РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа включает 72 страницы,

3 рисунка, 11 таблиц, 85 источников литературы.

Ключевые слова: *Rhodococcus*, бетулин, биотрансформация бетулина, оптимальные условия.

Объект исследования: биотрансформация бетулина бактериями *Rhodococcus.*

Цель работы: провести биотрансформацию бетулина бактериями *Rhodococcus*

В ходе исследовательской работы проводилась биотрансформация бетулина бактериями *Rhodococcus,* определение параметров их роста и утилизации бетулина, анализ кривой роста *Rhodococcus* в среде с добавлением бетулина, изучение характеристик продуктов биоконверсии.

Идентификация продуктов биоконверсии проводилась с использованием ИК-спектроскопии и ГХ МС.

Область применения: медицина.

Бакалаврская работа выполнена на кафедре ФАХ, ИПР.

Руководитель: к.б.н., ассистент Р.Н.Мустафин.

Выполнил: студент группы 2Д2Г Ю.С. Мандыч.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 12

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Биоконверсия 18

1.2 Бетулин, его нахождение в природе, получение, биологическая активность, практическое применение. 19

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

a. Получение бетулина. 22

b. Микробиологическая трансформация. 23

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ 24

ГЛАВА 4 ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, 25

РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ

4.1 Введение 26

4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования 27

4.2 Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения 28

4.3 SWOT-анализ 30

4.4 Планирование научно-исследовательских работ 30

4.4.1 Структура работ в рамках научного исследования 31

4.5 Определение трудоемкости выполнения работ 31

4.6 Разработка графика проведения научного исследования 32

4.6.1 Контрольные события проекта 32

4.7 Бюджет научно-технического исследования (НТИ) 32

4.7.1 Затраты на сырье и материалы 33

4.7.2 Расчет затрат на оборудование для научно-экспериментальных работ 33

33

4.7.3 Расчет основной заработной платы 34

4.8 Оценка сравнительной эффективности исследования 34

4.8.1 Интегральный показатель эффективности разработки и аналога 34
ГЛАВА 5 СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСВЕННОСТЬ 35
5.1 Оценка условий производственной среды 36
5.1.1 Защита от опасных и вредных факторов 36
5.1.2 Уровень шума и вибрации 40
5.1.3 Защита от заражения биологическими агентами 41
5.1.4 Защита от воздействия электромагнитного излучения и 41
электростатических полей 42
5.1.5 Защита от воздействия ультрафиолетового излучения 42
5.1.6 Освещенность рабочих мест 42
5.1.7 Электробезопасность 43
5.1.8 Пожарная безопасность 44
5.2 Требования к рабочим помещениям 45
5.2.1 Требования к микроклимату рабочих помещений 46
5.3 Безопасность в чрезвычайных ситуациях 47
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 48
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ 49

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время актуальной проблемой остается разработка лекарственных препаратов на основе природного сырья. Рост числа исследований, посвященных этому направлению, обусловлен химическим разнообразием природных средств, широким спектром их биологических свойств и возобновляемостью сырьевой базы и, зачастую, меньшей токсичностью в сравнении с синтетическими медикаментами.

В этом плане перспективным является получение препаратов на основе производных бетулина – пентациклического тритерпеноида группы лупана. Бетулин обладает широким спектром биологической активности. Исследования показали его антисептические, противоопухолевые, антивирусные, противовоспалительные, гепатопротекторные, иммуномодулирующие, антималярийные, антибактериальные, противогрибковые, гиполипидемические, антиоксидантными свойства [Mukherjee R. et al., 2006 Yi J. E. et al., 2010, Alakurtti S et al., 2007, 2010, Yli-Kauhaluoma J. et al., 2010, Saxena B.B., Rathnam P., 2011, 2012]. При этом бетулин, согласно международной токсикологической классификации, относится к 4 классу малотоксичных веществ [Патент №2276980 RU].

Применение бетулина и его производных в настоящее время широко распространяется в медицине. В частности, на основе производных бетулина создаются противораковые, антивирусные (в том числе и анти-ВИЧ) и другие лекарственные препараты [Fujioka, T.; Kashiwada, Y., 1994, Liu J. et al. 2010]. Одним из основных производных бетулина, используемое в качестве прекурсора для синтеза как бетулиновой кислоты (которая в настоящее время завершает клинические испытания в США в качестве средства терапии злокачественной меланомы), так и других производных бетулина, является бетулоновая кислота.

В бересте, которая является главным промышленным источником бетулина, содержание бетулиновой кислоты незначительно, поэтому

основным способом получения бетулиновой кислоты является окисление бетулина.

Процесс трансформации бетулина может быть осуществлен химическими и биологическими способами. К химическим методам относятся окисление бетулина различными реагентами, среди которых наиболее широко используется реактив Джонса (оксид хрома (VI) в серной кислоте). К биологическим методам относится трансформация бетулина с помощью углеводородокисляющих микроорганизмов, например, актинобактериями.

Несмотря на многочисленные исследования, кажущуюся простоту и доступность, химическое окисление бетулина реактивом Джонса является достаточно сложным и малорентабельным процессом: метод характеризуется низким выходом целевых продуктов (50 – 65 %), необходимостью поддержания низких температур и длительностью синтеза, а также малой селективностью окисления, что приводит к образованию смеси продуктов окисления бетулина. Вдобавок к сказанному отдельной проблемой является удаление токсичных соединений хрома, что требует дополнительных затрат на очистку целевого продукта (многократная перекристаллизация, экстракция, использование колоночной хроматографии, использование больших объемов органических растворителей) [Бурлова И.В., 2013].

В то же время количество исследований, посвященных получению производных бетулина с помощью микробиологической трансформации, остается незначительным. Имеющиеся публикации на эту тему не исчерпывают актуальности вопроса, так как вариативность условий синтеза огромна: можно варьировать продуценты (микроорганизмы), условия культивирования, питательные среды, субстраты роста и другие параметры методов. Поэтому, несмотря на имеющиеся работы, посвященные биотрансформации бетулина, данная проблема остается актуальной и требует дальнейшего изучения.

Целью нашего исследования является исследование процесса микробиологической трансформация бетулина, выделенного из коры березы повислой (Betula pendula Roth) актинобактериями рода Rhodococcus.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Получение и очистка бетулина
2. Проведение процесса биоконверсии бетулина микроорганизмами, определение параметров их роста и утилизации бетулина, анализ кривой роста rhodococcus sp. в среде с добавлением бетулина.
3. Изучение характеристик продуктов биоконверсии

ГЛАВА 4

Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

Основным объектом нашей работы является бетулин, который нашел широкое применение в медицине и парафармации благодаря своей доступности и широким спектром биологических свойств. В промышленных масштабах бетулин получают из коры берез. Рациональный и ресурсоэффективный подход к использованию растительного сырья в данном случае предполагает создание безотходного производства, сочетающего получение очищенной древесины и обработку образующегося после окорки внешнего слоя растительности.

Бетулин характеризуется широким спектром фармакологическмх свойств, в связи с чем в 20 веке имел место «бетулиновый бум», в ходе которого вещество представляли, как панацею против всех болезней. Показана также высокая активность различных его производных, что делает бетулин и его дериваты перспективными веществами для создания ценных продуктов; на сегодняшний день на основе бетулина и его производных разработан ряд биологически активных добавок и лекарственных препаратов.

Стоимость 1 кг неочищенного бетулина на рынке составляет около $3500; цена очищенного бетулина (степень очистки 90%) – до $30,000; бетулиновая кислота той же степени очистки стоит около 100,000 $ за 1 кг.

Коммерческая значимость нашего исследования может быть обусловлена следующими факторами:

1. Экологическая безопасность (биотехнологический метод модификации вещества сопряжен с меньшим количеством токсичных отходов).
2. Ресурсоэффективность и ресурсосбережение (на предприятиях деревообрабатывающей промышленности скапливается огромное количество коры березы, которая преимущественно не вывозится и сгнивает, в то время, как может быть использована в

промышленности).

3. Ценовая политика (самостоятельное получение ценного вещества позволяет отвязаться от импортеров, создать рабочие места внутри страны).
4. Востребованность и препаратов на его основе на рынке.

4.1 Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения

Анализируя существующие сегодня на фармацевтическом и парафармацевтическом рынках средства на основе бетулина, можно выделить несколько групп препаратов:

1. Препараты бересты. Средства, содержащие препараты бересты, как правило, представлены в форме БАД, нередко в составе комбинированных средств.

В качестве примера можно привести «Бетулагепатит» – препарат для лечения гепатита С и его профилактики, содержащий сухой экстракт бересты и экстракт шиповника;

2. Полусинтетические производные бетулина. В качестве примера приведем «Бевиримат» – препарат нового класса анти-ВИЧ-средств, «ингибитор созревания»; он препятствует развитию внутренних структур новых вирусов. В настоящее время препарат находится на последней стадии разработки и проходит клинические испытания на добровольцах.

Оценка конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения дана в виде оценочной карты сравнения конкурентных разработок.

В качестве образца мы взяли бетулиновую кислоту, полученную путем микробиологической трансформации бетулина и обладающую противоопухолевыми и противовирусными свойствами (БК).

В качестве образцов конкурентных препаратов-аналогов со сходной

активностью, существующие на сегодняшний день, нами предложены бетулагепатит (К1) и бевиримат (К2).

Позиции разработки и конкурента оценивались по каждому показателю экспертным путем по пятибалльной шкале, где 1 – наиболее слабая позиция, а 5 – наиболее сильная. Веса показателей, определяемые экспертным путем, в сумме не должны превышать единицы.

Результат сравнительного анализа показаны в таблице Э.1.

Таблица Э.1. Оценочная карта сравнения конкурентных разработок

Критерии оценки	Вес крите-рия	Баллы	Конкуренто-способность	
		БК	К1	К2
Критерии оценки эффективности				
Безопасность	0.1	2	3	3
Финансирование научной разработки	0.1	2	4	5
Побочные эффекты	0.2	4	4	4
Конкурентность разработки	0.2	5	5	5
Срок выхода на рынок	0.1	2	4	4
Стоимость сырья	0.1	5	5	5
Стоимость препарата	0.2	5	4	3
Итого	1	25	29	29

Анализ конкурентных технических решений определяется по формуле:

$$К = \sum В_i \cdot Б_i ,$$

Где: К – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;

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

$Б_i$ – балл *i*-го показателя.

Так как наша исследовательская работа находится на начальном этапе

своего развития, сложно дать достоверную оценку параметров эффективности данной разработки; в то же время, аналогичные характеристики для конкурентных разработок представляют собой коммерческую тайну и могут быть оценены лишь приблизительно.

4.2 Оценка готовности проекта к коммерциализации

Важнейшим результатом реализации любого проекта, работы является его продвижение на новый этап, поэтому следует заранее просчитать все составляющие части проекта, в том числе степень его проработанности с позиции коммерциализации.

Степень проработанности научного проекта оценивалась по пятибалльной шкале, со следующими значениями:

1 балл – не проработанность проекта,

2 балла – слабую проработанность,

3 балла – выполнено, но в качестве не уверен,

4 балла – выполнено качественно,

5 баллов – имеется положительное заключение независимого эксперта

Уровень имеющихся знаний у разработчика оценивался следующим образом:

1 – не знаком или мало знаю,

2 – в объеме теоретических знаний,

3 – знаю теорию и практические примеры применения,

4 – знаю теорию и самостоятельно выполняю,

5 – знаю теорию, выполняю и могу консультировать.

Таблица Э.2. Оценка готовности проекта к коммерциализации

Наименование	Степень проработанности научного проекта	Уровень имеющихся знаний у разработчика
Определен имеющийся научно-технический задел	4	4
Определены перспективные направления коммерциализации научно-технического задела	4	4
Определены отрасли и технологии (товары, услуги) для предложения на рынке	5	5
Определена товарная форма научно-технического задела для представления на рынок	4	4
Определены авторы и осуществлена охрана их прав	4	4
Проведена оценка стоимости интеллектуальной собственности	4	4
Проведены маркетинговые исследования рынков сбыта	4	2
Разработан бизнес-план коммерциализации научной разработки	2	2
Определены пути продвижения научной разработки на рынок	4	3
Разработана стратегия (форма) реализации научной разработки	4	4
Проработаны вопросы международного сотрудничества и выхода на зарубежный рынок	2	1
Проработаны вопросы использования услуг инфраструктуры поддержки, получения льгот	2	2
Проработаны вопросы финансирования коммерциализации научной разработки	2	2
Имеется команда для коммерциализации научной разработки	3	2
Проработан механизм реализации научного проекта	5	5
ИТОГО БАЛЛОВ	53	48

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 $Б_{сум}$ характеризует меру готовности научной разработки и ее разработчика к коммерциализации. Так, если значение $Б_{сум}$ получилось от 75 до 60, то такая разработка считается перспективной, а знания разработчика достаточными для успешной ее коммерциализации.

Из результатов, приведенных в таблице Э.2, видно, что данная разработка в настоящий момент еще рано говорить о выходе на финишную прямую и ближнесрочной коммерциализации времени может быть с натяжкой обозначена как перспективная. Следует однако учесть, что работа в данном направлении только начата, следовательно, к тому моменту, когда можно будет приступить к полномасштабной реализации проекта, ряд вышеуказанных показателей, таких как, например, «проработанность вопросов финансирования и коммерциализации разработки», «проработанность международного сотрудничества и выхода на зарубежный рынок» и «команда для коммерциализации», будут иметь более высокие значения.

SWOT-анализ

SWOT – Strengths, Weaknesses, Opportunities, and Threats (сильные стороны, слабые стороны, возможности и угрозы) – это комплексный анализ исследовательского проекта. SWOT-анализ применяют для исследования внешней и внутренней среды проекта. Итоговая матрица SWOT-анализа дана в таблице Э.3.

Таблица Э.3. – матрица SWOT

OT / SW	**Сильные стороны:** 1. Энергоэффективность и экономичность технологии. 2. Экологичность технологии. 3. Ресурсоэффективность	**Слабые стороны:** 1. Высокие капитальные затраты. 3. Высокие эксплуатационные затраты. 4. Чувствительность к чистоте и составу сырья.
Возможности: 1. Использование инновационной структуры ТПУ. 2. Использование отечественного сырья. 3. Ужесточение экологических требований. 4. Возможность модернизации технологии. 5. Снижение цены на сырье.	1. Совершенствование энергоэффективности технологии. 2. Соответствие современным экологическим требованиям. 3. Разработка более дешёвой технологии.	1. Большее задействование ресурсов ТПУ. 2. Усиление требований экологии стимулирует развитие отрасли
Угрозы: 1. Отсутствие спроса на технологию. 2. Высокий уровень конкуренции. 3. Создание конкурирующего аналога в более быстрые сроки. 4. Ограничения на экспорт.	1. Продвижение на рынок экологичных технологий. 2. Увеличение финансирования с целью углубления исследований. 3. Более полное взаимодействие со всеми участниками рынка.	1. Проведение исследований смежных процессов с целью снижения капитальных затрат. 2. Использование отечественного сырья и комплектующих.

В целом, для проекта характерен баланс сильных сторон и возможностей (экологичность, обширная база дешёвого сырья и т.д.) а так же слабых сторон и угроз (высокие капитальные затраты, низкий спрос и др.).

Планирование научно-исследовательской работы

4.3 Структура работ в рамках научного исследования. План проекта

В состав рабочей группы для выполнения исследования входят научные сотрудники, преподаватели, инженеры, техники и лаборанты, а также студенты. Составляется перечень этапов и работ в рамках исследования. По каждому виду запланированных работ устанавливается соответствующие исполнители. (таблица Э.4).

Таблица Э.4. Перечень этапов, работ и распределение исполнителей

	Основные этапы	Содержание работ	Должность исполнителя
	Разработка технического задания	Выбор направления исследований	Руководитель темы
	Выбор направления исследований	Составление и утверждение технического задания	Руководитель
		Календарное планирование работ по теме	Руководитель
		Подбор и изучение материалов по теме	Бакалавр
	Теоретические исследования	Проведение теоретических расчетов и обоснований	Руководитель, бакалавр
		Проведение компьютерных расчетов	
	Обобщение и оценка результатов	Оценка эффективности полученных результатов	Руководитель, бакалавр
	Испытание образца	Лабораторные испытания	Бакалавр, лаборант
	Оформление отчета но НИР	Оформление отчета	Бакалавр

При планировке исследовательской работы, необходимо составить календарный график проекта (таблица Э.5).

Таблицам Э.5. Календарный график проекта

Код работы	**Название**	**Дата начала работ**	**Дата окончания работ**	**Состав участников** (ФИО ответственных исполнителей)
1	Подготовка оборудования и материалов	*08.02.15*	*22.02.16*	Мандыч Ю.А. Мустафин Р.Н.
2	Получение бетулина	*22.02.16*	*07.03.16*	Мандыч Ю.А. Мустафин Р.Н.
3	Микробиологическая трансформация бетулина	*03.05.16*	*16.05.16*	Мандыч Ю.А. Мустафин Р.Н.
3	Аналитические исследования продуктов ИК-спектроскопией, ЯМР	*18.05.16*	*25.05.16*	Мандыч Ю.А. Мустафин Р.Н.
5	Оценка результатов	*23.05.16*	*.06.16*	Мандыч Ю.А. Мустафин Р.Н.

4.4 Бюджет научного исследования

Бюджет затрат на выполнение исследований составлялся с учетом проведения НИР за весенний семестр (120 дней). Затраты калькулировали по статьям, включавшим прямые и накладные затраты.

Прямые – это затраты на сырье, энергию, амортизацию.

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

Основные статьи калькуляции:

1) Затраты на сырье и материалы;
2) Фонд заработной платы исполнителей;
3) Амортизация оборудования;

4) Накладные расходы, включая расходы на содержание административно-управленческого аппарата, на охрану труда и.т.п.;
5) Прочее.

4.5 Сырье и материалы

Статья расходов включает затраты на приобретение реактивов и материалов, необходимых для выполнения научно-исследовательской работы. Количество материальных ценностей определяется по нормам расхода. Расчет стоимости материальных затрат ведут по действующим прейскурантам. Транспортно-заготовительные расходы также включены В стоимость материальных затрат и составляют 5 % от стоимости. Сюда же включают затраты канцелярские принадлежности для оформления документации. Результаты расчета затрат на сырье, материалы и покупные изделия в процессе проведения НИР представлены в таблице:

Таблица Э.6. – Сырье и материалы

№	Наименование оборудования	Кол-во единиц оборудования	Цена единицы оборудования, тыс. руб.	Общая стоимость оборудования, тыс. руб.
1	Хлороформ	1 кг	144	144
2	Этилацетат	1 кг	80	80
3	Натрия гидроокись	1 кг	30	30
4	Кислота серная	1 кг	15	15
5	Спирт этиловый очищенный 96%	1 кг	214,5	229
7	ацетон	1 кг	179.80	179.80
8	Гексан	1 л	950	950
9	Бензол	1 л	250	250
10	Кислота соляная	1,2 кг	169	169
Посуда химическая				
11	Колба круглодонная, 500 мл	2шт	220	440
12	Колба круглодонная К-3-250-34	2 шт	134	268
13	- колбы мерные на 50 и 100 см3	3	40	120
14	- цилиндры мерные с носиком на 25, 50, 100 см3	3	200	600

15	Пипетки градуированные на 5, 10 см3	5	25	125
16	Стаканы на 25, 50 см3	4	50	200
Прочее				
17	Фильтр бум.,«желтая лента»	1 уп	22	22
18	Халат белый х/б	2 шт	350	700
19	Перчатки латексные	30 пар	22	660
20	Шапочка медицинская	10	25	250
21	Бумага для принтера	1 упаковка	230	230
5350	5350	5350	7677	7677

4.6 Специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ

Данная статья включает затраты, связанные с обслуживанием, ремонтом, амортизацией спецоборудования – приборов, контрольно-измерительной аппаратуры, устройств, механизмов – необходимого для проведения работы.

К специальному оборудованию отнесятся роторный испаритель, аналитические весы, колбонагреватель, ИК-спектрометр, ГХМС-спектрометр, Оборудование находится как при университете, так и за его пределами.

Таблица Э.7. – Специальное оборудование

№ п/п	Наименование оборудования	Кол-во единиц оборудования	Цена единицы оборудования, тыс. руб.	Общая стоимость оборудования, тыс. руб.
1.	Масс-спектрометр высокого разрешения, “ThermoScientific”	1	25205397.25	25205397
2.	Роторный испаритель	1	1705000	1705000
3.	Ламинарный шкаф	1	356000	356000
4.	Термостат	1	42393	42393
5.	Шейкер	1	45209	45209
6	Колбонагреватель	1	4650	4650
7	Ик-спектрометр	1	559025	559025
8	Аналитические весы	1	12280	12280
Итого				27929954

Расчет затрат на электроэнергию определяется по формуле:

$$Е_э = \sum N_i \cdot Т_э \cdot Ц_э$$

где N_i – мощность электроприборов по паспорту, кВт; $Т_э$ – время

использования электрооборудования, час; Цэ – цена одного кВт·ч, руб.

$$Е_э = \sum N_i \cdot Т_э \cdot Ц_э = 1{,}28 \cdot 250 \cdot 1{,}82 = 582{,}4 \text{ руб.}$$

Линейная амортизация определяется по следующей формуле:

$$А = \frac{С}{Т_{обі}}$$

где С – стоимость оборудования, $Т_{обі}$ – норма использования оборудования, лет.

$$А = \frac{27929954{,}25}{25} = 1117198{,}16 \text{ руб.}$$

Для расчета основной зарплаты калькурируем оклады руководителя и лаборанта.

Таблица Э.8. – Расчет основной заработной платы

Исполнители	Оклад, руб	Районный коэффициент	Месячная зарплата, руб./мес.	Общие затраты по заработной плате, руб. (4 месяца)
Руководитель	16399.76	5432.93	21832,69	87330,76
Лаборант	13058	3917	16975	67900

Статья «отчисления во внебюджетные фонды» отражает обязательные отчисления по установленным законодательством РФ нормам органам государственного социального страхования, пенсионного фонда и медицинского страхования от затрат на оплату труда работников.

Величина отчислений во внебюджетные фонды определяется по следующей формуле:

$$З_{внеб} = k_{внеб} \cdot (З_{осн} + З_{доп}),$$

где $k_{внеб}$ – коэффициент отчислений на уплату во внебюджетные фонды (пенсионный фонд, фонд обязательного медицинского страхования и пр.).

Таблица Э.9. – Социальные отчисления

Исполнитель	**Основная заработная плата, руб.**
Руководитель проекта	87330,76
Лаборант	16975
Социальные отчисления ($k_{внеб}$ = 0,3)	

Руководитель проекта	6549,81
Лаборант	5092
Всего	**11641,81**

Величина накладных расходов, попавших в предыдущие статьи расходов (печать и ксерокопирование материалов исследования, оплата услуг связи, электроэнергии, почтовые расходы и др.), определяется по следующей формуле:

$$З_{накл} = (\text{сумма статей } 1 \div 7) \cdot k_{нр},$$

Где $k_{нр}$ – коэффициент, учитывающий накладные расходы. Величину коэффициента накладных расходов можно взять в размере 16%.

Формирование бюджета затрат научно-исследовательского проекта. Рассчитанная величина затрат научно-исследовательской работы является основой для формирования бюджета затрат проекта, который при формировании договора с заказчиком защищается научной организацией в качестве нижнего предела затрат на разработку научно-технической продукции.

Таблица Э.10 – Расчет бюджета затрат НТИ

Наименование статьи	Сумма, руб.
	Исп.1
1. Материальные затраты НТИ	7677
2. Затраты на спецоборудование для научных работ	27929954
3. Затраты на электроэнергию	582,4
4. Затраты по основной заработной плате исполнителей темы	155230,76
5. Социальные отчисления	11641,81
6. Накладные расходы	4468792,64
7. Бюджет затрат НТИ	32573879

ГЛАВА 5 СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСВЕННОСТЬ

В данной бакалаврской работе рассматривается безопасность и экологичность нахождения сотрудников в лаборатории. Безопасность включает в себя влияние опасных и вредных факторов, их анализ и меры их профилактики.

В настоящем разделе рассматриваются вопросы охраны труда, связанные с работой в лаборатории, а так же разрабатываются мероприятия по предотвращению воздействия на здоровье опасных и вредных факторов для работников лаборатории и создание безопасных условий труда для обслуживающего персонала.

Согласно [1] говориться, что необходимо выявить все вредные и опасные факторов для оценки их влияния на работника. Выполнение научно-исследовательской работы по данной тематике требует четкого соблюдения правил по технике безопасности и охраны труда работников: при работе с биологическими агентами; химическими реактивами; едкими и ядовитыми веществами, при работе с электрооборудованием (автоклав, ламинарный шкаф, сухожаровой шкаф и т.п.).

В микробиологической и химической лаборатории исследователь может подвергаться следующим факторам воздействия: биологическая опасность, УФ — излучение, электромагнитные поля, параметры микроклимата (шум, вибрация, температура воздуха, относительная влажность воздуха, скорость движения воздуха, инфракрасное излучение), параметры световой среды рабочей поверхности.

Одной из основных задач является внедрение на всех предприятиях и рабочих местах совершенных средств техники безопасности и безвредных условий труда, обеспечения санитарно-гигиенических условий, устраняющих производственный травматизм и профессиональные заболевания [2].

5.1 Оценка условий производственной среды

В соответствии с [2] каждый человек имеет право на труд в условиях, отвечающих требованиям безопасности и гигиены, и право на охрану здоровья. В соответствии с п. 5 (Условия и охрана труда, промышленная и экологическая безопасность) Генерального соглашения между общероссийскими объединениями профсоюзов, общероссийскими объединениями работодателей и Правительством Российской Федерации на 2014 - 2016 годы [3], обеспечение безопасности жизни и здоровья работников в процессе трудовой деятельности является одним из национальных приоритетов в целях сохранения человеческого капитала и рассматриваются в неразрывной связи с решением задач по улучшению условий и охраны труда, промышленной и экологической безопасности.

5.1.1 Защита от опасных и вредных факторов

Согласно [4] все вредные опасные факторы, воздействующие при эксплуатации оборудования, можно классифицировать следующим образом по группам, физические, биологические, химические, психофизиологические. В рамках данной работы следует выделить основные группы: химические и биологические.

В ходе выполнения научно-исследовательской работы исполнитель может подвергаться воздействию опасных и вредных производственных факторов:

а) санитарно-гигиенические: заражение биологическими агентами (микроорганизмами, бактериями и т.п.); нерациональное освещение, содержание вредных и отравляющих веществ в воздухе;

б) поражение электрическим током при прикосновении к открытым токоведущим частям электрооборудования или при нарушении изоляции проводов;

в) организационно - технические: неправильная организация труда и рабочего места (загроможденность помещения, присутствие ненужных и отсутствие необходимых для работы приборов и приспособлений), недостаточное обучение работников правилам технике безопасности.

Важной организационной мерой является установление научно обоснованных норм по гигиене труда. В соответствии с законодательством Российской Федерации, рабочие и служащие, связанные по роду своей деятельности с вредными и опасными условиями труда, должны в обязательном порядке проходить медицинский осмотр. В производственных помещениях следует иметь аптечки, укомплектованные медикаментами, для оказания первой доврачебной помощи. Работа с вредными и опасными химическими реактивами проводиться в специальных помещениях, оборудованных вытяжными шкафами.

Технические и организационные меры по предотвращению пожара или взрыва и противопожарной защите осуществляются в соответствии с [3] и [5].

Согласно п. 1.1.2 [6] вещества, используемые в технологических процессах, проводимых в данной работе, могут быть классифицированы как химически опасные и вредные.

В таблице 24 Характеристика химических веществ

Вещество	Величина ПДК, мг/м3	Характеристика	Класс опасности	Особенности воздействия на организм
Серная кислота [ГОСТ 4204-77 Реактивы. Серная кислота. Технические	1	Бесцветная, прозрачная, маслянистая жидкость, без запаха	2 [ГОСТ 12.1.005	Серная кислота и ее пары обладают сильным прижигающим и раздражающим слизистые оболочки

условия]				действием. При попадании на кожу и слизистые оболочки серная кислота вызывает тяжелые ожоги.
Соляная кислота [ГОСТ 3118-77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия]	5	Представляет собой бесцветную жидкость с резким запахом, дымящуюся на воздухе; смешивается с водой, бензолом и с эфиром.	3 [ГОСТ 12.1.007 -76]	При воздействии высоких концентраций — ожоги кожи; при воздействии паров кислоты - раздражение слизистых, в особенности носа; конъюнктивит; помутнение роговицы, охриплость, чувство удушья, покалывание в груди, насморк, кашель, иногда кровь в мокроте, острые боли в области

				желудка, рвота желтоватой слизью.
Перекись водорода [ГОСТ 10929-76 Перекись водорода. Технические условия]	0,3	Негорючая, пожаровзрывоопасная жидкость, является сильным окислителем, способна самопроизвольно разлагаться на воду и кислород, смешивается в любых соотношениях с водой.	2 [ГОСТ 12.1.007	Растворы перекиси водорода могут вызывать ожоги кожи и глаз, пары перекиси водорода - раздражение слизистых оболочек.
Этиловый спирт [ГОСТ 17299-78 Спирт этиловый	100	Легковоспламеняющаяся бесцветная жидкость с характерным	4 [ГОСТ 12.1.00	Категория и группа взрывоопасной смеси этилового спирта с

технический. Технические условия]		запахом. Область воспламенения 3,6-19% (по объему).	7 -76]	воздухом - IIA-T2. При пожаре следует использовать средства индивидуальной защиты органов дыхания фильтрующие противогазы марки Л или БКФ.

Химическая лаборатория, в которой проводился анализ, снабжена приточно-вытяжной вентиляцией и вытяжным шкафом для защиты органов дыхания и слизистой оболочки глаз. Перед началом работы (за 30 минут) в лаборатории включалась вентиляция и включалась в конце рабочего дня. Для предотвращения ожогов слизистой оболочки глаз и кожи (перекись водорода) использовали индивидуальные средства защиты (резиновые перчатки, спецодежда). Таким образом, при выполнении работы по теме: «Биотрансформация бетулина бактериями Rhodococcus sp» использовали индивидуальные средства защиты и соблюдали правила работы с горючими и легковоспламеняющимися жидкостями, поэтому уровень ПДК не превышал значений указанных в таблице 5.1.

5.1.2 Уровень шума и вибрации

Для разработки метода и проведения исследований в работе

использовалось различного уровня оборудования: термостат, ламинарный шкаф, сухожаровой шкаф, автоклав и т.д. которые являются источником шума и вибрации. Шум и вибрация ухудшают условия труда, оказывая вредное воздействие на организм человека. При длительном воздействии шума на организм человека происходят не желательные явления: снижение остроты зрения, слуха; повышение кровяного давления; снижение внимания. Согласно нормативным документам [7] уровень звука в помещении не должен превышать 50 дБА. Для предотвращения негативного воздействия шумовых характеристик оборудования на здоровье человека приборы установлены на фундаменты и амортизирующие прокладки, описанные в нормативных документах. По уровню шума, локальной и общей вибрации научно- исследовательская лаборатория с вышеперечисленным оборудованием относится к допустимому классу, ПДУ <25 дБА, что соответствует требования безопасного нахождения в лаборатории.

5.1.3 Защита от заражения биологическими агентами

В ходе выполнения научно-исследовательской работы в микробиологической лаборатории каждый сотрудник строго соблюдал следующие требования безопасности:

1. Работники должны быть в специальной спецодежде (класс В по GMP), которые необходимо одевать при входе и оставлять при выходе из помещения.
2. При работе с биологическими агентами необходимо надевать перчатки, маску.
3. Перенос БА и использованной посуды для обеззараживания осуществлять в закрывающихся емкостях, исключающих инфицирование во время транспортировки.
4. Во всех помещениях, где проводится работа с заразным материалом, не

реже одного раза в 2 неделю должна проводиться влажная уборка с дезинфицирующим средством (5 % раствор хлорамин или 3% раствор перекиси водорода) стен, пола, боксов и предбоксников. Мебель и оборудование обрабатывают 2 - 3%-ный раствором соды (бикарбоната натрия), 0,5 - 3%-ный водным раствором хлорамина. Рабочее место, где непосредственно проводится работа с культурами микроорганизмов, требует особенно тщательной обработки. Рабочий стол следует дезинфицировать не только до начала работы, но и после ее окончания. Для протирания поверхности стола можно использовать растворы: 70%-ный изопропилового или этиловый спирт, лизол, хлорамин.

5. Воздух во всех рабочих помещениях обеззараживается ежедневно при помощи бактерицидных ламп в течение 30-40 минут.

6. Обеззараживание рабочего места в ламинарном боксе также производится от 30-60 минут. Стерилизующая способность ламинарных боксов должна постоянно (не реже 6 месяцев) проверяться при помощи бактериологических питательных сред и фиксироваться также в журнале. Запрещается находиться в помещениях при включенной бактерицидной лампе.

7. Перед посевом следует разборчиво сделать надпись на пробирке (колбе или чашке Петри): название культуры и дату посева. Надпись делают маркером на стекле или на наклеенной этикетке.

5.1.4 Защита от воздействия электромагнитного излучения и электростатических полей

Требования защиты от воздействия электромагнитных полей (ЭСП) должны удовлетворять следующим [8,9.]. Допустимые уровни воздействия электростатических полей (ЭСП) регламентируются требованиями [10] и

санитарно- гигиеническими нормами. Согласно данным нормативным документам предельное значение напряжённости электрического поля составляет 5 кВ/м, предельно допустимый уровень напряженности (общее) — 8кА/м.

Оценка и нормирование электростатических полей осуществляется по уровню электрического поля дифференцированно в зависимости от времени его воздействия на работника за смену для условии общего (на все тело) и локального (кисти рук, предплечье) воздействия.

Работа по разработке метода контроля проводилась ежедневно, и исследователь подвергался воздействию электростатического поля.

Предельно допустимый уровень напряженности электростатического поля (Епду) при воздействии более 1 часа за смену Епду рассчитывали по формуле [12]:

$$ЕПДУ=\frac{60}{\sqrt{t}},$$

где t - время, ч

Установили, что при выполнении работы Епду составил 18 кВ/м, следовательно, пребывание ЭСП не регламентируется и не требует применения специальных средств защиты.

5.1.5 Защита от воздействия ультрафиолетового излучения

Работа по разработке метода контроля биоразложения нефтепродуктов включает в себя проведение микробиологического определения численности микроорганизмов (количество образующихся колоний, КОЕ). Так как работа ведется с биологическими агентами, то для предотвращения зараженности и контаминации помещений необходимо ежедневно в течение 30 мин (2 раза в день) проводить УФ-стерилизацию помещения (обеззараживание). Для обеззараживания помещения используются бактерицидные лампы с

длинноволновой областью 400-315 нм (УФА) и частотой 10-13 Гц. Согласно [10] допустимая интенсивность облучения работающих при наличии незащищенных участков поверхности кожи не более 0,2 м и периода облучения до 5 мин, длительности пауз между ними не менее 30 мин и общей продолжительности воздействия за смену до 60 мин - не должна превышать 50,0 Вт/м^2. Для предотвращения попадания УФ лучей (на прямых, не отраженных) на слизистую оболочку глаз и кожного покрова все работники лаборатории оставляли свое рабочее место. С целью защиты органов дыхания и слизистой оболочки глаз работу в помещении начинали через 30 минут после стерилизации. Так как, бактерицидные лампы имеют ограниченный срок годности, то время работы лампы постоянно фиксируется исследователем (дата, время работы, ответственное лицо). Так как работа выполнялась строго с соблюдением техники безопасности и охраны труда (использовались индивидуальные средства защиты), то значение допустимой интенсивности облучения не превысило 50 Вт/м .

5.1.6 Освещенность рабочих мест

Согласно [11] в зависимости от назначения помещений существуют требования к искусственному освещению. Применение на рабочих местах, на которых проводятся работы с высоким зрительным напряжением, одного местного освещения не допускается. При выполнении измерений в микробиологической лаборатории (работа со световым микроскопом, подсчет клеток, описание колоний) освещенность рабочего места должна быть согласно СНиП 23-05-95 в пределах 400 лк. Обеспечить это требование естественным освещением практически невозможно, поэтому должно применяться комбинированное освещение. При совмещенном освещении общественных зданий нормируемые значения КЕО должны составлять от нормированных значений КЕО при естественном освещении не менее 60%

для научно-исследовательских помещений.

При выполнении измерений в микробиологической лаборатории (работа со световым микроскопом, подсчет клеток, описание колоний) для освещения применяются люминесцентные лампы низкого давления с исправленной цветностью ЛДЦ и дневного света ЛД со светильниками рассеянного типа ОД. Необходимо ограничивать прямую блесткость от источников освещения, при этом яркость светящихся поверхностей в поле зрения не должна превышать 200 кд/м .

Показатель ослепленности для источников общего искусственного освещения в производственных помещениях не превышает 20, показатель дискомфорта в общественных помещениях не превышает 40.

Для операторов персональных компьютеров и видеодисплейных терминалов ограничивают неравномерность распределения яркости в поле зрения, при этом соотношение яркости между рабочими поверхностями не должно превышать 3:1 - 5:1, между рабочими поверхностями и поверхностями стен и оборудования 10:1.

Для осветительных установок общего освещения коэффициент запаса составляет 1,8 — 2,0. Коэффициент пульсации не превышает 5%.

Для обеспечения нормируемых значений освещенности в рабочих помещениях проводится чистка стекол оконных рам и светильников два раза в год и своевременная замена перегоревших ламп.

5.1.7 Электробезопасность

Основные причинами воздействия тока на человека являются: появление напряжения на металлических частях оборудования в результате повреждения изоляции. Наибольшую опасность при эксплуатации электрических устройств и проведении ремонтно-профилактических работ представляет поражение электрическим током вследствие присоединения к

токоведущим частям аппаратуры и к частям прибора, находящимся под напряжением. Наиболее опасным для человека является переменный ток с частотой 20 - 100 Гц. Опасной величиной тока является ток, равный 0,001 А, а смертельный 0,1 А.

Помещение лаборатории согласно ГОСТ Р12.1.019-2009 относится к 1-ой категории по условиям опасности поражения электрическим током, без опасности поражения электрическим током, в которых отсутствуют условия, создающие повышенную или особую опасность. Для предотвращения воздействия тока на человека в лаборатории выполнялись следующие условия:

1. Соблюдение соответствующих расстояний до токоведущих частей или путем закрытия (заземление электрооборудования) [12];
2. Ограждения токоведущих частей;
3. Применение блокировки аппаратов и ограждающих устройств для предотвращения ошибочных операций и доступа к токоведущим частям;
4. Применение предупреждающей сигнализации, надписей;
5. Целостность электрооборудования.

Кроме того, для адекватной работы приборов в помещении поддерживались следующие условия:

1. Температура окружающей среды от 10°С до 35 °С;
2. Относительная влажность 30 - 80% при 25°С;
3. Окружающая среда — невзрывоопасна, не содержащая значительного количества токопроводящей пыли, агрессивных газов.

Безопасность работы обеспечена в конструкции электрооборудования: термостат, ламинарный шкаф, сухожаровой шкаф. Металлический корпус приборов исключает возможность прикосновения к токоведущим частям (ТЧ), имеется зануление (класс защиты 1). В электрической схеме оборудования предусмотрен выключатель со световой сигнализацией для

включения прибора, кроме того, оборудование снабжено аварийной звуковой сигнализации, в случаи нештатных и чрезвычайных ситуаций (издается звуковой сигнал и оборудование отключается автоматически).

5.1.8 Пожарная безопасность

В соответствии с ФЗ N123-03 ст. 26 [13, 14] лабораторное помещение (аудитория 221/222) относится к категории А - повышенная пожаро—взрывоопасность.

С целью предупреждения и локализации пожаров и взрывов выполняются следующие требования/условия [14]:

1. разработан план эвакуации (рисунок), с которым ознакомлены сотрудники лаборатории.
2. для обнаружения пожара, оповещения и эвакуации людей установлена система пожарной сигнализации;
3. проводится систематический осмотр оборудования и электрических цепей;
4. в лаборатории находится необходимый набор первичных средств пожаротушения: ящик с сухим песком, асбестовое одеяло, ручной углекислотный огнетушитель типа ОП - 4, вода.

Рисунок 5.1 - План эвакуации при возникновении пожара в лаборатории 221/222 и размещения основного пожарного оборудования

5.2 Требования к рабочим помещениям

Производственные помещения корпуса № 2 ТПУ спроектированы в соответствии с требованиями [15] и [16]. Данные санитарные правила являются нормативно правовым документом, определяющим гигиенические требования по предотвращению воздействия на работающих вредных производственных факторов и охрану окружающей среды с целью улучшения условий труда и состояния здоровья работающих. Помещения оборудованы системами отопления, кондиционирования воздуха или эффективной приточно-вытяжной вентиляцией. Расчет воздухообмена проводится по теплоотдаче от машин, людей, солнечной радиации и искусственного освещения. Системы вентиляции и отопления в

лабораторном помещении обеспечивают параметры микроклимата.

Для проведения микробиологических исследований научно-исследовательская лаборатория 222-2 дополнительно снабжена приточновытяжной вентиляцией, смонтирована проводка для электробезопасности (напряжение 380В для автоклава). При организации работы в микробиологической лаборатории предусмотрены мероприятия по охране труда: улавливание и очистка технологических и вентиляционных выбросов; очистка и обезвреживание промышленных стоков; своевременное удаление, обезвреживание и утилизация отходов производства.

Для безопасной работы лаборатория разделена на зоны: "заразную" зону, где осуществляют манипуляции с биологическими агентами (БА) и их хранение; "чистую” зону, где не проводят работы с БА.

В "чистой" зоне лабораторий располагают:

■- гардероб для верхней одежды;

■- помещения для проведения подготовительных работ (препараторская, моечная, приготовление и разлив питательных сред и др.);

■-помещение для стерилизации питательных сред и лабораторной посуды (стерилизационная);

■- помещение с холодильной камерой или холодильниками для хранения питательных сред и диагностических препаратов;

■- комнаты для работы с документами и литературой;

■- подсобные помещения.

В "заразной” зоне располагают:

■- боксированные помещения для проведения микробиологических работ с биологическими агентами.

■- помещение «заразной зоны» должны быть оборудованы бактерицидными облучателями для обеззараживания воздуха и поверхностей. В "заразной" зоне в помещениях, где проводят непосредственную работу с БА, персонал работает в защитной одежде

(халате, маске, перчатках, шапочке).

5.2.1 Требования к микроклимату рабочих помещений

Согласно [17,18] показателями, характеризующими микроклимат, являются: температура воздуха, относительная влажность воздуха, скорость движения воздуха, интенсивность теплового излучения. Перечисленные параметры оказывают огромное влияние на функциональную деятельность человека, его самочувствие, здоровье, надежность работы.

Для комфортной работы в лаборатории соблюдались следующие показатели средней тяжести работ IIб, что согласуется с нормативной документацией [19]

1. Температура окружающей среды от 18°С (холодный период года) и в теплый период до 25 °С;
2. Относительная влажность 50 - 70% при 25°С;
3. Скорость движения: не более 0,4 (холодный период года) и 0,3 теплый период.
4. Интенсивность теплового облучения не превышало 70 Вт/м2 при величине облучаемой поверхности от 25-50% (работа ведется над пламенем горелки или факелами).

При соблюдении данных показателей перепад температуры воздуха по высоте рабочей зоны не превышал более 3 °С, по горизонтали - не более 5 °С. Для создания благоприятного микроклимата лаборатория снабжена системой отопления от охлаждения, а в теплый период года - жалюзями, от попадания прямых солнечных лучей.

5.3 Безопасность в чрезвычайных ситуациях

Мероприятия, проводимые во время чрезвычайных ситуаций (аварий,

стихийных бедствии, военных конфликтов), представляют собой проведение спасательных работ и неотложных аварийно-восстановительных работ в очаге поражения. Данные мероприятия должны проводиться на основании положения комплекса государственных стандартов по предупреждению и ликвидации чрезвычайной ситуации [20].

Для предотвращения различных чрезвычайных ситуаций сотрудники лаборатории в ходе выполнения работ должны соблюдать инструктаж по техники безопасности в химической и микробиологической лаборатории, разработанных в структурных подразделениях (Техника безопасности и охраны труда работы в аналитической лаборатории» №5-23).

Для предотвращения аварийных ситуаций в микробиологической лаборатории выполнялись следующие требования:

1. вход в биотехнологический блок посторонних лиц должен быть строго ограничен. Все сотрудники производят запись в журнале - начало и конец своей работы. При необходимости нахождения посторонних, они должны сопровождаться сотрудниками блока, их присутствие обязательно фиксироваться записью в журнале.
2. использовать материалы и средства личной гигиены, раздражающие кожу;
3. пипетировать ртом, переливать жидкий материал через край сосуда (пробирки, колбы с посевами);
4. хранить верхнюю одежду, личные вещи, а также продукты питания в «заразной зоне»;
5. употреблять пищу, курить;
6. сливать жидкие отходы в канализацию без предварительного обеззараживания;
7. оставлять после окончания работы на рабочих местах нефиксированные мазки или посуду с БА;
8. оставлять без надзора рабочее место во время выполнения любого вида работ с БА.

Во время военных конфликтов приводятся в боевую готовность формирования гражданской обороны. При угрозе нападения по радиотрансляционной сети передают сигналы «Воздушная тревога», «Отбой воздушной тревоги», «Радиационная опасность» и «Химическая тревога», «Биологическая опасность».

Для исключения возможности несчастных случаев должны проводиться обучение и проверка знаний работников требований безопасности труда в соответствии с [2,21].

ЗАКЛЮЧЕИЕ

Уровень образования целевого продукта в процессе биотрансформации бетулина с использованием не растущих клеток определяется условиями предварительного культивирования родококков. Невысокий выход целевого продукта и трудность отделения биомассы от среды предварительного культивирования ограничивают возможность использования бактериальных клеток.

Показана способность родокококков к направленному окислению органических соединений.

Показана способность актинобактерий рода *Rhodococcus* к биотрансформации растительного пентациклического тритерпеноида лупанового ряда бетулина.

Оптимальными условиями трансформации бетулина нерастущими клетками являются предварительное выращивание родококков в богатой питательной среде (МПБ).

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузнецов Б.Н., Левданский В.А., Еськин А.П., Полежаева Н.И. Выделение бетулина и суберина из коры березы, активированной в условиях взрывного гидролиза // Химия растительного сырья. – 1998. – № 1. – С. 5-9.
2. Бурлова И.В.. Препаративный синтез бетулоновой кислоты и бетулонового альдегида высокоселективным окислением бетулина : автореф. ... кандидата химических наук : 02.00.03. – Нижний Новгород, 2013. – 24 с.
3. Mukherjee R. Betulinic acid derivatives as anticancer agents: structure activity relationship / R. Mukherjee, V. Kumar, S. K. Srivastava // Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry. – 2006. – vol. 6. – №3. – С. 271–279.
4. Пат. WO2007141390 A1 Европейский патент, МПК C07J53/00, A61P31/14, C07J71/00, C07J63/00, A61K31/56, A61P31/56, A61P31/00, A61Q90/00. Betulin derived compounds useful as antiviral agents / S. Alakurtti, L. Pohjala, P. Tammela, P. Vuorela, J. Yli-Kauhaluoma, T. Aholo. Заявитель и патентообладатель: S. Alakurtti, L. Pohjala, P. Tammela, P. Vuorela, J. Yli-Kauhaluoma, T. Aholo, T. Valtion; № PCT/FI2007/050329; заявл. 06.06.2007; опубл. 13.12.2007.
5. Пат. US20100190795 A1, United States, МПК A01N43/58, C07C69/34, A01N37/02, A01P15/00, C07D213/30, A01N43/40, C07D487/02. Betulin derived compounds useful as antiprotozoal agents / J. Yli-Kauhaluoma, S. Alakurtti, J. Minkkinen, et al. №PCT/FI2007/050331; заявл. 06.06.2010; опубл.29.06.2010.

6. Yi J. E. Immunomodulatory effects of betulinic acid from the bark of white birch on mice / J. E. Yi, B. Obminska-Mrukowicz, L. Y. Yuan et al. // Journal of Veterinary Science.– 2010. – vol. 11. – №4. – С.305–313.
7. Alakurtti S. Anti-leishmanial activity of betulin derivatives / S. Alakurtti, P. Bergstrom, N. Sacerdoti-Sierra et al. Journal Antibiot (Tokyo). – 2010. – vol. 63. – № 3. – С. 123–126.
8. Пат. US8008280 B2, United States, МПК A01N45/00, A01N37/08, A61K31/56, A61K31/215.Betulinol derivatives as anti-HIV agents / B. B. Saxena, P. Rathnam. Заявитель и патентообладатель: Biorings Llc; № PCT/US2005/032363; заявл. 12.09.2005; опубл. 30.08.2011.
9. Пат. US8088757 B2, United States, МПК A61K31/56, C07J53/00. Betulinol derivatives as anti-cancer agents / B. B. Saxena, P. Rathnam. Заявитель и патентообладатель: Biorings Llc; № PCT/US2005/032460; заявл. 12.09.2005; опубл. 03.01.2012.
10. Fujioka, T.; Kashiwada, Y. Anti-Aids Agents. Betulinic Acid and Platonic Acid as Anti-HIV Principles from Syzygium claviflorum, and the Anti-HIV Activity of Structurally Related Triterpenoids // J. Nat. Prod. 1994, 57, 243–247.
11. Liu J. et al. Biotransformation optimization of betulin into betulinic acid production catalysed by cultured Armillaria luteo-virens Sacc ZJUQH100-6 cells // Journal of Applied Microbiology 110, 90–97 a 2010
12. Кузнецова С.А., Скворцова Г.П., Маляр Ю.Н., и др. Выделение бетулина из бересты березы и изучение его физико-химических и фармакологических свойств // Химия растительного сырья. – 2013. – № 2. – С. 93-100.
13. Тарасова Е.В. Биотрансформация бетулина актинобактериями рода rhodococcus: автореф. ... кандидата биологических наук: 03.02.03. – Пермь, 2014. – 30 с.
14. Патент на изобретение №2276980Кузнецова Светлана Алексеевна (RU),

15. Кузнецов БН, Лебедева АБ, Веселова О Ф, Пуликов АС
16. А.Г. Шлейкин ОСНОВЫ БИОКОНВЕРСИИ Учебно-методическое пособие СПб университет ИТМО – 57 с.
17. Яценко Н.Е. Толковый словарь обществоведческих терминов.-СПб., 1999 Dictionary of the English Language, Fifth Edition, 2011
18. Клиническая фармакокинетика: теоретические, прикладные и аналитические аспекты: руководство / Под ред. В.Г. Кукеса. - 2009. - 432 с
19. Селиванов А.С. Малоотходная технология биоконверсии растительного сырья: Автореф. дис. … канд. техн. наук. М., 1992. 27 с.
20. Селиванов А.С. Комплексная переработка целлюлозосодержащих отходов лесоперерабатывающих и сельскохозяйственных предприятий на основе биоконверсии // Биотехнология на рубеже веков: проблемы и перспективы. Киров, 2001. С. 89-91.
21. РАБИНОВИЧ Галина Юрьевна БИОКОНВЕРСИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО СЫРЬЯ Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук Тверь-2000
22. Li Kang. Bioconversion of Pulp and Paper Mills Sludge and Prehydrolysate Stream into Ethanol and Cellulase Enzyme. Dissertation …Doctor of Philosophy. Auburn 2011. – 227 p.
23. Muhammad Nasidi[1] / Reginald C. Agu[2] / Yusuf Deeni[1] / Idris Bala Giginyu[3] / Graeme Walker. http://www.degruyter.com/view/j/bioeth.2015.2.issue-1/bioeth-2015-0001/bioeth-2015-0001.xml - aff1Bioconversion of degraded husked sorghum grains to ethanol. Bioethanol. Volume 2, Issue 1, ISSN (Online) 2299-6788, DOI: 10.1515/bioeth-2015-0001, August 2015
24. Shalom Chinedu Bioconversion of Cellulosic Wastes into a Valuable Resource: Cellulosic wastes - A Valuable Resource for Industrial Organisms, Enzymes, Media and Fermentation Substrates/ LAP Lambert Academic Publishing, 2011 г., 216 стр.,
25. Муратова, ЕИ Биотехнология органических кислот и белковых

препаратов: учебное пособие Тамбов: Изд-во Тамб. гос. техн. ун-та, 2007. – 80 с/

26. Волова Т. Г Биотехнология Новосибирск Изд-во СО РАН 1999 – 252 с.
27. Susanne Fetzner Bioconversion of pyrimidine by resting cells of quinoline-degrading bacteria // FEMS Microbiology Letters 176 (1999) 291-299]
28. Руденко Е.Ю. Влияние органических компонентов на эффективность биоремедиации нефтезагрязненных почв: научное обоснование и практическое применение. Диссертация на соискание ученой степени доктора технических наук. — Самара, СамГТУ, 2014. — 355 с.
29. Наумова Римма Павловна (RU) Зиганшин Айрат Мансурович (RU) Хиляс Ирина Валерьевна (RU) Способ биоремедиации воды, загрязненной тринитротолуолом (RU 2482076):
30. Дехтярь Евгений Фёдорович (RU) Янгулова Галина Амировна (RU) Будник Владимир Александрович (RU) Крупин Петр Владимирович (RU) Способ очистки сточных вод от фенольных соединений (RU 2476385):
31. Колупаев А.В. Почвенные микроорганизмы-биодеструкторы органических пестицидов: дис. ... канд. биол. наук. Киров, 2010.
32. M. Petre, G. Zarnea, P. Adrian, E. Gheorghiu. Biodegradation and bioconversion of cellulose wastes using bacterial and fungal cells immobilized in radiopolymerized hydrogels // Resources, Conservation and Recycling 27 (1999) 309–332
33. Bashir Ahmad, Sahar Nigar, S. Sadaf Ali Shah, Shumaila Bashir, Javid Ali, Saeeda Yousaf and Javid Abbas Bangash. Isolation and Identification of Cellulose Degrading Bacteria from Municipal Waste and Their Screening for Potential Antimicrobial Activity // World Applied Sciences Journal 27 (11): 1420-1426, 2013
34. J. Pe´rez Æ J. Mun˜oz-Dorado T. de la Rubia Æ J. Martı´nez
35. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview // Int Microbiol (2002) 5: 53–63

36. J. P. H. van Wyk , M. Mohulatsi. Biodegradation of Waste Cellulose // Journal of Polymers and the Environment 2003, Volume 11, Issue 1, pp 23-28
37. Sławomir WIERZBA, Małgorzata NABRDALIK. BIODEGRADATION OF CELLULOSE IN BOTTOM SEDIMENTS OF TURAWA LAKE // Physicochemical Problems of Mineral Processing, 41 (2007), 227-235
38. Зябрева, Надежда Владимировна. Прямая биоконверсия целлюлозосодержащих материалов термофильными анаэробами. Диссертация... кандидата технических наук, Москва, 2001 – 198 с.
39. Ноговицина, Е. М. Изучение способности алканотрофных родококков к биотрансформации стигмаст-5-ен-3бета-ола [Текст] / Е. М. Ноговицина [и др.] // Вестник Пермского университета. - 2004. – N 2. – С. 118-122.
40. Гаврин, А. Ю. Изучение углеводородокисляющей активности родококков, иммобилизованных в макропористом криогеле поливинилового спирта [Текст] / А. Ю. Гаврин [и др.] // Вестник Пермского университета. - 2007. - N 5. - С. . 113-116.
41. Parshikov Igor A Khasaeva Fatima M . Bioconversion of 2-Ethylpyridine by Beauveria bassiana // Young Scientist". #15 (95). August 2015 Biology 241-243
42. Akbar Esmaeili Elham Hashemi Biotransformation of myrcene by *Pseudomonas aeruginosa* // Chemistry Central Journal 2011 – режим доступа: http://ccj.springeropen.com/articles/10.1186/1752-153X-5-26
43. Четвериков С. П., Валиуллин Э. Г., Гареева Э. Р. Боремедиация замазученного грунта с помощью микробиологических препаратов // Вестник Башкирского университета Выпуск № 3 / том 18 / 2013 С. 723-725.
44. Shanahan, Peter. (2004) Bioremediation. Waste Containment and Remediation Technology, Spring 2004, Massachusetts Institute of

Technology, MIT Open Course Ware. http://ocw.mit.edu/NR/rdonlyres/Civil-andEnvironmental-Engineering/1-34Spring2004/335613D5-6D6F-413F-9098-
45.453E8AC20BC2/0/lecture12.pdf
46. К.А. Леонов, А.П. Асташкина XIV Изучение деструкции нефти и нефтепродуктов углеводородокисляющими микроорганизмами // Всероссийская научно-практическая конференция имени профессора Л.П. Кулёва студентов и молодых ученых с международным участием, Секция III. Теоретические и прикладные аспекты физической и аналитической химии ТПУ, Томск, 2013. – 261-262
47. Fragoeiro, Silvia Isabel de Sousa. (2005) Use of Fungi in Bioremediation of Pesticides. Cranfield University Ph.D. Thesis. https://dspace.lib.cranfield.ac.uk/bitstream/1826/906/2/Fragoeiro+thesis.pdf#search=%22bioremediation%20of%20pesticides%20and%20herbicides%22
48. S. Jilani, M.A. Khan. Pesticide removal in bioaugmented activated sludge using principal component analysis Journal of Biodiversity and Environmental Sciences. Vol. 3, No. 11, p. 161-170, 2013
49. Патент RU 2041951 СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕДНИЗОЛОНА // Редикульцев Ю.В.; Суходольская Г.В.; Кощеенко К.А.; Кудряшов В.К. – Опубл. 20.08.1995
50. A.Y. Arinbasarova, A.G. Medentsev, V.K. Akimenko, K.A. Koshcheyenko, G.K. Skryabin. Redox reactions in hydrocortisone transformation by Arthrobacter globiformis cells // Journal of Steroid Biochemistry, 1985. – Vol. 23, Iss. 3, Pp. 307-312.
51. Безбородов А.М. Биотехнология продуктов микробного синтеза. – М.: ВО Агропромиздат, 1991. - 354 с.
52. Пономарев, Д. А., Фёдорова Э. И. Основы химии терпенов: учебное пособие. Сыктывкар: СЛИ, 2014. – 56 с.
53. Паршиков И. А., Хасаева Ф. М. Микробиологическая трансформация

лекарств из серии хинолонов // Молодой ученый. – 2016. – №1. – С. 60-69.

54. Де Майо Поль. Терпены / Де Майо Поль. – Москва: Иностранная литература, 1963. – 494 с.

55. Толстиков А.Г. Бетулин и его производные. Химия и биологическая активность / А.Г. Толстиков, О.Б. Флехтер, Э.Э. Шульц, Л.А. Балтина // Химия в интересах устойчивого развития. – 2005. - №3. - С. 1–30.

56. E.W.H. Hayek. A Bicentennial of Betulin / E.W.H. Hayek, U.Jordis, W.Moche, F.Sauter // Phytochemistry. – 1989. – vol. 28. – С. 2229.

57. Кузнецов Б.Н. Совершенствование методов выделения, изучение состава и свойств экстрактов березы. / Б.Н. Кузнецов, С.А. Кузнецова, В.А. Левданский. // Химия в интересах устойчивого развития. – 2005. – № 13. – С. 391-400.

58. Пат.5750578 A United States, МПК A01N 27/00, A01N 31/00. Viricides / R. M. Carlson, P. A. Krasutsky, M. Reza-Ul Karim. Заявительипатентообладатель:Regents Of The University Of Minnesota. № US 08/798,900; заявл. 11.02.1997; опубл. 12.05.1998.

59. Пат. 2172178 Российская Федерацтя, МПК A61K35/78, C08H5/04. Способ получения бетулина. / Г.В. Сироткин, Ю.И. Стернин.Заявитель и патентообладатель: Г.В. Сироткин, Ю.И. Стернин. № 2000129749/14; заявл. 29.11.2000; опубл. 20.08.2001.

60. Пат. 2192879 Российская Федерацтя, МПК A61K35/78, C08H5/04. Способ получения бетулина. / Ю.И. Стернин.Заявитель и патентообладатель: ЗАО «СНС-Фарма». № 2002101403/14; заявл. , 04.01.2002; опубл. 20.11.2002.

61. А.В. Белоконь. Известия высших учебных заведений. Северо–Кавказский регион / А.В. Белоконь, Е.Г. Гежа, А.В. Павленко, В.С.

Золотарев // Серия «Технические науки». – Новочеркасск. – Южный федеральный университет. – 1993. – № 1, 2. – С. 24-26.

62. Пат .20030153776 United States, МПК C07J 53/00. Process for obtaining betulin / M. Sauter, C. Bender. Заявительипатентообладатель: Boehringer Ingelheim Pharma Gmbh & Co. Kg. № US 10/356,295; заявл. 31.01.2003; опубл.14.08.2003.

63. Пат. 2184120 Российская Федерация, МПК C07J53/00, C07J63/00. Способ получения бетулина / В.И. Рощин, Н.Ю. Шабанова, Д.Н. Ведерников. Заявитель и патентообладатель: В.И. Рощин; № 2001103062/04; заявл. 02.02.2001; опубл: 27.06.2002.

64. Пат. 2138508 Российская Федерация, МПК C07J53/00, C07J63/00. Способ выделения бетулинола / А.Н. Кислицын, И.И. Сластников, А.Н. Трофимов. Заявитель и патентообладатель: Центр. научно-исслед-ий и проектный инст-т лесохим-ой пром-ти. № 98115860/04; заявл. 17.08.1998; опубл. 27.09.1999.

65. Кузнецов Б.Н. Совершенствование методов выделения, изучение состава и свойств экстрактов березы. / Б.Н. Кузнецов, С.А. Кузнецова, В.А. Левданский. // Химия в интересах устойчивого развития. – 2005. – № 13. – С. 391-400.

66. Садриева О.А. Кинетика извлечения бетулина из отходов переработки березы. / О.А. Садриева, Л.И.Селянина. – Архангельск. – 2002. II Всероссийская конференция Химия и технология растительных веществ 24-27 июня 2002 г.

67. Пат. 2352350 Российская Федерация, мпк A61K36/185. СПОСОБ ПЕРЕРАБОТКИ КОРЫ БЕРЕЗЫ / В.А. Левданский Владимир Александрович, А.В. Левданский, Б.Н. Кузнецов. Заявитель и патентообладатель: Инст. химии и хим-ой тех-гии СО РАН. № 2008102254/15; заявл. 21.01.2008; опубл. 20.04.2009

68. Кузнецова С.А. Выделение бетулина из бересты березы и изучение его физико-химических и фармакологических свойств. / С.А. Кузнецова, Г.П. Скворцова, Ю.Н.Маляр и др.// Химия растительного сырья. № 2. –. – 2013. – С. 238.

69. Пат. 2270202 Российская Федерация, МПК C07J53/00, C07J63/00. Способ получения бетулина и лупеола / М.С. Юнусов, Н.Г. Комиссарова, Н.Г. Беленкова.Заявитель и патентообладатель: Инст-т орган-ой химии Уфимского науч. центра РАН. № 2004122279/04; заявл. 19.07.2004; опубл. 20.02.2006.

70. Пат. 2131882 Российская Федерация, МПК C07J53/00, C07J63/00. Способ получения бетулина. / В.А. Левданский, Н.И. Полежаева Н.И, А.П. Еськин, В.А. Винк, Б.Н. Кузнецов. Заявитель и патентообладатель: Инст-т химии и хим. технологии СО РАН. № 98106093/04; заявл. 26.03.1998; опубл. 20.06.1999.

71. Guoling Z. Simultaneous determination of betulin and betulinic acid in white birch bark using RP-HPLC / Z. Guoling, Y. Weidong, C. Dan // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2007. – vol. 43. – № 3. – С. 959–962.

72. Ilyin S.G., Malinovskaya G.V., Uvarova N.I., Elyakov G.B., Antipin M.Yu., Struchkov Yu.T. X-ray analysis of betulafolienetetraol oxide, a triterpene isolated from Betula costata Trautv // Tetrahedron Lett. 1982. Vol.23. N 48. P. 5067-5070.

73. Pasich J., Pojda M. Naturaline i polsyntetyczne tenzydy. Cz. VII. Prosty sposob otrzymywania betuliny // Farmac pol. 1974. Vol. 30. N 8. P.771-772.

74. А.С. 382657 СССР. Способ выделения бетулина и суберина / Т.И. Федорищев, В.Г. Калайков // БИ. № 23. 1973. С. 66.

75. Базарнова, Ю. Г. Биологическая активность сухого экстракта бересты и его применение в масложировых продуктах // Процессы и аппараты

пищевых производств [Электронный ресурс]. — 2011. — №2. – Режим доступа: http://processes. open-mechanics.com/articles/327. pdf.

76. Почицкая, Воропай ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ БЕТУЛИНА В КАЧЕСТВЕ МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ К ПИЩЕ // пищевая промышленность: наука и технологии № 2 (28) 2015. С. 60-64

77. Tang, J.J. Inhibition of SREBP by a small molecule, betulin, improves hyperlipidemia and insulin resistance and reduces atherosclerotic plaques. /J.J. Tang, J. – G. Li, Wei Qi, Wen-Wen Qiu, Pei-Shan Li, Bo-L. Li and Bao-Liang Song // Cell Metabolism. – 2011. – №13. – P. 44–56.

78. Винокурова, Р. И. Изменчивость накопления бетулина и суберина в бересте Betula pendula Roth. в зависимости от географической зональности / Р.И. Винокурова, И.Ю. Трошкова // ИВУЗ. «Лесной журнал». – 2008. – №3. – С. 126 – 130.

79. Винокурова, Р. И. Оценка биоиндикационных свойств бетулина и суберина в бересте березы повислой / Р. И. Винокурова, И. Ю. Трошкова, А. И. Винокуров // Вестник МГТУ. Серия «Лес. Экология. Природопользование. – 2009. – №1. – С. 81– 87

80. Балтина Л. А. Синтез и противовоспалительная активность новых ацилпроизводных бетулина / // Химико – фармацевтический журнал. – 2002. – №9. – С. 29–32.

81. Лигостаева Ю. В. Фармакогностическое исследование бересты и перспективы ее использования в медицине. Диссертация …кандидата фармацевтических наук. Новосибирск – 2015. – 192 с.

82. A. Sami. Pharmacological properties of the ubiquitous natural product betulin / European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2006. – №29. – P. 1 – 13

83. Е. И. Бореко. Получение бетулиновой кислоты из экстракта бетулина. Противовирусная и противоязвенная активность некоторых родственных терпеноидов // Химико – фармацевтический журнал. – 2002. – №9. – С. 26 – 28

84. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору, утверждены Решением Комиссии Таможенного союза от 28 мая 2010 года №299.

85. ГОСТ Р 54653—2011 Удобрения органические. Методы микробиологического анализа. Национальный стандарт. – М., Стандартинорм. – 24 с.