

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

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

Тема работы
Исследование влияния солей лития на жизнеспособность бактерий <i>Rhodococcus ruber</i>
УДК 579.87:546.34-032.63

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д6Б	Боломатова Анастасия Викторовна		

Руководитель ВКР

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

КОНСУЛЬТАНТЫ ПО РАЗДЕЛАМ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОСГН	Якимова Татьяна Борисовна	к.э.н		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент ООД	Сечин Андрей Александрович	к.т.н		

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

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

ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ ПО ООП

Код результата	Результат обучения (выпускник должен быть готов)	Требования ФГОС ВПО, критериев и/или заинтересованных сторон
<i>Профессиональные компетенции</i>		
Р1	Применять базовые и специальные, математические, естественнонаучные, социально-экономические и профессиональные знания в профессиональной деятельности	Требования ФГОС ВО (ОПК -1, 2, 3) Критерий 5 АИОР (п.1.1), СДИО(п. 1.1, 4.1, 4.3, 4.8)
Р2	Применять знания в области современных химических технологий для решения производственных задач	Требования ФГОС ВО (ПК-1, 4,18), Критерий 5 АИОР (пп.1.1,1.2), СДИО (п. 1.1, 3.2, 4.2, 4.3, 4.5, 4.6)
Р3	Ставить и решать задачи производственного анализа, связанные с созданием и переработкой материалов с использованием моделирования объектов и процессов химической технологии	Требования ФГОС ВО (ПК-1, 2, 4, 16 ОПК-2,3), Критерий 5 АИОР (пп.1.2), СДИО (1.2, 2.1, 4.5)
Р4	Разрабатывать <i>новые</i> технологические процессы, проектировать и использовать новое оборудование химической технологии, <i>проектировать объекты химической технологии в контексте предприятия, общества и окружающей среды</i>	Требования ФГОС ВО (ПК-4, 5, 11), Критерий 5 АИОР (п.1.3), СДИО (п.1.3, 4.4, 4.7)
Р5	Проводить теоретические и экспериментальные исследования в области современных химических технологий	Требования ФГОС ВО (ПК-10, 16), Критерий 5 АИОР (п.1.4), СДИО (п. 2.2)
Р6	Внедрять, эксплуатировать и обслуживать современное высокотехнологичное оборудование, обеспечивать его высокую эффективность, <i>выводить на рынок новые материалы</i> , соблюдать правила охраны здоровья и безопасности труда на химико-технологическом производстве, выполнять требования по защите окружающей среды.	Требования ФГОС ВО (ПК-6,10,12,13,14,15, ОПК-6), Критерий 5 АИОР (п.1.5) СДИО (п. 4.1, 4.7, 4.8, 3.1, 4.6)

<i>Общекультурные компетенции</i>		
P7	Демонстрировать знания социальных, этических и культурных аспектов профессиональной деятельности.	Требования ФГОС ВО (ОК-1,2,3,4,6,7), Критерий 5 АИОР (пп.2.4,2.5), CDIO (п. 2.5)
P8	Самостоятельно учиться и непрерывно повышать квалификацию в течение всего периода профессиональной деятельности.	Требования ФГОС ВО (ОК-7), Критерий 5 АИОР (2.6), CDIO (п. 2.4)
P9	<i>Активно владеть иностранным языком</i> на уровне, позволяющем разрабатывать документацию, презентовать результаты профессиональной деятельности.	Требования ФГОС ВО (ОК-5, ПК-20) , Критерий 5 АИОР (п.2.2), CDIO (п. 3.2, 3.3)
P10	Эффективно работать индивидуально и в коллективе, <i>демонстрировать лидерство в инженерной деятельности и инженерном предпринимательстве</i> , ответственность за результаты работы и готовность следовать корпоративной культуре организации.	Требования ФГОС ВО (ОК-6, 7, ПК-14) , Критерий 5 АИОР (пп.1.6, 2.3) CDIO (п. 4.7, 4.8, 3.1)

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

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

УТВЕРЖДАЮ:
 Руководитель ООП
 _____ Михеева Е.В.
 (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
2Д6Б	Боломатовой Анастасии Викторовне

Тема работы:

Исследование влияния солей лития на жизнеспособность бактерий <i>Rhodococcus ruber</i>	
Утверждена приказом директора (дата, номер)	Приказ №62-47/с от 02.03.2020

Срок сдачи студентом выполненной работы:	04.06.2020
------------------------------------------	------------

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

<p>Исходные данные к работе</p> <p><i>(наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к особенностям функционирования (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.).</i></p>	<p>Объект исследования: бактерии рода <i>Rhodococcus ruber</i>, соли лития: пируват, аскорбат, сукцинат.</p> <p>Предмет исследования: действие солей лития на рост и жизнеспособность бактерий.</p> <p>Провести исследование токсичности солей лития на бактерии <i>Rhodococcus ruber</i>, провести исследование жизнеспособности бактерий на мясопептонном бульоне в присутствии органических солей лития: пируват, аскорбат, сукцинат. Рассчитать основные</p>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

	кинетические параметры жизнеспособности бактерий.
Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов <i>(аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).</i>	Литературный обзор по тематике научноисследовательской работы. Проведение комплекса экспериментов для достижения цели исследования. Анализ и обсуждение результатов проведенной работы. Анализ экономической эффективности и ресурсоэффективности проекта. Анализ рисков и опасностей проведения исследования и составления перечня нормативов для их регулирования. Формулировка выводов и заключений по работе.
Перечень графического материала <i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i>	
Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы <i>(с указанием разделов)</i>	
Раздел	Консультант
Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	Якимова Татьяна Борисовна
Социальная ответственность	Сечин Андрей Александрович
Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:	

Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику	16.09.2019
-------------------------------------------------------------------------------------------------	------------

Задание выдал руководитель:

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

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д6Б	Боломатова Анастасия Викторовна		

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

Студенту:

Группа	ФИО
2Д6Б	Боломатовой Анастасии Викторовне

Школа	ИШПР	Отделение школы (НОЦ)	Химическая инженерия
Уровень образования	бакалавриат	Направление/специальность	18.03.01 Химическая технология

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

1. <i>Стоимость ресурсов исследования: материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих</i>	Стоимость материальных ресурсов, согласно применяемой техники и технологии, в соответствии с рыночными ценами. Оклады в соответствии с окладами сотрудников «НИ ТПУ»
2. <i>Нормы и нормативы расходования ресурсов</i>	- районный коэффициент- 1,3; - накладные расходы – 16%; - норма амортизации – 10%.
3. <i>Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования</i>	В соответствии с налоговым кодексом Российской Федерации. Отчисления во внебюджетные фонды – 30,2 %

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

1. <i>Оценка коммерческого потенциала, перспективности и альтернатив проведения НИ с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения</i>	Анализ конкурентных технических решений, оценка готовности проекта к коммерциализации, анализ внутренней и внешней среды проекта (составление SWOT-анализа)
2. <i>Планирование и формирование бюджета научных исследований</i>	Определение этапов работ; определение трудоемкости работ; разработка графика Ганта. Определение затрат на проектирование (смета затрат)
3. <i>Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования</i>	Расчет сравнительной эффективности проекта

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):

1. Оценка конкурентоспособности технических решений
2. Матрица SWOT
3. Календарный план график проведения работ
4. Оценка ресурсной, финансовой и экономической эффективности исследования

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	10.04.2020
-------------------------------------------------------------	------------

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОСГН	Якимова Татьяна Борисовна	К.Э.Н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д6Б	Боломатова Анастасия Викторовна		

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»

Студенту:

Группа	ФИО
2Д6Б	Боломатовой Анастасии Викторовне

Школа	Отделение (НОЦ)	Направление/специальность	18.03.01 Химическая технология
Уровень образования	бакалавриат		

Тема ВКР:

Исследование влияния солей лития на жизнеспособность бактерий <i>Rhodococcus ruber</i>	
Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:	
<p>1. Характеристика объекта исследования (вещество, материал, прибор, алгоритм, методика, рабочая зона) и области его применения</p>	<p>Объектом исследования являются бактерии вида <i>Rhodococcus ruber</i>. Рабочая зона – научно-исследовательская микробиологическая лаборатория ОХИ НИ ТПУ. Область применения результатов исследования – биотехнология.</p>
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
<p>1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности:</p> <ul style="list-style-type: none"> – специальные (характерные при эксплуатации объекта исследования, проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства; – организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны. 	<ul style="list-style-type: none"> - "Трудовой кодекс Российской Федерации" от 30.12.2001 N 197-ФЗ (ред. от 01.04.2019) - ГОСТ 12.1.008-76 ССБТ. Биологическая безопасность. Общие требования. - ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности - ГОСТ 12.2.032-78 ССБТ. Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические требования. Так как большая часть времени, проведенного в лаборатории, затрачивается на работу сидя, то рабочая зона обустраивается в соответствии с ГОСТ 12.2.032-78
<p>2. Производственная безопасность:</p> <p>2.1. Анализ выявленных вредных и опасных факторов</p> <p>2.2. Обоснование мероприятий по снижению воздействия</p>	<p>Работник подвержен воздействию следующих вредных и опасных факторов:</p> <ul style="list-style-type: none"> - несоответствующие нормативам параметры микроклимата; - ультрафиолетовое излучение; - наличие оборудования с горячими поверхностями; - оборудование под давлением; - химические реактивы 2 и 4 классов опасности; - легковоспламеняющиеся жидкости; - микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности.
<p>3. Экологическая безопасность:</p>	<ul style="list-style-type: none"> - На атмосферу оказывают влияние вещества, способные попадать в воздух через вентиляцию лаборатории; - Для гидросферы представляют опасность жидкие органические, неорганические и биологические отходы; - Основной угрозой для литосферы являются твердые отходы, содержащие

	биологический материал и опасные вещества.
4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях:	Потенциальными ЧС являются пожар, взрыв, а также загрязнение химическими веществами.

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	15.04.2020
-------------------------------------------------------------	------------

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент ООД	Сечин Андрей Александрович	к.т.н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д6Б	Боломатова Анастасия Викторовна		

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа включает 89 страниц, 9 рисунков, 25 таблиц, 67 источников литературы, 0 приложений.

Ключевые слова: соли лития, *Rhodococcus ruber*, стимуляторы роста, ингибиторы роста.

Объект исследования: бактерии вида *Rhodococcus ruber*, а также соли лития: аскорбат, пируват и сукцинат.

Цель работы: исследовать влияние солей лития на жизнеспособность бактерий *Rhodococcus ruber*.

В ходе исследовательской работы изучалась токсичность солей лития на бактерии *Rhodococcus ruber*, изучалось влияние органических солей лития на жизнеспособность бактерий на мясопептонном бульоне и рассчитывались основные кинетические параметры жизнеспособности бактерий.

Жизнеспособность бактерий исследовалась методом прямого посева (метод Коха) и спектрофотометрическим методом (определение плотности бактериальной суспензии).

В результате исследования установлено, что действие органических солей лития определяется концентрацией исследуемой соли.

Область применения: результаты работы могут быть применены в дальнейших микробиологических исследованиях, биотехнологических процессах и в медицине.

Бакалаврская работа выполнена в Отделении химической инженерии НИ ТПУ.

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

Выполнил: студент группы 2Д6Б А.В. Боломатова.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ, СОКРАЩЕНИЯ, НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей работе применяются следующие термины с соответствующими определениями:

культивирование микроорганизмов – выращивание микроорганизмов в искусственных условиях *in vitro*

В настоящей работе применяются следующие сокращения и обозначения:

МПБ – мясопептонный бульон

МПА – мясопептонный агар

ВКР - выпускная квалификационная работа

R. ruber – бактерии *Rhodococcus ruber*

КОЕ - колониеобразующая единицы

ЭЧ – экономическая часть

СО – раздел работы «Социальная ответственность»

ЧС – чрезвычайная ситуация

В данной выпускной квалификационной работе используются ссылки на настоящие стандарты:

ГОСТ 13805-76. Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей. Технические условия;

ГОСТ 17206-96. Агар микробиологический. Технические условия;

ГОСТ 4204-77. Реактивы. Кислота серная. Технические условия;

ГОСТ 4108-72. Реактивы. Барий хлорид 2-водный. Технические условия;

ГОСТ 17299-78. Спирт этиловый технический. Технические условия.

ГОСТ 10929-76. Реактивы. Водорода пероксид. Технические условия.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	12
1 Обзор литературы	17
1.1 Применение солей лития в медицине и ветеринарии	17
1.2 Влияние лития на клетки микроорганизмов	19
1.3 Питание микроорганизмов	22
1.4 Требования к питательным веществам	23
1.5 Влияние физико-химических факторов на микроорганизмы	25
1.6 Характеристика бактерий <i>Rhodococcus ruber</i>	27
2 Экспериментальная часть	33
2.1 Объекты исследования	33
2.2 Приготовление питательных сред и растворов	34
2.2.1 Приготовление мясопептонного агара	34
2.2.2 Приготовление мясопептонного бульона	35
2.2.3 Стандарты мутности McFarland	35
2.2.4 Приготовление 1% раствора серной кислоты	36
2.2.5 Приготовление 1,175 % раствора хлорида бария 2-водного	36
2.2.6 Приготовление стерильной воды	36
2.3. Методика исследования влияния солей на рост бактерий по методу Коха	37
2.4 Кинетические параметры микробного роста	38
3 Обсуждение результатов	40
3.1 Исследование токсичности солей лития методом дисков	40
3.2. Исследование влияние аскорбата лития на жизнеспособность бактерий <i>Rhodococcus ruber</i> по методу Коха	42
3.3 Построение кривых роста	44
3.3.1 Расчет кинетических параметров роста бактерий	46

3.4. Исследование влияние пирувата и сукцината лития на жизнеспособность бактерий <i>Rhodococcus ruber</i> спектрофотометрическим методом	47
Заключение	49
4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение ...	51
Введение	51
4.1 Анализ конкурентных технических решений	51
4.2 SWOT-анализ	53
4.3 Планирование исследовательских работ	56
4.3.1 Структура работ в рамках исследования	56
4.3.2 Определение трудоемкости выполнения работ	57
4.3.3 Разработка графика проведения исследования	58
4.4 Бюджет исследования	60
4.4.1 Расчет материальных затрат	60
4.4.2 Расчет затрат на оборудование	61
4.4.3 Расчет основной заработной платы	62
4.4.4 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления)	64
4.4.5 Накладные расходы	65
4.4.6 Формирование бюджета затрат	65
4.5 Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования	66
Заключение	68
5 Социальная ответственность	69
Введение	69
5.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности	70
5.1.1 Специальные правовые нормы трудового законодательства	70

5.1.2 Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны	70
5.2 Производственная безопасность	71
5.3 Экологическая безопасность	76
5.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях.....	77
Заключение	79
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	80
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СТУДЕНТА.....	81
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	82

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время литий и его соединения нашли широкое применение в разных областях науки и техники: в производстве термоэлектрических материалов, пиротехники, изготовлении сплавов для различных сфер производства, металлургической отрасли, медицине и т.д. Среди этих сфер применения особое положение занимает медицина. В психиатрии соли лития используют в терапии маниакальных и гипоманиакальных состояний. Исследования последних лет демонстрируют обширный диапазон биологической активности органических и неорганических соединений лития в отношении эукариотической клетки в клинической практике.

В литературе по микробиологии представлены исследования по влиянию неорганических солей лития на бактериальную клетку и показаны эффекты катиона лития в отношении бактерий. На настоящий момент описан в основном ингибирующий эффект фторидов и хлоридов лития преимущественно на бактериальную клетку (*E. Coli*), однако эта область значительно шире и остается недостаточно изученной. С другой стороны, в настоящее время наблюдается динамика развития биомедицины и биотехнологии, поэтому существует необходимость в подробном изучении новых цитопротекторов для бактерий, которые будут являться продуцентами новых биологически активных веществ. Поскольку механизм действия иона лития является до конца неизученным, то проведение исследования в этом направлении являются актуальным.

Цель работы: изучить влияние органических солей лития на жизнеспособность бактерий *Rhodococcus ruber*.

Задачи:

–Исследовать токсичность солей лития на бактерии *Rhodococcus ruber* методом дисков;

– Исследовать жизнеспособность бактерий на мясопептонном бульоне в присутствии органических солей лития: аскорбат, сукцинат, пируват;

–Рассчитать основные кинетические параметры жизнеспособности бактерий.

Объектом исследования являлись углеводородокисляющие бактерии вида *Rhodococcus ruber* (далее – *R. ruber*). В качестве солей лития были выбраны пируват, аскорбат и сукцинат.

Предмет исследования – исследование влияния солей лития на жизнеспособность и рост исследуемых бактерий.

Научная новизна работы формулируется следующими тезисами:

– во-первых, впервые провели исследования влияния соединений лития на бактерий рода *Rhodococcus*;

– в-четвертых, в работе исследовано влияние органических солей лития в малых концентрациях (<25 мМ).

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

Основные результаты работы публиковались в рамках следующих мероприятий:

XXI Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» имени профессора Л.П. Кулёва, 2020.

1 Обзор литературы

1.1 Применение солей лития в медицине и ветеринарии

Диапазон фармакологических и биохимических эффектов лития, даже при низких концентрациях, огромен, и это вызывает особое внимание: литий является необходимым элементом для живых организмов, но при высоких концентрациях проявляет высокую токсичность [1]. Но несмотря на крайний факт, соединения данного элемента нашли широкое применение в различных областях, которые продолжают изучаться по сей день.

Фармакологические препараты на основе солей лития находят широкое применение в лечении многих заболеваний на протяжении многих лет. В настоящее время проводится большое количество исследований по солям лития, но многие механизмы его действия, а также области применения остаются до конца неизученными.

История терапевтического применения лития в медицине насчитывает более 120 лет. Литий начали применять при лечении подагры у людей, во второй половине XIX века, используя его свойства образовывать водорастворимые соли мочевой кислоты [2]. Кроме того, в литературных источниках имеются данные об идентичности обмена мочевой кислоты у человека и кур [3].

Препараты лития являются психотропными лекарственными средствами из группы нормотимиков. Первые препараты данной группы были открыты в 1949 году, и они по-прежнему сохраняют важное значение в лечении аффективных расстройств, в особенности фаз биполярного расстройства и в профилактических целях его обострений, а также для лечения тяжёлых и резистентных депрессий, поскольку они могут купировать симптомы суицидального синдрома [4]. Отравление литием психиатрической области часто имеет ятрогенную природу [5]. Некоторые соединения лития находят применение в медицине в качестве катализаторов для создания лекарств [4].

В качестве особой актуальности применения лития в психиатрии является сравнительно недавнее обнаружение у него специфической антисуицидальной активности [6].

Механизмы антиманиакального, антидепрессивного и профилактического нормотимического действия лития чрезвычайно сложны, многообразны и до конца являются неизученными на сегодняшний день [6].

В последние годы появляются перспективные направления применения солей лития, в других областях, одним из важных направлений исследований является изучение влияния лития на сердечно-сосудистую систему в различных состояниях. Известны исследования, в которых соли лития выполняли защитное действие на снижение объема инфаркта и неврологического дефицита [7, 8]. Рассматриваются возможности использования соединений лития в обработке стволовых клеток, лечения депрессии, для терапии болезни Альцгеймера и Паркинсона, в регуляции иммунных реакций и т.д.

Показано, что ионы лития препятствуют фрагментации митохондрий и вызывают снижение окислительного стресса в ткани почек [9].

Препараты лития давно привлекают внимание специалистов в области ветеринарии, благодаря перспективным разработкам в медицине и биологии. Возможность использования неорганических солей лития, таких как карбонат, сульфат, хлорид, для коррекции технологического стресса у птиц была изучена ранее. [10, 12].

Иммунизация цыплят на фоне использования солей лития: карбонат, сульфат, цитрат, сукцинат, приводит к снижению активности эндогенного фермента АлТ, что свидетельствует о угнетении функции гепатоцитов. Использование цитрата, сульфата и сукцината лития способствует значительному увеличению концентрации мочевой кислоты, что, очевидно, связано с нарушением функции почечной экскреции. [12].

Применение аскорбата лития оказывает положительное влияние на рост, развитие и на убойные качества цыплят [13].

Введение хлорида лития, на модели острой почечной недостаточности у крыс, вызывало снижение смертности, а также мочевины в крови, улучшалась функция коры почки, а также оказывало противовоспалительное действие [14,15].

1.2 Влияние лития на клетки микроорганизмов

Несмотря на то, что соли лития нашли широкое применение в области медицины, а также хорошо изучены его функции и механизмы действия в организме человека и животных, влияние лития на бактериологическую клетку мало изучено, а также данные о воздействии лития на микроорганизмы являются ограниченными.

Эффекты лития изучались на различных культурах микроорганизмов. Первые исследования были проведены еще в начале XX века, в работе [16] сообщается о чувствительности к Li дрожжей, принадлежащих к разным родам, а также о биологическом воздействии этого катиона на некоторые чувствительные штаммы. Широкий диапазон толерантности к Li был обнаружен у 12 различных дрожжей.

При малых концентрациях (десятки ммоль/дм³) эффект лития определяется источником углерода. Ингибирующий эффект был замечен при использовании в качестве источников углерода галактозы, глюкозы, фруктозы и глицерина, но эффект не был выявлен при использовании для этой цели смеси аминокислот или лактата [17]. Авторы данного исследования предположили, что Li⁺ ингибирует одну или несколько стадий гликолиза. Дальнейшие исследования показали, что пируваткиназа являлась “мишенью” ингибирующего эффекта. Пируваткиназа является ферментом, участвующим в последней реакции аэробного гликолиза, переносе фосфорильного остатка от фосфоенолпирувата (ФЕП) на АДФ [18]. Пируват является продуктом этой реакции, который участвует в других метаболических путях и АТФ и является главным источником энергии для реакций биосинтеза. Замедление гликолиза

отрицательно сказывается на росте культуры, если он является единственным источником энергии в клетке. Процесс ингибирования литием ферментов гликолиза было показано вне эксперимента на бактериях, следовательно, можно предположить, что механизм отрицательного воздействия на культуры в этом случае связан именно с этим ионом.

Ингибирующий эффект лития не зависит от типа субстрата при больших концентрациях (сотни ммоль/дм³) [19], это указывает на возможное ингибирование других метаболических путей.

Ингибирующий эффект хлорида лития выявлен и в работе с использованием бактерий *Listeria spp* [20]. В работе [21] изучалось влияние Li⁺ на бактерий *Bacillus thuringiensis*, было выявлено, что он при концентрации 0,1-4 ммоль/л стимулировал выработку споруляции, а при концентрации 12-16 ммоль/л проявлял ингибирующее действие. Влияние *in vitro* лития (Li) на рост и адгезию *Streptococcus mutans 6715* в присутствии и в отсутствие сахарозы было показано в работе [22]. В анализе без сахарозы рост бактерий был подавлен, и адгезия была повышена между концентрациями 1,44-11,52 ммоль /дм³ лития. Использование 11,52-28,08 ммоль / дм³ Li привело к идеальной отрицательной корреляции между увеличивающимися концентрациями Li и ростом, и адгезией бактерий. Авторами работы [23] по результатам исследования бактерий *Acinetobacter calcoaceticus* был выявлен ингибирующий эффект органических солей лития. В стрессовых условиях пируват лития оказал стимулирующий эффект, аскорбиновая кислота проявила ингибирующий эффект, который связан с возможным прооксидатным эффектом аниона.

Также важным вопросом является транспорт иона лития в клетки бактерий. Ранее считалось, что литий способен проникать в клетку с помощью двух транспортных систем: системы транспорта пролина и системы транспорта мелибиозы. При использовании высоких концентраций лития также возможна его диффузия через мембрану. Было изучено влияние одновалентных катионов на транспорт пролина в цельных клетках *Escherichia coli K-12*. Ион лития, добавленный в поглощающую среду, стимулировал транспорт пролина в

несколько раз [24]. Li^+ стимулировал поглощение тиометилгалактозида системой переноса мелибиозы *Escherichia coli*. С другой стороны, Li^+ ингибировал рост клеток на мелибиозе как единственном источнике углерода [25]. В исследование [19] ингибирующий эффект проявлялся в отсутствии мелибиозы или пролина, авторы сделали вывод, что могут быть возможны другие системы транспорта лития в клетку. Для выведения избыточного количества лития клетки используют два антипортера ионов Na^+ (Li^+) / H^+ (система NhaA и система NhaB). Считается, что литий выводится из клетки теми же системами, что и натрий.

Также определенный интерес представляют исследования взаимодействия с клетками бактерий веществ, которые проявляют антимикробную активность, в присутствии ионов лития.

В работе [26] был выявлен синергический эффект фторида лития при применении антибиотиков. Были исследованы бактерии видов *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, и *S. pneumoniae*. Была оценена активность следующих антибиотиков: цефтазидим, сульфаметоксазол-триметоприм, стрептомицин, эритромицин, амоксициллин, ципрофлоксацин. Авторами было обнаружено, что присутствие фторида лития в концентрации 8 мг/л способствует снижению минимальной ингибирующей концентрации (МИС) в 2-16 раз в зависимости от антибиотика и вида бактерий. Полученные результаты объясняются бактериостатическим действием фторид-иона, а также наличием иона лития, который способен при определенных условиях ингибировать ферменты метаболизма.

В исследовании [27] присутствие в среде лития снижало антимикробную активность хитозана в отношении *Listeria innocula* и *E. coli*. В ходе экспериментов на мышах авторами работы [28] было установлено, что концентрация 0,33 мМ хлорида лития показала высокую эффективность против *Klebsiella pneumoniae*. В экспериментах *in vitro* концентрации хлорида лития 0,005 – 1 мМ вызывали изменение фенотипа бактерии, тем самым увеличивая ее восприимчивость к атакам макрофагов.

Кроме того, присутствие в среде ионов лития способно стимулировать биосинтез ряда веществ. Например, в работе [29] катион лития стимулировал образование биофлокулянта бактериями *Cobetia sp.*

Таким образом, учитывая вышеприведенные сведения, можно сделать вывод о чрезвычайном разнообразии эффектов, которые способен проявлять литий в отношении бактериальной клетки.

Исследования показывают многообразие эффектов, а, следовательно, и потенциальных сфер применения соединений данного элемента. Однако в опубликованных работах часто используются модельные среды, содержащие один источник углерода, тогда как в реальных условиях использования микроорганизмов используются многокомпонентные составы. В ряде исследований не рассматривается действие концентраций лития порядка единиц и десятков ммоль/дм³. На сегодняшний день, имеется одна опубликованная работа по изучению влияния ионов лития, входящих в состав органических солей, в сочетании с эффектами анионов. Следовательно, исследования по данной теме являются актуальными, которые бы раскрывали природу воздействия иона лития на бактериологические клетки.

1.3 Питание микроорганизмов

Микроорганизмы нуждаются в постоянном поступлении питательных веществ извне. Эти соединения используются как источники энергии или как «строительный материал». Микроорганизмы по природе голофиты – для питания они используют соединения, распределенные в окружающей среде в виде небольших молекул. Вода и растворенные в ней вещества транспортируются через клеточную стенку, капсулу и цитоплазматическую мембрану. В ряде случаев бактерии не способны поглотить некоторые полимеры из-за большого размера последних, поэтому эти молекулы расщепляются вне клетки с помощью специальных веществ, экскретируемых клеткой и называемых экзоферментами [30]. Питательные вещества попадают в клетку

пассивной диффузией, облегченной диффузией, активным транспортом и переносом групп (радикалов) [31]. Пассивная и облегченная диффузии ответственны только за транспорт веществ, но не за их накопление. Посредством пассивной диффузии, то есть под действием разности концентраций или электрических потенциалов в клетку поступает вода, кислород и некоторые ионы по обе стороны мембраны. Движущей силой облегченной диффузии является разность концентраций вещества (чаще всего растворенных веществ) внутри и снаружи клетки. В таком процессе участвуют специальные молекулы-переносчики, которые связывают целевую молекулу. Комплекс переносчик-субстрат диффундирует через мембрану и подвергается диссоциации на внутренней поверхности. После этого переносчик диффундирует обратно. При этом не требуется затрат энергии, потому как транспорт происходит по градиенту концентраций.

Активный транспорт обеспечивается за счет наличия и функционирования транспортных белков, которые встроены в мембрану. В данном случае растворенные вещества переносятся против градиента концентраций. Источниками энергии служат аденозинтрифосфат, протонный потенциал и фосфоенолпируват. Сахара могут переносить в клетку посредством фосфотрансферазной системы переноса групп. При этом происходит химическая модификация субстрата, что облегчает его перенос внутрь клетки.

Сахара у многих микроорганизмов транспортируются в клетку при помощи фосфотрансферазной системы переноса групп (радикалов). Отличием данного процесса от активного транспорта является то, что субстрат попадает в бактериальную клетку в химически модифицированной форме (чаще всего в виде фосфатного эфира) [31].

1.4 Требования к питательным веществам

Для роста и осуществления процессов жизнедеятельности микроорганизмам необходим набор веществ, соответствующий составу клетки и

метаболическим процессам, протекающим в ней. Основная часть микробной клетки – вода (80-90% от общей массы клетки). В таблице 1 показан элементный состав сухого вещества клетки.

Таблица 1 - Элементный состав сухого вещества клетки [31]

Элемент	Содержание, % масс.
C	50
O	20
N	14
H	8
P	3
S	1
K	1
Na	1
Ca	0,5
Mg	0,5
Cl	0,5
Fe	0,2
Другие	0,3

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

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

Микроэлементы необходимы клетке в микромолярных количествах, к ним относятся ионы меди, хрома, кобальта, марганца, молибдена, ванадия, никеля,

вольфрама, цинка, селена. Эти ионы также чаще присутствуют в клетке в связанном состоянии [32].

1.5 Влияние физико-химических факторов на микроорганизмы

Микроорганизмы характеризуются повсеместным распространением, что вынуждает клетки приспосабливаться к большому количеству факторов и их вариаций. В результате вырабатываются специфические механизмы защиты. Рост бактерий определяется большим количеством факторов, основные из которых это температура, активность воды, показатель рН, гидростатическое давление, радиация и наличие и концентрация кислорода [32].

1) Температура. Жизнеспособность организмов возможна при наличии жидкой воды. Однако при различных давлениях микроорганизмы могут существовать при температурах значительно ниже 0 °С и значительно выше +100 °С. Нижний температурный порог ограничен температурой, при которой мембрана теряет свои функции, а верхний – денатурацией макромолекул (в частности белков). Температурный интервал, который является оптимальным для роста, зависит от вида микроорганизмов, при переходе через этот интервал рост значительно замедляется или прекращается вовсе.

2) Активность воды – это отношение давления паров раствора к давлению паров чистой воды, поэтому активность воды будет определяться не только ее наличием или отсутствием, но и количеством растворенных в ней веществ. В гипотонических растворах вода будет проникать внутрь клетки по градиенту концентраций растворенных веществ. Для предотвращения поступления воды необходимо приложить осмотическое давление. Осмотическое давление у грамположительных бактерий может достигать величины 20 атм и более.

3) Показатель рН определяет, в какой форме находятся соединения – ионной или молекулярной, что, в свою очередь, влияет на доступность этих веществ для клетки (незаряженные молекулы проникают через мембрану легче, чем ионы). По оптимальным значениям рН микроорганизмы делятся на

ацидофилов (0-5,5), нейтрофилов (5,5-8,0) и алкалифилов (8,5-11,5). Несмотря на возможное разнообразие значений концентраций ионов водорода, внутри клетки этот показатель поддерживается на постоянном уровне. Этому способствует малая проницаемость мембраны для протонов. При изменении pH среды внутри клетки запускаются специальные защитные механизмы, которые компенсируют это изменение и нейтрализуют последствия.

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

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

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

Отдельного упоминания заслуживает наличие в среде антимикробных веществ, продуцируемых как конкурентными видами бактерий, так и высшими организмами – грибами, растениями и животными. Ярким примером являются антибиотики, вырабатываемые грибами и бактериями для подавления роста конкурентов. Бактерицидным и бактериостатическим действием также обладают разного рода окислители и токсины. Наличие в среде молекул веществ, обладающих антимикробным действием, даже в крайне низких концентрациях способно существенно подавлять метаболизм бактериальных клеток. В реальных условиях микроорганизмы испытывают воздействие нескольких факторов в совокупности, поэтому при культивировании бактерий в лаборатории необходимо следить за поддержанием оптимальных условий, чтобы избежать преждевременной гибели микроорганизмов.

1.6 Характеристика бактерий *Rhodococcus ruber*

Среди различных видов техногенных нарушений природы одним из наиболее серьезных и трудноустраняемых является нефтезагрязнение. Микроорганизмы, способные использовать нефть, распространены очень

широко и могут быть выделены из любой полевой, лесной или луговой почвы. Кроме того, способность использовать нефть в качестве источника энергии не единичным специализированным формам, а многим группам микроорганизмов углеводородокисляющих (УВОМ), в их числе находятся бактерии рода *Rhodococcus* [31].

На сегодняшний день бактерии рода *Rhodococcus* привлекают внимание исследователей, вследствие их широкого практического применения в биоремедиации окружающей среды от ксенобиотиков, очистке сточных вод от нефтепродуктов, повышении нефтеотдачи почвенных пластов. Этому способствуют уникальные биологические, физиологические и биохимические особенности данной группы микроорганизмов. Широкий спектр метаболических возможностей обуславливает способность родококков трансформировать и деградировать разнообразные по химической структуре углеводороды (алифатические, ароматические, нитроароматические, поли- и гетероциклические) и их производные (пестициды, полихлорированные бифенилы, фенолы, нитрилы) [33]. Родококкам свойственны циклический характер развития и наличие морфогенетических переходов “кокк-палочка-кокк”. Кроме того, в первые часы роста образуется нестабильный мицелий, который не имеет перегородок и представляет собой одну клетку. За счёт последующей фрагментации клеточного мицелия на короткие палочковидные формы увеличивается отношение клеточной поверхности к общему объёму клетки, что увеличивает способность родококков поглощать трудноусваиваемый гидрофобный субстрат [34].

К тому же клеточная стенка бактерий данной группы в силу своей липофильности, обладает высоким сродством к гидрофобным субстратам и представляет собой мощное липофильное образование, подобного которому нет у других бактерий [35]. Большое значение имеет содержание в ней липидов, которые играют ведущую роль в процессе потребления углеводов. Также в клеточной стенке нокардиоформных микроорганизмов содержатся простые жирные кислоты, гликолипиды, корд-фактор и его аналоги, фосфолипиды,

нейтральные липиды. Помимо липидов клеточная стенка родококков включает в себя миколовые кислоты, которые являются специфическими и обязательными структурными компонентами клеточных стенок таких бактерий, как *Rhodococcus sp.*, *Mycobacterium sp.*, *Nocardiasp.*, *Pseudonocardiasp.* [36].

Возможность использовать субстраты, труднодоступные для бактерий рода *Rhodococcus*, также обусловлена образованием биологических поверхностно-активных веществ (биоПАВ или биосурфактантов) гликолипидной природы, которые способствуют эмульгированию и солюбилизации гидрофобных субстратов [37].

Вышеуказанные особенности родококков, в сочетании со способностью выживать в неблагоприятных условиях окружающей среды, определяют перспективность их использования при разработке биопрепаратов для очистки территорий и акваторий, загрязнённых нефтью и нефтепродуктами.

Непатогенные актинобактерии рода *Rhodococcus* нашли широкое распространение в природе [38]. Они обитают в разнообразных водных бассейнах, почвах и биотопах, сточных водах, илах водоемов, связанных с месторождениями газа и нефти. Родококки являются уникальной эколого-трофической группой, обладающей комплексной характеристикой стратегических приёмов выживания [39].

Наличие у родококков липофильной клеточной стенки, обуславливает их способность выполнять основную работу по окислению парафиновых углеводов в случае массивного нефтяного загрязнения водных экосистем. Родококки способны усваивать многие труднодоступные для большинства других микроорганизмов субстраты: озокериты, смолы, углеводороды нефти, фенольные соединения, смоляные кислоты, гумусовые вещества, воск и другие [38]. Вид данных актинобактерий способен осуществлять азотфиксацию [40]. Родококки имеют широкий диапазон толерантности к абиотическим факторам, таким как влажность, температура, pH [38].

Популяции родококков характеризуются устойчивостью к голоданию, высушиванию, экстремальным значениям концентрации водородных ионов,

солей, механическому и ультразвуковому разрушению, токсическим агентам и антисептикам. Органические кислоты, аминокислоты, сахара и полисахариды могут быть получены с помощью родококков, выращенных на n-алканах. Их можно использовать как специфический индикатор фекального загрязнения (животного происхождения) воды рек, питьевой воды и молочных продуктов. Родококки также способны продуцировать поверхностноактивные вещества, которые используются для очистки нефтезагрязненных почв [41, 42, 43, 44].

Родококки обнаруживают перспективу практического их использования в различных областях биотехнологии и охраны окружающей среды. Они могут быть использованы для биоиндикации углеводородных залежей и интенсификации процессов биодegradации нефтяных загрязнений или для синтеза кормового белка в тонком органическом синтезе (биокатализа). Поэтому, культура алканотрофных родококков в последнее время находится в центре внимания исследователей.

Родококки чаще всего окрашены (розовые, палевые, жёлтые, оранжевые, красные). Размер колоний на различных средах варьируется в довольно широком диапазоне от 0,5 до 3,0, иногда 5,0–8,0 мм в диаметре (рисунок 1). Клетки у основания колоний, выросших на мясопептонном агаре и пропане, имеют форму удлинённых (6–15 мкм), слегка изогнутых палочек (Рисунок 1) [38].

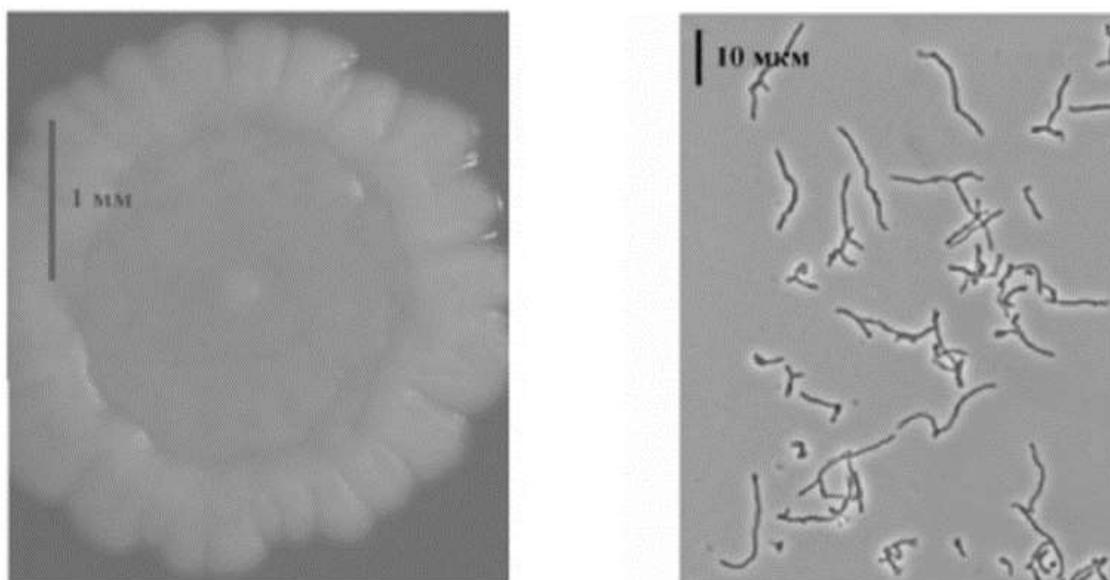


Рисунок 1- Макроколонии (слева) и клетки (справа) *Rhodococcus ruber*

ИЭГМ 231 [38]

Родококки имеют трехстадийный цикл развития (кокки - ветвящиеся нитевидные клетки - кокки) [38]. При росте на различных средах в первые часы (6; 9-12 ч) образуется нестабильный мицелий (1-я стадия), не имеющий перегородок и представляющий собой одну клетку. Первичный мицелий является невыраженным, рудиментарен вследствие быстрой (через 12-14 ч роста) фрагментации клеток, часто до появления веток. Через 16-24-72 ч инкубации он распадается на палочковидные фрагменты различной длины (2-я стадия). В возрасте 2-5 суток заметно преобладание кокковидных клеток в виде шара, 0,5-0,8 мкм (3-я стадия).

На начальной стадии роста прорастание и ветвление исходных кокковидных и коротких палочковидных клеток начинается с формирования одной-трех ростовых трубок, диаметр которых меньше такового у родоначальных клеток. В экспоненциальной стадии развития (8-12 ч) выявляются клетки длиной 6,0-12,0 x 0,6-0,9 мкм с обильно ветвящимся мицелием, который фрагментируется на укороченные неравномерные палочковидные и кокковидные элементы. Затем в возрасте 12-16 ч клетки палочковидные, прямые или искривленные, короткие или длинные, нередко ветвящиеся, часто располагаются V-образно, их первичный мицелий может быть хорошо развит. Обычно уже через 16-24 ч роста клетки фрагментируются на укороченные палочковидные и кокковидные элементы. В 28-40-часовых культурах присутствуют ветвящиеся клетки длиной 4,0-5,0 мкм с характерной «полосатостью» цитоплазмы, а также наблюдается небольшое количество более коротких фрагментов.

Важной морфологической характеристикой родококков является наличие у них определенных способов разъединения клеток. Перемещение дочерних особей приводит к их обособлению от материнской клетки. Известно два основных способа разъединения клеток: путем сгибания (bending) и более простым, путем внезапного раскалывания (snapping). Клетки *Rhodococcus* обособляются с помощью snapping-движения, в результате чего образуются V-формы. Чтобы обеспечить контакт клеток друг с другом и удерживание их в

колонии, на поверхности клеток часто обнаруживаются шишковидные выросты от 40 нм и более в диаметре [38].

Следует отметить, что кинетические параметры и закономерности морфогенетического цикла клеток *Rhodococcus* в настоящее время еще не полностью изучены, в частности, возможности метода математического моделирования являются не использованы [38].

Rhodococcus ruber является непатогенным штаммом, при росте на мясопептонном агаре штамм образует круглые колонии с блестящей или матовой поверхностью, от светло-кремового до красного цвета.

Клетки не спорообразующие, грамположительные, факультативно анаэробные, палочковидные неправильной формы, размеры 0,6-1×2,0-25 мкм. Имеют цикл развития: ветвящиеся палочки-кокки. В возрасте 12-18 часов на мясопептонном агаре образуют сначала слабо ветвящиеся нити, которые затем распадаются после 40-48 часов культивирования на короткие палочковидные и кокковидные клетки.

Rhodococcus ruber образует кислоту при росте на глюкозе, сахарозе и многоатомных спиртах, а также не гидролизует желатин, крахмал и целлюлозу. В качестве источников азота использует соединения аммония и нитраты.

Они чувствительны к хлорамфениколу, бензилпенициллину, ампициллину, канамицину, мономицину, стрептомицину, тетрациклину.

Физиологические свойства: Температура роста 10-40°C, оптимальное значение 28-30°C. Штамм растет при pH 5-10, оптимальное значение pH 7,2. [45].

2 Экспериментальная часть

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

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

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

2.1 Объекты исследования

Исследование влияния солей лития на бактерий проводили с использованием штаммов бактерий *Rhodococcus ruber*.

Штамм *R. ruber* ИЭГМ 231 выделен из загрязненной нефтепродуктами почвы, отобранной на Вахском месторождении, Нижневартовский район ХМАО-Югры. Получен от ООО «Дарвин-Сервис», г. Томск. Штамм хранился на скошенном мясопептонном агаре при температуре 2-4 °С с периодическим

пересевом на свежую среду. Перед использованием бактерий в эксперименте переносили культуру на чашку Петри со свежим агаром и выдерживали при оптимальной температуре в течение суток. В качестве соединений лития были выбраны аскорбат, пируват и сукцинат (Рисунок 2) – наиболее изученные в экспериментах на животных и клетках человека.

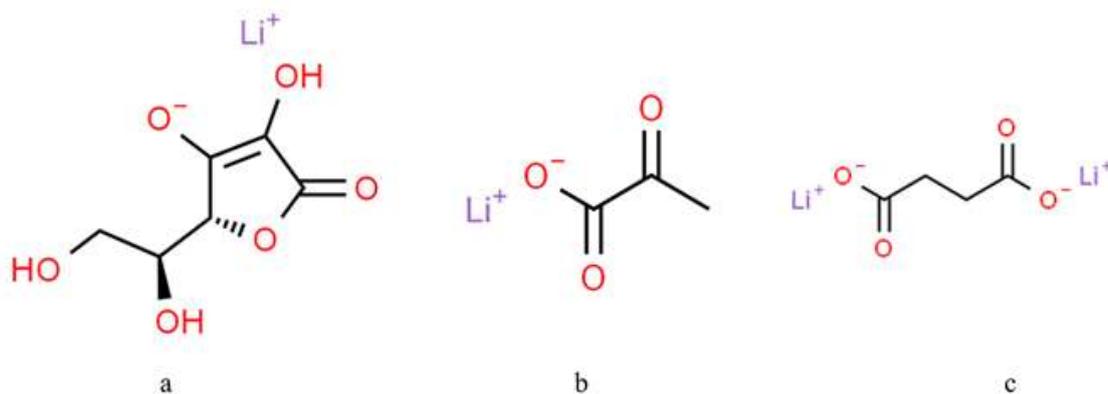


Рисунок 2 – Структурные формулы солей лития: аскорбат (а), пируват (b), сукцинат (с)

2.2 Приготовление питательных сред и растворов

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

2.2.1 Приготовление мясопептонного агара

Брали навеску пептона сухого ферментативного для бактериологических целей (ГОСТ 13805-76) массой 20 г, и навеску агара бактериологического (ГОСТ 17206-96) массой 15 г, растворяли навески в 1 дм³ дистиллированной воды. Кипятили 2 минуты, фильтровали через ватно-марлевый фильтр,

закрывали колбу ватной пробкой и пергаментом, автоклавировали 20 минут при температуре 121 °С и давлении 1 ати. После остывания разливали по стерильным чашкам Петри.

2.2.2 Приготовление мясопептонного бульона

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

2.2.3 Стандарты мутности McFarland

Стандарты мутности McFarland предназначены для приготовления бактериальных взвесей с заданной концентрацией бактерий. Для приготовления стандартов мутности по МакФарланду (McFarland) необходимо смешать растворы 1,175 % BaCl₂×2H₂O и 1 % H₂SO₄ в количествах, приведенных в таблице 2.

Таблица 2 – Состав стандартов мутности McFarland на 10 см³

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

Для работы готовили по 10 см³ стандартов номер 4.

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

2.2.4 Приготовление 1% раствора серной кислоты

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

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

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

2.2.6 Приготовление стерильной воды

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

2.3. Методика исследования влияния солей на рост бактерий по методу Коха

Оценку влияния аскорбата лития на рост бактерий *Rhodococcus ruber* проводили на мясопептонном бульоне. Для этого в жидкую питательную среду объемом 20 см³ перед стерилизацией вносили такие количества соли, чтобы итоговая концентрация в 20 см³ составляла, ммоль/ дм³: 1,2; 12,0 и 20,7. Контролем служила колба, содержащая только питательную среду, без добавления соли аскорбата лития. После вносили в колбы по 2 см³ суспензии бактерий, приготовленной по стандарту мутности Мак-Фарланда (предварительно производили посев на свежую питательную среду МПА приготовленную на чашке Петри убирали в термостат на 24 ч, затем с помощью микробиологической петли заносили в 9 см³ стерильной воды культуру). Перемещали колбы в термостат шейкер с оптимальной для конкретной культуры температурой 27°C и скоростью 100 об/мин. После этого готовили ряд последовательных разведений.

Рассмотрим технику приготовления разведений. Из каждой из четырех колб отбирается объем, равный 0,09 см³, и переносится в пенициллиновый флакон с 9 см³ стерильной воды, предварительно, отбирая из флакона 0,09 см³ раствора – первое разведение (1:1000). Из первого разведения отбирается 0,09 см³ воды, затем 0,09 см³ раствора и переносится в такой же флакон с 9 см³ воды – второе разведение (1:10000) и т.д. Таким образом готовится необходимое количество разведений (Рисунок 3).

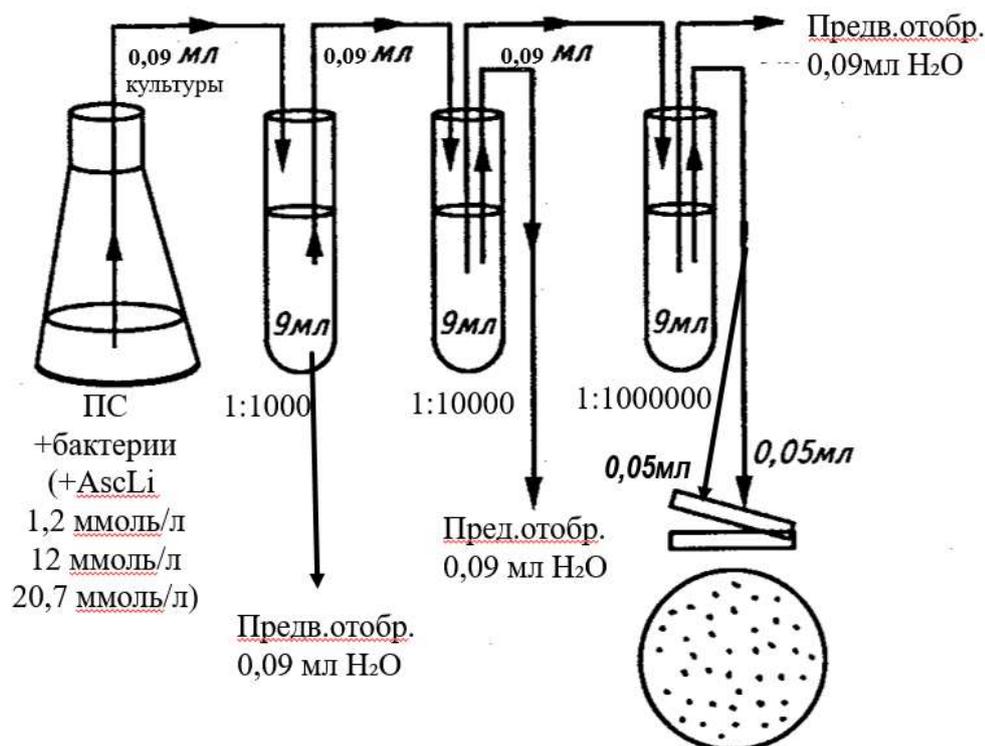


Рисунок 3 – Схема приготовления разведений для количественного учета

Затем выполняли посев 6-го (0, 2, 4, 6, 24 ч) и 8-го (48, 72 ч) разведений на чашки Петри в двух параллелях, отбирая аликвоту 0,05 см³. Через 0, 2, 4, 6, 24, 48, 72 часа производили подсчет колоний и рассчитывали количество бактерий. Затем производили подсчет колониеобразующих единиц по формуле 1:

\bar{a} – среднее число колониеобразующих единиц (КОЕ);

n – номер разведения;

$V_{ал}$ – объем аликвоты, взятый для посева, см³;

2.4 Кинетические параметры микробного роста

Расчет основных кинетических параметров роста: μ – удельная скорость роста (коэффициент пропорциональности) и g – время генерации, время, требующееся для цикла одного деления, считали по формулам [46]:

Время генерации:

$$g = \frac{t-t_0}{n} = \frac{1}{V} \quad (2)$$

При сбалансированном росте прирост числа клеток или биомассы в единицу времени рассчитывается по формулам:

$$\frac{dN}{dt} = \mu \times X \text{ и } \frac{dx}{dt} = \mu \times X \quad (3)$$

Где N – число клеток в 1 мл; X – масса клеток в 1 мл; t – время; μ – удельная скорость роста. Интегрируя получаем:

$$\ln N - \ln N_0 = \mu \times (t - t_0) \quad (4)$$

После перехода к десятичным логарифмам:

$$\lg N - \lg N_0 = \frac{\mu \times (t - t_0)}{2,303} \text{ и } \frac{2,303 \times (\lg N - \lg N_0)}{t - t_0} \quad (5)$$

Например, если культура содержит 10^4 клеток в 1 мл в момент времени t_0 и 10^8 клеток в 1 мл через 4 часа, то:

$$\mu = \frac{(8-4) \times 2,303}{4} = 2,303 \text{ ч}^{-1} \quad (6)$$

Взаимосвязь между μ (удельной скоростью роста) и g (временем генерации) можно вывести из вышеприведенных уравнений, так как, если рассматриваемый интервал времени будет g , то $N = 2N_0$ (количество клеток в популяции увеличилось вдвое за одну генерацию). Подставляя соотношения в уравнение 5 получаем:

$$\mu = \frac{\ln 2}{g} = \frac{0,693}{g} \quad (7)$$

Время удвоения числа клеток рассчитываем по формуле:

$$g = \frac{0,693}{\mu} \quad (8)$$

4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

Введение

Объектом исследования являются бактерии вида *Rhodococcus ruber*, а также соли лития: пируват, аскорбат и сукцинат.

Целью данного раздела является анализ исследуемых технологий с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения. В разделе произведены оценка коммерческого потенциала разработки, сравнение данной исследовательской работы с альтернативными решениями, планирование исследовательского процесса и расчет бюджета работ.

4.1 Анализ конкурентных технических решений

Детальный анализ конкурирующих разработок, существующих на рынке, необходимо проводить систематически, поскольку рынки пребывают в постоянном движении [50]. В ходе работы выявлен стимулирующий эффект сукцината лития при наличии его в питательной среде. Данная сфера на сегодняшний день характеризуется довольно малым количеством разработок. В качестве конкурирующих решений выбраны 1) стимулятор роста микроорганизмов «Полифлор»; и 2) стимулятор роста гемофильных микроорганизмов (СРГМ). Данный анализ проводился с помощью оценочной карты (Таблица 5). В ней приведены баллы экспертной оценки использования сукцината лития(Бф) продуктов-конкурентов – «Полифлор» (Бк1) и СРГМ (Бк2). Кф, Кк1, Кк2 – конкурентоспособность соответствующих продуктов.

Таблица 5 – Оценочная карта для сравнения конкурентных технических разработок

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы			Конкурентоспособность		
		Бф	Б _{к1}	Б _{к2}	Кф	К _{к1}	К _{к2}
1	2	3	4	5	6	7	8
Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Стимулирующий эффект	0,3	3	4	5	0,9	1,2	1,5
2. Трудоемкость получения	0,2	5	3	2	1,0	0,6	0,4
3. Применяемые количества	0,1	5	3	3	0,5	0,3	0,3
Экономические критерии оценки эффективности							
4. Цена	0,2	5	3	4	0,5	0,3	0,4
5. Конкурентоспособность продукта	0,1	4	3	4	0,4	0,3	0,4
6. Финансирование научной разработки	0,1	4	4	4	0,4	0,4	0,4
Итого:	1				3,7	3,1	3,4

Критерии для сравнения и оценки ресурсоэффективности и ресурсосбережения, приведенные в таблице 1, подбираются, исходя из выбранных объектов сравнения с учетом их технических и экономических особенностей разработки, создания и эксплуатации.

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

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

4.2 SWOT-анализ

SWOT– это комплексный анализ научно-исследовательского проекта. SWOT-анализ применяют для исследования внешней и внутренней среды проекта. Результаты первого этапа SWOT-анализа представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Первый этап SWOT-анализа

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

Второй этап SWOT-анализа состоит в выявлении соответствия сильных и слабых сторон научно-исследовательского проекта внешним условиям окружающей среды [52]. Это соответствие или несоответствие должны помочь выявить степень необходимости проведения стратегических изменений. В рамках данного этапа необходимо построить интерактивную матрицу проекта. Ее использование помогает разобраться с различными комбинациями

взаимосвязей областей матрицы SWOT. Каждый фактор помечается либо знаком «+» (означает сильное соответствие сильных сторон возможностям), либо знаком «-» (что означает слабое соответствие); «0» – если есть сомнения в том, что поставить «+» или «-». Примеры интерактивных матриц представлены в таблицах 7, 8, 9, 10.

Таблица 7 – Интерактивная матрица проекта «Сильные стороны и возможности»

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

Таблица 8 – Интерактивная матрица проекта «Слабые стороны и возможности»

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

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

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

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

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

Таким образом, в рамках третьего этапа может быть составлена итоговая матрица SWOT-анализа, представленная в таблице 11.

Таблица 11 – Итоговая матрица SWOT-анализа.

	Сильные стороны исследовательского проекта: С1. Малая концентрация при эффекте, сопоставимом с эффектами конкурентных решений. С2. Однокомпонентный состав. С3. Низкая стоимость стимулятора. С4. Отсутствие необходимости выделения и очистки веществ. С5. Стимулирующее влияние в отношении <i>Rhodococcus ruber</i> .	Слабые стороны исследовательского проекта: Сл1. Отсутствие достаточного количества материалов для проведения исследования. Сл2. Малое количество изученных видов бактерий.
Возможности: В1. Высокий спрос на подобные решения вследствие развития биотехнологий. В2. Высокая стоимость конкурентных решений.	Предположенный стимулятор обладает рядом сильных сторон и может представлять интерес для биотехнологических компаний.	Возможен поиск поставщиком материалов, располагающихся в РФ.
Угрозы: У1. Недостаток финансирования исследования. У2. Малая скорость проведения исследования.	Сильные стороны позволяют снизить потребности в финансировании до минимальных.	Недостаток финансирования приводит к отсутствию достаточного количества материалов и оборудования для проведения полного исследования. Малая скорость работы не позволяет изучить большое количество видов бактерий.

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

увеличения скорости проведения исследования необходимо увеличить количество исполнителей и оптимизировать методики проведения исследования.

4.3 Планирование исследовательских работ

4.3.1 Структура работ в рамках исследования

Для выполнения исследовательской работы в рамках ВКР формируется рабочая группа, в состав которой входят: бакалавр – Боломатова А., научный руководитель – Чернова. А.П., консультант по экономической части (ЭЧ) - Якимова Т. Б. и консультант по части социальной ответственности (СО) – Сечин А.А. Необходимо составим перечень этапов и работ в рамках проведения исследования и проведем распределение исполнителей по видам работ (Таблица 12).

Таблица 12 – Перечень этапов, работ и распределение исполнителей

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

Продолжение таблицы 12

7	Разработка технической документации и проектирование	Оценка экономической эффективности проекта	Якимова Т. Б. (доцент ОСГН) Боломатова А. (студент)
8	Разработка технической документации и проектирование	Разработка главы «Социальная ответственность»	Сечин А.А. (ассистент ООД) Боломатова А. (студент)
9	Оформление отчета по ВКР	Разработка презентации, дипломной работы и раздаточного материала	Боломатова А. (студент)

4.3.2 Определение трудоемкости выполнения работ

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

Таблица 13 – Трудозатраты при выполнении проекта

ФИО, основное место работы, должность	Роль в проекте	Функции	Трудозатраты, час.
Чернова А.П., доцент ОХИ	Руководитель ВКР	Контроль над ходом выполнения проекта, консультации по поводу проведения эксперимента, получения и анализа результатов ВКР	128
Боломатова А., студент	Исполнитель	Выполнение проекта (проведение эксперимента, получение и анализ результатов ВКР)	640
Якимова Т.Б. доцент ОСГН	Консультант по экономической части	Оценка эффективности применения анализа	10
Сечин А.А. ассистент ООД	Консультант по части социальной ответственности	Разработка социальной ответственности по теме	10
Итого:			788

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

4.3.3 Разработка графика проведения исследования

При выполнении дипломных работ студенты становятся участниками сравнительно небольших по объему научных тем, поэтому наиболее удобным и наглядным является построение ленточного графика проведения научных работ в форме диаграммы Ганта [51]. Диаграмма Ганта – это горизонтальный ленточный график (Таблица 11), на котором работы по теме представляются протяженными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ. Для удобства построения графика, длительность каждого из этапов работ из рабочих дней следует перевести в календарные дни. Для этого необходимо воспользоваться формулой:

$$T_{ki} = T_{ri} \cdot k_{\text{кал}}, \quad (9)$$

где T_k – продолжительность выполнения i – й работы в календарных днях; T_{ri} – продолжительность выполнения i – й работы в рабочих днях; $k_{\text{кал}}$ – коэффициент календарности.

Коэффициент календарности определяется по формуле (10):

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{T_{\text{кал}} - T_{\text{вых}} - T_{\text{пр}}}, \quad (10)$$

где $T_{\text{кал}}$ – количество календарных дней в году; $T_{\text{вых}}$ – количество выходных дней в году; $T_{\text{пр}}$ – количество праздничных дней в году.

Таким образом по формуле (11):

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{T_{\text{кал}} - T_{\text{вых}} - T_{\text{пр}}} = \frac{365}{365 - 93 - 25} = 1,48 \quad (11)$$

Таблица 14 – Календарный план-график проведения ВКР

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



Научный руководитель



Бакалавр



Консультант по ЭЧ



Консультант по СО

4.4 Бюджет исследования

4.4.1 Расчет материальных затрат

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

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

Результаты расчета затрат на сырье, материалы и покупные изделия в процессе проведения ВКР представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Затраты на сырье

Наименование затрат	Единица измерения	Расход			Цена за ед., руб			Сумма, руб.		
		Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3
Пептон сухой ферментативный на основе мяса фас, 0,25 кг	кг	0,5	0,5	0,5	2340	2340	2340	1170	1170	1170
Агар микробиологический и й фас. 0,25 кг	кг	0,3	0,3	0,3	3713	3713	3713	530,4	530,4	530,4
Серная кислота	кг	1	1	1	289	289	289	289	289	289
Сукцинат лития	100г	1	-	-	5000	-	-	5000	-	-
Пируват лития	10г	-	1	-	-	3900	-	-	3900	-
Аскорбат лития	100г	-	-	1	-	-	6800	-	-	6800
Вата хирург н/с 1 кг	кг	1	1	1	157,3	157,3	157,3	157,3	157,3	157,3
Марля медицинская отбеленная	м	50	50	50	9,09	9,09	9,09	454,5	454,5	454,5
Пергамент М 74-Ф	кг	1	1	1	177,1	177,1	177,1	177,1	177,1	177,1
Шприц, 1 см ³ , одн. прим.	шт	100	100	100	2,73	2,73	2,73	273	273	273
Пенициллиновые флаконы	шт	100	100	100	5	5	5	500	500	500
Перекись водорода, 37%	кг	0,5	0,5	0,5	497	497	497	248,5	248,5	248,5

Продолжение таблицы 15

Спирт этиловый, 96%	л	2	2	2	900	900	900	1800	1800	1800
Спиртовка СЛ 2 с метал, оправой	шт	1	1	1	150	150	150	150	150	150
Фильтровальная бумага	упак.	1	1	1	400	400	400	400	400	400
Латексные перчатки	шт	10	10	10	11	11	11	110	110	110
Итого								11259,8	10159,8	13059,8

4.4.2 Расчет затрат на оборудование

Расчет сводится к определению амортизационных отчислений, так как оборудование было приобретено до начала выполнения данной работы и эксплуатировалось ранее, поэтому при расчете затрат на оборудовании учитываем только рабочие дни по данной теме. Амортизация оборудования рассчитывается по формуле (12) [53]:

$$A = \frac{C_n \times H_a \times n}{100 \times k} \quad (12)$$

где C_n - первоначальная стоимость оборудования; H_a - норма амортизации, %; n - число проработанных месяцев; k - количество месяцев в году.

Таблица 16 - Амортизация используемых приборов

№ п/п	Наименование прибора	Стоимость * С, руб.	Количество n, шт	Норма амортизации, H_a , %	Амортизация А, руб
1	Суховоздушный шкаф-стерилизатор Binder	723000,00	1	10	24100
2	Ламинарный шкаф SC2-4A1 Streamline Esco	750000,00	1	15	37500
3	Цифровой автоклав WiseCube	477400,00	1	10	15913
4	Шкаф термостатируемый WiseCube	107669,49	1	10	3589
5	Инкубатор WiseCube WIS- 20 горизонтальный с орбитальным шейкером	383822,03	1	10	12794

Продолжение таблицы 16

6	Дистиллятор 3,5 л/ч	34500	1	1	115
7	Весы лабораторные аналитические ACCULAB	57277	1	10	1909
8	Биноккулярный микроскоп МС-100	123000	1	10	4100
9	Одноканальный дозатор «ВЮШТ» 100-1000 мкл	4000	1	1	13
10	Одноканальный дозатор «ВЮНИТ» 10 -100 мкл	4202	1	1	14
ИТОГО:		12314170			100047

4.4.3 Расчет основной заработной платы

Основная заработная плата ($Z_{\text{осн}}$) находится по формуле (13) [53]:

$$Z_{\text{осн}} = Z_{\text{дн}} \times T_{\text{раб}} \quad (13)$$

где $Z_{\text{осн}}$ – основная заработная плата одного работника; $T_{\text{раб}}$ – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн.; $Z_{\text{дн}}$ – среднедневная заработная плата работника, руб.

Среднедневная заработная плата в свою очередь рассчитывается по формуле (14):

$$Z_{\text{дн}} = \frac{Z_{\text{м}} \times M}{F_{\text{д}}} \quad (14)$$

где $Z_{\text{м}}$ – месячный должностной оклад работника, руб.; M – количество месяцев работы без отпуска в течение года: при отпуске в 24 раб. дня $M = 11,2$ месяца, 5-дневная неделя; $F_{\text{д}}$ – действительный годовой фонд рабочего времени научнотехнического персонала, раб. дн.

Таблица 17 - Баланс рабочего времени за 2020 год

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

Месячный должностной оклад работника:

$$Z_m = Z_{TC} \times (1 + k_d) \times k_p \quad (15)$$

где: Z_{TC} – заработная плата по тарифной ставке, руб.; k_d – коэффициент доплат и надбавок составляет примерно 0,2 – 0,5; k_p – районный коэффициент, равный 1,3 (для Томска). Расчет основной заработной платы приведен в таблице 18.

Таблица 18 – Расчет основной заработной платы

Категория	Z_{TC} , руб	k_d	k_p	Z_m , руб	$Z_{дн}$, руб.	Тр, раб. дн.	$Z_{осн}$, руб.
Руководитель							
ППСЗ	35120	0,35	1,3	61635,6	3095,6	16	49529,6
Бакалавр							
ППС1	12130	0,35	1,3	21288,2	965,3	80	77224,0
Консультант по ЭЧ							
ППСЗ	35120	0,35	1,3	61635,6	3095,6	1,25	3869,5
Консультант по СО							
ППСЗ	27770	0,35	1,3	48736,4	1394,7	1,25	1743,4

Расчет дополнительной заработной платы ведется по следующей формуле:

$$Z_{доп} = k_{доп} \times Z_{осн}, \quad (16)$$

где $k_{доп}$ – коэффициент дополнительной заработной платы (на стадии проектирования принимается равным 0,15).

Таблица 19 – Общая заработная плата исполнителей

Исполнитель	З _{осн} , руб.			З _{доп} , руб.			З _{зп} , руб.		
	Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3
Научный руководитель	49529,6			7429,4			56959,0		
Студент	77224,0			11583,6			88807,6		
Консультант по ЭЧ	3869,5			464,3			4333,8		
Консультант по СО	1743,4			261,5			2004,9		
Итого	132366,5			19738,8			152105,3		

4.4.4 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления)

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

$$Z_{o.c.n} = 0,3 \times (Z_{осн.рук.} + Z_{осн.инж.}) \quad (17)$$

где: $Z_{o.c.n}$ – затраты на отчисления на социальные нужды, руб.

$$Z_{o.c.n} = 0,3 \times (49529,6 + 77224,0 + 3869,5 + 1743,4 + 19738,8) = 45935,8 \text{ руб.}$$

Отчисления во внебюджетные фонды представлены в таблице 16.

Таблица 20 – Отчисления во внебюджетные фонды

Исполнители	Основная заработная плата, руб.	Дополнительная заработная плата, руб.
Научный руководитель	49529,6	7429,4
Бакалавр	77224,0	11583,6
Консультант по ЭЧ	3869,5	464,3
Консультант СО	1743,4	261,5
Коэффициент отчислений во внебюджетные фонды	0,3	
ИТОГО:	39710	

4.4.5 Накладные расходы

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

$$Z_{\text{накл}} = k_{\text{нр}} \times (\text{сумма статей } 1 \div 5) \quad (18)$$

где: $k_{\text{нр}}$ – коэффициент, учитывающий накладные расходы. Величину коэффициента накладных расходов $k_{\text{нр}}$ допускается взять в размере 16%.

4.4.6 Формирование бюджета затрат

Рассчитанная величина затрат исследовательской работы является основой для формирования бюджета затрат проекта, который при формировании договора с заказчиком защищается научной организацией в качестве нижнего предела затрат на разработку научно-технической продукции. Определение бюджета затрат на исследовательский проект приведен в таблице 21.

Таблица 21 – Расчет бюджета затрат проводимого исследования

Наименование статьи	Сумма, руб.			Примечание
	Исп.1	Исп.2	Исп.3	
1. Материальные затраты НТИ	11259,8	10159,8	13059,8	Табл.15
2. Затраты на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ	100047	100047	100047	Табл.16
3. Затраты по основной заработной плате исполнителей темы	132366,5	132366,5	132366,5	Табл.18
4. Затраты по дополнительной заработной плате исполнителей темы	19738,8	19738,8	19738,8	Табл.19
5. Отчисления во внебюджетные фонды	45935,8	45935,8	45935,8	Табл.20
6. Накладные расходы	42273,7	42097,5	42561,5	16 % от суммы ст.1-5
7. Бюджет затрат НТИ	351621,6	350345,6	353709,6	Сумма ст. 1-6

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

Определение эффективности происходит на основе расчета интегрального показателя эффективности исследования. Его нахождение связано с определением двух средневзвешенных величин: финансовой эффективности и ресурсоэффективности. Интегральный финансовый показатель разработки определяется как:

$$I_{\text{финр}}^{\text{исп}i} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\text{max}}} \quad (19)$$

где: $I_{\text{финр}}^{\text{исп}i}$ – интегральный финансовый показатель разработки; Φ_{pi} – стоимость i -го варианта исполнения; Φ_{max} – максимальная стоимость исполнения научно-исследовательского проекта (в т.ч. аналоги).

Полученная величина интегрального финансового показателя разработки отражает соответствующее численное увеличение бюджета затрат разработки в разгах либо соответствующее численное удешевление стоимости разработки в разгах (значение меньше единицы, но больше нуля). Интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов исполнения объекта исследования можно определить следующим образом:

$$I_{pi} = \sum a_i \times b_i \quad (20)$$

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

Результаты по расчету интегрального показателя ресурсоэффективности представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

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

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

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

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

Интегральный показатель эффективности разработки ($I_{финр}^P$) и аналога ($I_{финр}^a$) определяется на основании интегрального показателя ресурсоэффективности и интегрального финансового показателя по формуле (21):

$$I_{исп i} = \frac{I_{исп1}}{I_{исп2}} \quad (21)$$

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

$$\mathcal{E}_{ср} = \frac{I_{исп1}}{I_{исп2}} \quad (22)$$

где $\mathcal{E}_{ср}$ – сравнительная эффективность проекта; $I_{исп1}$ – интегральный показатель разработки; $I_{исп2}$ – интегральный технико-экономический показатель аналога.

Сравнение значений интегральных показателей эффективности позволяет понять и выбрать более эффективный вариант решения поставленной в

бакалаврской работе технической задачи с позиции финансовой и ресурсной эффективности. Наглядно данное сравнение представлено в таблице 23.

Таблица 23 – Сравнительная эффективность разработки

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

Заключение

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

5 Социальная ответственность

Введение

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

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

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

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

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

5.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности

5.1.1 Специальные правовые нормы трудового законодательства

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

В соответствии с [54], в лаборатории должны соблюдаться «меры безопасности при работе с биологическими объектами, которые должны обеспечивать предупреждение возникновения у работающих:

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

В соответствии с [55], необходимо соблюдать правила обращения с вредными веществами, чтобы их концентрация в воздухе рабочей зоны не превышала предельно допустимого уровня, указанного в нормативной документации.

5.1.2 Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны

Значительная часть работ в лаборатории проводится в положении сидя, поэтому рабочую зону необходимо обустроить в соответствии с эргономическими требованиями, указанными в [56]. В качестве примера рассмотрим пространство ламинарного бокса (шкафа), в котором осуществляются все манипуляции с микроорганизмами. Рабочее место должно быть оборудовано таким образом, чтобы взаимное расположение всех его элементов соответствовало антропометрическим, физиологическим и психологическим требованиям. Конструкция рабочего места должна

обеспечивать выполнение трудовых операций в пределах зоны досягаемости моторного поля.

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

Пространство внутри бокса следует оборудовать в соответствии с [57]. Необходимо правильно размещать инструменты, с помощью которых производятся все манипуляции: петли, дозаторы, емкости с жидкостями и т.п. Все элементы должны быть расположены в пределах моторной доступности и предотвращать перекрещивания рук в процессе работы.

5.2 Производственная безопасность

По характеру происхождения вредных и опасных факторов, воздействующих на работника лаборатории при проведении данного исследования, в соответствии с [58], можно выделить:

- факторы, порождаемые физическими свойствами и характеристиками состояния материальных объектов производственной среды;

- факторы, порождаемые химическими и физико-химическими свойствами используемых или находящихся в рабочей зоне веществ и материалов;

- факторы, порождаемые биологическими свойствами микроорганизмов, находящихся в биообъектах и (или) загрязняющих материальные объекты производственной среды. К факторам, порождаемым физическими свойствами и характеристиками состояния материальных объектов окружающей среды, относятся отклонения в показателях микроклимата, тепловое излучение окружающих поверхностей оборудования, ультрафиолетовое излучение.

- 1) Вредным фактором в лаборатории может являться несоответствие окружающей среды оптимальным микроклиматическим условиям, которые

необходимы для комфортного выполнения работы. Микроклимат помещения определяют по следующим показателям: температура воздуха и поверхностей, относительная влажность и скорость воздуха, интенсивность теплового излучения. Работы, выполняемые в лаборатории, в соответствии с [59], относятся к категории Па. Для микробиологической лаборатории предусмотрены санитарные нормы, представленные в таблице 24.

Таблица 24 - Оптимальные показатели микроклимата в лаборатории [59]

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

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

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

3) Лаборатория относится к категории особо опасных помещений по возможности поражения людей электротоком [60], так как характеризуется наличием химически активных и органических сред, разрушающих изоляцию и токоведущие части электрооборудования, а также повышенной влажностью при работе автоклава.

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

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

Электробезопасность работников лаборатории и студентов должна обеспечиваться выполнением следующих мероприятий:

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

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

4) Пожаро- и взрывоопасность в лаборатории обусловлена наличием оборудования, работающего под давлением, а также наличием легковоспламеняющихся жидкостей, электроприборов и электрооборудования. По классификации, приведенной в [61], микробиологическая лаборатория относится к пожаровзрывоопасным помещениям группы В1.

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

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

К факторам, порождаемым *химическими и физико-химическими свойствами* используемых или находящихся в рабочей зоне веществ и материалов, относится контакт с веществами: этиловым спиртом, пероксидом водорода, серной кислотой, хлоридом бария (Таблица 25). Предельно

допустимые концентрации (ПДК) определяются по [62], классы опасности – по [63].

Таблица 25 – Перечень опасных и вредных веществ, используемых в лаборатории

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

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

К факторам, порождаемым биологическими свойствами микроорганизмов, находящихся в биообъектах и (или) загрязняющих

материальные объекты производственной среды, относятся микроорганизмы *Rhodococcus ruber*.

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

- работники должны присутствовать в лаборатории в спецодежде, которую необходимо надевать при входе и снимать при выходе из помещения;

- при работе с биологическими агентами необходимо надевать перчатки;
- перенос биологического материала и использованной посуды для стерилизации необходимо осуществлять в закрывающихся емкостях, исключающих инфицирование во время транспортировки.

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

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

- обеззараживание рабочего места в ламинарном боксе также производится от 30-60 минут. Стерилизующая способность ламинарных боксов должна постоянно (не реже 6 месяцев) проверяться при помощи бактериологических питательных сред и фиксироваться также в журнале. - перед посевом следует разборчиво сделать надпись на пробирке (колбе или чашке Петри): название культуры и дату посева. Надпись делают маркером на стекле или на наклеенной этикетке.

5.3 Экологическая безопасность

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

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

2) Вредное воздействие на гидросферу может оказывать химическое и биологическое загрязнение водотоков в результате удаления биологических, неорганических и органических отходов в канализационную сеть населенных пунктов. Данное воздействие определяется в соответствии с [64] и [65]. Если сточные воды содержат вредные вещества в концентрациях, превышающих установленные нормы, то их следует подвергать предварительной очистке. Для предотвращения негативных воздействий проводится организации раздельного сбора и хранения биологических, неорганических и органических отходов, обезвреживание кислых и щелочных стоков, регенерация растворителей. Жидкий биоматериал поступает в дезинфицирующие растворы, где подвергается обезвреживанию.

3) В микробиологической лаборатории образуются твердые отходы в виде бытового мусора, выбрасываемого в урну, и твердый биоматериал класса Б (по классификации [66]). Твердый биоматериал и контактирующие с ним предметы должны быть удалены в мягкую упаковку (одноразовые пакеты, маркированные желтым цветом с надписью «медицинские отходы», закрепленные в урнах). После заполнения пакета примерно на 3/4 из него удаляется воздух и сотрудник, ответственный за сбор отходов, осуществляет его герметизацию. Транспортирование всех видов отходов класса Б вне пределов медицинского

подразделения осуществляется только в одноразовой упаковке после ее герметизации. Сбор и утилизацию отходов производят специальные службы.

5.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях

Чрезвычайные ситуации могут возникнуть как в результате несоблюдения правил безопасности и нахождения в лаборатории работниками, так и как следствия внешних антропогенных и неантропогенных влияний. В данном вопросе необходимо ориентироваться на [67].

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

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

Другим потенциальным антропогенным ЧС в микробиологической лаборатории является взрыв. Он может возникнуть в результате разгерметизации систем повышенного давления – автоклава. Разрушение или разгерметизация систем повышенного давления в зависимости от физико-химических свойств рабочей среды может привести к появлению одного или комплекса поражающих факторов:

- ударная волна (последствия - травматизм, разрушение оборудования и несущих конструкций и т.д.);
- возгорание зданий, материалов и т.п. (последствия - термические ожоги, потеря прочности конструкций и т.д.);

- химическое загрязнение окружающей среды (последствия - удушье, отравление, химические ожоги и т.д.).

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

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

Для исключения возможности несчастных случаев должны проводиться обучение и проверка знаний работников требований безопасности труда. Для предотвращения аварийных ситуаций в микробиологической лаборатории выполнялись следующие требования:

- 1) вход в биотехнологический блок посторонних лиц должен быть ограничен. Все сотрудники производят запись в журнале - начало и конец своей работы. При необходимости нахождения посторонних, они должны сопровождаться сотрудниками блока, их присутствие обязательно фиксироваться записью в журнале;

- 2) запрещается использовать материалы и средства личной гигиены, раздражающие кожу;

- 3) запрещается пипетировать ртом, переливать жидкий материал через край сосуда (пробирки, колбы с посевами);
- 4) запрещается употреблять пищу, курить;
- 5) запрещается сливать жидкие отходы в канализацию без предварительного обеззараживания;
- 6) запрещается оставлять после окончания работы на рабочих местах нефиксированные мазки или посуду с микроорганизмами;
- 7) оставлять без надзора рабочее место во время выполнения любого вида работ с микроорганизмами

Заключение

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведения ряда экспериментов получены результаты, которые позволяют делать общие выводы о влиянии органических солей лития на жизнеспособность бактерий *Rhodococcus ruber*:

2) Выявлено, что органические соли лития, такие как аскорбат, пируват, сукцинат не обладают токсичностью к бактериям вида *Rhodococcus ruber*.

3) Показано влияние органических солей лития на примере аскорбата, пирувата, сукцината на жизнеспособность бактерий *Rhodococcus ruber*. Данные соли при концентрации 20,7 ммоль/дм³ не являются токсичными для бактерий.

4) Концентрация аскорбата лития влияет на жизнеспособность бактерий и имеет сложный характер для концентрации 1,2 ммоль/дм³.

5) Пируват и сукцинат лития являются источниками питания энергии для бактерий *Rhodococcus ruber* и обладают стимулирующим эффектом при концентрации выше 12,1 ммоль/дм³. Вероятнее всего, пируват и сукцинат лития являются субстратами для данной культуры.

6) Установлено, что концентрация аскорбата лития 1,2 ммоль/дм³ стимулирует процесс деления, либо способствуют более благоприятному его протеканию, тогда как с ростом концентрации аскорбата лития ингибируется рост клеточного деления.

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

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СТУДЕНТА

1. Боломатова А.В., Чернова А.П. Исследование токсичности солей лития на жизнеспособность бактерий *Rhodococcus ruber* // Материалы XXI Международной научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулёва студентов и молодых ученых (Томск, 21– 24 сентября 2020 г.) / Томский политехнический университет. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2020.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Towards a Unified Understanding of Lithium Action in Basic Biology and its Significance for Applied Biology / E. Jakobsson [et al.] // The Journal of Membrane Biology. - 2017. - Vol. 250, N 6. - P.587-604
2. Лоуренс Д. Р, Бенитт П. Н. Клиническая фармакология: в 2-х томах. Том 2. / Пер. с англ. – Москва: Медицина, 1991. – 704 с.
3. Шуровский А.Г. Мочевая кислота и липиды в метаболизме кур // Биологическая характеристика лабораторных животных и экстраполяция на человека экспериментальных данных / АМН СССР; Под ред. А.М.Чернуха, В.А.Душкина . – Москва, 1981. – С.67-69.
4. Кудрявцев, П.Г. Литий: Мировые запасы и пер-. спективы применения [Текст] / П.Г. Кудрявцев // Ме-ждународный научный журнал «Альтернативная энергетика и экология» (ISJAEE). – 2016. – № 13–14. – С. 72–88.
5. Арустамян О.М., Ткачишин В.С., Кондратюк В.Е. Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина. Применение солей лития в медицине и признаки отравления ими. – 2018. – С.30 - 36.
6. Беккер Р.А., Быков Ю.В. Препараты лития в психиатрии, наркологии и неврологии (к 70-летию открытия Джона Кейда). Часть I. Историческая. Acta Biomedica Scientifica. – 2019. – С.72-80.
7. Nonaka S, Chuang D. M. Neuroprotective effects of chronic lithium on focal cerebral ischemia in rats. Neuroreport. - 1998; - P.2081—2084.
8. Xu J., Culman J., Blume A., Brecht S., Gohlke P. Chronic treatment with a low dose of lithium protects the brain against ischemic injury by reducing apoptotic death. Stroke. – 2003. - P.1287—1292.
9. Plotnikov E. Y., Kazachenko A. V., Vyssokikh M. Y., Vasileva A. K., Tcvirkun D. V., Isaev N. K., Kirpatovsky V. I., Zorov D. B. The role of mitochondria in oxidative and nitrosative stress during ischemia/reper-fusion in the rat kidney. Kidney Int. – 2007. – P.1493—1502.

10. Бобёр, Ю.Н. Использование лития карбоната в птицеводстве / Ю.Н. Бобёр, О.М. Каморник // Сельское хозяйство - проблемы и перспективы: сборник научных трудов в четырех томах / УО "Гродненский государственный аграрный университет". - Гродно: ГГАУ, 2006. - т. 3: Ветеринария. - С. 114-118.

11. Кутиицев, И. Воздействие лития глицината на цыплят / И.Кутиицев // Птицеводство. - 2006. - № 9. - С. 33.

12. Алисейко, Е. А. Биохимические показатели плазмы крови цыплят, вакцинированных против ИББ, на фоне применения препаратов лития / Е. А. Алисейко, И. Н. Громов, И. В. Орлова // Ученые записки учреждения образования "Витебская государственная академия ветеринарной медицины": научно-практический журнал. - Витебск: УО ВГАВМ, 2010. - Т. 46, вып. 1, ч. 1. - С. 8-10.

13. Галочкин В.А., Остренко К.С., Галочкина В.П. Повышение продуктивности бройлеров благодаря аскорбату лития // Птицеводство. - 2018. - N 6. - С.28-32.

14. Talab S. S., Emami H., Elmi A., Nezami B. G., Assa S., Deroee A. F., Daneshmand A., Tavangar S. M., Dehpour A. R. Chronic lithium treatment protects the rat kidney against ischemia/reperfusion injury: the role of nitric oxide and cyclooxygenase pathways. Eur. J. Pharmacol. – 2010. - P.171 — 177.

15. Wang Y., Huang W. C., Wang C. Y., Tsai C. C., Chen C. L., Chang Y. T., KaiJ. I., Lin C. F. Inhibiting glycogen synthase kinase-3 reduces endotoxaemic acute renal failure by down-regulating inflammation and renal cell apoptosis. Br.J. Pharmacol. - 2009. - P.1004—1013.

16. Asensio, J., Ruiz-Argüeso, T., Rodríguez-Navarro, Asensio, J et al. "Sensitivity of yeasts to lithium." Antonie van Leeuwenhoek 42. – 1976. – P.1-8.

17. Inhibitory Effect of Li⁺ on Cell Growth and Pyruvate Kinase Activity of Escherichia coli / K. Umeda [et al.] // Journal of bacteriology. - 1984. - Vol. 160, N 2. - P.812-814

18. Garcia-Olalla C., Garrido-Pertierra A. Purification and kinetic properties of pyruvate kinase isoenzymes of *Salmonella typhimurium* // *The Biochemical Journal*. - 1987. Vol. 241. - P.573-581.
19. Lithium toxicity and Na⁺(Li⁺)/H⁺ antiporter in *Escherichia coli* / K. Inaba [et al.] // *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. – 1994. – Vol. 17. – P.395-398.
20. Cox L.J., Dooley D., Beumer R. // *Food Microbiology*, 1990. – Vol.7.– P.311–325
21. Effect of Lithium on Growth Process of Environmental Microorganism by Microcalorimetry and SEM / Rong Li [et al.] // *Advanced Materials Research*. - 2014. -Vols 955-959. - P.445-449.
22. The in vitro effect of lithium on growth and adherence of *Streptococcus* mutants 6715 / A. Markitziu [et al.] // *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*. – 1992. – Vol. 2. – P.199-203.
23. Бирюков М. Изучение влияния солей лития на жизнеспособность бактерий *Acinetobacter calcoaceticus* / М. Бирюков, А. П. Чернова, Е. В. Плотников; науч. рук. А. П. Чернова // *Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XX Международной научно-практической конференции имени профессора Л. П. Кулёва студентов и молодых ученых, 20–23 мая 2019 г., г. Томск*. — Томск: Изд-во ТПУ, 2019. — С. 302-303.
24. Kawasaki, T. and Kayama, “Stimulatory effect of lithium ion on proline transport by whole cells of *Escherichia coli*.” *Journal of bacteriology*. – 1976. – Vol.128, N 1. – P.157-164.
25. Tsuchia T., Lopilato J., Wilson H. Effect of lithium ion on melibiose transport in *Escherichia coli* // *The Journal of Membrane Biology*. - 1978. - Vol. 42, N 1. - P.45-59.
26. Syed H.C., Ravaoarino M. LiF Reduces MICs of Antibiotics against Clinical Isolates of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria // *International Journal of Microbiology*. - 2012. - N 2.

27. Bingjun Q., Jung J., Zhao Y. Impact of Acidity and Metal Ion on the Antibacterial Activity and Mechanisms of β - and α -Chitosan // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. – 2015. – Vol. 175, N 6. – P.2972-2985.
28. Protection against *Klebsiella pneumoniae* Using Lithium Chloride in an Intra-gastric Infection Model / N. Tsao [et al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2015. – Vol. 59, N 3. – P.1525-1533.
29. Thermostable Bacterial Bioflocculant Produced by *Cobetia* Spp. Isolated from Algoa Bay (South Africa) / A. Ugbenyen [et al.] // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2012. – Vol. 9, N 6. – P.2108-2120.
30. Галынкин В.А., Кочеровец В.И., Габидова А.Э. Фармацевтическая микробиология. - 2-е изд., доп. и перераб. - М.: Арнебия, 2015. - 240 с.
31. Емцев В. Т., Мишустин Е.Н. Микробиология: учебник для бакалавров. - 8-е изд., испр. и доп. - М.: Издательство Юрайт, 2014. - 445 с.
32. Нетрусов А.И., Котова И.Б. Микробиология: учебник для студ. высш. заведений. - 3-е изд., испр. - М.: Издательский центр «Академия», 2009. - 352 с.
33. Серебренникова М.К., Тудвасева М.С., Куюкина М.С.. "Биологические способы очистки нефтезагрязненных сточных вод (обзор)" *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*. – 2015, N 1. - С. 15-30.
34. Ившина И. Б., Каменских Т. Н., and Анохин Б. А. "Адаптационные механизмы выживания алканотрофных родококков, реализованные в неблагоприятных условиях среды" *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*. 2007, N 5. – С.107-112.
35. Коронелли Т.В. Поступление углеводов в клетки микроорганизмов // *Успехи микробиологии*. 1996, N 6. - С. 579-585.
36. Гоголева О.А., Немцева Н.В. Угледородокисляющие микроорганизмы природных экосистем // *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал)*. 2012, N 2. - С. 1-7.
37. Лыонг Тхи Мо, Нечаева И.А., Понаморёва О.Н., Сатина В.Э. "Влияние физиологических особенностей бактерий рода *Rhodococcus* на деградацию н-

гексадекана" Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2016, N 1. – С. 90-98.

38. Осипенко М.А., Куюкина М.С., Каменских Т.Н., Ившина И.Б., Няшин Ю.И., Любивая О.В. "Математическая модель морфогенетического цикла бактерий рода *Rhodococcus*" Российский журнал биомеханики. 2010, N 4. - С. 26-34.

39. Ившина И.Б. Бактерии рода *Rhodococcus*: Иммунодиагностика, детекция, биоразнообразие: диссертация ... доктора биологических наук в форме науч. докл.: 14.00.36. - Пермь, 1997. - 98 с.

40. Ившина И.Б., Пшеничнов Р.А., Оборин А.А. Пропанокисляющие родококки. / Монография/. - Свердловск: УНЦ АН СССР, 1987. – 125 с.

41. Ившина И.Б., Куюкина М.С., Костарев С.М. Применение экологически безопасной экспрестехнологии очистки нефтезагрязненных почв и грунтов // Нефтяное хозяйство. 2003, N 9. – С. 116–118.

42. Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Philp J.C., Christofi N. Oil desorption from mineral and organic materials using biosurfactant complexes produced by *Rhodococcus* species // World J. Microbiol. Biotechnol. – 1998. – Vol. 14. – P. 711–717.

43. Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Makarov S.O., Litvinenko L.V., Cunningham C.J., Philp J.C. Effect of biosurfactants on crude oil desorption and mobilization in a soil system // Environment International. – 2005. – Vol. 31, N 2. – P. 155–161.

44. Philp J.C., Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Dunbar S.A., Christofi N., Lang S., Wray V. Alkanotrophic *Rhodococcus ruber* as a biosurfactant producer // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2002. – Vol. 59, N (2-3). – P. 318–324.

45. Патент RU 2223316. Штамм бактерий *Rhodococcus ruber* – продуцент нитрилгидратазы. / Демаков В.А., Максимов А.Ю., Аликин В.Н., Кузнецова М.В., Овечкина Г.В., Будников В.И., Федченко В.Н., Федченко Н.Н., Кузьмицкий Г.Э., Черешнев В.А., 2004. – 9 с.

46. Практикум по микробиологии: учебное пособие для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов [и др.]. - М.: Издательский центр «Академия», 2005. - 608 с.
47. Арушанян Э.Б. Хронофармакология препаратов лития (обзор) // Российский психиатрический журнал. - 2017. - N 6. - С.54-59.
48. Остренко К.В., Громова Ольга Алексеевна, Сардарян И.С., Демидов В.И., Жидоморов Н.Ю., Торшин И.Ю., Пронин А.В., Кривоногов В.А., and Карпунина Ю.В. "Эффективность аскорбата лития на модели хронической алкогольной интоксикации" Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2017. - N 1. – С.11-21.
49. Остренко К.С., Галочкин В.А., Галочкина В.П. "Влияние аскорбата лития на продуктивность свиней на откорме" журнал Нива Поволжья. – 2017. N 2 (47). – С.70-74.
50. Видяева И.Г., Серикова Г.Н., Гаврикова Н.А., Шаповалова Н.В., Тухватулина Л.Р., Криницына З.В. Экономика и управление производством. Расчет экономической части дипломного проекта: метод. указ. для студентов хим. спец. ИДО. - Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2014. – 36 с.
51. Фатхудинов Р. А. Инновационный менеджмент. – СПб.: Питер, 2008. – 448 с.
52. Барановский А.М., Кожевников Н.Н., Пирадова Н.В. Экономика промышленности: учеб. пособие для вузов. – М.: Изд-во МЭИ, 2007. – 345 с.
53. Волков О.И. Экономика предприятия. – М.: Инфра, 2013. – 690 с.
54. ГОСТ 12.1.008-76 ССБТ. Биологическая безопасность. Общие требования. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/5200275> (дата обращения 03.05.2020).
55. ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/5200233> (дата обращения 03.05.2020).

56. ГОСТ 12.2.032-78 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические требования. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200003913> (дата обращения 03.05.2020).

57. ГОСТ 22269-76 Система "Человек-машина". Рабочее место оператора. Взаимное расположение элементов рабочего места. Общие эргономические требования. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200012834> (дата обращения 03.05.2020).

58. ГОСТ 12.0.003-2015 ССБТ. Опасные и вредные производственные факторы. Классификация. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200136071> (дата обращения 03.05.2020).

59. СанПиН 2.2.4.548–96. Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений. – URL: <https://base.garant.ru/4173106/> (дата обращения 03.05.2020).

60. Правила устройства электроустановок (ПУЭ). Седьмое издание. – URL: <https://files.stroyinf.ru/Data1/7/7177/> (дата обращения 03.05.2020).

61. СП 12.13130.2009 Определение категорий помещений, зданий и наружных установок по взрывопожарной и пожарной опасности. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200071156> (дата обращения 03.05.2020).

62. ГН 2.2.5.3532–18. Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/557235236> (дата обращения 03.05.2020).

63. ГОСТ 32419-2013 Классификация опасности химической продукции. Общие требования. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200107879> (дата обращения 03.05.2020).

64. ГОСТ 17.1.3.06-82. Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к охране подземных вод. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200004387> (дата обращения 03.05.2020).

65. ГОСТ 17.1.3.13-86. Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к охране поверхностных вод от загрязнений. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200003200> (дата обращения 03.05.2020).

66. ГОСТ 30775-2001 Ресурсосбережение. Обращение с отходами. Классификация, идентификация и кодирование отходов. Основные положения. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200028877> (дата обращения 03.05.2020).

67. Федеральный закон от 21 декабря 1994 г. № 68-ФЗ. О защите населения и территорий от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера (с изменениями на 23 июня 2016 года). – URL: <http://docs.cntd.ru/document/9009935> (дата обращения 03.05.2020).