

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



Инженерная школа природных ресурсов  
 Направление подготовки 18.04.01 Химическая технология  
 Отделение химической инженерии

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

Тема работы			
Биотрансформация бетулина бактериями рода <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>			
УДК 615.277.3.015.4:579.844			
Студент			
Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ6Г	Новиков Сергей Александрович		

**Руководитель**

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент отделения химической инженерии	Мустафин Р.Н.	к.б.н., ассистент		

**КОНСУЛЬТАНТЫ:**

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент отделения социально-гуманитарных наук	Креницына З.В.	к.т.н., доцент		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент отделения контроля и диагностики	Король И.С.	к.х.н., доцент		

**ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:**

Руководитель ООП	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент отделения химической инженерии	Михеева Е.В.	к.х.н., доцент		

Томск – 2018 г.

## Запланированные результаты обучения по программе

Код результата	Результат обучения (выпускник должен быть готов)
<i>Профессиональные компетенции</i>	
P1	Применять <i>глубокие</i> естественно-научные, математические и инженерные знания для создания <i>новых</i> материалов
P2	Применять <i>глубокие</i> знания в области современных технологий химического производства для решения <i>междисциплинарных</i> инженерных задач
P3	Ставить и решать <i>инновационные</i> задачи <i>инженерного анализа</i> , связанные с созданием материалов и изделий, с использованием системного анализа и моделирования объектов и процессов химической технологии
P4	Разрабатывать химико-технологические процессы, <i>проектировать</i> и использовать <i>новое</i> оборудование для создания материалов, конкурентоспособных на <i>мировом</i> рынке
P5	Проводить теоретические и экспериментальные <i>исследования</i> в области создания <i>новых</i> материалов, современных химических технологий, нанотехнологий
P6	Внедрять, <i>эксплуатировать</i> современные высокотехнологичные линии автоматизированного производства, обеспечивать их <i>высокую эффективность</i> , соблюдать правила охраны здоровья и безопасности труда на химическом производстве, выполнять требования по защите окружающей среды
<i>Универсальные компетенции</i>	
P7	Использовать <i>глубокие</i> знания по <i>проектному менеджменту</i> для ведения <i>инновационной</i> инженерной деятельности с учетом юридических аспектов защиты интеллектуальной собственности
P8	<i>Активно</i> владеть <i>иностранном языком</i> на уровне, позволяющем работать в иноязычной среде, разрабатывать документацию, презентовать и защищать результаты инновационной инженерной деятельности
P9	Эффективно работать индивидуально, в качестве <i>члена и руководителя группы</i> , состоящей из специалистов различных направлений и квалификаций, демонстрировать ответственность за результаты работы и готовность <i>следовать корпоративной культуре</i> организации
P10	Демонстрировать <i>глубокие</i> знания <i>социальных, этических и культурных аспектов</i> инновационной инженерной деятельности, компетентность в вопросах <i>устойчивого развития</i>
P11	<i>Самостоятельно учиться</i> и непрерывно <i>повышать квалификацию</i> в течение всего периода профессиональной деятельности

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



Инженерная школа природных ресурсов  
Направление подготовки 18.04.01 Химическая технология  
Отделение химической инженерии

УТВЕРЖДАЮ:

Руководитель отделения  
химической инженерии

\_\_\_\_\_  
(Подпись)      \_\_\_\_\_ (Дата)      Михеева Е.В  
(Ф.И.О.)

**ЗАДАНИЕ**  
**на выполнение выпускной квалификационной работы**

В форме:

Магистерской диссертации

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

Студенту:

Группа	ФИО
2ДМ6Г	Новиков Сергей Александрович

Тема работы:

Биотрансформация бетулина бактериями рода *Acinetobacter calcoaceticus*

Утверждена приказом директора (дата, номер)	От 10.04.2018г №2459/с
---	------------------------

Срок сдачи студентом выполненной работы:	
--	--

**ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:**

<b>Исходные данные к работе</b>	
<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 - Бетулин

<p><b>Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов</b></p> <p><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></p>	<p>Аналитический обзор литературы          Экспериментальная часть: методы проведения биотрансформации – как на колбах, так и масштабировано – в биореакторе, включая методы отбора штаммов, подготовки реагентов, питательных сред, инокулята, культивирования, контроля процесса биотрансформации, выделения продуктов биосинтеза, их исследование.          Обсуждение результатов выполненной работы          Раздел «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»          Раздел «Социальная ответственность»          Раздел на иностранном языке</p>
--	--

<p><b>Перечень графического материала</b></p> <p><i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i></p>	<p>Презентация</p>
--	--------------------

**Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы**  
*(с указанием разделов)*

Раздел	Консультант
Обзор литературы, Методы исследования, Результаты исследования	к.б.н., ассистент Мустафин Р.Н.
Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	к.т.н., доцент Криницына З.В.
Социальная ответственность	к.х.н., доцент Король И.С
Обзор литературы на иностранном языке	ст. преподаватель Рыманова И.Е

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

На русском: разделы 2,3

На английском: chapters 2,3

<p><b>Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику</b></p>	
--	--

**Задание выдал руководитель:**

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент отделения химической инженерии	Мустафин Р.Н.	к.б.н., ассистент		

**Задание принял к исполнению студент:**

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ6Г	Новиков Сергей Александрович		

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА  
«ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И  
РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»**

Студенту:

<b>Группа</b>	<b>ФИО</b>
2ДМ6Г	Новиков Сергей Александрович

<b>Инженерная школа природных ресурсов</b>		<b>Отделение химической инженерии</b>	
<b>Уровень образования</b>	<b>Магистр</b>	<b>Направление</b>	18.04.01 Химическая технология

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

<b>1.</b> <i>Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих</i>	
<b>2.</b> <i>Нормы и нормативы расходования ресурсов</i>	
<b>3.</b> <i>Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования</i>	

**Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:**

<i>1. Оценка коммерческого потенциала, перспективности и альтернатив проведения НИ с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения</i>	
<i>2. Планирование и формирование бюджета научных исследований</i>	
<i>3. Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования</i>	

**Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):**

<i>1. Оценка конкурентоспособности технических решений</i>
<i>2. Матрица SWOT</i>
<i>3. Альтернативы проведения НИ</i>
<i>4. График проведения и бюджет НИ</i>
<i>5. Оценка ресурсной, финансовой и экономической эффективности НИ</i>

<b>Дата выдачи задания для раздела по линейному графику</b>	
---	--

**Задание выдал консультант:**

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
кандидат экономических наук	Креницына Зоя Васильевна	кандидат экономических наук		

**Задание принял к исполнению студент:**

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ6Г	Новиков Сергей Александрович		

## РЕФЕРАТ

Диссертация изложена на 97 страницах, включает 29 таблиц, 34 иллюстрации, 3 формулы и состоит из введения, 5 глав, выводов, списка использованных источников из 56 наименований и приложения.

Ключевые слова: бетулин, биотрансформация, культивирование, бактерии, *Acinetobacter calcoaceticus*, биореактор, жизнеспособность, микробиология.

Объектом исследования является продукт, полученный путем микробиологического синтеза бетулина.

Цель работы – исследование процесса Биотрансформации бетулина бактериями рода *Acinetobacter calcoaceticus*

В процессе исследования было изучено воздействие бактерии рода *Acinetobacter calcoaceticus* на бетулин и исследовано ее жизнеспособность в данных условиях.

В результате исследования подобраны оптимальные условия для благоприятного развития бактерий, определен целевой продукт, полученный в ходе биотрансформации бетулина, и его характеристики, проведено масштабирование процесса в биореакторе.

Область применения: фармацевтическая промышленность.

Экономическая эффективность/значимость работы: трансформация бетулина посредством воздействия на него бактерий является экономически более выгодной технологией, нежели химическая трансформация. Целевой продукт, полученный при биологической трансформации, обладает высокой селективностью и может быть получен за минимально короткий промежуток времени.

## **Нормативные ссылки**

В настоящей работе использованы ссылки на следующие стандарты:

1. ГОСТ 12.4.011-89 ССБТ. Повышенная температура поверхностей оборудования.
2. ГОСТ 12.1.019-79. ССБТ. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.
3. ГОСТ 12.1.004-91. Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования.
4. ГОСТ 12.4.009-83. Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание.
5. Гост 8981-78. Этилацетат. Технические условия.
6. Гост 20015-88. Хлороформ. Технические условия.
7. ГОСТ 3118-77. Соляная кислота. Технические условия.

## Определения

В данной работе применены следующие термины с соответствующими определениями:

**Биотрансформация (биоконверсия):** явление, в ходе которого происходит превращение одного химического соединения в другое.

**Биореактор:** аппарат, в котором происходит процесс перемешивания культурной среды в результате микробиологического синтеза.

**Экстракция:** извлечение того или иного вещества с использованием подходящего экстрагента (растворителя)

**Культивирование:** один из основных способов выращивания микроорганизмов в определенной питательной среде.

## **Сокращения**

БАВ – биологически активные вещества

ТСХ – тонкослойная хроматография

pH – водородный показатель

МПБ – мясопептонный бульон

МПА – мясопептонный агар

КОЕ – колониобразующие единицы

## Оглавление

Введение.....	15
1. Обзор литературы.....	17
1.1 Характеристика бетулина.....	17
1.1.1 Способы выделения бетулина.....	18
1.1.2 Физические и химические свойства бетулина.....	19
1.1.3 Фармакологическая активность бетулина и его производных.....	20
1.2 Трансформация бетулина.....	22
1.2.1 Химическая трансформация.....	22
1.2.2 Биохимическая трансформация лупановых тритерпеноидов.....	23
1.3 Биология бактерий рода Acinetobacter.....	26
2. Материалы и методы исследования.....	29
2.1 Объекты исследования.....	29
2.2 Материалы и реагенты.....	29
2.3 Методы исследования биотрансформации на колбах.....	30
2.3.1 Культивирование микроорганизмов.....	30
2.3.2 Микробиологическая трансформация бетулина .....	30
2.3.3 Определения колониеобразующих единиц.....	32
2.3.4 Выделение продуктов трансформации.....	32
2.3.5 Идентификация.....	33
2.4 Методы исследования биотрансформации на биореакторе.....	35
2.4.1 Отбор штамма.....	37
2.4.2 Приготовление инокулята.....	37
2.4.3 Подготовка и стерилизация питательных сред, растворов, пеногасителей.....	37
2.4.4 Стерилизация оборудования.....	38
2.4.5 Подготовка биореактора.....	38
2.4.6 Культивирование микроорганизмов и контроль процесса.....	40
3. Результаты и обсуждения.....	42

3.1 Результаты исследования, проведенные на колбах.....	42
3.2 Результаты исследования, проведенные на биореакторе.....	44
Выводы.....	48
4. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение.....	49
4.1.Предпроектный анализ.....	49
4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования.....	49
4.2 Анализ конкурентных технических решений.....	50
4.3 Диаграмма Исикава.....	51
4.4 Оценка готовности проекта к коммерциализации.....	52
4.5 Методы коммерциализации результатов научно-технического исследования...54	
4.6 Инициация проекта.....	54
4.6.1 Цели и результат проекта.....	54
4.6.2 Организационная структура проекта. ....	55
4.6.3 Ограничения и допущения проекта.....	56
4.6.4 Планирование управления научно-техническим проектом.....	57
4.6.5 План проекта.....	57
4.6.6.Бюджет научного исследования.....	58
4.6.7 Организационная структура проекта.....	63
4.6.8 Матрица ответственности .....	64
4.6.9 План управления коммуникациями проекта.....	64
4.6.10 Реестр рисков проекта.....	65
4.6.11 План управления контрактами и поставками.....	66
4.7 Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования.....	66
4.7.1 Оценка сравнительной эффективности исследования.....	66
5. Социальная ответственность.....	70
5.1 Производственная безопасность.....	70
5.1.1 Анализ вредных факторов производственной среды.....	70

5.1.2 Анализ опасных факторов производственной среды.....	74
5.2 Экологическая безопасность.....	75
5.3 Безопасность в чрезвычайных ситуациях.....	76
5.3.1 Анализ вероятных ЧС, которые может инициировать объект исследований.....	76
5.4 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности.....	77
5.4.1 Специальные правовые нормы трудового законодательства.....	77
Список литературы.....	79
Приложение А. Разделы, выполненные на иностранном языке № 2, 3 .....	85

## Введение

Исследование тритерпеновых соединений представляет огромный интерес в связи с тем, что данные соединения являются общедоступными и обладают широким спектром биологического воздействия на организм. Применение природных соединений как объект химической трансформации для получения новых биологически активных компонентов на сегодняшний день является бурно развивающейся отраслью в развитие органического синтеза.

На сегодняшний день, особое внимание исследователи уделяют изучению биологической активности природных соединений, в том числе тритерпеноидов и их производных.

Исследования показали, что данные соединения обладают высокими противовирусными, противоопухолевыми показателями, а так же являются хорошими антиоксидантами. Так же, данные соединения имеют низкий показатель токсичности и легко могут быть подвержены химической модификации [1].

Несмотря на это, тритерпеноиды плохо растворимы в воде и малые показатели адсорбции, что является препятствием для применения данных веществ.

В последнее время начали активно изучать фармакологические свойства производных тритерпеноидов лупанового ряда – бетулина, бетулиновой и бетулоновой кислот, о чем свидетельствует рост публикаций о синтезе новых производных и изучении их биологической активности [2,3,4].

В связи с этим синтез новых производных тритерпеноидов лупанового ряда представляет важную и актуальную задачу.

**Объектом исследования** является целевой продукт, полученный в результате биологической трансформации бетулина.

**Целью работы** осуществить биохимические трансформации бетулина и его производных,

Для достижения данной цели необходимо решить следующие задачи:

- Подобрать питательную среду для биотрансформации бетулина бактериями рода *Acinetobacter calcoaceticus*
- Исследовать влияние растворителя субстрата на жизнеспособность бактерий
- Провести биохимическую трансформацию бетулина штаммом бактерий рода *Acinetobacter calcoaceticus*
- Определить жизнеспособность бактерий в условиях синтеза
- Выделить и исследовать продукты биотрансформации.

**Научная новизна** работы определяется тем, что впервые:

- Исследован процесс биоконверсии бетулина бактериями *Acinetobacter calcoaceticus*.
- Исследованы некоторые продукты биотрансформации бетулина бактериями *Acinetobacter calcoaceticus*

**Научно-практическая значимость** исследования состоит в том, что был разработан новый метод получения биологически активных веществ. Результаты, полученные в ходе проведения работы, являются интересными как с теоретической, так и с практической точки зрения и способны внести значительный вклад для решения ряда вопросов, связанные с фармацевтической индустрией.

## 1. Обзор литературы

### 1.1 Характеристика бетулина

Бетулин [луп-20(29)-ен-3 $\beta$ ,28-диол] 1 – пентациклический тритерпеноид лупанового ряда, который содержится в различных растениях семейства Betulaceae.

Его процентное содержание во внешней структуре коры белой березы *Betula pendula* L. варьируется от 10 до 35%. Такое процентное содержание бетулина в коре напрямую зависит от того, в каких условиях происходит рост березы, от ее возраста, времени сбора коры и т.д. [5].

Бетулин обладает противовоспалительным [6], противовирусным [7] и противоопухолевым эффектом [8].

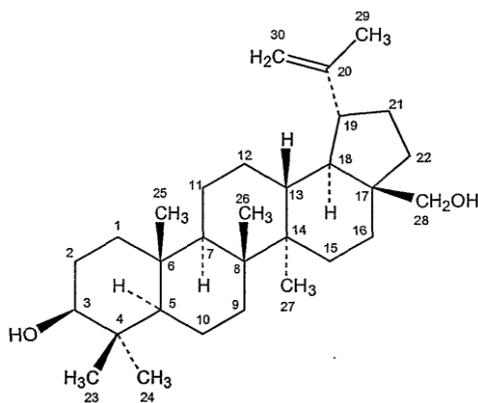


Рисунок 1 – Структурная формула бетулина

Несмотря на то, что фармакологические свойства бетулина были известны давно, в последнее время наблюдается чрезвычайный интерес в фармакологии к данному веществу.

Доказано, что не только бетулин, но и производные бетулина (бетулоновая кислота) содержат вещества, которые делают препарат фармакологически активным.

Воздействие бетулина на организм:

- Способен активно ингибировать такой фермент как эластаза, которая ответственная за потерю упругости кожи;

- Способен стимулировать синтез коллагена и останавливать воспалительный процесс на кожном покрове, защищать ее от воздействий протеинкиназ;
- Способен отбеливать кожный покров в результате тормозящего воздействия на меланогенез [9].

Не стоит сомневаться в том, что бетулин обладает выраженной противовирусной активностью, в частности ко всем формам такого вируса как герпес. Противогрибковые действия бетулина открывают широкие возможности для его применения, как в профилактических мерах, так и для лечения болезней кожи, волос и ногтей.

Учеными из Японии и США было доказано, что бетулин и его производные обладают противомеланомной активностью [10].

При добавлении бетулина в крема, он приобретает такое свойство как солнцезащитность, что подтверждено патентами таких стран как Польша, США и др. [11].

### ***1.1.1 Способы выделения бетулина***

На сегодняшний день предложено несколько способов для выделения из кроны березы бетулина.

Наиболее простой способ заключается в экстракции березовой коры бензолом, и последующих фильтровании и сушке выделенного бетулина [12,13].

Также для выделения бетулина возможно проводить экстракцию, применяя петролейный эфир, четыреххлористый углерод и хлороформ [14].

Существует метод выделения бетулина, проходящий в несколько стадий. Он включает в себя экстракцию трихлорэтиленом, затем проводится ацилирование экстракта и гидролиз диацетата бетулина [15].

### 1.1.2 Физические и химические свойства бетулина

Бетулин – белое порошковое вещество с несколько выраженными аморфными свойствами, визуально напоминает крахмал, использование большинства растворителей не позволяет вырастить кристаллы больших размеров, что является следствием присутствия в молекуле бетулина большого количества малополярных алкильных фрагментов.

В воде бетулин не растворим, так как его молекула слишком велика для реализации пустотного механизма растворения.

В таблице 1 представлена растворимость бетулина.

Таблица 1. – Растворимость бетулина при различных температурах в различных растворителях.

Растворитель	Растворимость бетулина при температуре, °С			
	5	15	25	35
Хлороформ	0,967	1,26	1,63	1,905
Этилацетат	0,484	0,781	1,04	1,54
Ацетон	0,425	0,662	1,207	1,74
Этанол	0,558	0,634	0,863	1,09
Метанол	0,248	0,343	0,453	0,549

Растворимость представлена в граммах бетулина на 100 мл растворителя. Как видно из таблицы, растворимость растет с увеличением полярности растворителя и температуры.

Температура плавления бетулина достаточно высока и составляет около 261°С, это следствие значительной молекулярной массы и наличия полярных групп. Температуры кипения у бетулина нет, однако при температурах более высоких, чем температура плавления, начинается возгонка бетулина. При этом давление паров незначительно и начинается постепенное термическое разложение, сопровождающееся дегидратацией гидроксильных групп и конденсацией молекул по двойным связям [16,17].

### ***1.1.3 Фармакологическая активность бетулина и его производных***

Бетулин содержит в себе огромный спектр компонентов, в результате которых вызывают огромный интерес для фармацевтической промышленности.

Экстракты, содержащиеся в березовой коре, основой которых служит бетулин, обладают ранозаживляющими, противовоспалительными, желчегонными и гепатопротекторными свойствами [18].

На основе бетулина разработаны биологические активные добавки к пище: «Бетулин высокой степени очистки, экстракт бересты 99,9%», «Бетулин–Антиокс», «Бетулин–Гепато», «Бетулин–Иммуно» и «Бетулин–СлимКоррект».

Были определены туберкулостатические свойства бетулина, которые проявляются во время ингибирования развития микобактерий [19-21].

На сегодняшний день на основе бетулина и его аналогов производятся новые биологически активные добавки, а так же новые лекарственные препараты. Процесс, при котором происходит добыча и очистка бетулина, считается достаточно трудоемким и энергозатратным, что приводит к увеличению цены на продукт и существенно снижает область применения данного вещества в качестве биологически активного [22].

С давних времен внешняя часть коры березы применялась для получения так называемого «берестового дёгтя», который использовался в качестве антисептика и противочесоточного средства. Так же в народной медицине бересту использовали для лечения гнойных ран и при различных заболеваниях кожного покрова.

Немецкий ученый Ф. Велер отмечал, что бетулин и его производные обладают антисептическими свойствами, которые в последующем можно использовать для стерилизации бинтов и пластырей [23].

Неотъемлемой частью бетулина выступает лупеол. Он составляет 10% от бетулина. Ранее было доказано, что данное вещество выступает в качестве

активного цитостатика. Описано сильное воздействие лупеола по отношению к лейкоцитарной эластазе человека [24].

Цитотоксические свойства производных бетулина исследованы по отношению к разным раковым клеткам. Выявлено, что противоопухолевые свойства наиболее присуще бетулоновой кислоте, которая является активным замедлителем роста раковых клеток, роста клеток меланомы в организме человека [25], а так же способно заглушать развитие ВИЧ.

Бетулиновая кислота обладает выраженным противовоспалительным действием, а бетулоновая кислота – противоязвенной активностью [26]. Производные бетулоновой кислоты также способны проявлять комплекс антиоксидантных свойств [27].

Диацетат бетулина обладает гиполипидемическим и желчегонным действием. Помимо этого, диацетат бетулина выступает в качестве сырья во многих органических синтезах, например при производстве бетулиновой кислоты и серопроизводных бетулина.

Сравнительная оценка гипохолестеринемической активности тритерпеноидов у животных с «твиновой» моделью гиперлипидемии показала, что наибольшая активность присуща бетулину и его диацетату в дозах 75 и 150 мг/кг, и что их активность превосходит таковую у официальных противоатеросклеротических препаратов цетамифена и полиспонина, вводимых в максимальных терапевтических дозах [28].

Исследования антиоксидантных свойств этого вещества, проводившиеся на крысах, выявили, что периодическое введение диацетата бетулина при активной физической нагрузке приводит к понижению интенсивности процесса перекисного окисления липидов. Под влиянием этого процесса в исследованных образцах тканей опытной группы крыс по сравнению со стрессовой существенно уменьшается уровень малонового диальдегида, повышается активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы. Наблюдаемый эффект объясняется

антирадикальной активностью диацетата бетулина, что подтверждает его антиоксидантные свойства [28].

Таким образом, бетулин и его производные обладают широким спектром биологической активности, что открывает обширные возможности для их применения в медицине, парфюмерно-косметической, пищевой, фармацевтической и других отраслях народного хозяйства.

## 1.2 Трансформация бетулина

### 1.2.1 Химическая трансформация

Бетулин **1** содержит в своей структуре три функциональные группы, по которым возможны химические преобразования: гидроксигруппы в 3-С и 28-С положениях и изопропиленовую группу в 19-С положении. Следует отметить, что для проведения химических трансформаций по какой-либо из ОН-групп или изопропиленовой группировке часто используют ацилированные производные бетулина. В данной работе будут рассмотрены реакции только самого бетулина **1**.

Одним из простейших типов превращения спиртов является образование сложных эфиров путём взаимодействия с хлорангидами или ангидридами кислот. Предложены различные варианты этерификации бетулина **1** с образованием моно- и диэфиров в зависимости от условий проведения реакции.

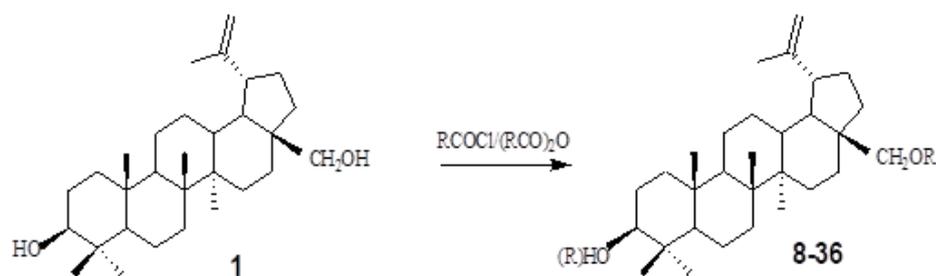


Рисунок 2 – Химическая трансформация бетулиновой кислоты

## 1.2.2 Биохимическая трансформация лупановых тритерпеноидов

Кроме химической модификации неоднократно предпринималась попытки подвергнуть бетулин биохимической трансформацией, применяя для этого различного рода микроорганизмы. Именно такого рода трансформация дает возможность получить высокий выход целевого продукта. При этом в технологическом процессе наличествует лишь одна стадия, протекающая при нормальной температуре и давлении. В процессе не применяются агрессивные среды, что делает таковую модификацию экологически безопасной.

Как известно из химии стероидов [29] и химии высших тритерпеноидов [30], микробиологическое окисление пентациклических тритерпеноидов часто приводит к образованию различных соединений (с изменением и без изменения лупанового остова), которые затруднительно получить синтетическими методами.

Культура *Bacillus megaterium* ATCC 14581 позволяет получить из бетулиновой кислоты **6** бетулоновую **8** с выходом 0,44%, 7 $\beta$ -гидроксбетулиновую **77** (0,085%) и 6 $\alpha$ ,7 $\beta$ -дигидроксбетулиновую **78** (0,45%) кислоты (рисунок 3).

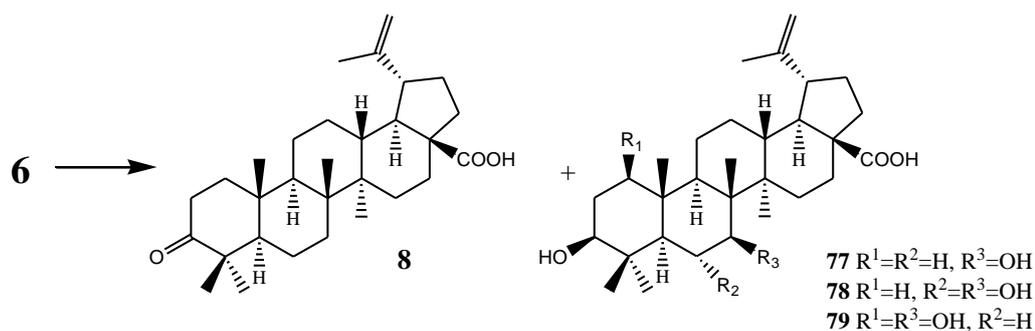


Рисунок 3 – Биохимическая трансформация бетулиновой кислоты

Так, культура *Cunninghamella elegans* ATCC 9244 дает 1 $\beta$ , 7 $\beta$ -дигидроксикислоту **79** (0,37%), тогда как инкубирование с *Mucor mucedo* UI-4605 приводило к образованию метаболита **77** с выходом 1,3% (рисунок 3).

Окисление бетулиновой кислоты **6** культурой *Bacillus megaterium* ATCC 13368 проходит с образованием четырех метаболитов: бетулоновой **8**

(4,1%), 1 $\beta$ -гидрокси **79** (0,19%) и 11 $\alpha$ -гидрокси-бетулоновых (0,13%) и 7 $\beta$ ,15 $\alpha$ -дигидрокси-бетулиновой кислот (0,54%) [31].

Сложнее происходит окисление бетулина **1** и бетулоновой кислоты **8** культурой гриба *Chaetomium longirostre* [103]. Бетулин **1** превращается в А-секокислоту **82** с выходом 3%. Бетулоновая кислота дала уникальные 7 $\beta$ ,15 $\alpha$ -дигидрокси-3-кетокислоту **83** и 28-нортерпеноид **84**, а также дикарбоновую кислоту **85** с выходами 4, 12 и 6%, соответственно (рисунок 4).

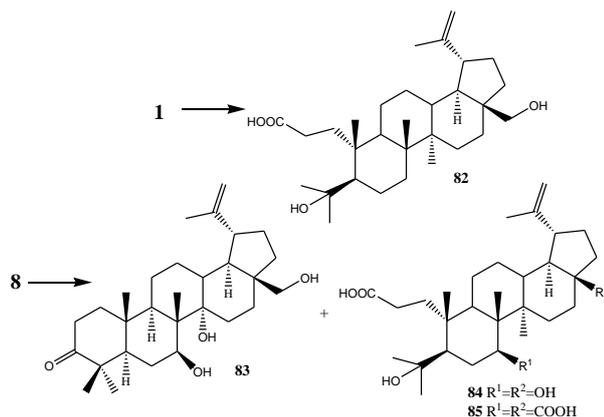


Рисунок 4 – Биохимическая трансформация бетулина и бетулоновой кислот культурой гриба *Chaetomium longirostre*

Найдены покоящиеся клетки микроорганизмов, способные трансформировать оксиметиленовую группу бетулина **1** с образованием в качестве одного из продуктов бетулиновой кислоты **6**. Показано, что покоящиеся клетки штамма *Mycobactericum sp.* 1-4-1 осуществляют региоселективное окисление бетулина **1** в бетулиновую кислоту **6** с 40% конверсией и выходом 60% [32]. При этом введение в реакционную смесь буфера приводит к росту скорости трансформации субстрата, но вызывает снижение селективности процесса и выхода целевого продукта [33,34].

Бетулин **1** может быть региоселективно окислен до бетулинового альдегида **4** стерически затрудненным окислителем – оксоаммониевой солью ТЕМПО. В качестве первичного окислителя для данных целей использовался перманганат калия с катализатором межфазного переноса дибензо-18-краун-6 [35].

В работе [36] описан пример бактериальной трансформации бетулина **1** до бетулиновой кислоты **6** с использованием *Pseudomonas* sp. Н-43, *Mycobacterium* sp. 1-4-1 и неидентифицированных штаммов Т-12, УЗ-26. При этом уровень конверсии бетулина *Mycobacterium* sp. 1-4-1 составлял 45–50%. В 2012–2013 гг. появились первые сведения о региоселективном окислении вторичной гидроксильной группы бетулина с образованием бетулоне **86** при использовании растущих клеток грибов и дрожжей. При этом грибы рода *Dothideomycete* sp. (штамм HQ 316564) катализирует образование продукта **87** с выходом 43,4% в течение 144 часов в условиях внесения бетулина **1** в концентрации 0,1 г/л [37].

В процессе биотрансформации бетулина **1**, (0,057 г/л) представителями дрожжей условно патогенного вида *Rhodotorula mucilaginosa* F10 наряду с бетулоном **86** регистрировали образование дополнительного метаболита – метилового эфира 11,14-октадекадиеновой кислоты [38].

Описан пример окислительного расщепления кольца А бетулина **1** с образованием секопроизводных с использованием микроорганизмов. Показано, что нерастущие клетки грибов *Chaetomium longirostre* IFO 9873 катализируют образование 4,28-дигидрокси-3,4-секо-луп-20(29)-ен-3-овой кислоты **87** (3%), обладающей противоопухолевой активностью, в условиях внесения бетулина **1** в концентрации 0,067 г/л (рисунок 5) [39].

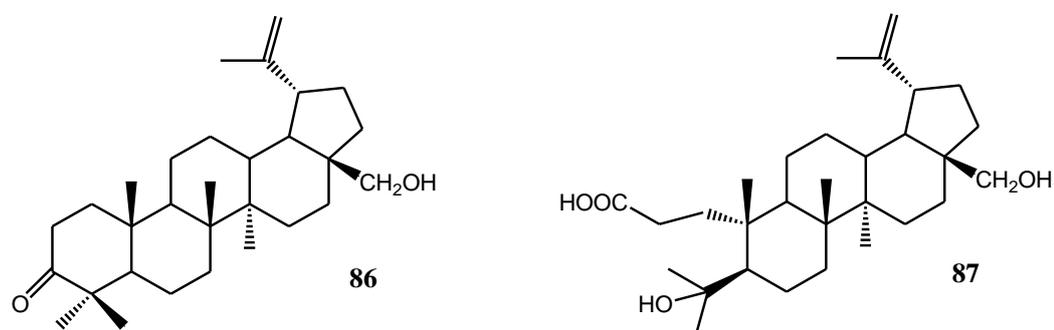


Рисунок 5 – Образование бетулоне и 4,28-дигидрокси-3,4-секо-луп-20(29)-ен-3-овой кислоты

Из рассмотренных литературных данных видно, что в качестве биообъектов в процессах трансформации пентациклических тритерпеноидов преимущественно использовали культуры и штаммы грибов. Однако описанные процессы биоконверсии имеют значительные недостатки (использование сложных питательных сред, высокая продолжительность, невысокий уровень конверсии, потенциально опасный посевной материал и др.). В связи с этим актуальным является поиск непатогенных микроорганизмов, способных эффективно катализировать окислительные трансформации пентациклических тритерпеноидов (бетулина и его производных).

### **1.3 Биология бактерий рода *Acinetobacter***

Бактерии рода *Acinetobacter* (аэробные, неферментирующие, каталазоположительные, грамотрицательные, неподвижные). Расположение этих бактерий парное, не образуют спор, часть бактерий окружена экзополисахаридами.

Согласно Граму, окрас могут применять выборочно. Произрастают на обычной питательной среде, образуя гладкие, едва прозрачные колонии средних размеров. Современная классификация бактерий рода *Acinetobacter* содержит в себе более 17 видов [40].

Бактерии рода *Acinetobacter* широко распространены в водной и почвенной экосистеме; некоторые из них являются возбудителями различных инфекций у людей и животных.

По результатам исследования 44 водных и 47 почвенных объектов выявлено, что бактерии рода *Acinetobacter* находятся в 44% водных и 41% почвенных объектах. Наибольшее количество этих бактерий составляют бактерии рода *Acinetobacter calcoaceticus*, которые являются типичными представителями микрофлоры почвенной и пресноводной экосистем [41].

Природа бактерий рода *Acinetobacter* связана с особенностью протекания жизненного цикла. В свою очередь, длительность той или иной стадии зависит от физико-химических условий среды обитания бактерий.

Голодные клетки *Acinetobacter* и клетки посевного материала являются небольшими по размеру кокками. Они проявляют высокую способность фиксироваться на различных поверхностях и взаимодействовать между собой, образуя биопленку, состоящую из множества плотных микроколоний. Если питательная среда насыщается органическими веществами, соединениями серы, фосфора и азота, наблюдается стремительный переход в бациллярной морфологии клеток; в этот момент происходит отщепление бактерий от субстрата и формирование диспергированной слабосвязанной биопленки. Данное действие дает возможность подвижным клеткам перемещаться в сторону к более перспективным условиям. В свою очередь бактерии *Acinetobacter*, которые не обладают подвижностью и обладают малой способностью к выживанию в неблагоприятных условиях, направляют свою стратегию на снижение активности [42].

Ранее выявлена способность бактерии рода *Acinetobacter* с помощью органических кислот, образующихся в процессе расщепления глюкозы, растворять фосфат кальция. При этом полученные углеродные субстраты могут использоваться как дополнительный источник энергии.

Способность ряда штаммов использовать в качестве ростового субстрата компоненты крови ставит вопрос о патогенности бактерии рода *Acinetobacter*. Эта проблема становится все более серьезной. В частности, в ряде крупных клинических больниц бактерионосительство выявляется у 40% пациентов отделений интенсивной терапии и реанимации, у 20% пациентов травматологических и ожоговых отделений [43].

Борьба с инфекциями, которые вызывает *Acinetobacter*, крайне затруднена вследствие неизбежного и постоянного присутствия этих бактерий во внешней среде и внутренних пространствах помещений [44,45].

Важность изучения биологии как клинически значимых, так и природных штаммов *Acinetobacter* связана и с их способностью быстро приобретать устойчивость к действию антибиотиков.

## 2. Материалы и методы исследования

Данный раздел содержит описание проведенных исследований.

### 2.1 Объекты исследований

Объектом исследования служили бактерии рода *Acinetobacter calcoaceticus*. Используемые бактерии выделены в ходе рекультивации почвы, загрязненной нефтепродуктами, на территории Томской области, из накопительной культуры посевом на плотную минеральную питательную среду с добавлением сырой стерильной нефти в качестве единственного источника углерода. Подлинность штаммов установлена ООА «Генетика» г. Москва. Основные культурально-морфологические свойства культур представлены в виде таблицы 2.

Таблица 2. – Культурально-морфологические свойства *Acinetobacter calcoaceticus*.

Культура	Источник выделения, географическое положение	Биотехнологически значимые свойства
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Почва, загрязненная нефтепродуктами, нефтяное месторождения Томской области	Обладают высокой углеводородокисляющей активностью

Бактерии выращивали на питательном агаре (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) в термостате при температуре 28°C в течение 48 часов, затем в жидкой питательной среде МПБ [состав (г/л): триптон – 10,0, NaCl – 5,0] (Sigma-Aldrich, США) на орбитальном шейкере при 28°C и 160 об./мин в течение 48 ч.

### 2.2 Материалы и реагенты

Материалами исследования послужили тритерпеноиды лупанового ряда – бетулин, бетулиновая и бетулоновая кислоты, бетулиновый и бетулоновой альдегиды.

## ***2.3 Методы исследования биотрансформации на колбах***

### ***2.3.1 Культивирование микроорганизмов***

Потребности микроорганизмов в питательных веществах чрезвычайно разнообразны и определяются особенностями их метаболизма. При культивировании микроорганизмов в колбах используют только жидкие питательные среды.

Надлежащее качество питательной среды служит основополагающей как в проведении самой работы, так и в результате. Среда должна гарантировать наличие оптимальных условий для благоприятной жизнедеятельности микроорганизмов, поскольку именно в них происходят все жизненно важные для микроорганизмов процессы (питание, дыхание, размножение).

Бактерии выращивали на питательной среде мясо-пептонный агар (МПА), который состоит из мясного экстракта, пептона, хлорида натрия, дигидрофосфата натрия и агар-агара.

Питательную среду МПА стерилизовали в автоклаве в течение 20 минут при температуре 120°C. В асептических условиях стерильную питательную среду разливали в стерильные чашки Петри и помещали в термостат при температуре 28°C. Через 48 часов производили посев лиофилизированной культуры *Acinetobacter calcoaceticus*. На поверхность питательной среды наносили стерильной пипеткой каплю накопительной культуры и распределяли ее стерильным шпателем. Бактерии культивировали в термостате при температуре 28°C в течение 48 часов.

Выращенную культуру, достигшую поздней логарифмической фазы роста, собирали с поверхности среды и использовали для дальнейших исследований биоконверсии тритерпеноидов.

### ***2.3.2 Микробиологическая трансформация бетулина***

Биологическая трансформация бетулина проводилась в колбах Эрленмейера объемом 250 мл, в которые вводили 150 мл питательной среды.

Для культивирования бактерий пользовались мясопептонным бульоном (МПБ) производства ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия следующего состава (г/л): панкреатический гидролизат мясной муки – 10,0; пептон ферментативный – 10,0; NaCl – 5,0 (pH 7,0–7,4).

Бактерии, выращиваемые на мясопептонном агаре (МПА) в течении 48 ч, далее вносили в среду культивирования до конечной концентрации  $3,3 \times 10^9$  клеток/мл.

Для введения в культуральную среду бетулин первоначально растворяли. В качестве растворителя-субстрата был выбран этилацетат, который растворяет бетулин в соотношении 1:100 г/мл при 30°C.

Выращивание микроорганизмов проводили на орбитальном шейкере при 28°C. Шейкер обеспечивал встряхивание или вращение колб со скоростью 160 об/мин и тем самым насыщал питательную среду кислородом.

Процесс получения продуктов отслеживали в период 240 часов с интервалом в 48 часов. Одновременно проводилось микробиологическое исследование по методу Коха [46], осуществлялся посев на МПА для фиксации колониеобразующих единиц (КОЕ).

Схема проведения микробиологического синтеза представлена на рисунке 6.

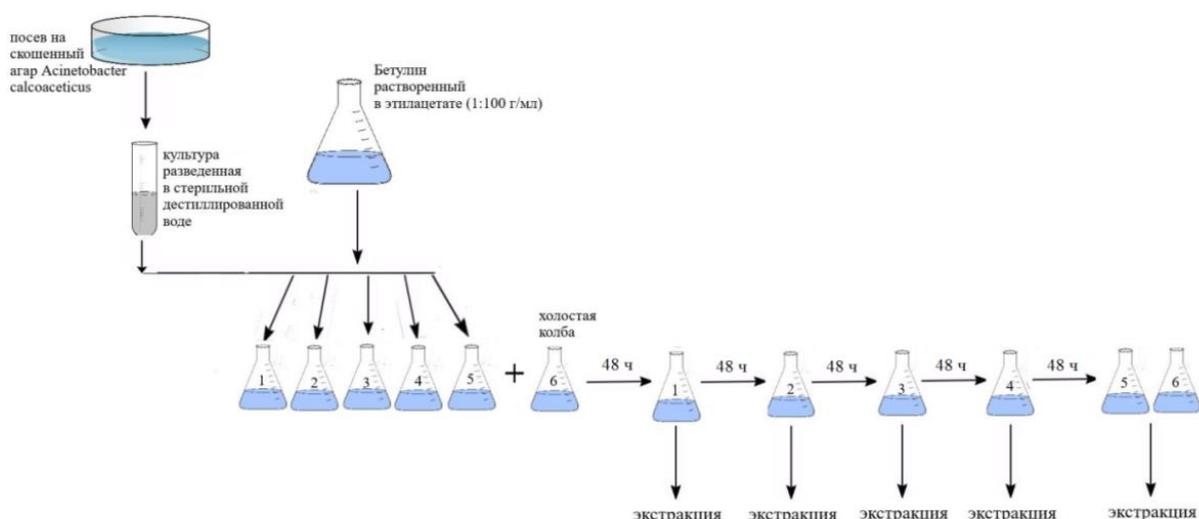


Рисунок 6 – Схема проведения микробиологического синтеза

### 2.3.3 Определения колониеобразующих единиц

Анализ проводился через каждые 48 часов. Методом Коха вычисляли количество жизнеспособных клеток.

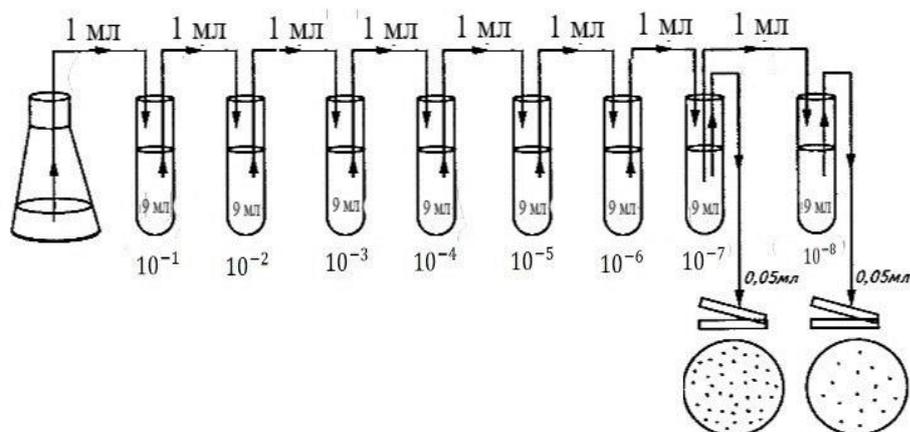


Рисунок 7 – Метод Коха (метод серийных разведений)

Количество клеток в 1 мл исследуемого субстрата ( $M$ ) вычисляли по формуле (1):

$$M = \frac{a \cdot 10^n}{V} \quad (1)$$

где  $M$  - количество клеток в 1 мл,

$a$  - среднее число колоний при высеве данного разведения,

$10$  — коэффициент разведения,

$n$  - порядковый номер разведения, из которого сделан высев,

$V$  - объем суспензии, взятый для посева, в мл [47].

### 2.3.4 Выделение продуктов трансформации

Выделение производных биоконверсии бетулина из культуральной жидкости проводили по методике, представленной на рисунке 8. Выделение продукта, полученного биоконверсией бетулина бактериями *Acinetobacter calcoaceticus*, начинали с отделения культуральной жидкости от биомассы.

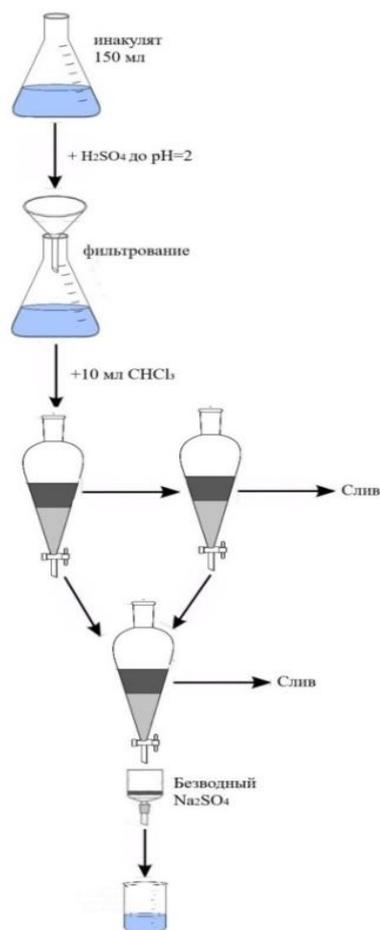


Рисунок 8 – Схема проведения экстракции

Перед фильтрованием в культуральную жидкость вносили серную кислоту до  $\text{pH} = 2$  (для умерщвления всех микроорганизмов), а затем культуральную жидкость фильтровали через бумажный фильтр. Экстрагирование проводили в разделительной воронке, с добавлением в качестве экстрагента хлороформ. Полученную органическую фазу пропускали через безводный раствор  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Полученные образцы высушивали в вытяжном шкафу при комнатной температуре в течение 96 ч. После высушивания образцы идентифицировали.

### 2.3.5 Идентификация

Контроль веществ проводился методом тонкослойной хроматографии на пластинках Sorbfil. В качестве подвижной фазы использовали хлороформ. Детектирование проводили при помощи модифицированного реактива

Эрлиха (п-диметиламинобензальдегид в среде  $H_2SO_4 : CH_3COOH$ ) и водного раствора молибденовой кислоты с дальнейшим нагревом пластин около 2–3 минут.

В ТСХ адсорбент наносили на пластину в виде тонкого слоя. Линию старта на пластине наносили на расстоянии 1,5 см от ее нижнего края, а финишную линию – на удобном расстоянии от стартовой точки.

Анализируемый раствор наносили на линию старта с помощью микропипетки и помещали пластинку в герметичный контейнер, на дно которого предварительно наливали слой растворителя толщиной около 0,5 см. Растворитель поднимался по пластинке под действием капиллярных сил, пока не достигал линии финиша, после чего пластинку извлекали из контейнера, давали растворителю испариться и устанавливали местоположение пятен различных соединений.

Измеряя расстояние между линией старта и центром пятна, находили величины  $R_f$  (Retention factor; отношение длины пробега вещества к длине пробега растворителя) по формуле (2). Данная величина измеряется расстоянием между стартовой линией и фронтом растворителя.

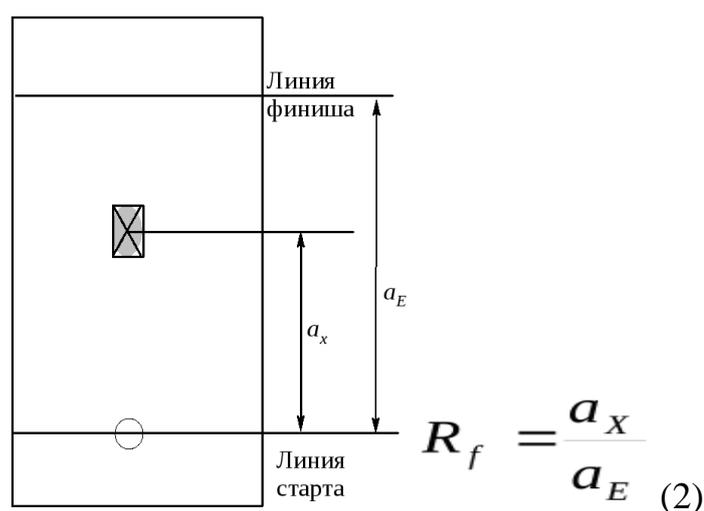


Рисунок 9(а) – Определение хроматографической подвижности



Рисунок 9(б) – Приборы для проведения ТСХ

#### ***2.4 Методы исследования биотрансформации на биореакторе***

Для масштабирования выхода целевого продукта провели микробиологический синтез в ферментере фирмы Sartorius stedim biotech линейки BIOSTAT Aplus (Германия), который предназначен для выполнения управления ростом клеток и процессом ферментации. Характеризуется простым автоматическим контролем аэрации, интуитивным управлением даже вне лаборатории (удаленно) и встроенной системой охлаждения для микробиальной ферментации (рисунок 10).



Рисунок 10 – Ферментер (биореактор) BIOSTAT Aplus (Германия)

Культивирование микроорганизмов – это наиболее продолжительная и тонкая стадия биотехнологического процесса, в наибольшей степени определяющая его количественные и качественные показатели.

Для роста микроорганизмов существенное значение имеют следующие факторы: кислотность среды, аэрация, температура, свет, влажность. Развитие микроорганизмов возможно лишь в определенных пределах значений каждого фактора, причем для различных групп микроорганизмов эти пределы часто неодинаковы, поэтому все процедуры проводились в строго асептических условиях.

Глубинное культивирование бактерий *Acinetobacter calcoaceticus* проводили в биореакторе, оборудованном возможностью автоматического контроля и регулирования основных параметров pH, температуры, поступления стерильного воздуха ( $pO_2$ ) и т.д.

Основные стадии технологического процесса глубинного культивирования микроорганизмов представлены на рисунке 11.



Рисунок 11 – Стадии технологического процесса глубинного культивирования микроорганизмов

### ***2.4.1 Отбор штамма***

Питательную среду МПА стерилизовали в автоклаве в течение 20 минут при температуре 120°C. В асептических условиях стерильную питательную среду разливали в стерильные чашки Петри и помещали в термостат при температуре 28°C. Через 48 часов производили посев лиофилизированной культуры *Acinetobacter calcoaceticus*. На поверхность питательной среды наносили стерильной пипеткой каплю накопительной культуры и распределяли ее стерильным шпателем. Бактерии культивировали в термостате при температуре 28°C в течение 48 часов.

### ***2.4.2 Приготовление инокулята***

Через 48 ч. выращенную культуру, достигшую поздней логарифмической фазы роста, собирали с поверхности среды и доводили до концентрации  $10^{12}$  КОЕ/мл по стандарту мутности Макфарланда. Вносили суспензию в количестве 10 см<sup>3</sup> в колбу Эрленмейера объемом 250 см<sup>3</sup> с жидкой питательной средой МПБ. Выращивание инокулята проводили в шейкере-термостате при температуре 28°C, скорости 160 об/мин, в течении 48 ч.

### ***2.4.3 Подготовка и стерилизация питательных сред, растворов, пеногасителей***

Для культивирования бактерий использовалась питательная среда МПБ, в соотношении 60 г на 3 литра дистиллированной воды. В качестве растворов для поддержания оптимального рН среды использовали растворы NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и пеногаситель. Этилацетат использовали в качестве растворителя бетулина (0,30 г бетулина растворяли в 30 мл этилацетата).

#### ***2.4.4 Стерилизация оборудования***

При подготовке к автоклавированию проводили заполнение сосуда средой, устанавливали и фиксировали крышки и всех вспомогательных коммуникаций, датчиков и устройств. Все промежуточные линии сосуда для культивирования, соединенные с погружными трубками, и шланг между впускным воздушным фильтром и распределяющей трубкой перекрывали с помощью шланговых зажимов. Не перекрывали только трубку, соединяющую конденсатор и стерилизующий фильтр. Этот сегмент отвечает за удаление избытка воздуха и обеспечивает выравнивание давления внутри сосуда и атмосферного давления с сохранением стерильности.

Автоклавирование сосудов для культивирования проводили при температуре 121°C. Время выдержки в автоклаве 20 минут необходимое для полной стерилизации.

Перед началом работы проводилась обработка рабочей поверхности (стен и пола бокса) с использованием 6% перекиси водорода (дезинфицирующий раствор). Для обработки поверхности стола применялся 70% этиловый спирт.

Затем происходила стерилизация воздуха в помещении с помощью УФ излучения.

Все вышеперечисленные работы совершались в строгом соответствии с правилами работы в микробиологической лаборатории и с соблюдением необходимой техники безопасности.

#### ***2.4.5 Подготовка биореактора***

Схема устройства биореактора представлена на рисунке 12.

После автоклавирования сосуд (1) для культивирования помещали на рабочую поверхность и устанавливали его рядом с блоком управления таким образом, чтобы обеспечить удобное подсоединение всех линий и периферийных устройств.

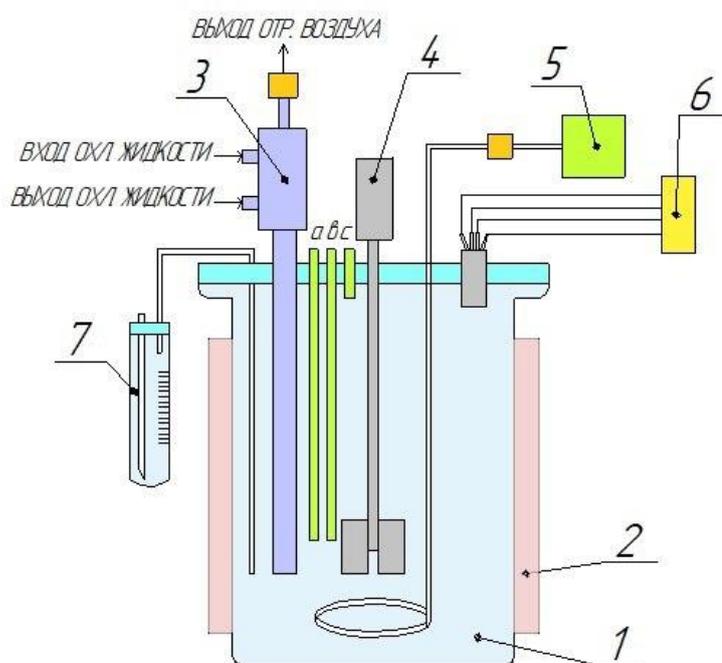


Рисунок 12 – Схема устройства биореактора

Далее осуществляли следующие операции для подготовки реактора к работе:

- крепили греющую рубашку (2) на сосуде для культивирования и подключали разъём пластины к блоку управления;
- подключали шланги холодильника к конденсатору и охлаждающему штифту (3);
- подключали электродвигатель с приводом мешалки (4);
- соединяли датчики температуры и рН (а), датчик кислорода (в) и уровня пены (с) с оборудованием;
- соединяли подводящие газовые линии от компрессора (5) с модулем аэрации и сосудом для культивирования;
- обеспечивали подачу корректирующих растворов, для этого устанавливаем промежуточные шланги в перистальтические насосы (6);
- подсоединяли пробоотборник (7).

Далее снимали зажимы со всех промежуточных линий сосуда для культивирования.

### 2.4.6 Культивирование микроорганизмов и контроль процесса

В подготовленный биореактор соблюдая правила асептики вносили посевной материал и бетулин, растворенный в этилацетате с помощью перистальтического насоса, также к реактору стерильно подключали растворы щелочи, кислоты, пеногасителя для автоматического регулирования процесса культивирования. Активировали все необходимые процессы для реализуемого культивирования. В программе устанавливали оптимальные условия для культивирования *Acinetobacter calcoaceticus*. Культивирование проводили при условиях, указанных в таблице 3.

Таблица 3. – Условия культивирования *Acinetobacter calcoaceticus* в биореакторе.

Культура	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
pH	6,0
Скорость перемешивания, об/мин	160
Температура, °C	28
Подача кислорода, %	130
Продолжительность, ч	120

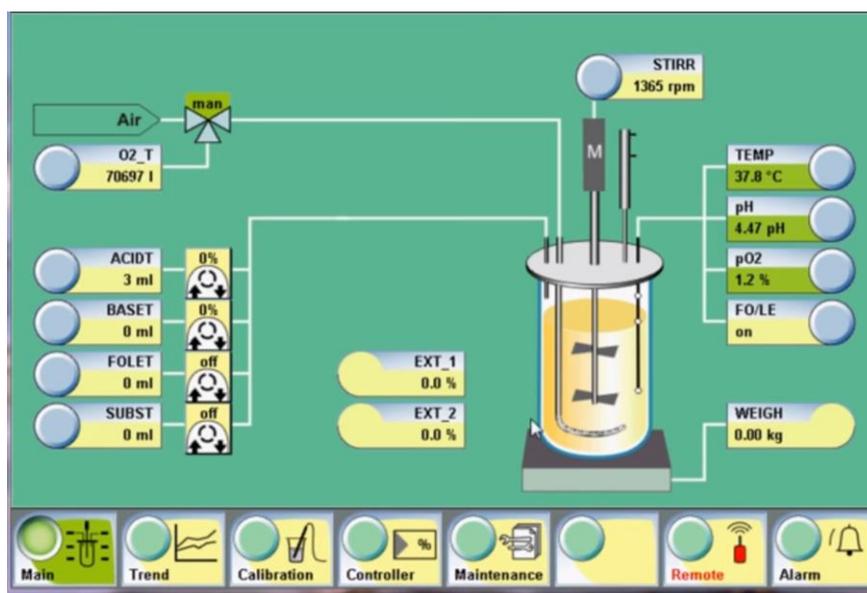


Рисунок 13 – Пользовательский интерфейс программного обеспечения системы BIOSTAT® Aplus.

В ходе культивирования через каждые 24 часа стерильно отбирали пробы на определение количества образующих колоний по методу Коха. По окончании процесса биоконверсии, полученную культуральную жидкость выгружали в стерильную емкость и экстрагировали согласно рисунку 8.

После завершения биосинтеза проводили стерилизацию оборудования и санитарную уборку помещения с помощью дезинфицирующих растворов. Оборудование разбирали, элементы, находившиеся в контакте с питательной средой, мыли вспомогательными растворами и высушивали, датчики помещали в специальные растворы хранения.

## **4. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение.**

### ***4.1. Предпроектный анализ***

#### ***4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования***

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

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

Продуктом (результат НИР) – бетулиновый альдегид.

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



$B_i$  – балл  $i$ -го показателя.

Таблица 6 – Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений (разработок)

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы		
		<i>calco aceticus</i>	<i>junii</i>	<i>guilloviae</i>
1	2	3	4	5
<b>Свойства сорбентов</b>				
1. Экологичность	0,2	5	5	5
2. Жизнеспособность	0,1	5	2	3
3. Токсичность	0,1	5	2	4
4. Способность к размножению	0,1	5	5	5
5. Способность к выделению БАВ	0,2	5	5	5
<b>Экономические критерии оценки эффективности</b>				
1. Уровень проникновения на рынок	0,1	1	4	1
2. Стоимость	0,2	5	1	3
<b>Итого</b>	<b>1</b>	<b>31</b>	<b>24</b>	<b>28</b>

Анализ конкурентных технических решений определяется по формуле:

$$K = \sum V_i \cdot B_i, \quad (14)$$

где  $K$  – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;

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

$B_i$  – балл  $i$ -го показателя.

### 4.3. Диаграмма Исикава

Диаграмма Исикавы (Cause-and-Effect-Diagram) используется для формирования причинно-следственных связей, для систематического определения причин и проблемы и последующего графического представления. Причинно-следственная диаграмма по микробиологическому синтезу бетулина бактериями рода *Acinetobacter* представлена на рисунке 1.2

Данная диаграмма помогает выявить основные причины возникновения проблем, анализ и структурирование процессов на предприятии, оценить причинно-следственные связи.

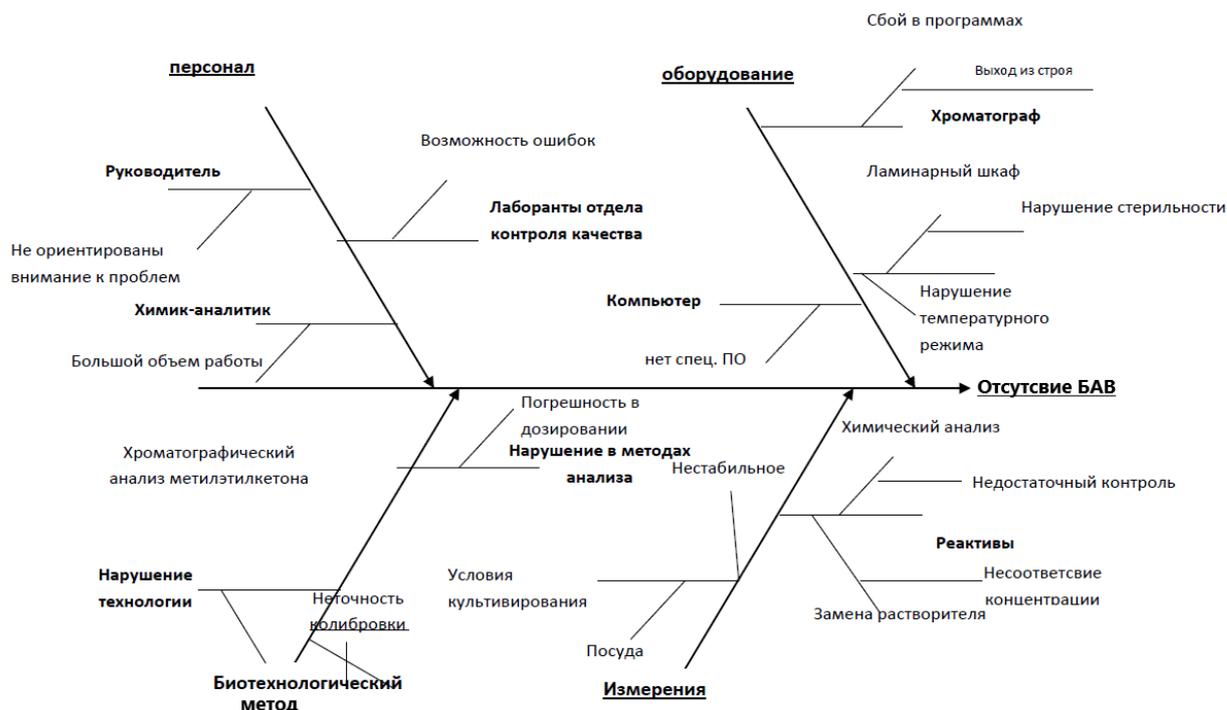


Рисунок 17- Диаграмма Исикава

Как видно из рисунка 17 основным из ключевых факторов, которые могут повлиять на развитие БАВ является биотехнологический метод.

#### 4.4. Оценка готовности проекта к коммерциализации

На каждой стадии жизненного цикла научной разработки необходима оценка степени её готовности к коммерциализации, а так же выяснение уровня знаний разработчика для её проведения и завершения. С этой целью была заполнена специальная форма, содержащая показатели о степени проработанности проекта с позиции коммерциализации и компетенции разработчика научного проекта.

$$B_{\text{сум}} = \sum B_i, \quad (1.2)$$

где  $B_{\text{сум}}$  – суммарное количество баллов по каждому направлению;

$B_i$  – балл по  $i$ -му показателю.

Таблица 7 - Бланк оценки степени готовности научного проекта к коммерциализации

№ п/п	Наименование	Степень проработанности научного проекта	Уровень имеющихся знаний у разработчика
1.	Определен имеющийся научно-технический задел	4	4
2.	Определены перспективные направления коммерциализации научно-технического задела	5	5
3.	Определены отрасли и технологии (товары, услуги) для предложения на рынке	5	5
4.	Определена товарная форма научно-технического задела для представления на рынок	1	1
5.	Определены авторы и осуществлена охрана их прав	3	3
6.	Проведена оценка стоимости интеллектуальной собственности	3	3
7.	Проведены маркетинговые исследования рынков сбыта	5	5
8.	Разработан бизнес-план коммерциализации научной разработки	0	0
9.	Определены пути продвижения научной разработки на рынок	3	3
10.	Разработана стратегия (форма) реализации научной разработки	1	1
11.	Проработаны вопросы международного сотрудничества и выхода на зарубежный рынок	1	1
12.	Проработаны вопросы использования услуг инфраструктуры поддержки, получения льгот	2	2
13.	Проработаны вопросы финансирования коммерциализации научной разработки	1	1
14.	Имеется команда для коммерциализации научной разработки	2	2
15.	Проработан механизм реализации научного проекта	1	1
	<b>ИТОГО БАЛЛОВ</b>	37	37

По итогам степени готовности научного проекта к коммерциализации  $B_{\text{сум}}=37$ . Перспективность научной разработки оказалась средней. Это вызвано недостатком финансирования, необходимого оборудования,

квалифицированных специалистов, а также спроса на данный сорбент. Для повышения перспективности следует проводить доработку научного проекта.

#### **4.5 Методы коммерциализации результатов научно-технического исследования**

В качестве метода коммерциализации объекта исследования был выбран *инжиниринг*. Основанием для выбора данного метода являлось то, что потенциальные заказчики могли бы получать услуги, связанные с разработкой технологии по биотрансформации бетулина, а также получение консультаций в данной области.

#### **4.6. Инициация проекта**

На стадии инициации проекта определяются начальные финансовые ресурсы, а так же круг внешних и внутренних заинтересованных сторон проекта, их взаимодействие и влияние на общий результат научного исследования.

##### **4.6.1 Цели и результат проекта**

В таблице 8 представлена информация о заинтересованных сторонах проекта - это заказчик и исполнитель, и их ожидания относительно результатов проекта. Также в таблице 9 сформулированы цели проекта и требования к его результатам.

Таблица 8 - Заинтересованные стороны проекта

<b>Заинтересованные стороны проекта</b>	<b>Ожидания заинтересованных сторон</b>
Научно-исследовательские институты	Получение БАВ, применяемые в косметологии .
Крупные фармацевтические компании	Получение БАВ микробиологическим способом с высокой селективностью и большим выходом целевого продукта

Таблица 9- Цели и результат проекта

<b>Цели проекта:</b>	Получение БАВ путем микробиологического синтеза бактериями рода <i>Acinetobacter</i>
<b>Ожидаемые результаты проекта:</b>	Разработка технологической схемы микробиологического синтеза бетулина бактериями рода <i>Acinetobacter</i> в биореакторе.
<b>Критерии приемки результата проекта:</b>	Оксигеназная активность, эффективность микробиологического синтеза, скорость деструкции
<b>Требования к результату проекта:</b>	<b>Требование:</b>
	Экологически чистый продукт
	Высокий выход БАВ
	Использование в практической деятельности
	Высокая селективность

#### 4.6.2 Организационная структура проекта.

На данном этапе работы необходимо решить следующие вопросы: кто будет входить в рабочую группу данного проекта, определить роль каждого участника в данном проекте, а также прописать функции, выполняемые каждым из участников и их трудозатраты в проекте. Эта информация представлена в таблице 10

Таблица 10- Рабочая группа проекта

№ п/п	ФИО, основное место работы, должность	Роль в проекте	Функции	Трудозатраты, час.
1	Мустафин Рустам Ниязович	Руководитель магистерской диссертации	Отвечает за реализацию проекта в пределах заданных ограничений по ресурсам, координирует деятельность участников проекта.	100
2	Новиков Сергей	магистрант	Выполнение	2100

	Александрович		магистерской работы	
3	Орлова Юлия Евгеньевна	Студент 4 курса	Выполнение бакалаврской работы	200
4	Креницына Зоя Васильевна	Консультант раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»	Курирование выполнения раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» в магистерской диссертации	2
5	Король Ирина Степановна	Консультант раздела «Социальная ответственность»	Курирование выполнения раздела «Социальная ответственность» в магистерской диссертации	2
ИТОГО:				2424

#### ***4.6.3 Ограничения и допущения проекта***

Ограничения проекта – это все факторы, которые могут послужить ограничением степени свободы участников команды проекта, а так же «границы проекта» - параметры проекта или его продукта, которые не будут реализованных в рамках данного проекта.

Таблица 11- Ограничения проекта

<b>Фактор</b>	<b>Ограничения/ допущения</b>
3.1. Бюджет проекта	
3.1.1. Источник финансирования	НИ ТПУ
3.2. Сроки проекта:	
3.2.1. Дата утверждения плана управления проектом	15.09.2016
3.2.2. Дата завершения проекта	01.06.2018

#### ***4.6.4. Планирование управления научно-техническим проектом***

Группа процессов планирования включает в себя процессы, необходимые для определения содержания работ, уточнения целей, а так же разработки последовательности необходимых для достижения поставленных целей действий.

#### ***4.6.5. План проекта***

В рамках планирования научного проекта необходимо построить календарный и сетевой графики проекта.

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

Вид работ	Исполнители	Т <sub>к</sub> , дни	Сен-окт.	Нояб-дек.	Янв-февр	Март-апр.	Май-июнь	Сент-окт.	Янв-февр	Март	май	июн
Определение целей и задач, разработка плана	Руководитель, магистрант	7	■									
Обзор литературных источников, дизайн экспериментальной части	Магистрант	21	■									
Подбор основных параметров биотрансформации	Руководитель, магистрант	28		■								
Проведение экспериментальной части работы	Магистрант	70		■	■	■						
Масштабирование проекта на биореактор	Магистрант	49			■	■	■					
Идентификация полученных веществ	Магистрант	14					■	■	■			
Анализ результатов, составление отчётов	Руководитель, магистрант	28								■		
Написание диссертации	Магистрант	56									■	■

Рисунок 18 — Календарный план-график проведения проекта по теме «биотрансформация бетулина бактериями рода *Acinetobacter*»

- работы, выполняемые магистрантом;
- работы, выполняемые руководителем

#### 4.6.6. Бюджет научного исследования

При планировании бюджета научного исследования должно быть обеспечено полное и достоверное отражение всех видов планируемых расходов, необходимых для его выполнения.

Таблица 12 - Группировка затрат по статьям

Вид работ	Статьи						
	Сырье, материал, покупные изделия и полуфабрикаты	Специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ	Основная заработная плата	Дополнительная заработная плата	Отчисления на социальные нужды	Накладные расходы	Итого плановая себестоимость
1.	6025,778	3890,24	664281	66428,1	198022,1	584567,28	1523214,498

*Сырьё, материалы, покупные изделия и полуфабрикаты (за вычетом отходов)*

В эту статью включаются затраты на приобретение всех видов материалов, комплектующих изделий и полуфабрикатов.

Таблица 13 - Сырьё, материалы, комплектующие изделия и покупные полуфабрикаты

Наименование	Марка, размер	Кол-во	Цена за единицу, руб. с НДС	Сумма, руб.
Питательная среда Адкенса	340-12	50 г	320	320
Питательная среда	МПБ	1 кг	500	500
Агар	ГОСТ 16280-2002	0,5 кг	300	300
Бактерии	Род Acinetobacter	100 г	2500	2500
Бетулин	ГОСТ Р 12.1.019-2009 ССБТ	20 г	2400	2400
Всего за материалы				6020
Транспортно-заготовительные расходы (3-5%)				5,778
Итого по статье С <sub>м</sub>				6025,778

*Специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ*

В данную статью включают все затраты, связанные с приобретением специального оборудования (приборов, контрольно-измерительной

аппаратуры, стендов, устройств и механизмов), необходимого для проведения работ по конкретной теме.

Таблица 14 - Расчет затрат по статье «Спецоборудование для научных работ»

№ п/п	Наименование оборудования	Кол-во единиц оборудования	Цена единицы оборудования, тыс.руб.	Срок службы оборудования, год	Общая стоимость оборудования с учетом доставки и монтажа	Сумма амортизационных отчислений за время использования, руб.
1.	Ламинарный шкаф	1	52070	20	59880	433,74
2.	Биореактор BIOSTAT A+	1	931 531	15	961900	2650,5
3.	Весы аналитические AS/310/C/2	1	57260	5	65849	476,9
4.	Арбитальный шейкер	1	42 035	15	45820	329,3
	Итого	-	1082896	-	1133449	3890,24

Расчёт амортизационных отчислений осуществляется по формуле:

$$E_{\text{ам}} = \frac{\sum K_{\text{оби}} \cdot H_{\text{оби}} \cdot T_{\text{оби}}}{365 \cdot 100}$$

где  $K_{\text{оби}}$  — стоимость ед. прибора или оборудования, руб.;

$H_{\text{ами}}$  — норма амортизации прибора или оборудования, %;

$T_{\text{оби}}$  — время использования оборудования, дни.

#### *Основная заработная плата*

В настоящую статью включается основная заработная плата работников, непосредственно участвующих в исследовании, включая премии, доплаты и дополнительную заработную плату. Величину расходов по данной статье определяют с учётом трудоёмкости выполняемых работ и действующей системы оплаты труда.

$$C_{\text{зп}} = Z_{\text{осн}} + Z_{\text{доп}}, \quad (1.3)$$

$$C_{\text{зп}} = 233\,937 + 23\,393,7 = 257\,330,7 \text{ руб.}$$

где  $Z_{\text{осн}}$  — основная заработная плата;

$Z_{доп}$  – дополнительная заработная плата.

$$Z_{осн} = Z_{дн} \cdot T_{раб}, \quad (1.4)$$

$$Z_{осн} = 1\,251 \cdot 540 = 664\,281 \text{ руб.}$$

$$Z_{осн} = 137 \cdot 536 = 72\,199 \text{ руб.}$$

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

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

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

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$$Z_{дн} = \frac{Z_m \cdot M}{F_d}, \quad (1.5)$$

$$Z_{дн} = 22\,500 \cdot 10,4 / 540 = 1\,251 \text{ руб.}$$

$$Z_{дн} = 2\,500 \cdot 11,2 / 536 = 137 \text{ руб.}$$

где  $Z_m$  – месячный должностной оклад работника, руб.;

$M$  – количество месяцев работы без отпуска в течение года:

$F_d$  – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб. дн. (табл. 15)

Таблица 15 - Баланс рабочего времени

Показатели рабочего времени	Руководитель	Магистр
Календарное число дней	728	728
Количество нерабочих дней - выходные дни - праздничные дни	132	132
Номинальный фонд рабочего времени		
Потери рабочего времени - отпуск - невыходы по болезни	56	60
Эффективный фонд рабочего времени	540	536

Месячный должностной оклад работника:

$$Z_m = Z_б \cdot (k_{пр} + k_д) \cdot k_p, \quad (1.6)$$

$$Z_m = 22\,500 \cdot (0,5 + 0,5) = 29\,250 \text{ руб.}$$

где  $Z_б$  – базовый оклад, руб.;

$k_{пр}$  – премиальный коэффициент , (определяется Положением об оплате труда);

$k_{д}$  – коэффициент доплат и надбавок;

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

Таблица 16- Расчёт основной заработной платы

Исполнители	$Z_{б}$ , руб.	$k_{пр}$	$k_{р}$	$Z_{м}$ , руб	$Z_{дн}$ , руб.	$T_{р}$ , раб. дн.	$Z_{осн}$ , руб.
Руководитель	22500	0,5	1.3	29250	1251	540	664281
Магистрант	2500				137	536	72199

*Дополнительная заработная плата научно-производственного персонала*

В данную статью включается сумма выплат, предусмотренных законодательством о труде

Дополнительная заработная плата рассчитывается исходя из 10-15% от основной заработной платы, работников, непосредственно участвующих в выполнении темы:

$$Z_{доп} = k_{доп} \cdot Z_{осн} \quad (1,7)$$

$$Z_{доп} = 0,1 * 664281 = 66428,1 \text{ руб.}$$

где  $Z_{доп}$  – дополнительная заработная плата, руб.;

$k_{доп}$  – коэффициент дополнительной зарплаты;

$Z_{осн}$  – основная заработная плата, руб.

Таблица 17 - Заработная плата исполнителей НТИ

Заработная плата	Руководитель	Инженер
Основная зарплата	664281	72199
Дополнительная зарплата	66428,1	-
Итого по статье $C_{зп}$	730709,1	

*Отчисления на социальные нужды*

Статья включает в себя отчисления во внебюджетные фонды.

$$C_{\text{внеб}} = k_{\text{внеб}} \cdot (З_{\text{осн}} + З_{\text{доп}}), \quad (1,8)$$

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

Таблица 18 - Отчисления на социальные нужды

	Руководитель	Инженер
Заработная плата	730709,1	72199
Отчисления на СН	198022,1	19565,9

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

#### *Накладные расходы*

В эту статью включаются затраты на управление и хозяйственное обслуживание, которые могут быть отнесены непосредственно на конкретную тему. Кроме того, сюда относятся расходы по содержанию, эксплуатации и ремонту оборудования, производственного инструмента и инвентаря, зданий, сооружений и др. В расчетах эти расходы принимаются в размере 70 - 90 % от суммы основной заработной платы научно-производственного персонала данной научно-технической организации.

Накладные расходы составляют 80-100 % от суммы основной и дополнительной заработной платы, работников, непосредственно участвующих в выполнение темы.

Расчет накладных расходов ведется по следующей формуле:

$$C_{\text{накл}} = k_{\text{накл}} \cdot (З_{\text{осн}} + З_{\text{доп}}), \quad (1,8)$$

где  $k_{\text{накл}}$  – коэффициент накладных расходов.

$$C_{\text{накл}} = 0,8 * 730709,1 = 584567,28 \text{ руб.}$$

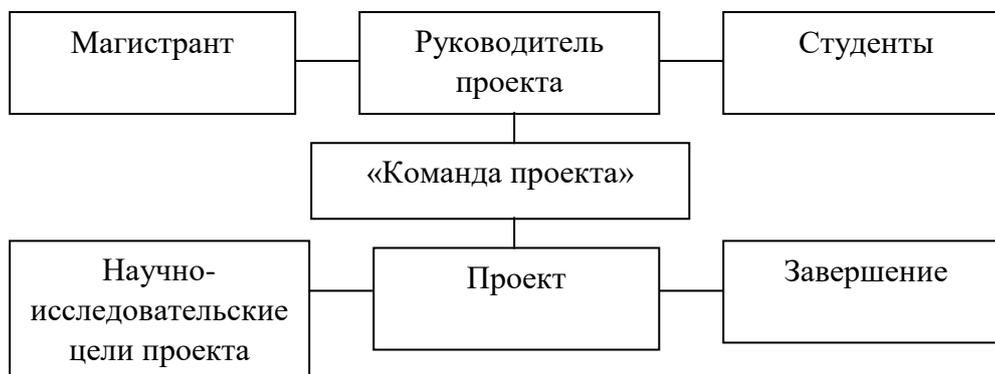
#### 4.6.7. Организационная структура проекта

В практике используется несколько базовых вариантов организационных структур: функциональная, проектная, матричная. Поскольку степень неопределённости условий реализации текущего проекта и его сложность являются высокими и в связи с новизной предлагаемой технологии данное исследование имеет проектную организационную структуру.

Таблица 19 - Выбор организационной структуры научного проекта

Критерии выбора	Проектная
Степень неопределенности условий реализации проекта	Высокая
Технология проекта	Новая
Сложность проекта	Высокая
Взаимозависимость между отдельными частями проекта	Высокая
Критичность фактора времени (обязательства по срокам завершения работ)	Высокая
Взаимосвязь и взаимозависимость проекта от организаций более высокого уровня	Низкая

Рисунок 19 - Проектная организационная структура научного проекта



#### 4.6.8 Матрица ответственности

Для распределения ответственности между участниками проекта формируется матрица ответственности

Таблица 20 - Матрица ответственности

Этапы проекта	Роль/должность	Роль/должность
1. Составление технического задания	(О) / К.х.н., доцент каф. ФАХ	
2. Изучение литературы	(И) /магистрант	
3. Патентный поиск	(И) /магистрант	
4. Проведение эксперимента	(И) /магистрант	
5. Обработка экспериментальных данных	(О) / К.х.н., доцент каф. ФАХ	(И) /магистрант
6. Обсуждение полученных результатов	(О) / К.х.н., доцент каф. ФАХ	(И) /магистрант
7. Выводы	(О) / К.х.н., доцент каф. ФАХ	(И) /магистрант
8. Оформление диссертации	(И) /магистрант	

*Ответственный* (О)– лицо, отвечающее за реализацию этапа проекта и контролирующее его ход.

*Исполнитель* (И) – лицо (лица), выполняющие работы в рамках этапа проекта.

#### 4.6.9 План управления коммуникациями проекта

План управления коммуникациями отражает требования к коммуникациям со стороны участников проекта.

Таблица 21 - Плана управления коммуникациями

№ п/п	Какая информация передается	Кто передает информацию	Кому передается информация	Когда передает информацию
1.	Информация о текущем состоянии проекта	Исполнитель проекта	Руководителю магистерской диссертации	Еженедельно (пятница)
2.	Документы и информация по проекту	Исполнитель проекта	Руководителю магистерской диссертации	Еженедельно (любой рабочий день)
3.	Отчет о проделанной работе	Исполнитель проекта	Руководителю магистерской диссертации	Не позже сроков графиков и контрольных точек

#### 4.6.10 Реестр рисков проекта

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

Таблица 22 - Реестр рисков

№	Риск	Вероятность наступления (1-5)	Влияние риска (1-5)	Уровень риска*	Способы смягчения риска	Условия наступления
1	Отсутствие финансирования	4	4	Высокий	Заинтересовать инвесторов	Незаинтересованность в данной разработке
2	Ограничения внедрения на рынок	4	4	Высокий	Провести маркетинговый анализ	Нет рекламы
3	Отсутствие прототипа научной разработки	5	5	Высокий	Выявить сильные и слабые стороны конкурентов	Наличие альтернативных разработок

Из таблицы видно, что уровень риска проекта высокий, прежде всего, из-за незаинтересованности потенциальных потребителей в данной разработке, отсутствия финансирования, а также из-за уже имеющихся альтернативных разработок на рынке.

#### **4.6.11 План управления контрактами и поставками**

Этот план формируется в случае необходимости заключения контрактов для осуществления поставок или работ по проекту.

Таблица 23 - Требования к объектам контрактов

№	Объект контракта (продукт/услуга)	Требования к продукту/услуге	Требования к срокам поставки	Требования к поставщику/подрядчику
1.	Бетулиновый альдегид	Отсутствие примесей	По требованию	Своевременность оплаты

#### **4.7 Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования**

##### **4.7.1 Оценка сравнительной эффективности исследования**

Чтобы определить эффективность исследования, необходимо рассчитать интегральный показатель эффективности научного исследования. Для этого определяют две средневзвешенные величины: финансовую эффективность и ресурсоэффективность.

Интегральный показатель финансовой эффективности научного исследования получают в ходе оценки бюджета затрат трех (или более) вариантов исполнения научного исследования. Для этого наибольший интегральный показатель реализации технической задачи принимается за базу расчета (как знаменатель), с которым соотносятся финансовые значения по всем вариантам исполнения.

Интегральный финансовый показатель разработки определяется как:

$$I_{\phi}^p = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{max}} \quad (26)$$

где  $I_{\phi}^p$  - интегральный финансовый показатель разработки;

$\Phi_{pi}$  – стоимость i-го варианта исполнения;

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

Таблица 24 – Группировка затрат по статьям аналогов разработки

Вариант исполнения аналога №	Сырье, материалы (за вычетом возвратных отходов), покупные изделия и полуфабрикаты	Специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ	Основная заработная плата	Отчисления на социальные нужды	Итого плановая себ-ть
1	2000	200000	255899	100049	536000
2	1000	150000	200500	95598	325000

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

$$I_{\phi}^p = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\max}} = \frac{435000}{536000} = 0,8$$

$$I_{\phi}^{a1} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\max}} = \frac{325000}{536000} = 0,6$$

$$I_{\phi}^{a2} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\max}} = \frac{536000}{536000} = 1$$

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

Интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов исполнения объекта исследования определяют следующим образом:

$$I_m^a = \sum_{i=1}^n a_i b_i^a, \quad I_m^p = \sum_{i=1}^n a_i b_i^p \quad (27)$$

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

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

$n$  – число параметров сравнения.

Результат расчетов представим в виде таблицы:

Таблица 25 – Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

Критерии	Весовой коэффициент параметра	Текущий проект	Аналог 1	Аналог 2
1. Экологичность	0,1	5	4	3
2. Доступность	0,15	4	3	4
3. Эффективность	0,15	5	4	3
4. Удобство в эксплуатации	0,20	5	4	2
5. Чистота продукта	0,25	5	5	5
6. Высокая селективность	0,15	1	2	3
ИТОГО	1	25	22	20

$$I_m^p = 5 * 0,1 + 4 * 0,15 + 5 * 0,15 + 5 * 0,20 + 5 * 0,25 + 1 * 0,15 = 4,25$$

$$I_1^A = 4 * 0,1 + 3 * 0,15 + 4 * 0,50 + 4 * 0,20 + 5 * 0,25 + 2 * 0,15 = 3,8$$

$$I_2^A = 3 * 0,1 + 4 * 0,15 + 3 * 0,15 + 2 * 0,20 + 5 * 0,25 + 3 * 0,15 = 4,25$$

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

$$I_{финр}^p = \frac{I_m^p}{I_\phi^p}, \quad I_{финр}^a = \frac{I_m^a}{I_\phi^a} \quad (28)$$

$$I_{финр}^p = \frac{I_m^p}{I_\phi^p} = \frac{4,25}{0,8} = 5,3$$

$$I_{финр}^{a1} = \frac{I_m^p}{I_\phi^p} = \frac{3,8}{0,6} = 6,3$$

$$I_{финр}^{a2} = \frac{I_m^p}{I_\phi^p} = \frac{3,45}{1} = 3,45$$

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

$$\mathcal{E}_{cp} = \frac{I_{финр}^p}{I_{\phi}^{a1}} = \frac{5,3}{6,3} = 0,8$$

$$\mathcal{E}_{cp} = \frac{I_{финр}^p}{I_{\phi}^{a2}} = \frac{5,3}{3,45} = 1,5$$

где  $\mathcal{E}_{cp}$  – сравнительная эффективность проекта;  $I_{тэ}^p$  – интегральный показатель разработки;  $I_{тэ}^a$  – интегральный технико-экономический показатель аналога.

Таблица 26 - Сравнительная эффективность разработки с первым аналогом.

№ п/п	Показатели	Разработка	Аналог 1	Аналог 2
1	Интегральный финансовый показатель разработки	1	0,72	0,8
2	Интегральный показатель ресурсоэффективности разработки	3,8	4,25	3,45
3	Интегральный показатель эффективности	3,8	5,9	4,31
4	Сравнительная эффективность вариантов исполнения	1,55	1,37	

**Вывод:** при сравнении значений интегральных показателей эффективности можно сделать вывод, что существующий вариант решения поставленной в магистерской диссертации технической задачи с позиции финансовой и ресурсной эффективности является наиболее приемлемым.