катализатора по очереди (в разных аппаратах) [19].

Н-бутены и катализатор попадают в реактор колонного типа, в котором за один раз происходит практически полная конверсия н-бутенов. Температура процесса 100°С. Выход метилэтилкетона 80%; побочные продукты: масляный альдегид (4%), продукты хлорирования (4-6%), диоксид углерода (0.5-1%), другие (2-2.5%) [19]. Конверсия н-бутена составляет 95%. Удельная производительность катализатора по МЭК – 20 г/л·ч [20].

Реакции с органическими растворителями, соединяющимися с водой, например, спиртов [21], увеличивает конверсию исходных олефинов. Окисление стоит проводить в кислой среде (pH=0.8-3.0) или нейтральной (pH=6.0-7.5) среде, так как при увеличении pH из катализаторного раствора будет выпадать хлорид меди, Это приведет к падению выхода конечного продукта. Так как соли в воде растворяются не полностью, удельная производительность реакторов падает. Из этого следует, что стоит использовать катализатор, находящийся в виде суспензии в воде или разбавленной уксусной кислоте. Такой катализатор позволяет совмещать высокую концентрацию катализатора с хорошим отводом тепла.

В качестве сырья можно использовать как концентрированную бутеновую фракцию, так и бутеновые фракции с предельными углеводородами. Концентрация предельных углеводородов до 10% не мешают окислению олефинов. Должно строго ограничиваться содержание непредельных углеводородов и серы, во избежание побочных продуктов [22].

Реакция окисления бутенов проходит достаточно бурно при температуре 80-130°С. Для поддержания реакционной массы в жидком состоянии требуется давление 0.3-1.1 МПа, которое способствует улучшению растворимости газов. Для повышения растворимости олефина и кислорода рекомендуется применять реакционные устройства, в которых осуществляется турбулизация жидкости и обеспечивается максимальная поверхность контакта фаз [22].

Для того, чтобы поднять выход метилэтилкетона до 85 - 88% предлагалось [23], например, гидрировать хлорорганические кетоны. Но это

усложняет процессии не позволяет исключить хлорпроизводные (содержание снизилось до 4-6%), которые сильно затрудняют выделение чистого метилэтилкетона.

Другая модификация Waker-процесса описана в работе [25], в которой в качестве катализатора используется $PdCl_2$-$CuCl_2$ с добавкой аминов (дифенилметиламин, N,N,N′,N′-тетрафенилэтилендиамин, три-(β-хлорэтил)-амин) для уменьшения образования хлорпроизводных продуктов и стабилизации катализаторного раствора. Показано, что при времени пребывания 1 ч и 70°С конверсия н-бутена составляет 20-40% при селективности 99.4-99.7%.

Модифицированный Waker-процесс представлен в работе [26]. Реакцию окисления н-бутена проводят в двухфазном растворе, который содержит органический растворитель (диметилформамид, хлорбензол, н-гексан, толуол, бензол), в присутствии водорастворимой карбоновой кислоты (муравьиной, уксусной, пропионовой, масляной, адипиновой, глутаровой), $PdCl_2$ и хлорида или бромида аммония. При температуре 150°С и давлении 6МПа в течение 0.5 ч выход МЭК составляет 42%. В качестве побочных продуктов получали ацетальдегид, бутиленгликольмоноацетат.

В работе [27] для окисления н-бутенов в МЭК предлагается использовать родиево-медный комплекс $RhCl_3 \cdot 3H_2O$-$Cu(ClO_4)_2 \cdot 6\ H_2O$. Так при 40°С в течение 5 ч, селективность по МЭК составила 94%. Основным недостатком процесса является быстрая дезактивация катализатора. Механизм процесса окисления олефинов на родиево-медном катализаторе приведен в [24].

Бесперспективным, по мнению авторов [23], с технологической точки зрения является процесс окисления олефинов в кетоны в водных растворах с применением сульфата таллия (III). Данный способ позволяет получать кетоны, альдегиды, диолы в различных соотношениях в зависимости от условий процесса и строения олефина. При этом Tl(III) восстанавливается до

Tl (I), но обратный переход Tl (I) в Tl (III) возможен только электролитическим путем.

Представляют интерес исследования, ведущиеся в направлении поиска каталитических систем, не содержащих С1-ионов, являющихся источником получения побочных хлорорганических продуктов. В настоящее время в этом направлении достигнуты определенные успехи, связанные с заменой хлорида меди, используемого в качестве обратимо действующего окислителя, на фосформолибденванадиевыегетерополи кислоты.

1.4 Микробиологический синтез ценных органических веществ

В настоящее время во всем мире наблюдается интерес к синтезу ценных органических соединений с помощью микроорганизмов. Многие из них продуцируют широко используемые в разных областях промышленности органические соединения. При проведении синтеза необходимо подбирать оптимальные условия, учитывая особенности продуцента. Особое внимание при микробиологическом синтезе стоит уделить выбору источника углеродного питания, играющего важную роль в ходе получения целевого продукта.

Общая технологическая схема производства включает:

- подготовку посевного материала или инокулята, куда входит ряд этапов, начиная от засева пробирок и качалок колб до проведения выращивания в засевном ферментере;
- подготовку питательной среды для производственного ферментера, которая включает выбор и реализацию рецептуры среды, а также стерилизацию, гарантирующую сохранность всех пластических и энергетических компонентов в исходном количестве и качестве;
- подготовку ферментационного оборудования, гарантирующего сохранность от попадания в процесс контаминационной флоры;
- стадию биосинтеза, где в максимальной степени используются

возможности биообъекта для получения лекарственного начала, которое накапливается внутри клетки или же секретируется в культуральную среду;

- стадию концентрирования, одновременно предназначенную и для удаления балласта;
- стадию очистки, реализуемую за счет повтора ряда однотипных операций или же за счет набора различных препаративных приемов (ультрафильтрация, экстракция, сорбция, кристаллизация);
- стадию получения конечной субстанции с последующими операциями расфасовки и упаковки [28].

Для роста бактерий, кроме состава питательной среды, имеют значение кислотность среды, аэрация, температура, свет и влажность. Большинство бактерий растет при pH 6,8-8,0, т. е. в нейтральной среде. Поддержание нейтрального значения pH, особенно важно для кислото-продуцирующих бактерий. Большинство известных микроорганизмов относится к мезофилам, температурный оптимум для которых лежит в интервале 25-37^{o}C. Термофилы способны расти при 45-90^{o}C, а психрофилы остаются жизнеспособными при 5-10^{o}C [29].

1.4.1 Источники углеродного питания

Источником углерода при культивировании бактерий могут служить отходы различных видов промышленности, в том числе природный и попутный газы (водород), а также метанол, этанол, пропанол и отходы нефтеперерабатывающей промышленности. На газовых питательных средах культивируются бактерии рода *Methylococcus, Pseudomonas, Methylophillus*. На метаноле в Великобритании организовано производство белкового препарата прутин, содержание белка в котором 74% от сухой массы. В России разработана технология промышленного получения меприна с использованием в качестве питательной среды метанола.

Выбор источника углерода в биотехнологии имеет очень большое значение. Он не только представляет пути обмена веществ данного микроорганизма, но и часто предполагает состав остальных компонентов среды и даже технологию и аппаратурное оформление производства целевого продукта, в особенности, если предполагается использование труднодоступного для микроорганизмов субстрата, нуждающегося в предварительной обработке[30].

1.4.2Характеристика продуцентов

В настоящее время в биотехнологии в качестве продуцентов используются одноклеточные и многоклеточные организмы, построенные из клеток одного типа (бактерии, грибы, водоросли), а также клетки и ткани высших растений и животных [31].

В промышленной биотехнологии применяют 3 вида штаммов:

1.Пприродные штаммы, улучшенные естественным и искусственным отбором (при производстве микробной биомассы);

2. Штаммы, полученные в результате индуцированного мутагенеза;

3. Генно-инженерные штаммы (обладают самой высокой генетической нестабильностью).

Штаммы должны удовлетворять следующим требованиям:

1. Непатогенность

2. Высокая скорость роста биомассы и целевого продукта при экономичном потреблении питательной среды.

3. Направленная биосинтетическая активность при минимальном образовании побочных продуктов.

4. Генетические однородность и стабильность в отношении к субстратам и условиям культивирования.

5. Отсутствие токсических веществ в целевом продукте и промышленных стоках.

6. Устойчивость к фагам и другой посторонней микрофлоре.

7. Способность расти на дешевых и доступных субстратах, отходах пищевой и химической промышленности при высокой плотности клеток [32].

Только по совокупности этих и других свойств можно оценить полезность и рентабельность продуцента. Наиболее изучены и чаще применяются в биотехнологии бактерии рода *Clostridium, Thermoanaerobacter, Bacillus, Acetobacter, Pseudomonas, Brefibacterium.*

Использование бактерий в качестве продуцентов имеет ряд приоритетов:

1. Возможности использования отходов пищевых и химических производств для культивирования;

2. Высокая скорость реакции биосинтеза;

3. Относительно несложная технология культивирования в промышленных масштабах, независимая от сезонов и других изменяющихся условий окружающей среды;

4. Возможность направленного воздействия с помощью методов селекции на химический состав клеток для совершенствования биологической ценности целевого продукта.

Известно около 30 видов бактерий, являющихся продуцентами различной биотехнологической продукции, в том числе и лекарственных веществ [33].

1.4.3 Методы культивирования продуцентов

Большинство бактерий культивируют на сложных органических средах, содержащих факторы роста (витамины, аминокислоты, пурины, пиримидины). Продуценты, нуждающиеся в факторах роста, называют ауксотрофами, штаммы, не обнаруживающие эту потребность, прототрофами. Многие продуценты могут расти на синтетических средах, содержащих всего одно органическое вещество в качестве источника

углерода. Некоторые продуценты используют в качестве источника энергии метан, метанол, метилированные амины. В микробной биотехнологии широко используется способность ряда бактерий осуществлять жизнедеятельность в результате окисления молекулярного водорода, сероводорода, аммония, нитратов, солей двухвалентного железа и некоторых других неорганических соединений. Для многих продуцентов характерен лабильный метаболизм [34].

Это выражается в способности использовать большое число разных соединений углерода, азота и др. элементов, а также переключения с одного типа питания на другой. Большинство бактерий имеют в составе клеточной стенки пептидогликаны (состоят из N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты).

Эффективность производства биотехнологическими методами зависит от всех слагаемых и общего материального и энергетического баланса. При этом следует помнить, что в биотехнологии есть два активных представителя средств производства и между ними существует взаимовлияние. Действительно, чем выше темп функционирования биообъекта, тем более высокие требования предъявляются к аппаратурному оформлению процессов с его использованием. Необходима оптимизация как биообъекта, так и процессов и аппаратов биотехнологических производств [32].

Центральный этап производства – ферментация. Под ферментацией понимают всю совокупность последовательных операций от внесения в питательную среду посевного материала (инокулята) до завершения процесса роста или биосинтеза биологически активных веществ. В основе процесса ферментации лежит культивирование продуцентов, т.е. выращивание культуры микроорганизмов, клеток высших растений или плесневых грибов.

При производстве ценных органический соединений применяются следующие методы культивирования [35].

Твердофазная поверхностная ферментация осуществляется на увлажненной, сыпучей или пастообразной среде. Рост продуцента

происходит на поверхности твердых частиц, а также в порах, заполненных водой или воздухом. Управляемый процесс твердофазного поверхностного культивирования применяется при производстве энзиматических лекарственных препаратов.

Глубинная ферментация характеризуется присутствием клеток во взвешенном состоянии. В условиях лаборатории в колбы, объемом 50-250 наливают жидкую питательную среду, в которую засевают чистую культуру (из ампул или колбы), затем ее помещают на сутки в термостат с определенной температурой, где она растет и размножается. Аэробные продуценты выращивают в специальных колбах на качалках в термокамере, т.е. рост продуцента осуществляется в закрытой системе (обмен газами, теплом), но питательная среда и посевной материал не вводятся в процессе роста продуцента.

При периодическом культивировании выделяют характерные фазы в развитии культуры (рис.3) [32].

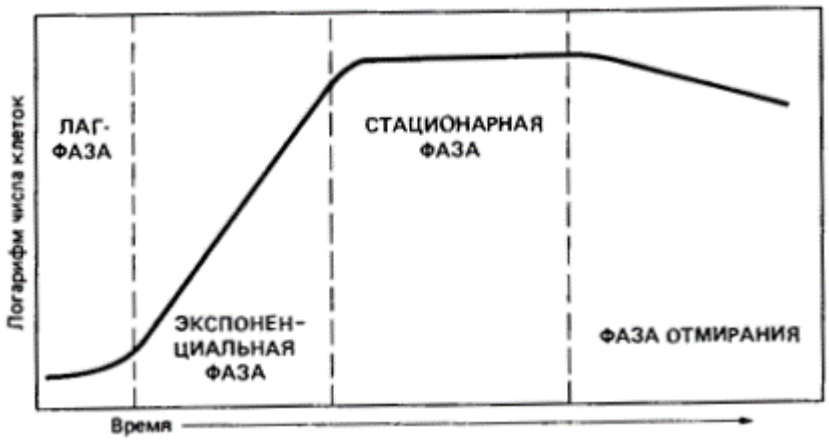

Рисунок 3 – Кривая роста микроорганизмов

1. Лаг фаза. Культура микроорганизмов осваивает питательную среду, заметного увеличения числа клеток не происходит. В этот период перестраивается метаболизм клетки, синтезируются ферменты, необходимые для использования новых субстратов, активируется биосинтез белка.

2. Фаза экспоненциального роста характеризуется быстрым накоплением биомассы и продуктов метаболизма. При этом запас питательных веществ в среде в оптимальной концентрации, увеличение

числа клеток пропорционально времени, т.е. линейный рост культуры.

3. Стационарная фаза – это скорость прироста биомассы полностью компенсируется скоростью гибели и лизиса клеток.

4. Фаза отмирания культуры – характеризуется полным истощением субстрата, накоплением веществ, ингибирующих рост, скорость прироста биомассы равно нулю.

При производстве ценных веществ важную роль играет любая фаза. Так, при производстве первичных метаболитов важно сокращение до минимума лаг фазы и увеличение экспоненциальной фазы. Продолжительность лаг фазы зависит от состава питательной среды, возраста и массы инокулята. Перенос клеток из одной среды в другую, резкое изменение условий при масштабировании может оказывать напродуцент разностороннее воздействие. Системы контроля и регуляции ферментативной активности включают и адаптационные механизм, т.е., сталкиваясь с новыми питательными веществами, клетки начинают усваивать их только после синтеза ферментов [36].

Биотехнологически ценные продукты синтезируются в экспоненциальной фазе. В стационарной фазе и фазе отмирания синтезируются вторичные метаболиты - антибиотики, красящие вещества.

При непрерывном культивировании процесс постоянно протекает в экспоненциальной фазе, нет смены фаз развития культуры, как при периодическом культивировании (можно сравнить с оранжереей, где вегетация и плодоношение растений идет в течение всего года). Можно сказать, что при непрерывном культивировании жизнедеятельность культуры продлевается за счет постоянной подачи питательной среды и отбора культуральной жидкости, вместе с которой из реактора удаляются и токсические метаболиты.

Непрерывное культивирование может осуществляться в условиях крупнотоннажного производства в каскаде реакторов. Впервые данный метод был применен в 1915 году при производстве спирта в 1940 году – для

получения ацетона.

Непрерывный процесс можно использовать в производстве, если культура при длительном выращивании не теряет способности к синтезу, т.е. генетически устойчива и однородна.

Характеризуя непрерывное культивирование, надо отметить, что высокая продуктивность процесса может быть достигнута при большем значении D (скорости разбавления), а это может быть связано с выносом неутилизированного субстрата. Поэтому данный метод далеко не всегда можно применять, например, в производстве антибиотиков и других препаратов медицинского назначения [33].

2 Объекты и методы исследования

Процесс биотрансформации углеводородокисляющими микроорганизмами исследовался на следующих субстратах: бутанол-1, бутанол-2, 2-метилпропанол-2.

2.1 Характеристика объекта исследования

Бутанол - 1 марки ч ГОСТ 6006-78

Бутанол - 1 (нормальный бутиловый спирт), который представляет собой бесцветную прозрачную горючую жидкость со своеобразным запахом; плохо растворим в воде, смешивается со спиртом и другими органическими растворителями.

Бутанол применяется в качестве растворителя в лакокрасочной промышленности, в синтезе, в качестве добавки к топливам и др. Основные физико-химические свойства бутанола-1 представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Физико-химические свойства бутанола-1

№	Характеристика	Значение
1	Молярная масса	74,12 г/моль
2	Плотность	0,81 г/см³
3	Температура плавления	-90,2 °С
4	Температура кипения	117,4 °С
5	Показатель преломления	1,399

ГСО бутанол - 2 по ТУ 2632-029-56278322-2008

Бутанол-2 - бесцветная жидкость с сильным запахом спирта, смешивается со многими органическими растворителями.

Бутанол-2 используется как:

- растворитель красок, лаков, смол, камфоры, растительных масел, жиров, шеллака, каучуков, алкалоидов, клеев;
- компонент составов для смыва красок;

- промежуточное вещество в производстве промышленных моющих веществ, компонентов парфюмерных композиций, красителей, смачивающих агентов;
- составная часть флотационных агентов, гидравлических и тормозных жидкостей.

Основные физико-химические свойства бутанола-2 представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Физико-химические свойства бутанола-2

№	Характеристика	Значение
1	Температура кипения	100°C
2	Температура плавления	-115°C
3	Относительная плотность (вода = 1)	0.8
4	Растворимость в воде, г/100 мл при 20°C	12.5
5	Давление паров, кПа при 20°C	1.7
6	Относительная плотность пара (воздух = 1)	2.6
7	Относительная плотность смеси пар/воздух при 20°C (воздух = 1)	1.03
8	Температура самовоспламенения	406°C

2-метилпропанол-2

2-метилпропанол-2 (трет-бутиловый спирт) - третичный спирт, прозрачная жидкость (или бесцветное твердое вещество, в зависимости от температуры окружающей среды), с камфорным запахом. Растворим в воде и смешивается с этанолом и диэтиловым эфиром. Является уникальным среди изомеров бутанола, потому что это имеет тенденцию быть твердыми при комнатной температуре, с температурой плавления чуть выше 25 ° С.Основные физико-химические свойства 2-метилпропанола-2представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Физико-химические свойства 2-метилпропанола-2

№	Характеристика	Значение
1	Формула	$(CH_3)_3COH$
2	Температура плавления	25,66
3	Температура кипения	82,5
4	n при 20°	1,3878
5	p при (t)	7,73(30°C); 93,9(80,6°C)

2.2 Приготовление питательных сред

Питательные среды являются основой микробиологических работ, и их качество нередко определяет результаты всего исследования.

Для культивирования углеводородокисляющих микроорганизмов готовили жидкие питательные среды: мясо-пептонный бульон (МПБ) и минеральная среда Адкинса. Численность и динамику роста углеводородокисляющих микроорганизмов в ходе биотрансформации субстратов определяли по методу Мак-Креди с использованием питательной среды МПБ и мясо-пептонногоагара (МПА), соответственно. Изучение культурно-морфологических особенностей культур проводили на плотной питательной среде МПА.

2.2.1 Приготовление минеральной среды Адкинса

Навески макро- и микросолей растворяли в 1 $дм^3$ и 100 $см^3$дистиллированной воды, соответственно. Состав питательной среды представлен в таблице 6. Растворы фосфатов входящих в состав макросолей готовили отдельно, т.к. в процессе автоклавирования они выпадают в осадок и в дальнейшем вновь требуют растворения.

Таблица 6 - Компоненты питательной среды Адкинса

Макросоли		**Микросоли**	
Соль	**Масса, г**	**Название**	**Масса, мг**
$NH_4H_2PO_4$	10	Трилон Б	500
K_2HPO_4	10	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	200
$MgSO_4$	0,7	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	10
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0,0125	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	3
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,0125	$CoC1_2 \cdot 6H_2O$	20
$MnSO_4 \cdot 5H_2O$	0,0125	H_3BO_3	30

$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,003	$CuCl_2 \cdot 6H_2O$	2
NaCl	0,1	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	3

Приготовленную питательную среду разливали по колбам, которые закрывали ватно-марлевыми пробками и пергаментной бумагой. Среду стерилизовали в автоклаве при 121°С (1 ати) 20 мин.

2.2.2 Приготовление мясо-пептонного бульона (МПБ)

Навеску сухого мясопептонного бульона (Пептон сухой ферментативный на основе мяса, ГОСТ 13805-76), массой 20 г растворяли в 1 дм дистиллированной воды, кипятили 2 минуты, после чего фильтровали через ватно-марлевый фильтр и разливали по колбам. Колбы закрывали ватными пробками и пергаментной бумагой. Среду автоклавировали при 121 °С (1 ати) 20 мин.

2.2.3 Приготовление мясо-пептонногоагара (МПА)

Навеску сухого мясопептонного бульона (Пептон сухой ферментативный на основе мяса, ГОСТ 13805-76), массой 20 г, и агара микробиологического (ГОСТ 17206-96), массой 15 г, растворяли в 1 $дм^3$дистиллированной воды. Среду кипятили 2 минуты, после чего фильтровали через ватно-марлевый фильтр и разливали по колбам. Подготовленные колбы со средой закрывали ватными пробками и пергаментной бумагой. Автоклавировали при 121°С (1 ати) 20 мин.

2.3 Методики проведения эксперимента

2.3.1 Методика определения чистоты углеводородов (бутанол-1, бутанол-2, 2-метилпропанол-2)

Анализ проводился для оценки чистоты исследуемых бутиловых спиртов от посторонней аборигенной микрофлоры**.**

Пробу исследуемого бутилового спирта, отбирали в количестве 1см^3 с помощью одноразового шприца и наносили на плотную агаризированную среду (МПА). Суспензию распределяли по поверхности среды штапелем Дрегальского. Посев производили в двух разведениях. Чашки Петри помещали в термостат крышками вниз, инкубацию проводили при 37 °С. По истечении двух дней, судили о наличии или отсутствие аборигенной микрофлоры.

2.3.2 Микробиологический синтез МЭК на питательной среде с бутиловыми спиртами

Культивирование проводилось в колбах объемом 50 см^3. Минеральную питательную среду Адкинса разливали в колбы по 30 см^3 с добавлением углеводородов (бутанол-1, бутанол-2, 2-метилпропанол-2) в количестве 1% от общего объема (0,3 см^3) и вносили углеводород окисляющие микроорганизмы в количестве 5% от общего объема (1,5 см^3). Параллельно готовили образец-контроль (без добавления культуры): в коническую колбу вместимостью 50 см^3 вносили по 30 см^{3}питательной минеральной среды Адкинса и 0.3 см^3 углеводорода. Колбы закрыли ватно-марлевыми пробками и установили в термостат-шейкер. Культивирование проводили в течение 8-72 часов, при температуре 30°С и постоянном перемешивании 80 об/мин.

Определение остаточных метаболитов в реакционной смеси в ходе биотрансформации проводили методом газовой хроматографии.

2.3.3 Методика определения количества колоний по методу Мак-Креди.

Метод использовали для исследования жизнедеятельности микроорганизмов на питательной среде с бутиловыми спиртами в качестве источников углеродного питания**.**

Для приготовления суспензионной культуры подготавливали колбы объемом 50см^3 с жидкой минеральной питательной средой Адкинса с добавлением бутиловых спиртов (1% от общего объема) в качестве источников углерода. Культивирование проводилось при постоянном перемешивании 80 об/мин, при температуре 30°С, в течение 48 часов.

В ходе эксперимента использовали стерильную питательную среду МПБ, которую предварительно разливали в пенициллиновые флаконы по 9 см^3 и стерилизовали при 121 °С в течение 20 мин.

Отбирали 1 см^3 суспензии с помощью шприца на 1см^3 и переносили во флакон с мясопептонным бульоном (МПБ) (9 см^3), таким образом, получали первое разведение (10^{-1}). Полученное разведение тщательно перемешивали, несколько раз вбирая новым шприцем и выпуская из него полученную суспензию клеток. Затем этим же шприцем отбирали 1 см^3 суспензии из разведения 10^{-1} и переносили во второй флакон со стерильной водой, получая второе разведение (10^{-2}) (рис.4). [32]

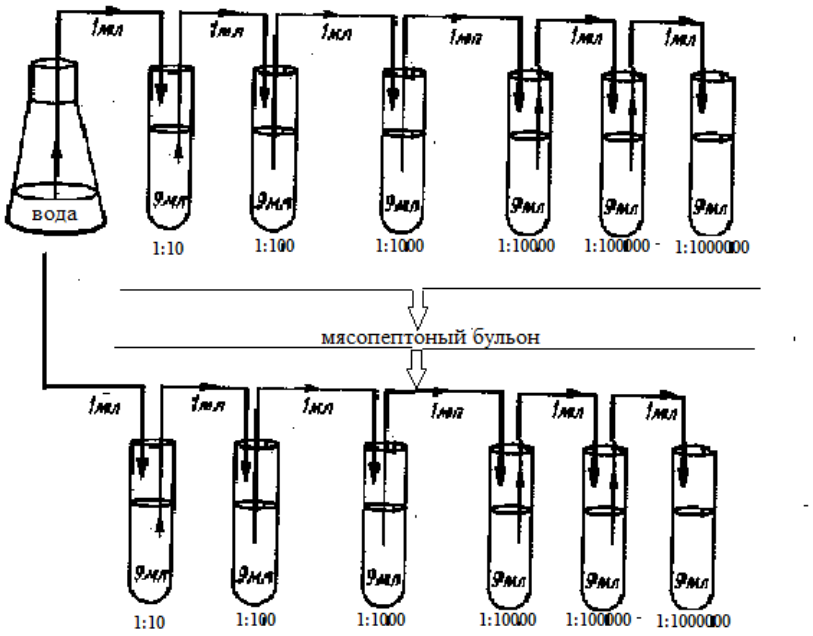

Рисунок 4 - Разбавление суспензии

Таким же образом подготовили последующие разведения до 10^{-6} (рис.4), каждый раз используя новый флакон со стерильной водой (9 $см^3$) и одноразовый шприц. Все разведения проводились в ламинарном боксе с соблюдением правил техники безопасности. Флаконы маркировали: на крышке маркером указывают степень разбавления (1, 2, 3, 4, 5, 6 и, соответственно, 1', 2', 3', 4', 5', 6'), дату и помещают в инкубатор-термостат (температура 30°С) 3-5 дней.

Для расчета наиболее вероятного количества микробных клеток в 1 $см^3$ пробы методом предельных разведений составляли числовую характеристику (ЧХ), которая включает три цифры. Первая цифра показывает число пробирок в том последнем разведении, при высеве из которого во всех засеянных пробирках был отмечен рост. Две следующие цифры означают число пробирок, в которых отмечен рост микроорганизмов при засеве из двух последующих разведений. Затем по таблице находили наиболее вероятное число микроорганизмов, соответствующее данному значению числовой характеристики.

Наиболее вероятное число микроорганизмов в 1 $см^3$ суспензии рассчитывали по таблице Мак-Креди (Приложение Б), разработанной на основании методов вариационной статистики.

2.4 Химический анализ объектов исследования

Выделение остаточных углеводородокисляющих микроорганизмов проводили методом жидкостно-жидкостной экстракции с использованием в качестве экстрагента четыреххлористый углерод ТУ 2631-027-44493179- 98.

2.4.1 Методика проведения жидкостно-жидкостной экстракции

В анализируемую колбу, добавляли серную кислоту (ГОСТ 4204- 77) и доводили до pH=2 (для умерщвления всех микроорганизмов). Далее в колбу вносили 4 $см^3$ четыреххлористого углерода (ТУ 2631-027-44493179-98) и переносили пробу в делительную воронку, вместимостью 500 $см^3$. Анализируемую смесь в делительной воронке взбалтывали в течение 1—2 минут. После расслоения смеси, нижний органический слой сливали в колбу. К оставшемуся в делительной воронке водному слою добавляли еще 2 $см^3$ CCl_4, также взбалтывали в течение 2 минут и после расслоения, сливали органический слой в колбу. Далее в колбу с экстрагентом вносили водоотнимающий агент безводный сульфат натрия (ГОСТ 5644-75). Взбалтывали, давали осадку осесть и разливали полученный органический слой по пенициллиновым флаконам и закупоривали.

2.4.2 Методика газохроматографического анализа остаточных углеводородов в ходе деструкции бутиловых спиртов

В качестве метода определения индивидуального и группового углеводородного состава использовалась газовая хроматография. Сущность

метода заключается в хроматографическом разделении образца на капиллярной колонке с неполярной неподвижной фазой с последующей регистрацией углеводородов пламенно-ионизационным детектором и автоматизированной обработкой полученной информации с помощью программного обеспечения.

Для хроматографического анализа использовали ГОСТ Р 52714-2007 «Бензины автомобильные. Определение индивидуального и группового углеводородного состава методом капиллярной газовой хроматографии».

Изменение углеводородного состава субстратов (бутнол-1, бутанол-2, трет0-бутанол) определяли на газовом хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000» с пламенно-ионизационным детектором при следующих условиях: длина колонки – 100 м; диаметр колонки – 0,25 мм; температура испарителя – 295^0C; температура термостата – 290^0C; газ-носитель – гелий; расход газа-носителя – 315 мл/мин; деление потока: 200:1, общее время анализа – 10 мин. На поверхности капиллярной кварцевой колонки в качестве твердой фазы использовали метилсилоксан, толщиной 0,5 мкм.

Подготовленный для хроматографического анализа образец (раздел 2.4.1) в количестве 0,2 мкл вводили в газовый хроматограф с помощью микрошприца вместимостью 1 мкл, который предварительно охлаждали в морозильной камере холодильника.

Под действием газа-носителя – гелия образец проходил через колонку, в которой его компоненты разделялись. Компоненты регистрировались пламенно-ионизационным детектором при их элюировании из колонки. Сигнал детектора обрабатывался системой электронного накопления данных и интегрирующим компьютером.

Идентификацию хроматографических пиков проводили по линейным или логарифмическим индексам удерживания углеводородов. По полученным индексам удерживания осуществлялась идентификация компонентов бензина путем сравнения их с индексами удерживания, приведенными в базе данных программного обеспечения.

4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

4.1 Предпроектный анализ

4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Для анализа потребителей результатов исследования необходимо рассмотреть целевой рынок и провести его сегментирование.

Целевой рынок – сегменты рынка, на котором будет продаваться в будущем разработка. Для данного проекта целевым рынком являются предприятия фармацевтической отрасли.

Продуктом (результат НИР) – метилэтилкетон.

Сегментирование – это разделение покупателей на однородные группы, для каждой из которых может потребоваться определенный товар (услуга). Можно применять географический, демографический, поведенческий и иные критерии сегментирования рынка потребителей, возможно применение их комбинаций с использованием таких характеристик, как возраст, пол, национальность, образование, любимые занятия, стиль жизни, социальная принадлежность, профессия, уровень дохода.

4.1.2 Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения

Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения позволяет провести оценку сравнительной эффективности научной разработки и определить направления для ее будущего повышения.

В таблице 4.1 представлены основные критерии ресурсоэффективности и ресурсосбережений разрабатываемого метода и существующих подходов. В качестве конкурентов микробиологического метода рассмотрим термический (1) и химический (2) методы.

Таблица 7 – Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений (разработок)

Критерии оценки	**Вес крите-рия**	**Баллы**			**Конкуренто-способность**		
		$Б_ф$	$Б_{к1}$	$Б_{к2}$	$К_ф$	$К_{к1}$	$К_{к2}$
1	2	3	4	5	6	7	8
Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Повышение производительности труда пользователя	0,1	4	4	3	0,4	0,4	0,3
2. Удобство в эксплуатации (соответствует требованиям потребителей)	0,12	5	3	4	0,5	0,3	0,4
3. Энергоэкономичность	0,1	4	4	3	0,4	0,4	0,3
4. Надежность	0,11	5	3	4	0,5	0,3	0,4
5. Безопасность,экологичность	0,13	5	2	3	0,5	0,2	0,3
6. Простота эксплуатации	0,1	5	4	3	0,5	0,4	0,3
Экономические критерии оценки эффективности							
1. Стоимость эксплуатации оборудования	0,12	3	4	2	0,3	0,4	0,2
2. Уровень проникновения на рынок	0,1	4	2	4	0,4	0,2	0,4
3. Цена	0,12	5	3	4	0,5	0,3	0,4
Итого	**1**	**40**	**29**	**30**	**4,0**	**2,9**	**3,0**

где $Б_{1,2}$ — баллы соответствующего конкурента, $К_{1,2}$ - конкурентоспособность соответствующего конкурента; $Б_ф$-баллы разрабатываемого метода (микробиологического), $К_ф$ - конкурентоспособность разрабатываемого метода.

Анализ конкурентных технических решений определяется по формуле:

$$К = \sum В_i \cdot Б_i ,$$

гдеК – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;

$В_i$ – вес показателя (в долях единицы);

$Б_i$ – балл *i*-го показателя.

4.1.3 Диаграмма Исикава

Диаграмма Исикавы (рис.25) (Cause-and-Effect-Diagram) используется для формирования причинно-следственных связей, для систематического определения причин и проблемы и последующего графического представления. Причинно-следственная диаграмма по микробиологическому синтезу метилэтилкетона углеводородокисляющими микроорганизмами рода *Pseudomonas* представлена на рисунке 4.1. Данная диаграмма помогает выявить основные причины возникновения проблем, анализ и структурирование процессов на предприятии, оценить причинно-следственные связи.

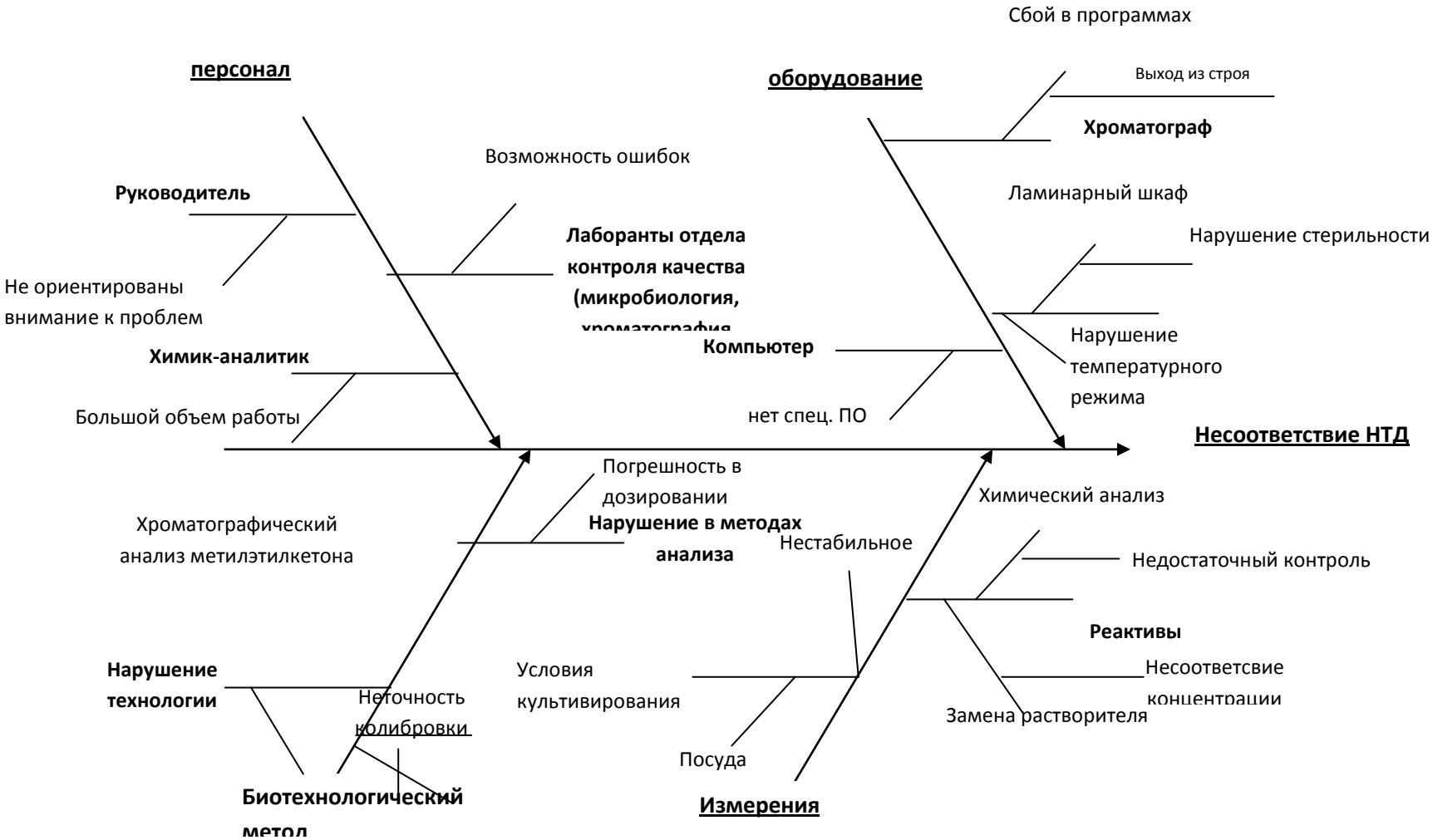

Рисунок 25 - Причинно-следственная диаграмма Исикавы

4.1.4 SWOT-анализ

Таблица 8 - Матрица SWOT

	Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1Экологичность технологии С2. Более низкая стоимость производства по сравнению с другими технологиями С3. Квалифицированный персонал	**Слабые стороны научно-исследовательского проекта:** Сл1. Отсутствие необходимого оборудования для проведения испытания опытного образца Сл2. Отсутствие достаточного финансирования проектов Сл3. Недостаток литературных данных по данному проекту
Возможности: В1. Использование инновационной инфраструктуры ТПУ В2. Появление спроса на продукт	С1. Разработка нового метода получения метилэтилкетона путем микробиологического синтеза с помощью углеводородокисляющих микроорганизмов рода *Pseudomonas* и *Rodococcus.* С2. Появится большой спрос за счет быстрой скорости синтеза продукта.	Сл1. Отсутствие некоторых необходимых оборудований для проведения опытов Сл2. Не до конца изучен данный метод синтеза
Угрозы: У1. Отсутствие спроса на новые технологии производства У2. Введения дополнительных государственных требований к сертификации продукции У3. Ограничения на экспорт технологии У4. Несвоевременное финансовое обеспечение научного исследования со стороны государства	С1. Синтез данным методом ускорит получение продукта, тем самым увеличив спрос на внутреннем рынке С2. Снижение зависимости от внешних рынков С3. Прибыль на внутреннем рынке	Сл1. Отсутствие рекламы на данный продукт Сл2. Сертификация продукции Сл3. Недостаточная прибыль С4. Повышение себестоимости

4.1.5 Оценка готовности проекта к коммерциализации

Таблица 9 - Бланк оценки степени готовности научного проекта к коммерциализации

N° п/п	Наименование	Степень проработанности научного проекта	Уровень имеющихся знаний у разработчика
1.	Определен имеющийся научно- технический задел	4	4
2.	Определены перспективные направления коммерциализации научно-технического Задела	4	3
3.	Определены отрасли и технологии (товары, услуги) для предложения на рынке	5	4
4.	Определена товарная форма научно- технического задела для представления на рынок	4	3
5.	Определены авторы и осуществлена охрана их прав	4	4
6.	Проведена оценка стоимости интеллектуальной собственности	3	4
7.	Проведены маркетинговые исследования рынков сбыта	3	3
8.	Разработан бизнес-план коммерциализации научной разработки	1	1
9.	Определены пути продвижения научной разработки на рынок	5	3
10.	Разработана стратегия (форма) реализации научной разработки	4	4
11.	Проработаны вопросы международного сотрудничества и выхода на зарубежный рынок	2	2
12.	Проработаны вопросы использования услуг инфраструктуры поддержки, получения льгот	3	3
13.	Проработаны вопросы финансирования коммерциализации научной разработки	1	1
14.	Имеется команда для коммерциализации научной разработки	5	4
15.	Проработан механизм реализации научного проекта	5	4
	ИТОГО БАЛЛОВ	48	47

Оценка готовности научного проекта к коммерциализации (или уровень имеющихся знаний у разработчика) определяется по формуле:

$$Б_{сум} = \sum Б_i \ ,$$

где $Б_{сум}$ – суммарное количество баллов по каждому направлению;

$Б_i$ – балл по *i*-му показателю.

Значение $Б_{сум}$ позволяет говорить о мере готовности научной разработки и ее разработчика к коммерциализации. Так как значение $Б_{сум}$ получилось от 60 до 75, то такая разработка считается перспективной, а знания разработчика достаточными для успешной ее коммерциализации. Планируется продолжить работу, по исследованию синтеза метилэтилкетона микробиологическим методом.

4.1.6 Методы коммерциализации результатов научно-технического исследования

В качестве метода коммерциализации можно предложить инжиниринг. Данный вид коммерциализации предполагает предоставление на основе договора инжиниринга одной стороной, именуемой консультантом, другой стороне, именуемой заказчиком, комплекса или отельных видов инженерно- технических услуг, связанных с проектированием, строительством и вводом объекта в эксплуатацию, с разработкой новых технологических процессов на предприятии заказчика, усовершенствованием имеющихся производственных процессов вплоть до внедрения изделия в производство и даже сбыта продукции.

4.2 Инициация проекта

Таблица 10 - Цели и результат проекта

Цели проекта:	Получение метилэтилкетона путем микробиологического синтеза штаммом *Pseudomonas.*
Ожидаемые результаты проекта:	Разработка технологической схемы микробиологического синтеза метилэтилкетона углеводородокисляющими микроорганизмами в биореакторе.
Критерии приемки результата проекта:	Оксигеназная активность, эффективность микробиологического синтеза, скорость деструкции

4.2.1 Организационная структура проекта

Таблица 11 - Рабочая группа проекта

№ п/п	**ФИО, основное место работы, должность**	**Роль в проекте (Функции)**	**Трудозатраты, дни.**
1	Асташкина А.П., к.х.н., доцент каф. ФАХ ИПР	Контроль за технологическим процессом, консультирование, выполнение проекта.	70
2	Макаренко Е.Ю., НИ ТПУ, кафедра ФАХ ИПР, магистрант	Выполнение проекта	80
ИТОГО:			150

4.3 Планирование управления научно-техническим проектом

4.3.1 Организационная структура проекта

В практике используется несколько базовых вариантов организационных структур: функциональная, проектная, матричная.

Наиболее подходящей организационной структурой данной работы является проектная, представленная на рисунке 26.

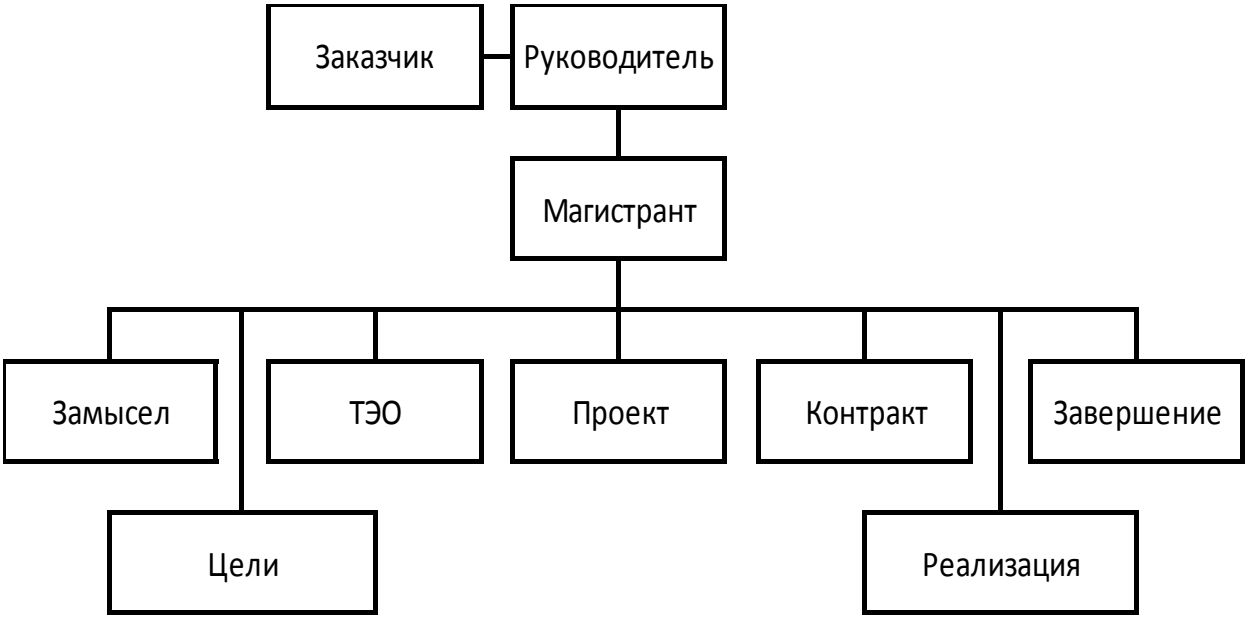

Рисунок 26 – Организационная структура проекта

4.3.2 Контрольные события проекта

Таблица 12 — Контрольные события проекта

№ п/п	**Контрольное событие**	**Дата**	**Результат (подтверждающий документ)**
1	Получение задания и составление плана работ	08.01.2015	
2	Литературный обзор по получению метилэтилкетона	09.01.2015	Обзор литературы (ВКР)

3	Постановка цели и задач	19.01.2015	Раздел цели и задачи в (ВКР)
4	Разработка плана экспериментальных работ	20.01.2015	План экспериментальных работ
5	Проведение эксперимента	25.01.2015	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
6	Обработка экспериментальных данных, обсуждение результатов	30.03.2015	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
7	Оформление графической части (таблицы, графики).	15.04.2015	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
8	Разработка презентации и раздаточного материала	19.05.2015	

Календарный план-график выполнения научно-исследовательской работы по теме: «Микробиологический синтез метилэтилкетона углеводородокисляющими микроорганизмами родов *Pseudomonas*» представлен в календарном плане- проекте (таблица 4.6) и календарном плане- графике (таблица 4.7).

4.3.3 План проекта

Таблица 13 - Календарный план проекта

Код работы (из ИСР)	**Название**	**Длительность, дни**	**Дата начала работ**	**Дата окончания работ**	**Состав участников** (ФИО ответственн
1	Составление технического задания. Постановка цели и задач	5	19.01.15	24.01.15	Асташкина А.П. Макаренко Е.Ю.

2	Обзор литературы	20	09.01.15	29.01.15	Асташкина А.П. Макаренко Е.Ю.
3	Выполнение эксперимента	62	25.01.15	27.03.15	Макаренко Е.Ю.
4	Результаты и обсуждения	9	30.03.15	09.04.15	Асташкина А.П. Макаренко Е.Ю..
5	Оформление диплома, обработка полученных данных.	34	10.04.15	14.05.15	Макаренко Е.Ю.
Итого		144			

Диаграмма Ганта – это тип столбчатых диаграмм (гистограмм), который используется для иллюстрации календарного плана проекта, на котором работы по теме представляются протяженными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ.

Таблица 14 - Календарный план-график проведения НИОКР по теме

Код работы (из ИСР)	Вид работ	Исполнители	$T_{к,}$ кал, дн.	Продолжительность выполнения работ													
				январь		февраль			март			апрель			май		
				2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2
1	Составление технического задания. Постановка цели и задач	Руководитель	5													
2	Обзор литературы	Магистрант	20													
3	Выполнение эксперимента	Магистрант,	62													
4	Результаты и обсуждения	Руководитель, магистрант,	9													
5	Оформление диплома, обработка полученных данных.	Руководитель, магистрант,	34													

– руководитель – магистрант

4.4 Бюджет научного исследования

Бюджет затрат на выполнение научно-исследовательской работы рассчитывается по статьям калькуляции, которые включают две группы затрат прямые затраты и накладные затраты.

Прямые затраты - это затраты на сырье, энергию, амортизацию оборудования.

Накладные затраты включают лабораторные затраты, связанные с освещением, отоплением, содержанием персонала.

Основными статьями калькуляции являются:

1. Затраты на сырье и материалы, покупные изделия.

2. Фонд заработной платы исполнителей.

3. Амортизация оборудования.

4. Накладные расходы, включающие затраты на содержание на административно-управленческого аппарата, по охране труда и.т.п.

5. Прочие затраты.

4.4.1 Затраты на сырье и материалы

Таблица 15 - Расчет затрат на сырье

№ п/п	**Наименование затрат**	**Еднннца измерений**	**Расход**	**Цена за ед., руб.**	**Сумма, руб.**
1	Пептон сухой ферментативный на основе мяса фас, 0,25 кг	кг	0,5	2340	1170
2	Агар микробиологический фас. 0,25 кг	кг	0,3	3713	530,4
3	Серная кислота	кг	1	289	289
4	Ф.Соляная кислота 0,1 н	упак	1	197	197
5	Ф.Натрий гидроокись 0,1 н	упак	1	193,5	193,5
6	Натрий хлористый хч	кг	1	57	57
7	Вата хирург н/с 1 кг	кг	1	157,3	157,3
8	Марля медицинская отбеленная пл.29г/м^2	м	50	9,09	454,5
9	Пергамент М 74-Ф	кг	1	177,1	177,1

10	Инсульновый шприц, 1 $см^3$, одн. прим.	шт	500	1,73	865
11	Шприц, 5 $см^3$, одн. прим.	шт	100	1,82	182
12	Шприц, 5 $см^3$, одн. прим.	шт	100	2,73	273
13	Колпачки алюминиевые к пенициллиновым флаконам	шт	500	0,51	255
14	Пробка А5 (для пенициллиновых флаконов)	шт	100	0,64	64
15	Пенициллиновые флаконы АБ 10 мл	шт	500	1,6	800
16	Перекись водорода, 37 %	кг	0,5	497	248,5
17	Четырех хлористый углерод, хч	кг	1	450	450
18	Спирт этиловый, 96%	шт.	1	900	900
19	Спиртовка СЛ 2 с метал, оправой	шт	2	110	220
20	Хлорид натрия, хч	кг	0,5	120	60
21	Хлорид калия, хч	кг	0,5	230	115
22	Фосфат аммония однозамещенный водород, хч	кг	0,1	452	45,2
23	Фосфат калия двухзамещенный водород, хч	кг	0,3	742	74,2
24	Сульфат натрия, б/водн, чда	кг	1	89	89
25	Сульфат магния, хч	кг	0,5	164	82
26	Хлорид кобальта (II), 6-водный, хч	кг	0,1	657	65,7
27	Сульфат железа (II) 7-водный, хч	кг	0,1	324	32,4
28	Сульфат цинка 7-водный, хч	кг	0,1	169	16,9
29	Сульфат марганца 5-водный, хч	кг	0,3	259	37
30	Сульфат меди (II) 5-водный, хч	кг	0,2	304	38
31	Трилон Б	кг	0,3	607	86,7
32	Хлорид марганца 4-водный, хч	кг	0,1	238	23,8
33	Борная кислота, хч	кг	0,1	90	9
34	Хлорид меди (И) 6-водный, хч	кг	0,2	244	30,5
35	Молибдат натрия 2-водный, хч	кг	0,1	1022	113,5
36	Фильтровальная бумага	упак	1	300	300
37	Маска 3-слойная медицинская на резинке 100 шт н/стерил.	шт	1	13,6	136
38	Шапочка нетканая «Берет» 100 шт	шт	1	14,5	145
39	Бахилы одноразовые 14 микрон уп. 25 пар	шт	2	3,5	145,5
40	Латексный перчатки	шт.	30	7	210
41	Индикаторная бумага	шт.	20	4	80
ИТОГО					9418,7

4.4.2 Амортизация используемых приборов

Расчет сводится к определению амортизационных отчислений, так как оборудование было приобретено до начала выполнения данной работы и эксплуатировалось раннее, поэтому при расчете затрат на оборудовании учитываем только рабочие дни по данной теме. Амортизация оборудования рассчитывается по формуле:

$$A = \frac{C_n \cdot H_a \cdot n}{100 \cdot k}$$

где C_n - первоначальная стоимость оборудования;

H_a - норма амортизации, %;

n-число проработанных месяцев;

k -количество месяцев в году.

Таблица 16 - Амортизация используемых приборов

№ п/п	**Наименование прибора**	**Стоимость * С, руб.**	**Коли-чество n,шт**	**Норма аморт., *Na,%***	**Амортизация *A*, руб.**
1	Суховоздушный шкаф-стерилизатор Binder	723000,00	1	10	48500
2	ЛаминарныйшкафSC2-4A1 Streamline Esco	750000,00	1	15	50000
3	Цифровой автоклав (паровой стерилизатор) WiseCube	477400,00	1	10	47740
4	БиореакторBIOSTAT, 5л	229000	1	10	22900
5	Шкаф термостатируемыйWiseCube	107669,49	1	10	10767
6	Инкубатор WiseCubeWIS- 20 горизонтальный с орбитальным шейкером	383822,03	1	10	38382
7	Дистиллятор 3,5 л/ч	34500	1	10	3450
8	Весы лабораторные аналитические ACCULAB	57277	1	10	5727
9	Бинокулярный микроскоп	123000	1	10	12300
10	Одноканальный дозатор «ВЮШТ» 100-1000 мкл	4000	1	10	400
11	Одноканальный дозатор «ВІОНІТ» 10 -100 мкл	4202	1	1	420,2
ИТОГО:		12314170			240586,2

*Стоимость оборудование указана с учетом НДС.

4.4.3 Расчет затрат на электроэнергию

Затраты на электроэнергию рассчитываются по формуле:

$$З_э = N \cdot T \cdot C, \quad (7)$$

где N— потребляемая мощность установки, кВт;

Т — время работы оборудования, ч;

С - стоимость 1кВт час электроэнергии (2,7 руб., с учетом НДС 18%).

Таблица 17- Затраты на электроэнергию (на период выполнения работы)

Наименование оборудования	**N, кВт/ч**	**Т, ч**	**Затраты, руб.**
Суховоздушный шкаф-стерилизатор	1,6	300	1296
ЛаминарныйшкафSC2-4A1 Streamline Esco	0,36	1020	991,44
Цифровой автоклав (паровой стерилизатор) WiseCube	2	612	3304,8
Шкаф термостатируемыйWiseCube	0,7	1355	2560,95
ШкафтермостатируемыйShaking	0,5	1436	1938,6
БиореакторBIOSTAT, 5л Sartorius	0,95	200	513
Дистиллятор 3,5 л/ч	1,2	366	1185,84
Весы лабораторные аналитические ACCULAB	0,010	248	6,696
Бинокулярный микроскоп МС-100	0,100	173	46,71
ИТОГО			11844,036

4.4.4 Расчет основной заработной платы

Основная заработная плата ($З_{осн}$) находится по формуле:

$$З_{осн} = З_{дн} \cdot T_{раб}, \quad (8)$$

где $З_{осн}$ – основная заработная плата одного работника;

$Т_р$– продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн.;

$З_{дн}$– среднедневная заработная плата работника, руб.

Среднедневная заработная плата в свою очередь рассчитывается по формуле:

$$З_{дн} = \frac{З_{м} \cdot М}{F_{д}}, \quad (9)$$

где $З_{м}$ – месячный должностной оклад работника, руб.;

М – количество месяцев работы без отпуска в течение года:

при отпуске в 24 раб.дня М =11,2 месяца, 5-дневная неделя;

$F_{д}$ – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб.Дн

Таблица 18- Баланс рабочего времени за 2016 год.

Показатели рабочего времени	**Руководитель**	**Магистрант**
Календарное число дней	366	366
Количество нерабочих дней - выходные дни - праздничные дни	118	118
Потери рабочего времени - отпуск - невыходы по болезни	24	-
Действительный годовой фонд рабочего времени	224	248

Месячный должностной оклад работника:

$$З_{м} = З_{б} \cdot k_{р}, \quad (10)$$

где $З_{б}$ – базовый оклад, руб.;

$k_{р}$ – районный коэффициент, равный 1,3 (для Томска).

Основная заработная плата руководителя(от ТПУ) рассчитывается на основании отраслевой оплаты труда. Отраслевая система оплаты труда в ТПУ предполагает следующий состав заработной платы:

1) оклад – определяется предприятием. В ТПУ оклады распределены в соответствии с занимаемыми должностями. Базовый оклад $З_{б}$ определяется

исходя из размеров окладов, определенных штатным расписанием предприятия.

2) стимулирующие выплаты – устанавливаются руководителем подразделений за эффективный труд, выполнение дополнительных обязанностей и т.д.

3) иные выплаты; районный коэффициент.

Найдем основную заработную плату за период с января по май 2016 года для руководителя:

$З_{5\ мес}$= 23264,86 * 5= 116320,86 руб.

$З_{осн.}$= 116320,86 * 1,3 = 151218,56 руб.

Аналогично для магистранта:

$З_{м}$= 4000 руб.

$З_{осн}$= 4000 * 5 = 20000 руб.

Таблица 19 - Расчёт основной заработной платы с января по май.

Исполнители	**$З_{б}$, руб.**	**$k_{р}$**	**$З_{5мес}$, руб**	**$З_{осн}$, руб.**
Руководитель	23264,86	1,3	116320,86	151218,59
Магистрант			$4000_{стип.}$	20000

Отчисления на социальные нужды составляет 30,5 % от суммы заработной платы всех сотрудников. Отчисления на социальные нужды составляет: отчисления в пенсионный фонд 22 %, отчисление на социальное страхование 2,9%, отчисление на медицинское страхование 5,1 %, 0,5% страхование жизни, от несчастного случая.

Рассчитываем затраты на отчисление на социальные нужды по формуле:

$$З_{о.с.н.}=0,305\cdot(З_{осн.рук.}+ З_{осн.асс.}+З_{осн.магис.}) \quad (10)$$

где

$З_{о.с.н.}$ - затраты на отчисления на социальные нужды, руб.

$З_{о.с.н.}$=0,305·(151218,59 +20000)=52221,7

Таблица 20 - Смета затрат на выполнение НИР

Наименование затрат	**Единицы измерени**	**Цена, руб.**	**Затраты на услугу, руб.**
Материалы:			
Сырье			9418,7
Электроэнергия	кВт	2,7	11844,036
Заработная плата			
Руководитель	руб.		151218,59
Магистрант	руб.		20000
Отчисления на социальные нужды	руб.		52221,7
Содержание и эксплуатация оборудования:			
Амортизация	руб.		278718
Суммарные затраты	Руб.		528421,03

4.5 Потенциальные риски

Идентифицированные риски проекта включают в себя возможные неопределенные события, которые могут возникнуть в проекте и вызвать последствия, которые повлекут за собой нежелательные эффекты.

Таблица 21 - Реестр рисков

Риск	**Потенциальное воздействие**	**Вероят-ть (1-5)**	**Влияние (1-5)**	**Уровень риска**	**Способы смягчения риска**	**Условия наступления**
Финансирование	Нехватка финансов для исследования	1	4	средний	Привлечение внебюджет-ных средств	Не целевое использование бюджетных средств
Магистрант	Невыполнение заданной работы в срок	2	5	Средний	Найти стороннюю организацию По оказанию аналогичных услуг	Поломка оборудования или перенапряжение в системе, нехватка комплектующ

Расстановка приоритетов	Направление персонала на другие проекты	1	3	Низкий	Совмещение двух проектов,	Подписание нового хоз. договора, гранта

В целом, данный проект является перспективным с точки зрения ресурсопотребления, так как в отличии от аналогов в проекте предусмотрены меньшие затраты.

4.6 Оценка сравнительной эффективности исследования

Биотехнологических метод «invitro», основанный на использовании различных групп микрооганизмов, является экономически выгодным в плане эксплуатации оборудования, наиболее ресурсоэффективным, экологически безопасным и надежным. Основные экономические завтраты аналогов представлены в таблице 21.

Таблица 22 - Группировка затрат по статьям аналогов разработки

Вариант исполнения аналога	**Сырье, материалы (за вычетом возвратных отходов), покупные изделия и полуфабрикаты**	**Специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ**	**Стоимость электроэнергии**	**Основная заработная плата**	**Отчисления на социальные нужды**	**Итого плановая себестоимость**
in situ	30000	700000	30000	60000	18300	838300
ex situ	5000	1500000	28690	89500	27297,5	1695487,5

Интегральный финансовый показатель разработки определяется как:

$$I_{\phi}^{p} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{max}} \quad I_{\phi}^{p} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\max}} \tag{11}$$

где I_{ϕ}^{p} - интегральный финансовый показатель разработки;

Φ_{pi} – стоимость i-го варианта исполнения;

Φ_{max} – максимальная стоимость исполнения научно-исследовательского проекта (в т.ч. аналоги).

Найдем значения интегрального финансового показателя для всех вариантов исполнения научного исследования:

$$I_1^p = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\max}} = \frac{838300}{1695487,5} = 0,5$$

$$I_2^p = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\max}} = \frac{1695487,5}{1695487,5} = 1$$

$$I_{ucc}^p = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\max}} = \frac{639806,11}{1695487,5} = 0,38$$

Полученная величина интегрального финансового показателя разработки отражает соответствующее численное удешевление стоимости затрат разработки в разы, то есть наша разработка обладает наименьшей стоимостью по сравнению с аналогами.

Интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов исполнения объекта исследования определяют следующим образом:

$$I_m^a = \sum_{i=1}^{n} a_i b_i^a \quad , \quad I_m^p = \sum_{i=1}^{n} a_i b_i^p \tag{12}$$

где I_m – интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов; a_i– весовой коэффициент i-го параметра;

b_i^a , b_i^p – бальная оценка i-го параметра для аналога и разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания;

n – число параметров сравнения.

Расчет интегрального показателя ресурсоэффективности рекомендуется проводить в форме таблицы.

Таблица 23 – Сравнительная оценка характеристик вариатнов исполнения проекта

Критерии	**ПО**			
	Весовой коэффициент параметра	**Текущий проект**	**Аналог 1**	**Аналог 2**
1. Способствует росту производительности труда пользователя	0,2	5	5	4
2.Наличия оборудования	0,2	5	3	1
3.Экспресность выполнения анализа	0,2	5	3	2
4. Энергосбережение	0,2	4	2	2
5 Материалоемкость	0,2	4	3	2
ИТОГО	1	4,6	3,2	2,2

4.6.1 Интегральный показатель эффективности разработки и аналога

Интегральный показатель эффективности разработки () и аналога () определяется на основании интегрального показателя ресурсоэффективности и интегрального финансового показателя по формуле:

$$I^{p}_{финр} = \frac{I^{p}_{m}}{I^{p}_{ф}}, \qquad I^{a}_{финр} = \frac{I^{a}_{m}}{I^{a}_{ф}} \qquad \ldots \qquad (13)$$

$$I^{p}_{иссл.} = \frac{I^{p}_{m}}{I^{p}_{ф}} = \frac{4,6}{0,38} = 12,1$$

$$I^{a}_{1} = \frac{I^{a}_{m}}{I^{a}_{ф}} = \frac{3,2}{0,5} = 6,4$$

$$I^{a}_{2} = \frac{I^{a}_{m}}{I^{a}_{ф}} = \frac{2,2}{1} = 2,2$$

Сравнение интегрального показателя эффективности текущего проекта и аналогов позволит определить сравнительную эффективность проекта.

Сравнительная эффективность проекта:

$$Э_{ср} = \frac{I^{p}_{финр}}{I^{a}_{финр}} \quad (14)$$

$$Э_{ср1} = \frac{I^{p}_{финр}}{I^{a}_{финр}} = \frac{12,1}{3,2} = 3,7$$

$$Э_{ср2} = \frac{I^{p}_{финр}}{I^{a}_{финр}} = \frac{12,1}{2,2} = 5,5$$

где $Э_{ср}$ – сравнительная эффективность проекта; $I^{p}_{финр}$ – интегральный показатель разработки; $I^{a}_{финр}$ – интегральный технико-экономический показатель аналога.

Таблица 24 Сравнительная эффективность разработки

№ п/п	**Показатели**	**Аналог 1**	**Разработка**	**Аналог 2**
1	Интегральный финансовый показатель разработки	0,5	0,38	1
2	Интегральный показатель ресурсоэффективности разработки	3,2	4,6	2,2
3	Интегральный показатель эффективности	6,4	12,1	2,2
4	Сравнительная эффективность вариантов исполнения	3,7		5,5

Сравнение значений интегральных показателей эффективности показывают, что наша разработка более эффективный вариант решения поставленной в магистерской диссертации технической задачи с позиции финансовой и ресурсной эффективности.

Список публикаций

1. Макаренко Е.Ю., Асташкина А.П. Жизнеспособность микроорганизмов рода *Pseudomonas rathonis* на минеральной питательной среде с бутанолом/трет-бутанолом в качестве источника углерода. Всероссийская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» 17 – 20 мая 2016 (г. Томск);
2. Макаренко Е.Ю., Асташкина А.П. Микробиологический синтез метилэтилкетона из бутанола-1. Всероссийская международная конференция «Актуальные вопросы химической технологии и защиты окружающей среды», г. Чебоксары, 26-27 ноября 2015 г.;
3. Макаренко Е.Ю., Асташкина А.П. Микробиологический синтез метилэтилкетона. Международная научно-практическая конференция «Интеграция науки, образования и производства – основа реализации Плана нации»,г.Караганда, (Сагиновские чтения №7) 10-11 декабря 2015г. Часть V.
4. Асташкина А. П., Бакибаев А.А., Колбышева Ю.В., Макаренко Е.Ю. Microbiological synthesis of methyl ethyl ketone//IOP(в печати).