



«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт физики высоких технологий  
Направление подготовки 19.03.01 Биотехнология  
Кафедра биотехнологии и органической химии

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

| Тема работы                                          |
|------------------------------------------------------|
| Изучение производных феназина от синегнойной палочки |
| УДК 661.12:577.182.99:632                            |

Студент

| Группа | ФИО                          | Подпись            | Дата     |
|--------|------------------------------|--------------------|----------|
| 4Д21   | Рабина Татьяна Александровна | <i>Т.А. Рабина</i> | 07.06.16 |

Руководитель

| Должность        | ФИО        | Ученая степень, звание | Подпись           | Дата     |
|------------------|------------|------------------------|-------------------|----------|
| Доцент каф. БИОХ | Чубик М.В. | к.м.н., доцент         | <i>М.В. Чубик</i> | 07.06.16 |

КОНСУЛЬТАНТЫ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

| Должность | ФИО             | Ученая степень, звание | Подпись                | Дата     |
|-----------|-----------------|------------------------|------------------------|----------|
| Доцент    | Верховская М.В. | к.э.н., доцент         | <i>М.В. Верховская</i> | 16.05.16 |

По разделу «Социальная ответственность»

| Должность | ФИО           | Ученая степень, звание | Подпись             | Дата     |
|-----------|---------------|------------------------|---------------------|----------|
| Ассистент | Немцова О. А. | ассистент              | <i>О.А. Немцова</i> | 12.05.16 |

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

| Зав. кафедрой  | ФИО                | Ученая степень, звание | Подпись                   | Дата     |
|----------------|--------------------|------------------------|---------------------------|----------|
| Зав. каф. БИОХ | Краснокутская Е.А. | д.х.н., профессор      | <i>Е.А. Краснокутская</i> | 07.06.16 |

**Планируемые результаты обучения  
по ООП 19.03.01 «Биотехнология» (бакалавр)  
профиль «Биотехнология»**

| Код<br>результата                   | Результат обучения<br>(выпускник должен быть готов)                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Общекультурные компетенции</b>   |                                                                                                                                                                                                                                                         |
| P1                                  | Способность самостоятельно совершенствовать и развивать свой интеллектуальный, общекультурный и профессиональный уровень, добиваться нравственного и физического совершенствования своей личности                                                       |
| P2                                  | Готовность к кооперации с коллегами для выполнения научно-исследовательских и научно-производственных работ, в том числе интернациональных; способность проявлять инициативу, личную ответственность; быть коммуникабельным.                            |
| P3                                  | Демонстрировать понимание вопросов устойчивого развития современной цивилизации, безопасности и здравоохранения, юридических аспектов, ответственности за инженерную деятельность, влияние инженерных решений на социальный контекст и социальную среду |
| <b>Профессиональные компетенции</b> |                                                                                                                                                                                                                                                         |
| P4                                  | Способность к овладению базовыми знаниями в области базовых естественных и технических наук, применение их в различных видах профессиональной деятельности                                                                                              |
| P5                                  | Понимать сущность и значение информации в развитии современного информационного общества, быть готовым к использованию в профессиональной деятельности информационных и коммуникативных технологий                                                      |
| P6                                  | Быть способным к планированию, проведению теоретических и экспериментальных исследований, обработке полученных результатов и представлению их в форме, адекватной задаче                                                                                |
| P7                                  | Быть способным к организационно-управленческой и инновационной деятельности в биофармацевтической области, демонстрировать знания для решения проблем устойчивого развития                                                                              |

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



Институт физики высоких технологий  
 Направление подготовки 19.03.01 Биотехнология  
 Кафедра биотехнологии и органической химии

УТВЕРЖДАЮ:

Зав. кафедрой БИОХ

 Краснокутская Е.А.  
 (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                           |
|--------|-------------------------------|
| 4Д21   | Рабиной Татьяне Александровне |

Тема работы:

**Изучение производных феназина от синегнойной палочки**

Утверждена приказом директора (дата, номер)

21.04.2016, 3084/с

Срок сдачи студентом выполненной работы:

**ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:**

**Исходные данные к работе**

(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.).

В данной работе объектом исследования являлся комплекс антибиотиков феназинового ряда, полученные культивированием на питательной среде Кинг В из штамма *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка).

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <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> | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Литературный обзор</li> <li>2. Экспериментальная часть</li> <li>3. Результаты</li> <li>4. Выводы</li> <li>5. Список публикаций</li> </ol> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

### Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы

*(с указанием разделов)*

| Раздел                                                            | Консультант     |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------|
| «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» | Верховская М.В. |
| «Социальная ответственность»                                      | Немцова О. А.   |

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

### Задание выдал руководитель:

| Должность | ФИО        | Ученая степень, звание | Подпись      | Дата     |
|-----------|------------|------------------------|--------------|----------|
| Доцент    | Чубик М.В. | к.м.н., доцент         | <i>Чубик</i> | 10.02.16 |

### Задание принял к исполнению студент:

| Группа | ФИО         | Подпись     | Дата     |
|--------|-------------|-------------|----------|
| 4Д21   | Рабина Т.А. | <i>Раба</i> | 07.06.16 |

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

Студенту:

| Группа | ФИО                           |
|--------|-------------------------------|
| 4Д21   | Рабиной Татьяне Александровне |

| Институт            | физики высоких технологий | Кафедра     | биотехнологии и органической химии |
|---------------------|---------------------------|-------------|------------------------------------|
| Уровень образования | бакалавр                  | Направление | 19.03.01 Биотехнология             |

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

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

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

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

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

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

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

**Задание выдал консультант:**

| Должность | ФИО             | Ученая степень, звание | Подпись                                                                               | Дата         |
|-----------|-----------------|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Доцент    | Верховская М.В. | к.э.н., доцент         |  | 04.02.2016г. |

**Задание принял к исполнению студент:**

| Группа | ФИО                          | Подпись                                                                               | Дата       |
|--------|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4Д21   | Рабина Татьяна Александровна |  | 04.02.2016 |

## ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»

Студенту:

| Группа | ФИО                           |
|--------|-------------------------------|
| 4Д21   | Рабиной Татьяне Александровне |

| Институт            |             | Кафедра                   |               |
|---------------------|-------------|---------------------------|---------------|
| Уровень образования | Бакалавриат | Направление/специальность | Биотехнология |

### Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:

*1. Характеристика объекта исследования (вещество, материал, прибор, алгоритм, методика, рабочая зона) и области его применения*

*В данной работе объектом исследования являлся комплекс антибиотиков феназинового ряда, полученные культивированием на питательной среде Кинг В штамма *Ps. aeruginosa* (синегнойная палочка). Метаболиты синегнойной палочки являются эффективными средствами защиты сельскохозяйственных культур от заболеваний, вызванных различными фитопатогенами.*

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

*1. Производственная безопасность*  
*1.1. Анализ выявленных вредных факторов при разработке и эксплуатации проектируемого решения в следующей последовательности:*  
*физико-химическая природа вредности, её связь с разрабатываемой темой;*  
*действие фактора на организм человека;*  
*приведение допустимых норм с необходимой размерностью (со ссылкой на соответствующий нормативно-технический документ);*  
*предлагаемые средства защиты;*  
*(сначала коллективной защиты, затем – индивидуальные защитные средства).*  
*1.2. Анализ выявленных опасных факторов при разработке и эксплуатации проектируемого решения в следующей последовательности:*  
*механические опасности (источники, средства защиты);*  
*термические опасности (источники, средства защиты);*  
*электробезопасность (в т.ч. статическое электричество, молниезащита – источники, средства защиты);*  
*пожаровзрывобезопасность (причины, профилактические мероприятия, первичные средства пожаротушения).*

*Характеристика вредных факторов (вредные вещества, освещение, шумы, микроклимат) изучаемой среды, описывающих процесс взаимодействия человека с окружающей производственной средой в следующей последовательности:*  
*физико - химическая природа фактора, его связь с разрабатываемой темой;*  
*- действие фактора на организм человека ;*  
*- приведение допустимых норм с необходимой размерностью (с ссылкой на соответствующий нормативно-технический документ);*  
*- рекомендуемые средства защиты (сначала коллективной защиты, затем- индивидуальные защитные средства).*  
*Анализ опасных факторов (термические, электрические, пожаровзрывоопасные) проектируемой среды в следующей последовательности:*  
*- термические опасности (источники, средства защиты);*  
*- электробезопасность (в т.ч. статическое электричество, молниезащита- источники, средства защиты);*  
*- пожаровзрывобезопасность (причины, профилактические мероприятия, первичные средства пожаротушения).*

*2. Экологическая безопасность:*  
*защита селитебной зоны*  
*анализ воздействия объекта на атмосферу (выбросы);*  
*анализ воздействия объекта на гидросферу (сбросы);*  
*анализ воздействия объекта на литосферу (отходы);*  
*разработать решения по обеспечению экологической безопасности со ссылками на НТД по охране окружающей среды.*

*- анализ воздействия объекта на атмосферу (выбросы);*  
*- анализ воздействия объекта на гидросферу (сбросы);*  
*- анализ воздействия объекта на литосферу (отходы).*

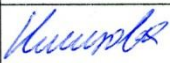
*3. Безопасность в чрезвычайных ситуациях:*  
*перечень возможных ЧС при разработке и эксплуатации*

*- перечень возможных ЧС на объекте;*  
*- выбор наиболее типичной ЧС;*

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>проектируемого решения;<br/>         выбор наиболее типичной ЧС;<br/>         разработка превентивных мер по предупреждению ЧС;<br/>         разработка действий в результате возникшей ЧС и мер по ликвидации её последствий.</p>                                                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>- разработка превентивных мер по предупреждению ЧС;</li> <li>- разработка мер по повышению устойчивости объекта к данной ЧС;</li> <li>- разработка действий в результате возникшей ЧС и мер по ликвидации её последствий.</li> </ul> |
| <p>4. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности:<br/>         специальные (характерные при эксплуатации объекта исследования, проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства;<br/>         организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны.</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- специальные (характерные для проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства;</li> <li>- организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны.</li> </ul>                                                 |

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

**Задание выдал консультант:**

| Должность                        | ФИО           | Ученая степень, звание | Подпись                                                                             | Дата     |
|----------------------------------|---------------|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Ассистент кафедры ЭБЖ ИНК НИ ТПУ | Немцова О. А. | ассистент              |  | 04.04.16 |

**Задание принял к исполнению студент:**

| Группа | ФИО                          | Подпись                                                                             | Дата     |
|--------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| 4Д21   | Рабина Татьяна Александровна |  | 04.04.16 |

## РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа 91 с., 9 рис., 38 табл., 34 источников, 6 приложений.

Ключевые слова: феназины, *Pseudomonas aeruginosa*, питательная среда, источники углерода, экстракция.

Объектами исследования являлись антибиотики феназинового ряда и синегнойная палочка, как продуцент феназиновых соединений.

Цель работы - определение влияния состава питательной среды на стимулирование продукции феназиновых соединений бактерией *P. aeruginosa*.

В процессе исследования проводились подбор питательной среды экономически наиболее выгодного состава, определение структур и концентраций полученных веществ, выделение и идентификация полученного соединения.

В результате исследования были выбраны наиболее подходящие питательные среды, при культивировании на которой *P. aeruginosa* продуцирует наибольшее количество феназинов, установлены структуры производных феназина.

Область применения: биотехнология, сельское хозяйство.

Экономическая эффективность/значимость работы: более экономичный, экологичный и эффективный метод по сравнению с химическим синтезом.

В будущем планируется проведение полного многофакторного анализа для определения оптимальной концентрации компонентов подобранной питательной среды.

## **ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ, СОКРАЩЕНИЯ, НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ**

P. aeruginosa- *Pseudomonas aeruginosa*

NADH– никотинамидадениндинуклеотид в восстановленной форме

ГРМ-агар - гигроскопичный мелкодисперсный питательный агар

ГРМ-бульон - гигроскопичный мелкодисперсный питательный бульон

PCA- феназин-1-карбоновая кислота

PhzA - phenazine biosynthetic protein A subunit

PhzB - phenazine biosynthetic protein B subunit

PhzC - phenazine biosynthetic protein C subunit

PhzD - phenazine biosynthetic protein D subunit

PhzE - phenazine biosynthetic protein E subunit

PhzF - phenazine biosynthetic protein F subunit

PhzG - phenazine biosynthetic protein G subunit

ТСХ - тонкослойная хроматография

УФ спектроскопия - ультрафиолетовая (электронная) спектроскопия

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

## Оглавление

|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ВВЕДЕНИЕ .....                                                                                                                                | 13 |
| 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....                                                                                                                      | 15 |
| 1.1 Описание продуцента .....                                                                                                                 | 15 |
| 1.2 Классификация и характеристика феназиновых соединений .....                                                                               | 16 |
| 1.3 Пути биосинтеза феназиновых соединений .....                                                                                              | 19 |
| 1.4 Влияние температурного шока на продукцию производных феназина ....                                                                        | 23 |
| 2 ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....                                                                                                           | 25 |
| 2.1 Технические характеристики оборудования .....                                                                                             | 25 |
| 2.2 Характеристики исходных веществ и материалов .....                                                                                        | 28 |
| 2.3 Питательные среды .....                                                                                                                   | 31 |
| 2.4 Культивирование микроорганизма .....                                                                                                      | 32 |
| 2.5 Экстракция феназиновых соединений .....                                                                                                   | 33 |
| 2.6 Разделение экстрагированных феназинов .....                                                                                               | 34 |
| 2.7 Влияние температурного шока на уровень продукции производных феназина .....                                                               | 36 |
| 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....                                                                                                   | 37 |
| 4 ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ.....                                                                        | 42 |
| 4.1 Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения..... | 42 |
| 4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования .....                                                                                | 42 |
| 4.1.2 Анализ конкурентных технических решений .....                                                                                           | 43 |
| 4.1.3. Технология QuaD .....                                                                                                                  | 44 |

|                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1.4 SWOT-анализ .....                                                                                                               | 46 |
| 4.2 Планирование научно-исследовательских работ.....                                                                                  | 50 |
| 4.2.1. Структура работ в рамках научного исследования .....                                                                           | 50 |
| 4.2.2 Определение трудоемкости выполнения работ .....                                                                                 | 51 |
| 4.2.3 Разработка графика проведения научного исследования .....                                                                       | 52 |
| 4.2.4 Бюджет научно-технического исследования (НТИ) .....                                                                             | 55 |
| 4.2.4.1 Расчет материальных затрат НТИ .....                                                                                          | 55 |
| 4.2.4.2 Расчет затрат на специальное оборудование для научных<br>(экспериментальных) работ .....                                      | 56 |
| 4.2.4.3 Основная заработная плата исполнителей темы .....                                                                             | 57 |
| 4.2.4.4 Дополнительная заработная плата исполнителей темы.....                                                                        | 59 |
| 4.2.4.5 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления).....                                                                  | 59 |
| 4.2.4.6 Накладные расходы.....                                                                                                        | 60 |
| 4.2.4.7 Формирование бюджета затрат научно-исследовательского проекта                                                                 | 60 |
| 4.3 Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной,<br>социальной и экономической эффективности исследования ..... | 61 |
| 5 СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ .....                                                                                                    | 63 |
| 5.1 Производственная безопасность.....                                                                                                | 63 |
| 5.1.1 Анализ вредных факторов производственной среды.....                                                                             | 64 |
| 5.1.1.1 Биологические факторы .....                                                                                                   | 64 |
| 5.1.1.2 Вредные вещества .....                                                                                                        | 65 |
| 5.1.1.3 Недостаточная освещенность .....                                                                                              | 68 |
| 5.1.1.4 Повышенный уровень шума .....                                                                                                 | 69 |
| 5.1.1.5 Отклонение показателей микроклимата на рабочем месте .....                                                                    | 69 |
| 5.1.2 Анализ опасных факторов производственной среды.....                                                                             | 70 |

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1.2.1 Термические факторы.....                                      | 70 |
| 5.1.2.2 Электрические факторы .....                                   | 70 |
| 5.1.2.3 Пожаровзрывоопасные факторы .....                             | 72 |
| 5.2 Экологическая безопасность.....                                   | 73 |
| 5.2.1 Защита атмосферы .....                                          | 73 |
| 5.2.2 Защита гидросферы.....                                          | 74 |
| 5.2.3 Защита литосферы.....                                           | 74 |
| 5.3 Безопасность в чрезвычайных ситуациях.....                        | 74 |
| 5.4 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности ..... | 76 |
| ВЫВОДЫ.....                                                           | 78 |
| СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ .....                                               | 79 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ .....                                  | 80 |
| ПРИЛОЖЕНИЯ.....                                                       | 84 |
| Приложение 1 .....                                                    | 84 |
| Приложение 2 .....                                                    | 85 |
| Приложение 3 .....                                                    | 86 |
| Приложение 4 .....                                                    | 87 |
| Приложение 5 .....                                                    | 88 |
| Приложение 6 .....                                                    | 89 |

## ВВЕДЕНИЕ

Биотехнология, как наука, представляет собой методы и технологии использования природных биологических объектов. Она применима в различных сферах деятельности человека, в том числе и сельском хозяйстве.

Одной из актуальных задач биотехнологии является создание эффективных, а также безопасных, средств защиты сельскохозяйственных культур от заболеваний, вызванных различными фитопатогенами. Рассматривая эффективность различных разработок, необходимо отметить биопестицидные препараты на основе живых культур микроорганизмов, способных синтезировать различные антимикробные соединения и заселять ризосферу и филлосферу растений, что является несомненным преимуществом данного вида средств защиты сельскохозяйственных культур.

Наилучшими биопестицидами являются препараты на основе бактерий рода *Pseudomonas* (*Pseudomonas aeruginosa*, синегнойная палочка), которые способны синтезировать более 300 различных биологически-активных веществ, часть из которых – соединения феназинового ряда такие как: феназин-1-карбоновая кислота, 2-гидроксифеназин, 2-гидроксифеназин-1-карбоновая кислота и пиоцианин. Производные феназина являются отличными фунгицидами из-за их эффективного действия против различных фитопатогенов, экологичности и низкой токсичности для человека и животных.

Целью данной работы является изучение продукции феназиновых антибиотиков синегнойной палочкой при использовании различных источников углерода.

В задачи работы входит:

1. Подбор оптимальной питательной среды, способной максимально стимулировать продукцию феназиновых антибиотиков.

2. Идентификация и определение выхода веществ феназиновой природы.

3. Разделение и очистка целевых соединений.

4. Изучение влияния температурного шока на продукцию феназиновых соединений.

5. Расчет финансового менеджмента, ресурсоэффективности и ресурсосбережения и социальной ответственности.

**Научная новизна:** В Российской Федерации отсутствует методика, которая позволит получать феназиновые антибиотики в больших объемах.

# 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1 Описание продуцента

*Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) - грамотрицательная, палочковидная, подвижная бактерия, представитель рода *Pseudomonas*, входящий в семейство *pseudomonadaceae*, порядок *pseudomonadales*, класс гамма-протеобактерии (*γ proteobacteria*), тип протеобактерии (*proteobacteria*), царство бактерии.

По морфологическим признакам *P. aeruginosa* представляет собой прямые или слегка изогнутые с закруглёнными концами палочки, длина которых варьирует от 1,5 до 5 мкм, а ширина 0,5- 1,0 мкм. Подвижны за счет единственного жгутика, расположенным на одном из полюсов. На поверхности бактерии расположены пили. Бактерии могут быть как одиночными, так и группами в два и более организмов. Синегнойная палочка не образует спор, размножение осуществляется поперечным делением клеток [1], также бактерия способна образовывать внеклеточную слизь.

Является хемоорганогетеротрофом, строгим аэробом с окислительным типом обмена веществ, обладает необходимым для дыхания набором ферментов (дегидразы, цитохромы, цитохромоксидаза). Синегнойная палочка неприхотлива, хорошо растет на простых питательных средах, оптимальные условия роста: температура от 37- 42°C, pH 7- 7,5, сохраняет жизнеспособность в растворах со значениями pH от 4,5 до 9,0 [2]. В жидких средах синегнойная палочка образует характерную серовато - серебристую плёнку, по мере старения культуры возникает помутнение среды.

*P. aeruginosa* - это типичный влажный микроорганизм с высоким экологическим сопротивлением, распространена в клиниках в умывальных комнатах, туалетах, душах и цветочных вазах. Инструменты, моющие лосьоны и пищевые продукты могут быть загрязнены и таким образом

колонизированы, и при необходимости привести к инфекции пациентов. *P. aeruginosa* может размножаться даже в некоторых средствах дезинфекции.

В окружающей среде *P. aeruginosa* распространена в земле, в водоемах и на растениях. У здорового населения небольшой процент микроорганизма может быть колонизирован в глотке, носе и стуле, так что эндогенные инфекции играют свою роль в клинике [3]. Синегнойная палочка может входить в состав нормальной микрофлоры кожи (подмышечной и паховой области, около ушей, носа) и слизистой оболочки.

Синегнойная палочка является потенциально-патогенным микроорганизмом для человека. Подходящие условия для появления воспаления создаются при нарушении целостности кожи и слизистых (ожоги, раны, хирургические вмешательства, интубация трахеи, установка мочевого катетера, внутривенные инъекции наркотиков), ослаблении защитных сил (злокачественные новообразования, химиотерапия, гипогаммаглобулинемия, грудной и преклонный возраст, диабет, муковисцидоз, ВИЧ-инфекция), угнетении обычной микрофлоры антибиотиками широкого диапазона действия. Поэтому на сегодняшний день существует много исследований, которые изучают эту бактерию на разных уровнях[4]. *P. aeruginosa* защищена от антибиотического воздействия извне биопленкой [5].

*P. aeruginosa* использует необычайно большое число органических соединений в качестве источников энергии, и производят массу вторичных метаболитов. Подавляют активность бактериальных и грибковых патогенов с помощью различных механизмов [2]: способность колонизировать поверхности растений, производства антибиотиков, фитогормонов и метаболитов, которые изменяют уровни растительных гормонов.

## **1.2 Классификация и характеристика феназиновых соединений**

Соединения феназинового ряда - алкалоидные, гетероциклические, азотсодержащие, органические соединения, обладающие различными физико-химическими свойствами [6]. Данные вещества выделяются в

культуральную жидкость в процессе естественной жизнедеятельности представителями родов: *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Brevibacterium*, *Bacillus*, *Streptomyces* и *Methanosarcina*, *Sorangium* и др. [2]. Наибольший выход наблюдается у бактерии рода *Pseudomonas*. Типичным представителем этого рода является бактерия *Pseudomonas aeruginosa*, которая отличается тем, что продуцирует характерные феназиновые пигменты: пиоцианин, феназин, феназин-1-карбоновая кислота, гемипиоцианин, 2-гидроксифеназин-1-карбоновая кислота [7].

Молекула всех феназиновых соединений состоит из трёх ароматических колец. Это позволяет феназинам выступать как в качестве доноров, так и в качестве акцепторов электронов. Различие между соединениями заключается в модификациях ключевого соединения биосинтеза всех феназиновых антибиотиков - феназин-1,6-дикарбоновой кислоты. В качестве заместителей в состав молекулы феназина могут входить различные функциональные группы [8]. Наиболее распространенные производные феназина приведены на Рисунке 1.

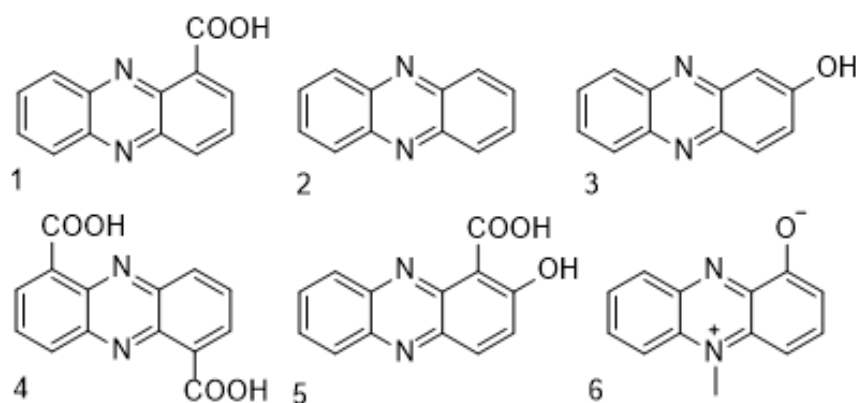


Рисунок 1- Строение наиболее характерных для *P. aeruginosa* феназиновых антибиотиков: 1) феназин-1-карбоновая кислота; 2) феназин; 3) 2-гидроксифеназин; 4) феназин-1,6-дикарбоновая кислота; 5) 2-гидроксифеназин-1-карбоновая кислота; 6) пиоцианин.

Соединения феназинового ряда проявляют высокое фунгицидное действие, высокую антимикробную активность в отношении

грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также простейших. Это объясняется окислительно-восстановительной способностью веществ. Токсичность феназиновых соединений, присутствующих в ризосфере, вызвана за счет генерации активных форм кислорода. Легко проникая внутрь бактериальных клеток, феназины вступают в окислительно-восстановительные реакции, принимая электроны от глутатиона и NADH и превращаясь в относительно стабильные анионы, данные вещества вызывают генерацию активных форм кислорода ( $O_2$ ,  $OH^-$ ) [9], имеющих высокую реакционную способность, в результате происходит индукция окислительного стресса и последующая гибель микроорганизма. Однако клетки-продуценты проявляют устойчивость к собственным феназинам.

Также феназины способны влиять на ферменты, ответственные за изменения структуры ДНК, происходящие в делящихся клетках, а именно - топоизомераз I и II классов. Выяснено, что феназиновые антибиотики могут выступать в качестве мощных ингибиторов этих ферментов [6-8,10]. По этой причине феназины рассматривают, как высокоактивные противоопухолевые препараты.

**Феназин.** Типичным представителем феназиновых соединений является дибензопиразин. Это органическое вещество, относящееся к гетероциклическим конденсированным соединениям.

Таблица 1- Основные физико-химические свойства феназина.

| Показатель                   | Значение |
|------------------------------|----------|
| Температура плавления, °C    | 174-177  |
| Температура кипения, °C      | 360      |
| Плотность, г/см <sup>3</sup> | 1,25     |
| Точка возгорания, °C         | 160,3    |

Феназин внешне представляет собой кристаллическое вещество жёлтого цвета. Обладает способностью фосфоресцировать, также может возгоняться.

Хорошо растворяется в ацетоне, горячем этаноле и хлороформе, хуже растворим в бензоле, холодном этаноле и диэтиловом эфире, плохо растворим в воде. Дибензопиразин проявляет свойства слабого основания и в концентрированных растворах кислот образует окрашенные феназиниевые соли. Феназин используется как индикатор и краситель[11].

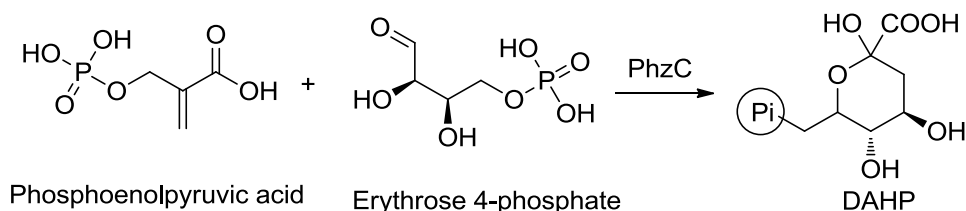
### 1.3 Пути биосинтеза феназиновых соединений

Важным этапом производства любым организмом каких-либо метаболитов является процесс биосинтеза. Большинство прокариот в качестве источника энергии используют углеводы, в частности глюкозу – она первая из органических веществ образуется при фотосинтезе и может вступать в катаболизм для получения энергии [12].

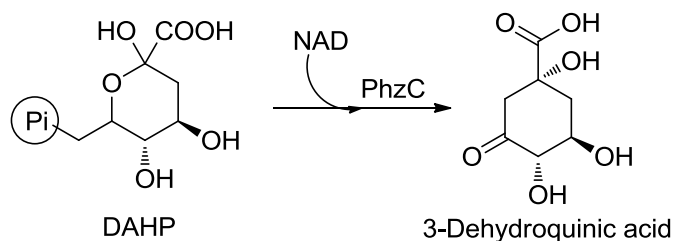
У бактерии рода *Pseudomonas* возможны три пути окисления глюкозы: гликолиз, окислительный пентозофосфатный путь и 2-кетоглюконоатный путь (КДФГ-путь). Схема возможных путей катаболизма глюкозы представлена в приложении 1 (рис. 2). Все пути катаболизма начинаются с того, что глюкоза, поступившая в клетку, сначала фосфорилируется при участии фермента гексокиназы и АТФ как донора фосфата. Образуется глюкозо-6-фосфат, который представляет метаболически активную форму глюкозы в клетке и служит исходным соединением для любого из трех путей катаболизма углеводов.

Биосинтез феназиновых соединений происходит в результате сложного преобразовательного пути, где предшественниками являются фосфоенолпировиноградная кислота и эритрозо-4-фосфат [13]. Под действием фермента PhzC данные соединения преобразуются в 3-дегидрохинную кислоту. Это органическая кислота, первое карбоциклическое соединение в шикиматном пути. Образование этой кислоты происходит в несколько стадий.

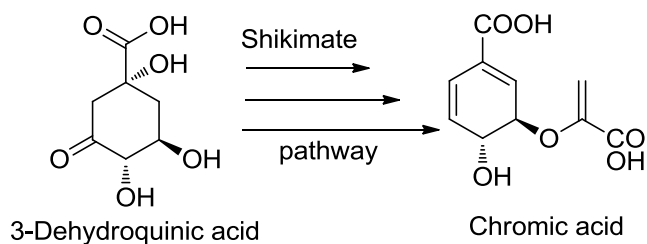
Фосфоенолпировиноградная кислота и эритрозо-4-фосфат реагируют с образованием 3-деокси-D-арабино-гептулозонат-7-фосфата (ДАГФ).



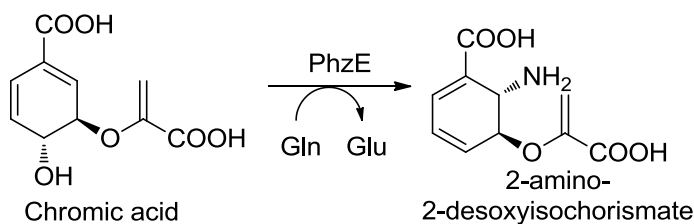
Затем ДАГФ превращается в 3-дегидрохинную кислоту (ДГК) ферментом PhzC. Данная реакция в качестве кофактора требует никотинамид-аденин-динуклеотид (NAD).



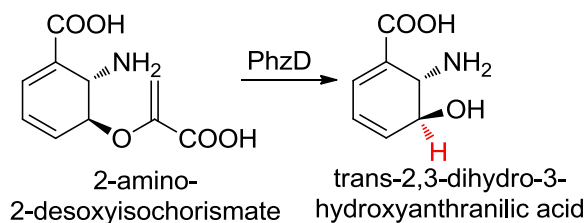
Следующим шагом биосинтеза является шикиматное преобразование, где шикимат-3-фосфат с фосфоенолпируватом дает 5-карбоксивинил-шикимат-3-фосфат, из которого элиминированием фосфат-аниона образуется хоризмовая кислота, используемая для синтеза ароматических соединений. Хоризмат находится в узловой точке шикиматного пути, за что получил своё название (от греч. - раздвоение, вилка). В узком смысле, путь биосинтеза хоризмата - это шикиматный путь.



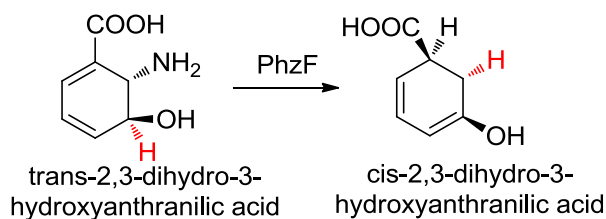
На следующем этапе под действием фермента PhzE, используя в качестве донора амино-группы глицин, хоризмовая кислота преобразовывается в 2-амино-дизоксихоризмат.



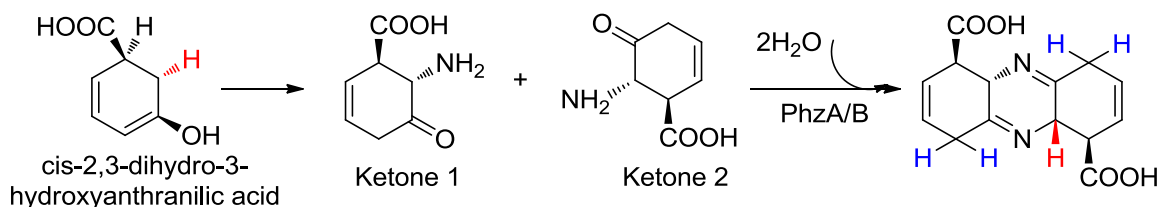
2-амино-дезоксисохаризмат гидролизуется до транс-2,3-дигидро-3-гидроксиантраниловой кислоты (ДГГК) и пирувата ферментом PhzD, это происходит через отщепление 1-винилуксунной кислоты.



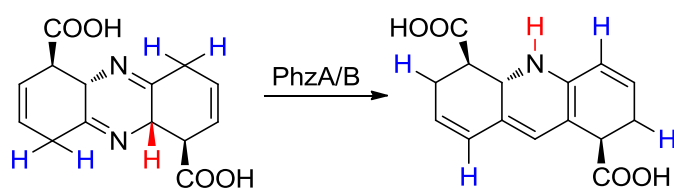
Стадия трансформации ДГГК до цис-изомера происходит под действием PhzF-фермента. Этот фермент является одним из самых необходимых и незаменимых в биосинтезе феназиновых соединений.



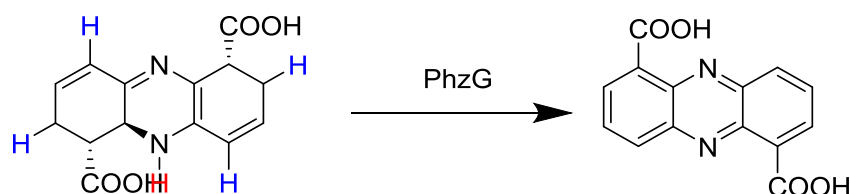
Затем следует стадия окисления цис-2,3-дигидро-3-гидроксиантраниловой кислоты до соответствующего кетона и конденсации двух кетонов в конденсированное гетероароматическое соединение 1,4,5a,6,9,10a-гексагидрофеназин-1,6-дикарбоновая кислоты.



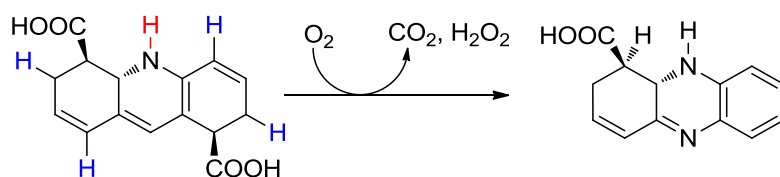
После этой стадии можно наблюдать соединения, по строению очень близкие к соединениям феназинового ряда. Далее 1,4,5a,6,9,10a-гексагидрофеназин-1,6-дикарбоновая кислота превращается в 1,2,5,5a,6,7-гексагидрофеназин-1,6-дикарбоновую кислоту. На данный момент точно не известно под действием какого фермента происходит это преобразование.



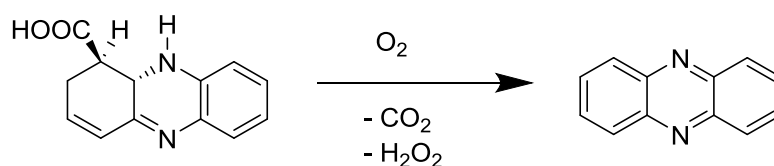
От 1,2,5,5а,6,7-гексагидрофеназин-1,6-дикарбоновой кислоты происходит разветвление биосинтеза на пути синтеза различных феназиновых соединений. Первый путь заключается в преобразовании циклогексеновых колец в ароматические с образованием феназин-1,6-дикарбоновой кислоты. Данная кислота является основой для синтеза феназинов с более сложным строением.



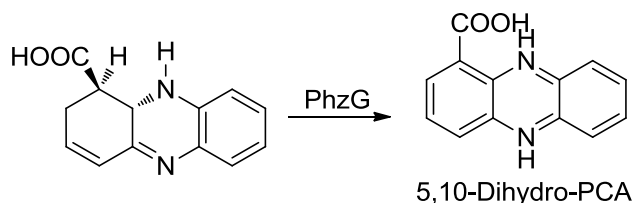
Второй путь биосинтеза начинается с окисления 1,2,5,5а,6,7-гексагидрофеназин-1,6-дикарбоновой кислоты до 1,2,10,10а-тетрагидрофеназин-1-карбоновой кислоты. Процесс происходит с выделением пероксида водорода и углекислого газа.



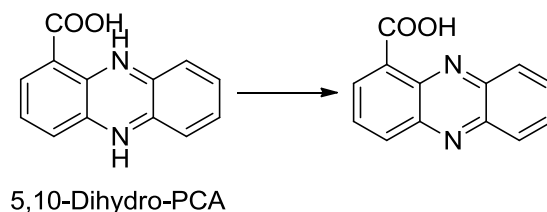
На этом этапе вторая ветвь биосинтеза в свою очередь разветвляется на несколько путей. Первый проявляется в повторном окислении 1,2,10,10а-тетрагидрофеназин-1-карбоновой кислоты до феназина.



Вторым вариантом биосинтеза становится воздействие на 1,2,10,10а-тетрагидрофеназин-1-карбоную кислоту ферментом PhzG, который приводит к образованию из данной кислоты 5,10-дигидрофеназинкарбоновой кислоты.



5,10-дигидрофеназинкарбоновая кислота заканчивает общий путь биосинтеза для феназиновых соединений преобразованием в более сложные феназины либо на прямую, либо через промежуточное соединение в форме феназин-1-карбоновой кислоты.



#### 1.4 Влияние температурного шока на продукцию производных феназина

Получение высококачественных биопрепаратов напрямую зависит не только от состава культуральной среды, но и от организации и оптимизации процесса культивирования микроорганизмов. Процесс ферментации, в свою очередь, является основным по биотехнологическим параметрам фактором оказывающим влияние на качество и эффективность биопрепарата [14].

Абсолютно все микроорганизмы лишены механизмов, которые могли бы регулировать температуру тела и именно температура окружающей среды определяет их существование [15]. Бактерии синегнойной палочки являются мезофилами, оптимальные температуры которых приведены в таблице 2. Однако при попадании в неблагоприятную среду происходит повышение продукции феназиновых соединений.

Таблица 2 – Температурные пределы роста для бактерий *Pseudomonas aeruginosa* [16].

|                      | Температурный режим, °C |             |              |
|----------------------|-------------------------|-------------|--------------|
|                      | Минимальный             | Оптимальный | Максимальный |
| <i>P. aeruginosa</i> | 5-7                     | 25-37       | 40-42        |

Изменение условий культивирования *Pseudomonas aeruginosa* представляет яркий интерес для выяснения подходов повышения продукции данных антибиотиков [17]. С практической точки зрения такие исследования обеспечивают возможность увеличить выход данных продуктов для осуществления биологического контроля и борьбы с целым рядом заболеваний растений, что является несомненным преимуществом в борьбе с фитопатогенными микроорганизмами.

Также необходимо отметить, что для данных исследований существуют искусственно созданные экстремальные по температуре места обитания такие как: морозильные камеры, автоклавы и ферментеры [12]

## 2 ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Технические характеристики оборудования

*Ламинарный шкаф для стерильных работ с вертикальным потоком воздуха (1 класс биологической безопасности) серии «Клиника- 573».*

Используется для стерильных работ в здравоохранении, на химических и фармакологических производствах. При включенной вентиляции происходит забор воздуха из помещения, который стерилизуется, проходя через бактериальные фильтры, равномерно подается вертикально в рабочую камеру и удаляется через входное окно. В таблице 3 приведены основные технические характеристики данного оборудования.

Таблица 3 - Технические характеристики.

| • Канальный вентилятор KV 250 L Kanalflokt           |           |                 |
|------------------------------------------------------|-----------|-----------------|
| Наибольший расход воздуха, м <sup>3</sup> /час       |           | 1005            |
| Частота вращения, об/мин                             |           | 2645            |
| Потребляемая мощность, Вт                            |           | 180             |
| Потребляемый ток, А                                  |           | 0,84            |
| Наибольшее давление воздуха, Па                      |           | 480             |
| Уровень звукового давления 3 м, дБ (А)               |           | 46              |
| • Фильтры тонкой очистки воздуха типа ФТОВ НЕРА Н-13 |           |                 |
| Класс фильтра по ГОСТ Р 51251-99                     |           | Н-13            |
| Производительность м <sup>3</sup> /час               |           | 20-4000         |
| Сопротивление                                        | Начальное | 140             |
|                                                      | Конечное  | 420             |
| Эффективность очистки по частицам 0,3 мкм            |           | 99,95-99,9995 % |
| • Скорость ламинарного потока воздуха, м/с           |           |                 |
| Начальная                                            |           | 0,55            |
| Конечная                                             |           | 0,35            |
| Чистота воздуха в рабочей камере, класс чистоты Р6   |           | 1000            |

*Стерилизатор воздушный настольный с программным управлением циклами стерилизации, дезинфекции и сушки и системой принудительного охлаждения изделий ГП-40-Ох-ПЗ.*

Стерилизатор предназначен для стерилизации сухим горячим воздухом хирургического инструмента, стеклянной посуды и прочих медицинских изделий. В таблице 4 приведены основные характеристики.

Таблица 4 - Технические характеристики.

| Параметр                                                         | Показатель                   |
|------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| Мощность, кВт, не более                                          | 55                           |
| Время нагрева стерилизатора до температуры 180 °С, мин, не более | 48                           |
| Время охлаждения изделий до температуры 75 °С, мин, не более     | 35                           |
| Температурные режимы, °С                                         | 60- 200, дискретность 0,1 °С |
| Время выдержки, мин                                              | 1- 999, дискретность 1 мин.  |

*Термостат электрический суховоздушный ТС-1/20 СПУ.*

Применяют для поддержания внутри рабочей камеры стабильной температуры, необходимой для проведения бактериологических исследований. Термостат обеспечивает непрерывное измерение температуры в рабочей камере и ее визуальную индикацию. В таблице 5 приведены технические характеристики данного оборудования.

Таблица 5 - Технические характеристики.

|                                                                                                 |                                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Максимальный температурный диапазон термостатирования                                           | От Токр до +60°С (Токр – температура окружающего воздуха) |
| Максимальное отклонение температуры в любой точке рабочей камеры от средней, °С                 | ±0,4                                                      |
| Время установления рабочего режима при максимальной температуре в рабочей камере, мин, не более | 120                                                       |
| Время непрерывной работы термостата в автоматическом режиме, ч., не менее                       | 500                                                       |
| Потребляемая мощность, В×А, не более                                                            | 250                                                       |

*Весы лабораторные Radwag WPS 510/C/2*

Электронные весы серии WPS предназначены для точного определения массы в лабораторных условиях с возможностью обнуления в ходе процесса взвешивания. Характеристики приведены в таблице 6.

Таблица 6 - Технические характеристики.

|                              |                |
|------------------------------|----------------|
| НПВ, г                       | 510            |
| Цена деления, г              | 0.001          |
| Способ калибровки            | Самокалибровка |
| Функциональная классификация | Advanced       |
| Класс                        | II высокий     |
| Размер платформы (мм)        | 128x128        |

### *Спектрофотометр СФ-102*

Предназначен для проведения спектрального УФ-анализа различных типов.

Таблица 7 - Технические характеристики.

| Параметр                                                                                                                                                       | Показатель  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Спектральный диапазон измерений, нм                                                                                                                            | 200-1100    |
| Дрейф нулевого сигнала, не более, Б/ч                                                                                                                          | 0,001       |
| Максимальное отклонение базовой линии от 0 в диапазоне от 190 до 1100 нм, Б                                                                                    | $\pm 0,002$ |
| Время прогрева (при включении дейтериевой лампы), мин                                                                                                          | 20          |
| Воспроизводимость установки длины волны, не более, нм                                                                                                          | 0,2         |
| Дискретность установки длины волны, нм                                                                                                                         | 0,1         |
| Разрешающая способность (выделяемый спектральный интервал), нм                                                                                                 | 3           |
| Пределы доп. значения абсолютной погрешности при измерении спектральных коэффициентов направленного пропускания (по фотометрической шкале), %                  | $\pm 1$     |
| Пределы доп. СКО случайной составляющей погрешности при измерении спектральных коэффициентов направленного пропускания (по фотометрической шкале), не более, % | $\pm 0,05$  |
| Пределы доп. значения абсолютной погрешности установки длин волн, нм                                                                                           | $\pm 1$     |
| Уровень мешающего излучения, не более, %                                                                                                                       | 0,05        |
| Фотометрический диапазон измерений:                                                                                                                            |             |

|                           |                |
|---------------------------|----------------|
| поглощения, Б             | от -0,3 до 3,0 |
| пропускания, %            | от 0 до 200    |
| Электропитание, В/Гц      | 220/50         |
| Потребляемая мощность, Вт | 200            |
| Габаритные размеры, мм    | 225x476x362    |

### *Микроскоп для морфологических исследований.*

Используется для наблюдения и морфологических исследований препаратов в проходящем свете по методу светового поля (таблица 8). На микроскопе можно изучать окрашенные и неокрашенные биологические объекты в виде срезов и мазков.

Таблица 8 - Технические характеристики.

|                                                       |            |                |
|-------------------------------------------------------|------------|----------------|
| Увеличение микроскопа                                 | Наименьшее | 40             |
|                                                       | Наибольшее | 1600           |
| Линейное увеличение объективов                        |            | 4, 10, 40, 100 |
| Видимое увеличение окуляров                           |            | 10             |
| Линейное поле зрения в пространстве изображений, мм   |            | 18             |
| Наибольшая числовая апертура конденсора светлого поля |            | 1,25           |

### *Колба Бунзена и воронка Бюхнера*

Колба Бунзена изготовлена из термостойкого стекла. Имеет конический корпус и боковым отводом для линии вакуума. Применяется для фильтрации.

Воронка Бюхнера используется вместе с колбой Бунзена для фильтрации жидкостей при помощи фильтровальной бумаги под вакуумом.

## **2.2 Характеристики исходных веществ и материалов**

Таблица 9 - Исходные вещества и их характеристики.

| Название веществ | Квалификация | Внешний вид | Брутто формула                                  | М, г/моль | ρ, г/см <sup>3</sup> | Т пл., °С |
|------------------|--------------|-------------|-------------------------------------------------|-----------|----------------------|-----------|
| 1                | 2            | 3           | 4                                               | 5         | 6                    | 7         |
| Глицерин         | ХЧ           | Бесцветная, | C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> (ОН) <sub>3</sub> | 92,1      | 1,261                | 18        |

|                                    |    |                                                                                |                      |        |       |        |
|------------------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------|--------|-------|--------|
|                                    |    | вязкая, очень гигроскопичная жидкость, смешивается с водой в любых пропорциях. |                      |        |       |        |
| Глюкоза                            | ХЧ | Бесцветное кристаллическое вещество сладкого вкуса.                            | $C_6H_{12}O_6$       | 180,16 | 1,54  | 146    |
| Сахароза                           | ХЧ | Бесцветные кристаллы, хорошо растворимые в воде                                | $C_{12}H_{22}O_{11}$ | 342,3  | 1,587 | 186    |
| Мальтоза                           | ХЧ | Порошок белого цвета                                                           | $C_{12}H_{24}O_{12}$ | 360,31 | 1,76  | 130    |
| Пентан                             | ХЧ | Бесцветная жидкость                                                            | $C_5H_{12}$          | 72,15  | 0,626 | -129,8 |
| Гексан                             | ХЧ | Бесцветная жидкость                                                            | $C_6H_{14}$          | 86,18  | 0,655 | -95,3  |
| Октан                              | ХЧ | Бесцветная жидкость                                                            | $C_8H_{18}$          | 114,23 | 0,703 | -57    |
| Нонан                              | ХЧ | Бесцветная жидкость                                                            | $C_9H_{20}$          | 128,2  | 0,718 | -51    |
| Декан                              | ХЧ | Бесцветная жидкость                                                            | $C_{10}H_{22}$       | 142,29 | 0,730 | -29,67 |
| Тридекан                           | ХЧ | Бесцветная легко воспламеняющаяся жидкость                                     | $C_{13}H_{28}$       | 184,4  | 0,756 | -5     |
| Пентадекан                         | ХЧ | Бесцветная жидкость                                                            | $C_{15}H_{32}$       | 212,41 | 0,773 | 9,9    |
| Гексадекан                         | ХЧ | Бесцветная жидкость                                                            | $C_{16}H_{34}$       | 226,44 | 0,775 | 18,2   |
| Сульфат магния кристаллогидрат     | ХЧ | Порошок белого цвета                                                           | $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 120,37 | 2,66  | 1137   |
| Калий двузамещенный фосфорнокислый | ХЧ | Кристаллы белого цвета                                                         | $K_2HPO_4$           | 174,17 | 2,44  | 282    |
| Сульфат                            | ХЧ | Бесцветные                                                                     | $Na_2SO_4$           | 142,04 | 2,66  | 884    |

|                      |     |                                                                     |                                                                      |             |       |       |
|----------------------|-----|---------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-------------|-------|-------|
| натрия               |     | кристаллы                                                           |                                                                      |             |       |       |
| Соляная кислота      | Ч   | Бесцветная жидкость                                                 | HCl                                                                  | 36,5        | 1,7   | -114  |
| Этилацетат           | ХЧ  | Бесцветная жидкость                                                 | CH <sub>3</sub> COO-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>                  | 88,11       | 0,902 | -83,6 |
| Бензол               | ХЧ  | Бесцветная жидкость с характерным запахом                           | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>                                        | 78,11       | 0,876 | 5,5   |
| Уксусная кислота     | ХЧ  | Бесцветная жидкость с резким запахом                                | CH <sub>3</sub> COOH                                                 | 60,05       | 1,049 | 16,6  |
| Аланин               | чда | Игольчатые кристаллы белого цвета                                   | H <sub>2</sub> NCH(CH <sub>3</sub> )COOH                             | 89,09       | 1,42  | 296   |
| Лейцин               | Ч   | Бесцветные кристаллы плохо растворимые в воде                       | HO <sub>2</sub> CCHCH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> | 131,18      | 1,29  | 294   |
| Глутаминовая кислота | чда | Белый порошок                                                       | C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>                        | 147,13      | 1,46  | 199   |
| Сорбит пищевой       |     | Бесцветные сладкие кристаллы сладкого вкуса                         | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>                        | 182,17      | 1,49  | 95    |
| D-(+)-сорбит         | ХЧ  | Бесцветные сладкие кристаллы сладкого вкуса                         | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>                        | 182,17      | 1,49  | 95    |
| Маннит               | ХЧ  | Бесцветные кристаллы, хорошо растворимые в воде, имеют сладкий вкус | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>                        | 182,17<br>6 | 1,49  | 166,1 |
| Этиловый спирт       | ХЧ  | Бесцветная жидкость                                                 | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH                                     | 46,07       | 0,789 | -114  |
| Пропиловый спирт     | ХЧ  | Бесцветная жидкость                                                 | C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> OH                                     | 60,09       | 0,803 | -126  |
| Изопропиловый спирт  | ХЧ  | Бесцветная жидкость                                                 | C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> OH                                     | 60,1        | 0,786 | -89   |
| Бутиловый спирт      | ХЧ  | Бесцветная жидкость                                                 | C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> OH                                     | 74,12       | 0,81  | -90,2 |
| Изобутилов           | ХЧ  | Бесцветная                                                          | C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> OH                                     | 74,12       | 0,80  | -108  |

|                |     |                                        |               |       |       |       |
|----------------|-----|----------------------------------------|---------------|-------|-------|-------|
| ый спирт       |     | жидкость                               |               |       |       |       |
| Амиловый спирт | ХЧ  | Бесцветная жидкость неприятным запахом | $C_5H_{11}OH$ | 88,15 | 0,814 | -78,5 |
| Ацетонитрил    | чда | Бесцветная жидкость                    | $C_2H_3N$     | 41,05 | 0,786 | -44   |
| Едкий натр     | чда | Белые кристаллы                        | $NaOH$        | 40    | 2,13  | 320   |

### 2.3 Питательные среды

В исследовании для культивирования микроорганизмом были взяты питательная среды на основе среды Кинг В, во время приготовления которой использовались различные источники углерода, в виде сахаров, алканов, некоторых аминокислот, спиртов и их изомеров в количестве 0,25 г. Подробные составы сред представлены в таблице 11.

Таблица 10- Состав универсальной питательной среды Кинг В.

| Название питательной среды | Состав среды          | Количество, г/л |
|----------------------------|-----------------------|-----------------|
| Кинг В                     | Пептон ферментативный | 20              |
|                            | $K_2HPO_4$            | 1,5             |
|                            | $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  | 1,5             |
|                            | Глицерин              | 10              |

Таблица 11 - Составы сред на основе среды Кинг В на 25 мл.

| Состав среды Кинг В                                                                                                |                   |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|------------|
| -Пептон ферментативный - 2 г.<br>- $K_2HPO_4$ - 0,15 г.<br>- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,15 г.<br>- Источник углерода |                   |            |
| №                                                                                                                  | Источник углерода | Количество |
| 1                                                                                                                  | Пентан            | 200        |
| 2                                                                                                                  | Гексан            | 200        |
| 3                                                                                                                  | Октан             | 200        |
| 4                                                                                                                  | Нонан             | 200        |
| 5                                                                                                                  | Декан             | 200        |
| 6                                                                                                                  | Тридекан          | 200        |
| 7                                                                                                                  | Гексадекан        | 200        |

|    |                      |      |
|----|----------------------|------|
| 8  | Пентадекан           | 200  |
| 9  | Сахароза             | 0,25 |
| 10 | Глюкоза              | 0,25 |
| 11 | Мальтоза             | 0,25 |
| 12 | Глицерин             | 200  |
| 13 | D-(+)- сорбит        | 0,25 |
| 14 | Сорбит пищевой       | 0,25 |
| 15 | Маннит               | 0,25 |
| 16 | Этиловый спирт       | 200  |
| 17 | Пропиловый спирт     | 200  |
| 18 | Изопропиловый спирт  | 200  |
| 19 | Бутиловый спирт      | 200  |
| 20 | Изобутиловый спирт   | 200  |
| 21 | Амиловый спирт       | 200  |
| 22 | Алинин               | 0,25 |
| 23 | Лейцин               | 0,25 |
| 24 | Глутаминовая кислота | 0,25 |
| 25 | Кукурузный экстракт  | 200  |

## 2.4 Культивирование микроорганизма

**Продуцент:** в данной работе использовали непатогенный штамм *Pseudomonas aeruginosa*, предоставленный из коллекции лаборатории микробиологии Областной клинической больницы города Томска. Паспорт штамма в приложении 2. Штамм хранился на скошенном питательном ГРМ-агаре при 36°C.

На первом этапе культивирования шли подготовки источников углерода, приготовление питательных сред и культуры продуцента к засеву.

Питательные среды готовились на 25 мл. Количество внесенного источника углерода - 0,25 г.

После приготовления все растворы подвергались стерилизации автоклавированием. Автоклавирование производилось при температуре 121°C, давлении 0,5 атм в течение 15 минут. Готовые растворы хранились в холодильнике при температуре 4°C.

Подготовка продуцента к культивированию велась следующим образом: готовилась суточная культура синегнойной палочки, в качестве питательной среды использовался ГРМ-агар. Готовился ГРМ-агар по стандартной методике [18], стерилизовался автоклавированием. После 1 суток культивирования определяли чистоту культуры путем окрашивания фиксированных мазков микроорганизмов по методу Грама, а также проводилось приготовление разведений полученной бактериальной суспензии. Разведения готовились в стерильной дистиллированной воде по помощи стандарта мутности по МакФарланду на 500 млн. микроорганизмов на 1мл воды. Посев производился засевной дозой 200 мкл разведенной суспензии в 25 мл питательной среды.

Получение биомассы микроорганизмов проводили путем периодического культивирования *Pseudomonas aeruginosa* в стерильных плоскодонных колбах, без аэрации, без доступа солнечного света в течение 5 суток при температуре 30°C.

## **2.5 Экстракция феназиновых соединений**

Извлечение феназиновых соединений экстракцией проводили на 5-е сутки культивирования *P. aeruginosa* по методике, описанной М. Е. Levitch и Е. R. Stadtman [19]. На рисунке 2 представлена технологическая схема выделения феназинов из культуральной жидкости.

Продуценты феназинов выделяют свои антибиотики в окружающую среду, то есть в культуральную жидкость. Поэтому на первом этапе выделения феназинов биомассу клеток отделяли фильтрованием под вакуумом. Затем фильтрат, содержащий феназины, подкисляли 2н соляной кислотой до pH 1-2 и к нему добавляли равный объем этилацетата. Смесь тщательно встряхивали в течение 30 мин и отбирали верхнюю фракцию, проводили повторную экстракцию. Полученные экстракты обезвоживали с помощью сернокислого натрия и фильтровали.

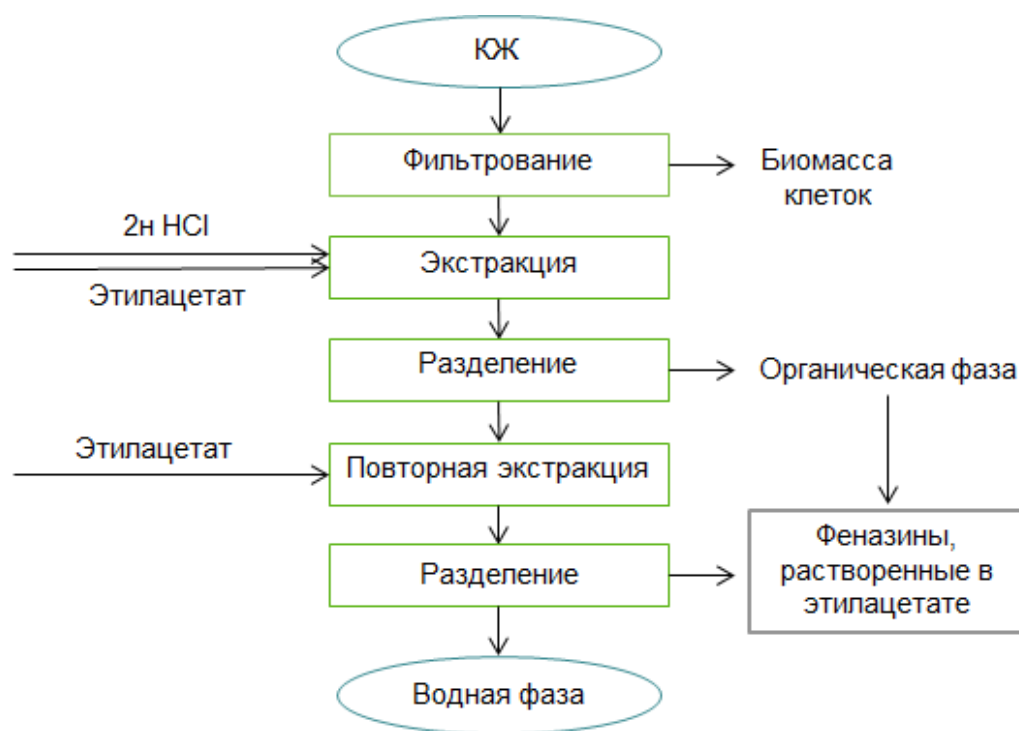


Рисунок 3 - Технологическая схема выделения феназинов из культуральной жидкости.

## 2.6 Разделение экстрагированных феназинов

Разделение феназиновых соединений после экстракции осуществляли методами тонкослойной (ТСХ) и колоночной хроматографий. В качестве неподвижной фазы использовали силикагель, система растворителей - Гексан:Этилацетат (3:2). Выбранная система использовалась в качестве подвижной фазы в ТСХ для разделения полученной смеси феназиновых производных. Затем полученные элюаты смывали с пластинки этилацетатом.

Определение содержания феназинов в растворителе велось фотометрическим методом на спектрофотометре СФ-102. Феназиновые антибиотики дают широкое разнообразие оттенков и имеют интенсивную окраску. Одной из главных характерных полос поглощения в ультрафиолете является полоса в видимой области 400-600 нм. Большая часть производных феназина имеют желтое окрашивание и наблюдаются при  $\lambda_{\text{max}}=400-500$  нм [20]. Поэтому оптическую плотность определяли при длине волны 367 нм. На основе данных оптической плотности и молярных коэффициентов

поглощения рассчитали концентрации полученных веществ, используя закон Бера- Бугера-Ламберта (1) [21], результаты сравнили с выходом РСА (4,78 мг) на контрольной коммерческой среде ГРМ-бульон [22]. Полученные УФ-спектры сравнили со спектрами производных феназина, взятыми из базы данных "Sigma-Aldrich" [23]. Экспериментальный УФ-спектр для феназин-1-карбоновой кислоты представлен в приложении 3 (рис. 4).

$$C = M \cdot \frac{A}{\varepsilon \cdot l}, \quad (1)$$

где  $C$  - концентрация раствора, г/л;

$\varepsilon$  - молярный коэффициент поглощения (для РСА  $\varepsilon_{367}=3019$  моль<sup>-1</sup>);

$l$  - толщина поглощающего слоя, см (1 см);

$A$  - оптическая плотность поглощающего вещества;

$M$  - молярная масса, г/моль (224,21 г/моль).

При расчете концентраций феназинов в растворах использовали калибровочный график, который строили на растворах феназин-1-карбоновой кислоты с известной концентрацией и данных об оптической плотности, используя программу CurveExpert (Приложение 4, рис. 5, табл. 12) [24].

Для проведения колоночной хроматографии также использовали систему гесан:этилацетат. При разделении на колонке было отобрано 8 фракций. Каждую фракцию проверяли на наличие феназиновых антибиотиков с помощью тонкослойной хроматографии в системе гексан - этилацетат (3:2), а также сканировали при помощи спектрофотометра СФ-102 ( $\lambda=200-600$  нм).

Далее пробы высушивали и получали кристаллы желтого цвета. Для идентификации полученных соединений одну часть кристаллов растворяли в 3 мл водного раствора ацетонитрила и проводили высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) измеряя при 270 нм. Наблюдался один пик, который соответствовал феназин-1-карбоновой кислоте (рисунок 6 в

приложении 5). Вторую часть кристаллов использовали для измерения температуры плавления. Полученные результаты сравнивали со справочными значениями [2].

## **2.7 Влияние температурного шока на уровень продукции производных феназина**

Проверили влияние температурного шока на продукцию антибиотиков феназинового ряда штаммом *Pseudomonas aeruginosa*. В данной серии экспериментов исследовали воздействие повышенных и пониженных температур на образование феназинов.

Готовили три стерильные колбы со средой Кинг В, в качестве источников углерода использовали глицерин, аланин, лейцин и глутаминовую кислоту в количестве 1г. Посев *P. aeruginosa* производился засевной дозой 200 мкл разведенной суспензии в 25 мл питательной среды. Культивирование микроорганизмом проводилось в стерильных колбах Эрленмейера, без солнечного света, без аэрации при температуре 30°C.

После 3-х суток культивирования одну колбу оставили при 30°C для контроля, для второй колбы повысили температуру до 42°C, для третьей - понижали до 10°C. Продолжительность воздействия повышенной/пониженной температуры - 1 сутки.

На четвертые сутки культивирования извлекали феназины экстракцией по методике описанной ранее. Концентрации полученных веществ определяли на спектрофотометре ( $\lambda=190-700$  нм) и считали концентрации и количества феназин-1-карбоновой кислоты.

## **4 ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ**

В данной работе разрабатывается проект выделения и изучения комплекса антибиотиков феназинового ряда из культуры синегнойной палочки.

Живые культуры бактерий, способных к синтезу различных антимикробных соединений, все чаще и чаще используются в сельскохозяйственной промышленности. Они применяются в качестве биопестицидных препаратов. Данная разработка отличается ресурсоэффективностью, так как основные затраты идут на хранение, консервацию культуры и на сырье для поддержания жизни и увеличение выхода антибиотиков при внесении в почву. Данная методика значительно сокращает затраты на сырье и оборудование, используемое при экстракции и получении антибиотиков в чистом виде.

Также биопрепарат отличается экологичностью. Отсутствие химических консервантов снижает токсичность препарата.

### **4.1 Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения**

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

Научно - исследовательские лаборатории, ведущие разработки в области сельского хозяйства, микробиологии и биотехнологии, являются потенциальными потребителями результатов исследования. Лаборатории, занимающиеся данным исследованием, интересуются наиболее эффективными методами получения препаратов, обладающих антибиотическими свойствами. Препарат должен соответствовать следующим требованиям: быть эффективным, безвредным для растительных культур и окружающей среды, экономически выгодным.

### 4.1.2 Анализ конкурентных технических решений

Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения проводился сравнением эффективности научной разработки с разработкой проводимой на базе лабораторий Белорусского государственного университета (БГУ). Результаты сравнения представлены в таблице 17.

Таблица 17 - Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений (разработок).

| Критерии оценки                                                     | Вес критерия | Баллы          |                 | Конкурентоспособность |                 |
|---------------------------------------------------------------------|--------------|----------------|-----------------|-----------------------|-----------------|
|                                                                     |              | Б <sub>ф</sub> | Б <sub>кл</sub> | К <sub>ф</sub>        | К <sub>кл</sub> |
| 1                                                                   | 2            | 3              | 4               | 5                     | 6               |
| <b>Технические критерии оценки ресурсоэффективности</b>             |              |                |                 |                       |                 |
| 1. Выход продукта                                                   | 0,05         | 5              | 4               | 0,25                  | 0,2             |
| 2. Чистота продукта                                                 | 0,1          | 5              | 5               | 0,5                   | 0,5             |
| 3. Удобство в эксплуатации (соответствует требованиям потребителей) | 0,05         | 5              | 4               | 0,25                  | 0,2             |
| 4. Экономичность                                                    | 0,1          | 5              | 3               | 0,5                   | 0,3             |
| 5. Надежность                                                       | 0,05         | 5              | 5               | 0,25                  | 0,25            |
| 6. Безопасность                                                     | 0,1          | 5              | 5               | 0,5                   | 0,5             |
| 7. Экологичность                                                    | 0,1          | 5              | 4               | 0,5                   | 0,4             |
| 8. Функциональная мощность (предоставляемые возможности)            | 0,05         | 5              | 4               | 0,25                  | 0,2             |
| 9. Возможность внедрения в промышленность                           | 0,05         | 4              | 5               | 0,2                   | 0,25            |
| <b>Экономические критерии оценки эффективности</b>                  |              |                |                 |                       |                 |
| 1. Конкурентоспособность продукта                                   | 0,05         | 5              | 4               | 0,25                  | 0,2             |
| 2. Уровень проникновения на рынок                                   | 0,05         | 3              | 5               | 0,15                  | 0,25            |
| 3. Цена                                                             | 0,1          | 5              | 4               | 0,5                   | 0,4             |
| 4. Предполагаемый срок эксплуатации                                 | 0,05         | 5              | 3               | 0,25                  | 0,15            |
| 5. Послепродажное обслуживание                                      | 0,05         | 5              | 4               | 0,25                  | 0,2             |
| 6. Финансирование научной                                           | 0,05         | 3              | 4               | 0,15                  | 0,2             |

|              |          |           |           |          |            |
|--------------|----------|-----------|-----------|----------|------------|
| разработки   |          |           |           |          |            |
| <b>Итого</b> | <b>1</b> | <b>70</b> | <b>63</b> | <b>6</b> | <b>4,2</b> |

Позиция разработки и конкурентов оценивается по каждому показателю экспертным путем по пятибалльной шкале, где 1 – наиболее слабая позиция, а 5 – наиболее сильная.

Анализ конкурентных технических решений определяется по формуле:

$$K = \sum B_i \cdot B_i,$$

где K – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;

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

$B_i$  – балл i-го показателя.

Несмотря на то, что исследования БГУ имеют более высокий уровень проникновения на рынок, чем исследования, описанные в работе, однако, конкурентоспособность у работы БГУ получилась меньше. Это можно объяснить тем, что исследования БГУ более продолжительны и были опробованы на рынке. Конкурентным преимуществом данного исследования является его низкая стоимость, экологичность и длительность эксплуатации.

#### 4.1.3. Технология QuaD

Технология QuaD (QUalityADvisor) представляет собой гибкий инструмент измерения характеристик, описывающих качество новой разработки и ее перспективность на рынке и позволяющие принимать решение целесообразности вложения денежных средств в научно-исследовательский проект.

В соответствии с технологией QuaD каждый показатель оценивается экспертным путем по стобалльной шкале, где 1- наиболее слабая позиция, а 100- наиболее сильная (таблица 18).

Таблица 18 - Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений (разработок).

| Критерии оценки                                              | Вес критерия | Баллы       | Максимальный балл | Относительное значение (3/4) | Средневзвешенное значение (5x2) |
|--------------------------------------------------------------|--------------|-------------|-------------------|------------------------------|---------------------------------|
| 1                                                            | 2            | 3           | 4                 | 5                            | 6                               |
| <b>Показатели оценки качества разработки</b>                 |              |             |                   |                              |                                 |
| 1. Энергоэффективность                                       | 0,1          | 90          | 100               | 0,9                          | 0,09                            |
| 2. Надежность                                                | 0,1          | 70          | 100               | 0,7                          | 0,07                            |
| 3. Унифицированность                                         | 0,05         | 90          | 100               | 0,9                          | 0,045                           |
| 4. Уровень материалоемкости разработки                       | 0,05         | 80          | 100               | 0,8                          | 0,04                            |
| 5. Безопасность                                              | 0,1          | 60          | 100               | 0,6                          | 0,06                            |
| 6. Потребность в ресурсах памяти                             | 0,1          | 70          | 100               | 0,7                          | 0,07                            |
| 7. Функциональная мощность (предоставляемые возможности)     | 0,05         | 60          | 100               | 0,6                          | 0,03                            |
| <b>Показатели оценки коммерческого потенциала разработки</b> |              |             |                   |                              |                                 |
| 8. Конкурентоспособность продукта                            | 0,1          | 80          | 100               | 0,8                          | 0,08                            |
| 9. Уровень проникновения на рынок                            | 0,05         | 60          | 100               | 0,6                          | 0,03                            |
| 10. Перспективность рынка                                    | 0,05         | 80          | 100               | 0,8                          | 0,04                            |
| 11. Цена                                                     | 0,1          | 70          | 100               | 0,7                          | 0,07                            |
| 12. Послепродажное обслуживание                              | 0,05         | 80          | 100               | 0,8                          | 0,04                            |
| 13. Финансовая эффективность научной разработки              | 0,05         | 80          | 100               | 0,8                          | 0,04                            |
| 14. Срок выхода на рынок                                     | 0,05         | 80          | 100               | 0,8                          | 0,04                            |
| <b>Итого</b>                                                 | <b>1</b>     | <b>1050</b> | <b>1400</b>       | <b>10,5</b>                  | <b>0,745</b>                    |

Оценка качества и перспективности по технологии QuaD определяется по формуле:

$$P_{cp} = \sum B_i \cdot B_i,$$

где  $P_{cp}$  – средневзвешенное значение показателя качества и перспективности научной разработки;

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

$B_i$  – средневзвешенное значение  $i$ -го показателя.

Средневзвешенное значение показателя качества и перспективности научной разработки лежит в пределе от 79 до 60, из чего следует, что перспективность разработки выше среднего, что обосновывает объемы инвестирования.

#### 4.1.4 SWOT-анализ

SWOT-анализ применяют для исследования внешней и внутренней среды проекта. Данные по анализу проиллюстрированы в таблице 19.

Таблица 19 - Матрица SWOT.

|                                                        | <b>Сильные стороны научно-исследовательского проекта:</b><br>С1. Заявленная экономичность и ресурсоэффективность технологии.<br>С2. Экологичность технологии.<br>С3. Более низкая стоимость производства по сравнению с другими технологиями.<br>С4. Простота технологии<br>С5. Минимальное количество отходов производства | <b>Слабые стороны научно-исследовательского проекта:</b><br>Сл1. Отсутствие финансирования для дальнейшего научного развития.<br>Сл2. Отсутствие рабочего штатма<br>Сл3. Отсутствие необходимых условий и оборудования для проведения испытания опытного образца<br>Сл4. Отсутствие патента на разработку |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Возможности:</b><br>В1. Использование инновационной | В1С1С3<br>В2С2С4<br>В3С1С2С3С4                                                                                                                                                                                                                                                                                              | В1Сл2Сл3Сл4<br>В2Сл1Сл4<br>В3Сл1Сл4                                                                                                                                                                                                                                                                       |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                 |                                                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>инфраструктуры ТПУ</p> <p>В2. Использование инфраструктуры СибГМУ</p> <p>В3. Появление дополнительного спроса на новый продукт</p> <p>В4. Использование разработки в промышленных масштабах</p> <p>В5. Повышение стоимости конкурентных разработок</p>                                                                                                                  | <p>В4С1С2С4</p> <p>В5С1С3</p>                                                   | <p>В4Сл1Сл4</p> <p>В5Сл1</p>                                                                |
| <p><b>Угрозы:</b></p> <p>У1. Отсутствие спроса на новые технологии производства</p> <p>У2. Конкуренция имеющихся технологий производства</p> <p>У3. Ограничение возможности вхождения на российский рынок</p> <p>У4. Введения дополнительных требований к сертификации продукции</p> <p>У5. Несвоевременное финансовое обеспечение исследования со стороны государства</p> | <p>У1С3С4</p> <p>У2С1С2С3С4</p> <p>У3С1С3С4</p> <p>У4С1С3С4</p> <p>У5С1С3С4</p> | <p>У1Сл1Сл3</p> <p>У2Сл1Сл3Сл4</p> <p>У3Сл1Сл3Сл4</p> <p>У4Сл1Сл3Сл4</p> <p>У5Сл1Сл3Сл4</p> |

Таблица 20 - Интерактивная матрица проекта.

| Сильные стороны проекта |    |    |    |    |    |    |
|-------------------------|----|----|----|----|----|----|
| Возможности проекта     |    | С1 | С2 | С3 | С4 | С5 |
|                         | В1 | +  | -  | +  | 0  | -  |
|                         | В2 | -  | +  | 0  | +  | 0  |
|                         | В3 | +  | +  | +  | +  | +  |
|                         | В4 | +  | +  | 0  | +  | -  |
|                         | В5 | +  | 0  | +  | 0  | -  |

Таблица 21 - Интерактивная матрица проекта.

| Слабые стороны проекта |    |      |      |      |      |      |
|------------------------|----|------|------|------|------|------|
| Возможности проекта    |    | Сл.1 | Сл.2 | Сл.3 | Сл.4 | Сл.5 |
|                        | B1 | +    | +    | 0    | +    | -    |
|                        | B2 | +    | 0    | -    | +    | 0    |
|                        | B3 | +    | 0    | 0    | +    | 0    |
|                        | B4 | +    | -    | 0    | +    | 0    |
|                        | B5 | +    | 0    | 0    | 0    | -    |

Таблица 22 - Интерактивная матрица проекта.

| Сильные стороны проекта |    |    |    |    |    |
|-------------------------|----|----|----|----|----|
| Угрозы проекта          |    | C1 | C2 | C3 | C4 |
|                         | Y1 | +  | 0  | +  | +  |
|                         | Y2 | +  | +  | +  | +  |
|                         | Y3 | +  | 0  | +  | +  |
|                         | Y4 | +  | -  | +  | +  |
|                         | Y5 | +  | -  | +  | +  |

Таблица 23 - Интерактивная матрица проекта.

| Слабые стороны проекта |    |      |      |      |      |
|------------------------|----|------|------|------|------|
| Угрозы проекта         |    | Сл.1 | Сл.2 | Сл.3 | Сл.4 |
|                        | Y1 | +    | 0    | +    | -    |
|                        | Y2 | +    | -    | +    | +    |
|                        | Y3 | +    | -    | +    | +    |
|                        | Y4 | +    | 0    | +    | +    |
|                        | Y5 | +    | -    | +    | +    |

Таблица 24 - SWOT-анализ.

|  | <b>Сильные стороны научно-исследовательского проекта:</b>                    | <b>Слабые стороны научно-исследовательского проекта:</b>                                     |
|--|------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | С1. Заявленная экономичность и ресурсоэффективность технологии.              | Сл1. Отсутствие финансирования для дальнейшего научного развития.                            |
|  | С2. Экологичность технологии.                                                | Сл2. Отсутствие рабочего штамма                                                              |
|  | С3. Более низкая стоимость производства по сравнению с другими технологиями. | Сл3. Отсутствие необходимых условий и оборудования для проведения испытания опытного образца |
|  | С4. Простота                                                                 | Сл4. Отсутствие патента                                                                      |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | технологии<br>С5. Минимальное<br>количество отходов<br>производства                                                                                                                                                                                                          | на разработку                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Возможности:</b><br>В1. Использование инновационной инфраструктуры ТПУ<br>В2. Использование инфраструктуры СибГМУ<br>В3. Появление дополнительного спроса на новый продукт<br>В4. Использование разработки в промышленных масштабах<br>В5. Повышение стоимости конкурентных разработок                                             | В связи с уникальными свойствами разработки (экологичность, простота использования, экономичность и т.д.) у нее есть шансы выйти на российский рынок. Есть необходимость заинтересовать инвесторов, чтобы данная разработка нашла практическое применение в промышленности.  | Несмотря на достоинства разработки и на наличие возможностей ее реализации, она не развита на рынке из-за наличия альтернативных разработок. Соответственно, из-за незаинтересованности потенциальных потребителей отсутствует финансирование и необходимое оборудование для дальнейшего развития. |
| <b>Угрозы:</b><br>У1. Отсутствие спроса на новые технологии производства<br>У2. Конкуренция имеющихся технологий производства<br>У3. Ограничение возможности вхождения на российский рынок<br>У4. Введения дополнительных требований к сертификации продукции<br>У5. Несвоевременное финансовое обеспечение исследования государством | Биопестицидные препараты на основе живых культур микроорганизмов не развиты на российском рынке. Основной причиной является отсутствие спроса на данный продукт, а также наличие других пестицидов на рынке. Следует усиленно продвигать разработку с целью создания спроса. | Отсутствие финансирования и незаинтересованность потенциальных потребителей в научной разработке является проблемой для дальнейшего ее развития. Следует выработать маркетинговую стратегию в области продвижения разработки на рынок.                                                             |

## 4.2 Планирование научно-исследовательских работ

### 4.2.1. Структура работ в рамках научного исследования

Для выполнения научных исследований формируется рабочая группа, в состав которой могут входить научные сотрудники и преподаватели, инженеры, техники и лаборанты, численность групп может варьироваться. По каждому виду запланированных работ устанавливается соответствующая должность исполнителей.

В данном разделе составляется перечень этапов и работ в рамках проведения научного исследования, провести распределение исполнителей по видам работ. Примерный порядок составления этапов и работ, распределение исполнителей по данным видам работ приведен в таблице 25.

Таблица 25 - Перечень этапов, работ и распределение исполнителей.

| Основные этапы                                 | № раб | Содержание работ                                                        | Должность исполнителя   |
|------------------------------------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| Разработка технического задания                | 1     | Составление и утверждение технического задания                          | Руководитель темы       |
| Выбор направления исследований                 | 2     | Подбор и изучение материалов по теме                                    | Дипломник               |
|                                                | 3     | Выбор направления исследований                                          | Руководитель, Дипломник |
|                                                | 4     | Календарное планирование работ по теме                                  | Руководитель, Дипломник |
| Теоретические и экспериментальные исследования | 5     | Проведение теоретических расчетов и обоснований                         | Дипломник               |
|                                                | 6     | Построение макетов (моделей) и проведение экспериментов                 | Дипломник               |
|                                                | 7     | Сопоставление результатов экспериментов с теоретическими исследованиями | Руководитель, Дипломник |
| Обобщение и оценка результатов                 | 8     | Оценка эффективности полученных результатов                             | Руководитель, Дипломник |
|                                                | 9     | Определение целесообразности проведения ОКР                             | Руководитель, Дипломник |

| Проведение ОКР                                           |    |                                                                              |           |
|----------------------------------------------------------|----|------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Оформление отчета по НИР (комплекта документации по ОКР) | 10 | Составление пояснительной записки (эксплуатационно-технической документации) | Дипломник |

#### 4.2.2 Определение трудоемкости выполнения работ

Трудоемкость выполнения научного исследования оценивается экспертным путем в человеко-днях и носит вероятностный характер, т.к. зависит от множества трудно учитываемых факторов. Для определения ожидаемого (среднего) значения трудоемкости  $t_{ожі}$  используется следующая формула:

$$t_{ожі} = \frac{3t_{mini} + 2t_{maxi}}{5},$$

где  $t_{ожі}$ - ожидаемая трудоемкость выполнения  $i$ -ой работы чел.-дн.;

$t_{mini}$ - минимально возможная трудоемкость выполнения заданной  $i$ -ой работы (оптимистическая оценка: в предположении наиболее благоприятного стечения обстоятельств), чел.-дн.;

$t_{maxi}$ - максимально возможная трудоемкость выполнения заданной  $i$ -ой работы (пессимистическая оценка: в предположении наиболее неблагоприятного стечения обстоятельств), чел.-дн.

Исходя из ожидаемой трудоемкости работ, определяется продолжительность каждой работы в рабочих днях  $T_{pi}$ :

$$T_{pi} = \frac{t_{ожі}}{Ч_i},$$

где  $T_{pi}$ - продолжительность одной работы, раб.дн.;

$t_{ожі}$ - ожидаемая трудоемкость выполнения одной работы, чел.-дн.

$Ч_i$ - численность исполнителей, выполняющих одновременно одну и ту же работу на данном этапе, чел.

### 4.2.3 Разработка графика проведения научного исследования

Диаграмма Ганта - горизонтальный ленточный график, на котором работы по теме представляются протяженными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ.

Формула для перевода рабочих дней в календарные:

$$T_{k_i} = T_{P_i} \cdot k_{\text{кал}},$$

где  $T_{k_i}$  - продолжительность выполнения  $i$ -й работы в календарных днях;

$T_{P_i}$  - продолжительность выполнения  $i$ -й работы в рабочих днях;

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

Формула для расчета коэффициента календарности:

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{T_{\text{кал}} - T_{\text{вых}} - T_{\text{пр}}},$$

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.

Расчет коэффициента календарности:

$$k_{\text{кал}} = \frac{365}{365 - 104 - 14} = 1,477$$

Таблица 26 - Временные показатели проведения научного исследования

| Название работы                 | Трудоёмкость работ   |                      |                             | Исполнители  | Длительность работ в рабочих днях<br>$T_{P_i}$ | Длительность работ в календарных днях<br>$T_{k_i}$ |
|---------------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------|--------------|------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
|                                 | $t_{\min}$ , чел-дни | $t_{\max}$ , чел-дни | $t_{\text{ожид}}$ , чел-дни |              |                                                |                                                    |
|                                 | Исп. 1               | Исп. 1               | Исп. 1                      |              |                                                |                                                    |
| Разработка технического задания | 0,5                  | 0,7                  | 0,58                        | Руководитель | 0,58                                           | 0,85                                               |

|                                                         |     |     |      |                        |      |       |
|---------------------------------------------------------|-----|-----|------|------------------------|------|-------|
| Подбор и изучение материала по теме                     | 2   | 2,2 | 2,08 | Бакалавр               | 2,08 | 3,06  |
| Проведение патентных исследований                       | 0,5 | 0,7 | 0,58 | Бакалавр               | 0,58 | 0,85  |
| Выбор направления исследований                          | 0,2 | 0,5 | 0,32 | Руководитель, бакалавр | 0,16 | 0,24  |
| Календарное планирование работ по теме                  | 0,3 | 0,5 | 0,38 | Руководитель, бакалавр | 0,19 | 0,28  |
| Проведение теоретических расчетов и обоснований         | 1,5 | 1,7 | 1,58 | Бакалавр               | 1,58 | 2,32  |
| Построение макетов (моделей) и проведение экспериментов | 6,1 | 6,5 | 6,26 | Бакалавр               | 6,26 | 9,2   |
| Подготовка накопительной культуры продуцента и сред     | 2,1 | 2,5 | 2,26 | Бакалавр               | 2,26 | 3,32  |
| Внесение накопительной культуры в питательные среды     | 1,8 | 2,0 | 1,88 | Бакалавр               | 1,88 | 2,76  |
| Экстракция                                              | 22  | 24  | 22,8 | Бакалавр               | 22,8 | 33,52 |
| Разделение экстрактов                                   | 8   | 8,2 | 8,08 | Бакалавр               | 8,08 | 11,87 |
| Идентификация                                           | 2,5 | 3,0 | 2,7  | Бакалавр               | 2,7  | 3,97  |

|                                                                         |     |     |      |                        |      |      |
|-------------------------------------------------------------------------|-----|-----|------|------------------------|------|------|
| полученных веществ                                                      |     |     |      |                        |      |      |
| Сопоставление результатов экспериментов с теоретическими исследованиями | 1   | 1,6 | 1,24 | Руководитель, бакалавр | 0,62 | 0,91 |
| Подведение итогов работы, составление выводов                           | 2   | 2,5 | 2,2  | Бакалавр               | 2,2  | 3,23 |
| Оценка эффективности полученных результатов                             | 2   | 2,5 | 2,2  | Бакалавр               | 2,2  | 3,23 |
| Определение целесообразности проведения ОКР                             | 2   | 2,5 | 2,2  | Руководитель, бакалавр | 1,1  | 1,62 |
| Разработка блок-схемы, принципиальной схемы                             | 3,2 | 3,4 | 3,28 | Бакалавр               | 3,28 | 4,82 |
| Выбор и расчет конструкции                                              | 2,4 | 2,6 | 2,48 | Бакалавр               | 2,48 | 3,65 |
| Оценка эффективности производства и применения проектируемого изделия   | 2,8 | 3,0 | 2,88 | Руководитель, бакалавр | 1,44 | 2,12 |
| Составление                                                             | 5,6 | 6,0 | 5,76 | Бакалавр               | 5,76 | 8,47 |

|                                                                  |  |  |  |  |  |  |
|------------------------------------------------------------------|--|--|--|--|--|--|
| пояснительной записки (эксплуатационно-технической документации) |  |  |  |  |  |  |
|------------------------------------------------------------------|--|--|--|--|--|--|

Таблица 27-Календарный план-график проведения НИОКР по теме в приложении 6.

#### 4.2.4 Бюджет научно-технического исследования (НТИ)

##### 4.2.4.1 Расчет материальных затрат НТИ

Расчет материальных затрат осуществляется по следующей формуле:

$$З_m = (1 + k_T) \cdot \sum_{i=1}^m Ц_i \cdot N_{расхi},$$

где m- количество видов материальных ресурсов, потребляемых при выполнении научного исследования;

$N_{расхi}$ - количество материальных ресурсов i-го вида, планируемых к использованию при выполнении научного исследования (шт., кг, м, м<sup>2</sup> и т.д.);

$Ц_i$ - цена приобретения единицы i-го вида потребляемых материальных ресурсов (руб./шт., руб./кг, руб./м, руб./м<sup>2</sup> и т.д.);

$k_T$ -коэффициент, учитывающий транспортно-заготовительные расходы (15%).

Величина коэффициента ( $k_T$ ), отражающего соотношение затрат по доставке материальных ресурсов и цен на их приобретение, зависит от условий договоров поставки, видов материальных ресурсов, территориальной удаленности поставщиков и т.д. Транспортные расходы принимаются в пределах 15-25% от стоимости материалов. Материальные затраты, необходимые для данной разработки, занесены в таблицу 28.

Таблица 28 - Материальные затраты.

| Наименование                | Единица измерения | Количество | Цена за ед., руб. | Затраты на материалы, (З <sub>м</sub> ), руб. |
|-----------------------------|-------------------|------------|-------------------|-----------------------------------------------|
|                             |                   | Исп. 1     | Исп. 1            | Исп. 1                                        |
| Пептон                      | 250 г             | 250        | 617               | 617                                           |
| ГРМ-бульон                  | 250 г             | 72         | 691               | 218,9                                         |
| Глюкоза х.ч.                | 1 кг              | 0,044      | 180               | 8,712                                         |
| Глицерин ч.                 | 1 кг              | 0,04       | 162               | 7,128                                         |
| Хлорид натрия х.ч.          | 1 кг              | 0,026      | 75                | 2,145                                         |
| Фосфат натрия двузамещенный | 1 кг              | 0,084      | 180               | 16,63                                         |
| Сульфат магния              | 1 кг              | 0,058      | 93,5              | 5,96                                          |
| Хлороформ                   | 1,5 кг            | 3          | 165               | 544,5                                         |
| Этанол                      | 1 л               | 0,2        | 180               | 39,6                                          |
| Уксусная кислота (ледяная)  | 1 кг              | 0,05       | 75                | 4,125                                         |
| Этилацетат                  | 1 кг              | 0,1        | 80                | 8,8                                           |
| Ацетонитрил                 | 1 кг              | 0,1        | 360               | 39,6                                          |
| Гексан                      | 1 л               | 0,15       | 398               | 65,67                                         |
| Ацетон                      | 1 л               | 0,25       | 169               | 46,47                                         |
| Соляная кислота конц.       | 1 л               | 0,1        | 48,2              | 5,302                                         |
| Натрий сернокислый кислый   | 1 кг              | 0,1        | 84                | 9,24                                          |
| Силикагель                  | 2 кг              | 0,2        | 169               | 37,18                                         |
| <b>Итого</b>                |                   |            | <b>3726,7</b>     | <b>1676,962</b>                               |

#### 4.2.4.2 Расчет затрат на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ

В данную статью включают все затраты, связанные с приобретением специального оборудования, необходимого для проведения работ по конкретной теме.

При приобретении спецоборудования необходимо учесть затраты по его доставке и монтажу в размере 15% от его цены. Расчеты по

приобретению спецоборудования и оборудования, имеющегося в организации, но используемого для каждого исполнения конкретной темы, сводятся в таблице 29.

Таблица 29 - Расчет бюджета затрат на приобретение спецоборудования для научных работ.

| № п/п         | Наименование оборудования                                   | Количество единиц оборудования | Цена единицы оборудования, тыс. руб. | Общая стоимость оборудования, тыс. руб. | Сумма амортизационных отчислений, тыс. руб. |
|---------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------|
|               | Исп. 1                                                      | Исп.1                          | Исп.1                                | Исп.1                                   | Исп.1                                       |
| 1.            | Автоклав Tuttnauer TUT-2540МК                               | 1                              | 216,389                              | 216,389                                 | 13,069                                      |
| 2.            | Бокс биологической безопасности 2 класса Streamline SC2-4A1 | 1                              | 169,050                              | 169,050                                 | 8,452                                       |
| 5.            | Аналитические весы CAS CAUX-120                             | 1                              | 103,400                              | 103,400                                 | 5,170                                       |
| 6.            | Спектрофотометр СФ-102                                      | 1                              | 931,531                              | 931,531                                 | 46,576                                      |
| 7.            | Термостат Электрический суховоздушный ТС-1/20 СПУ           | 1                              | 12,537                               | 12,537                                  | 0,626                                       |
| 8.            | Микроскоп бинокулярный Primo star.                          | 1                              | 74,702                               | 74,702                                  | 3,735                                       |
| <b>Итого:</b> |                                                             |                                | <b>1507,609</b>                      | <b>1507,609</b>                         | <b>77,628</b>                               |

#### 4.2.4.3 Основная заработная плата исполнителей темы

Статья включает основную заработную плату работников, непосредственно занятых выполнением НТИ, (включая премии, доплаты) и дополнительную заработную плату:

$$З_{зп} = З_{осн} + З_{доп},$$

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

$Z_{\text{доп}}$  - дополнительная заработная плата (12-20 % от  $Z_{\text{осн}}$ ).

Основная заработная плата рассчитывается по следующей формуле:

$$Z_{\text{осн}} = Z_{\text{дн}} \cdot T_p,$$

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

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

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

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$$Z_{\text{дн}} = \frac{Z_m \cdot M}{F_d},$$

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. (таблица 30).

Таблица 30 - Баланс рабочего времени.

| Показатели рабочего времени                  | Руководитель | Дипломник |
|----------------------------------------------|--------------|-----------|
| Календарное число дней                       | 365          | 365       |
| Количество нерабочих дней                    |              |           |
| - выходные дни                               | 104          | 104       |
| - праздничные дни                            | 14           | 14        |
| Потери рабочего времени                      |              |           |
| - отпуск                                     | 48           | 40        |
| - невыходы по болезни                        | 0            | 2         |
| Действительный годовой фонд рабочего времени | 199          | 205       |

Месячный должностной оклад работника:

$$Z_m = Z_{\text{тс}} \cdot (1 + k_{\text{пр}} + k_d) \cdot k_p,$$

где  $Z_{\text{тс}}$ -заработная плата по тарифной ставке, руб.;

$k_{\text{пр}}$ - премиальный коэффициент;

$k_d$ - коэффициент доплат и надбавок;

$k_p$ - районный коэффициент, равный 1,3 (для Томска).

Тарифная заработная плата  $Z_{тс}$  находится из произведения тарифной ставки работника 1-го разряда  $T_{ci} = 600$  руб. на тарифный коэффициент  $k_t$  и учитывается по единой для бюджетных организации тарифной сетке. Расчёт основной заработной платы приведён в таблице 31.

Таблица 31 - Расчёт основной заработной платы.

| Исполнители                       | $Z_{тс}$ ,<br>руб. | $k_{пр}$ | $k_d$ | $k_p$ | $Z_m$ ,<br>Руб | $Z_{дн}$ ,<br>руб. | $T_p$ ,<br>раб.дн. | $Z_{осн}$ ,<br>руб. |
|-----------------------------------|--------------------|----------|-------|-------|----------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| <b>Руководитель</b>               | 23264,86           | 0,3      | 0,3   | 1,3   | 48390,9        | 2528,97            | 10,2               | 25795,5             |
| <b>Дипломник</b>                  | 1314,35            | 0        | 0,5   | 1,3   | 2562,98        | 131,28             | 71,2               | 9347,14             |
| <b>Итого <math>Z_{осн}</math></b> |                    |          |       |       |                |                    |                    | <b>35142,64</b>     |

#### 4.2.4.4 Дополнительная заработная плата исполнителей темы

Расчет дополнительной заработной платы ведется по следующей формуле:

$$Z_{доп} = k_{доп} \cdot Z_{осн},$$

где  $k_{доп}$ - коэффициент дополнительной заработной платы (примем равным 0,12).

$$Z_{доп} = 0,12 \cdot 35142,64 = 4217,12 \text{ руб.}$$

#### 4.2.4.5 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления)

Величина отчислений во внебюджетные фонды определяется исходя из следующей формулы:

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

где  $k_{внеб}$ - коэффициент отчислений на уплату во внебюджетные фонды, принимается равным 0,271.

На основании пункта 1 ст.58 закона №212-ФЗ для учреждений осуществляющих образовательную и научную деятельность в 2014 году водится пониженная ставка- 27,1%.

Таблица 32 - Отчисления во внебюджетные фонды.

| Исполнитель                                     | Основная<br>заработная плата,<br>руб. | Дополнительная<br>заработная плата,<br>руб. |
|-------------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------|
| Руководитель проекта                            | 25795,5                               | 3095,46                                     |
| Студент-дипломник                               | 9347,14                               | 1121,66                                     |
| Коэффициент отчислений во<br>внебюджетные фонды | 0,271                                 |                                             |
| Итого: 10666,5                                  |                                       |                                             |

#### 4.2.4.6 Накладные расходы

Величина накладных расходов определяется по следующей формуле:

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

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

Величину коэффициента накладных расходов можно взять в размере 16%.

#### 4.2.4.7 Формирование бюджета затрат научно-исследовательского проекта

Таблица 33 - Расчет бюджета затрат НТИ.

| Наименование статьи                                                                             | Сумма, руб. | Примечание    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------|
| 1. Материальные затраты НТИ                                                                     | 1676,962    | Пункт 4.2.4.1 |
| 2. Амортизационные отчисления на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ | 77628       | Пункт 4.2.4.2 |
| 3. Затраты по основной заработной плате исполнителей темы                                       | 35142,64    | Пункт 4.2.4.3 |
| 4. Затраты по дополнительной заработной плате исполнителей темы                                 | 4217,12     | Пункт 4.2.4.4 |

|                                     |            |                       |
|-------------------------------------|------------|-----------------------|
| 5. Отчисления во внебюджетные фонды | 10666,5    | Пункт 4.2.4.5         |
| 6. Накладные расходы                | 129788,4   | 16 % от суммы ст. 1-5 |
| 7. Бюджет затрат НТИ                | 259119,622 | Сумма ст. 1- 6        |

#### **4.3 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:

$$I_{\text{финр}}^{\text{исп.}i} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\text{max}}},$$

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

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

$\Phi_{\text{max}}$  - максимальная стоимость исполнения научно-исследовательского проекта

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

$$I_{pi} = \sum a_i \cdot b_i,$$

где  $I_{pi}$  - интегральный показатель ресурсоэффективности для  $i$ -го варианта исполнения разработки;

$a_i$  - весовой коэффициент  $i$ -го варианта исполнения разработки;

$b_i^a, b_i^p$  - бальная оценка  $i$ -го варианта исполнения разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания;

$n$  - число параметров сравнения[25].

Таблица 34 - Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

| Критерии \ Объект исследования            | Весовой коэффициент параметра | Исп.1 |
|-------------------------------------------|-------------------------------|-------|
| 1. Удобство в эксплуатации                | 0,04                          | 5     |
| 2. Экономичность                          | 0,1                           | 5     |
| 3. Надежность                             | 0,06                          | 5     |
| 4. Безопасность                           | 0,1                           | 5     |
| 5. Экологичность                          | 0,1                           | 5     |
| 6. Функциональная мощность                | 0,05                          | 5     |
| 7. Простота эксплуатации                  | 0,05                          | 5     |
| 8. Возможность внедрения в промышленность | 0,1                           | 4     |
| 9. Конкурентоспособность продукта         | 0,05                          | 5     |
| 10. Уровень проникновения на рынок        | 0,05                          | 3     |
| 11. Цена                                  | 0,1                           | 4     |
| 12. Предполагаемый срок эксплуатации      | 0,05                          | 5     |
| 13. Послепродажное обслуживание           | 0,05                          | 5     |
| 14. Финансирование научной разработки     | 0,1                           | 3     |
| ИТОГО                                     | 1                             | 4,5   |

$I_{p-}$

$исп1 = 0,04*5 + 0,1*5 + 0,06*5 + 0,1*5 + 0,1*5 + 0,05*5 + 0,05*5 + 0,1*4 + 0,05*5 + 0,05*3 + 0,1*4 + 0,05*5 + 0,05*5 + 0,1*3 = 4,5.$

Исходя из полученных расчетов можно говорить о том, что исполнение 1 является наиболее эффективным вариантом решения поставленной в бакалаврской работе технической задачи с позиции финансовой и ресурсной эффективности.

## ВЫВОДЫ

1. В ходе исследования были подобраны три оптимальных состава питательной среды, способной максимально стимулировать продукцию феназин-1-карбоновой кислоты (Кинг В+ кукурузный экстракт, Кинг В+ глицерин и Кинг В+ этиловый спирт).

2. Были рассчитаны выходы продукта, выделенного из среды Кинг В с добавлением различных источников углеродного питания.

3. Продукт был выделен, были подтверждены его структура и чистота.

4. Изучено влияние различных температур на выход феназиновых антибиотиков.

5. Проведен расчет финансового менеджмента, ресурсоэффективности и ресурсосбережения и социальной ответственности. Культивирование на подобранной нами среде рекомендуется проводить без механического перемешивания, что облегчает процесс с технологической точки зрения и делает его экономически выгодным.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

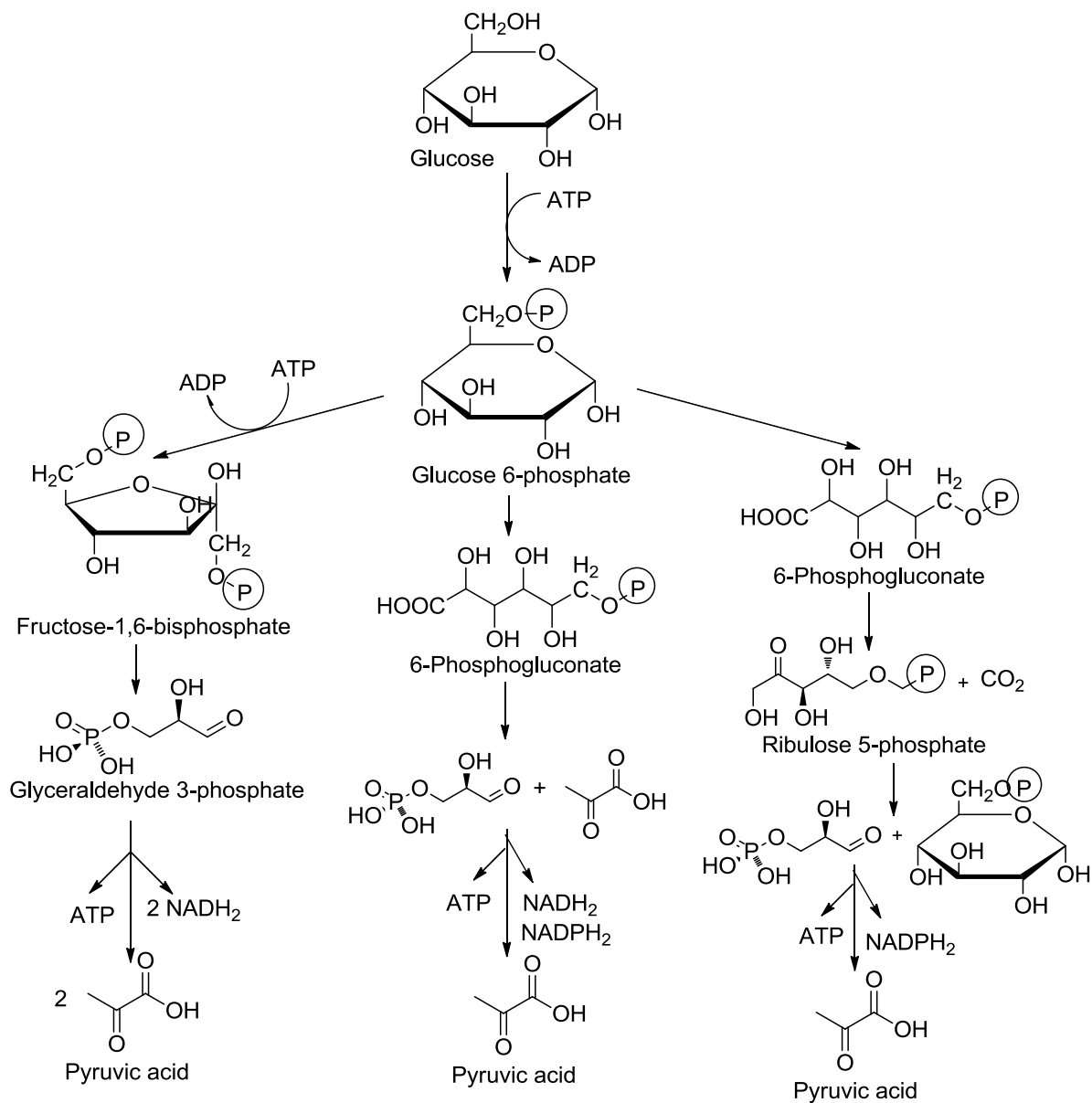
1. Рабина Т.А. – Изучение производных феназина от синегнойной палочки// Всероссийская итоговая 75-я студенческая научная конференция им. Н.И. Пирогова: сборник материалов, Томск, 25-27 Апреля 2016. - Томск: СибГМУ, 2016.

2. Рабина Т.А. - Изучение производных феназина, полученных от синегнойной палочки// Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XVII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулёва: в 2 т., Томск, 17-20 Мая 2016. - Томск: ТПУ, 2016 - Т. 1 - С. 301-302.

# ПРИЛОЖЕНИЯ

## Приложение 1

Рисунок 2 - Схема путей расщепления глюкозы: гликолиз или фруктозодифосфатный путь; КДФГ-путь; пентозофосфатный путь.



## Приложение 2

### Паспорт штамма *Pseudomonas aeruginosa*

13

Москва, 121002  
Сивцев Вражек, 41  
Тел. 241-39-22

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ**  
Государственный научно-исследовательский институт  
стандартизации и контроля медицинских биологических  
препаратов имени Л.А. Тарасевича

---

**Паспорт штамма**

Штамм *Pseudomonas aeruginosa*  
Особое название штамма ATCC 27853

Получен из бак. мат-ла, отн. к штен. В. 42  
Дата получения 28.04.2000 г.  
Выделен \_\_\_\_\_  
Краткая характеристика штамма пр-н.

нигилист +  
спору. зан. +  
окраска +  
хитин. ферм. оксида +/  
фермент +/  
железистая +  
лактоза -  
маннитола -  
сахароза -

Научный сотрудник \_\_\_\_\_  
Отпуск штамма разрешил \_\_\_\_\_  
Зав. лабораторией Гудкова Л.В.  
«28» 04 2000 года

## Приложение 3

(Экспериментальное)

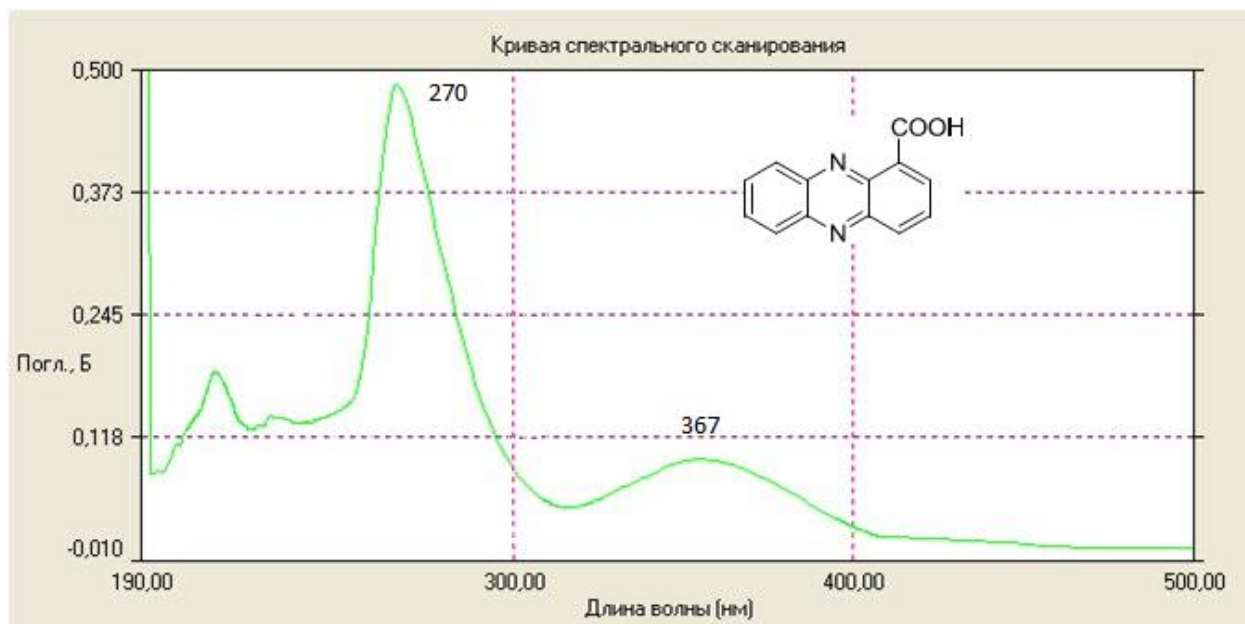


Рисунок 4 – Экспериментальный УФ-спектр РСА, снят в этилацетате.

## Приложение 4

(Справочное)

Таблица 12 - Оптические плотности разведений феназин-1-карбоновой кислоты.

| № опыта | C, ммоль/л | A      |
|---------|------------|--------|
| 1       | 0.064      | 0.1932 |
| 2       | 0.1        | 0.3019 |
| 3       | 0.128      | 0.3864 |
| 4       | 0.150      | 0.4528 |
| 5       | 0.200      | 0.6038 |
| 6       | 0.224      | 0.6769 |

Калибровочный график (Рисунок 4) строили в программе CurveExpert.

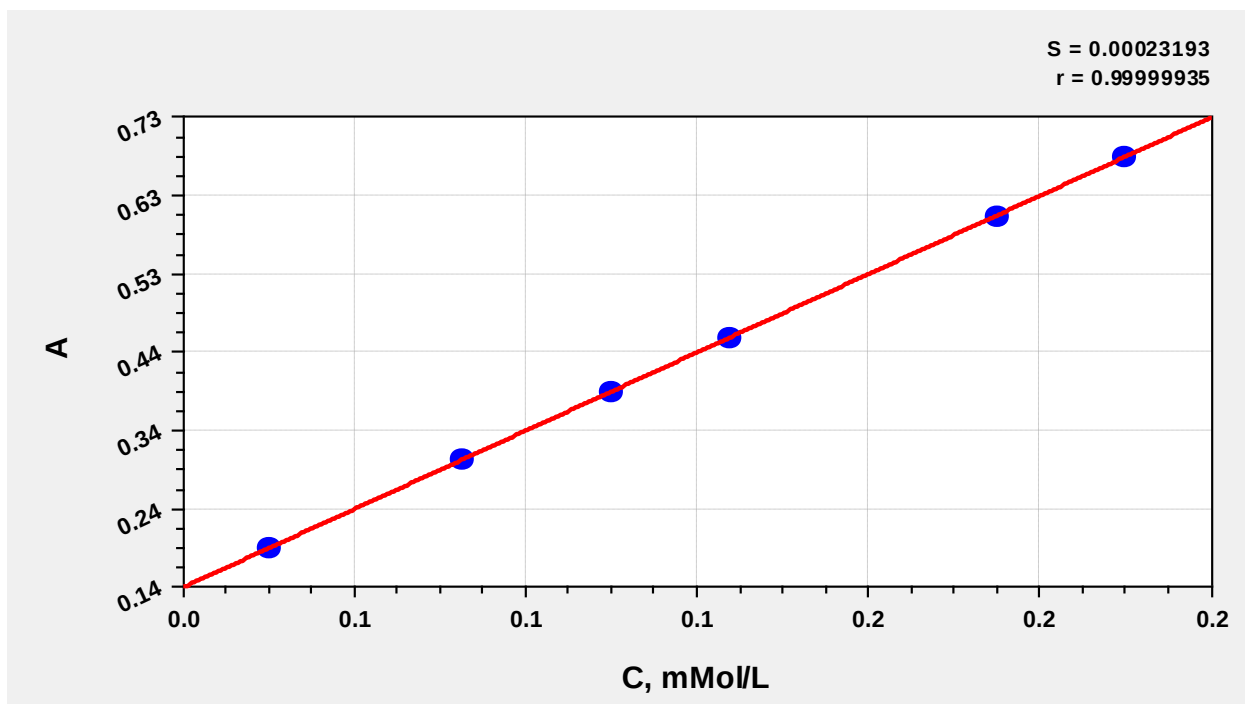


Рисунок 5 - Калибровочный график РСА

Получили уравнение линейной зависимости оптической плотности от концентрации, с помощью которого можно определить концентрацию исследуемого раствора:

$y = a + bx$ , где  $y$  - оптическая плотность,  $a = -0.0003288$ ,  $b = 3.0219$ ,  $x$  - концентрация.

## Приложение 5

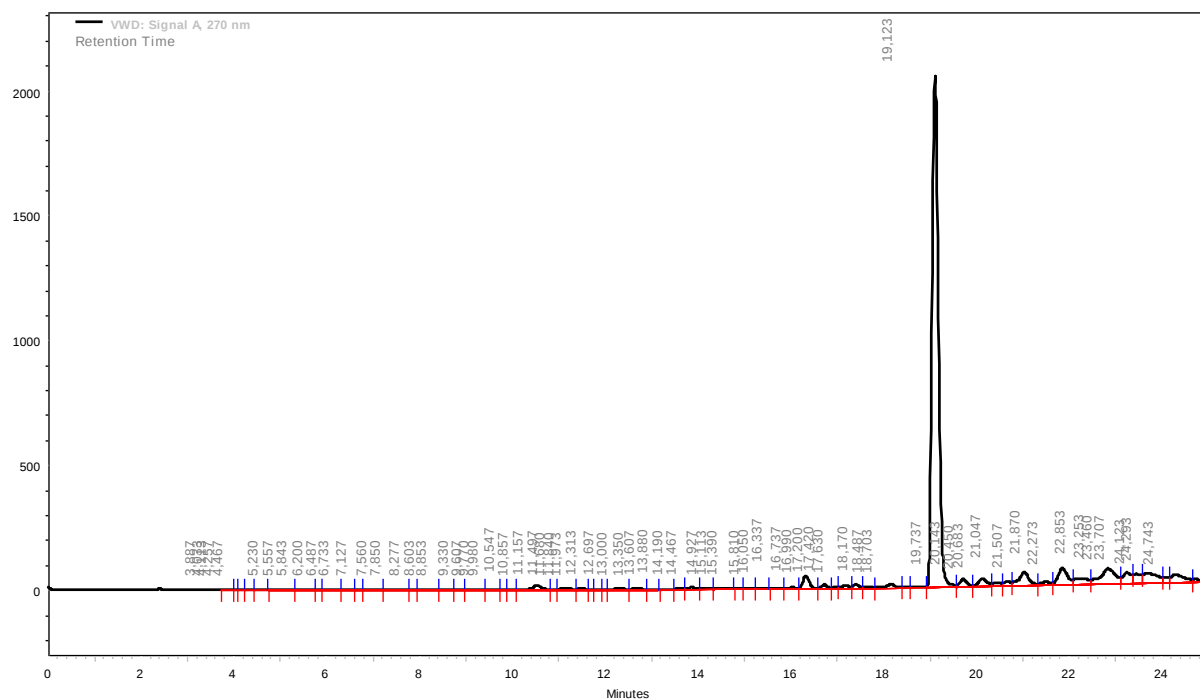
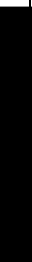


Рисунок 6 - Экспериментальный спектр ВЭЖХ феназин-1-карбоновой кислоты. Спектр снят в водном растворе ацетонитрила.

## Приложение 6

Таблица 27-Календарный план-график проведения НИОКР.

| № работ | Вид работ                                               | Исполнители            | T <sub>ki</sub> ,<br>кал.<br>дн. | Продолжительность выполнения работ                                                  |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |        |                                                                                       |                                                                                       |     |   |   |      |   |
|---------|---------------------------------------------------------|------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|--------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|---|---|------|---|
|         |                                                         |                        |                                  | февр.                                                                               | март                                                                                |                                                                                      |                                                                                       | апрель |                                                                                       |                                                                                       | май |   |   | июнь |   |
|         |                                                         |                        |                                  |                                                                                     | 3                                                                                   | 1                                                                                    | 2                                                                                     | 3      | 1                                                                                     | 2                                                                                     | 3   | 1 | 2 |      | 3 |
| 1       | Составление ТЗ                                          | Руководитель           | 0,85                             |    |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |        |                                                                                       |                                                                                       |     |   |   |      |   |
| 2       | Изучение литературы                                     | Бакалавр (дипломник)   | 3,06                             |    |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |        |                                                                                       |                                                                                       |     |   |   |      |   |
| 3       | Патентный поиск                                         | Бакалавр (дипломник)   | 0,85                             |    |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |        |                                                                                       |                                                                                       |     |   |   |      |   |
| 4       | Выбор напр. исслед.                                     | Руководитель, бакалавр | 0,24                             |   |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |        |                                                                                       |                                                                                       |     |   |   |      |   |
| 5       | Календар. планирование                                  | Руководитель, бакалавр | 0,28                             |  |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |        |                                                                                       |                                                                                       |     |   |   |      |   |
| 6       | Проведение теоретических расчетов и обоснований         | Бакалавр (дипломник)   | 2,32                             |                                                                                     |  |                                                                                      |                                                                                       |        |                                                                                       |                                                                                       |     |   |   |      |   |
| 7       | Построение макетов (моделей) и проведение экспериментов | Бакалавр, (дипломник)  | 9,2                              |                                                                                     |  |                                                                                      |                                                                                       |        |                                                                                       |                                                                                       |     |   |   |      |   |
| 8       | Подготовка накопительной культуры продуцента и сред     | Бакалавр               | 3,32                             |                                                                                     |                                                                                     |   |  |        |  |  |     |   |   |      |   |
| 9       | Внесение накопительной культуры в питат. среды          | Бакалавр               | 2,76                             |                                                                                     |                                                                                     |  |  |        |  |  |     |   |   |      |   |



|    |                                                                                                       |                             |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
|    | производства<br>и<br>применения<br>проектируем<br>ого изделия                                         |                             |      |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 20 | Составление<br>пояснительн<br>ой записки<br>(эксплуатаци<br>онно-<br>технической<br>документаци<br>и) | Бакалавр<br>(дипломн<br>ик) | 8,47 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |