

Школа Инженерная школа природных ресурсов

Направление подготовки 18.03.01 «Химическая технология»

Отделение школы (НОЦ) Отделение химической инженерии

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

Тема работы
Исследование влияния солей лития на жизнеспособность бактерий

УДК 579.84:546.34-38

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д5Б	Бирюков Михаил		

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Чернова Анна Павловна	к.х.н., доцент		

КОНСУЛЬТАНТЫ ПО РАЗДЕЛАМ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОСГН	Рыжакина Татьяна Гавриловна	к.э.н., доцент		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ООД	Винокурова Галина Федоровна	к.т.н., доцент		

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Руководитель ООП	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Михеева Елена Валентиновна	к.х.н., доцент		

ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ ПО ООП

Код результата	Результат обучения
<i>Профессиональные компетенции</i>	
Р1	Применять базовые и специальные, математические, естественнонаучные, социально-экономические и профессиональные знания в профессиональной деятельности
Р2	Применять знания в области современных химических технологий для решения производственных задач
Р3	Ставить и решать задачи производственного анализа, связанные с созданием и переработкой материалов с использованием моделирования объектов и процессов химической технологии
Р4	Разрабатывать новые технологические процессы, проектировать и использовать новое оборудование химической технологии, проектировать объекты химической технологии в контексте предприятия, общества и окружающей среды
Р5	Проводить теоретические и экспериментальные исследования в области современных химических технологий
Р6	Внедрять, эксплуатировать и обслуживать современное высокотехнологичное оборудование, обеспечивать его высокую эффективность, выводить на рынок новые материалы, соблюдать правила охраны здоровья и безопасности труда на химико-технологическом производстве, выполнять требования по защите окружающей среды
<i>Универсальные компетенции</i>	
Р7	Демонстрировать знания социальных, этических и культурных аспектов профессиональной деятельности

P8	Самостоятельно учиться и непрерывно повышать квалификацию в течение всего периода профессиональной деятельности
P9	Активно владеть иностранным языком на уровне, позволяющем разрабатывать документацию, презентовать результаты профессиональной деятельности
P10	Эффективно работать индивидуально и в коллективе, демонстрировать лидерство в инженерной деятельности и инженерном предпринимательстве, ответственность за результаты работы и готовность следовать корпоративной культуре организации

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
 федеральное государственное автономное
 образовательное учреждение высшего образования
 «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)

Школа Инженерная школа природных ресурсов
 Направление подготовки (специальность) 18.03.01 «Химическая технология»
 Уровень образования Бакалавриат
 Отделение школы (НОЦ) Отделение химической инженерии
 Период выполнения (осенний / весенний семестр 2018 /2019 учебного года)

Форма представления работы:

бакалаврская работа

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

КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН выполнения выпускной квалификационной работы

Срок сдачи студентом выполненной работы:	
--	--

Дата контроля	Название раздела (модуля) / вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
19.02.2019	Обзор литературы	20
07.05.2019	Выполнение экспериментов	30
14.05.2019	Разработка раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»	10
17.05.2019	Обработка полученных данных	30
22.05.2019	Разработка раздела «Социальная ответственность»	10

СОСТАВИЛ:

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Чернова Анна Павловна	к.х.н., доцент		

СОГЛАСОВАНО:

Руководитель ООП

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Михеева Елена Валентиновна	к.х.н., доцент		

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)

Школа Инженерная школа природных ресурсов
Направление подготовки (специальность) 18.03.01 «Химическая технология»
Отделение школы (НОЦ) Отделение химической инженерии

УТВЕРЖДАЮ:
Руководитель ООП

(Подпись)
(Дата)
(Ф.И.О.)

ЗАДАНИЕ
на выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

бакалаврской работы

(бакалаврской работы, дипломного проекта/работы, магистерской диссертации)

Студенту:

Группа	ФИО
2Д5Б	Бирюкову Михаилу

Тема работы:

Исследование влияния солей лития на жизнеспособность бактерий	
Утверждена приказом директора (дата, номер)	

Срок сдачи студентом выполненной работы:	
--	--

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:	
Исходные данные к работе <i>(наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к особенностям функционирования (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.).</i>	Объект исследования: бактерии рода <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> и <i>Escherichia coli</i>, соли лития: пируват, аскорбат, хлорид. Предмет исследования: действие солей лития на рост и жизнеспособность бактерий. Провести исследование в условиях благоприятной питательной среды, а также в стрессовых условиях при действии на клетки угнетающих факторов: отсутствие

	питательных веществ, окислительный стресс, действие антибиотиков.
Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов <i>(аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).</i>	Литературный обзор по тематике научно-исследовательской работы. Проведение комплекса экспериментов для достижения цели исследования. Анализ и обсуждение результатов проведенной работы. Анализ экономической эффективности и ресурсоэффективности проекта. Анализ рисков и опасностей проведения исследования и составления перечня нормативов для их регулирования. Формулировка выводов и заключений по работе.
Перечень графического материала	

Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы

Раздел	Консультант
Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	Рыжакина Татьяна Гавриловна
Социальная ответственность	Винокурова Галина Федоровна

Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:

Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику	
--	--

Задание выдал руководитель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Чернова Анна Павловна	к.х.н., доцент		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д5Б	Бирюков Михаил		

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»

Студенту:

Группа	ФИО
2Д5Б	Бирюкову Михаилу

Школа	ИШПР	Отделение	ОХИ
Уровень образования	Бакалавриат	Направление/специальность	Химическая технология

Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:

1. <i>Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих</i>	<i>Приблизительный бюджет научного исследования, в том числе научно-технического оборудования, составляет около 510 тыс. руб.</i>
2. <i>Нормы и нормативы расходования ресурсов</i>	<i>В соответствии с ГОСТ 14.322-83 «Нормирование расхода материалов» и ГОСТ Р 51541-99 «Энергосбережение. Энергетическая эффективность»</i>
3. <i>Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования</i>	<i>Налоги рассчитать по упрощенной системе налогообложения (30% от выручки), ставку дисконтирования принять равной 0,1</i>

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

1. <i>Оценка, перспективности и альтернатив проведения НИ с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения</i>	<i>Проведение предпроектного анализа. Определение целевого рынка. Определение целей и ожиданий. Выполнение SWOT-анализа.</i>
2. <i>Планирование процесса управления НИИ: структура и график проведения, бюджет,</i>	<i>Разработка плана и бюджета проекта исследования</i>
3. <i>Определение ресурсной, финансовой, экономической эффективности</i>	<i>Проведение оценки экономической эффективности исследования</i>

Перечень графического материала:

1. Оценка конкурентоспособности технических решений
2. Матрица SWOT
3. График проведения НИИ
4. Определение бюджета НИИ
5. Оценка ресурсной, финансовой и экономической эффективности НИИ

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОСГН	Рыжакина Татьяна Гавриловна	К. э. н., доцент		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д5Б	Бирюков Михаил		

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»

Студенту:

Группа	ФИО
2Д5Б	Бирюкову Михаилу

Школа	ИШПР	Отделение (НОЦ)	ОХИ
Уровень образования	Бакалавр	Направление/специальность	Химическая технология

Тема ВКР:

Исследование влияния солей лития на жизнедеятельность бактерий	
Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:	
1. Характеристика объекта исследования (вещество, материал, прибор, алгоритм, методика, рабочая зона) и области его применения	Объектом исследования являются бактерии видов <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> и <i>Escherichia coli</i>. Рабочая зона – научно-исследовательская микробиологическая лаборатория ОХИ НИ ТПУ. Область применения результатов исследования – биотехнология.
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности: – специальные (характерные при эксплуатации объекта исследования, проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства; – организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны.	- "Трудовой кодекс Российской Федерации" от 30.12.2001 N 197-ФЗ (ред. от 01.04.2019) - ГОСТ 12.1.008-76 ССБТ. Биологическая безопасность. Общие требования. - ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности - ГОСТ 12.2.032-78 ССБТ. Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические требования. Так как большая часть времени, проведенного в лаборатории, затрачивается на работу сидя, то рабочая зона обустраивается в соответствии с ГОСТ 12.2.032-78.
2. Производственная безопасность: 2.1. Анализ выявленных вредных и опасных факторов 2.2. Обоснование мероприятий по снижению воздействия	Работник подвержен воздействию следующих вредных и опасных факторов: - несоответствующие нормативам параметры микроклимата;

	- ультрафиолетовое излучение; - наличие оборудования с горячими поверхностями; - оборудование под давлением; - химические реактивы 2 и 4 классов опасности; - легковоспламеняющиеся жидкости; - микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности.
3. Экологическая безопасность:	- На атмосферу оказывают влияние вещества, способные попадать в воздух через вентиляцию лаборатории; - Для гидросферы представляют опасность жидкие органические, неорганические и биологические отходы, - Основной угрозой для литосферы являются твердые отходы, содержащие биологический материал и опасные вещества.
4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях:	Потенциальными ЧС являются пожар, взрыв, а также загрязнение химическими веществами.

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	
--	--

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ООД	Винокурова Галина Федоровна	к.т.н., доцент		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д5Б	Бирюков Михаил		

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа включает 96 страниц, 12 рисунков, 27 таблиц, 63 источника литературы.

Ключевые слова: соли лития, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Escherichia coli*, стимуляторы роста, ингибиторы роста.

Объект исследования: бактерии видов *Acinetobacter calcoaceticus* и *Escherichia coli*, а также соли лития: пируват, аскорбат и хлорид.

Цель работы: исследовать влияние солей лития на процессы жизнедеятельности бактерий.

В ходе исследовательской работы изучалось влияние солей лития на рост бактерий на благоприятной питательной среде и на жизнеспособность бактерий в условиях стресса.

В результате исследования установлено, что действие солей лития определяется видом бактерий и спецификой метаболизма клетки. Использование органических солей лития позволяет добиться более сложных биологических эффектов, обусловленных синергией или антагонизмом действий катиона и анионов.

Область применения: результаты работы могут быть применены в дальнейших исследованиях в областях биотехнологии и медицины.

Бакалаврская работа выполнена в Отделении химической инженерии НИ ТПУ.

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

Выполнил: студент группы 2Д5Б М. Бирюков.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	14
1 Обзор литературы	16
1.1 Применение солей лития в медицине	16
1.2 Влияние лития на клетки микроорганизмов	17
1.3 Питание микроорганизмов.....	21
Требования к питательным веществам.....	22
1.4 Метаболизм прокариотической клетки	23
1.4.1 Катаболизм	23
1.4.2 Анаболизм.....	27
1.4.3 Регуляция метаболизма	27
1.5 Влияние физико-химических факторов на микроорганизмы.....	29
1.6 Характеристика бактерий <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	32
1.7 Характеристика бактерий <i>Escherichia coli</i>	32
2 Экспериментальная часть.....	34
2.1 Объекты исследования	34
2.2 Приготовление питательных сред и растворов.....	35
2.2.1 Приготовление мясопептонного агара	35
2.2.2 Приготовление мясопептонного бульона.....	36
2.2.3 Приготовление физиологического раствора	36
2.2.4 Стандарты мутности McFarland	36
2.2.5 Приготовление 1% раствора серной кислоты.....	37
2.2.6 Приготовление 1,175 % раствора хлорида бария 2-водного	37
2.2.7 Приготовление стерильной воды	38
2.3 Методики проведения эксперимента	38
2.3.1 Исследование влияния солей на рост бактерий.....	38
2.3.2 Подсчет бактерий высевом на плотную питательную среду по методу Коха	39
2.3.3 Построение кривых роста	40

2.3.4 Измерение мутности бактериальной взвеси	41
2.3.5 Исследование влияния солей на жизнеспособность бактерий в присутствии пероксида водорода.....	41
2.3.6 Качественная оценка чувствительности бактерий к антибиотикам в присутствии солей лития.....	42
3 Обсуждение результатов	43
3.1 Влияние солей лития на рост и жизнеспособность <i>A. calcoaceticus</i>	43
3.2 Влияние солей лития на рост и жизнеспособность <i>E. coli</i>	46
3.3 Обсуждение результатов	49
4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение...	54
Введение.....	54
4.1 Анализ конкурентных технических решений	55
4.2 SWOT-анализ.....	56
4.3 Планирование научно-исследовательских работ.....	60
4.3.1 Структура работ в рамках научного исследования	60
4.3.2 Определение трудоемкости выполнения работ	62
4.3.3 Разработка графика проведения научного исследования.....	63
4.4 Бюджет научно-технического исследования	66
4.4.1 Расчет материальных затрат НТИ	66
4.4.2 Расчет затрат на оборудование.....	67
4.4.3 Расчет основной заработной платы.....	69
4.4.4 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления).....	71
4.4.5 Накладные расходы	72
4.4.6 Формирование бюджета затрат НТИ	72
4.5 Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования.....	73
5 Социальная ответственность	77
Введение.....	77
5.2 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности	78
5.2.1 Специальные правовые нормы трудового законодательства.....	78

5.2.2 Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны	78
5.3 Производственная безопасность.....	79
5.4 Экологическая безопасность.....	84
5.5 Безопасность в чрезвычайных ситуациях.....	85
Заключение	87
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	88
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СТУДЕНТА.....	89
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	90

ВВЕДЕНИЕ

Литий и его соединения широко используются в различных областях науки и техники: в производстве источников тока, полупроводниковой промышленности, ядерной энергетике, медицине и т.д. Среди этих сфер применения особое место занимает медицина и, в частности, психиатрия, где соли лития используют в терапии биполярного расстройства. Исследования последних лет показывают широкий спектр биологической активности и, соответственно, множество областей потенциального применения соединений этого элемента в клинической практике. Работы, проведенные с использованием клеток прокариот и неорганических солей лития, выявили разнообразные эффекты катиона в отношении бактерий, но эта область остается недостаточно изученной. Однако, в связи с динамичным развитием биотехнологии и биомедицины, существует потребность в подробном изучении микроорганизмов и факторов, влияющих на их жизнедеятельность. Одним из таких факторов является присутствие в среде соединений лития, оказывающих сложное действие на живые системы, чем и обусловлена актуальность данного исследования.

Цель работы: исследовать влияние солей лития на процессы жизнедеятельности бактерий.

Задачи:

- Исследовать влияние солей лития на рост бактерий на благоприятной питательной среде;
- исследовать влияние солей лития на жизнеспособность бактерий в стрессовых условиях (отсутствие питательных веществ, окислительный стресс, антимикробное действие антибиотиков).

Объектом исследования являются бактерии видов *Acinetobacter calcoaceticus* (далее – *A. calcoaceticus*) и *Escherichia coli* (далее – *E. coli*), а также соли лития: пируват, аскорбат и хлорид. Предмет исследования – действие солей лития на рост и жизнеспособность бактерий.

Научная новизна работы формулируется следующими тезисами:

- во-первых, впервые проводятся исследования влияния соединений лития на бактерий рода *Acinetobacter*;
- во-вторых, в работе используются многокомпонентные питательные среды, в отличие от модельных сред с одним источником углерода в работах других авторов;
- в-третьих, в работе проводится изучение влияния соединений лития на жизнедеятельность бактерий в условиях стресса.
- в-четвертых, исследовано влияние солей лития в малых концентрациях (<30 мМ), тогда как в литературных данных изучены только концентрации более 100 мМ.

Практическая значимость работы: результаты возможно использовать в дальнейших исследованиях в обозначенной области, в том числе для разработки биотехнологических продуктов (стимуляторов и ингибиторов), а также лекарственных препаратов.

Основные результаты работы докладывались и обсуждались в рамках следующих мероприятий:

- 57-я Международная научная студенческая конференция, г. Новосибирск, 14-19 апреля 2019 г.
- XX Международная научно-практическая конференция «Химия и химическая технология в XXI веке» студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулёва, г. Томск, 20-23 мая 2019 г.

1 Обзор литературы

1.1 Применение солей лития в медицине

Литий характеризуется повсеместным распространением в природе. В ионной форме этот элемент входит в состав множества природных соединений. Литий встречается в воде, горных породах, почве, поэтому естественно, что биологические системы в ходе эволюции постоянно сталкивались с соединениями лития. В связи с этим, биологические эффекты лития крайне разнообразны и многочисленны: литий является необходимым элементом для живых организмов, но в высоких концентрациях проявляет крайнюю токсичность [1]. Несмотря на последний факт, соединения этого металла нашли сферы широкого применения и продолжают изучаться.

Фармакологические препараты на основе солей лития широко применяются в лечении многих заболеваний на протяжении нескольких десятилетий. Несмотря на большое количество исследований солей лития, на сегодняшний день остается большое количество неизученных механизмов его действия и применений.

Препараты на основе солей лития начали применять в медицине еще в XIX веке, когда появились данные о возможных перспективах их использования в качестве средства для лечения маниакальных состояний [2]. В 1949 году было описано седативное действие лития в экспериментах на животных и эффективность у людей с биполярным расстройством [3]. На сегодняшний день самое широкое применение литий находит в психиатрии. Однако в последние годы появились исследования, открывающие перспективы применения солей лития в других областях науки. Рассматриваются возможности использования соединений лития для регуляции иммунных реакций, в обработке стволовых клеток, лечении депрессии, для терапии при болезни Альцгеймера, при инсульте в острой фазе и т.д. Важным направлением исследований является изучение влияния лития

на сердечно-сосудистую систему в различных состояниях. Механизм действия иона лития довольно сложен и продолжает изучаться.

Показано антиапоптотическое действие лития, его нейропротективная активность, ведется разработка препаратов лития с антиоксидантными свойствами [4].

Препараты лития также используются в животноводстве и ветеринарии. Показано, что аскорбат лития положительно сказывается на стрессоустойчивости и продуктивности животных [5, 6]. Проявляет выраженные адаптогенные свойства и позитивно влияет на неспецифический иммунитет.

1.2 Влияние лития на клетки микроорганизмов

Несмотря на широкое применение солей лития в медицине и большое количество исследований механизмов действия и функций в организме животных и человека, влияние лития на бактерии и потенциальное его применение в процессах с участием микроорганизмов мало изучено.

Ионы лития способны оказывать различное действие на клетки микроорганизмов в зависимости от внешних условий и источников питательных веществ, присутствующих в среде. Действие иона варьируется в зависимости от строения клеточной стенки, типа метаболизма, наличия конкретных источников углерода и т.д.

Эффекты лития изучались на различных культурах микроорганизмов. Первые исследования были проведены еще в начале XX века и показали, что в присутствии хлорида лития палочковидная в нормальных условиях бактерия *E. coli* изменяет свою морфологию и становится сферопластом (микроорганизм с частично разрушенной клеточной стенкой) [7, с. 17]. Механизм данных изменений не изучен до сих пор.

В малых концентрациях (десятки ммоль/дм³) эффект лития определяется источником углерода. В работе [8] угнетение роста было замечено при

использовании в качестве источников углерода глюкозы, галактозы, фруктозы и глицерина, но такой эффект не имел места при использовании для этой цели лактата или смеси аминокислот. Авторами высказано предположение, что Li^+ ингибирует одну или несколько стадий гликолиза. В ходе дальнейших исследований показано, что «мишенью» ингибирующего эффекта является пируваткиназа – фермент, участвующий в последней реакции аэробного гликолиза – переносе фосфорильного остатка от фосфоенолпирувата на АДФ [9]. Продуктом этой реакции является пируват, участвующий в других метаболических путях, и АТФ, являющийся главным источником энергии для реакций биосинтеза. При этом, если гликолиз является единственным источником энергии в клетке, то его замедление отрицательно сказывается на росте культуры. Ингибирование литием ферментов гликолиза было показано также вне экспериментов на бактериях, поэтому возможно механизм отрицательного воздействия на рост культуры в данном случае связан именно с этим ионом.

В концентрациях порядка сотен ммоль/дм³ ингибирующий эффект лития не зависит от типа субстрата [10], что свидетельствует о возможном ингибировании других метаболических путей клетки.

Важным вопросом является транспорт иона лития в клетки бактерий. До недавнего времени полагалось, что литий способен проникать в клетку с помощью двух транспортных систем: системы транспорта мелибиозы и системы транспорта пролина. При использовании высоких концентраций лития также возможна его диффузия через мембрану. На культурах *E. coli* показано, что перемещение лития через мембраны клетки стимулируется присутствием L-пролина, а транспорт последнего индуцируется ионами лития (котранспорт) [12]. Литий также ингибирует транспорт мелибиозы и рост бактерий на этом дисахариде [13]. В работе [10] авторы пришли к выводу, что возможны и другие системы транспорта лития в клетку, так как ингибирующий эффект проявлялся в отсутствие пролина или мелибиозы.

Для выведения избыточного количества лития клетки используют системы антипорта ионов. Считается, что литий выводится из клетки теми же системами, что и натрий.

В литературе встречаются исследования влияния лития на другие виды бактерий. Отрицательная корреляция между концентрацией ионов лития и темпами роста грамположительных бактерий рода *Streptococcus* обнаружена в работе [14]. Ингибирующий эффект хлорида лития выявлен и в работе с использованием бактерий *Listeria* spp [15]. В исследовании [16] изучалось влияние Li^+ на бактерий *Bacillus thuringiensis*, в результате обнаружено, что он оказывает стимулирующий эффект на процесс спорообразования в концентрациях 0,1-4 ммоль/л и ингибирующий эффект в концентрациях 12-16 ммоль/л.

Эффекты лития не ограничены только ингибированием метаболических процессов, интересным для исследования являются взаимодействие с клетками бактерий веществ, проявляющих антимикробную активность, в присутствии ионов лития.

В работе [17] присутствие в среде лития снижало антимикробную активность хитозана в отношении *E. coli* и *Listeria innocua*. В ходе экспериментов на мышах авторы работы [18] установили, что концентрация 0,33 мМ хлорида лития показала высокую эффективность против *Klebsiella pneumoniae*. В экспериментах *in vitro* концентрации хлорида лития 0,005 – 1 мМ вызывали изменение фенотипа бактерии, тем самым увеличивая ее восприимчивость к атакам макрофагов.

В исследовании [19] выявлен синергический эффект фторида лития при применении антибиотиков. Были исследованы бактерии видов *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, и *S. pneumoniae*. Оценивалась активность следующих антибиотиков: цефтазидим, сульфаметоксазол-триметоприм, стрептомицин, эритромицин, амоксициллин, ципрофлоксацин. Обнаружено, что присутствие фторида лития в концентрации 8 мг/л способствует снижению минимальной ингибирующей

концентрации (MIC) в 2-16 раз в зависимости от антибиотика и вида бактерий. Авторы объясняют полученные результаты бактериостатическим действием фторид-иона, а также наличием иона лития, способного при определенных условиях ингибировать ферменты метаболизма.

Кроме того, присутствие в среде ионов лития способно стимулировать биосинтез ряда веществ. Например, в работе [22] катион лития стимулировал образование биофлокулянта бактериями *Cobetia* spp.

Учитывая вышеприведенные сведения, можно сделать вывод о чрезвычайном разнообразии эффектов, которые способен проявлять литий в отношении бактериальной клетки. Ион лития характеризуется малым ионным радиусом и специфической гидратной оболочкой, позволяющими этой частице проявлять ряд свойств, нетипичных, например, для натрия, калия или магния. За счет идентичного ионного радиуса литий способен конкурировать с ионами Mg^{2+} , имеющими широкий спектр биологических функций [20, 21]. Также литий действует на транспортные системы клетки и облегчает проникновение ряда веществ через мембраны. Благодаря формированию в водной среде гидратной оболочки и образованию иона тетрагидрата лития $[Li(OH_2)_4]^+$ [23, 24] литий может связываться с фосфатными группами ДНК, тем самым стабилизируя молекулу [25]. При этом гидратация «родственных» ионов натрия и калия осуществляется по-другому, из-за чего эти частицы не способны оказывать такие же эффекты.

Таким образом, стоит отметить важное значение лития в биологических системах. Исследования показывают многообразие эффектов, а, следовательно, и потенциальных сфер применения соединений данного элемента. Однако в опубликованных работах часто используются модельные среды, содержащие один источник углерода, тогда как в реальных условиях использования микроорганизмов используются многокомпонентные составы. В ряде исследований не рассматривается действие концентраций лития порядка единиц и десятков ммоль/дм³. Ни в одной из опубликованных работ не изучено влияние ионов лития, входящих в состав органических солей, в

сочетании с эффектами анионов. Поэтому существует необходимость в большем количестве исследований, раскрывающих природу воздействия иона лития на микробные клетки.

1.3 Питание микроорганизмов

Микроорганизмы нуждаются в постоянном поступлении питательных веществ извне. Эти соединения используются как источники энергии или как «строительный материал».

Микроорганизмы по природе голофиты – для питания они используют соединения, распределенные в окружающей среде в виде небольших молекул. Вода и растворенные в ней вещества транспортируются через клеточную стенку, капсулу и цитоплазматическую мембрану. В ряде случаев бактерии не способны поглотить некоторые полимеры из-за большого размера последних, поэтому эти молекулы расщепляются вне клетки с помощью специальных веществ, экскретируемых клеткой и называемых экзоферментами [26].

Питательные вещества попадают в клетку одним из следующих способов [27]: пассивной диффузией, облегченной диффузией, активным транспортом. Пассивная и облегченная диффузии ответственны только за транспорт веществ, но не за их накопление.

Путем пассивной диффузии (т.е. под действием разности концентраций или электрических потенциалов по обе стороны мембраны) в клетку поступает вода, кислород и некоторые ионы. Движущей силой облегченной диффузии служит разность концентраций вещества (чаще всего растворенных веществ) внутри и снаружи клетки. В данном процессе участвуют специальные молекулы-переносчики, которые связывают целевую молекулу. Комплекс переносчик-субстрат диффундирует через мембрану и подвергается диссоциации на внутренней поверхности. После этого переносчик диффундирует обратно. При этом не требуется затрат энергии, потому как транспорт происходит по градиенту концентраций.

Активный транспорт обеспечивается за счет наличия и функционирования транспортных белков, которые встроены в мембрану. В данном случае растворенные вещества переносятся против градиента концентраций. Источниками энергии служат аденозинтрифосфат, протонный потенциал и фосфоенолпируват.

Сахара могут транспортироваться в клетку при помощи фосфотрансферазной системы переноса групп. При этом происходит химическая модификация субстрата, что облегчает его перенос внутрь клетки.

Требования к питательным веществам

Для роста и осуществления процессов жизнедеятельности микроорганизмам необходим набор веществ, соответствующий составу клетки и метаболическим процессам, протекающим в ней. Основная часть микробной клетки – вода (80-90% от общей массы клетки). В таблице 1 показан элементный состав сухого вещества клетки.

Таблица 1 - Элементный состав сухого вещества клетки [27]

Элемент	Содержание, % масс.
Углерод	50
Кислород	20
Азот	14
Водород	8
Фосфор	3
Сера	1
Калий	1
Натрий	1
Кальций	0,5
Магний	0,5
Хлор	0,5
Железо	0,2
Другие	0,3

Необходимый набор веществ, поступающих извне, определяется типом метаболизма клетки, но существует «базовый» набор макро- и микроэлементов для всех бактерий.

К группе макроэлементов (биогенных) относятся углерод, азот, фосфор, кислород, водород и сера. Эти элементы формируют основные молекулы организма: белки, жиры, углеводы, нуклеиновые кислоты. Также к макроэлементам относятся калий, магний, натрий, железо и кальций, присутствующие чаще в виде ионов и могут выполнять различные функции (например, служить кофакторами или активаторами ферментов).

Микроэлементы необходимы клетке в микромолярных количествах, к ним относятся ионы хрома, кобальта, меди, молибдена, марганца, никеля, селена, вольфрама, ванадия, цинка. Эти ионы также чаще присутствуют в клетке в связанном состоянии [28].

1.4 Метаболизм прокариотической клетки

Питательные вещества внутри клетки участвуют во многих каскадах биохимических реакций. Реакции, которые приводят к расщеплению молекул и их окислению, называют катаболизмом. Реакции синтеза макромолекул из более мелких – анаболизмом или биосинтезом. Реакции образования промежуточных продуктов и перегруппировок – амфиболизмом.

1.4.1 Катаболизм

Важным этапом в метаболизме клетки является расщепление углеводов, которое чаще всего рассматривают на примере глюкозы. Существует три основных пути окисления глюкозы: гликолиз, пентозофосфатный путь и кетодезоксифосфоглюконатный (КДФГ) путь. Гликолиз является универсальным процессом – он присутствует как у прокариот, так и у эукариот. При протекании процессов гликолиза из одной молекулы глюкозы

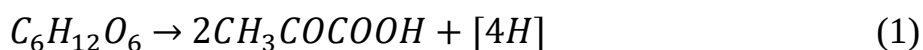
образуется две молекулы пирувата, 2 НАДН и 2 АТФ. Пентозофосфатный путь присущ растительным клеткам, а у бактерий играет второстепенную роль. КДФГ- путь приводит к образованию 2 молекул пирувата, 1 АТФ и 2 восстановленных пиридиннуклеотида.

У аэробных и анаэробных микроорганизмов катаболические процессы протекают по-разному. Рассмотрим возможные пути [28]:

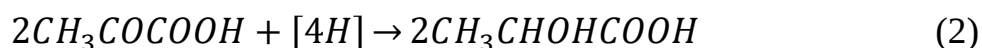
1) Брожением называют окислительно-восстановительный процесс, протекающий без участия кислорода и приводящий к образованию аденозинтрифосфата.

Чаще всего субстратами при брожении выступают углеводы, органические кислоты, аминокислоты, пиримидины и пурины. АТФ образуется за счет фосфорилирования субстрата. Схематично брожение представляют в две стадии:

– Превращение глюкозы в пируват, проходящее с разрывом углеродной цепи и отщеплением двух пар атомов водорода:



– Атомы водорода используются для восстановления пирувата или образованных из него соединений. Например, для молочнокислого брожения:



Образовавшийся пируват подвергается дальнейшим превращениям, которые определяются типом брожения. Спиртовое брожение приводит к превращению в этиловый спирт и диоксид углерода. При молочнокислом брожении пируват превращается в лактат. Другие виды брожения могут заканчиваться получением органических кислот, спиртов, диоксида углерода и газообразного водорода.

2) Анаэробное дыхание представляет собой процесс выработки энергии, в котором конечным акцептором электронов служит неорганическое или органическое вещество в окисленной форме, отличное от кислорода. В зависимости от природы акцептора выделяют следующие типы анаэробного дыхания: диссимиляционная нитратредукция, динитрификация, диссимиляционная сульфатредукция, серуредукция, метаногенез, ацетогенез, «железное», фумаратное, карбонатное и т.д.

3) Аэробное дыхание. В этом процессе конечным акцептором электронов является молекулярный кислород. Аэробные микроорганизмы могут иметь анаэробные стадии превращения углеводов или стадии брожения, но для полного обеспечения клетки энергией необходим кислород. Последний используется: а) в реакциях включения атомов кислорода в молекулы; б) для первых этапов окисления ряда субстратов; в) для работы оксидаз; г) как конечный акцептор электронов.

В аэробном дыхании существует две фазы [29]: 1. окисление органического субстрата до диоксида углерода, и перемещение освободившихся атомов водорода к акцепторам; 2. образование АТФ, сопровождающееся окислением атомов водорода кислородом. Первая фаза состоит из реакций, приводящих к образованию пирувата и цикла Кребса или циклом трикарбоновых кислот (ЦТК).

Цикл Кребса схематично представлен на рисунке 1

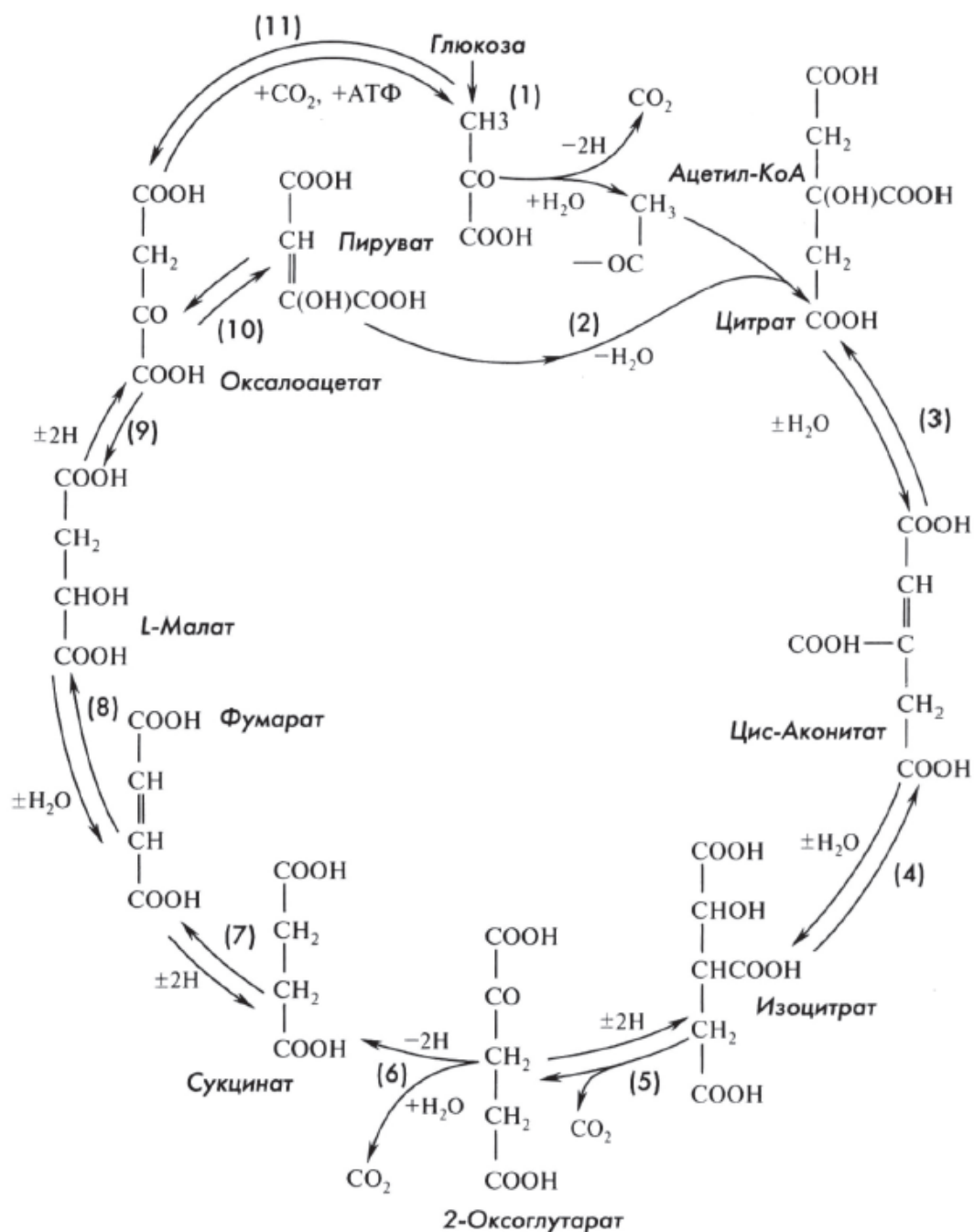
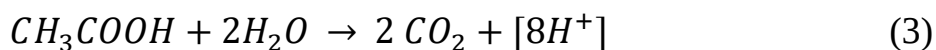


Рисунок 1 – Цикл трикарбоновых кислот [27]: (1), (6) - система окислительного декарбоксилирования; (2) - цитратсинтаза; кофермент А; (3), (4) - аконитатгидратаза; (5) - изоцитратдегидрогеназа; (7)-сукцинатдегидрогеназа; (8) - фумаратгидратаза; (9) - малатдегидрогеназа; (10) - спонтанное превращение; (11) - пируваткарбоксилаза

На первом этапе углевод распадается по пути гликолиза. Образовавшийся пируват претерпевает другие превращения.

Суммарная реакция цикла может записана следующим образом:



В цикле трикарбоновых кислот образуется ряд промежуточных соединений, которые впоследствии участвуют в реакциях биосинтеза макромолекул. Продукты цикла используются клеткой в синтезе аминокислот, белков, жиров, углеводов и других молекул.

Органические соединения также могут претерпевать неполное окисление в клетке. Продуктами окисления являются глюконовая, фумаровая, лимонная, молочная, уксусная кислоты, способные накапливаться в среде. Неполное окисление протекает только в присутствии кислорода и является выгодным для микробов с энергетической точки зрения.

1.4.2 Анаболизм

Анаболизм представляет собой реакции, результатом которых является построение сложных макромолекул из более простых составляющих. Пути катаболизма и анаболизма могут отличаться различной внутриклеточной локализацией, ферментами и их регуляцией, использованием кофакторов и переносчиков. В активных клетках поддерживается равновесие между процессами анаболизма и катаболизма.

Макромолекулы в клетке представлены нуклеиновыми кислотами, белками, полисахаридами и сложными липидами. Белки синтезируются из двадцати аминокислот, предшественниками которых являются интермедиаты катаболизма. Нуклеиновые кислоты — из нуклеотидов, углеводы — из моносахаридов, жировые молекулы — из жирных кислот и многоатомных спиртов. Для синтеза макромолекул четырех типов клетке требуется около семидесяти исходных соединений.

1.4.3 Регуляция метаболизма

Для выживания в условиях постоянной конкуренции с другими микроорганизмами бактериям необходимы механизмы регуляции и

согласования между собой различных процессов метаболизма. Дезорганизация без адекватного контроля метаболизма приводит к гибели клетки. Все пути метаболизма должны регулироваться и координироваться так эффективно, чтобы клеточные компоненты присутствовали в данный момент в необходимых концентрациях. Также микробным клеткам необходимо подстраиваться под постоянно изменяющуюся внешнюю среду, состав которой может быть непостоянен во времени. Регуляция важна для поддержания баланса между катаболическими и анаболическими процессами. Задача регуляции может решаться несколькими способами: локализацией отдельных метаболитов и ферментов в разных частях клетки; стимуляцией или ингибированием активности отдельных ферментов; контролем количества фермента на уровне транскрипции.

Временно и пространственное разделение ферментов и метаболитов называется компартментализацией. Данный способ регуляции метаболизма распространен у эукариотических клеток благодаря наличию у последних большого количества органелл.

Контроль активности ферментов может осуществляться аллостерическим способом [29]. Такой способ характерен для ключевых ферментов анаболизма. Аллостерическая регуляция предполагает наличие у молекулы фермента каталитического и регуляторного сайтов. К аллостерическому центру может нековалентно присоединяться эффектор – молекула, способствующая изменению конформации белковой глобулы и, как следствие, изменению каталитической активности [30]. Кроме этого, может происходить ковалентная модификация ферментов – обратимый процесс, заключающийся в присоединении или удалении определенной группы, что изменяет активность.

1.5 Влияние физико-химических факторов на микроорганизмы

Микроорганизмы характеризуются повсеместным распространением, что вынуждает клетки приспосабливаться к большому количеству факторов и их вариаций. В результате вырабатываются специфические защитные механизмы. Рост бактерий определяется множеством факторов, основными из которых являются активность воды, показатель рН, температура, гидростатическое давление, наличие и концентрация кислорода, и радиация [28].

1) Активность воды – это отношение давления паров раствора к давлению паров чистой воды. Следовательно, активность воды определяется не только ее наличием или отсутствием, но и количеством растворенных в ней веществ. В гипотонических растворах вода будет поступать внутрь клетки по градиенту концентраций растворенных веществ. Для того, чтобы предотвратить поступление воды необходимо приложить осмотическое давление. У грамположительных бактерий осмотическое давление может достигать величины 20 атм и более.

2) Показатель рН определяет, в какой форме находятся соединения – ионной или молекулярной, а это, в свою очередь, влияет на доступность этих веществ для клетки (незаряженные молекулы легче проникают через мембрану, чем ионы). По оптимальным значениям рН микроорганизмы делятся на ацидофилов (0-5,5), нейтрофилов (5,5-8,0) и алкалифилов (8,5-11,5). Несмотря на возможное разнообразие значений концентраций ионов водорода, внутри клетки этот показатель поддерживается на постоянном уровне. Этому способствует малая проницаемость мембраны для протонов. При изменении рН среды внутри клетки запускаются специальные защитные механизмы, которые компенсируют это изменение и нейтрализуют последствия.

3) Температура. Жизнеспособность организмов возможна при наличии жидкой воды. Однако при различных давлениях микроорганизмы

могут существовать при температурах значительно ниже 0 °С и значительно выше +100 °С. Нижний температурный порог ограничен температурой, при которой мембрана теряет свои функции, а верхний – денатурацией макромолекул (в частности белков). Оптимальный для роста температурный интервал зависит от вида микроорганизмов, при переходе через этот интервал рост существенно замедляется или вовсе прекращается.

4) Гидростатическое давление. Большинство бактерий, встречающихся на поверхности земли и воды, растет при давлении, мало отличающемся от 1 атм. Споры микроорганизмов могут выдерживать глубокий вакуум, некоторые виды бактерий растут лучше при пониженном давлении. При повышенном давлении происходят серьезные изменения в метаболических процессах. Замедляются реакции, сопровождающиеся увеличением объема, химическое равновесие смещается в сторону субстратов, происходит разрушение и денатурация многих биологических макромолекул. Несмотря на это микроорганизмы обнаружены даже в Марианской впадине, где давление достигает 1016 атм.

5) Наличие кислорода. По отношению к наличию кислорода все микроорганизмы делятся на две группы: аэробы, которым для роста нужен кислород, и анаэробы, способные расти в его отсутствие. Аэробы также делятся на облигатных (которым необходим кислород), факультативных (кислород не требуется, но растут при его наличии лучше) и микроаэрофилов (кислород требуется, но в концентрации ниже атмосферной). Анаэробы делятся на аэротолерантных (не требуют кислорода, рост не стимулируется в присутствии) и облигатных (угнетает рост и приводит к гибели). Значение кислорода определяется его ролью как сильного окислителя некоторых субстратов, конечного акцептора электронов при дыхании, одного из субстратов. Токсическое действие на организмы проявляется в инаktivации чувствительных к окислению белков, а также в образовании активных производных кислорода.

б) Радиация. В зависимости от длины волны электромагнитное излучение делится на ионизирующее, ультрафиолетовое, видимую область, инфракрасное излучение и радиоволны. По характеру действия излучения делятся на: 1) физиологически активные; 2) летальные или мутагенные; 3) оказывающие тепловое и/или механическое действие. Физиологическим действием обладает ближнее ультрафиолетовое излучение, видимый свет и инфракрасные лучи. Положительное воздействие проявляется для фотосинтезирующих микроорганизмов. Под действием инфракрасного излучения может происходить разогрев клетки, а видимый свет вызывает образование синглетного кислорода, который способен окислять некоторые молекулы. Ультрафиолетовое излучение может оказывать как летальный, так и мутагенный эффект. Ионизирующее излучение также приводит к мутациям в небольших дозах и к гибели в значительных.

Отдельного упоминания заслуживает наличие в среде антимикробных веществ, продуцируемых как конкурентными видами бактерий, так и высшими организмами – грибами, растениями и животными. Ярким примером являются антибиотики, вырабатываемые грибами и бактериями для подавления роста конкурентов. Бактерицидным и бактериостатическим действием также обладают разного рода окислители и токсины. Наличие в среде молекул веществ, обладающих антимикробным действием, даже в крайне низких концентрациях способно существенно подавлять метаболизм бактериальных клеток.

В реальных условиях микроорганизмы испытывают воздействие нескольких факторов в совокупности, поэтому при культивировании бактерий в лаборатории необходимо следить за поддержанием оптимальных условий, чтобы избежать преждевременной гибели микроорганизмов.

1.6 Характеристика бактерий *Acinetobacter calcoaceticus*

Бактерии рода *Acinetobacter* являются грамотрицательными облигатными аэробами. Они характеризуются практически повсеместным распространением: встречаются в воде, почве, пище, также входят в состав кожной микрофлоры человека [31].

Клетки бактерий представляют собой неспорообразующие, укороченные толстые палочки, приближающиеся к кокковой форме. Размер $0,9-1,6 \times 1,5-2,5$ мкм.

Характеризуются следующими биохимическими свойствами: отрицательны по оксидазе, положительны в реакции на каталазу, не продуцируют лецитиназу, желатиназу, утилизируют цитрат, окисляют глюкозу, не образуют кислоты из арабинозы, лактозы, сахарозы, маннита, рамнозы, ксилозы и мальтозы. Обладают углеводородокисляющей активностью.

Acinetobacter calcoaceticus эффективно окисляют ароматические соединения, а также нециклические компоненты. Способны расти на толуоле, ксилоле и бензоле, что является важной характеристикой для применения этих бактерий при рекультивации нефтезагрязненных земель. Также *A. calcoaceticus* продуцируют биосурфактант эмульсан, который эмульгирует легкие фракции нефти, диз.топливо, сырую нефть и газойли [32].

Оптимальные условия для роста бактерий: температура 20-30 °С, pH 5-7.

1.7 Характеристика бактерий *Escherichia coli*

Бактерии вида *E. coli* (кишечная палочка) участвуют в переваривании пищи, образовании витаминов, защите от патогенных бактерий и выполняют другие полезные для человека функции [33]. Однако существуют также и патогенные штаммы, способные вызывать ряд заболеваний.

Данная клетка является одной из самых изученных, поэтому является модельным организмом в микробиологии. Применяется для экспериментов в генетической инженерии, используется для производства рекомбинантных белков и других биотехнологических процессов.

E. coli являются грамотрицательными факультативными анаэробами. Клетки представляют собой обычно подвижные палочки с размером $2-6 \times 1,1-1,5$ мкм. Способны образовывать капсулы из полисахаридов.

Бактерии способны перерабатывать лактозу, декарбоксилировать лизин и глутаминовую кислоту, утилизировать ацетат натрия, образуют индол, не гидролизуют мочевины [34]. Положительны по каталазе, отрицательны по оксидазе.

Оптимальные условия для роста бактерий: температура 37 °C, pH 5-7.

2 Экспериментальная часть

В данной главе представлена информация об объектах исследования, подготовке оборудования и необходимых реактивов, методах и методиках проведения экспериментов.

Исследования по данной тематике связаны с работой с химическими реактивами, а также с использованием микроорганизмов, поэтому требуют строгого соблюдения техники безопасности и правил работы в лаборатории. Для обеспечения необходимых для работы условий лаборатория оснащена следующим оборудованием:

1. Ламинарный бокс II класса Esco Streamline SC2-4A1;
2. Стерилизатор Binder FD 53 с естественной конвекцией;
3. Автоклав DAIHAN WiseClave WAC-80;
4. Шкаф термостатируемый WiseCube;
5. Шейкер-термостат WiseCube WIS-20;
6. Бинокулярный микроскоп MC-100;
7. Весы лабораторные аналитические ACCULAB ALC 210;
8. pH-метр лабораторного типа pH-150 МИ;
9. Дистиллятор 3,5 л/ч;
10. УФ-Спектрофотометр Agilent Cary60;
11. Дозаторы Thermo Scientific.

2.1 Объекты исследования

Исследование влияния лития на бактерий проводили с использованием штаммов бактерий *Acinetobacter calcoaceticus* и *Escherichia coli*.

Штамм *A. calcoaceticus* B1318 выделен из почвы, загрязненной нефтепродуктами, отобранной на Вахском месторождении, Нижневартовский район ХМАО-Югры. Получен от ООО «Дарвин-Сервис», г. Томск. Штамм

хранится на скошенном мясопептонном агаре при температуре 4-8 °С с периодическим пересевом на свежую среду.

Штамм E. coli K12TG1 Штамм хранится на скошенном мясопептонном агаре при температуре 4-8 °C с периодическим пересевом на свежую среду.

Перед использованием бактерий в эксперименте переносили культуру на чашку Петри со свежим агаром и выдерживали при оптимальной температуре в течение суток.

В качестве соединений лития были выбраны хлорид, пируват и аскорбат (Рисунок 2) – наиболее изученные в экспериментах на животных и клетках человека.

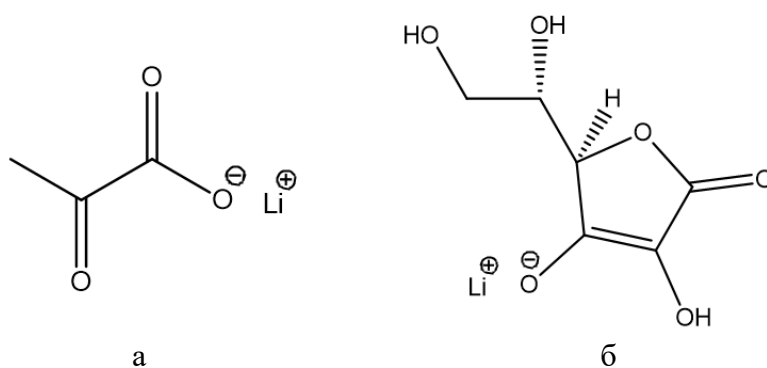


Рисунок 2 – Структурные формулы пирувата (а) и аскорбата (б) лития

2.2 Приготовление питательных сред и растворов

Для культивирования микроорганизмов применяются питательные среды, различающиеся по компонентному составу. Наиболее универсальными средами считаются мясопептонный бульон (жидкая среда) и мясопептонный агар (плотная среда). Бактерии также способны сохранять жизнеспособность в среде физиологического раствора.

2.2.1 Приготовление мясопептонного агара

Брали навеску пептона сухого ферментативного для бактериологических целей (ГОСТ 13805-76) массой 20 г, и навеску агара бактериологического (ГОСТ 17206-96) массой 15 г, растворяли навески в 1 дм³ дистиллированной воды. Кипятили 2 минуты, фильтровали через ватно-марлевый фильтр, закрывали колбу ватной пробкой и пергаментом, автоклавировали 20 минут при температуре 121 °С и давлении 1 ати. После остывания разливали по стерильным чашкам Петри.

2.2.2 Приготовление мясопептонного бульона

Навеску пептона сухого ферментативного для бактериологических целей (ГОСТ 13805-76) массой 20 г растворяли в 1 дм³ дистиллированной воды, кипятили 2 минуты, фильтровали через ватно-марлевый фильтр, разливали по колбам, закрывали колбы ватными пробками и автоклавировали 20 минут при температуре 121 °С и давлении 1 ати.

2.2.3 Приготовление физиологического раствора

Брали навеску натрия хлористого марки «хч» (ГОСТ 4233-77) массой 9 г и растворяли в дистиллированной воде объемом 1 дм³. Разливали по колбам, закрывали ватной пробкой и стерилизовали 20 минут автоклавированием при 121 °С и давлении 1 ати.

2.2.4 Стандарты мутности McFarland

Стандарты мутности McFarland предназначены для приготовления бактериальных взвесей с заданной концентрацией бактерий. Для приготовления стандартов мутности по МакФарланду (McFarland) необходимо смешать растворы 1,175 % $\text{BaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ и 1 % H_2SO_4 в количествах, приведенных в таблице 2.

Таблица 2 – Состав стандартов мутности McFarland на 10 см³

Наименование параметра	Номер стандарта			
	1	2	3	4
V (BaCl ₂ ×2H ₂ O), см ³	0,1	0,2	0,3	0,4
V (H ₂ SO ₄), см ³	9,9	9,8	9,7	9,6
Количество бактерий в 1 см ³	3,0×10 ⁸	6,0×10 ⁸	9,0×10 ⁸	1,2×10 ⁹
Оптическая плотность при 600 нм	0,257	0,451	0,582	0,669

Для целей работы готовили по 10 см³ стандартов № 1 и 2.

Контроль правильности приготовления стандартов определяется спектрофотометрическим анализом: величина оптической плотности должна соответствовать значению, приведенному в таблице.

2.2.5 Приготовление 1% раствора серной кислоты

1 %-ный раствор серной кислоты готовили разбавлением концентрированного раствора кислоты серной марки «хч» (ГОСТ 4204-77). Добавляли в мерную колбу объемом 50 см³ воду дистиллированную, вносили 0,284 см³ концентрированной кислоты, интенсивно перемешивая, доводили объем раствора до метки дистиллированной водой.

2.2.6 Приготовление 1,175 % раствора хлорида бария 2-водного

Раствор BaCl₂×2H₂O готовили растворением навески хлорида бария 2-водного марки «хч» (ГОСТ 4108-72) массой 0,2938 г в 25 см³ дистиллированной воды.

2.2.7 Приготовление стерильной воды

Переносили по 9 см³ дистиллированной воды в пенициллиновые флаконы, закрывали их резиновыми крышками и обжимали алюминиевыми колпачками. Автоклавировали 20 мин при 121 °С и 1 ати.

2.3 Методики проведения эксперимента

Для изучения влияния соединений лития на жизнедеятельность бактерий *A. calcoaceticus* и *E. coli* ставили следующие эксперименты:

- 1) исследование влияния солей лития на рост и жизнеспособность бактерий на питательных средах: благоприятной (МПБ) и лишенной питательных веществ (физиологический раствор);
- 2) построение кривых роста;
- 3) исследование эффекта солей лития в присутствии пероксида водорода;
- 4) исследование совместного влияния на клетки солей лития и антибиотиков.

2.3.1 Исследование влияния солей на рост бактерий

Оценку влияния пирувата и аскорбата лития на рост бактерий проводили в среде физиологического раствора, а также на мясопептонном бульоне. Для этого в жидкую питательную среду объемом 9 см³ перед стерилизацией вносили такие количества соли, чтобы итоговая концентрация в 10 см³ составляла, ммоль/дм³: 1,28; 12,77 и 21,28. Контролем служила колба, содержащая только питательную среду, без добавления соли. После стерилизации вносили в колбы по 1 мл суспензии бактерий, приготовленной по стандарту мутности Мак-Фарланда. Перемещали колбы в термостат-шейкер с оптимальной для конкретной культуры температурой и скоростью

100 об/мин. Выполняли посев 5-го и 6-го разведений исходной суспензии на чашки Петри для определения исходного количества бактерий.

Культивирование проводили на протяжении 24 ч. После этого готовили ряд последовательных разведений и выполняли посев 5-го и 6-го разведений на чашки Петри. Через 24 часа производили подсчет колоний и рассчитывали количество бактерий.

2.3.2 Подсчет бактерий высевам на плотную питательную среду по методу Коха

При использовании данного метода количественного учета микроорганизмов используется предположение о том, что при высеве на плотную питательную среду фиксированного количества суспензии каждая клетка дает начало одной колонии [3528]. Таким образом, подсчитав количество образовавшихся колоний, можно определить количество бактерий в исходной суспензии по формуле (4).

$$N = \frac{n \times 10^y}{V} \times W \quad (4)$$

где N – количество бактерий в суспензии;

n – число колониобразующих единиц (КОЕ);

y – номер разведения;

V – объем разведения, взятый для посева, см³;

W – объем суспензии, из которой готовились разведения, см³.

Часто для удобства исключают из формулы множитель W и работают с показателем количество бактерий в 1 см³ суспензии.

Рассмотрим технику приготовления разведений. Из исходной суспензии отбирается объем, равный 1 см³, и переносится в пенициллиновый флакон с 9 см³ стерильной воды – первое разведение (1:10). Из первого разведения

отбирается 1 см³ и переносится в такой же флакон с 9 см³ воды – второе разведение (1:100) и т.д. Таким образом готовится необходимое количество разведений (Рисунок 3)

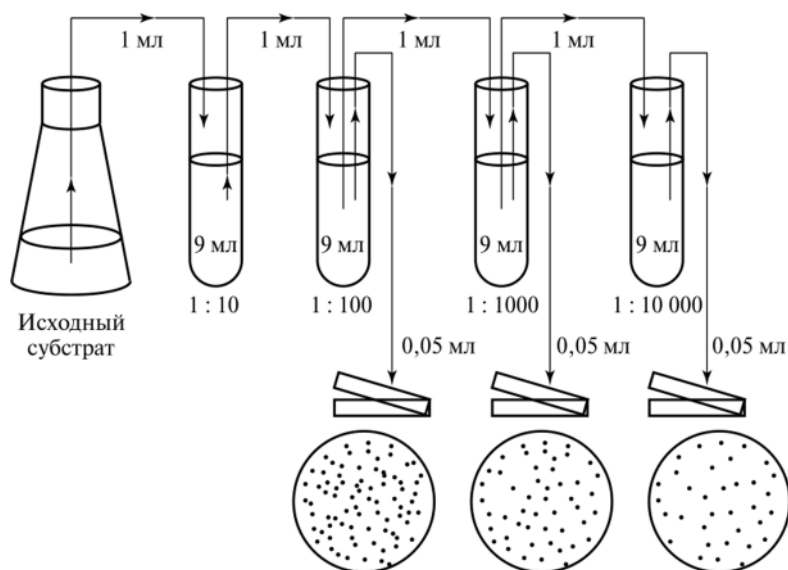


Рисунок 3 – Схема приготовления разведений для количественного учета

Количество разведений, необходимых в каждом конкретном эксперименте, определяется опытным путём в зависимости от количества бактерий в исходной суспензии.

2.3.3 Построение кривых роста

Для определения характера влияния солей лития на микроорганизмы ставили эксперимент по построению кривых роста – кривых, графически отражающих процесс развития популяции микроорганизмов. Для построения кривых пользовались косвенным методом количественного учета бактерий – определением мутности культуральной среды.

Использовали 5 пробирок с мясопептонным бульоном: 1 – без добавления солей лития; 2 – с концентрацией пирувата лития, равной 12,77 ммоль/дм³; 3 – с концентрацией пирувата лития, равной 21,28 ммоль/дм³; с концентрацией хлорида лития, равной 12,77 ммоль/дм³; 5 – с концентрацией хлорида лития, равной 21,28 ммоль/дм³. Объем среды составлял 4,5 см³. После

автоклавирования вносили по 0,5 см³ суспензии бактерий, приготовленной по стандарту мутности, в каждую из пробирок. Измеряли мутность через 0, 2, 4, 6, 8, 24 часа после внесения бактерий в среду.

2.3.4 Измерение мутности бактериальной взвеси

Мутность среды измеряли с использованием спектрофотометра при длине волны, равной 600 нм. Такая длина волны является оптимальной (не приводит к гибели бактерий и не разогревает суспензию) и используется большинством исследователей.

По полученным значениям оптической плотности строили графическую зависимость в координатах A/A_0 – время, где A – оптическая плотность в текущий момент времени, A_0 – оптическая плотность в момент времени 0.

2.3.5 Исследование влияния солей на жизнеспособность бактерий в присутствии пероксида водорода

Для создания стрессовых условий использовали добавки пероксида водорода к суспензиям бактерий.

Подбор концентрации пероксида водорода осуществляли следующим образом. В пробирках создавали концентрации пероксида, %: 0,01; 0,02; 0,03; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 1. Кроме того, использовали контрольную пробирку без добавлений пероксида водорода. К общему объему физиологического раствора с перекисью водорода, равному 4 см³, добавляли по 1 см³ бактериальной суспензии, приготовленной по стандарту мутности. Культивировали бактерий на протяжении 8 часов в шейкере-термостате при оптимальной температуре и 100 об/мин. В результате оптимальной концентрацией перекиси оказалась 0,1 % – при таком содержании H₂O₂ бактерии не погибали, но подвергались угнетающему воздействию.

При исследовании влияния солей лития после автоклавирования физиологического раствора с солями лития, а также контрольной колбы без солей добавляли пероксид водорода в концентрации 0,1 % (12,5 мкл пероксида водорода по ГОСТ 177-88). Культивирование проводили в тех же условиях. Через 8 часов производили посев на плотную питательную среду с последующим подсчетом колоний через сутки.

2.3.6 Качественная оценка чувствительности бактерий к антибиотикам в присутствии солей лития

Определение активности антибиотиков определяется методом диффузии в агар. [36]. Использовали диски, пропитанные растворами антибиотиков тетрациклина и азитромицина, с концентрациями 30 и 15 мкг/см³ соответственно. Готовили чашки Петри: одну – с мясопептонным агаром, вторую – с мясопептонным агаром с добавлением пирувата лития, третью – с мясопептонным агаром с добавлением аскорбата лития. После выдерживания чашек в термостате производили посев 0,1 см³ суспензии бактерий и внесение дисков с антибиотиками. Результаты фиксировали через 24 часа: измеряли средний диаметр зоны угнетения роста.

4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

Введение

Целью работы является исследование влияния солей лития на жизнеспособность бактерий.

Многочисленные исследования показывают, что соли лития могут оказывать разнообразное действие на организм человека: они применяются в психиатрии для лечения ряда состояний, могут применяться в терапии ряда социально значимых заболеваний, оказывают антиоксидантный и цитопротекторный эффекты. Несмотря на это, влияние этого иона на клетки бактерий плохо изучено.

Актуальность обусловлена бурным развитием биотехнологий, в которых микроорганизмы (в частности, бактерии) используются как продуценты важных веществ. Продукция микробиологического синтеза применяется практически во всех сферах современной жизни человека, в том числе в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве, переработке отходов и т.д. В связи с широким применением бактерий в промышленности и исследованиях существует необходимость в увеличении продуктивности этих микроорганизмов для повышения выходов целевых продуктов. Это достигается либо воздействием физических факторов (неэффективный метод), либо добавлением в среду стимуляторов роста.

В ходе исследования изучалось влияние солей лития на рост бактерий *A. calcoaceticus* и *E. coli*. В работе показано увеличение количества бактерий с ростом концентрации солей лития по сравнению с контролем на 15-20 %, что позволяет рассматривать соли лития как стимуляторы роста бактерий. В качестве солей использовались аскорбат и пируват, однако наилучшие результаты достигнуты с солью пировиноградной кислоты, поэтому в данной главе будет рассматриваться именно пируват лития.

4.1 Анализ конкурентных технических решений

Детальный анализ конкурирующих разработок, существующих на рынке, необходимо проводить систематически, поскольку рынки пребывают в постоянном движении [46].

В ходе работы выявлен стимулирующий эффект пирувата лития при наличии его в питательной среде. Данная сфера на сегодняшний день характеризуется довольно малым количеством разработок. В качестве конкурирующих решений выбраны 1) стимулятор роста микроорганизмов «Полифлор»; и 2) стимулятор роста гемофильных микроорганизмов (СРГМ).

Данный анализ проводился с помощью оценочной карты (Таблица 7). В ней приведены баллы экспертной оценки использования пирувата лития (B_{ϕ}) продуктов-конкурентов – «Полифлор» (B_{k1}) и СРГМ (B_{k2}). K_{ϕ} , K_{k1} , K_{k2} – конкурентоспособность соответствующих продуктов.

Таблица 7 – Оценочная карта для сравнения конкурентных технических разработок

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы			Конкурентоспособность		
		B_{ϕ}	B_{k1}	B_{k2}	K_{ϕ}	K_{k1}	K_{k2}
1	2	3	4	5	6	7	8
Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Стимулирующий эффект	0,3	3	4	5	0,9	1,2	1,5
2. Трудоемкость получения	0,2	5	3	2	1,0	0,6	0,4
3. Применяемые количества	0,1	5	3	3	0,5	0,3	0,3
Экономические критерии оценки эффективности							
4. Цена	0,2	5	3	4	0,5	0,3	0,4
5. Конкурентоспособность продукта	0,1	4	3	4	0,4	0,3	0,4
6. Финансирование научной разработки	0,1	4	4	4	0,4	0,4	0,4
Итого:	1				3,7	3,1	3,4

Критерии для сравнения и оценки ресурсоэффективности и ресурсосбережения, приведенные в таблице 7, подбираются, исходя из выбранных объектов сравнения с учетом их технических и экономических особенностей разработки, создания и эксплуатации.

Позиция разработки и конкурентов оценивается по каждому показателю экспертным путем по пятибалльной шкале, где 1 – наиболее слабая позиция, а 5 – наиболее сильная. Веса показателей, определяемые экспертным путем, в сумме должны составлять 1.

Анализ конкурентных технических решений определяется по формуле 5 [47].

$$K = \sum B_i \times \text{Б}_i \quad (5)$$

где K – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;

B_i – вес показателя (в долях единицы);

Б_i – балл i -го показателя.

Выводы:

1) несмотря на менее выраженный стимулирующий эффект, пируват лития применяется в гораздо меньших количествах и не требует выделения и подготовки перед применением, поэтому по техническим критериям конкурент 1 и конкурент 2 уступают рассматриваемому продукту;

2) по экономическим критериям решающую роль играет цена, которая гораздо ниже у рассматриваемого решения, чем у конкурентов.

4.2 SWOT-анализ

SWOT– это комплексный анализ научно-исследовательского проекта. SWOT-анализ применяют для исследования внешней и внутренней среды проекта.

Результаты первого этапа SWOT-анализа представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Первый этап SWOT-анализа

	Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1. Малая концентрация при эффекте, сопоставимом с эффектами конкурентных решений. С2. Однокомпонентный состав. С3. Низкая стоимость стимулятора. С4. Отсутствие необходимости выделения и очистки веществ. С5. Стимулирующее влияние в отношении <i>E. coli</i>.	Слабые стороны научно-исследовательского проекта: Сл1. Отсутствие достаточного количества материалов для проведения исследования. Сл2. Малое количество изученных видов бактерий.
Возможности: В1. Высокий спрос на подобные решения вследствие развития биотехнологий. В2. Высокая стоимость конкурентных решений.		
Угрозы: У1. Недостаток финансирования исследования. У2. Малая скорость проведения исследования.		

Второй этап SWOT-анализа состоит в выявлении соответствия сильных и слабых сторон научно-исследовательского проекта внешним

условиям окружающей среды [48]. Это соответствие или несоответствие должны помочь выявить степень необходимости проведения стратегических изменений.

В рамках данного этапа необходимо построить интерактивную матрицу проекта. Ее использование помогает разобраться с различными комбинациями взаимосвязей областей матрицы SWOT. Каждый фактор помечается либо знаком «+» (означает сильное соответствие сильных сторон возможностям), либо знаком «-» (что означает слабое соответствие); «0» – если есть сомнения в том, что поставить «+» или «-». Примеры интерактивных матриц представлены в таблицах 9, 10, 11, 12.

Таблица 9 – Интерактивная матрица проекта «Сильные стороны и возможности»

	Сильные стороны проекта					
		C1	C2	C3	C4	C5
Возможности	B1	+	+	+	+	+
	B2	+	+	+	-	-

Таблица 10 – Интерактивная матрица проекта «Слабые стороны и возможности»

	Слабые стороны проекта		
		Сл1	Сл2
Возможности	B1	+	+
	B2	-	-

Таблица 11 – Интерактивная матрица проекта «Сильные стороны и угрозы»

	Сильные стороны проекта					
		C1	C2	C3	C4	C5
Угрозы	У1	+	+	+	-	-
	У2	-	-	-	+	+

Таблица 12 – Интерактивная матрица проекта «Слабые стороны и угрозы»

Слабые стороны проекта			
Угрозы		Сл1	Сл2
	У1	+	+
	У2	+	+

Таким образом, в рамках третьего этапа может быть составлена итоговая матрица SWOT-анализа, представленная в таблице 13.

Таблица 13 – Итоговая матрица SWOT-анализа

	Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1. Малая концентрация при эффекте, сопоставимом с эффектами конкурентных решений. С2. Однокомпонентный состав. С3. Низкая стоимость стимулятора. С4. Отсутствие необходимости выделения и очистки веществ. С5. Стимулирующее влияние в отношении E. coli.	Слабые стороны научно-исследовательского проекта: Сл1. Отсутствие достаточного количества материалов для проведения исследования. Сл2. Малое количество изученных видов бактерий.
Возможности: В1. Высокий спрос на подобные решения вследствие развития биотехнологий. В2. Высокая стоимость конкурентных решений.	Предложенный стимулятор обладает рядом сильных сторон и может представлять интерес для биотехнологических компаний.	Возможен поиск поставщиков материалов, располагающихся в РФ.

Угрозы:	Сильные стороны	Недостаток
У1. Недостаток финансирования исследования.	позволяют снизить потребности в финансировании до минимальных.	финансирования приводит к отсутствию достаточного количества материалов и оборудования для проведения полного исследования. Малая скорость работы не позволяет изучить большое количество видов бактерий.
У2. Малая скорость проведения исследования.		

Вывод. В результате проведения SWOT-анализа выявлено соответствие сильных сторон предлагаемого решения возможностям. Сильные стороны также позволяют компенсировать угрозы среды. Для устранения слабых сторон проекта необходим поиск источника финансирования проекта, которым может стать коммерческая организация, так как в условиях развития биотехнологической отрасли (В1) их количество постоянно растет. Для увеличения скорости проведения исследования необходимо увеличить количество исполнителей и оптимизировать методики проведения исследования.

4.3 Планирование научно-исследовательских работ

4.3.1 Структура работ в рамках научного исследования

Для выполнения научно-исследовательской работы формируется рабочая группа, в состав которой входят: бакалавр – Бирюков М., научный руководитель – Чернова. А.П., консультант по экономической части (ЭЧ) – Рыжакина Т. Г. и консультант по части социальной ответственности (СО) – Винокурова Г.Ф. Необходимо составим перечень этапов и работ в рамках

проведения научного исследования и проведем распределение исполнителей по видам работ (Таблица 14).

Таблица 14 – Перечень этапов, работ и распределение исполнителей

№ этапа	Название этапа	Содержание работ	Должность исполнителя
1	Введение	Разъяснение темы НИР, основных направлений деятельности по осуществлению НИР.	Чернова А.П. (доцент ОХИ)
2	Литературный обзор	Обзор учебных материалов, научных статей, патентов по теме исследования.	Бирюков М. (студент)
3	Теоретический анализ	Разработка плана НИР, выбор методики и техники выполнения.	Чернова А.П. (доцент ОХИ) Бирюков М. (студент)
4	Постановка задачи исследования	Постановка задачи на эксперимент, предсказание возможных результатов.	Чернова А.П. (доцент ОХИ)
5	Экспериментальная часть	Проведение работ по изучению характера влияния солей лития на рост и жизнеспособность бактерий.	Бирюков М. (студент)
6	Результаты и обсуждений	Оценка эффективности полученных результатов и определение целесообразности проведения ВКР	Чернова А.П. (доцент ОХИ) Бирюков М. (студент)
7	Разработка технической документации и проектирование	Оценка экономической эффективности проекта	Рыжакина Т. Г. (доцент ОСГН) Бирюков М. (студент)

8		Разработка главы «Социальная ответственность»	Винокурова Г.Ф. (доцент ООД) Бирюков М. (студент)
9	Оформление отчета по НИР	Разработка презентации, дипломной работы и раздаточного материала	Бирюков М. (студент)

4.3.2 Определение трудоемкости выполнения работ

Трудоемкость выполнения научного исследования оценивается экспертным путем в человеко-днях и носит вероятностный характер, т.к. зависит от множества факторов.

Таблица 15 – Трудозатраты при выполнении проекта

ФИО, основное место работы, должность	Роль в проекте	Функции	Трудозатраты, час.
Чернова А.П., доцент ОХИ	Руководитель НИР	Контроль над ходом выполнения проекта, консультации по поводу проведения эксперимента, получения и анализа результатов НИР	128
Бирюков М., студент	Исполнитель	Выполнение проекта (проведение эксперимента, получение и анализ результатов НИР)	640

Рыжакина Т. Г., доцент ОСГН	Консультант по экономической части	Оценка эффективности применения анализа	10
Винокурова Г.Ф., доцент ООД	Консультант по части социальной ответственности	Разработка социальной ответственности по теме	10
Итого:			788

Трудозатраты были рассчитаны на основании следующих данных: проект выполняется 4 месяца, руководитель проекта принимает участие 4 раза в неделю на протяжении 2-х часов, студент работает в среднем 5 дней в неделю по 8 часов.

4.3.3 Разработка графика проведения научного исследования

При выполнении дипломных работ студенты становятся участниками сравнительно небольших по объему научных тем, поэтому наиболее удобным и наглядным является построение ленточного графика проведения научных работ в форме диаграммы Ганта [47].

Диаграмма Ганта – это горизонтальный ленточный график (Таблица 16), на котором работы по теме представляются протяженными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ.

Для удобства построения графика, длительность каждого из этапов работ из рабочих дней следует перевести в календарные дни. Для этого необходимо воспользоваться формулой:

$$T_{ki} = T_{pi} \cdot k_{\text{кал}}, \quad (6)$$

где T_{ki} – продолжительность выполнения i – й работы в календарных днях;

T_{pi} – продолжительность выполнения i – й работы в рабочих днях;

$k_{\text{кал}}$ – коэффициент календарности.

Коэффициент календарности определяется по формуле:

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{T_{\text{кал}} - T_{\text{вых}} - T_{\text{пр}}}, \quad (7)$$

где $T_{\text{кал}}$ – количество календарных дней в году;

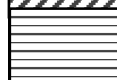
$T_{\text{вых}}$ – количество выходных дней в году;

$T_{\text{пр}}$ – количество праздничных дней в году.

Таким образом по формуле (7):

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{T_{\text{кал}} - T_{\text{вых}} - T_{\text{пр}}} = \frac{365}{365 - 93 - 25} = 1,48.$$

Таблица 16 – Календарный план-график проведения НИР

Вид работы	Исполнители	Т _{кi} , дне й	Продолжительность выполнения работ										
			Январь	февраль			март			апрель			май
			3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1
Введение	Научный руководитель	5											
Обзор литературы	Бакалавр	15											
Экспериментальная часть	Бакалавр	70											
Результаты обсуждения	Научный руководитель, бакалавр	10											
Оценка экономической эффективности и разработка социальной ответственности	Консультант по ЭЧ, консультант по СО, бакалавр	10										  	
Обработка данных и оформление ВКР	Бакалавр	10											



Научный руководитель



Бакалавр



Консультант по ЭЧ



Консультант по СО

4.4 Бюджет научно-технического исследования

4.4.1 Расчет материальных затрат НТИ

Бюджет затрат на выполнение НТИ составляется с целью проведения данной работы. Затраты на НТИ рассчитываются по статьям калькуляции, которые включают две группы затрат прямые затраты и накладные затраты.

Расчет стоимости материальных затрат производился по действующим прейскурантам и ценам с учетом НДС. В стоимость материальных затрат включили транспортно-заготовительные расходы (3 – 5 % от цены).

Результаты расчета затрат на сырье, материалы и покупные изделия в процессе проведения НИР представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Затраты на сырье

Наименование затрат	Единиц а измере ний	Расход			Цена за ед., руб.			Сумма, руб.		
		Исп .1	Исп .2	Ис п.3	Исп. 1	Исп .2	Ис п.3	Исп .1	Исп .2	Исп .3
Пептон сухой ферментативный на основе мяса фас, 0,25 кг	кг	0,5	0,5	0,5	2340	2340	2340	1170	1170	1170
Агар микробиологический фас. 0,25 кг	кг	0,3	0,3	0,3	3713	3713	3713	530,4	530,4	530,4
Серная кислота	кг	1	1	1	289	289	289	289	289	289
Пируват лития	10 г	1	-	-	3900	-	-	3900	-	-
Карбонат лития	100 г	-	1	-	-	5000	-	-	5000	-
Аскорбиновая кислота	100 г	-	1	-	-	6800	-	-	6800	-
Хлорид лития	100 г	-	-	1	-	-	6640	-	-	6640

Продолжение таблицы 17

Вата хирург н/с 1 кг	кг	1	1	1	157, 3	157, 3	157, 3	157, 3	157, 3	157, 3
Марля медицинская отбеленная	м	50	50	50	9,09	9,09	9,0 9	454, 5	454, 5	454, 5
Пергамент М 74-Ф	кг	1	1	1	177, 1	177, 1	177, 1	177, 1	177, 1	177, 1
Шприц, 1 смз, одн. прим.	шт	100	100	10 0	2,73	2,73	2,7 3	273	273	273
Пенициллиновые флаконы	шт	100	100	10 0	5	5	5	500	500	500
Перекись водорода, 37 %	кг	0,5	0,5	0,5	497	497	497	248, 5	248, 5	248, 5
Спирт этиловый, 96%	л	2	2	2	900	900	900	180 0	180 0	180 0
Спиртовка СЛ 2 с метал, оправой	шт	1	1	1	150	150	150	150	150	150
Фильтровальная бумага	упак.	1	1	1	400	400	400	400	400	400
Латексные перчатки	шт	10	10	10	11	11	11	110	110	110
Итого								101 55.8	180 55,6	128 95.8

4.4.2 Расчет затрат на оборудование

Расчет сводится к определению амортизационных отчислений, так как оборудование было приобретено до начала выполнения данной работы и эксплуатировалось ранее, поэтому при расчете затрат на оборудовании учитываем только рабочие дни по данной теме. Амортизация оборудования рассчитывается по формуле [49]:

$$A = \frac{C_n \times H_a \times n}{100 \times k} \quad (8)$$

где C_n - первоначальная стоимость оборудования;

H_a - норма амортизации, %;

n -число проработанных месяцев; k - количество месяцев в году.

Таблица 18 - Амортизация используемых приборов

№ п/п	Наименование прибора	Стоимость * С, руб.	Количе ство п, шт.	Норма аморти зации, $N_a, \%$	Амортизация A , руб.
1	Суховоздушный шкаф-стерилизатор Binder	723000,00	1	10	48500
2	Ламинарный шкаф SC2-4A1 Streamline Esco	750000,00	1	15	50000
3	Цифровой автоклав WiseCube	477400,00	1	10	47740
4	Шкаф термостатируемый WiseCube	107669,49	1	10	10767
5	Инкубатор WiseCube WIS- 20 горизонтальный с орбитальным шейкером	383822,03	1	10	38382
6	Дистиллятор 3,5 л/ч	34500	1	1	34500
7	Весы лабораторные аналитические ACCULAB	57277	1	10	5727
8	Биноккулярный микроскоп MC-100	123000	1	10	12300

9	Одноканальный дозатор «ВЮШТ» 100-1000 мкл	4000	1	1	4000
10	Одноканальный дозатор «ВЮНІТ» 10 - 100 мкл	4202	1	1	4202
ИТОГО:		12314170			255818

4.4.3 Расчет основной заработной платы

Основная заработная плата ($Z_{\text{осн}}$) находится по формуле [49]:

$$Z_{\text{осн}} = Z_{\text{дн}} \times T_{\text{раб}} \quad (9)$$

где $Z_{\text{осн}}$ – основная заработная плата одного работника;

$T_{\text{р}}$ – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн.;

$Z_{\text{дн}}$ – среднедневная заработная плата работника, руб.

Среднедневная заработная плата в свою очередь рассчитывается по формуле:

$$Z_{\text{дн}} = \frac{Z_{\text{м}} \times M}{F_{\text{д}}} \quad (10)$$

где $Z_{\text{м}}$ – месячный должностной оклад работника, руб.

M – количество месяцев работы без отпуска в течение года:

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

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

Таблица 19 - Баланс рабочего времени за 2019 год

Показатель рабочего времени	Руководитель	Бакалавр
Календарное число дней	365	365
Количество нерабочих дней - выходные дни - праздничные дни	118	118
Потери рабочего времени - отпуск - невыходы по болезни	24	-
Действительный годовой фонд рабочего времени	223	247

Месячный должностной оклад работника:

$$З_{\text{м}} = З_{\text{тс}} \times (1 + k_{\text{пр}} + k_{\text{д}}) \times k_{\text{р}} \quad (11)$$

где: $З_{\text{тс}}$ – заработная плата по тарифной ставке, руб.;

$k_{\text{пр}}$ – премиальный коэффициент, равный 0,3 (т.е. 30% от $З_{\text{тс}}$);

$k_{\text{д}}$ – коэффициент доплат и надбавок составляет примерно 0,2 – 0,5

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

Расчет основной заработной платы приведен в таблице 20.

Таблица 20 – Расчет основной заработной платы

Категория	$З_{\text{тс}}$, руб.	$k_{\text{д}}$	$k_{\text{р}}$	$З_{\text{м}}$, руб	$З_{\text{дн}}$, руб.	Т _{р.раб.} дн.	$З_{\text{осн}}$, руб.
Руководитель							
ППСЗ	28000	0,35	1,3	60060	6108	11,7	71464
Бакалавр							
ППС1	2200	0,35	1,3	4719	480	7,6	3648
Консультант по ЭЧ							
ППСЗ	22450	0,35	1,3	48155	4897	4,1	20078
Консультант по СО							
ППСЗ	20000	0,35	1,3	42900	4368	4,4	19219

Общая заработная плата исполнителей работы представлена в таблице 21.

Таблица 21 – Общая заработная плата исполнителей

Исполнители	З _{осн} , руб	З _{доп} , руб	З _{зп} , руб
Научный руководитель	71464	10005	81469
Бакалавр	3648	510,7	4158,7
Консультант по ЭЧ	20078	2811	22889
Консультант СО	19219	2691	21838

4.4.4 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления)

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:

$$З_{о.с.н} = 0,3 \times (З_{осн.рук.} + З_{осн.инж.}) \quad (12)$$

где: $З_{о.с.н}$ – затраты на отчисления на социальные нужды, руб.

$$З_{о.с.н} = 0,3 \times (71464 + 3648 + 20078 + 19219) = 34895 \text{ руб.}$$

Отчисления во внебюджетные фонды представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Отчисления во внебюджетные фонды

Исполнители	Основная заработная плата, руб.	Дополнительная заработная плата, руб.
Научный руководитель	71464	10005
Бакалавр	3648	510,7
Консультант по ЭЧ	20078	2811
Консультант СО	19219	2691
Коэффициент отчислений во внебюджетные фонды	0,3	
ИТОГО:	34895	

4.4.5 Накладные расходы

Накладные расходы учитывают прочие затраты организации, не попавшие в предыдущие статьи расходов: печать и ксерокопирование графических материалов, оплата услуг связи, электроэнергии, транспортные расходы и т.д. Их величина определяется по следующей формуле:

$$З_{\text{накл}} = k_{\text{нр}} \cdot (\text{сумма статей } 1 \div 5) \quad (13)$$

где: $k_{\text{нр}}$ – коэффициент, учитывающий накладные расходы.

Величину коэффициента накладных расходов $k_{\text{нр}}$ допускается взять в размере 16%.

4.4.6 Формирование бюджета затрат НТИ

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.

Определение бюджета затрат на научно-исследовательский проект приведен в таблице 23.

Таблица 23 – Расчет бюджета затрат НТИ

Наименование статьи	Сумма, руб.			Примечание
	Исп.1	Исп.2	Исп.3	
1. Материальные затраты НТИ	10156	18056	12896	Табл.11
2. Затраты на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ	255818	255818	255818	Табл.12
3. Затраты по основной заработной плате исполнителей темы	114409	114409	114409	Табл.14
4. Затраты по дополнительной заработной плате исполнителей темы	16017	16017	16017	Табл.15
5. Отчисления во внебюджетные фонды	34895	34895	34895	Табл.16
6. Накладные расходы	70896	70271	69446	16 % от суммы ст.1-5
7. Бюджет затрат НТИ	502192	509466	503482	Сумма ст. 1-6

4.5 Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования

Определение эффективности происходит на основе расчета интегрального показателя эффективности научного исследования. Его нахождение связано с определением двух средневзвешенных величин: финансовой эффективности и ресурсоэффективности.

Интегральный финансовый показатель разработки определяется как:

$$I_{\text{финр}}^{\text{исп}i} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\text{max}}} \quad (14)$$

где: $I_{\text{финр}}^{\text{исп}i}$ – интегральный финансовый показатель разработки;

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

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

Полученная величина интегрального финансового показателя разработки отражает соответствующее численное увеличение бюджета затрат разработки в разгах либо соответствующее численное удешевление стоимости разработки в разгах (значение меньше единицы, но больше нуля).

Интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов исполнения объекта исследования можно определить следующим образом:

$$I_{pi} = \sum a_i \times b_i \quad (15)$$

где: I_{pi} – интегральный показатель ресурсоэффективности для i -го варианта исполнения разработки; a_i – весовой коэффициент i -го варианта исполнения разработки; b_i^a, b_i^p – балльная оценка i -го варианта исполнения разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания; p – число параметров сравнения.

Результаты по расчету интегрального показателя ресурсоэффективности представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

Критерии	Весовой коэффициент параметра	Исп.1	Исп.2	Исп. 3
1. Стимулирование роста	0,30	5	3	3
2.Материалоемкость	0,25	5	4	5
3.Энергоемкость	0,20	4	4	4
4.Простота подготовки	0,25	5	3	5
ИТОГО:	1	4,8	3,45	4,2

$$I_{p \text{ исп.1}} = 5 \cdot 0,30 + 5 \cdot 0,25 + 4 \cdot 0,20 + 5 \cdot 0,25 = 4,8;$$

$$I_{p \text{ исп.2}} = 3 \cdot 0,30 + 4 \cdot 0,25 + 4 \cdot 0,20 + 3 \cdot 0,25 = 3,45;$$

$$I_{p \text{ исп.3}} = 3 \cdot 0,30 + 5 \cdot 0,25 + 4 \cdot 0,20 + 5 \cdot 0,25 = 4,2.$$

Интегральный показатель эффективности разработки ($I_{финр}^p$) и аналога ($I_{финр}^a$) определяется на основании интегрального показателя ресурсоэффективности и интегрального финансового показателя по формуле:

$$I_{\text{исп } i} = \frac{I_{p-\text{исп } i}}{I_{финр}^{\text{исп } i}} \quad (16)$$

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

$$\mathcal{E}_{\text{ср}} = \frac{I_{\text{исп } 1}}{I_{\text{исп } 2}} \quad (17)$$

где $\mathcal{E}_{\text{ср}}$ – сравнительная эффективность проекта; $I_{\text{исп } 1}$ – интегральный показатель разработки; $I_{\text{исп } 2}$ – интегральный технико-экономический показатель аналога.

Сравнение значений интегральных показателей эффективности позволяет понять и выбрать более эффективный вариант решения поставленной в бакалаврской работе технической задачи с позиции финансовой и ресурсной эффективности. Наглядно данное сравнение представлено в таблице 25.

Таблица 25 – Сравнительная эффективность разработки

№ п/п	Показатели	Исп.1	Исп.2	Исп. 3
1	Интегральный финансовый показатель	0,986	1	0,988
2	Интегральный показатель ресурсоэффективности	4,8	3,45	4,2
3	Интегральный показатель эффективности	4,87	3,45	4,25
4	Сравнительная эффективность вариантов исполнения	1	0,71	0,87

Вывод. В результате проведенного анализа показано, что при применении в качестве стимулятора роста пирувата лития (исполнение 1) достигается лучший эффект, чем при использовании аскорбата (исполнение 2) и хлорида (исполнение 3) лития. Данный вариант характеризуется высокими значениями показателей финансовой эффективности ($I_{\text{фин}} = 0,986$), ресурсоэффективности ($I_p = 4,8$) и, следовательно, интегрального показателя эффективности, равного 4,87.

5 Социальная ответственность

Введение

Целью данной выпускной квалификационной работы является исследование влияния соединений лития на жизнеспособность бактерий. Предпосылками для выбора темы являлись широкое применение солей лития в медицине и большое количество исследований, направленных на выяснение роли данного элемента в природе и его влияния на живые системы. Обзор литературы показал немногочисленность работ по исследованию взаимодействия лития и бактериальных клеток, а также противоречивость некоторых теорий. Поэтому существует необходимость изучения влияния соединений лития на микроорганизмы в различных условиях и выявление потенциальных сфер применения этих соединений в микробиологических исследованиях, биотехнологических процессах и в медицине.

По результатам работы можно сделать вывод о возможности применения соединений лития для интенсификации биотехнологических процессов путем стимулирования роста микроорганизмов.

Работа проводилась в учебно-исследовательской микробиологической лаборатории Отделения химической инженерии НИ ТПУ, снабженной всем необходимым для работы с микроорганизмами оборудованием.

При работе осуществляется контакт с химическими реактивами, а также с биологическими агентами. Кроме того, работник подвергается воздействию опасных и вредных факторов, обусловленных работой оборудования и процессами обработки помещения.

В настоящем разделе рассматриваются вопросы охраны труда, связанные с работой в лаборатории, мероприятия по предотвращению воздействия на здоровье работников опасных и вредных факторов, а также возможное влияние на окружающую среду и потенциальные ЧС.

5.2 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности

5.2.1 Специальные правовые нормы трудового законодательства

Для работников микробиологической лаборатории актуальными являются все базовые положения трудового законодательства, установленные Трудовым Кодексом Российской Федерации. Также существует ряд требований, обусловленных спецификой работы с биологическими объектами и химическими реактивами.

В соответствии с [50], в лаборатории должны соблюдаться «меры безопасности при работе с биологическими объектами, которые должны обеспечивать предупреждение возникновения у работающих:

- заболевания, состояния носительства, интоксикации, вызванных микроорганизмами...продуктами их жизнедеятельности...
- сенсibilизации организма, вызванной микроорганизмами...».

В соответствии с [51], необходимо соблюдать правила обращения с вредными веществами, чтобы их концентрация в воздухе рабочей зоны не превышала предельно допустимого уровня, указанного в нормативной документации.

5.2.2 Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны

Значительная часть работ в лаборатории проводится в положении сидя, поэтому рабочую зону необходимо устраивать в соответствии с эргономическими требованиями, указанными в [52]. В качестве примера рассмотрим пространство ламинарного бокса (шкафа), в котором осуществляются все манипуляции с микроорганизмами. Рабочее место должно быть оборудовано таким образом, чтобы взаимное расположение всех его элементов соответствовало антропометрическим, физиологическим и психологическим требованиям. Конструкция рабочего места должна

обеспечивать выполнение трудовых операций в пределах зоны досягаемости моторного поля.

Выполняемые работы по классификации относятся к легким, поэтому требуют высоты рабочей поверхности: для женщин 700 мм, для мужчин 750 мм, для женщин и мужчин (средний показатель) 725 мм. Высота сиденья должна быть: 400 мм для женщин, 430 мм для мужчин, 420 мм – усредненный показатель.

Пространство внутри бокса следует оборудовать в соответствии с [53]. Необходимо правильно размещать инструменты, с помощью которых производятся все манипуляции: петли, дозаторы, емкости с жидкостями и т.п. Все элементы должны быть расположены в пределах моторной доступности и предотвращать перекрещивания рук в процессе работы.

5.3 Производственная безопасность

По характеру происхождения вредных и опасных факторов, воздействующих на работника лаборатории при проведении данного исследования, в соответствии с [54], можно выделить:

- факторы, порождаемые физическими свойствами и характеристиками состояния материальных объектов производственной среды;
- факторы, порождаемые химическими и физико-химическими свойствами используемых или находящихся в рабочей зоне веществ и материалов;
- факторы, порождаемые биологическими свойствами микроорганизмов, находящихся в биообъектах и (или) загрязняющих материальные объекты производственной среды.

К факторам, порождаемым *физическими свойствами* и характеристиками состояния материальных объектов окружающей среды, относятся отклонения в показателях микроклимата, тепловое излучение окружающих поверхностей оборудования, ультрафиолетовое излучение.

1) Вредным фактором в лаборатории может являться несоответствие окружающей среды оптимальным микроклиматическим условиям, которые необходимы для комфортного выполнения работы. Микроклимат помещения определяют по следующим показателям: температура воздуха и поверхностей, относительная влажность и скорость воздуха, интенсивность теплового излучения. Работы, выполняемые в лаборатории, в соответствии с [55], относятся к категории Па.

Для микробиологической лаборатории предусмотрены санитарные нормы, представленные в таблице 26.

Таблица 26 - Оптимальные показатели микроклимата в лаборатории [55]

Период года	Температура воздуха, °С	Температура поверхностей, °С	Относительная влажность воздуха, %	Скорость движения воздуха, м/с
Холодный	19-21	18-22	60-40	0,2
Теплый	20-22	19-23	60-40	0,2

Для поддержания оптимальных микроклиматических условий лаборатория оснащена отопительной и вентиляционной системами.

2) Лаборатория является источником термической опасности. Это обусловлено наличием оборудования с нагретыми поверхностями, что может привести к тепловым ожогам. Во избежание травмирования предусмотрена защита оборудования специальными корпусами. При работе с оборудованием с повышенной температурой поверхности исключается их непосредственный контакт с кожными покровами, используются специальные ухваты и защитные перчатки из жароустойчивого материала.

3) Лаборатория относится к категории особо опасных помещений по возможности поражения людей электротоком [56], так как характеризуется наличием химически активных и органических сред, разрушающих изоляцию и токоведущие части электрооборудования, а также повышенной влажностью при работе автоклава.

В рабочих зонах лаборатории используется электрооборудование и электроприборы, которые могут являться источником электрического

воздействия. Оборудование работает от сети с напряжением 220 В, автоклав – от сети с напряжением 380 В.

Электробезопасность работников лаборатории и студентов должна обеспечиваться выполнением следующих мероприятий:

- соблюдение соответствующих расстояний до токоведущих частей;
- ограждение токоведущих частей;
- заземление оборудования;
- применение предупреждающих надписей и плакатов;
- по окончании рабочего дня необходимо снять напряжение с отдельных

приборов, а также отключить все щитки на лабораторных столах и общий рубильник за пределами лаборатории.

4) Пожаро- и взрывоопасность в лаборатории обусловлена наличием оборудования, работающего под давлением, а также наличием легковоспламеняющихся жидкостей, электроприборов и электрооборудования. По классификации, приведенной в [57], микробиологическая лаборатория относится к пожаровзрывоопасным помещениям группы В1.

Общие меры по обеспечению пожаровзрывобезопасности и устранению возможных источников пожаров и взрывов следующие:

- запрещается держать ЛВЖ и горючие вещества вблизи открытого огня, в теплом месте или вблизи нагревательных приборов;
- запрещается нагревать ЛВЖ и горючие вещества на открытом огне, на сетке, вблизи огня или открытых сосудов;
- следует с осторожностью обращаться с оборудованием, работающим под давлением (автоклав) и контролировать значение давления по встроенному манометру.

К факторам, порождаемым *химическими и физико-химическими свойствами* используемых или находящихся в рабочей зоне веществ и материалов, относится контакт с веществами: этиловым спиртом, пероксидом водорода, серной кислотой, хлоридом бария (Таблица 27). Предельно

допустимые концентрации (ПДК) определяются по [58], классы опасности – по [59].

Таблица 27 – Перечень опасных и вредных веществ, используемых в лаборатории

Вещество	Величина ПДКр.з., мг/м ³	Характеристика	Класс опаснос ти	Особенности воздействия на организм
Серная кислота (ГОСТ 4204-77)	1	Бесцветная, прозрачная, маслянистая жидкость, без запаха	2	Серная кислота и ее пары обладают сильным прижигающим и раздражающим слизистые оболочки действием. При попадании на кожу и слизистые
Перекись водорода (ГОСТ 10929-76)	0,3	Негорючая, Пожаровзрывоопасная жидкость, является сильным окислителем, способна самопроизвольно	2	Растворы перекиси водорода могут вызывать ожоги кожи и глаз, пары перекиси водорода - раздражение слизистых оболочек.
Этанол (ГОСТ 17299-78)	100	Легковоспламеняющаяся бесцветная жидкость с характерным запахом. Область воспламенения 3,6-19% (по объему).	4	Категория группа взрывоопасной смеси этилового спирта с воздухом - ПА-Т2. При пожаре следует использовать средства индивидуальной защиты органов дыхания фильтрующие противогазы марки Л или БКФ.
Хлорид бария (ГОСТ 4108-72)	0,3	Бесцветные кристаллы. Пожаро- и взрывобезопасен. Не горюч.	2	Высокотоксичен. Вызывает воспалительные заболевания головного мозга, изменение печени и склероз селезенки. При вдыхании пыли возможно воспаление легких и бронхов. При попадании в пищеварительный тракт возможны острые и хронические отравления.

Лаборатория, снабжена приточно-вытяжной вентиляцией и вытяжным шкафом для защиты органов дыхания и слизистой оболочки глаз. Для предотвращения попадания вредных веществ внутрь и на кожу, необходимо использовать средства индивидуальной защиты: перчатки и халаты.

К факторам, порождаемым *биологическими свойствами* микроорганизмов, находящихся в биообъектах и (или) загрязняющих материальные объекты производственной среды, относятся микроорганизмы *A. calcoaceticus* и *E. coli*.

Несмотря на то, что бактерии являются непатогенными, в ходе выполнения работы в микробиологической лаборатории каждый сотрудник должен строго соблюдать следующие требования безопасности:

- работники должны присутствовать в лаборатории в спецодежде, которую необходимо надевать при входе и снимать при выходе из помещения;
- при работе с биологическими агентами необходимо надевать перчатки;
- перенос биологического материала и использованной посуды для стерилизации необходимо осуществлять в закрывающихся емкостях, исключающих инфицирование во время транспортировки.

- во всех помещениях, где проводится работа с заразным материалом, не реже одного раза в 2 недели должна проводиться влажная уборка с дезинфицирующим средством стен, пола, боксов. Мебель и оборудование обрабатывают 2 - 3%-ным раствором соды. Рабочее место, где непосредственно проводится работа с культурами микроорганизмов, требует тщательной обработки. Рабочее место (ламинарный бокс) следует дезинфицировать не только до начала работы, но и после ее окончания. Для протирания поверхности стола использовать 70%-ный изопропиловый или этиловый спирт.

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

- 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.

- 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.

5.4 Экологическая безопасность

Работа, проводимая в лаборатории, может оказывать воздействие на атмосферу, гидросферу и литосферу.

1) Влияние на атмосферу определяется использованием вредных вещества. Основным путем попадания в атмосферу является вентиляционная система. Для обеспечения необходимой защиты воздушной сферы все работы должны проводиться в вытяжном шкафу, оснащенном фильтром, при включенной тяге. Также необходимо обеспечить герметичность тары, в которой находятся вредные вещества.

2) Вредное воздействие на гидросферу может оказывать химическое и биологическое загрязнение водотоков в результате удаления биологических, неорганических и органических отходов в канализационную сеть населенных пунктов. Данное воздействие определяется в соответствии с [60] и [61]. Если сточные воды содержат вредные вещества в концентрациях, превышающих установленные нормы, то их следует подвергать предварительной очистке. Для предотвращения негативных воздействий проводится организации раздельного сбора и хранения биологических, неорганических и органических отходов, обезвреживание кислых и щелочных стоков, регенерация растворителей. Жидкий биоматериал поступает в дезинфицирующие растворы, где подвергается обезвреживанию.

3) В микробиологической лаборатории образуются твердые отходы в виде бытового мусора, выбрасываемого в урну, и твердый биоматериал класса Б (по классификации [62]). Твердый биоматериал и контактирующие с

ним предметы должны быть удалены в мягкую упаковку (одноразовые пакеты, маркированные желтым цветом с надписью «медицинские отходы», закрепленные в урнах). После заполнения пакета примерно на 3/4 из него удаляется воздух и сотрудник, ответственный за сбор отходов, осуществляет его герметизацию. Транспортирование всех видов отходов класса Б вне пределов медицинского подразделения осуществляется только в одноразовой упаковке после ее герметизации. Сбор и утилизацию отходов производят специальные службы.

5.5 Безопасность в чрезвычайных ситуациях

Чрезвычайные ситуации могут возникнуть как в результате несоблюдения правил безопасности и нахождения в лаборатории работниками, так и как следствия внешних антропогенных и неантропогенных влияний. В данном вопросе необходимо ориентироваться на [63].

Ошибочные действия сотрудников микробиологической лаборатории могут привести к антропогенным чрезвычайным ситуациям. Самыми распространенными антропогенными ЧС являются пожар и взрыв.

Пожар может возникнуть в результате нерегламентированного хранения и транспортирования взрывчатых веществ, легковоспламеняющихся жидкостей, переохлажденных и нагретых жидкостей. В микробиологической лаборатории использование легковоспламеняющихся жидкостей происходит в малых количествах, поэтому возможный пожар может быть охарактеризован как локальный. Для его ликвидации необходимо воспользоваться огнетушителем, песком или асбестовым одеялом и сообщить руководителю.

Другим потенциальным антропогенным ЧС в микробиологической лаборатории является взрыв. Он может возникнуть в результате разгерметизации систем повышенного давления – автоклава. Разрушение или разгерметизация систем повышенного давления в зависимости от физико-

химических свойств рабочей среды может привести к появлению одного или комплекса поражающих факторов:

- ударная волна (последствия - травматизм, разрушение оборудования и несущих конструкций и т.д.);
- возгорание зданий, материалов и т.п. (последствия - термические ожоги, потеря прочности конструкций и т.д.);
- химическое загрязнение окружающей среды (последствия - удушье, отравление, химические ожоги и т.д.).

Микроорганизмы, с которыми проводится работа в лаборатории, являются непатогенными, поэтому при проведении исследования нет риска массового биологического заражения.

Неантропогенные ЧС обусловлены географическим расположением города Томска. Возможными опасными явлениями, приводящими к нарушению нормальной деятельности, гибели людей и разрушению материальных ценностей могут быть пожары, взрывы, разрушения зданий в результате разрядов атмосферного электричества, ураганов. Здание защищаются от прямых ударов молнии молнеприемниками, принимающими разряд на себя, заземлителями, служащими для отвода тока в землю и токопроводами, соединяющими молнеприемники и заземлители. В случае стихийного бедствия (урагана, землетрясения) необходимо отключить воду, электричество и покинуть помещение согласно плану эвакуации.

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.

Для предотвращения аварийных ситуаций в микробиологической лаборатории выполнялись следующие требования:

- 1) вход в биотехнологический блок посторонних лиц должен быть 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) запрещается использовать материалы и средства личной гигиены, раздражающие кожу;
- 3) запрещается пипетировать ртом, переливать жидкий материал через край сосуда (пробирки, колбы с посевами);
- 4) запрещается употреблять пищу, курить;
- 5) запрещается сливать жидкие отходы в канализацию без предварительного обеззараживания;
- 6) запрещается оставлять после окончания работы на рабочих местах нефиксированные мазки или посуду с микроорганизмами;
- 7) оставлять без надзора рабочее место во время выполнения любого вида работ с микроорганизмами.

Заключение

В данном разделе рассмотрены правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности работы при выполнении исследования, выявлены вредные и опасные факторы физической, химической и биологической природы, а также разработаны мероприятия по снижению или ликвидации действия данных факторов на работников лаборатории. Описано возможное влияние различных факторов на окружающую среду: атмосферу, гидросферу и литосферу, рассмотрены способы минимизации их воздействия. Также рассмотрены возможные чрезвычайные ситуации как антропогенной, так и неантропогенной природы, профилактические мероприятия для их предотвращения и ликвидации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведения ряда экспериментов получены результаты, которые позволяют делать общие выводы о влиянии соединений лития на жизнедеятельность бактерий *Acinetobacter calcoaceticus* и *Escherichia coli*:

1) Показано, что катион лития в концентрациях >10 мМ оказывает ингибирующее воздействие на бактерий видов *Acinetobacter calcoaceticus* и *Escherichia coli*. Разница в метаболизме и строении клеток двух видов не оказывает влияния на эффекты лития.

2) Выявлена неспособность бактерий вида *Acinetobacter calcoaceticus* использовать пируват и аскорбат в качестве единственных источников углерода. Согласно литературным данным, *Escherichia coli* способна утилизировать эти субстраты, что подтверждено экспериментально.

3) Ион лития в концентрации 1,28 мМ способствовал увеличению количества бактерий в условиях стресса. Этот эффект предположительно обусловлен стабилизационным действием на мембраны клеток.

4) Бактерии данных видов восприимчивы к окислительному стрессу, который индуцирует аскорбат-анион. Этим фактом обусловлено увеличение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, что может быть использовано в медицине. Исследования синергии аскорбата и антибиотиков не проводились на этих культурах ранее.

Полученные результаты возможно использовать в дальнейших исследованиях на микроорганизмах, биотехнологии и медицине.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СТУДЕНТА

1. Бирюков М.М. Влияние ионов лития на рост бактерий *Acinetobacter calcoaceticus* // Материалы 57-й Междунар. науч. студ. конф. 14–19 апреля 2019 г. / Новосиб. гос. ун-т. — Новосибирск: ИПЦ НГУ, 2019. — С.65.
2. Бирюков М., Чернова А.П., Плотников Е.В. Изучение влияния солей лития на жизнеспособность бактерий *Acinetobacter calcoaceticus* // Материалы XX Международной научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулёва студентов и молодых ученых (Томск, 20–23 мая 2019 г.) / Томский политехнический университет. — Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2019. — С.302-303.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Towards a Unified Understanding of Lithium Action in Basic Biology and its Significance for Applied Biology / E. Jakobsson [et al.] // The Journal of Membrane Biology. - 2017. - Vol. 250, N 6. - P.587-604.
2. Соли лития - простые, но магические (обзор) / Е.Ю. Плотников [и др.] // Биохимия. - 2014. - Т.79, N 8. - С.932-943.
3. Арушанян Э.Б. Хронофармакология препаратов лития (обзор) // Российский психиатрический журнал. - 2017. - N 6. - С.54-59.
4. Лосенков И.С., Плотников Е.В., Епимахова Е.В. Цитотоксический и прооксидантный эффекты аскорбата лития *in vitro* // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. - 2018. - N 1. - С.24-29.
5. Галочкин В.А., Остренко К.С., Галочкина В.П. Повышение продуктивности бройлеров благодаря аскорбату лития // Птицеводство. - 2018. - N 6. - С.28-32.
6. Остренко К.С., Галочкина В.П., Галочкин В.А. Влияния аскорбата лития на белковый и липидный обмен у свиней // Ветеринария, Зоотехния и Биотехнология. - 2018. - N 8. - С.96-103.
7. Birch N. J. Lithium and the Cell: Pharmacology and Biochemistry. - London: Academic Press, 1991. - 349 pp.
8. Inhibitory Effect of Li⁺ on Cell Growth and Pyruvate Kinase Activity of *Escherichia coli* / K. Umeda [et al.] // Journal of bacteriology. - 1984. - Vol. 160, N 2. - P.812-814
9. Garcia-Olalla C., Garrido-Pertierra A. Purification and kinetic properties of pyruvate kinase isoenzymes of *Salmonella typhimurium* // The Biochemical Journal. - 1987. Vol. 241. - P.573-581.
10. Lithium toxicity and Na⁺(Li⁺)/H⁺ antiporter in *Escherichia coli* / K. Inaba [et al.] // Biological & Pharmaceutical Bulletin. – 1994. – Vol. 17. – P.395-398.

11. $\text{Na}^+(\text{Li}^+)/\text{H}^+$ antiporter in *Pseudomonas aeruginosa* and effect of Li^+ on cell growth / K. Inaba [et al.] // *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. – 1997. – Vol. 20. – P.621-624.
12. Cotransport of proline and Li^+ in *Escherichia coli* / T. Tsuchiya [et al.] // *FEBS Letters*. - 1984. Vol. 168. - P.327-330.
13. Tsuchia T., Lopilato J., Wilson H. Effect of lithium ion on melibiose transport in *Escherichia coli* // *The Journal of Membrane Biology*. - 1978. - Vol. 42, N 1. - P.45-59.
14. The in vitro effect of lithium on growth and adherence of *Streptococcus* mutants 6715 / A. Markitziu [et al.] // *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*. – 1992. – Vol. 2. – P.199-203.
15. Cox L.J., Dooley D., Beumer R. Effect of lithium chloride and other inhibitors on the growth of *Listeria* spp. // *Food Microbiology*. - 1990. - N 7. - P.311-325.
16. Effect of Lithium on Growth Process of Environmental Microorganism by Microcalorimetry and SEM / Rong Li [et al.] // *Advanced Materials Research*. - 2014. -Vols 955-959. - P.445-449.
17. Bingjun Q., Jung J., Zhao Y. Impact of Acidity and Metal Ion on the Antibacterial Activity and Mechanisms of β - and α -Chitosan // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. – 2015. – Vol. 175, N 6. – P.2972-2985.
18. Protection against *Klebsiella pneumoniae* Using Lithium Chloride in an Intra gastric Infection Model / N. Tsao [et al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2015. – Vol. 59, N 3. – P.1525-1533.
19. Syed H.C., Ravaoarinoro M. LiF Reduces MICs of Antibiotics against Clinical Isolates of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria // *International Journal of Microbiology*. - 2012. - N 2.
20. Bacterial Mg^{2+} Homeostasis, Transport, and Virulence / E.A. Groisman [et al.] // *Annual Review of Genetics*. - 2013. Vol. 47. - P.625-646.

21. Effects of magnesium and sodium ions on the outer membrane permeability of cephalosporins in *Escherichia coli* / A. Yamaguchi [et al.] // FEBS Letters. - 1986. - Vol. 208. - P. 43-47.
22. Thermostable Bacterial Bioflocculant Produced by *Cobetia* Spp. Isolated from Algoa Bay (South Africa) / A. Ugbenyen [et al.] // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2012. – Vol. 9, N 6. – P.2108-2120.
23. Rudolf W., Brooker M.H., Pye C.C. Hydration of Lithium Ion in Aqueous Solution // The Journal of Physical Chemistry. – 1995. – Vol. 99, N 11. – P.3793-3797.
24. Loeffler H.H., Rode B.M. The hydration structure of the lithium ion // The Journal of Chemical Physics. – 2002. – Vol. 117, N 1. – P.110-117.
25. Zimkus A., Misiunas A., Chaustova L. Li⁺ effect on the cell wall of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as probed by FT-IR spectroscopy // Central European Journal of Biology. – 2013. – Vol. 8, N 8. – P.724-729.
26. Галынкин В.А., Кочеровец В.И., Габидова А.Э. Фармацевтическая микробиология. - 2-е изд., доп. и перераб. - М.: Арнебия, 2015. - 240 с.
27. Емцев В. Т., Мишустин Е.Н. Микробиология: учебник для бакалавров. - 8-е изд., испр. и доп. - М.: Издательство Юрайт, 2014. - 445 с.
28. Нетрусов А.И., Котова И.Б. Микробиология: учебник для студ. высш. заведений. - 3-е изд., испр. - М.: Издательский центр «Академия», 2009. - 352 с.
29. Комов В.П., Шведова В.Н. Биохимия: учебник для академического бакалавриата. - 4-е изд. испр. и доп. - М.: Издательство Юрайт, 2014. - 640 с.
30. Брюханов А.Л., Рыбак К.В., Нетрусов А.И. Молекулярная микробиология: учебник для вузов. - М.: Издательство Московского университета, 2012. - 480 с.

31. Бактерии-нефтедеструкторы для биоремедиации супесчаных почв Воронежской области. - URL: <https://biomolecula.ru/articles/bakterii-neftedestruktory-dlia-bioremediatsii-supeschanykh-pochv-voronezhskoi-oblasti> (дата обращения 14.05.2019).
32. Кононова В.В., Самсонова А.С., Семочкина Н.Ф. Сурфактантообразующая микрофлора: свойства и практическое использование // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. Сборник научных трудов ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси». - 2007. - С.350-365.
33. Шуляк Б.Ф. Энтерогеморрагические штаммы E.coli. Обзор //Альманах клинической медицины. - 2011. - N 25. - С.72-80.
34. Microbiology of waterborne diseases / S.L. Percival [et al.]. - 2nd edition. - London: Academic Press, 2014. - 696 pp.
35. Практикум по микробиологии: учебное пособие для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов [и др.]. - М.: Издательский центр «Академия», 2005. - 608 с.
36. ОФС.1.2.4.0010.18 Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар. - URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/1291/index.html (дата обращения 15.05.2019).
37. Richter H.E., Loewen P.C. Induction of catalase in Escherichia coli by ascorbic acid involves hydrogen peroxide // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 1981. – Vol. 100, N 3. – P.1039-1046.
38. Yew W.S., Gerlt J.A. Utilization of L-ascorbate by Escherichia coli K-12: assignments of functions to products of the yjf-sga and yia-sgb operons // Journal of Bacteriology. – 2002. Vol.184, N 1. – P.302-306.
39. The ascorbate transporter of Escherichia coli / Z. Zhang [et al.] // Journal of Bacteriology. – 2003. Vol.185, N 7. – P.2243-2250.

40. Aerobic L-ascorbate metabolism and associated oxidative stress in *Escherichia coli* / E. Campos [et al.] // *Microbiology*. – 2007. Vol. 153. – P.3399-3408.
41. Kolter R., Siegele D.A., Tormo A. The stationary phase of the bacterial life cycle // *Annual Review of Microbiology*. – 1993. – Vol. 47. – P.855-874.
42. Mechanism of Decarboxylation of Pyruvic Acid in the Presence of Hydrogen Peroxide / A. Lopalco [et al.] // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2016. – Vol. 105, N 2. – P. 705-713.
43. Vitamin C Inhibits *Staphylococcus aureus* Growth and Enhances the Inhibitory Effect of Quercetin on Growth of *Escherichia coli* In Vitro / J. Kallio [et al.] // *Planta Medica*. – 2012. – Vol.78, N 17. – P.1824-1830.
44. Combination of anti-tuberculosis drugs with vitamin C or NAC against different *Staphylococcus aureus* and *Mycobacterium tuberculosis* strains / K. Bahman [et al.] // *Microbial Pathogenesis*. – 2016. – Vol. 93. – P. 83-87.
45. Pharmacologic ascorbate as a pro-drug for hydrogen peroxide release to kill mycobacteria / Z. Pei [et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2019. – Vol. 109 - P. 2119-2127.
46. Рыжакина Т.Г. Экономика и управление производством. Расчет экономической части дипломного проекта: метод. указ. для студентов хим. спец. ИДО. - Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2007. – 22 с.
47. Фатхудинов Р. А. Инновационный менеджмент. – СПб.: Питер, 2008. – 448 с.
48. Барановский А.М., Кожевников Н.Н., Пирадова Н.В. Экономика промышленности: учеб. пособие для вузов. – М.: Изд-во МЭИ, 2007. – 345 с.
49. Волков О.И. Экономика предприятия. – М.: Инфра, 2013. – 690 с.
50. ГОСТ 12.1.008-76 ССБТ. Биологическая безопасность. Общие требования. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/5200275> (дата обращения 15.05.2019).

51. ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/5200233> (дата обращения 15.05.2019).
52. ГОСТ 12.2.032-78 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические требования. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200003913> (дата обращения 15.05.2019).
53. ГОСТ 22269-76 Система "Человек-машина". Рабочее место оператора. Взаимное расположение элементов рабочего места. Общие эргономические требования. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200012834> (дата обращения 15.05.2019).
54. ГОСТ 12.0.003-2015 ССБТ. Опасные и вредные производственные факторы. Классификация. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200136071> (дата обращения 15.05.2019).
55. СанПиН 2.2.4.548–96. Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений. – URL: <https://base.garant.ru/4173106/> (дата обращения 15.05.2019).
56. Правила устройства электроустановок (ПУЭ). Седьмое издание. – URL: <https://files.stroyinf.ru/Data1/7/7177/> (дата обращения 15.05.2019).
57. СП 12.13130.2009 Определение категорий помещений, зданий и наружных установок по взрывопожарной и пожарной опасности. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200071156> (дата обращения 15.05.2019).
58. ГН 2.2.5.3532–18. Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/557235236> (дата обращения 15.05.2019).
59. ГОСТ 32419-2013 Классификация опасности химической продукции. Общие требования. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200107879> (дата обращения 15.05.2019).

60. ГОСТ 17.1.3.06-82. Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к охране подземных вод. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200004387> (дата обращения 15.05.2019).
61. ГОСТ 17.1.3.13-86. Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к охране поверхностных вод от загрязнений. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200003200> (дата обращения 15.05.2019).
62. ГОСТ 30775-2001 Ресурсосбережение. Обращение с отходами. Классификация, идентификация и кодирование отходов. Основные положения. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200028877> (дата обращения 15.05.2019).
63. Федеральный закон от 21 декабря 1994 г. № 68-ФЗ. О защите населения и территорий от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера (с изменениями на 23 июня 2016 года). – URL: <http://docs.cntd.ru/document/9009935> (дата обращения 15.05.2019).