



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 18.03.01 Химическая технология  
Отделение школы (НОЦ) Отделение химической инженерии

### БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

Тема работы
<b>Флуориметрическая методика оценки влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий</b>

УДК 637.146.34:615.33:543.426

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д7Б	Патласова Светлана Евгеньевна		

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ ИШПР	Дёрина Ксения Владимировна	к.х.н.		

### КОНСУЛЬТАНТЫ ПО РАЗДЕЛАМ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОСГН ШБИП ТПУ	Спицына Любовь Юрьевна	к.э.н.		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Гуляев Милий Всеволодович	к.т.н., доцент		

### ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

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

## ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОСВОЕНИЯ ООП

### 18.03.01 Химическая технология

Образовательная программа: Химическая технология

Специализация: Химическая технология синтетических биологически активных веществ, химико-фармацевтических препаратов и косметических средств

Код компетенции	Наименование компетенции
<b>Универсальные компетенции</b>	
УК(У)-1	Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач
УК(У)-2	Способен определять круг задач в рамках поставленной цели и выбирать оптимальные способы их решения, исходя из действующих правовых норм, имеющихся ресурсов и ограничений
УК(У)-3	Способен осуществлять социальное взаимодействие и реализовывать свою роль в команде
УК(У)-4	Способен осуществлять деловую коммуникацию в устной и письменной формах на государственном языке Российской Федерации и иностранном(-ых) языке(-ах)
УК(У)-5	Способен воспринимать межкультурное разнообразие общества в социально-историческом, этическом и философском контекстах
УК(У)-6	Способен управлять своим временем, выстраивать и реализовывать траекторию саморазвития на основе принципов образования в течение всей жизни
<b>Общепрофессиональные компетенции</b>	
ОПК(У)-1	Способность и готовность использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности
ОПК(У)-2	Готовность использовать знания о современной физической картине мира, пространственно-временных закономерностях, строении вещества для понимания окружающего мира и явлений природы
ОПК(У)-3	Готовность использовать знания о строении вещества, природе химической связи в различных классах химических соединений для понимания свойств материалов и механизма химических процессов, протекающих в окружающем мире
ОПК(У)-4	Владение пониманием сущности и значения информации в развитии современного информационного общества, осознания опасности и угрозы, возникающих в этом процессе, способностью соблюдать основные требования информационной безопасности, в том числе защиты государственной тайны
ОПК(У)-5.	Владение основными методами, способами и средствами получения, хранения, переработки информации, навыками работы с компьютером как средством управления информацией
ОПК(У)-6	Владение основными методами защиты производственного персонала и населения от возможных последствий аварий, катастроф, стихийных бедствий
<b>Профессиональные компетенции</b>	
ПК(У)-1	Способность и готовность осуществлять технологический процесс в соответствии с регламентом и использовать технические средства для измерения основных параметров технологического процесса, свойств сырья и продукции

ПК(У)-2	Готовность применять аналитические и численные методы решения поставленных задач, использовать современные информационные технологии, проводить обработку информации с использованием прикладных программных средств сферы профессиональной деятельности, использовать сетевые компьютерные технологии и базы данных в своей профессиональной области, пакеты прикладных программ для расчета технологических параметров оборудования
ПК(У)-3	Готовность использовать нормативные документы по качеству, стандартизации и сертификации продуктов и изделий, элементы экономического анализа в практической деятельности
ПК(У)-4	Способность принимать конкретные технические решения при разработке технологических процессов, выбирать технические средства и технологии с учетом экологических последствий их применения
ПК(У)-5	Способность использовать правила техники безопасности, производственной санитарии, пожарной безопасности и нормы охраны труда, измерять и оценивать параметры производственного микроклимата, уровня запыленности и загазованности, шума, и вибрации, освещенности рабочих мест
ПК(У)-6	Способность налаживать, настраивать и осуществлять проверку оборудования и программных средств
ПК(У)-7	Способность проверять техническое состояние, организовывать профилактические осмотры и текущий ремонт оборудования, готовить оборудование к ремонту и принимать оборудование из ремонта
ПК(У)-8	Готовность к освоению и эксплуатации вновь вводимого оборудования
ПК(У)-9	Способность анализировать техническую документацию, подбирать оборудование, готовить заявки на приобретение и ремонт оборудования
ПК(У)-10	Способность проводить анализ сырья, материалов и готовой продукции, осуществлять оценку результатов анализа
ПК(У)-11	Способность выявлять и устранять отклонения от режимов работы технологического оборудования и параметров технологического процесса
ДПК(У)-1	Способность планировать и проводить химические эксперименты, проводить обработку результатов эксперимента, оценивать погрешности, применять методы математического моделирования и анализа при исследовании химико-технологических процессов
ДПК(У)-2	Готовность изучать научно-техническую информацию, отечественный и зарубежный опыт по тематике исследования

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

Школа Инженерная школа природных ресурсов

Направление подготовки (специальность) 18.03.01 Химическая технология

Уровень образования Бакалавриат

Отделение школы (НОЦ) Отделение химической инженерии

Период выполнения \_\_\_\_\_ (осенний / весенний семестр 2020 /2021 учебного года)

Форма представления работы:

бакалаврская работа
---------------------

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

### КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН выполнения выпускной квалификационной работы

Срок сдачи студентом выполненной работы:	07.06.2021
--	------------

Дата контроля	Название раздела (модуля) / вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
12.02.21	Литературный обзор	10
16.04.21	Материалы и методы	20
01.05.21	Обсуждение результатов	40
07.05.21	Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	10
19.05.21	Социальная ответственность	10
30.05.21	Выводы	10

#### СОСТАВИЛ:

##### Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ ИШПР	Дёрина Ксения Владимировна	к.х.н.		

#### СОГЛАСОВАНО:

##### Руководитель ООП

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



<p><b>Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов</b>  <i>(аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).</i></p>	<p>Литературный обзор по тематике научно-исследовательской работы.  Проведение эксперимента для достижения цели исследования.  Анализ результатов, полученных при проведении экспериментов.  Анализ экономической эффективности и ресурсоэффективности проекта.  Анализ рисков и опасностей, возникающих при проведении исследования.  Формирование выводов и заключений по работе.</p>
<p><b>Перечень графического материала</b>  <i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i></p>	<p>Графическое представление полученных результатов.</p>

<p><b>Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы</b>  <i>(с указанием разделов)</i></p>	
<p><b>Раздел</b></p>	<p><b>Консультант</b></p>
<p>Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение</p>	<p>Спицына Любовь Юрьевна</p>
<p>Социальная ответственность</p>	<p>Гуляев Милий Всеволодович</p>

<p><b>Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику</b></p>	<p>29.01.2021</p>
--	-------------------

**Задание выдал руководитель:**

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
<p>Доцент ОХИ ИШПР</p>	<p>Дёрина Ксения Владимировна</p>	<p>к.х.н.</p>		

**Задание принял к исполнению студент:**

Группа	ФИО	Подпись	Дата
<p>2Д7Б</p>	<p>Патласова Светлана Евгеньевна</p>		

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

Студенту:

<b>Группа</b>	<b>ФИО</b>
2Д7Б	Патласовой Светлане Евгеньевне

<b>Школа</b>	<b>ИШПР</b>	<b>Отделение школы (НОЦ)</b>	<b>ОХИ</b>
Уровень образования	Бакалавриат	Направление/специальность	18.03.01 Химическая технология

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

1. <i>Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих</i>	Бюджет проекта – не более 4000000 руб., в т.ч. затраты по оплате труда – не более 200000 руб.
2. <i>Нормы и нормативы расходования ресурсов</i>	Значение показателя интегральной ресурсоэффективности – не менее 4 баллов из 5
3. <i>Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования</i>	Отчисления во внебюджетные фонды – 30 %

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

1. <i>Оценка коммерческого потенциала, перспективности и альтернатив проведения НИ с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения</i>	Анализ потенциальных потребителей, анализ конкурентных технических решений, анализ внутренней и внешней среды проекта, анализ возможных альтернатив исследования
2. <i>Планирование и формирование бюджета научных исследований</i>	Определение этапов работ, определение трудоемкости работ, разработка графика Ганта, определение затрат на исследование
3. <i>Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования</i>	Определение сравнительной эффективности исследования

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

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

<b>Дата выдачи задания для раздела по линейному графику</b>	29.01.2021
---	------------

**Задание выдал консультант:**

<b>Должность</b>	<b>ФИО</b>	<b>Ученая степень, звание</b>	<b>Подпись</b>	<b>Дата</b>
доцент ОСГН ШБИП ТПУ	Спицына Любовь Юрьевна	К.Э.Н.		

**Задание принял к исполнению студент:**

<b>Группа</b>	<b>ФИО</b>	<b>Подпись</b>	<b>Дата</b>
2Д7Б	Патласова Светлана Евгеньевна		

## ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»

Студенту:

Группа 2Д7Б	ФИО Патласова Светлана Евгеньевна
----------------	--------------------------------------

Школа Уровень образования	ИШПР Бакалавриат	Отделение школы (НОЦ) Направление	ОХИ 18.03.01 Химическая технология
------------------------------	---------------------	--------------------------------------	---------------------------------------

Тема ВКР:

Флуориметрическая методика оценки влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий

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

1. Характеристика объекта исследования.	Объектом исследования является флуориметрическая методика оценки влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий Область применения: фармацевтическая промышленность Рабочая зона: научно-исследовательская лаборатория 2 корпуса НИ ТПУ
---	--

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

<b>1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности.</b>	Рассмотреть специальные правовые нормы трудового законодательства; организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны (научно-исследовательская лаборатория 2 корпуса НИ ТПУ).
<b>2. Производственная безопасность</b>	Анализ потенциально возможных вредных и опасных факторов проектируемой производственной среды. Разработка мероприятий по снижению воздействия вредных и опасных факторов <ul style="list-style-type: none"> <li>– неудовлетворительный микроклимат;</li> <li>– поражение электрическим током;</li> <li>– повышенные уровни шума и вибрации на рабочем месте;</li> <li>– токсичные вещества, используемые в работе;</li> <li>– недостаточная освещенность рабочей зоны.</li> </ul> Выводы на соответствие допустимым условиям труда согласно специальной оценке условий труда
<b>3. Экологическая безопасность</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– анализ воздействия объекта на литосферу (отходы, утилизация компьютерной техники и периферийных устройств);</li> <li>– решение по обеспечению экологической безопасности.</li> </ul>



<b>4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Анализ возможных ЧС при разработке и эксплуатации проектируемого решения;</li> <li>– выбор наиболее типичной ЧС;</li> <li>– разработка превентивных мер по предупреждению ЧС;</li> <li>– разработка действий в результате возникшей ЧС и мер по ликвидации её последствий.</li> <li>– Пожаровзрывоопасность (причины, профилактические мероприятия, первичные средства пожаротушения)</li> </ul>
--	---

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	29.01.2021
--	------------

**Задание выдал консультант:**

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Гуляев Милий Всеволодович	к.т.н., доцент		

**Задание принял к исполнению студент:**

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д7Б	Патласова Светлана Евгеньевна		

## РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа включает 124 страницы, 31 рисунок, 38 таблиц, 60 источников.

Ключевые слова: доксорубицин, лактобактерии, флуоресцентные методы анализа, флуориметрия, противоопухолевые антибиотики

Объектами исследования являются лекарственные препараты «Лактобактерин» и «Доксорубицин».

Цель работы: разработка флуориметрической методики оценки влияния доксорубицина на жизнеспособность лактобактерий.

В результате исследования разработана флуориметрическая методика оценки влияния доксорубицина на лактобактерии. Подобраны условия проведения исследования влияния доксорубицина на лактобациллы.

Область применения: фармацевтическая промышленность, контроль качества лекарственных препаратов.

Степень внедрения:

1. Патласова С. Е. Флуориметрическая методика оценки влияния систем таргетированной терапии онкозаболеваний на нормальную флору человека / С. Е. Патласова ; науч. рук. К. В. Дёрина // Химия и химическая технология в XXI веке : материалы XXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л. П. Кулёва и Н. М. Кижнера, посвященной 110-летию со дня рождения профессора А. Г. Стромберга, 21–24 сентября 2020 г., г. Томск. — Томск : Изд-во ТПУ, 2020. — [С. 281-282].

2. Патласова С. Е. Применение *Lactobacillus* в качестве индикатора безопасности систем направленной доставки лекарств / С. Е. Патласова ; науч. рук. К. В. Дёрина // Химия и химическая технология в XXI веке : материалы XXII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л. П. Кулёва и Н. М. Кижнера, 17–20 мая 2021 г., г. Томск. — Томск : Изд-во ТПУ, 2021. — [С. 320-321].

3. Дёрина К. В. , Патласова С. Е. Применение фталоцианина кобальта для электроокисления NADH // X юбилейная Всероссийская конференция по электрохимическим методам анализа "ЭМА-2020": тезисы докладов, Казань, 16-19 Ноября 2020. - Казань: Изд-во КФУ, 2020 - С. 84-85

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ВКР – выпускная квалификационная работа

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

КОЕ – колониобразующая единица

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

NAD – никотинамидадениндинуклетотид в окисленной форме

NADH – никотинамидадениндинуклеотид в восстановленной форме

NADP – никотинамидадениндинуклетотид фосфат в окисленной форме

NADPH – никотинамидадениндинуклеотид фосфат в восстановленной форме

НТИ – научно-техническое исследование

ПДК – предельно допустимая концентрация

ГН – гигиенические нормативы

МУК – методические указания

ЧС – чрезвычайные ситуации

СИЗ – средства индивидуальной защиты

## Оглавление

ВВЕДЕНИЕ .....	17
1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР .....	19
1.1 Физические свойства и применение доксорубицина .....	19
1.2 Характеристика бактерий рода <i>Lactobacillus</i> .....	21
1.3 Люминесцентный анализ .....	22
1.4 Методы оценки антимикробной активности лекарственных препаратов на микроорганизмы.....	28
1.4.1 Методы серийных разведений.....	29
1.4.2 Диффузионные методы .....	30
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	31
2.1 Оборудование, объекты исследования и реактивы .....	31
2.1.1 Оборудование.....	31
2.1.2 Объекты исследования .....	34
2.1.3 Реактивы .....	35
2.2 Методика исследований .....	36
2.2.1 Методика определения флуоресцентных свойств лекарственного препарата «Лактобактерин».....	36
2.2.2 Методика исследования флуоресцентных свойств бактерий рода <i>Lactobacillus</i> .....	36
2.2.3 Методика определения мешающего влияния вспомогательных компонентов препарата «Лактобактерин» .....	39
2.2.4 Методика исследования флуоресцентных свойств триптофана и NADH .....	39
2.2.5 Методика определения флуоресцентных свойств противоопухолевого препарата «Доксорубицин-Тева» (Teva Pharmaceutical Industries).....	40

2.2.6	Методика определения влияния доксорубицина на жизнеспособность лактобактерий методом флуориметрии .....	41
3	ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	42
3.1	Исследование флуоресцентных свойств пробиотического препарата «Лактобактерин» (Микроген) .....	42
3.1.1	Исследование люминесцентных свойств бактерий рода <i>Lactobacillus</i> .....	43
3.1.2	Исследование мешающего влияния вспомогательных компонентов пробиотического препарата «Лактобактерин» (Микроген) .....	45
3.1.3	Определение времени жизни и определение вида процесса люминесценции .....	46
3.2	Исследование флуоресцентных свойств триптофана и NADH .....	49
3.3	Исследование флуоресцентных свойств противоопухолевого препарата «Доксорубин-Тева» (Teva Pharmaceutical Industries) .....	55
3.4	Определение влияния доксорубицина на жизнеспособность лактобактерий методом флуориметрии .....	57
3.5	Метрологические характеристики флуориметрической методики оценки влияния доксорубицина на жизнеспособность лактобактерий .....	61
3.5.1	Оценка показателей прецизионности (повторяемости, внутрилабораторной прецизионности) результатов анализа .....	61
3.5.2	Оценка показателей правильности результатов анализа .....	65
3.5.3	Оценка показателя точности результатов анализа .....	68
3.5.4	Оценка пределов обнаружения и определения .....	69
4	ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ .....	70
4.1	Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения .....	71

4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования .....	71
4.1.2. Анализ конкурентных технических решений.....	72
4.1.3. SWOT-анализ .....	74
4.2 Определение возможных альтернатив проведения научных исследований .....	78
4.3. Планирование научно-исследовательских работ .....	80
4.3.1 Структура работ в рамках научного исследования.....	80
4.3.2 Определение трудоемкости выполнения работ.....	81
4.3.3. Разработка графика проведения научного исследования.....	82
4.4. Бюджет научно-технического исследования (НТИ) .....	86
4.4.1. Расчет материальных затрат НТИ.....	86
4.4.2 Расчет затрат на оборудование для научно-экспериментальных работ .....	89
4.4.3 Основная заработная плата исполнителей .....	90
4.4.4 Дополнительная заработная плата исполнителей .....	92
4.4.5 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления).....	93
4.4.6 Накладные расходы .....	93
4.4.7 Формирование бюджета затрат НТИ.....	94
4.5. Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования.....	95
5 СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ.....	98
5.1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности .....	99
5.1.1. Специальные (характерные для проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства.....	99
5.1.2. Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны .....	100

5.2. Производственная безопасность .....	101
5.2.1. Анализ потенциально возможных и опасных факторов, которые могут возникнуть на рабочем месте при проведении исследований .....	101
5.2.2. Разработка мероприятий по снижению воздействия вредных и опасных факторов .....	102
5.3. Экологическая безопасность.....	109
5.3.1. Анализ влияния объекта исследования на окружающую среду .....	110
5.3.2. Анализ влияния процесса исследования на окружающую среду.....	111
5.4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях .....	112
5.4.1. Анализ вероятных ЧС, которые может инициировать объект исследований и обоснование мероприятий по предотвращению ЧС .....	112
5.4.2. Анализ вероятных ЧС, которые могут возникнуть при проведении исследований и обоснование мероприятий по предотвращению ЧС .....	113
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	116
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ .....	117
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....	118



## ВВЕДЕНИЕ

Онкологические заболевания, по данным ВОЗ, являются одной из основных причин смерти в мире. В 2020 году от данного заболевания умерло почти 10 миллионов человек и зафиксировано 19,3 миллиона новых случаев [1]. Существуют различные противоопухолевые антибиотики. В основном находят применение антрациклиновые препараты (доксорубицин), блеомицин, дактиномицин, митомицин и др. Они обладают в своем большинстве, достаточно высокой противоопухолевой активностью. Однако основным их недостатком является высокая токсичность на здоровые системы человека. Данная группа препаратов оказывает побочные эффекты на сердечно-сосудистую систему, систему желудочно-кишечного тракта, влияют на нормальную флору человека, а также вызывают аллергические реакции.

Нормальная флора кишечника играет важную роль в организме человека. Она выполняет защитную функцию (предотвращает развитие патогенных микроорганизмов) иммуномодулирующую функцию и пищеварительную функцию, регулирует перистальтику кишечника, а также участвует в создании ряда необходимых веществ для организма человека (витамины группы В, фолиевая кислота и др.). Микрофлора человека представляет собой совокупность микроорганизмов различных видов. Так, лактобактерии являются представителями нормальной микрофлоры человека. Нарушение микрофлоры человека влечет за собой ряд негативных последствий, а именно вызывает изменения в работе различных физиологических систем, что влечет за собой развитие различных патологий (от аллергии до нарушения работы иммунной системы). Поэтому исследование влияния противоопухолевых антибиотиков на микрофлору человека является важной задачей.

На данный момент антимикробное воздействие лекарственных препаратов на бактерии определяют методами микробиологии (методы серийных разведений и диффузионные методы), которые достаточно трудоемки

и длительны в исполнении. Кроме того, исследователю необходимо иметь навыки работы в микробиологической лаборатории [2].

Метод флуоресцентного анализа (флуориметрии) при оценке влияния препаратов на микроорганизмы более экспрессен и менее трудоемок.

Данная научно-исследовательская работа направлена на исследование влияния противоопухолевого препарата на лактобациллы.

**Цель работы:** разработка флуориметрической методики оценки влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий.

Для достижения поставленной цели необходимо выполнить следующие **задачи:**

- получить флуориметрический сигнал от препарата «Лактобактерин»;
- определить природу получаемого сигнала;
- провести подбор рабочих условий определения содержания лактобактерий флуориметрическим методом;
- исследовать влияние доксорубина на жизнеспособность лактобактерий;
- рассчитать метрологические характеристики полученной методики.

### **Научная новизна**

Разработана флуориметрическая методика оценки влияния доксорубина на лактобактерии. Подобраны условия проведения исследования влияния доксорубина на лактобациллы.

### **Практическая значимость**

Разработанная флуориметрическая методика может применяться в фармацевтической сфере для оценки влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий. Также данная методика может быть использована для количественного определения содержания доксорубина в пробе по влиянию на лактобациллы.

# 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

## 1.1 Физические свойства и применение доксорубицина

Доксорубицин – это твердое кристаллическое или аморфное вещество от оранжево-красного до красного цвета с молекулярной массой 580,0 г/моль. Растворим в воде, трудно растворим в метаноле, практически не растворим в ацетоне, не растворим в неполярных органических растворителях [3, 4]. Его структурная формула приведена на рисунке 1.1.

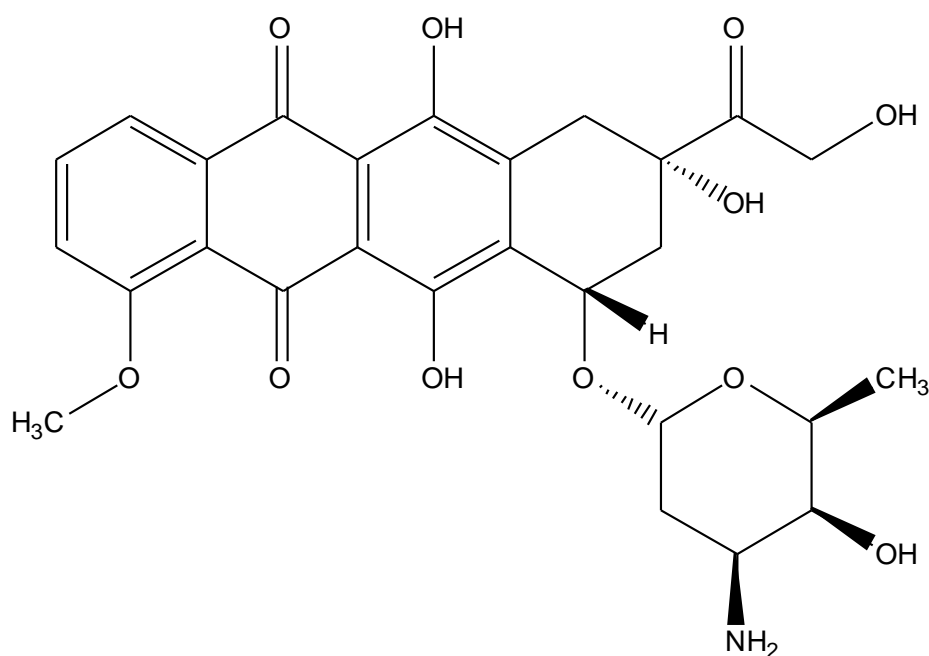


Рисунок 1.1 – Структурная формула доксорубицина

Данное вещество нашло применение в медицине. В противоопухолевой терапии используется в форме гидрохлорида. Доксорубицина гидрохлорид представляет собой цитотоксический противоопухолевый антибиотик антрациклинового ряда. Лекарственная форма данного препарата – это лиофилизат для приготовления раствора для внутрисосудистого и внутрипузырного введения. Впервые был получен из культуральной среды микроорганизмов-стрептомицетов. На данный момент в основном

производится полусинтетически. Данный лекарственный препарат является одним из самых эффективных противоопухолевых антибиотиков, которые применяются при злокачественных опухолях в рамках химиотерапии. К тому же он может использоваться при различных видах рака: рак молочной железы, рак щитовидной железы, рак мочевого пузыря, рак желудка, рак яичников, неходжкинские лимфомы, саркома Капоши и др. [5, 6].

Механизм действия данного препарата носит комплексный характер. Доксорубин является интеркалятором (т.е. он способен встраиваться между двумя нитями молекулы ДНК). Интеркаляция способствует нарушению расщепления ДНК при действии топоизомеразы II, что ведет к нарушению структуры и функции ДНК. Также действие доксорубина осуществляется за счет появления разрывов ДНК в результате действия свободных радикалов, образовавшихся при воздействии микросом клеток на антрациклины. Кроме того, доксорубин может связываться с липидами клеточных мембран и, соответственно, нарушать их функции. Данное вещество обладает высокой апоптотической активностью [7, 8].

Однако наряду с высокой эффективностью доксорубин обладает и высокой токсичностью по отношению к здоровым системам человека. Данный препарат имеет побочные эффекты практически на все физиологические системы человека: на органы желудочно-кишечного тракта, на мочеполовую систему, на кожные покровы, а также вызывает аллергические реакции. Однако наибольшую токсичность доксорубин проявляет в отношении сердечно-сосудистой системы. Основой токсического действия считается воздействие антрациклина на митохондриальное дыхание (нарушение транспорта электронов и негативное влияние на синтез аденозинтрифосфата), за счет чего нарушаются энергетические процессы клетки. Кроме того, связывание доксорубина с липидами, образование свободных радикалов, гибель эндотелиальных клеток, апоптоз кардиомиоцитов также вносят вклад в токсическое действие данного препарата [9-12].

## 1.2 Характеристика бактерий рода *Lactobacillus*

Лактобактерии или лактобациллы – грамположительные молочнокислые бактерий рода *Lactobacillus*, которые являются факультативными анаэробами, иногда микроаэрофилами. К основным видам лактобактерий, присутствующих в организме человека, относят *Lactobacillus acidophilus*, *L. Plantarum*, *L. casei*, *L. salivarius*, *L. fermentum*, *L. Brevis*, *L. buchneri*. Данные микроорганизмы обладают сахаролитическим характером метаболизма (углеводы сбраживают под действием ферментов с образованием короткоцепочных жирных кислот). Световая микроскопия нескольких видов лактобацилл приведена на рисунке 1.2 [13, 14].

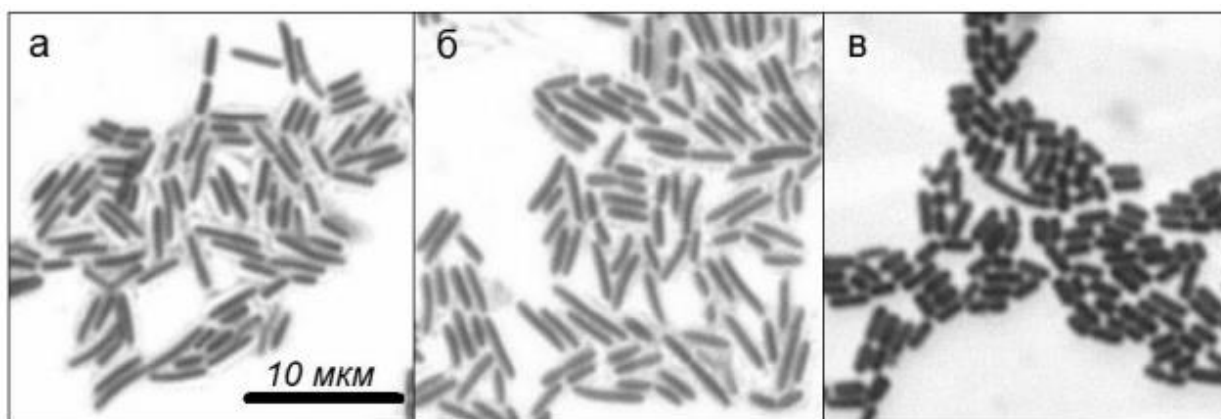


Рисунок 1.2 – Световая микроскопия *L. acidophilus* N.V. EP 317/402 (а), *L. bulgaricus* 51 (б) и *Lactobacillus* sp.

Лактобациллы являются важным представителем нормальной флоры человека, основным местом обитания данных бактерий являются различные отделы желудочно-кишечного тракта, максимальное количество наблюдается в толстом кишечнике (до  $10^9$  КОЕ/г). В целом количество лактобактерий напрямую зависит от питания человека. Лактобактерии выполняют в организме иммуномодулирующую функцию, так как они обладают антагонистической активностью в отношении патогенных микроорганизмов [13, 14].

Лактобактерии широко применяются в пищевой промышленности. Они входят в состав в молочных, кисломолочных продуктов, сыров, используются в производстве колбас, приготовлении теста, кофе, алкогольных напитков и др. Масштабное использование лактобацилл обусловлено их стерилизующим и консервирующим свойствами. Так как данные бактерии оказывают положительное влияние на нормальную флору и здоровье человека, они используются в качестве пробиотиков или эубиотиков (например, лекарственный препарат «Лактобактерин»). Пробиотики оказывают положительное воздействие на организм человека за счет угнетения роста нежелательных микроорганизмов, улучшения функций желудочно-кишечного тракта, а также взаимодействия с иммунной системой человека [13, 14].

### 1.3 Люминесцентный анализ

Оптические методы анализа, основанные на явлении люминесценции (способность частиц различной сложности строения излучать свет в результате действия возбуждающих факторов), в совокупности представляют собой люминесцентный анализ. Люминесценция возникает в результате поглощения частицами поступающей энергии, их перехода в возбужденное состояние и последующего возвращения в основное состояние излучательным путем. Также переход частиц из возбужденного состояния в основное может происходить безызлучательным путем (передача энергии в виде тепла). Наглядно данные процессы отражает диаграмма Яблонского, приведенная на рисунке 1.3 [15-18].

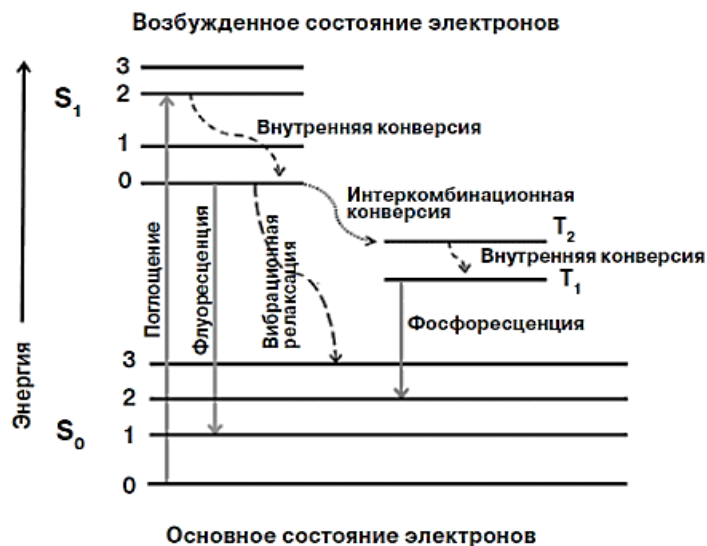


Рисунок 1.3 – Диаграмма Яблонского

Горизонтальные линии — энергетические уровни электронов:  $S_0$  — основное состояние;  $S_1$  — синглетное возбужденное состояние; 0-3 — квантованные подуровни;  $T_1, T_2$  — квантованные уровни триплетного возбужденного состояния. Стрелками показаны переходы электронов в разные энергетические состояния

Вероятность переходов, отображенных на рисунке 3, различна. Она тем больше, чем меньше время осуществления перехода (Таблица 1.1). Флуоресценция и фосфоресценция – это маловероятные переходы, именно поэтому множество частиц, будучи способными к поглощению излучения, не способны излучать свет. Флуоресценция – это наиболее вероятный излучательный переход [17, 18].

Таблица 1.1 – Временные интервалы переходов электронов между разными энергетическими состояниями

Наименование перехода	Временной интервал, с
Поглощение	$10^{-15}$
Внутренняя конверсия	$10^{-14} \div 10^{-11}$
Вибрационная релаксация	$10^{-14} \div 10^{-11}$
Флуоресценция	$10^{-9} \div 10^{-7}$
Интеркомбинационная конверсия	$10^{-8} \div 10^{-3}$
Фосфоресценция	$10^{-4} \div 10^{-1}$

Длина волны возбуждения не влияет на форму спектра люминесценции в силу того, что процесс испускания электронов происходит только с нижнего уровня первого возбужденного состояния (правило Вавилова). Спектр люминесценции всегда располагается в более длинноволновой области, чем спектр поглощения вещества. Это закон Стокса-Ломмеля, он объясняется тем, что лишь часть поглощенной энергии расходуется на процесс люминесценции, а другая часть преобразуется в тепло (безызлучательные переходы) [15, 18].

Наличие двойной связи и сопряженных систем в веществе определяет длину волны, при которой оно будет поглощать излучение. При этом группы атомов, отвечающие за поглощение, называют хромофорами, а группы атомов, способные усиливать поглощение или смещать его длин волны, называют ауксохромы. По аналогии с хромофором при описании явлений люминесценции, выделяют флуорофоры – соединения, которые способны излучать свет при возбуждении светом. Для флуорофоров характерно наличие плоских, циклических фрагментов с сопряженными связями, нескольких ароматических групп [19-22].

Клетки живых организмов обладают собственной люминесценцией, обусловленной ее структурными компонентами и компонентами метаболизма. Эндогенных люминесцирующих соединений достаточно много, в любой области спектра лежат их полосы излучения. Рассмотрим наиболее важные соединения. Так, ультрафиолетовая люминесценция клетки обусловлена белками, как входящими в структурный состав клетки, так и участвующими в ее метаболизме. Люминесценция белков обусловлена наличием в их структуре остатков аминокислот, а именно ароматических аминокислот (триптофан, тирозин и фенилаланин, их спектры люминесценции приведены на рисунке 1.4). Данные аминокислоты имеют несколько различающиеся максимумы спектра, однако квантовый выход (отношение числа излученных квантов люминесценции к числу квантов поглощенного возбуждающего излучения) триптофана значительно выше, чем у двух других аминокислот. Поэтому его



спектр люминесценции является преобладающим в ультрафиолетовой люминесценции клетки. Длина волны возбуждения для триптофана находится в области 280 нм, а максимум люминесценции в диапазоне от 310 до 370 нм (структурная формула триптофана приведена на рисунке 1.5). Такой широкий диапазон люминесценции триптофана обусловлен зависимостью положения сигнала от окружения данной аминокислоты. Интенсивность данного вида люминесценции характеризует физиологическое состояние клетки, отражая функциональное состояние митохондрий, сократительного аппарата, ядрышек [15, 23].

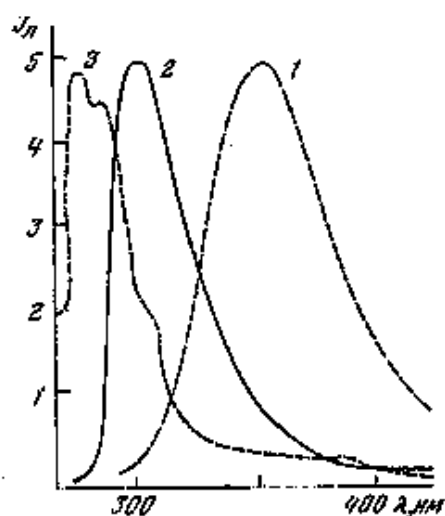


Рисунок 1.4 – Спектры люминесценции аминокислот в нейтральном водном растворе при комнатной температуре: 1 – триптофан; 2 – тирозин; 3 – фениланин

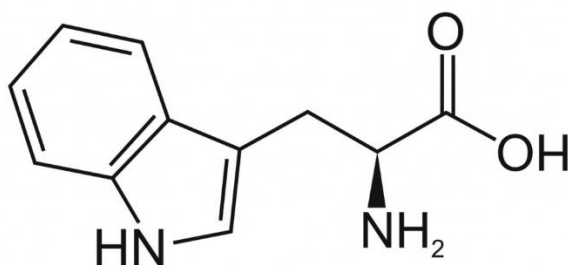


Рисунок 1.5 – Структурная формула триптофана

В видимой области располагаются спектры люминесценции компонентов энергетического обмена клеток, основные из них восстановленные пиридиннуклеотиды (NAD и NADP) и окисленные флавопротеины. Длина волны возбуждения восстановленной формы NAD (NADH, структурная формула приведена на рисунке 1.6) составляет 340 нм, а максимум люминесценции располагается в области от 440 до 480 нм (обусловлено возможным связыванием с дегидрогеназами). Спектры поглощения и люминесценции окисленной и восстановленной формы NAD приведены на рисунке 1.7). Переход NAD из окисленной формы в восстановленную форму приведен на рисунке 1.8 [23, 24].

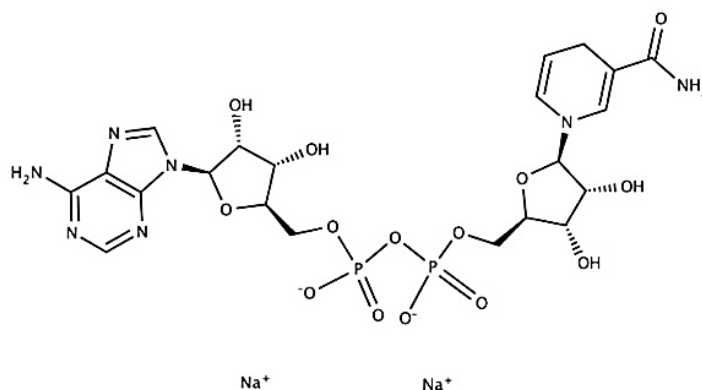


Рисунок 1.6 – Структурная формула динатриевой соли NADH

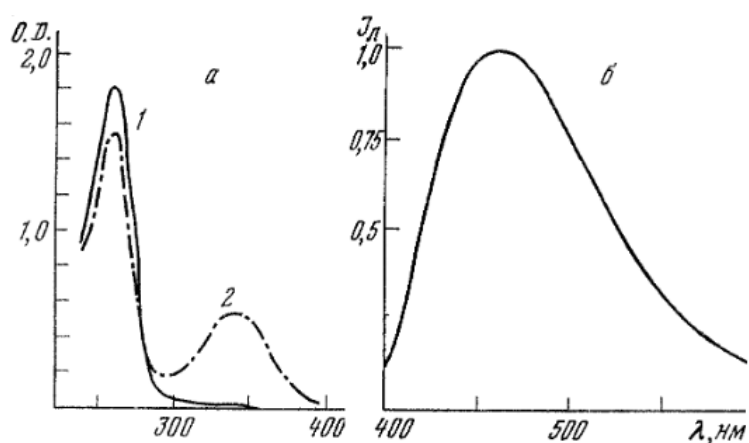


Рисунок 1.7 – Спектры поглощения водного раствора NAD в окисленной (1) и восстановленной (2) формах (а) и спектр люминесценции (б) восстановленной формы NAD

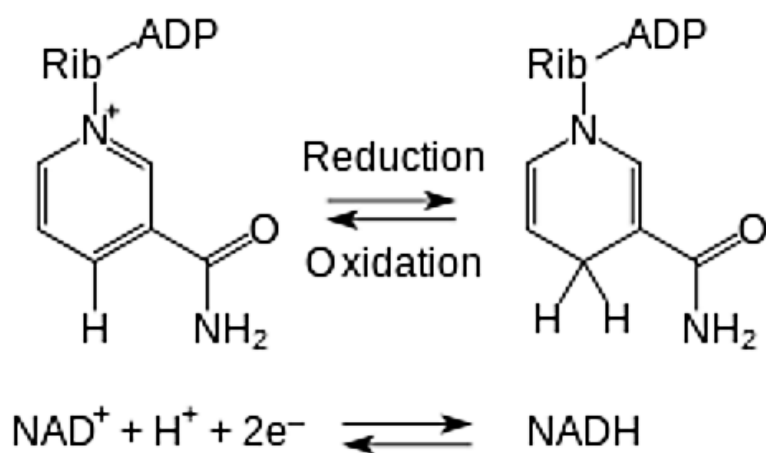


Рисунок 1.8 – Схема окисления и восстановления NAD

### 1.3.1 Флуоресцентный метод анализа

Флуориметрия, флуоресцентная спектрофотометрия или флуоресцентный метод анализа – это метод анализа, основанный на измерении флуоресценции (вид люминесценции, время жизни которого находится в диапазоне от  $10^{-9}$  до  $10^{-7}$  с). Органические соединения флуоресцируют в области от 200 до 830 нм. Длина волны, соответствующая максимуму флуоресценции, смещена на 20 и более нм в длинноволновую область относительно длины волны возбуждения (Стоксов сдвиг). Поэтому спектр флуоресценции снимают со смещением в 20÷40 нм относительно длины волны возбуждения. Спектр флуоресценции представляет собой распределение интенсивности излучения по длинам волн (реже частотам) [15, 25].

Интенсивность флуоресценции зависит от таких факторов, как температура, растворитель, pH исследуемого раствора, примеси и др. Для того чтобы исключить влияние данных параметров, осуществляют специальную пробподготовку и подбирают необходимые рабочие условия анализа [15, 25].

Флуоресцентный метод анализа нашел применение в аналитической практике. С помощью данного метода осуществляют качественный анализ соединений (по цвету флуоресценции) и количественный анализ (по зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации вещества). В

основе количественного анализа лежит линейная зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации [15, 25]:

$$I = k \cdot C,$$

где  $I$  – интенсивность флуоресценции,  $k$  – коэффициент пропорциональности,  $C$  – концентрация определяемого вещества.

Данная зависимость выполняется при выполнении закона Вавилова, упомянутого ранее. Поэтому при выполнении флуоресцентного анализа необходимо соблюдать ряд условий. Исследуемый раствор должен быть сильно разбавленным (приблизительно  $10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup> и менее) для предотвращения концентрационного тушения (при высокой концентрации соединения возрастает вероятность столкновения частиц и, соответственно, возрастает вероятность безызлучательного перехода энергии). Примеси, способные увеличивать или снижать интенсивность флуоресценции, необходимо предварительно удалить. Также необходимо контролировать температуру исследуемого раствора, чтобы избежать температурного тушения люминесценции [15].

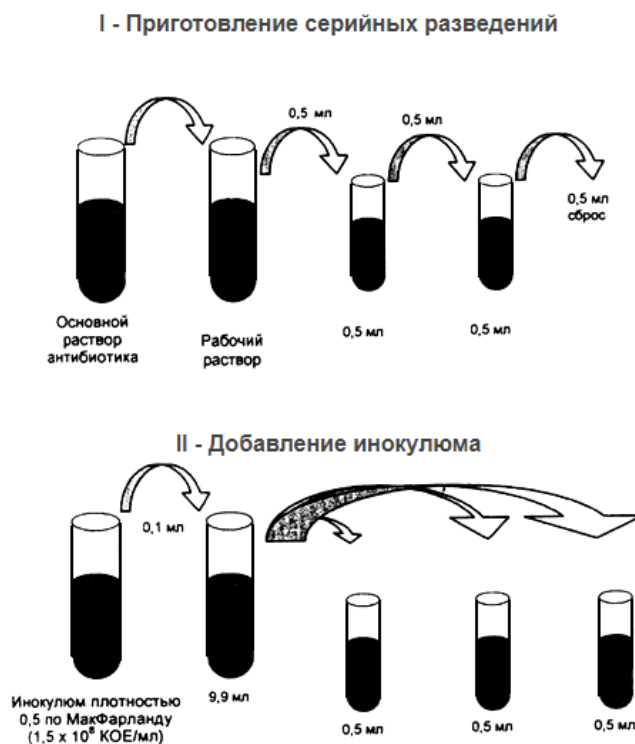
#### 1.4 Методы оценки антимикробной активности лекарственных препаратов на микроорганизмы

На данный момент широко используется две группы методов определения чувствительности бактерий к антимикробной активности лекарственных препаратов: диффузионные методы (основаны на диффузии лекарственного препарата в питательную среду) и методы серийных разведений (основаны на использовании последовательных разведений концентраций лекарственного препарата). При этом каждый метод предполагает выполнения ряда обязательных действий: приготовление питательных сред и суспензии бактерий, инокуляция, инкубация и анализ результатов.

### 1.4.1 Методы серийных разведений

Важным этапом данной группы методов является приготовление растворов активной субстанции лекарственного препарата. Основные растворы готовят в концентрации не менее  $1000 \text{ мкг/см}^3$ . Из основных растворов готовят рабочие растворы, которые являются основой для приготовления двойных последовательных разведений растворов активной субстанции: от максимальной концентрации к минимальной, например, от 256; 128 и т.д.  $\text{мкг/см}^3$  до 0,5; 0,25 и т.д.  $\text{мкг/см}^3$  [26-28].

Исследуемую субстанцию вносят в питательную среду в различных концентрациях, затем добавляют суспензию бактерий (стандарт мутности 0,5 по McFarland). После инкубации в течение 20÷24 часов при определенной температуре, обычно не превышающей  $40^\circ\text{C}$  (условия корректируются в зависимости от вида микроорганизмов), ведут учет полученных результатов. Его осуществляют визуально или спектрофотометрически путем сравнения с образцом, в который добавка субстанции не проводилась. Алгоритм метода серийных разведений приведен на рисунке 1.9 [26, 27].



Метод серийных разведений относится к количественным методам, обладает высокой воспроизводимостью, может быть использован для различных микроорганизмов при широком диапазоне концентраций. Однако данный метод достаточно трудоемкий и длительный.

#### 1.4.2 Диффузионные методы

В данной группе методов выделяют диско-диффузионный метод и метод, осуществляемый с помощью E-теста. Для диско-диффузионного метода готовят плотную питательную среду, которую затем в расплавленном состоянии вносят в чашку Петри (толщина слоя питательной среды должна составлять 4 мм) и дают застыть. Далее наносят на поверхность питательной среды суспензию бактерий (стандарт мутности 0,5 по McFarland) и помещают диски, содержащие определенное количество исследуемой субстанции. Диффузия активного вещества в среду становится причиной подавления роста бактерий (формируются зоны) при наличии у него антимикробных свойств. После инкубации в течение 20÷24 часов при определенной температуре, обычно не превышающей 40°C (условия корректируются в зависимости от вида микроорганизмов), ведут учет полученных результатов путем измерения диаметра зоны подавленного роста бактерий [26, 27].

Данным методом в работе [29] было проведено исследование влияния противоопухолевого антибиотика (доксорубицина) на жизнеспособность лактобактерий. Доксорубицин оказывает антибиотическое действие на лактобациллы.

Диско-диффузионный метод имеет следующие достоинства: обладает достаточно высокой воспроизводимостью, доступность, распространенность. В качестве недостатков стоит отметить длительность и трудоемкость метода, а также его принадлежность к полуколичественным методам.

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Оборудование, объекты исследования и реактивы

#### 2.1.1 Оборудование

Разработка методики в рамках данной научно-исследовательской работы осуществлялась на спектрофлуориметре «Флюорат-02-Панорама» («Люмэкс», г. Санкт-Петербург). Данный прибор также аттестован как анализатор «Флюорат-02», соответственно, он может быть использован для определения массовой концентрации веществ в соответствии с утверждёнными методиками [30].

Области применения данного прибора весьма разнообразны. Он находит свое применение в экологической сфере деятельности (исследования биопродуктивности водоемов, процессов биodeградации нефтепродуктов в водоемах и др.), в медицинских исследованиях (исследования свечения биопрепаратов, бактерий и т.д.), на производстве (анализ люминофоров, контроль спектральных характеристик бумаги и др.), в геологии и судебной экспертизе, а также в научных исследованиях.

Данный спектрофлуориметр предназначен для исследования спектров возбуждения и регистрации люминесценции, различной природы, и изучения фотометрических характеристик и характеристик фосфоресценции анализируемых объектов. При исследовании флуоресценции объектов, измеряются спектральные характеристики возбуждения, испускания их люминесценции. Спектральный диапазон оптического излучения прибора, используемого для анализа в канале возбуждения, составляет от 210 до 730 нм, а в канале люминесценции – от 210 до 690 нм. При этом предел погрешности установки длины волны составляет  $\pm 3$  нм [30].

Принцип действия прибора «Флюорат-02-Панорама» основан на измерении интенсивностей световых потоков от исследуемого объекта, возникающих под воздействием возбуждающего оптического излучения

выделенного спектрального диапазона и регистрируемых оптическими приёмниками прибора. Устройство данного прибора приведено на рисунке 2.1 [30].

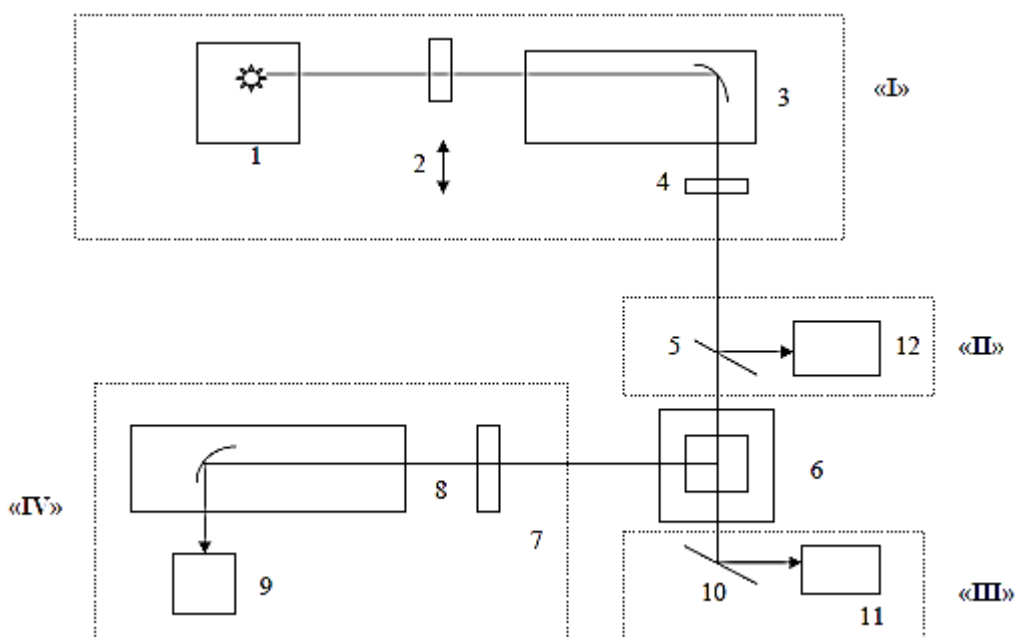


Рисунок 2.1 – Оптическая схема спектрофлуориметра «Флюорат-02-Панорама»:

1 – источник излучения (ксеноновая лампа); 2 – устройство отсечки второго порядка дифракции; 3 – монохроматор возбуждения; 4, 7 – светофильтры каналов возбуждения и регистрации люминесценции; 5, 10 – светоделительные пластины; 6 – кювета; 8 – монохроматор флуориметрического канала; 9 – фотоприемник флуориметрического канала; 11 – фотоприемник канала пропускания; 12 – фотоприемник опорного канала.

Луч от ксеноновой лампы 1 проходит монохроматор канала возбуждения 3. Затем луч разделяется на два луча на светоделительной пластине 5, один из лучей проходит через кювету 6 с анализируемым раствором. В дальнейшем оба луча попадают на детекторы 11, 12, степень пропускания раствором определяется сравнением интенсивностей этих лучей. Для минимизации попадания на детектор возбуждающего излучения, в устройстве прибора предусмотрено специальное расположение монохроматора канала испускания 8 (под углом  $90^\circ$  к освещающему лучу). После прохождения



монохроматора 8 луч попадает в приемник 9, который непосредственно регистрирует интенсивность излучения [30].

Перед работой проверку и подготовку прибора осуществляли согласно его инструкции по эксплуатации и техническому описанию.

В данной работе непосредственно для снятия спектра использовали кварцевые кюветы, объемом  $4 \text{ см}^3$ , при этом объем исследуемого вещества составлял  $3 \text{ см}^3$ , а длина оптического пути – 10 мм. Перед началом каждой серии экспериментов, предварительно определяли чистоту кюветы, путем снятия спектра фонового растворителя (в качестве фонового растворителя использовалась дистиллированная вода). При отсутствии пиков на спектре флуоресценции считали, что растворитель и посуда имеют достаточную степень чистоты.

На лабораторных аналитических весах общего назначения («Госметр», Россия), погрешность взвешивания которых составляет  $\pm 0,0002 \text{ г}$ , взвешивали точные навески используемых в работе веществ.

Дистиллированную воду получали с помощью аквадистиллятора «ДЭ-4» («ТюменьМедико», г. Тюмень).

В ходе данной научно-исследовательской работы была использована следующая стеклянная лабораторная посуда: мерные цилиндры  $50 \text{ см}^3$  и  $100 \text{ см}^3$ , стаканы химические  $50 \text{ см}^3$ , колбы мерные  $10 \text{ см}^3$  и  $50 \text{ см}^3$ , флаконы пенициллиновые вместимостью  $10 \text{ см}^3$ , пробирки лабораторные. Для приготовления растворов непосредственно для проведения эксперимента, а также для произведения добавки веществ использовали одноканальные механические дозаторы переменного объема вместимостью 100-1000, 1000-5000 мкл «ThermoScientific». Точность отбора проб для дозаторов соответственно составляет  $\pm 0,4 \text{ мкл}$ ,  $\pm 0,25 \text{ мкл}$ . Для каждого раствора вещества использовали сменный наконечник дозатора для исключения кросс-контаминации проб.

## 2.1.2 Объекты исследования

В данной работе одним из объектов исследования выступал лекарственный препарат «Лактобактерин» (Микроген), лиофилизат для приготовления суспензии для приема внутрь и местного применения. В составе одной дозы данного препарата содержится лактобактерий не менее  $2 \cdot 10^9$  КОЕ (живые представители антагонистически активного штамма лактобактерий (*Lactobacillus plantarum* 8P-A3 или *Lactobacillus fermentum* 90T-C4) являются активным компонентом). А также в состав препарата входят вспомогательные вещества – компоненты защитной среды высушивания (желатин, сахароза, молоко). В целом, лактобактерин – это препарат-эубиотик (пробиотик), представляющий собой кристаллическую или пористую микробную массу желтовато-бежевого или беловато-серого цвета, со специфическим запахом [31].

Доксорубицин, лиофилизат для приготовления раствора для внутрисосудистого и внутрипузырного введения, представляет собой пористую массу от оранжево-красного до красного цвета. Данный лекарственный препарат является противоопухолевым антибиотиком антрациклинового ряда, действующим веществом которого является доксорубицин гидрохлорид, а вспомогательным веществом – моногидрат лактозы. Механизм действия препарата заключается во взаимодействии с ДНК, образовании свободных радикалов и прямом воздействии на мембраны клеток с подавлением синтеза нуклеиновых кислот. В данном исследовании использовался препарат «Доксорубицин-Тева» (Teva Pharmaceutical Industries) [32].

### 2.1.3 Реактивы

В рамках данной научно-исследовательской работы были использованы следующие реактивы:

- «Доксорубин-Тева», 50 мг (производства Teva Pharmaceutical Industries Ltd.);
- «Лактобактерин» (производства АО НПО «Микроген»);
- Лактозы моногидрат (производства Sigma-Aldrich);
- Сахароза (производства ЗАО «ХимРеактивСнаб»);
- Желатин пищевой (производства АО «ЛенРеактив»);
- ГСО состава молока сухого (АСМ-1) (9563-2010) (производства АО «ЛенРеактив»);
- L(-)-Триптофан (производства «Acros Organics»);
- Пептон ферментативный (производства ФБУН ГНЦ ПМБ);
- Дрожжевой экстракт (производства НИЦФ, 042107);
- Натрий уксуснокислый (ЗАО «ХимРеактивСнаб»);
- Твин 80 (производства «PanReac Applichem»);
- Лимонная кислота (производства АО «ЛенРеактив»);
- Хлорид аммония (производства АО «ЛенРеактив»);
- Калий фосфорнокислый 2-замещенный (производства АО «ЛенРеактив»);
- Магний сернокислый 7-водный (производства АО «ЛенРеактив»);
- Марганец сернокислый 5-водный (производства АО «ЛенРеактив»);
- Никотинамидадениндинуклеотид в восстановленной форме (NADH), динатриевая соль (производства «Applichem»).

## 2.2 Методика исследований

### 2.2.1 Методика определения флуоресцентных свойств лекарственного препарата «Лактобактерин»

В качестве фонового растворителя использовалась дистиллированная вода. Приготовление раствора препарата «Лактобактерин» для проведения эксперимента осуществляли растворением содержимого одной ампулы в  $100 \text{ см}^3$  дистиллированной воды.

Предварительно дистиллированную воду ( $3 \text{ см}^3$ ) помещали в кювету, которую устанавливали в кюветное отделение прибора. Затем, закрыв крышку, снимали синхронный спектр в диапазоне длин волн от 200 до 600 нм. Измерение повторяли не менее трех раз. После этого в кювету помещали раствор эубиотика «Лактобактерин», приготовленный ранее, и также снимали синхронный спектр. Затем на спектре выделяли длину волны, при которой наблюдается максимум с наибольшей интенсивностью, и данную длину волны устанавливали в качестве длины волны возбуждения флуоресценции [24].

### 2.2.2 Методика исследования флуоресцентных свойств бактерий рода *Lactobacillus*

Для определения природы сигнала препарата «Лактобактерин», исследовали флуоресцентные свойства непосредственно лактобактерий. Суспензию лактобактерий переносили с помощью дозатора в дистиллированную воду, затем полученный раствор помещали в кварцевую кювету (объем исследуемого раствора составлял  $3 \text{ см}^3$ ). Кювету устанавливали в кюветное отделение флюората.

Предварительно снимали синхронный спектр в диапазоне от 200 до 600 нм, по которому определяли длину волны возбуждения суспензии

лактобактерий в дистиллированной воде. Затем снимали спектр регистрации. Измерения проводили не менее пяти раз.

Также необходимо отметить, что производитель препарата «Лактобактерин» не предоставляет информацию о точном количестве лактобактерий в каждой партии. Поэтому для проведения более точных количественных определений, с помощью метода последовательных разведений устанавливали количество КОЕ для исследуемой партии «Лактобактерина».

Для осуществления метода последовательных разведений необходимо предварительно подготовить питательную среду. Для приготовления твердой питательной среды объемом  $200 \text{ см}^3$ , использовали следующие компоненты:

- дрожжевой экстракт (1,04 г);
- пептон ферментативный (2,6 г);
- глюкозу (5,2 г);
- лимонную кислоту (0,26 г);
- хлорид аммония (0,52 г);
- ацетат натрия (1,3 г);
- твин 80 (0,26 г);
- калий фосфорнокислый 2-замещенный (0,52 г);
- магний сернокислый 7-водный (0,052 г);
- марганец сернокислый 5-водный (0,013 г);
- агар-агар (2,6 г).

Данные компоненты последовательно растворяли в дистиллированной воде. Раствор кипятили две минуты, затем среду переливали в пробирки (в каждую по  $9 \text{ см}^3$  среды), закрывали пробирки ватными пробками, помещали их в стакан, который накрывали пергаментом и подвергали стерилизации. После остывания до  $48-50 \text{ }^\circ\text{C}$ , в первую пробирку с расплавленной средой переносили дозатором со стерильным наконечником  $1 \text{ см}^3$  жидкой культуры лактобактерий (первое разведение 1:10). Затем из первой пробирки отбирали  $1 \text{ см}^3$  и

переносили во вторую пробирку (второе разведение 1:100) и т.д. Всего выполняли три параллельных эксперимента, в каждой параллели использовалось одиннадцать пробирок. Далее микроорганизмы культивировались в течение 24 часов, после чего происходил подсчет [33]. Схема проведения разведений приведена на рисунке 2.2

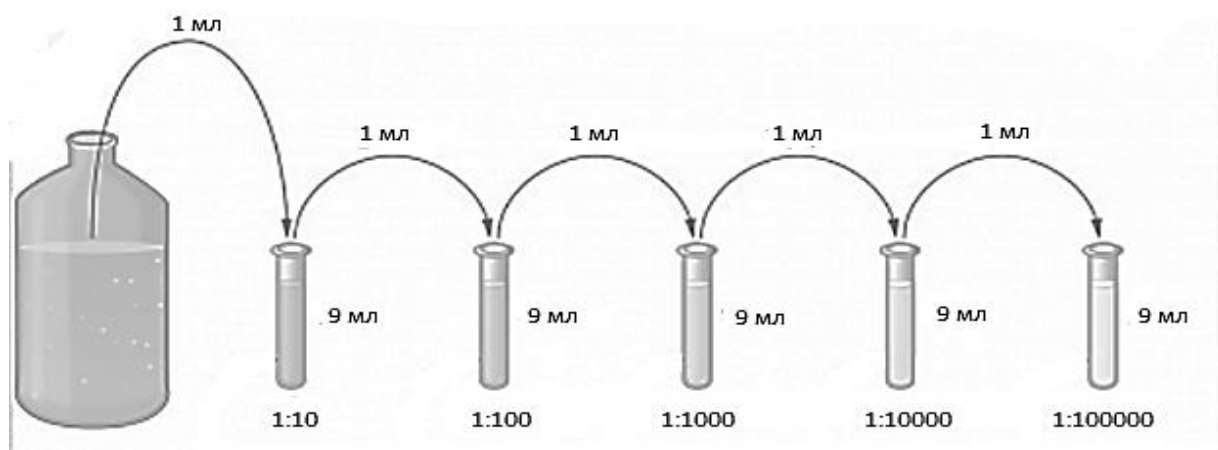


Рисунок 2.2 – Схема последовательных разведений для количественного подсчета

Для сравнения результатов эксперимента, также используя метод последовательных разведений, предварительно подготовив флаконы пенициллиновые со стерильной водой  $9 \text{ см}^3$ , дозатором со стерильным наконечником  $1 \text{ см}^3$  жидкую культуру переносили в первый флакон (первое разведение 1:10). Затем из первого флакона отбирали  $1 \text{ см}^3$  и переносили во второй (второе разведение 1:100) и т.д. Всего выполняли три параллельных эксперимента, в каждой параллели использовалось одиннадцать флаконов. Затем исследовали флуоресцентные свойства полученных растворов (раствор помешали в кювету, которую устанавливали в кюветное отделение, и, по определенной ранее длине волны возбуждения, снимали спектр регистрации). Измерения проводили не менее пяти раз. После подсчета числа колоний на твердой питательной среде, определяли корреляцию интенсивности флуоресценции и числа бактерий. Таким образом, определили поправочный

коэффициент для концентрации «Лактобактерина» в одной ампуле данной партии.

### 2.2.3 Методика определения мешающего влияния вспомогательных компонентов препарата «Лактобактерин»

Эубиотик «Лактобактерин» представляет собой сложный объект: помимо живых лактобактерий там содержатся вспомогательные вещества. Поэтому необходимо оценить мешающее влияние матрицы препарата на флуоресценцию лактобактерий.

Для этого предварительно готовили растворы вспомогательных компонентов, а именно сахарозы, сухого молока, и желатина, в концентрациях, которые соответствуют максимальной концентрации данных веществ в препарате, заявленной производителем в инструкции (28 %, 14 % и 8,5 % соответственно). Затем исследовали сигнал люминесценции суспензии лактобактерии в дистиллированной воде при добавлении максимального количества сахарозы, сухого молока, желатина, при длине волны возбуждения 281 нм. Измерения проводили не менее пяти раз.

### 2.2.4 Методика исследования флуоресцентных свойств триптофана и NADH

Согласно литературному источнику [24], источником флуоресценции лактобактерий является NADH. Однако при исследовании люминесцентных свойств лактобактерий было выявлено, что основной сигнал люминесценции сдвинут относительно сигнала NADH в коротковолновую область. Кроме того, люминесценция NADH, по сравнению с обнаруженной ультрафиолетовой люминесценции бактерий, имеет значительно меньшую интенсивность, которая находится на уровне фонового сигнала. Поэтому был проведен более детальный анализ литературы [23], в результате которого было выяснено, что

возможной причиной свечения живого микроорганизма является наличие в его структуре и метаболизме триптофана и его белков.

При определении предположительного источника флуоресценции бактерий проводили исследование флуоресцентных свойств аминокислоты триптофана и NADH. Для этого предварительно готовили растворы данных веществ с концентрацией  $0,001$  моль/дм<sup>3</sup>. Затем исследуемые растворы последовательно помещали в кювету, которую далее устанавливали в кюветное отделение. После чего осуществляли снятие синхронного спектра для каждого из представленных веществ в диапазоне от 200 до 600 нм. Как описано ранее, определяли длину волны возбуждения, при которой в дальнейшем снимали спектр флуоресценции веществ. Измерения проводили не менее пяти раз.

#### 2.2.5 Методика определения флуоресцентных свойств противоопухолевого препарата «Доксорубин-Тева» (Teva Pharmaceutical Industries)

Для определения влияния противоопухолевого антибиотика доксорубин на жизнеспособность лактобактерий, необходимо предварительно определить его способность флуоресцировать в исследуемом диапазоне.

Для этого, предварительно готовили раствор доксорубин в дистиллированной воде с концентрацией  $2$  мг/см<sup>3</sup>, и, при установленной ранее длине волны возбуждения для лактобактерий, снимали спектр флуоресценции его раствора.

Так как в лекарственном препарате «Доксорубин-Тева» помимо действующего вещества, содержится вспомогательный компонент (лактозы моногидрат), также определили ее мешающее влияние на флуоресценцию доксорубин. Для этого готовили раствор лактозы моногидрата в максимальной концентрации, заявленной производителем (при концентрации доксорубин  $1$  мг/см<sup>3</sup>, концентрация лактозы моногидрата составит  $5$  мг/см<sup>3</sup>).



Затем исследовали сигнал люминесценции доксорубина гидрохлорида в дистиллированной воде при добавлении максимального количества лактозы моногидрата, при аналогичной длине волны возбуждения. Измерения проводили не менее пяти раз.

Также проводили оценку мешающего влияния моногидрата лактозы на сигнал люминесценции лактобактерий. Для этого в суспензию лактобактерий вводили раствор лактозы моногидрата в максимальной концентрации и исследовали сигнал люминесценции, при длине волны возбуждения, установленной ранее. Измерения проводили не менее пяти раз.

#### 2.2.6 Методика определения влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий методом флуориметрии

Лекарственный препарат «Доксорубин-Тева» является антибиотиком, соответственно, предположительно он должен оказывать негативное воздействие на бактерии. Для определения влияния доксорубина на лактобактерии к раствору препарата «Лактобактерин» (методика приготовления которого была описана выше) делали добавку доксорубина (диапазон концентраций доксорубина в исследуемом растворе составлял от 0 до 1 мг/см<sup>3</sup>). Затем анализируемый раствор помещали в кювету, которую затем устанавливали в используемый спектрофлуориметр, и снимали спектр регистрации при длине волны возбуждения, которая была установлена ранее.

Также необходимо было определить оптимально время инкубирования доксорубина и лактобактерина. Для этого растворы лактобактерина с добавкой доксорубина одинаковой концентрации (концентрация доксорубина 2 мг/см<sup>3</sup> в исследуемом растворе) выдерживали в течение различных промежутков времени в диапазоне от 0 до 40 мин. Каждые пять минут в рамках данного диапазона снимали спектр регистрации флуоресценции исследуемого раствора при установленной ранее длине волны возбуждения.

#### 4 ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ

Данная научно-исследовательская работа связана с разработкой новой методики определения влияния доксорубицина на жизнеспособность лактобактерий. Онкологические заболевания, по данным ВОЗ, являются одной из основных причин смерти в мире. В 2020 году от данного заболевания умерло почти 10 миллионов человек и зафиксировано 19,3 миллиона новых случаев. Также наблюдается рост заболеваемости по онкологии. Доксорубицин – это высокоэффективный, противоопухолевый, цитостатический лекарственный препарат. Его применяют при различных видах онкологических заболеваний. Однако его значительным недостатком является токсичность для здоровых систем организма. Поэтому, в рамках данной работы, будет проведена разработка новой методики оценки влияния доксорубицина на лактобактерии, которые являются представителями нормальной флоры человека [40].

На данный момент оценку влияния лекарственных препаратов на микроорганизмы проводят микробиологическими методами, а именно методом серийных разведений, методом диффузии в агар с применением дисков, методом спектрофотометрии. Основным недостатком данных методов является высокая длительность, дороговизна анализа, а также высокая сложность исполнения. В данной научно-исследовательской работе используется метод флуориметрии, который имеет такие преимущества, как высокая экспрессность и чувствительность, простота эксплуатации и относительно низкая стоимость анализа.

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

##### 4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Результатом проведения данной научно-исследовательской деятельности является следующий продукт: флуорометрическая методика оценки влияния доксорубицина на жизнеспособность лактобактерий. Для выявления потенциальных потребителей данного продукта необходимо оценить целевой рынок, провести его сегментирование.

Предложенная методика предназначена для использования представителями фармацевтической отрасли, которые непосредственно работают с противоопухолевыми антибиотиками. А именно, для эксплуатации предприятиями, которые производят лекарственные препараты на основе доксорубицина, лабораториями контроля качества, которые специализируются на противоопухолевых препаратах, а также научно-исследовательскими лабораториями. Соответственно, данная методика может быть использована и на крупных предприятиях, и в относительно небольших организациях. Тогда, в качестве критериев выбранного сегмента рынка будет выступать размер организации и лояция потребителя. Результаты сегментирования представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Сегментирование рынка

	Крупное	Среднее	Мелкое
	Фармацевтическое предприятие широкого профиля	Фармацевтическое предприятие, специализирующееся на противоопухолевых препаратах	Научно-исследовательские лаборатории и лаборатории контроля качества
Зарубежные	Нет	Нет	Нет
Отечественные	Нет	Да	Да

Таким образом, по результатам сегментирования рынка, можно сделать следующие выводы. Выводить разработанную методику на зарубежный рынок на данном этапе не рационально, это связано с тем, что методика осуществляется на отечественном оборудовании. На зарубежном рынке есть аналоги используемого в работе оборудования, однако для реализации предложенной методики на другой приборной базе, необходимо проведение дополнительных исследований, чтобы адаптировать предложенную методику для того, чтобы она могла быть эффективно реализована с помощью другого оборудования.

Поэтому, наиболее выгодно, реализовывать продукт данной научно-исследовательской работы на отечественном рынке, представленном фармацевтическими предприятиями и лабораториями различного профиля. При этом введении в эксплуатации новой методики непосредственно на масштабном предприятии достаточно затруднительно, так как необходимо предварительно проверить эффективность методики в малых масштабах. Кроме того, осуществление методики предполагает наличие относительно дорогостоящего прибора, поэтому первичным потребителем будут являться научно-исследовательские лаборатории и лаборатории контроля качества (как индивидуальные, так и при предприятиях), в особенности те, в которых уже используется данный прибор (флюорат). Флюорат в фармацевтической сфере на данный момент используется достаточно редко, в основном для установления подлинности веществ. А использование предложенной методики позволит наиболее полно использовать прибор и затраченные на него ресурсы.

#### 4.1.2. Анализ конкурентных технических решений

Существует ряд методов (группа микробиологических методов) для определения влияния лекарственных средств на микроорганизмы, каждый из них имеет свои достоинства и недостатки. В рамках анализа конкурентных технических решений рассмотрим метод серийных разведений и

спектрофотометрический метод. Данные методы в настоящее время широко применяются как на действующих фармацевтических предприятиях, так и в научно-исследовательских лабораториях

Флуориметрическая методика оценки, по сравнению с используемыми на данный момент методиками, обладает следующим конкурентными преимуществами: она более экспрессна (процесс флуоресценции длится наносекунды), проста в эксплуатации и имеет относительно низкую стоимость анализа.

Анализ конкурентных технических решений определяется по формуле [41]:

$$K = \sum B_i \cdot B_i, \quad (1)$$

где:  $K$  – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;

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

$B_i$  – балл  $i$ -го показателя.

С помощью оценочной карты был осуществлен анализ конкурентных технических решений, он представлен в таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Оценочная карта сравнения для сравнения конкурентных технических решений (разработок)

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы			Конкурентоспособность		
		$B_{\phi}$	$B_{K1}$	$B_{K2}$	$K_{\phi}$	$K_{K1}$	$K_{K2}$
1	2	3	4	5	6	7	8
Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Точность определения	0,15	4	5	4	0,6	0,75	0,6
2. Экспрессность	0,15	5	2	3	0,75	0,3	0,45
3. Простота эксплуатации	0,10	5	2	4	0,5	0,2	0,4
4. Селективность	0,10	3	4	4	0,3	0,4	0,4
5. Энергосбережение	0,10	4	4	4	0,4	0,4	0,4
6. Надежность	0,10	5	5	5	0,5	0,5	0,5
Экономические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Цена анализа	0,20	5	4	4	1	0,8	0,8
2. Стоимость оборудования	0,10	4	4	4	0,4	0,4	0,4
Итого	1	35	30	32	4,65	3,75	3,95

Примечание:  $K_{K1}$  – конкурент 1 метод серийных разведений,  $K_{K2}$  – конкурент 2 спектрофотометрический метод,  $K_{\phi}$  – флуориметрический метод анализа.

Таким образом, научная разработка, рассматриваемая в данной НИР, является конкурентноспособной. Также по результатам оценочной карты можно сказать, что основным конкурентом разрабатываемого решения является спектрофотометрический метод анализа.

#### 4.1.3. SWOT-анализ

SWOT – (Strengths – сильные стороны, Weaknesses – слабые стороны, Opportunities – возможности, Threats – угрозы) – это комплексный анализ научно-исследовательского проекта, который применяют для исследования внешней и внутренней среды проекта. Он осуществляется в несколько этапов [41].

Сильные и слабые стороны проекта характеризуются на первом этапе SWOT-анализа. Помимо этого на данном этапе устанавливают возможности и угрозы для реализации проекта, возникающие в его внешней среде. Результаты первого этапа SWOT-анализа представлены в таблице 4.3.

Таблица 4.3 – Первый этап SWOT-анализа

	<p><b>Сильные стороны научно-исследовательского проекта:</b>                  С1. Экспрессность                  С2. Простота осуществления                  С3. Низкие затраты на пробоподготовку                  С4. Низкая стоимость анализа                  С5. Анализ различных лекарственных форм</p>	<p><b>Слабые стороны научно-исследовательского проекта:</b>                  Сл1. Сниженная селективность и чувствительность по сравнению с другими методами                  Сл2. Необходимость дорогостоящих реактивов                  Сл3. Необходимость наличия прибора</p>
<p><b>Возможности:</b>                  В1. Разработка более дешевой и экспрессной методики анализа                  В2. Растущий спрос на объект анализа                  В3. Перспективы расширения границ использования флуориметрии в качестве метода анализа в фармацевтической отрасли                  В4. Появление флуориметрических методик определения сходных аналитов</p>		
<p><b>Угрозы:</b>                  У1. Развитие конкурентных методов анализа                  У2. Ограниченный круг потребителей                  У3. Повышение стоимости оборудования                  У4. Отсутствие необходимых реактивов</p>		

Второй этап SWOT-анализа заключается в установлении соответствия сильных и слабых сторон проекта внешним условиям окружающей среды. Проведение данного этапа способствует определению степени необходимости проведения стратегических изменений [41].

Для осуществления данного этапа необходимо составить интерактивную матрицу проекта. Так как она помогает наглядно отразить различные комбинации взаимосвязей областей матрицы SWOT. При этом, каждый фактор

помечается определенным знаком: знаком «+» (сильное соответствие), знаком «-» (слабое соответствие); знаком «0» (есть сомнения в том, что поставить «+» или «-»). Интерактивные матрицы проекта представлены в таблицах 4.4-4.7.

Таблица 4.4 – Интерактивная матрица проекта «Сильные стороны и возможности»

Сильные стороны проекта						
Возможности проекта		C1	C2	C3	C4	C5
	B1	+	+	+	+	+
	B2	+	0	+	0	+
	B3	+	+	+	+	+
	B4	+	+	+	+	+

Таблица 4.5 – Интерактивная матрица проекта «Слабые стороны и возможности»

Слабые стороны проекта				
Возможности проекта		Сл1	Сл2	Сл3
	B1	-	-	-
	B2	0	0	0
	B3	-	-	-
	B4	-	0	+

Таблица 4.6 – Интерактивная матрица проекта «Сильные стороны и угрозы»

Сильные стороны проекта						
Угрозы		C1	C2	C3	C4	C5
	У1	-	-	-	-	-
	У2	-	-	-	-	-
	У3	0	0	0	+	-
	У4	+	0	-	0	0

Таблица 4.7 – Интерактивная матрица проекта «Слабые стороны и угрозы»

Слабые стороны проекта				
Угрозы		Сл1	Сл2	Сл3
	У1	+	+	0
	У2	+	+	+
	У3	0	-	+
	У4	0	+	0



На третьем этапе необходимо составить итоговую матрицу SWOT-анализа. Она приведена в таблице 4.8.

Таблица 4.8 – Итоговая матрица SWOT-анализа

	<b>Сильные стороны научно-исследовательского проекта:</b> С1. Экспрессность С2. Простота осуществления С3. Низкие затраты на пробоподготовку С4. Низкая стоимость анализа С5. Анализ различных лекарственных форм	<b>Слабые стороны научно-исследовательского проекта:</b> Сл1. Сниженная селективность и чувствительность по сравнению с другими методами Сл2. Необходимость дорогостоящих реактивов Сл3. Необходимость наличия прибора
<b>Возможности:</b> В1. Разработка более дешевой и экспрессной методики анализа В2. Растущий спрос на объект анализа В3. Перспективы расширения границ использования флуориметрии в качестве метода анализа в фармацевтической отрасли В4. Появление флуориметрических методик определения сходных аналитов	Разработка более дешевой и экспрессной методики анализа, а также растущий спрос на объект анализа способствуют более широкому использованию флуориметрии в качестве метода анализа в фармацевтической отрасли.	На процессы разработки, внедрения и дальнейшего использования данной методики могут негативно повлиять отсутствие необходимых реактивов и скорость их доставки, отсутствие или неисправность прибора и, соответственно скорость его доставки или устранения неполадок, а также меньшая чувствительность и селективность представленной методики.
<b>Угрозы:</b> У1. Развитие конкурентных методов анализа У2. Ограниченный круг потребителей У3. Повышение стоимости оборудования У4. Отсутствие необходимых реактивов	Дешевизна, экспрессность и простота анализа обеспечивают необходимый уровень конкурентоспособности данной методики.	Сниженная селективность, чувствительность методики, необходимость наличия дорогостоящих реактивов и оборудования негативно отражается на ее конкурентоспособности, внедрении в повсеместную практику использования при анализе предусмотренных методикой аналитов. Увеличение стоимости прибора и реактивов приведет к повышению стоимости проекта, что негативно отразится на его спросе.

Таким образом, в результате проведения SWOT-анализа были определены сильные и слабые стороны проекта, а также его возможности и угрозы. Также было продемонстрировано, что сильные стороны проекта компенсируют слабые стороны, и возможности внешней среды проекта способствуют проявлению сильных сторон данного проекта, а также снижают вероятность проявления возможных угроз. Следовательно, при профессиональной организации продвижения, с учетом сильных, слабых сторон, возможностей и угроз, внедрение данного проекта в лабораторную практику в фармацевтической отрасли может быть реализовано.

#### 4.2 Определение возможных альтернатив проведения научных исследований

Альтернативные пути проведения научных исследований выявим с помощью морфологического подхода. Он основан на систематическом исследовании всех теоретически возможных вариантов, вытекающих из закономерностей строения (морфологии) объекта исследования. Комбинированием вариантов определяют множество вариантов решений, ряд которых представляет практический интерес. Данный метод состоит из нескольких этапов: формулировка проблемы исследования; определение важных морфологических характеристик объекта исследования, выявление возможных вариантов по каждой характеристике (по результатам данного этапа составляется морфологическая матрица) и выбор наиболее желательных функционально конкретных решений [41].

В рамках данной работы в качестве морфологических характеристик разработанной флуориметрической методики можно выделить такие пункты, как приборная база; используемый растворитель; препарат, содержащий лактобактерии; препарат, действующим веществом которого является доксорубин. Морфологическая матрица для данной методики представлена в таблице 4.9.

Таблица 4.9 – Морфологическая матрица для методик определения влияния доксорубицина на жизнеспособность лактобактерий

	1	2	3
А. Приборная база	Флюорат-02-панорама	Флюорат-02-панорама	Флюорат-02-5м
Б. Растворитель	Вода дистиллированная	Физиологический раствор	Вода дистиллированная
В. Источник лактобактерии	Лактобактерин сухой (НПО «Микроген», Россия)	Лактобактерин сухой (НПО «Микроген», Россия)	Ацилакт (ООО Фирма «Фермент», Россия)
Г. Препарат, содержащий доксорубицин	Доксорубицин-ДЕКО (ООО «Компания «ДЕКО», Россия)	Доксорубицин-Тева (Teva Pharmaceutical Industries, Израиль)	Доксорубицин Лахема (Pliva-Lachema, Чешская Республика)

Таким образом, для данной морфологической матрицы можно предложить следующие варианты решения (варианты исполнения):

— осуществление методики на приборе флюорат-02-панорама, используя в качестве растворителя воду дистиллированную, в качестве источника лактобактерий – препарат «Лактобактерин сухой», а в качестве источника доксорубицина – «Доксорубицин-Тева» (исполнение 1(Исп.1));

— осуществление методики на приборе флюорат-02-панорама, используя в качестве растворителя физиологический раствор, в качестве источника лактобактерий – препарат «Лактобактерин сухой», а в качестве источника доксорубицина – «Доксорубицин-ДЕКО» (исполнение 2 (Исп.2));

— осуществление методики на приборе флюорат-02-панорама, используя в качестве растворителя воду дистиллированную, в качестве источника лактобактерий – препарат «Ацилакт», а в качестве источника доксорубицина – «Доксорубицин Лахема» (исполнение 3 (Исп.3)).

### 4.3. Планирование научно-исследовательских работ

#### 4.3.1 Структура работ в рамках научного исследования

Для выполнения научно-исследовательской работы формируется рабочая группа, в состав которой входят: бакалавр – Патласова С.Е., научный руководитель ВКР – Дёрина К.В., консультант по разделу «Финансовый менеджмент» (ФМ) - Спицына Л.Ю. и консультант по разделу «Социальная ответственность» (СО) – Гуляев М.В. Перечень этапов и работ в рамках проведения данной научно-исследовательской работы, а также распределение исполнителей по видам работ представлены в таблице 4.10.

Таблица 4.10 – Перечень этапов, работ и распределение исполнителей

Основные этапы	№ раб	Содержание работ	Должность исполнителя
Разработка технического задания	1	Составление и утверждение технического задания	Научный руководитель, консультант ФМ, СО, бакалавр
Выбор направления исследований	2	Подбор и изучение материалов по теме	Научный руководитель, бакалавр
	3	Литературный обзор	Бакалавр
	4	Выбор направления исследований	Научный руководитель, бакалавр
	5	Календарное планирование работ по теме	Научный руководитель, бакалавр
Теоретические исследования	6	Проведение теоретических расчетов и обоснований	Научный руководитель, бакалавр
	7	Проведение экспериментов	Бакалавр
	8	Сопоставление результатов экспериментов с теоретическими исследованиями	Научный руководитель, бакалавр
Обобщение и оценка результатов	9	Оценка эффективности полученных результатов	Научный руководитель, бакалавр
	10	Определение целесообразности проведения ВКР	Научный руководитель, бакалавр

Продолжение таблицы 4.10

Проведение ВКР			
Разработка технической документации и проектирование	11	Разработка флуориметрической методики определения влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий	Бакалавр
	12	Оценка эффективности применения разработки	Бакалавр, консультант по ФМ
	13	Разработка социальной ответственности по проекту	Бакалавр, консультант СО
Оформление комплекта документации по ВКР	14	Составление пояснительной записки	Бакалавр

### 4.3.2 Определение трудоемкости выполнения работ

Трудоемкость выполнения научно-исследовательской работы оценивается экспертным путем в человеко-днях. Она носит вероятностный характер, так как зависит от множества трудно учитываемых факторов. Для определения ожидаемого значения трудоемкости  $t_{ожci}$  используется формула [41]:

$$t_{ожci} = \frac{3 \cdot t_{\min i} + 2 \cdot t_{\max i}}{5}, \quad (2)$$

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

$t_{\min i}$  – минимально возможная трудоемкость выполнения заданной  $i$ -ой работы, чел.-дн.;

$t_{\max i}$  – максимально возможная трудоемкость выполнения заданной  $i$ -ой работы, чел.-дн.

Исходя из ожидаемой трудоемкости работ, определяется продолжительность каждой работы в рабочих днях  $T_p$ , учитывающая параллельность выполнения работ несколькими исполнителями [41]:

$$T_{pi} = \frac{t_{ожі}}{Ч_i}, \quad (3)$$

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

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

Результаты расчетов приведены в таблице 4.11 (она будет представлена в следующем пункте).

#### 4.3.3. Разработка графика проведения научного исследования

В рамках данной научно-исследовательской работы наиболее наглядным будет построение ленточного графика проведения научных работ в форме диаграммы Ганта. Она представляет собой горизонтальный ленточный график, на котором работы по теме представляются протяженными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ [41].

Для удобства построения графика, длительность каждого из этапов работ из рабочих дней следует перевести в календарные дни (данный параметр был рассчитан в предыдущем пункте). Для этого необходимо воспользоваться следующей формулой [41]:

$$T_{ki} = T_{pi} \cdot k_{кал}, \quad (4)$$

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

$k_{кал}$  – коэффициент календарности.

Коэффициент календарности определяется по следующей формуле[41]:

$$k_{кал} = \frac{T_{кал}}{T_{кал} - T_{вых} - T_{пр}} = \frac{365}{365 - 66} = 1,22, \quad (5)$$

где:  $T_{кал}$  – количество календарных дней в году (365 дней);

$T_{вых}$  – количество выходных дней в году (52);

$T_{пр}$  – количество праздничных дней в году(14).

Все рассчитанные ранее значения представлены в таблице 4.11.

Таблица 4.11 – Временные показатели проведения научного исследования

Название работы	Трудоемкость работ			Исполнители	Длительность работ в рабочих днях, $T_{pi}$	Длительность работ в календарных днях, $T_{ki}$
	$t_{min}$ , чел-дни	$t_{max}$ , чел-дни	$t_{ожс}$ , чел-дни			
Составление технического задания	0,5	1	0,7	Р	0,2	0,24
	0,5	1	0,7	Б	0,2	0,24
	0,5	1	0,7	К <sup>1</sup>	0,2	0,24
	0,5	1	0,7	К <sup>2</sup>	0,2	0,24
Подбор и изучение материалов по теме	6	12	8,4	Р	4,2	5,1
	6	12	8,4	Б	4,2	5,1
Литературный обзор	10	15	12	Б	12	14,8
Выбор направления исследований	1	3	1,8	Р	0,9	1,1
	1	3	1,8	Б	0,9	1,1
Календарное планирование работ по теме	1	3	1,8	Р	0,9	1,1
	1	3	1,8	Б	0,9	1,1
Проведение теоретических расчетов и обоснований	3	6	4,2	Р	2,1	2,6
	5	15	9	Б	4,5	5,5
Проведение экспериментов	10	12	10,8	Б	10,8	13,2
Сопоставление результатов экспериментов с теоретическими исследованиями	1	3	1,8	Р	0,9	1,1
	3	6	4,2	Б	2,1	2,6
Оценка эффективности полученных результатов	0,5	1	0,7	Р	0,4	0,5
	0,5	1	0,7	Б	0,4	0,5
Определение целесообразности проведения ВКР	3	6	4,2	Р	2,1	2,6
	6	10	7,6	Б	3,8	4,6
Разработка флуориметрической методики определения влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий	40	50	44	Б	22	26,8
Оценка эффективности применения разработки	7	10	8,2	К <sup>1</sup>	4,1	5
	7	10	8,2	Б	4,1	5
Разработка социальной ответственности по проекту	7	10	8,2	К <sup>2</sup>	4,1	5
	7	10	8,2	Б	4,1	5
Составление пояснительной записки	10	15	12	Б	12	14,8

Примечание: Р – руководитель; Б – бакалавр; К<sup>1</sup> – консультант по финансовому менеджменту; К<sup>2</sup> – консультант по социальной ответственности.

Согласно таблице 4. 11 выполняется построение календарного плана-графика. Он отображен в таблице 4.12.

Таблица 4.12 – Календарный план-график проведения НИОКР

Вид работ	Исполнители	T <sub>кi</sub> , кал. дн.	Продолжительность выполнения работ												
			Январь	Февраль			Март			Апрель			Май		
			3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Составление и утверждение технического задания	Научный руководитель	0,24	▨												
	Бакалавр	0,24	▨												
	Консультант по ФМ	0,24	▨												
	Консультант по СО	0,24	▨												
Подбор и изучение материалов по теме	Научный руководитель	5,1	▨												
	Бакалавр	5,1	▨												
Литературный обзор	Бакалавр	14,8	▨	▨	▨	▨									
Выбор направления исследований	Научный руководитель	1,1			▨										
	Бакалавр	1,1			▨										
Календарное планирование работ по теме	Научный руководитель	1,1			▨										
	Бакалавр	1,1			▨										
Проведение теоретических расчетов и обоснований	Научный руководитель	2,6			▨										
	Бакалавр	5,5			▨	▨									
Проведение экспериментов	Бакалавр	13,2				▨	▨	▨							
Сопоставление результатов экспериментов с теоретическими исследованиями	Научный руководитель	1,1						▨							
	Бакалавр	2,6						▨							
Оценка эффективности полученных результатов	Научный руководитель	0,5						▨							
	Бакалавр	0,5						▨							
Определение целесообразности проведения ВКР	Научный руководитель	2,6						▨							
	Бакалавр	4,6						▨	▨						





#### 4.4. Бюджет научно-технического исследования (НТИ)

Составление бюджета НТИ позволяет достоверно оценить все затраты, необходимые для его реализации. При создании бюджета расходы группируют по следующим позициям: материальные затраты НТИ; затраты на оборудование; основная заработная плата исполнителей; дополнительная заработная плата исполнителей; отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления); накладные расходы [41].

##### 4.4.1. Расчет материальных затрат НТИ

Материальные затраты НТИ включают стоимость всех материалов, используемых при разработке проекта. Расчет материальных затрат осуществляется по формуле [41]:

$$Z_M = (1 + k_T) \cdot \sum_{i=1}^m C_i \cdot N_{расxi}, \quad (6)$$

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

$N_{расxi}$  – количество материальных ресурсов  $i$ -го вида, планируемых к использованию при выполнении научного исследования;

$C_i$  – цена приобретения единицы  $i$ -го вида потребляемых материальных ресурсов;

$k_T$  – коэффициент, учитывающий транспортно-заготовительные расходы.

Расчет стоимости материальных затрат производился по действующим прейскурантам и ценам. Транспортные расходы находятся в пределах от 15 до 25 % от стоимости материалов, в рамках данной работы их приняли равными 20 % ( $k_T = 0,2$ ). Материальные затраты, необходимые для данной разработки, представлены в таблице 4.13.

Таблица 4.13 – Материальные затраты

Наименование	Единица измерения	Количество			Цена за ед., руб			Затраты на материалы, (З <sub>м</sub> ), руб		
		Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3	Исп.1	Исп.2	Исп.3
Лактобактерин сухой («Микроген»), упаковка	шт	2	2	-	150	150	-	360	360	0
Ацилакт («Фермент»), упаковка	шт	-	-	2	-	-	350	-	-	840
Доксорубицин-Тева, упаковка	шт	5	-	-	850	-	-	5100	-	-
Доксорубицин-ДЕКО, упаковка	шт	-	5	-	-	1000	-	-	6000	-
Доксорубицин Лахема, упаковка	шт	-	-	5	-	-	1800	-	-	10800
Натрия хлорид р-р для инфузий, флакон 1000 мл	шт	-	5	-	-	70	-	-	420	-
НАДН, динатриевая соль, AppliChem	г	5	5	5	5302	5302	5302	31814	31814	31814
Сахароза, банка 250 г	шт	1	1	1	167	167	167	201	201	201
Глюкоза, упаковка 500 г	шт	1	1	1	207	207	207	249	249	249
Лактоза, упаковка 100 г	шт	1	1	1	93	93	93	112	112	112
Желатин пищевой, упаковка 100 г	шт	1	1	1	183	183	183	220	220	220
Пептон ферментативный, упаковка 250 г	шт	1	1	1	1796	1796	1796	2152	2152	2152
Дрожжевой экстракт, упаковка 100 г	шт	1	1	1	718	718	718	862	862	862
Натрия уксуснокислый, упаковка 100 г	шт	1	1	1	145	145	145	174	174	174
Твин 80, упаковка 100 г	шт	1	1	1	169	169	169	203	203	203
Лимонная кислота, упаковка 100 г	шт	1	1	1	27	27	27	33	33	33
Хлорид аммония, упаковка 100 г	шт	1	1	1	48	48	48	58	58	58

Продолжение таблицы 4.13

Калий фосфорнокислый 2-замещенный, упаковка 100 г	шт	1	1	1	136	136	136	164	164	164
Магний сернокислый 7- водный, упаковка 100 г	шт	1	1	1	33	33	33	40	40	40
Марганец сернокислый 5- водный, упаковка 100 г	шт	1	1	1	109	109	109	131	131	131
Кювета кварцевая К-10	шт	1	1	1	4743	4743	4743	5692	5692	5692
Стакан химический на 50 см <sup>3</sup>	шт	5	5	5	116	116	116	696	696	696
Колбы мерные на 10 см <sup>3</sup>	шт	3	3	3	175	175	175	630	630	630
Колбы мерные на 50 см <sup>3</sup>	шт	3	3	3	245	245	245	882	882	882
Наконечники для дозатора	шт	50	50	50	5	5	5	300	300	300
Цилиндр мерный на 50 см <sup>3</sup>	шт	1	1	1	100	100	100	120	120	120
Цилиндр мерный на 100 см <sup>3</sup>	шт	1	1	1	149	149	149	179	179	179
Пенициллинки на 10 см <sup>3</sup>	шт	20	20	20	4	4	4	96	96	96
Пробирки лабораторные	шт	20	20	20	2	2	2	48	48	48
Штатив для пробирок на 10 мест	шт	2	2	2	140	140	140	336	336	336
Фильтровальная бумага диаметром 9 см, упаковка	шт	2	2	2	33	33	33	79	79	79
Итого								50931	52251	57111

В таблице 4.13 исполнения 1, 2 и 3 – это варианты выполнения данной научно-исследовательской работы, определенные с помощью морфологической матрицы (Таблица 4.9) в разделе 4.2. Исполнение 1 (Исп.1) предполагает осуществление методики на приборе флюорат-02-панорама, используя в качестве растворителя воду дистиллированную, в качестве источника лактобактерий – препарат «Лактобактерин сухой», а в качестве

источника доксорубицина – «Доксорубицин-Тева». Исполнение 2 (Исп.2) предполагает осуществление методики на приборе флюорат-02-панорама, используя в качестве растворителя физиологический раствор, в качестве источника лактобактерий – препарат «Лактобактерин сухой», а в качестве источника доксорубицина – «Доксорубицин-ДЕКО». А исполнение 3 (Исп.3) – осуществление методики на приборе флюорат-02-панорама, используя в качестве растворителя воду дистиллированную, в качестве источника лактобактерий – препарат «Ацилакт», а в качестве источника доксорубицина – «Доксорубицин Лахема». Приведенные отличия не влияют на коммерческий потенциал разработки, а оказывают воздействие непосредственно на процесс исследования.

#### 4.4.2 Расчет затрат на оборудование для научно-экспериментальных работ

В данную статью входят расходы, связанные с приобретением специального оборудования (приборов, контрольно-измерительной аппаратуры, устройств и механизмов), необходимого для проведения работ. Однако так как оборудование было приобретено до начала выполнения работы и уже находилось в эксплуатации определенный срок, необходимо рассчитать амортизационные отчисления. Они рассчитываются по формуле:

$$A = \frac{C_n \cdot H_a \cdot n}{100 \cdot k},$$

где  $C_n$  – первоначальная стоимость оборудования;

$H_a$  – норма амортизации, % (в рамках данного проекта – 10 %);

$n$  – число проработанных месяцев (в рамках данного проекта 5 месяцев);

$k$  – количество месяцев в году.

Все расчеты затрат на спецоборудование представлены в таблице 4.14.

Таблица 4.14 – Затраты на приобретение спец оборудования для научных работ

№ п/п	Наименование оборудования	Кол-во единиц оборудования	Цена единицы оборудования, тыс.руб.	Общая стоимость оборудования, тыс.руб.	Амортизация, тыс.руб.
1	Дистилятор для приготовления воды очищенной (Россия, Тюмень)	1	20,000	20,000	0,833
2	Весы аналитические (класс точности 0,0001 г., Россия)	1	19,000	19,000	0,792
3	Дозатор 1-канальный, переменного объема 10- 1000 мкл (Россия);	1	6,828	6,828	0,285
4	Дозатор 1-канальный, переменного объема 2- 10 мл (Россия)	1	5,470	5,470	0,228
5	Флюорат-02-Панорама	1	800,000	800,000	33,333
Итого				851,298	35,471

#### 4.4.3 Основная заработная плата исполнителей

В целом, в статью заработной платы исполнителей включается основная заработная плата работников, непосредственно выполняющих НИИ, и дополнительная заработная плата. Затраты на заработную плату определяются трудоемкостью осуществляющихся работ и существующей системой окладов и тарифных ставок. Также в состав основной заработной платы включается премия, выплачиваемая ежемесячно из фонда заработной платы в размере от 20 до 30 % от тарифа или оклада.

В данном разделе рассчитаем основную заработную плату исполнителей, для этого необходимо воспользоваться формулой [41]:

$$Z_{осн} = Z_{дн} \cdot T_p, \quad (7)$$

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

$T_p$  – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн. (Таблица 4.11);

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

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле [41]:

$$Z_{дн} = \frac{Z_m \cdot M}{F_d}, \quad (8)$$

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

$M$  – количество месяцев работы без отпуска в течение года (отпуск 24 раб.дня –  $M=11,2$  месяца, отпуск 48 раб.дня –  $M=10,4$  месяца);

$F_d$  – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб.дн. (приведен в таблице 4.15).

Таблица 4.15 – Баланс рабочего времени на 2021 год

Показатели рабочего времени	Руководитель	Бакалавр
Календарное число дней	365	365
Количество нерабочих дней		
- выходные дни	52	52
- праздничные дни	14	14
Потери рабочего времени		
- отпуск	48	24
- невыходы по болезни	-	-
Действительный годовой фонд рабочего времени	251	275

Месячный должностной оклад работника [41]:

$$Z_m = Z_{ТС} \cdot (1 + k_{ПР} + k_d) \cdot k_p, \quad (9)$$

где  $Z_{ТС}$  – заработная плата по тарифной ставке, руб.;

$k_{ПР}$  – премиальный коэффициент, равный 0,3 (30 % от  $Z_{ТС}$ );

$k_d$  – коэффициент доплат и надбавок составляет примерно 0,2 – 0,5;

$k_p$  – районный коэффициент, который для города Томск составляет 1,3.

Для расчетов было принято, что заработная плата руководителя, консультанта по ФМ и консультанта по СО составляет 31000 рублей согласно доступным данным (это средняя заработная плата доцента НИ ТПУ); средняя зарплата лаборанта составляет 14512 рублей (бакалавр). Расчет основной заработной платы приведен в таблице 4.16.

Таблица 4.16 – Расчет основной заработной платы

Исполнитель	$Z_{ТС}$ , руб.	$k_{ПР}$	$k_{Д}$	$k_{Р}$	$Z_{м}$ , руб.	$Z_{ДН}$ , руб.	$T_{р}$ , раб. дн	$Z_{осн}$ , руб.
Руководитель	31000	0,3	0,35	1,3	66495	2755	11,7	32234
Бакалавр	14512	0,3	0,35	1,3	31128	1268	82	103976
Консультант по ФМ	31000	0,3	0,35	1,3	66495	2755	4,3	11847
Консультант по СО	31000	0,3	0,35	1,3	66495	32755	4,3	11847
Итого								159904

#### 4.4.4 Дополнительная заработная плата исполнителей

Расходы по данной позиции учитывают величину установленных ТК РФ доплат за отклонение от нормальных условий труда и выплат, связанных с обеспечением гарантий и компенсаций. Рассчитывается дополнительная заработная плата по формуле [41]:

$$Z_{доп} = Z_{осн} \cdot k_{доп}, \quad (10)$$

где  $k_{доп}$  – коэффициент дополнительной заработной платы (примем равным 0,14).

Тогда общая заработная плата будет определяться формулой [41]:

$$Z_{зп} = Z_{доп} + Z_{осн}. \quad (11)$$

Значения основной, дополнительной и общей заработной платы представлены в таблице 4.17.



Таблица 4.17 – Основная, дополнительная и общая заработная плата каждого участника научно-исследовательской работы

Исполнитель	$Z_{осн}$ , руб.	$Z_{доп}$ , руб.	$Z_{зп}$ , руб.
Руководитель	32234	4513	36747
Бакалавр	103976	14557	118533
Консультант по ФМ	11847	1659	13506
Консультант по СО	11847	1659	13506
Итого	159904	18328	182292

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

Данная позиция затрат содержит обязательные отчисления по установленным законодательством РФ нормам органам государственного социального страхования, пенсионного фонда и медицинского страхования от затрат на оплату труда. Затраты на страховые отчисления рассчитываются по формуле [41]:

$$Z_{внеб} = (Z_{доп} + Z_{осн}) \cdot k_{внеб} = Z_{зп} \cdot k_{внеб}, \quad (12)$$

где  $k_{внеб}$  – коэффициент отчислений на уплату во внебюджетные фонды.

Отчисления на социальные нужды составляет 30 % ( $k_{внеб} = 0,3$ ) от суммы заработной платы всех сотрудников, из которых 22 % составляют отчисления в пенсионный фонд, 2,9 % – на социальное страхование, 5,1 % – на медицинское страхование.

Тогда затраты на страховые отчисления составят:

$$Z_{внеб} = 182292 \cdot 0,3 = 54688 \text{ руб.}$$

#### 4.4.6 Накладные расходы

Накладные расходы учитывают прочие затраты организации, не попавшие в предыдущие статьи расходов: печать графических материалов, оплата услуг связи, электроэнергия, транспортные расходы и т.д. Их величина определяется по формуле [41]:

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

где  $k_{\text{нр}}$  – коэффициент, учитывающий накладные расходы (примем равным 0,16).

Рассчитаем накладные расходы для каждого исполнения разработки:

$$Z_{\text{накл}1} = (50931 + 35471 + 159904 + 18328 + 54688) \cdot 0,16 = 51092 \text{ руб.};$$

$$Z_{\text{накл}2} = (52251 + 35471 + 159904 + 18328 + 54688) \cdot 0,16 = 51303 \text{ руб.};$$

$$Z_{\text{накл}3} = (57111 + 35471 + 159904 + 18328 + 54688) \cdot 0,16 = 52080 \text{ руб.}$$

#### 4.4.7 Формирование бюджета затрат НИИ

Рассчитанная величина затрат научно-исследовательской работы является основой для формирования бюджета затрат проекта, который при формировании договора с заказчиком защищается научной организацией в качестве нижнего предела затрат на разработку научно-технической продукции. Бюджета затрат на данный научно-исследовательский проект приведен в таблице 4.18.

Таблица 4.18 – Расчет бюджета затрат НИИ

Наименование статьи	Сумма, руб.			Примечание
	Исп.1	Исп..2	Исп.3	
1. Материальные затраты НИИ	50931	52251	57111	Пункт 4.4.1
2. Затраты на специальное оборудование	35471	35471	35471	Пункт 4.4.2
3. Затраты по основной заработной плате	159904	159904	159904	Пункт 4.4.3
4. Затраты по дополнительной заработной плате	18328	18328	18328	Пункт 4.4.4
5. Отчисления во внебюджетные фонды	54688	54688	54688	Пункт 4.4.5
6. Накладные расходы	51092	51303	52080	Пункт 4.4.6
7. Бюджет затрат НИИ	370414	371945	377582	Сумма ст. 1-6

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

Эффективность определяют путем вычисления интегрального показателя эффективности научного исследования. Для этого необходимо определить две средневзвешенные величины: финансовая эффективность и ресурсоэффективность. Интегральный финансовый показатель разработки определяется по формуле [41]:

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

где  $I_{фин}^{исп i}$  – интегральный финансовый показатель разработки;

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

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

Определим данный показатель для данного научно-исследовательского проекта:

$$I_{фин}^{исп 1} = \frac{370414}{377582} = 0,98; \quad I_{фин}^{исп 2} = \frac{371945}{377582} = 0,99; \quad I_{фин}^{исп 3} = \frac{377582}{377582} = 1.$$

В данной научно-исследовательской работе использовалось первое исполнение, его интегральный финансовый показатель незначительно меньше показателей других исполнений, что означает более низкую стоимость разработки.

Интегральный показатель ресурсоэффективности вычисляют по формуле [41]:

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

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

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

$b_i$  – бальная оценка  $i$ -го варианта исполнения разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания

Расчет интегрального показателя ресурсоэффективности представлен в таблице 4.19.

Таблица 4.19 – Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

Объект исследования Критерии	Весовой коэффициент параметра	Исп.1	Исп.2	Исп.3
7. Точность определения	0,15	4	3	5
8. Экспрессность	0,20	5	4	3
9. Простота эксплуатации	0,15	5	5	4
10. Селективность	0,15	3	4	5
11. Энергосбережение	0,15	4	4	4
12. Надежность	0,20	5	4	4
ИТОГО	1	4,4	4	4,1

$$I_{рмс.1} = 0,15 \cdot 4 + 0,20 \cdot 5 + 0,15 \cdot 5 + 0,15 \cdot 3 + 0,15 \cdot 4 + 0,20 \cdot 5 = 4,4;$$

$$I_{рмс.2} = 0,15 \cdot 3 + 0,20 \cdot 4 + 0,15 \cdot 5 + 0,15 \cdot 4 + 0,15 \cdot 4 + 0,20 \cdot 4 = 4,0;$$

$$I_{рмс.3} = 0,15 \cdot 5 + 0,20 \cdot 3 + 0,15 \cdot 4 + 0,15 \cdot 5 + 0,15 \cdot 4 + 0,20 \cdot 4 = 4,1.$$

Интегральный показатель эффективности вариантов исполнения разработки ( $I_{испi}$ ) определяется исходя из интегрального показателя ресурсоэффективности и интегрального финансового показателя [41]:

$$I_{испi} = \frac{I_{рес.испi}}{I_{фин.испi}}. \quad (16)$$

Сравнительная эффективность проекта определяется путем сравнения различных интегральных показателей эффективности вариантов исполнения разработки. Данный показатель позволяет выделить наиболее оптимальный вариант из предложенных вариантов. Сравнительная эффективность проекта ( $\mathcal{E}_{ср}$ ) [41]:

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

Результаты расчета эффективности разработки представлены в таблице 4.20.

Таблица 4.20 – Сравнительная эффективность разработки

№ п/п	Показатели	Исп.1	Исп.2	Исп.3
1	Интегральный финансовый показатель	0,98	0,99	1
2	Интегральный показатель ресурсоэффективности	4,4	4,0	4,1
3	Интегральный показатель эффективности	4,5	4,0	4,1
4.1	Сравнительная эффективность относительно исполнения 1	1	0,89	0,98
4.2	Сравнительная эффективность относительно исполнения 2	1,13	1	1,02
4.3	Сравнительная эффективность относительно исполнения 3	1,1	0,98	1

### Выводы по разделу

Таким образом, в результате работы над данным разделом, были определены потенциальные потребители результата данной исследовательской работы, также были рассмотрены возможные конкуренты приведенной разработки. Кроме того, с помощью SWOT-анализа были выявлены сильные и слабые стороны проекта, его возможности и угрозы, что пригодится для дальнейшей работы и усовершенствование разработки, а также для организации эффективной реализации готового продукта. Были определены возможные альтернативы проведения научно-исследовательской деятельности, и разработан график проведения научного исследования. Также был рассчитан бюджет научно-технического исследования для каждой ранее определенной альтернативы, исполнение 1 оказалось самым низко затратным. А при анализе эффективности различных исполнений разработки, также наиболее эффективным оказалось исполнение 1. Следовательно, для наиболее эффективного проведения научно-исследовательской деятельности в рамках разработки флуориметрической методики оценки влияния доксорубицина на жизнеспособность лактобактерий, необходимо придерживаться исполнения 1.

## 5 СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ

Научно-исследовательская работа направлена на разработку флуориметрической методики оценки влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий. Данная разработка может найти применение в фармацевтической сфере, в лабораториях контроля качества готовых лекарственных препаратов, а также в научно-исследовательских лабораториях на стадиях разработки новых лекарственных препаратов.

Работы в рамках данного проекта выполнялись во втором корпусе НИ ТПУ, а именно в лаборатории физико-химических методов анализа на приборе «Флюорат-02-Панорама» (Люмэкс, Санкт-Петербург). Его используют при экологических, медицинских исследованиях, при контроле технологических параметров, а также в судебной экспертизе. Данный прибор достаточно многофункционален, одной из основных его функций являются спектрофлуориметрические исследования различных объектов. Основными достоинствами данного метода исследования являются высокая чувствительность и возможность работать с малыми концентрациями.

С каждым годом растет заболеваемость онкологическими заболеваниями, в связи с этим исследования безопасности противоопухолевых препаратов являются актуальными. Доксорубин – это противоопухолевый, высокоэффективный, цитостатический препарат. И в рамках данной работы было рассмотрено его влияние на лактобактерии (представителей нормальной микрофлоры человека).

## 5.1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности

### 5.1.1. Специальные (характерные для проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства

По трудовому кодексу Российской Федерации (ТК РФ) сотрудник аудитории 216, 2 корпуса ТПУ имеет право на [42]:

- предоставление работы, согласно трудовому договору;
- рабочее место, соответствующее существующим нормам, установленных ТК РФ и коллективным договором;
- своевременную заработную плату, размер которой соответствует указанному размеру в трудовом договоре;
- возмещение вреда, нанесенного ему в ходе выполнения трудовых обязанностей;
- обеспечение всех необходимых средств и материалов для исполнения трудовых обязанностей;
- социальное страхование.

Кроме того, работа в химической лаборатории предполагает взаимодействие с токсичными веществами, следовательно, может считаться работой во вредных условиях. ТК РФ в таком случае устанавливает ряд дополнительных компенсаций и гарантий для работников [42]:

- сокращенная продолжительность рабочего времени (не более 36 часов в неделю);
- дополнительные оплачиваемые отпуска;
- повышенный размер оплаты труда работников;
- обеспечение всех сотрудников СИЗ и необходимой спецодеждой;
- обязательные периодические медицинские осмотры за счет работодателя;

— обязательное психиатрическое освидетельствование не реже одного раза в 5 лет.

#### 5.1.2. Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны

Рабочее место в аудитории 216, 2 корпуса ТПУ должно соответствовать требованиям нормативной документации, а именно ГОСТ 12.2.032-78 и ГОСТ 12.2.033-78. Так как, представленный проект предполагает как работу в положении стоя (приготовление растворов, взвешивание и др.), так и в положении сидя (снятие показаний приборов, проведение подготовительных процедур и др.). В целом, рабочее место должно иметь объем не менее  $20 \text{ м}^3$ , площадь не менее  $4,5 \text{ м}^2$ , а высоту не менее 4 м. Расстояние между глазами оператора и экраном дисплея должно составлять 40 - 80 см [43-45].

Работы, осуществляемые в положении сидя, относятся к легким. Для них регламентирована высота рабочей поверхности (усредненный показатель 725 мм), а высота сиденья должна составлять в среднем 420 мм. Используемые инструменты (дозаторы, пенициллинки и др.) размещают так, чтобы исключить перекрещивание рук в ходе работы. Для этого располагают наиболее используемые предметы в ближнем поле зрения. Средства отображения информации необходимо помещать в вертикальной плоскости под углом  $\pm 15^\circ$  от нормальной линии взгляда или в горизонтальной плоскости под тем же углом от сагиттальной плоскости. Рабочий стол должен иметь неметаллическое покрытие, которое не может накапливать статическое электричество, а также он должен быть устойчивым. А рабочий стул должен быть такого строения, которое будет исключать онемение тела вследствие нарушения кровообращения при продолжительной работе на рабочем месте [43, 44].



Работы в положении стоя также относят к легким. Высота рабочей поверхности должна составлять в среднем 1025 мм. Органы управления и предметы располагают аналогичным образом, что и для положении сидя [43].

Рабочее место сотрудника аудитории 216, 2 корпуса ТПУ соответствует требованиям [44, 45].

## 5.2. Производственная безопасность

Разрабатываемая флуориметрическая методика оценки влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий подразумевает использование электронной вычислительной машины (ЭВМ), прибора «Флюорат-02-панарама», а также взаимодействие с различными химическими веществами, в том числе токсичными. С точки зрения социальной ответственности целесообразно рассмотреть вредные и опасные факторы, которые могут возникать при разработке флуориметрической методики оценки влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий, а также требования по организации рабочего места.

5.2.1. Анализ потенциально возможных и опасных факторов, которые могут возникнуть на рабочем месте при проведении исследований

Для выбора факторов использовался ГОСТ 12.0.003-2015 «Опасные и вредные производственные факторы. Классификация» [46]. Перечень опасных и вредных факторов, характерных для проектируемой производственной среды представлен в виде таблицы 5.1, приведенной ниже.

Таблица 5.1. Опасные и вредные факторы при выполнении работ по разработке

Источник фактора, наименование вида работ	Факторы (по ГОСТ 12.0.003-2015)		Нормативные документы
	Вредные	Опасные	
1) Флуориметрическая методика оценки влияния доксорубицина на жизнеспособность лактобактерий	1. Неудовлетворительный микроклимат [47]. 2. Повышенные уровни шума и вибрации на рабочем месте [49, 50]. 3. Токсичные вещества, используемые в работе [51, 52].	1. Поражение электрическим током [48].	СанПиН 2.2.4.548-96  ГОСТ 12.1.019  СН 2.2.4/2.1.8.562-96
2) Работа с ЭВМ	4. Недостаточная освещенность рабочей зоны [53].		СН 2.2.4/2.1.8.566-96  СП 52.13330.2016  ПНД Ф 12.13.1-03  ГОСТ 12.1.005-88
3) Работа с прибором «Флюорат-02-панарама»			

### 5.2.2. Разработка мероприятий по снижению воздействия вредных и опасных факторов

При разработке флуориметрической методики оценки влияния доксорубицина на жизнеспособность лактобактерий в аудитории 216, 2 корпуса ТПУ, основным источником потенциально вредных и опасных производственных факторов (ОВПФ) являются работы по разработке и эксплуатации методики (работа с вредными веществами, работа с ЭВМ и непосредственно прибором «Флюорат-02-панарама»). Поэтому выполнение данных работ может быть сопряжено со столкновением с ОВПФ (неудовлетворительный микроклимат, повышенные уровни шума и вибрации

на рабочем месте, токсичные вещества, используемые в работе, недостаточная освещенность рабочей зоны, поражение электрическим током), которые далее будут рассмотрены более подробно.

#### Неудовлетворительный микроклимат

Для создания и автоматического поддержания в аудитории 216, 2 корпуса ТПУ независимо от наружных условий оптимальных значений температуры, влажности, чистоты и скорости движения воздуха, в холодное время года используется водяное отопление, в теплое время года применяется кондиционирование.

Параметры микроклимата, как при отдельном, так и при комплексном воздействии оказывают значительное влияние на здоровье и работоспособность человека. Температура, влажность, скорость движения воздуха и интенсивность теплового излучения от нагретых поверхностей определяют микроклимат помещения. Отклонение данных параметров от нормативных значений, определенных СанПиН 2.2.4.548-96 «Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений», приводит к неудовлетворительному микроклимату помещения, что, при длительном воздействии, негативно сказывается на работниках (ухудшение самочувствия, снижение трудоспособности, возникновение заболеваний и др.).

Аудитория 216, 2 корпуса ТПУ является помещением Iб категории. Оптимальные и допустимые значения параметров микроклимата приведены в таблице 5.2. А допустимые величины интенсивности теплового облучения работающих на рабочих местах от производственных источников, нагретых до темного свечения (материалов, изделий и др.) приведены в таблице 5.3 [47].

Таблица 5.2. Оптимальные величины показателей микроклимата на рабочих местах производственных помещений

Период года	Катег. работ по уровню энергозатрат	Температура воздуха, °С	Температура поверхностей, °С	Относ. влажность воздуха, %	Скорость движения воздуха, м/с
Холодный	Іб	21-23	20-24	40-60	0,1
Теплый	Іб	22-24	21-25	40-60	0,1

Таблица 5.3. Допустимые величины интенсивности теплового облучения

Облучаемая поверхность тела, %	Интенсивность теплового облучения, Вт/м <sup>2</sup>
50 и более	15
25-50	70
не более 25	100

В аудитории проводится ежедневная влажная уборка и систематическое проветривание после каждого часа работы на ЭВМ.

Согласно [54] микроклимат аудитории 216, 2 корпуса ТПУ соответствует допустимым нормам.

#### Поражение электрическим током

Для предотвращения поражения электрическим током, где размещаются рабочее место с ЭВМ в аудитории 216, 2 корпуса ТПУ, оборудование оснащено защитным заземлением, занулением, а также непосредственно от прикосновения к токоведущим частям защищает конструкция приборов. По опасности поражения электрическим током помещение лаборатории в 216 аудитории, 2 корпуса ТПУ относится к первому классу – помещения без повышенной опасности (сухое, хорошо отапливаемое, помещение с токонепроводящими полами, с температурой 18-20 °С, с влажностью 40-50%) [55].

Основными непосредственными причинами электротравматизма, являются:

- прикосновение к незащищенным токоведущим частям;
- поражение шаговым напряжением;
- халатность работников.

Основными техническими средствами защиты, согласно ПУЭ, являются [55]:

- защитное заземление;
- основная изоляция токоведущих частей;
- двойная, усиленная изоляция;
- автоматическое отключение питания;
- применение сверхнизкого (малого) напряжения;
- уравнивание потенциалов;
- изолирующие помещения, зоны, площадки.

Основными организационными мероприятиями являются проведение инструктажей по технике безопасности, а также периодических проверок соблюдения норм электробезопасности.

#### Повышенные уровни шума и вибрации на рабочем месте

При работе с ЭВМ в аудитории 216, 2 корпуса ТПУ характер шума – широкополосный с непрерывным спектром более 1 октавы.

Таблица 5.4. Предельно допустимые уровни звукового давления, уровни звука и эквивалентные уровни звука для основных наиболее типичных видов трудовой деятельности и рабочих мест [49]

N пп.	Вид трудовой деятельности, рабочее место	Уровни звукового давления, дБ, в октавных полосах со среднегеометрическими частотами, Гц									Уровни звука и эквивалентные уровни звука (дБА)
		31,5	63	125	250	500	1000	2000	4000	8000	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Творческая деятельность, руководящая работа с повышенными требованиями, научная деятельность, конструирование и проектирование, программирование, преподавание и обучение, врачебная деятельность. Рабочие места в помещениях дирекции, проектно-конструкторских бюро, расчетчиков, программистов вычислительных машин, в лабораториях для теоретических работ и обработки данных, приема больных в здравпунктах	86	71	61	54	49	45	42	40	38	50

Повышенный уровень шума, вибрации на рабочих местах оказывает вредное воздействие на организм человека. Результатом длительного воздействия данных факторов может стать нарушение нормальной деятельности нервной, пищеварительной и сердечно-сосудистой системы, также может развиваться профессиональная тугоухость, финальной стадией которой является глухота.

Для предотвращения негативного влияния шума и вибрации используют следующие меры: рациональные режимы труда и отдыха; сокращение времени пребывания работников в условиях воздействия негативных факторов; использование СИЗ; использование средств виброизоляции и вибропоглощения и др.

Согласно [54] уровень шума в аудитории 216, 2 корпуса ТПУ не более 80 дБА и соответствует нормам.

#### Токсичные вещества, используемые в работе

Данное исследование предполагает работу с лекарственным препаратом «Доксорубицин» в форме лиофилизата для приготовления раствора (кристаллический или аморфный порошок), Это противоопухолевый антибиотик полусинтетического происхождения.

Доксорубицин обладает широким общетоксическим действием, кроме того он также является канцерогенным, мутагенным, тератогенным веществом. Также он может вызывать аллергические реакции. Поэтому рекомендуется исключить любые контакты с данным веществом. Доксорубицин, согласно ГН 2.2.5.3532-18 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны», относится к веществам первого класса опасности – веществам чрезвычайно опасным [54]. Для веществ первого класса опасности по ГОСТ 12.1.007-76 «ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» установлено ряд норм, они приведены в таблице 5.5 [57].

Таблица 5.5 – Нормы для веществ первого класса опасности

Наименование вещества	Наименование показателя			
	Предельно допустимая концентрация (ПДК) в воздухе рабочей зоны, мг/м <sup>3</sup>	Средняя смертельная доза при нанесении на кожу, мг/кг	Средняя смертельная концентрация в воздухе, мг/м <sup>3</sup>	Средняя смертельная доза при введении в желудок, мг/кг
Доксорубицин	менее 0,1	Менее 100	менее 500	менее 15

Для того чтобы избежать негативных эффектов, необходимо все работы с данным веществом проводить в вытяжных шкафах, а также использовать СИЗ (респираторы, перчатки, защитные очки, халаты). Помимо этого необходимо хранить доксорубицин в герметичной таре.

#### Недостаточная освещенность рабочей зоны

В аудитории 216, 2 корпуса ТПУ имеется естественное и искусственное освещение. Размещение рабочих столов выполнено таким образом, чтобы боковые стороны дисплеев были ориентированы к световым проемам, чтобы естественный свет падал преимущественно слева. Искусственное освещение в помещениях для эксплуатации ЭВМ осуществляется системой общего равномерного освещения.

Освещенность на поверхности стола в зоне размещения рабочего документа должна быть 300 - 500 лк [53]. Освещение не должно создавать бликов на поверхности экрана. Освещенность поверхности экрана не должна быть более 300 лк [53].

В качестве источников света применяются светильники светодиодные. Нормируемые показатели освещения приведены в таблице 5.6.



Таблица 5.6. Нормируемые показатели естественного, искусственного и совмещенного освещения помещений жилых зданий [53]

Помещение	Рабочая поверхность и плоскость плоскость нормирования КЕО и освещенности и высота плоскости и над полом, м	Естественное освещение		Совмещенное освещение		Искусственное освещение		
		КЕО $e_n$ , %		КЕО $e_n$ , %		Освещенность рабочих поверхностей, лк	Показатель дисконфорта М, не более	Коэффициент пульсации и $K_p$ , %, не более
		При верхнем или комбинированном освещении	При боковом освещении	При верхнем или комбинированном освещении	При боковом освещении			
Кабинеты	Г-0,0	3,0	1,0	1,8	0,6	300	-	$\leq 5\%$ (работа с ЭВМ) $\leq 20\%$ (при работе с документацией)

Согласно [54] освещенность в аудитории 216 2 корпуса ТПУ соответствует допустимым нормам.

### 5.3. Экологическая безопасность

В данном подразделе рассматривается характер воздействия проектируемого решения на окружающую среду. Выявляются предполагаемые источники загрязнения окружающей среды, возникающие в результате реализации предлагаемых в ВКР решений.

### 5.3.1. Анализ влияния объекта исследования на окружающую среду

Практическое применение флуориметрической методики оценки влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий может оказывать негативное воздействие на атмосферу, гидросферу и литосферу. Основное негативное воздействие будет обусловлено использованием ряда веществ в работе. Рассмотрим подробнее влияние воздействий, продуцируемых данной разработкой, на окружающую среду.

*Атмосфера.* Воздействие на атмосферу в данной работе определяется использованием вещества первого класса опасности, а именно доксорубина, который в воздухе образует аэрозоли. С данным веществом работают в вытяжных шкафах. И таким путем (вентиляционный путь) данное вещество может попадать в атмосферу. Для предотвращения его попадания в атмосферу, все работы должны проводиться в вытяжном шкафу, оборудованном фильтром. Кроме того, хранить доксорубин необходимо в герметичной упаковке, для предотвращения его попадания в воздух.

*Гидросфера.* В данном случае негативное воздействие на гидросферу будет обусловлено использованием в работе таких лекарственных препаратов, как доксорубин и лактобактерин. Результатом удаления отходов, образующихся в результате работы по данному проекту в канализационную сеть, при попадании в водотоки может стать химическое и биологическое загрязнение. Поэтому, сточные воды, содержащие вредные вещества в концентрациях, превышающие нормы, подвергают дополнительной очистке.

Для предотвращения загрязнений проводится ряд мероприятий. Так, растворы доксорубина, согласно СанПиН 2.1.7.728-99, относятся к медицинским отходам класса Г (отходы по составу близкие к промышленным). Их собирают в отдельном месте, и далее, отходы данного класса, согласно СанПиН 2.1.3684-21, подвергаются предварительному обеззараживанию перед утилизацией. Кроме того, так как доксорубин

является цитостатиком, перед обеззараживанием он должен пройти дезактивацию, которую выполняют согласно инструкции препарата. Жидкий биоматериал также собирают в отдельном месте, обезвреживают и затем утилизируют [58, 59].

Сбором, транспортировкой, утилизацией химических, биологических, медицинских отходов занимаются сотрудники специализированной организацией, которая имеет лицензию на данный вид деятельности.

*Литосфера.* В химической лаборатории в ходе работы также образуются и бытовые отходы (канцелярия, искусственные источники освещения и др.), которые должны быть утилизированы или переработаны, что предпочтительнее, чтобы устранить негативное влияние на состояние литосферы.

### 5.3.2. Анализ влияния процесса исследования на окружающую среду

Процесс исследования, в рамках данной работы, представляет собой не только работу с литературными источниками (научные статьи, нормативная документация и т.д.), что безвредно для окружающей среды, но и непосредственно выполнение эксперимента, которое сопряжено с работой с веществами, которые могут наносить вред окружающей среде. Однако так как при разработке и эксплуатации методики используются одинаковые вещества, соответственно и влияние данных веществ на окружающую среду будет аналогично рассмотренным положениям в предыдущем пункте.

## 5.4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях

### 5.4.1. Анализ вероятных ЧС, которые может инициировать объект исследований и обоснование мероприятий по предотвращению ЧС

Согласно ГОСТ Р 22.0.02-94 чрезвычайная ситуация (ЧС) – это обстановка на определенной территории или акватории, сложившаяся в результате аварии, опасного природного явления, катастрофы, стихийного или иного бедствия, которые могут повлечь или повлекли за собой человеческие жертвы, ущерб здоровью людей или окружающей природной среде, значительные материальные потери и нарушение условий жизнедеятельности людей.

В списке вероятных чрезвычайных ситуаций при практической реализации флуориметрической методики оценки влияния доксорубина на жизнеспособность лактобактерий находятся пожары, землетрясения, аварии на коммунальных системах жизнеобеспечения. Но, учитывая тот факт, что основные работы при выполнении данной методики проводятся в аналитической химической лаборатории, наиболее вероятной ЧС является пожар. Причиной пожара может стать неисправность электрооборудования или халатность оператора (не соблюдение правил пожарной безопасности).

Следовательно, лаборатория, в которой будет осуществляться использование разработанной методики, должна соответствовать всем требованиям пожарной безопасности[60]:

- должны быть средства для тушения пожара (огнетушители, песок, и др.) и план эвакуации, который должен быть расположен на видном месте;
- должно быть обеспечено беспрепятственное движение работников по эвакуационным путям;
- категоричный запрет курения и работы на неисправном оборудовании;

— все электрооборудование должно быть исправно и оснащено изоляцией;

— нагревательные приборы должны находиться на термоизолирующих подставках;

— должна быть оснащена системой пожарной сигнализацией;

— должны проводиться инструктажи по работе с электрооборудованием, пожаро- и взрывоопасными веществами и средствами пожаротушения.

5.4.2. Анализ вероятных ЧС, которые могут возникнуть при проведении исследований и обоснование мероприятий по предотвращению ЧС

При проведении исследований наиболее вероятной ЧС является возникновение пожара в помещении 216, 2 корпуса ТПУ. Пожарная безопасность должна обеспечиваться системами предотвращения пожара и противопожарной защиты, в том числе организационно-техническими мероприятиями.

Основные источники возникновения пожара:

— неисправность оборудования, проводки, розеток, выключателей;

— халатность работника, оператора (не соблюдение норм пожарной безопасности при работе);

— короткое замыкание.

Под пожарной профилактикой понимается обучение пожарной технике безопасности и комплекс мероприятий, направленных на предупреждение пожаров.

Пожарная безопасность обеспечивается комплексом мероприятий:

— проведение плановых инструктажей о нормах пожарной безопасности в химической лаборатории;

— применение пожаробезопасного оборудования;

- наличие устройств противопожарной защиты, средств пожаротушения;
- применение автоматических установок пожарной сигнализации;
- строгий контроль над соблюдением требований пожарной безопасности (периодические проверки соблюдения норм и т.д.).

Согласно ФЗ-123, НПБ 104-03 «Проектирование систем оповещения людей о пожаре в зданиях и сооружениях» для оповещения о возникновении пожара в каждом помещении должны быть установлены дымовые оптико-электронные автономные пожарные извещатели, а оповещение о пожаре должно осуществляться подачей звуковых и световых сигналов во все помещения с постоянным или временным пребыванием людей.

Аудитория 216, 2 корпуса ТПУ оснащена первичными средствами пожаротушения: огнетушителями ОУ-3 1шт., ОП-3, 1шт. (предназначены для тушения любых материалов, предметов и веществ, применяется для тушения ПК и оргтехники, класс пожаров А, Е).

Таблица 5.7 – Типы используемых огнетушителей при пожаре в электроустановках

Напряжение, кВ	Тип огнетушителя (марка)
До 1,0	порошковый (серии ОП)
До 10,0	углекислотный (серии ОУ)

Согласно НПБ 105-03 помещение, предназначенное для проектирования и использования результатов проекта, относится к типу П-2а.

Таблица 5.8 – Категории помещений по пожарной опасности

Категория помещения	Характеристика веществ и материалов, находящихся (обращающихся) в помещении
П-2а	Зоны, расположенные в помещениях, в которых обращаются твердые горючие вещества в количестве, при котором удельная пожарная нагрузка составляет не менее 1 мегаджоуля на квадратный метр.

В корпусе 2 ТПУ имеется пожарная автоматика, сигнализация. В случае возникновения загорания необходимо, необходимо незамедлительно сообщить в пожарную службу (номер телефона: 01 или 112), обесточить электрооборудование, отключить систему вентиляции, поставить в известность начальника лаборатории, оповестить людей находящихся в здании, включив сигнализацию, и, соблюдая спокойствие, начать эвакуацию. Если нет угрозы жизни, можно приступить к тушению пожара, учитывая характер очага возгорания.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведения экспериментов в рамках данной научно-исследовательской работы, можно привести ряд результатов и сделать выводы. В ходе работы был получен флуориметрический сигнал от препарата «Лактобактерин» (АО НПО «Микроген») и определена его принадлежность лактобактериям. Была определена длины волн возбуждения и максимума флуоресценции раствора пробиотика «Лактобактерин» и суспензии лактобактерий в дистиллированной воде, они соответственно составили 281 нм и 345 нм. Также был проведен подбор рабочих условий определения содержания лактобактерий флуориметрическим методом (в качестве растворителя используется дистиллированная вода, длина волны возбуждения 281 нм, диапазон снятия спектра флуоресценции от 310 до 535 нм, чувствительность фотоэлектронного умножителя средняя, температура окружающей среды 25 °С). Кроме того, был определен диапазон линейной зависимости интенсивности сигнала от концентрации лактобактерий, он находится в интервале от 0 до  $10^9$  КОЕ.

Также в ходе данной научно-исследовательской работы было выявлено антимикробное действие противоопухолевого препарата доксорубицина на лактобактерий, а также проведен подбор оптимальных условий определения влияния данного препарата на лактобациллы. Был определен диапазон линейной зависимости интенсивности сигнала от концентрации доксорубицина, он находится в интервале от 0 до  $0,45 \text{ мг/см}^3$ .

В результате проведенных исследований была разработана методика оценки влияния доксорубицина на жизнеспособность лактобацилл методом флуориметрии. Предел обнаружения полученной методики составил  $0,40 \text{ мкг/см}^3$ , предел определения –  $1,20 \text{ мкг/см}^3$ , погрешность определения –  $0,044 \text{ мг/см}^3$ , расширенная неопределенность –  $0,026 \text{ мг/см}^3$ .



## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

1. Патласова С. Е. Флюориметрическая методика оценки влияния систем таргетированной терапии онкозаболеваний на нормальную флору человека / С. Е. Патласова ; науч. рук. К. В. Дёрина // Химия и химическая технология в XXI веке : материалы XXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л. П. Кулёва и Н. М. Кижнера, посвященной 110-летию со дня рождения профессора А. Г. Стромберга, 21–24 сентября 2020 г., г. Томск. — Томск : Изд-во ТПУ, 2020. — [С. 281-282].

2. Патласова С. Е. Применение *Lactobacillus* в качестве индикатора безопасности систем направленной доставки лекарств / С. Е. Патласова ; науч. рук. К. В. Дёрина // Химия и химическая технология в XXI веке : материалы XXII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л. П. Кулёва и Н. М. Кижнера, 17–20 мая 2021 г., г. Томск. — Томск : Изд-во ТПУ, 2021. — [С. 320-321].

3. Дёрина К. В. , Патласова С. Е. Применение фталоцианина кобальта для электроокисления NADH // X юбилейная Всероссийская конференция по электрохимическим методам анализа "ЭМА-2020": тезисы докладов, Казань, 16-19 Ноября 2020. - Казань: Изд-во КФУ, 2020 - С. 84-85

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Ferlay J. Global Cancer Observatory: Cancer Today / J.Ferlay, M. Ervik, F. Lam, M. Colombet, L. Mery, M. Piñeros // Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020. – URL: <https://gco.iarc.fr/today> (дата обращения 26.02.2021).
- 2 Всероссийский конгресс по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии +XXI кашкинские чтения. Тезисы // Проблемы медицинской микологии. 2018. №2.
- 3 Doxorubicin hydrochloride // European Pharmacopoeia. Sixth Edition: monograph. — 2005. — p. 1389—1390
- 4 Doxorubicin Hydrochloride // US Pharmacopoeia 32th Edition: monograph. – 2008.
- 5 Каркищенко В.Н. Фармакологические основы терапии. Тезаурус: Руководство для врачей и студентов. Издание третье / Каркищенко В.Н. Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б. – М., СПб: Айсинг, 2018. - 288 с.
- 6 National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID 31703, Doxorubicin. Retrieved May 31, 2021. – URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Doxorubicin> (дата обращения 26.02.2021)
- 7 Корман Д.Б. Противоопухолевые препараты, применяемые для лечения злокачественных опухолей органов пищеварения: механизмы действия и фармакокинетика. / Д.Б. Корман; Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН, 2018. – 32 с
- 8 Alyasova A.V., Terentiev I.G., Tsybusov S.N., Vedunova M.V., Mishchenko T.A., Shakhova K.A., Kontorshchikova K.N. Novel notions of the mechanisms of action of doxorubicin and ozone on malignant hepatic cells. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2017; 9(2): 145–149, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.2.18>

9 Матяш М. Г., Кравчук Т. Л., Высоцкая В. В., Чернов В. И., Гольдберг В. Е. Индуцированная антрациклинами кардиотоксичность: механизмы развития и клинические проявления // Сибирский онкологический журнал. 2008. №6.

10 Низамов Т.Р., Гаранина А.С., Уварова В.И., Науменко В.А., Щетинин И.В., Савченко А.Г. Использование магнитных наночастиц оксида железа сферической и кубической форм для доставки доксорубина в клетки линии карциномы молочной железы мыши 4Т1 // Вестник РГМУ. 2018. №6.

11 Васюк Ю.А., Школьник Е.Л., Несветов В.В., и др. Нарушения метаболизма миокарда на фоне химиотерапевтического лечения, а также возможности их коррекции // CardioСоматика. - 2013. - Т. 4. - №4. - С. 20-24. doi: 10.26442/CS45027

12 Успенская, Ю. А. Роль окислительного стресса в цитоповреждающем действии ксенобиотиков антрациклинового ряда [Текст] / Ю. А. Успенская // Наука и образование : опыт, проблемы, перспективы развития : мат-лы междунар. науч. практ. конф. Ч. I. Образование : опыт, проблемы, перспективы развития / Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2016. – С. 255-259.

13 Яруллина Д.Р. Бактерии рода *Lactobacillus*: общая характеристика и методы работы с ними: Учебно-методическое пособие / Д.Р. Яруллина, Р.Ф. Фахруллин. – Казань: Казанский университет, 2014. – 51 с.

14 Федорова Т. В. Технологические аспекты разработки поликомпонентного пробиотика на основе метаболитов производственных штаммов лакто- и бифидобактерий: дис...канд. фарм. наук. – Пермь, 2016. – 127 с.

15 Илларионова Е.А. Метод флуориметрии. Применение в фармацевтическом анализе: учебное пособие / Е. А. Илларионова, И. П. Сыроватский; ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, Кафедра

фармацевтической и токсикологической химии. – Иркутск: ИГМУ, 2017. – 41 с.

16 Seitz, W. Rudolf. “Luminescence Analysis.” AccessScience, McGraw-Hill Education, Jan. 2020.

17 Пучков Е. О., Флуоресцентные репортеры и их репортажи. Химия и жизнь» №9, 2014

18 Шерин П.С. Современная молекулярная спектроскопия: лабораторный практикум / П.С. Шерин; Новосибирский Государственный Университет, Кафедра Химической и Биологической Физики. – Новосибирск: НГУ, 2018. – 12 с.

19 Лёвшин Л.В., Салецкий А.М. Люминесценция и ее измерения: молекулярная люминесценция. — М.: Изд-во МГУ, 1989. — 272 с.

20 Анисимова Н.А. Идентификация органических соединений: учебное пособие (для студентов, обучающихся по специальности «химия»). – Горно- Алтайск: РИО ГАГУ, 2009. – 95с.

21 Blázquez-Castro, Alfonso., Stockert, Juan Carlos. Fluorescence Microscopy in Life Sciences. N.p.: Bentham Science Publishers, 2017.

22 Мартынов В.И., Пахомов А.А., Попова Н.В., Деев И.Е., Петренко А.Г. Синтетические флуорофоры для визуализации биомолекул в живых системах // Acta Naturae (русскаяязычная версия). 2016. №4 (31).

23 Карнаухов В.Н. Люминесцентный анализ клеток. – Пущино, 2002. – 131 с.

24 Булычева Е. В. Определение общего содержания бактерий в природных водах методом флуориметрии: диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук: спец. 02.00.02 / Е. В. Булычева; Национальный исследовательский Томский политехнический университет (ТПУ); науч. рук. Е. И. Короткова. — Томск, 2015. — 129 л.: ил.

25 ОФС.1.2.1.1.0006.15. Флуориметрия: общая фармакопейная статья // XIV издание Государственной фармакопеи Российской Федерации, 2018. – Том I, 777-783 с.

26 МУК 4.2.1890—04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания // Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004, 91 с.

27 Решедько Г.К. Особенности определения чувствительности микроорганизмов диско-диффузионным методом: методические рекомендации / Г.К. Решедько, О.У. Стецюк // Современные методы клинической микробиологии. – Смоленск, 2003 – 10 с.

28 Alfred Brown, Heidi Smith Microbiological Applications. Laboratory Manual in General Microbiology. 2014. – 23p

29 Камалова Я.Н. Оценка влияния доксорубина на жизнеспособность бактерий *p.Lactobacillus* / Я.Н. Камалова, М.Н. Егорова, науч. рук. Каримова Н. С. // Ломоносов 2021: материалы конференции «Ломоносов 2021», г. Москва. — Москва : Изд-во МГУ, 2021.

30 Осинцева Е.В. Техническое обслуживание и эксплуатация спектрофлуориметра Флюорат-02-Панорама: методическое пособие / Е.В. Осинцева: Уральский государственный университет – Екатеринбург: Изд-во Уральского государственного университета, 2008. – 93 с.

31 ЛС-002098: инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата «Лактобактерин» (АО НПО «Микроген»): Министерство здравоохранения Российской Федерации – URL: [http://grls.rosminzdrav.ru/Grls\\_View\\_v2.aspx?routingGuid=6b948ef8-57c9-4c45-909e-824594202233&t=](http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=6b948ef8-57c9-4c45-909e-824594202233&t=) (дата обращения 10.02.2021)

32 П N015001/01-221111: инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата «Доксорубин-Тева» (Тева Фармацевтические предприятия) – URL: [http://grls.rosminzdrav.ru/Grls\\_View\\_v2.aspx?routingGuid=c13f46fa-8148-4e52-ad93-f80b1c692ae8&t=](http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=c13f46fa-8148-4e52-ad93-f80b1c692ae8&t=) (дата обращения 10.02.2021)

33 Лысак В.В. Микробиология. Практикум: пособие / В. В. Лысак, Р.А. Желдакова, О. В. Фомина. – Минск: БГУ, 2015. – 115 с.

- 34 Леванов А.В. Кинетика затухания люминесценции кристаллофосфоров: практикум по физической химии / А.В. Леванов, О.Я. Исайкина. – Москва - Баку, 2021. 21 с.
- 35 Литусов Н.В. Физиология бактерий. Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во УГМУ, 2015. – 43 с.
- 36 Корман Д.Б. Противоопухолевые препараты, применяемые для лечения злокачественных опухолей органов пищеварения: механизмы действия и фармакокинетика. / Д.Б. Корман; Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН, 2018. – 32 с.
- 37 Пикула Н.П. Метрологическое обеспечение и контроль качества химического анализа: учебное пособие / Н.П.Пикула, А.А.Бакибаев, Г.Б.Слепченко; Томский политехнический университет. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2010. – 222 с.
- 38 РМГ 61 – 2010. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа.
- 39 Репкин Н.М. Методы обработки результатов химического эксперимента: учеб. пособие / *Н.М. Репкин, С.В. Леванова, Ю.А. Дружинина.* – Самара: Самар. гос. техн. ун-т, 2012. – 107 с.: ил.
- 40 Sung, H, Ferlay, J, Siegel, RL, Laversanne, M, Soerjomataram, I, Jemal, A, Bray, F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021
- 41 Видяев И.Г. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение: учебно-методическое пособие / И.Г. Видяев, Г.Н. Серикова, Н.А. Гаврикова, Н.В. Шаповалова, Л.Р. Тухватулина, З.В. Криницына. Томский политехнический университет. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2014. – 36 с.
- 42 Трудовой кодекс Российской Федерации (Собрание законодательства Российской Федерации, 2002, N 1 (ч. I), ст. 3; 2004, N 35, ст.

3607; 2006, N 27, ст. 2878; 2008, N 30 (ч. II), ст. 3616).– URL: <http://docs.cntd.ru/document/901807664/> (дата обращения 10.05.2021)

43 Методические указания по разработке раздела «Социальная ответственность» выпускной квалификационной работы магистра, специалиста и бакалавра всех направлений (специальностей) и форм обучения ТПУ, Томск 2019

44 ГОСТ 12.2.032-78 ССБТ. Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические требования. - М.: ИПК Издательство стандартов, 2001. – 9 с.

45 ГОСТ 12.2.033-78 ССБТ. Рабочее место при выполнении работ стоя. Общие эргономические требования. - М.: ИПК Издательство стандартов, 2001. – 9 с.

46 ГОСТ 12.0.003-2015 Опасные и вредные производственные факторы. Классификация. Официальное издание. М.: Стандартинформ, 2016 год

47 СанПиН 2.2.4.548–96. Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений М.: Информационно-издательский центр Минздрава России, 1997. – 21 с.

48 ГОСТ 12.1.019-2017 ССБТ. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200161238/> (дата обращения 10.05.2021)

49 СН 2.2.4/2.1.8.562–96. Шум на рабочих местах, в помещениях жилых, общественных зданий и на территории застройки. Санитарные нормы. – М, 1996. – 12 с.

50 СН 2.2.4/2.1.8.566–96. Производственная вибрация, вибрация в помещениях жилых и общественных зданий. Санитарные нормы. – М, 1997.

51 ГОСТ 12.1.005-88 ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200003608/> (дата обращения 10.05.2021)

- 52 ПНД Ф 12.13.1-03 Методические рекомендации. Техника безопасности при работе в аналитических лабораториях (общие положения) / Министерство природных ресурсов РФ. - М., 2003
- 53 СП 52.13330.2016 Естественное и искусственное освещение. Актуализированная редакция СНиП 23-05-95, 2016
- 54 Специальная оценка условий труда в ТПУ. 2018.
- 55 Правила устройства электроустановок. Издание седьмое, 2002.
- 56 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 10.05.2021)
- 57 ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. М.: Стандартинформ, 2007. – 6 с.
- 58 СанПиН 2.1.7.728-99 Почва, очистка населенных мест, бытовые и промышленные отходы. Санитарная охрана почвы. Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений. Санитарные правила и нормы. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/58855349/> (дата обращения 10.05.2021)
- 59 СанПиН 2.1.3684-21 Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/573536177/> (дата обращения 10.05.2021)
- 60 ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Пожарная безопасность. Общие требования (с Изменением N 1). М.: Стандартинформ, 2006. – 68 с.