

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 18.04.01 «Химическая технология»
 Отделение школы (НОЦ) Отделение химической инженерии

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Тема работы
Вольтамперометрическое определение глутатиона на модифицированных электродах

УДК 577.112.3:543.551

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ73	Айткулова Акбобек Уаликызы		

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент отделения химической инженерии	Дорожко Е.В.	К.Х.Н.		

КОНСУЛЬТАНТЫ ПО РАЗДЕЛАМ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент отделения социально-гуманитарных наук	Креницына З. В.	К.Т.Н.		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент	Мезенцева И.Л.			

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Руководитель ООП	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент отделения химической инженерии	Михеева Елена Валентиновна	К.Х.Н.		

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

Инженерная школа природных ресурсов
 Направление подготовки (специальность) 18.04.01 «Химическая технология»
 Отделение химической инженерии

УТВЕРЖДАЮ:
 Руководитель ООП

 (Подпись) (Дата) (Ф.И.О.)

ЗАДАНИЕ
на выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

Магистерской диссертации

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

Студенту:

Группа	ФИО
2ДМ73	Айткулова Акбобек Уаликызы

Тема работы:

Вольтамперометрическое определение глутатиона на модифицированных электродах

Утверждена приказом директора (дата, номер)	От 24.01.2019 №409/с
---	----------------------

Срок сдачи студентом выполненной работы:	
--	--

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

<p>Исходные данные к работе</p> <p><i>(наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к особенностям функционирования (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.).</i></p>	<p>В качестве объектов исследования взять глутатион восстановленный, провести литературный обзор по тематике научно-исследовательской работы, в экспериментальной части описать использованное оборудование, предоставить методику проведения экспериментов, проанализировать полученные результаты, сделать выводы.</p>
---	--

<p>Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов <i>(аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).</i></p>	<p>Введение Литературный обзор Экспериментальная часть Результаты и их обсуждение Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение Социальная ответственность Заключение</p>
<p>Перечень графического материала <i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i></p>	<p>Графический материал полученных результатов</p>

Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы
(с указанием разделов)

Раздел	Консультант
Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	Доцент ОСГН ШБИП, к.т.н., Криницына Зоя Васильевна
Социальная ответственность	Ассистент кафедры ШБИП, Мезенцева Ирина Леонидовна
Раздел на иностранном языке	Старший преподаватель кафедры ИЯПР, Михайлова Ольга Владимировна

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

На русском: 1. Литературный обзор; 1.1 Физико – химические свойства глутатиона; 1.2 Методы определения глутатиона; 1.2.1 Оптические методы определения глутатиона; 1.2.2 Хроматографические методы определения глутатиона; 1.2.3 Электрохимические методы определения глутатиона

На английском: 1.2.3 Electrochemical methods for the determination of glutathione

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

Задание выдал руководитель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент отделения химической инженерии	Дорожко Елена Владимировна	к.х.н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ73	Айткулова Акбобек Уаликызы		

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

Инженерная школа природных ресурсов
 Направление подготовки (специальность) 18.04.01 «Химическая технология»
 Уровень образования магистр
 Отделение химической инженерии
 Период выполнения _____ (осенний / весенний семестр 2018 /2019 учебного года)

Форма представления работы:

Магистерская диссертация

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

КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН
выполнения выпускной квалификационной работы

Срок сдачи студентом выполненной работы: _____

Дата контроля	Название раздела (модуля) / вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
Январь 2019 г.	Литературный обзор по теме проекта	20
Февраль 2019 г.	Поиск модификаторов для анодного вольтамперометрического определения глутатиона (GSH). Разработка лучшего состава электродного модификатора для вольтамперометрического определения глутатиона в модельных растворах.	20
Март 2019 г.	Подбор вольтамперометрических условий для определения GSH при уже ранее подобранном составе модификатора углеродсодержащего электрода	20
Апрель 2019 г.	Тестирование вольтамперометрической методики определения GSH в реальных объектах (растения, сыворотка или плазма крови человека, ферменты, фармацевтические препараты).	20
Май 2019 г.	Оформление ВКР	20

СОСТАВИЛ:

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент отделения химической инженерии	Дорожко Е.В.	К.Х.Н.		

СОГЛАСОВАНО:

Руководитель ООП

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор ОХИ ИШПР	Короткова Е.И.	д.х.н., профессор		

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

Студенту:

Группа 2ДМ73	ФИО Айткулова Акбобек Уаликызы
------------------------	---

Школа	Инженерная школа природных ресурсов	Отделение школы	Отделение химической инженерии
Уровень образования	Магистр	Направление/специальность	18.04.01 Химическая технология

Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:	
<i>1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих</i>	<i>Работа с информацией, представленной в российских и иностранных научных публикациях, аналитических материалах, статических бюллетенях и изданиях, нормативно-правовых документах.</i>
<i>2. Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений</i>	
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
<i>1. Оценка коммерческого потенциала, перспективности и альтернатив проведения научного исследования с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения</i>	<i>Проведение предпроектного анализа. Определение целевого рынка и проведение его сегментирования. Анализ причин и следствия проблем, оценка коммерциализации проекта.</i>
<i>2. Инициация научного проекта</i>	<i>Определение целей и ожиданий проекта. Определение заинтересованных сторон и их ожиданий.</i>
<i>3. Планирование процесса управления НИИ: структура и график проведения, бюджет, риски и организация закупок</i>	<i>Составление структуры работ и календарного плана проекта. Определение бюджета НИИ</i>
<i>4. Определение ресурсной, финансовой, экономической эффективности</i>	<i>Проведение сравнительной оценки экономической эффективности научного исследования.</i>
Перечень графического материала(с точным указанием обязательных чертежей):	
<i>1. Диаграмма Исикавы 2. Иерархическая структура работ проекта 3. Диаграмма Ганта работ по проекту 4. Оценка экономической эффективности НИИ</i>	

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

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОСГН ШБИП	Креницына Зоя Васильевна	К.т.н., доцент		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ73	Айткулова Акбобек Уаликызы		

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА
«СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»**

Студенту:

Группа	ФИО
2ДМ73	Айткулова Акбобек Уаликызы

Школа	Инженерная школа природных ресурсов	Отделение школы	Отделение химической инженерии
Уровень образования	Магистр	Направление/специальность	18.04.01 Химическая технология

Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:	
1. Характеристика объекта исследования (вещество, материал, прибор, алгоритм, методика, рабочая зона) и области его применения.	<i>Объект исследования – глутатион; Рабочая зона – научно-исследовательская лаборатория 2 корпуса ТПУ; Область применения – фармацевтическая промышленность.</i>
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности: - специальные (характерные при эксплуатации объекта исследования, проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства; - организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны.	- виды компенсаций за вредные и (или) опасные условия труда: сокращение продолжительности рабочего времени, ежегодные дополнительные отпуска, оплата труда в повышенном размере, молоко за вредность и др. лечебно-профилактическое питание, досрочное назначение трудовой пенсии; - эргономичное проектирование рабочего места.
2. Производственная безопасность 2.1. Анализ выявленных вредных и опасных факторов 2.2. Обоснование мероприятий по снижению воздействия	2.1 Выявление вредных факторов: - в ходе работы к вредным факторам воздействия можно отнести: токсичные вещества, используемые при выполнении работы (серная кислота, спирт этиловый); - для устранения влияния вредных факторов необходимо использовать средства защиты: для коллективной защиты - работа под вытяжным шкафом; для индивидуальной защиты - индивидуальные средства защиты (халат, респиратор, одноразовые перчатки); - освещение, уровень шума и вибрации, микроклиматические условия должны соответствовать требованиям СанПиН

	<p>2.2.4.548 – 96;</p> <p>2.2 Выявление опасных факторов: - для обеспечения электробезопасности токоведущие части оборудования необходимо использовать в соответствии с требованиями СанПиН 2971-84; - молниезащита производственных зданий и сооружений обеспечивается заземлением электрооборудования;</p>
3. Экологическая безопасность:	<p>- влияние вредных веществ, которые используются во время эксперимента, на окружающую среду (серная кислота); - загрязнение сточных вод в результате удаления отходов в канализационную сеть; - разработаны решения по обеспечению экологической безопасности: - СанПиН 2.1.6.1032-01; - ГН 2.1.6.1338 – 03; - ГН 2.2.5.2309 – 07; - ГН 2.1.5.1315-03.</p>
4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях:	<p>- при разработке и эксплуатации проектируемого решения возможны ЧС: пожар, взрыв и т. д.; - для ликвидации последствий пожара необходимо: 1. вызвать пожарную службу; 2. использовать огнетушитель, песок, асбестовое одеяло; 3. отключить электричество; 4. организовать эвакуацию рабочих;</p>

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

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент	Мезенцева Ирина Леонидовна			

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ73	Айткулова Акбобек Уаликызы		

Планируемые результаты по программе

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

Реферат

Выпускная квалификационная работа изложена на 128 страницах, включая 52 рисунков, 31 таблицу, 70 литературных источников и 1 приложения.

Ключевые слова: глутатион, электрохимические методы анализа, вольтамперометрия, вольтамперограмма, углеродсодержащий композитный электрод, градуировочная зависимость, модельные растворы, лекарственные препараты.

Объектом исследования является модельный раствор: L-глутатиона. Для определения содержания глутатиона в биологических объектах была применена лекарственный препарат «Ацетил – глутатион»

Целью работы является определение глутатиона в лекарственном препарате методом вольтамперометрии.

В процессе исследования были подобраны оптимальные условия определения глутатиона в модельных растворах и в фармацевтическом препарате методом вольтамперометрии на модифицированном углеродсодержащем композитном электроде. Проведена оценка экономической эффективности данного процесса и рассмотрено воздействие разработанных аспектов деятельности с точки зрения социальной ответственности на человека и окружающую среду.

Степень внедрения: результаты данной выпускной квалификационной работы могут быть использованы в качестве методики исследования содержания глутатиона в фармацевтических препаратах методом вольтамперометрии.

Область применения: в настоящее время данную методику определения содержания глутатиона в фармацевтических препаратах можно рекомендовать для проведения анализов в биохимических лабораториях.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ВКР – выпускная квалификационная работа

НИР – научно исследовательская работа

GSH – глутатион

ЧС – чрезвычайные ситуации

УКЭ - углеродсодержащий композитный электрод

ХСЭ – хлоридсеребряный электрод

ВА – вольтамперограмма

ЦВА – циклическая вольтамперограмма

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

Оглавление

Введение.....	15
1. Литературный обзор.....	16
1.1. Физико – химические свойства глутатиона.....	16
1.2 Методы определения глутатиона.....	21
1.2.1 Оптические методы определения глутатиона.....	22
1.2.2 Хроматографические методы определения глутатиона.....	24
1.2.3 Электрохимические методы определения глутатиона.....	26
2. Экспериментальная часть.....	39
2.1 Аппаратура, ячейки, электроды.....	39
2.2 Реактивы.....	41
2.3 Характеристика металлсодержащих модификаторов.....	42
2.4 Объект исследования.....	44
2.5 Методика приготовления углеродной пасты с модификатором.....	44
2.6 Методика очистки поверхности электрода	45
2.7 Методика измерения окисления глутатиона.....	45
4. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение.....	47
4.1 Предпроектный анализ.....	47
4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования.....	47
4.1.2 Диаграмма Исикавы.....	47
4.1.3 Оценка готовности проекта к коммерциализации.....	69
4.1.4. Методы коммерциализации результатов научно -технического исследования.....	70
4.2. Инициация проекта.....	70
4.2.1. Организационная структура проекта.....	71
4.2.2. Ограничения и допущения проекта.....	72
4.3. Планирование управления научно-техническим проектом.....	72
4.3.1. Иерархическая структура работ проекта	72
4.3.2. Контрольные события проекта.....	73

4.3.3. План проекта.....	74
4.3.4. Бюджет научного исследования.....	78
4.3.5. Организационная структура проекта.....	86
4.3.6. Матрица ответственности.....	86
4.3.7. План управления коммуникациями проекта.....	87
4.3.8. Реестр рисков проекта.....	88
4.3.9. План управления контрактами и поставками.....	88
4.4. Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования.....	89
4.4.1 Оценка сравнительной эффективности исследования.....	89

Введение

Глутатион (GSH) является распространенной во многих биологических системах. Он обеспечивает живые клетки защитой от токсичности, гипоксии или мутагенности, а также от воздействия многих канцерогенов. Изменения в его концентрационных уровнях являются возможными показателями некоторых заболеваний, таких как преждевременный атеросклероз, окклюзионная сосудистая система, лейкемия, диабет, синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД) и катаракта и другие. Исследования показали, что общий GSH, присутствующий в клетках, может быть либо свободным, либо связанным с белками. Количество свободного глутатиона в крови свидетельствует о защите клеток от оксидативных и свободных радикалов клеток. Кроме того, уровни глутатиона в образцах крови помогают диагностировать расстройства с-глутамил-цикла. Поэтому его точное определение имеет первостепенное значение для диагностических целей [1].

Целью данной работы является определить глутатион в лекарственных препаратах на углеродсодержащих электродах, модифицированных хелатсодержащими материалами методом вольтамперометрии.

В рамках этой цели были сформулированы следующие задачи:

- Исследовать влияние природы и состава модификатора углеродсодержащих электродов на токи электроокисления GSH;
- Исследовать поверхность модифицированных электродов методом СЭМ;
- Исследовать влияние pH и природы фонового электролита на сигнал электроокисления GSH;
- Исследовать влияние сопутствующих компонентов на вольтамперометрическое определение GSH;
- Определить GSH в фармацевтических препаратах.

1. Литературный обзор

1.1 Физико – химические свойства глутатиона

Глутатион (2-амино-5-[[2-[(карбоксиметил)амино]-1(меркаптометил)-2-оксоэтил]амино]-5-оксопентановая кислота, англ. glutathione, GSH) – это трипептид γ -глутамилцистеинилглицин. Глутатион содержит необычную пептидную связь между аминогруппой цистеина и карбоксильной группой боковой цепи глутамата [2].

Глутатион относится к фармакологической группе пептидов, антиоксидантов. Его молекулярная формула имеет вид $C_{10}H_{17}N_3O_6S$, а название по номенклатуре ИЮПАК (2S)-2-амино-4-1R-1-карбоксиметил карбамоил-2-сульфанилэтил карбамоил бутановая кислота. Имеет молярную массу 307,32 г/моль. Легко растворим в воде. Не растворяется в метаноле, диэтиловом эфире. Температура плавления равна 195 °С; 383 °F; 468 К [3].

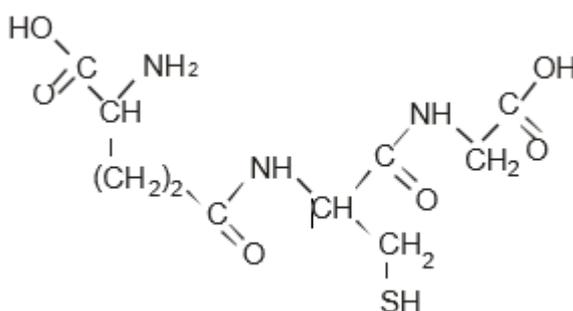


Рис. 1.1 - Структурная формула глутатиона .

Восстановленный глутатион является основным низкомолекулярным тиолсодержащим пептидом, присутствующим в большинстве живых клеток от бактерий до млекопитающих (за исключением некоторых бактерий и амёб) [4]. С момента своего открытия 130 лет назад в пекарских дрожжах (*Saccharomyces cerevisiae*) Ж. де Рей Пайяда, который назвал его «филотион», многие работы пытались установить и выяснить его ключевую роль в аэробной жизни. Его структура и окислительно-восстановительная роль были установлены сэром Фредериком Гоулендом Хопкинсом в 1922 году [5].

Глутатион – это уникальный пептид, содержащийся в клетках не только эукариотических организмов, но и многих прокариотов. Он имеет собственный метаболический путь, в отличие от других пептидов, образующихся путем матричного синтеза или посттрансляционной модификации. Он играет важную роль в клеточном обмене, участвуя в поддержании в процессах детоксикации ксенобиотиков эндо- и экзогенного происхождения окислительно-восстановительного потенциала, как непосредственно, так и в качестве субстрата для целого ряда ферментов биотрансформации. Возрастные изменения, стимуляция иммунных реакций, развитие острых и хронических заболеваний связаны с синтезом глутатиона. В частности, почти все основные болезни человека сопровождаются уменьшением уровня глутатиона и окислительного статуса в клетках [6].

GSH играет важную роль в поддержании редокс - статуса в клетке, которое определяется соотношением концентраций окислительных и восстановительных эквивалентов [7]. Глутатион существует в двух редокс-формах, восстановленной и окисленной (дисульфида глутатиона). Большая часть биологических функций глутатиона осуществляется путем превращения восстановленного GSH в окисленную форму (GSSG) с помощью фермента глутатион пероксидазы и последующего возвращения в восстановленную форму (GSH).

Соотношение концентраций восстановленного и окисленного глутатиона в норме составляет 10/1, а его уменьшение является маркером оксидативного стресса. Среднее содержание глутатиона в восстановленной форме (GSH) в сыворотке здоровых людей – $4,50 \pm 0,65$ мМ, в окисленной (GSSG) – $0,19 \pm 0,12$ мМ [8]. При избыточной продукции свободных радикалов наблюдается резкое истощение запасов восстановленного глутатиона. Наличие достаточной концентрации восстановленного глутатиона является критическим фактором выживания клеток в условиях оксидативного стресса [9].

Глутатион участвует в реализации нескольких жизненно важных функций. В первую очередь это нейтрализация токсических электрофильных

соединений, которая осуществляется путем прямого контакта с АФК либо через активацию ферментов биотрансформации, таких как глутатион пероксидазы и глутатион трансферазы [10]. Активные формы кислорода играют важную роль в различных физиологических процессах, в том числе клеточной пролиферации и дифференциации, генной регуляции, антибактериальной защите.

Существенная роль отводится GSH и в регуляции свободнорадикальных процессов, в которых этот антиоксидант блокирует и удаляет свободные радикалы. GSH поддерживает эссенциальный тиоловый статус белков и является резервуаром цистеина. GSH участвует в модуляции таких критически важных клеточных процессов, как синтез ДНК и иммунная функция. Кроме того, GSH поддерживает гомеостаз оксида азота (NO) [11], модулирует активность белков через посттрансляционную модификацию (S-глутатионилирование) и рецепторов нейротрансмиттеров. В клеточных органеллах глутатион играет разные роли. В митохондриях он участвует в регуляции апоптоза, задерживая некротические процессы, а в ядрах является ключевым регулятором пролиферации [12].

Главная функция GSH – детоксикация ксенобиотиков или их метаболитов. Эти соединения являются электрофилами и образуют конъюгаты с GSH как спонтанно, так и энзиматически, в реакциях, катализируемых глутатион S-трансферазой. Образовавшиеся конъюгаты обычно экскретируются из клеток, например, из гепатоцитов в желчь. Кроме того, они могут подвергаться расщеплению, катализируемому γ -глутамилтранспептидазой, с образованием остатка γ -глутаминовой кислоты и цистеинил-глицинового конъюгата. Связь между цистеином и глицином разрывается дипептидазой, и в результате образуется конъюгат ксенобиотика с цистеином. Затем следует N-ацетилирование этого соединения с образованием меркаптуровой кислоты. Метаболизм GSH конъюгатов до меркаптуровой кислоты начинается в желчных протоках, кишечнике или почках, а образование N-ацетилцистеиновых конъюгатов обычно происходит в почках. Аналогично метаболизируются токсические продукты эндогенного происхождения. Хотя

большинство реакций конъюгации приводят к детоксикации, бывает, что образовавшийся продукт остается высоко реактивным. Примером является конъюгат GSH с дибромэтаном. Внутриклеточный глутатион необратимо расходуется в процессе конъюгации с ксенобиотиками.

Глутатион является низкомолекулярным антиоксидантом и может участвовать в неферментативной антиоксидантной защите, выступая эффективным скэвенджером («ловушкой») свободных радикалов [13].

Фармакологические свойства глутатиона

Абсорбция

Глутатион, будучи небольшой пептидной молекулой, подлежит гидролизу (расщеплению) в тонком кишечнике, как правило, с помощью γ -глутамилтрансферазы в щеточной каемке тощей кишки [14], где преобладают ферменты. Там также может происходить гидролизная пост-абсорбция, так как глутатион, в основном, расщепляется на составляющие его аминокислоты, увеличивая концентрации L-цистеина в сыворотке крови [15]. В клетках кишечника человека находится так называемый «транспортёр для поглощения глутатиона» [16]. Исследования показали что содержание GSH повышается в сыворотке крови и тканях у крыс, когда глутатион использовался в качестве пищевой добавки. В целом, действие GSH из пищевых добавок в организме человека не совпадает с действием этого вещества из пищи. Диетический (содержащийся в пище) GSH или GSH в чистом виде, при глотании может быть расщеплен на составные аминокислоты в крови и в кишечнике, хотя существует возможность, что глутатион может расщепиться с помощью абсорбции в кишечнике.

Иммунная сыворотка (сыворотка крови)

Исследование показали что употребление в пищу 3 грамм глутатиона в форме раствора здоровыми субъектами не показало увеличения концентрации циркулирующего глутатиона в течение следующих 270 минут, в сравнении с исходной концентрацией [17]. Употребления в течений четырех недель добавок по 1000 мг не повлияли на количество эритроцитов, и вливание (в форме

настоя) GSH показало, что увеличение в сыворотке крови L-цистеина, приблизительно эквивалентно количеству L-цистеина в GSH [18] (в его обычной форме), а это предполагает расщепление вещества в сыворотке крови. Глутатион нестабилен в крови, и с помощью перорального или внутривенного введения, глутатион будет легко восстанавливаться в L-цистеин или другие молекулы, содержащие серу.

Клеточная динамика

GSH синтезируется внутриклеточно, и в то время как это может привести к оттоку вещества из клетки, глутатион все равно стремится к гидролизу, чтобы расщепиться на составные аминокислоты, дабы потом быть поглощенным клетками и повторно синтезироваться внутри клетки в глутатион (основное вещество). Глутамилтранспептидаза расщепляет химическую связь γ -глутамила в глутатион, производя цистеин-глицин дипептид и фрагмент γ -глутамила, который связан с другой аминокислотой (обычно это цистин, продукт объединения двух молекул L-цистеина [19]) для внеклеточной транспортировки, и при достижении γ -глутамила аминокислоты другой ткани, дипептид расщепляется с помощью энзима, отвечающего за транспорт веществ от клетки к клетке. Таким образом, освобождаются аминокислоты, которые, в свою очередь, помогают произвести циклическую форму глутаминовой кислоты (5-оксопролин), которая преобразуется в глутамин с помощью 5-оксопролина [20]. Так как глутатион является трипептидом, может произойти эманация его из клетки, он не может быть поглощен обратно в большинство интактных клеток. Это приводит к базовому количеству содержания глутатиона в сыворотке крови, нормальный диапазон которого составляет 3.8-5.5 μ M с периодом полураспада около 14,1 \pm 9,2 мин. Клетки, которые были отмечены как способные поглощать GSH в его нетронутым состоянии, включают гепатоциты (HepG2 [21]), кишечные клетки слизистой оболочки [22], и клетки сетчатки. GSH может быть экспортирован из клеток, где он синтезируется, и, таким образом он, в какой-то степени, существует в своей интактной форме в

крови. Большинство клеток, однако, должны расщеплять это вещество, чтобы иметь возможность его абсорбировать.

Вторая фаза взаимодействия ферментов

GSH может быть конъюгирован с другими молекулами, участвующими во второй фазе взаимодействия ферментов. Этот процесс обычно называют «процессом детоксикации», так как эти соединения «помечают» определенные молекулы для их удаления с помощью печени и почек [23]. В некоторых случаях соединения глутатиона служат для биоактивации целевых молекул. Этот процесс применим как к ксенобиотикам (процессы, происходящие из вне тела), а также к некоторым эндогенным молекулам, таким как стероиды и простагландины [24]. Эти ферменты являются S-трансферазами (GSTS), и их соединительная реакция аналогична антиоксидантной реакции, где GSH выполняет нуклонную атаку (отдает пару электронов) по отношению к электрофильным (свободным для приема электронов) молекулам в процессе слияния. После конъюгации, она либо выталкивается сразу из печени в кишечник (образуя фекальный метаболит), либо продолжает свой путь через почки, где, в конечном счете, выводится с мочой в виде ацетилированного Л-цистеина, более известного как меркаптуровая кислота. GSH использует ферменты глутатион S-трансферазы (GST) для того, чтобы соединять вместе определенные молекулы. Это слияние изменяет структуру молекул, и в то время как, в большинстве случаев, этот процесс играет роль детоксикации, помогая удалять конкретные молекулы из тела, в нескольких случаях так же было отмечено, что процесс может повысить действие/ токсичность молекул.

1.2 Методы определения глутатиона

Существует целый ряд методов определения глутатиона в разных объектах искусственного и природного происхождения (сыворотка и плазма крови, клетки печени и легких животных, модельные растворы,

фармацевтические препараты). Их можно разделить на оптические, хроматографические и электрохимические методы.

1.2.1 Оптические методы определения глутатиона

Для измерения GSH в крови применяются различные спектрофотометрические методы.

Описана новая методика спектрофотометрического анализа GSH в видимом диапазоне, в микрообъемах крови (всего 0,5 мкл), собранных из пальца. Образцы разбавляют от 1 до 300 (об./Об.) в стабилизирующем растворе, с последующим определением концентрации гемоглобина и кислотной депротеинизацией. Затем GSH измеряют в прозрачном супернатанте с помощью колориметрии с использованием DTNB, то есть 5,5'-дитиобис (2-нитробензойной кислоты), в водном растворе при pH 7,8. Реагент DTNB готовится и хранится при pH 6,2 до момента его непосредственного добавления, что позволяет избежать самопроизвольного разложения реагента. Анализ является быстрым, его легко адаптировать к крупномасштабным исследованиям, и он избегает окисления GSH, распространенного методологического недостатка. Этот метод является точным с относительным стандартным отклонением в течение дня от 1,7 до 3,4% (RSD) и межсуточным RSD от 2,2 до 4,2%, а также с относительной погрешностью в пределах от -1,4% до 2,3% (RE) и от -2,8% до 1,6% в течение дня RE. GSH восстанавливается на 97,5-100% при всех испытанных концентрациях. Новый колориметрический микрометод был проверен с помощью надежного ранее сообщенного метода ВЭЖХ. Процедура подходит для малоинвазивного исследования окислительного стресса в периферической крови. Непрерывная спектрофотометрическая регистрация реакции позволяет точно определить максимальное значение абсорбции, даже когда абсорбция имеет тенденцию уменьшаться со временем из-за окисления DTNB [25].

Был разработан простой и недорогой способ изготовления микрофлюидной платформы. Печатную плату (PCB) использовали для

изготовления мастер-формы для репликации микроканала полидиметилсилоксана (PDMS). Основная форма была изготовлена простым фотолитографическим методом с использованием сухой фоторезистивной пленки. В процессе не использовались опасные химические вещества, чистая комната или дорогой инструмент. Микроканал PDMS был зажат пластинами из полиметилметакрилата (PMMA), где светоизлучающий диод (LED) в качестве источника света и светозависимый резистор (LDR) в качестве датчика света были присоединены для формирования простого оптического датчика. Система была успешно использована в качестве анализа микропотока для определения глутатиона в образцах пищевых добавок. Линейный калибровочный график в диапазоне 5,0 - 60,0 мг л⁻¹ глутатиона был получен с пределом обнаружения 0,01 мг л⁽⁻¹⁾. Система обеспечивала пропускную способность пробы 48 ч⁻¹ при расходе реагента в микролитрах [26].

Ученые исследовали способ количественного колориметрического определения, восстановленного GSH в крови. Способ включает смешивание пробы крови с реагентом, содержащим стабилизированную вольфрамовую кислоту, этанол и 5,5'-дитиобис (2-нитробензойной кислоты). Смесь центрифугируют и измеряют оптическую плотность надосадочной жидкости. Супернатант смешивают с буфером, чтобы получить конечный pH примерно от 7 до 10, и оптическую плотность снова измеряют. Концентрация GSH определяется из измерений оптической плотности [27].

Ученые разработали высокоспецифичный, чувствительный и простой метод для определения малого количества GSH. GSH реагирует при pH=8 с ортофталевым альдегидом, полученный продукт, флуоресценция которого в 420 нм линейна от 0.065 до 32.5 ммоль/мл. В соответствии с указанными условиями реакции, снижение или отсутствие флуоресценции получают из окисленного GSH, сульфгидрильных, содержащих аминокислоты, пептидов, пуринов, или других родственных смесей [28].

1.2.2 Хроматографические методы определения глутатиона

GSH является основным внутриклеточным антиоксидантом, обладающим множественными биологическими эффектами, наиболее известен своими цитопротективными эффектами против повреждения клеток от активных форм кислорода и токсических реактивных метаболитов и регуляции клеточного окислительно-восстановительного гомеостаза. Благодаря собственной сульфгидрильной (SH) группе GSH легко вступает в реакцию с реагентом Элмана с образованием стабильного димера, который позволяет проводить количественную оценку GSH в биологических системах с помощью УФ-детектирования. Разделение достигалось с использованием колонки C8 с подвижной фазой, состоящей из фосфатного буфера, доведенного до pH 2,5 (подвижная фаза А), и ацетонитрила (подвижная фаза В), работающего в режиме сегментированного градиента при скорости потока 0,8 мл/мин, и УФ-детекцию проводили при 280 нм. Разработанный метод ВЭЖХ-УФ был проверен с точки зрения точности, надежности и линейности в диапазоне 1–20 мкг/мл. Предел обнаружения (LOD) и предел количественного определения (LOQ) составляли 0,05 и 0,1 мкг/мл соответственно. Кроме того, метод показывает применимость для мониторинга окислительного стресса в клетках РС-12 [29].

Существует много методов анализа глутатиона, включая спектрофотометрические, флуорометрические и билюминометрические анализы, часто применяемые ВЭЖХ. В этом исследовании был разработан улучшенный и модифицированный метод измерения концентрации восстановленного и окисленного глутатиона (GSH и GSSG соответственно) в тканях животных. В этом исследовании образцы тканей перепелов и крыс гомогенизировали со смесью 10 mM EDTA и 50 mM NaClO₄ 0,1% H₃PO₄-буфера. Белки осаждали с добавлением 5% метафосфорной кислоты. 50 mM NaClO₄ 0,1% H₃PO₄использовали в качестве подвижной фазы, а Discovery RP-Amide C16 использовали в качестве колонки для ВЭЖХ. Молекулы глутатиона были сняты при длине волн 215 нм УФ-детектором. Молекула GSH выделялась

между 2,3 и 3 мин, а молекула GSSG элюировалась между 3,5 и 4,5 мин из колонки. Было замечено, что при этом низкий уровень молекул глутатиона был обнаружен этим процессом. Степень извлечения GSH и GSSG составила 99,32 и 90,29% соответственно. В заключение, этот метод является быстрым, чувствительным и достижимым, поскольку он не нуждается в прямом процессе дериватизации в отличие от многих методов ВЭЖХ, используемых для анализа глутатиона [30].

В настоящей работе был разработан метод ВЭЖХ-УФ, позволяющий проводить количественные определения одновременно восстановленного GSH, окисленного GSSG и нитрозо-GSNO глутатиона. Хроматографическое разделение осуществляли на колонке YMC ODS-A C18 (150 × 4,6 мм, 5 мкм), соединенной с предварительной колонкой Guard-c (YMC-Pack, 10 × 1-4,0 мм). Элюированные соединения детектировали при 215 нм с помощью УФ-детектора, поддерживая колонную печь при комнатной температуре, в то время как температуру автоотборника поддерживали на уровне 4°C. Фракционный факторный дизайн был применен для оптимизации подвижной фазы, что привело к выделению пиков в течение 6 минут. Внутренняя валидация оценивалась по линейности, пределам обнаружения (LOD), пределам количественного определения (LOQ), воспроизводимости, повторяемости и восстановления. Пределы обнаружения и количественного определения, полученные для стандартных растворов, были ниже 0,2 мкМ и 0,6 мкМ соответственно (значения RSD ниже 2%). Разработанный метод был применен для измерения GSH, GSSG и GSNO в легочных клетках человека (A549), подвергнутых воздействию лимонена, оксида лимонена, солюбилизированного в культуральной среде, и NO₂ в качестве газовой фазы. Результаты показывают увеличение уровней GSH без существенных изменений в GSSG, когда клетки подвергались воздействию оксида лимонена, тогда как клетки, подвергшиеся воздействию NO₂, приводили к значительному увеличению количества GSNO. Пределы обнаружения составляли 1 мкМ для видов глутатиона, измеренных в клетках A549, со значениями RSD ниже 2,5%. В заключение, настоящий метод

ВЭЖХ-УФ может быть легко использован для быстрого, одновременного и точного измерения состояния GSH, GSSG и GSNO в клетках человека, их одновременная количественная оценка помогает лучше прогнозировать потенциальное воздействие химических веществ на здоровье человека [31].

Как видно, упомянутые выше методы предполагают не прямое определение глутатиона в биообъектах: либо необходимо предварительно получить комплексное соединение, которое реально детектировать, либо определение GSH носит косвенный характер, и предварительно необходимо определить содержание нецелевых веществ в модельном растворе. Длительная пробоподготовка нецелесообразна вследствие неустойчивости глутатиона, способного переходить из окисленной формы в восстановленную, в то время как необходимо селективно детектировать и ту и другую. Так или иначе разработка метода, позволившего бы напрямую определять содержание конкретной формы глутатиона носит заманчивой характер и является целью данного исследования.

1.2.3 Электрохимические методы определения глутатиона

Основы метода вольтамперометрии

Вольтамперометрический метод

В основе электрохимических методов исследования и анализа лежит изучение и использование процессов, протекающих на поверхности электрода или в межэлектродном пространстве. Аналитический сигнал возникает в результате электрохимической реакции, то есть гетерогенной реакции переноса электронов или ионов через границу раздела электропроводящих фаз. Вольтамперометрия – высокочувствительный метод анализа неорганических и органических веществ в химических, биологических, геологических, экологических и других объектах.

Метод основан на получении и изучении вольтамперных (поляризационных) кривых, отражающих зависимость силы тока (I), протекающего через электрохимическую ячейку от приложенного к ячейке

напряжения (E). Поляризацией называют смещение потенциала электрода от равновесного значения под действием прилагаемого напряжения [32]. Вольтамперометрия – высокочувствительный метод анализа неорганических и органических веществ в химических, биологических, геологических, экологических и других объектах.

Электрохимические методы определения глутатиона

Обратимся к опыту исследователей, занимающихся электрохимическим определением глутатиона.

В статье тщательно изучено окисление восстановленного глутатиона (GSH) электрогенерированным Берлинской лазурью (БЛ) на пленке модифицированного стеклоглеродного электрода (СУ), использовали методы циклической вольтамперометрии (ЦВА) и электродов с вращающимся диском (ВД). Среди различных соединений, используемых в качестве модификаторов поверхности электрода, берлинской лазурью или гексацианоферрат железа (III) считается как важное соединение из-за его широкого спектра применений во многих областях, таких как электрохромизм, ионоселективные электроды, защита от коррозии твердотельные батареи и электрокатализ. Недавний обзор Карякина демонстрирует его потенциальное применение в области электроанализа. Китайские ученые Хоу и Ван сообщили, что окисление GSH в покрытом БЛ на пленочном электроде возникает при потенциале, соответствующем к Берлинскому зеленому (БЛ).

Было показано, что окисление GSH возникает при потенциале, совпадающем с потенциалом превращения $\text{FeII}(\text{CN})_6$ в $\text{FeIII}(\text{CN})_6$ в пленке БЛ, где не наблюдается сигнал окисления при голом СУ. Была исследована кинетика каталитической реакции с использованием вращающегося диска электрода вольтамперометрии. Результаты, полученные для пленок различной толщины и концентрации GSH объясняются с помощью теории электрокаталитических реакций при химически модифицированных электродах (модель Andrieux – Saveant), и был сделан вывод, что реакция имеет «поверхностную» реакцию, в котором несколько монослоев на стороне

пленки/раствора участвуют в каталитическом процессе. Тем не менее, «поверхностная» реакция клониться к пределу насыщения при увеличении концентрации GSH и это поведение объяснено с помощью кинетики внутренней сферы Мичелиса-Ментена. Участки для различных концентрации GSH и значения наклона 95–110 мВ/декада показывают, что первый перенос электрона не ограничивает скорость процесса. Порядок реакции в отношении GSH и H^+ соответственно рассчитывается как 0,6 и -0,4 [33].

В этой работе обнаружили что, голый оксид олова, легированный фтором (FTO), проявлял электрокаталитическую способность к окислению глутатиона (GSH) в узкой области pH, что было исследовано с использованием линейной развертки вольтамперометрии на насыщенном каломельном электроде. Насыщенный каломельный электрод указал, что пик окисления GSH на электроде FTO возникает при 0,27 В (против SCE), что составляет отрицательный результат на чистом электроде Pt - 0,77 В. На электроде из стеклоуглерода (GC) в области потенциала от -0,40 до 1,20 В при pH 4,4, GSH не окисляется. На основе электрокаталитического окисления GSH показывает более низкий потенциал пика окисления в узкой области pH 4.0-5.5, голый электрод FTO может использоваться в качестве зонда для распознавание GSH из 20 α -аминокислот, в присутствии в белков, цистеине, гомоцистеине, цистеамине, тиобензол кислота, аскорбиновой кислоте, катехоле и дофамине. Предел обнаружения для распознавания GSH составляет 5 нМ.

На основе электрокаталитического окисления GSH в узкой области pH, в качестве зонда можно использовать голый электрод FTO для распознавания GSH из 20 -аминокислот, цистина, гомоцистеина, цистеамина, тиобензойной кислоты, аскорбиновой кислоты, катехола и дофамина. Поэтому использование электрохимического метода в сочетании рабочего электрода с FTO обеспечивает простой и эффективный метод определения GSH. И имеет преимущества, такие как простота, экспрессность, высокая чувствительность и селективность, надежность и низкая стоимость по сравнению с другими методами, но FTO не может быть использован для точного определние

концентраций GSH из-за отсутствия хороших линейных отношений между током реакции и концентрацией GSH. [34]

В этой работе изучили электрокаталитическую активность окисление глутатиона в широком спектре, с молекулярными комплексными катализаторами FeN_4 (MN_4 =металлические порфирины и металл фталоцианины). Дескрипторы удерживали на поверхности графитовых электродов, чтобы установить реакционные способности для катализаторов. Провели эти исследования в основном в щелочной среде ($pH = 13$). Порядок реакции в OH^- составляет 1 для значений pH ниже 8. Для более высоких значений pH реакция становится независимым от pH . Порядок реакции в глутатионе близок к 1 в исследованном диапазоне концентраций (10^{-3} – 10^{-2} М). Активность поверхностно-ограниченных комплексов MN_4 связана в окислительно-восстановительными переходами $Fe(II)/(I)$ и $Fe(III)/(II)$ иммобилизованными комплексами FeN_4 . Катализаторы активны только в потенциальной области, где преобладает состояние $Fe(II)$. Активность E по сравнению с формальным потенциалом $Fe(II)/(I)$ варьируется нелинейным образом, давая корреляцию вулкана, как ранее наблюдался для окисления L-цистеина и многих других реакции, катализируемые комплексами MN_4 . Участок (E) $\log j$ относительно потенциала $Fe(II)/(I)$ дает также асимметричный пик. Эти корреляции пиков ясно показывают, что окислительно-восстановительный потенциал $Fe(II)/(I)$ должен быть настроен на определенный потенциал, чтобы получить максимальный сигнал окисления глутатиона. Большинство порфиринов Fe проявляют низкую активность, поскольку металлический центр $Fe(III)$ находится в неправильном состоянии окисления в потенциале.

Понятно, что наличие макроциклов железа на графите поверхность существенно снижает избыточный потенциал окисления GSH по сравнению с голым графитовым электродом. Каталитическая активность сильно зависит от окислительно-восстановительных свойств комплекса Fe .

Токи изменяются линейно с концентрацией GSH, можно предположить, что эти электроды могут быть использованы в качестве амперометрических датчиков GSH. [35]

В этом исследовании ученые предлагают изопреналин (ISPT) в качестве нового модификатора для быстрого, чувствительного и высокоселективного вольтамперометрического определения глутатиона (GSH) с использованием многостенного углеродного нанотрубного пастового электрода (MWCNTPE). Циклическая вольтамперометрия постоянного тока, двухступенчатая хроноамперометрия и электрохимическая импедансная спектроскопия (EIS) показали, что этот модифицированный электрод может катализировать окисление GSH в водном растворе. Кинетические параметры системы, включая коэффициент переноса электронов и константу скорости каталитического взаимодействия, также определяли с использованием электрохимических подходов. Кроме того, линейная развертка вольтамперометрии (LSV) была использована для количественного анализа. LSV показал широкий линейный динамический диапазон (0,5-300,0 мкМ GSH) с пределом обнаружения 0,09 мкМ GSH. Наконец, этот метод был также исследован как селективный, простой и точный электрохимический сенсор для определения GSH в реальных образцах, таких как гемолизованный эритроцит, таблетка и моча.

Новый вольтамперометрический датчик, разработанный для определения GSH, является очень быстрым, воспроизводимым, высокоселективным и чувствительным и может использоваться для анализа реальных образцов. Этот медиатор демонстрирует превосходные каталитические эффекты при окислении GSH. Было обнаружено, что при циклической вольтамперометрии окисление глутатиона происходило при потенциале около 629 мВ на поверхности многостенного углеродного нанотрубного пастового электрода в настоящем ISPT. А на поверхности электрода из углеродных нанотрубок без ISPT окисление GSH не происходило. Предложенный метод также использовался в качестве селективного, простого и точного нового датчика для вольтамперометрического определения GSH в

реальных образцах, таких как гемолизированный эритроцит, таблетка и моча. [36]

Модифицированные электроды, покрытые адсорбированными фталоцианинами кобальта, проявляют значительную электрокаталитическую активность для электроокисления нескольких тиолов в щелочном водном растворе. В этом контексте исследована электрокаталитическая активность адсорбированного кобальта фталоцианина (CoPc) на обычном пиролитическом графитовом электроде для определения восстановленного L-глутатиона GSH и восстановления его дисульфида GSSG при физиологическом pH. Для этого были сняты циклические вольтамперограммы на вращающемся дисковом электроде, и результаты амперометрических исследований показывают, что стабильный электрохимический чувствительный материал, с хорошей воспроизводимостью и чувствительностью (в соответствии с концентрациями GSH, ожидаемыми в биологическом СМЖ), может быть легко достигнуто. Это открывает путь для разработки электрохимического датчика, способного обнаруживать эти два анализита в биологическом объекте с соответствующими условиями эксперимента (с точки зрения pH).

Эти предварительные исследования демонстрируют преимущества модифицированного электрода с использованием CoPc/OPG для электрохимического обнаружения GSH и GSSG при физиологическом pH. Вольтамперометрические исследования при pH 7,4 показывают, что аналогичное электрокаталитическое поведение как восстановленных GSH, так и окисленных GSSG наблюдается. Действительно, такой датчик можно использовать для обнаружения высвобожденного GSSG при донорстве NO и предоставить точную информацию о балансе GSH / GSSG соотношении [37].

Электроокисление глутатиона (GSH) было изучено на поверхности 2,7-бис (ферроценилэтил) флуорен-9-один модифицированном углеродном пастообразном электроде (2,7-BFEFMCPE). Циклическая вольтамперометрия (ЦВА), двухступенчатая хроноамперометрия и дифференциальная импульсная вольтамперометрия (ДИВ) были использованы для исследования пригодности

этого ферроценового производного в качестве медиатора для электрокаталитического окисления GSH в водных растворах с различным pH. Результаты показали, что pH 7,00 является наиболее подходящим pH для этой цели. При оптимальном pH окисление GSH на поверхности этого модифицированного электрода происходит при потенциале около 0,410В в отношении Ag |AgCl|KCl_{sat}. Кинетические параметры, такие как коэффициент переноса электрона $\alpha = 0,61$ и константа скорости для химической реакции между GSH и окислительно-восстановительным центром в 2,7-BFEFMCPE, $k_h = 1,73 \cdot 10^3 \text{ см}^3 \text{ моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$, также были определены с использованием электрохимических методов. Также было установлено, что кажущийся коэффициент диффузии D_{app} для GSH составляет $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$ в водном забуференном растворе. Ток пика электрокаталитического окисления GSH показал линейную зависимость от концентрации глутатиона, и были получены линейные калибровочные кривые в диапазонах от $5,2 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ до $4,1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ и $9,2 \cdot 10^{-7} \text{ М}$ до $1,1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ с использованием методов циклической вольтамперометрии и дифференциальной импульсной вольтамперометрии соответственно. Пределы обнаружения как на ЦВА так и на ДИВ были определены $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ и $5,1 \cdot 10^{-7} \text{ М}$ для методов соответственно. Этот метод также был рассмотрен как селективный, простой и точный новый метод вольтамперометрического определения GSH в реальной пробе, такой как гемолизированный эритроцит.

Вследствие широкого распространения GSH во многих биологических функциях было приложено много усилий для разработки чувствительных и селективных методов его обнаружения. Многие химические и инструментальные методы были описаны для определения GSH, которые подразделяются на титриметрию, спектрофотометрию, спектрофлуориметрию, высокоэффективную жидкостную хроматографию, капиллярную зону электрофорез, протонный ядерный магнитный резонанс (1H ЯМР), адензиматические методы. Однако большинство из них имеют трудности подготовки образца, необходимости дериватизации или отсутствия

достаточной чувствительности, которые ограничивают их полезность. По сравнению с другими методами электроаналитические методы обладают преимуществами простоты, низкой стоимости и высокой чувствительности. Реакция переноса электрона GSH на обычных электродах, таких как углерод, платина, золото и серебро, является медленным процессом, требующим высокого перенапряжения, за исключением ртутного электрода. Ртуть явно не идеальна для использования в качестве датчика из-за его токсичности. Кроме того, сильная адсорбция GSH на поверхности электродов из благородных металлов делает обнаружение GSH неудовлетворительным, что приводит к серьезной блокировке и загрязнению этих электродов. Для решения вышеупомянутых проблем была проделана большая работа по разработке химически модифицированных электродов для определения GSH. Был использован ряд модифицирующих электродов на основе ферментов, металлоорганических соединений, органических соединений, тетрагидрофульвален-тетрацианохинодиметанового (TTF-TCNQ) комплекса и др.. Недавно электрохимическое определение тиолов было рассмотрено профессорами Комптоном и его соавторами. Тем не менее, некоторые авторы подчеркивают нестабильность прикрепленных материалов на электродах как проблему, возникающую при использовании химически модифицированных электродов (УСЭ). Кажется, что включение электрокатализаторов в электродную матрицу может частично помочь решить эти проблемы. Электроды из углеродной пасты (УСЭ), благодаря своей простоте и скорости конструирования, получают новую воспроизводимую поверхность, низкий остаточный ток по сравнению с другими твердыми электродами, пористую поверхность, совместимость с различными типами модификаторов, химическую инертность и совместимость с молекулами и биологическими видами, и низкая стоимость широко использовались в качестве подходящей матрицы для приготовления УСЭ. Ферроцен и его производные благодаря их хорошей стабильности в растворе, быстрому отклику на многие электроактивные вещества, независимости от pH, стабильности как в

окисленных, так и в восстановленных формах. Нереактивность с кислородом, малый потенциал регенерации и быстрый перенос электронов являются наиболее успешными медиаторами. В этой статье было предложено вольтамперометрический датчик для определения GSH, основанный на использовании 2,7-бис(ферроценилэтил) флуорен-9-она в качестве медиатора в матрице электродов из углеродной пасты. Поэтому пригодность 2,7-BFEFMCPE в электрокатализе и определении глутатиона обсуждается на основе результатов циклической вольтамперометрии, двухступенчатой хроноамперометрии и дифференциальной импульсной вольтамперометрии [38].

Учеными из Великобритании было предложено использовать наноуглерод в качестве материала электрода, предлагая аналогичные преимущества по сравнению с другими углеродными электродами, но с низкой стоимостью. Для этого наноуглеродные частицы были отлиты на стеклоуглеродный электрод, затем исследовали электрохимическое поведение наноуглеродных пастообразных электродов, полученных смешением наноуглерода и минерального масла. В этой статье исследованы электрокаталитическая реакция между различными медиаторами, чтобы обнаружить глутатион с использованием немодифицированной и модифицированной наноуглеродной пасты.

В работе сообщается о возможности использования различных медиаторов, таких как ацетаминофен, 4-аминофенол, 4-амино-2,6-дихлорфенол и 4-амино-2,6-дифенилфенол, для обнаружения глутатиона с использованием наноуглеродного пастообразного электрода. Детекция основана на электрокаталитическом отклике с участием электрохимически генерируемых хинониминов и глутатиона. 4-аминофенол рекомендуется в качестве наиболее чувствительного медиатора, поскольку предел обнаружения, полученный для глутатиона $0,80 \text{ мкмоль л}^{-1}$, был самым низким. Мы сообщили о возможности использования различных медиаторов, таких как ацетаминофен, 4-аминофенол, 4-амино-2,6-дихлорфенол и 4-амино-2,6-дифенилфенол для обнаружения глутатиона с использованием наноуглеродного пастообразного электрода.

Обнаружение основано на электрокаталитическом ответе с участием электрохимически генерируемых хинониминов и глутатиона. 4-аминофенол рекомендуется в качестве наиболее чувствительного медиатора с точки зрения определения нижнего предела $0,80 \text{ мкмоль л}^{-1}$.

В статье описали возможность использования различных медиаторов, таких как ацетаминофен, 4-аминофенол и 4-амино-2,6-дихлорфенол и 4-амино-2,6-дифенилфенол, для обнаружения глутатиона с использованием наноуглеродного пастообразного электрода. Используя 4-аминофенол в качестве медиатора в растворе, были получены самый низкий предел обнаружения ($0,80 \pm 0,03$) мкмоль л^{-1} для глутатиона. Это значение сравнимо с другим пределом обнаружения, полученным с различными медиаторами, такими как катехол ($0,94 \text{ мкмоль л}^{-1}$), 14 кофеиновая кислота ($2,2 \text{ мкмоль л}^{-1}$) и 3,4-дигидроксикоричная кислота ($0,194 \text{ мкмоль л}^{-1}$). Мы также исследовали предварительное накопление 4-амино-2,6-дихлорфенола и 4-амино-2,6-дифенилфенола внутри наноуглеродного пастообразного электрода, показывая возможность изучения модификации электрода с помощью этих медиаторов [39].

В работе химически модифицированный электрод получали путем введения п-аминофенола в матрицу пасты из многослойных углеродных нанотрубок.

Циклическая вольтамперометрия, прямоугольная вольтамперометрия, двухступенчатая ступенчатая хроноамперометрия и электрохимическое сопротивление спектроскопия использовались для исследования электрохимического поведения глутатиона на подготовленном химически модифицированном электроде. Согласно результатам, паста из п-аминофенола показал высокую электрокаталитическую активность окисления GSH, образуя острый пик окисления при потенциале $+0,285\text{В}$ при $\text{pH } 5,0$. Хроноамперометрию также использовали для определения константы скорости каталитического эффекта глутатиона и коэффициента диффузии п-аминофенола. Прямоугольный вольтамперометрический пик тока глутатиона

линейно увеличивался с концентрацией глутатиона в диапазоне $2,0 \cdot 10^{-7}$ - $1,0 \cdot 10^{-4}$ моль л⁻¹ с пределом обнаружения $9,0 \cdot 10^{-8}$ моль л⁻¹. Метод был также успешно использован в качестве селективного, простого и точного метода определения глутатиона в гемолизованных образцах эритроцитов, таблеток и мочи.

Исследования показали, что общий GSH, присутствующий в клетках, может быть свободным или связанным с белками. Ряд методов были предложены для определения GSH, которые включают титриметрию, спектрофотометрию, спектрофлуориметрия, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), [40,41] электрофорез в капиллярной зоне, [42] протонный ядерный магнитный резонанс (1H ЯМР), [43] ферментативный методы [44] и электрохимические методы. [45–46]

Предложенный метод обладает такими преимуществами, как лучшая чувствительность, более высокий линейный динамический диапазон и нижний предел обнаружения (LOD).

В работе исследует применение п-аминофенола (p-AP) в качестве медиатора для электрокаталитического определения GSH используя вольтамперометрические методы. Метод был использован для вольтамперометрическое определение глутатиона в гемолизе образцов эритроцитов и мочи, для того, чтобы продемонстрировать каталитическую способность модифицированного электрода, при электроокислении GSH в реальных образцах.

Эта работа демонстрирует применение п-аминофенола для определения глутатиона при pH 5,0 с использованием многослойной углеродной нанотрубки. Результаты показали, что окисление GSH катализируется медиатором при pH = 5,0. Каталитические пики ток, полученный с помощью SWV, линейно зависел от концентрации GSH с минимумом $0,09$ моль л⁻¹ [47].

В таблице 1.1 проведено сравнение разных модифицированных электродов для вольтамперометрическое определения GSH в разных объектах.

Таблица 1.1.- Сравнение эффективности способа модификации и природы модификатора для вольтамперометрического определения GSH.

	Электрод	Модификатор	Потенциал окисления и рН	Предел обнаружения, мМ	Диапазон линейности, М	Объект исс-я	ссылки
1	Стеклоуглеродный	Берлинская лазурь (БЛ)	870 мВ	-	-	Модельный раствор	32
2	Стеклообработывающий	Оксид олова, легированный фтором (FTO)	от -0,40 до 1,20 В при рН 4,4	$5 \cdot 10^{-6}$	-	Сыворотку крови	33
3	Графитовый	железный порфирин и железа фталоцианин	-0,70 В рН = 13	-	-	Модельный раствор	34
4	Углеродный нанотрубный пастовый	изопреналин	629 мВ рН 4,0	-	250 до $400 \cdot 10^{-6}$	Образцы цельной крови человека	35
5	Графитовый диск	Фталоцианин кобальта	0,2 В рН 7,4	-	$0,08-1 \cdot 10^{-3}$	Модельный раствор	36
6	Углеродные нанотрубки	п-аминофенол	0,285В рН 5,0	$9,0 \cdot 10^{-5}$	-	образцы слюны	39
7	Углеродная паста	2,7-бис (ферроценилэтил) флуорен-9-он	рН 7,0	0,50	$0,921-11 \cdot 10^{-3}$	Модельный раствор	44
8	Углеродные нанотрубки	аминазин	рН 7,0	0,16	$0,3-18,3 \cdot 10^{-3}$	Модельный раствор	45
9	Стеклоуглеродный	хорошо выровненные углеродные нанотрубки	рН 7,0	0,20	$0,4-16,4 \cdot 10^{-3}$	Модельный раствор	48

10	<i>Углеродная паста</i>	глутатионпероксидаза	pH 7,8	15	$19-140 \cdot 10^{-3}$	Модельный раствор	49
11	<i>Стеклоуглеродный</i>	пероксидаза хрена	pH 7,0	0,03	$0,04-90 \cdot 10^{-3}$	Модельный раствор	50
12	<i>Углеродная паста</i>	тетратиафульвален - тетрацианохинодиметан	pH 7,0	0,3	$5-340 \cdot 10^{-3}$	Модельный раствор	51

Как видим из таблицы большой предел обнаружения показывает стеклообрабатывающий электрод, модифицированный оксидом олова, легированный фтором (FTO) - $5 \cdot 10^{-9}$ М. Самый маленький диапазон линейности показал углеродный нанотрубный пастовый электрод модифицированный с изопренилином - 250 до 400 мкМ.

2. Экспериментальная часть

2.1 Аппаратура, ячейки, электроды

Исследование электрохимических свойств глутатиона проводилось на компьютеризованном вольтамперометрическом анализаторе TA-Lab («Томьаналит» г. Томск).

Анализатор вольтамперометрический TA-Lab предназначен для высокочувствительных измерений содержания токсичных примесей в питьевых, природных, сточных водах, водных растворах проб почв, пищевых продуктов, продовольственного сырья, биологических объектов и других материалов вольтамперометрическими методами. Анализатор TA-Lab ориентирован на удобство проведения измерений в рутинном анализе с применением малого количества реактивов. Имеет четыре формы разверток поляризирующего напряжения: постоянно-токовую, ступенчатую, квадратно-волновую и дифференциально-импульсную. Может работать в простом и дифференциальном режимах. Особенности анализатора: одновременный анализ 3-х разных проб; перемешивание раствора путем стабилизированной вибрации индикаторного электрода; эффективный способ отмывки электрохимической ячейки; возможность обработки анализируемых растворов инертным газом и озоном; программный способ реализации анализа; надежное и удобное крепление электродов, исключающее контакт оператора с рабочей поверхностью электрода; встроенная УФ-лампа для устранения мешающего влияния O_2 и разрушения органических веществ; возможность работы в двух- и трехэлектродном режимах. Наиболее важные технические характеристики анализатора: чувствительность $5 \cdot 10^{-11}$ А; воспроизводимость аналитических сигналов 1-5%; продолжительность одновременного анализа трех подготовленных проб 5-30 мин.

Вольтамперометрический анализатор TA-Lab, совмещенного с ПК производили в соответствии с инструкцией по эксплуатации и техническому

описанию соответствующего прибора. Характеристики вольтамперограмм (высота пика, потенциал пика) осуществляли с использованием встроенного программного обеспечения анализатора TA-Lab («Томьаналит» г. Томск).

Перемешивание растворов осуществляли при помощи стабилизированной вибрации индикаторного электрода.

Взвешивание точной навески вещества проводили на лабораторных аналитических весах общего назначения (класс точности 0,0001 г., Россия).

В работе использовали мерную лабораторную стеклянную посуду: колбы наливные вместимостью 5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 100,0 и 1000,0 см³; цилиндры вместимостью 5,0 и 10,0 см³.

Добавки исследуемых веществ проводили при помощи дозаторов типа ДП-1-50, ДП-1-200, ДП-1-1000 с дискретностью установки доз 1,0 мкл и погрешностью не более 5 % отн. Для каждого раствора какого-либо вещества использовали сменный наконечник дозатора.

При работе на TA-Lab электрохимическая ячейка представляла собой стеклянный стаканчик, устанавливаемый на подвижную платформу в специализированное отверстие.

В качестве электрода сравнения и вспомогательного электрода в работе использовали хлоридсеребряный электрод (ХСЭ). ХСЭ представлял собой полый цилиндр, заполненный раствором хлорида калия (1 моль/дм³), в который опущена серебряная проволока, покрытая малорастворимой солью хлорида серебра. Готовый ХСЭ хранили в насыщенном растворе KCl и перед работой ополаскивали бидистиллированной водой.

В качестве индикаторного электрода в работе использовали углеродсодержащий композитный электрод (УКЭ), состоящий из полиэтиленового корпуса, который заполнен электропроводящей смесью полиэтилена с техническим углеродом, и является твердым композитным электродом.

2.2 Реактивы

В данной работе использовались следующие реактивы:

- L - глутатион восстановленный (Fluka, Германия);
- Стандарт-титры для приготовления стандартных буферных растворов:

- калий гидротартрат $\text{KHC}_4\text{H}_4\text{C}_6$ (pH=3,56);

- гидрофталат калия $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ (pH=4,01);

- эквимольная смесь дигидрофосфата калия KH_2PO_4 и гидрофосфата натрия Na_2PO_4 (pH=6,86);

- тетраборат натрия 1-водный $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (pH=9,18);

- кальций гидроксид $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (pH=12,5);

- Дихлорэтан (ГОСТ 1942-86);
- Углеродная сажа (Fisher Scientific, UK);
- Полистирол (Sigma, USA);
- Модификаторы УКЭ представляют собой сорбенты для газовой

хроматографии:

1. 10%Ni(AA)₂/ПЭГ/Хроматан N

2. 2,5%Fe(AA)₃/ПЭГ/Хроматан N

3. Ni(AA)₂ / Силипор 200

4. Ni(AУЭ)₂ /Силипор 200

5. фталоцианин Fe /Хроматон

6. ГПК –N1

7. Ализаринат алюминия на силипоре

8. Al+Al₂ Хроматон

9. Диметилглиоксимата меди на силипоре

10. Фталоцианина меди на силипоре

11. Хр+Sn терм

12. Дитизоната меди на угле

13. FeTiO₂

14. 4% Au/FeTiO₂

15.0.5% Au/FeTiO.

2.3 Характеристика металлсодержащих модификаторов

В качестве модификаторов УСЭ с обновляемой поверхностью были использованы углеродные чернила, изготовление которых описано в разделе 2.5 и включало смешение углеродной сажи, полистирола, 1,2-дихлорэтана и порошки сорбентов с привитыми слоями хелатовметаллов.

В работе впервые предложено использовать газохроматографические сорбенты с привитыми слоями хелатовметаллов в качестве модификаторов углеродных чернил, использование которых позволяет получить каталитические токи окисления глутатиона с хорошей чувствительностью, одного из важных веществ антиоксидантной природы тиоловых соединений.

Сорбенты синтезированы группой ученых ТГУ (Ю. Г. Слизов, Т. Н. Матвеева, Т. С. Минакова, М.А. Гавриленко). В качестве твердого носителя сорбентов использовали коммерчески доступный Хроматон N. Обычно Хроматон N получают кальцинированием кремнезема, очищенного физическим и химическим методами, с последующим формованием в шарики. Использование этого диатомитового носителя, обладающего слабо развитой поверхностью ($\sim 1 \text{ м}^2/\text{г}$), позволяет свести к минимуму физическую адсорбцию [52].

Хелатсодержащие сорбенты получали на основе двух минеральных носителей:

- Хроматона N и неподвижной полиэтиленгликолевой жидкой фазы ПЭГ 20М, модифицированной ацетилацетонатами никеля (II) и железа(III). Нанесение комбинированной неподвижной жидкой фазы, содержащей от 2.5 до 10% ацетилацетоната Ni(II), Fe(III) и 5% ПЭГ 20М, осуществляли из раствора в хлороформе. Полученные сорбенты подвергали кондиционированию в потоке инертного газа-носителя (He) не менее 4 ч, повышая температуру от 50 до 150°C. Ацетилацетонаты синтезировали по методике, представленной в работе

[53]. Были получены хелатсодержащие сорбенты которые получили сокращения: 10%Ni(AA)₂/ПЭГ/Хроматан N; 2,5%Fe(AA)₃/ПЭГ/Хроматан N.

- Силипора 200, к основным преимуществам которого относятся устойчивость к механическим и термическим воздействиям. Активацию поверхности силипора проводили кипячением в разбавленной азотной кислоте в течение 2 ч с последующей сушкой при 200°C в течение 6 ч. После такой подготовки на поверхности силикагеля содержится максимальное число гидроксильных групп [54]. Далее поверхность силикагелей подвергали хлорированию при комнатной температуре и постоянном перемешивании с использованием тионилхлорида в растворе хлористого метилена, предварительно осушенного хлористым кальцием с последующей перегонкой при нагревании на водяной бане. Избыток растворителя удаляли при пониженном давлении [55]. В качестве лигандов – модификаторов использовали ацетилацетон и ацетоуксусный эфир, при этом для проведения химической реакции на поверхности сорбента, синтезировали их натриевые соли. На стадии введения лиганда полученные натриевые соли растворяли в диметилформамиде и наносили на поверхность хлорированного силикагеля путем постепенного испарения растворителя. На заключительном этапе модифицированные силикагели обрабатывали этанольным раствором хлорида никеля. Схему протекающей при этом реакции можно представить (рис.1):

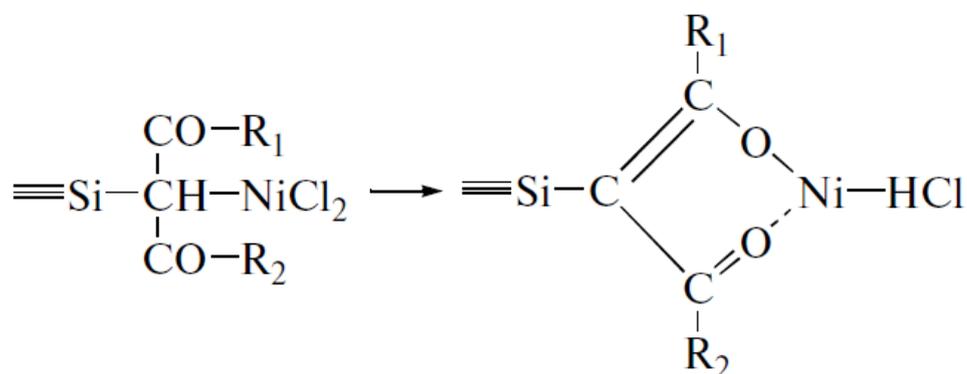


Рис. 2.1- Схема образования сорбента силипора с ацетилацетоном никеля

Были получены хелатсодержащие сорбенты которые получили сокращения в тексте: Ni(AA)₂/Силипор 200 и Ni(AУЭ)₂/Силипор 200.

В работе были введены сокращенные названия модификатор:

Таблица 2.1.- Сокращенные названия и состав модификатор

<i>Название модификатора</i>	<i>Состав</i>
10%Ni(AA) ₂ /ПЭГ/Хроматан N	Минеральный сорбент хроматон, модифицированный 10% солями никеля с 5% полиэтилен гликолем.
2,5%Fe(AA) ₃ /ПЭГ/Хроматан N	Минеральный сорбент хроматон, модифицированный 2,5% солями железа с 5% полиэтилен гликолем.
Ni(AA) ₂ / Силипор 200	Минеральный сорбент силипор, модифицированный солями никеля.
Ni(AУЭ) ₂ /Силипор 200	Минеральный сорбент силипор, модифицированный солями никеля

2.4 Объект исследования

В ходе работы был проведен анализ растворов L – глутатиона восстановленного с целью поиска аналитического сигнала на модифицированных УКЭ.

2.5 Методика приготовления углеродной пасты с модификатором

Модификацию углеродсодержащих электродов проводили путем раскапывания углеродных чернил (20 мкл), содержащих сорбционные материалы с солями никеля, железа и алюминия, на поверхность электродов с последующим высушиванием пленки модификатора.

Для приготовления углеродных чернил использовалась углеродная сажа, полистирол, 1,2 дихлорэтан и модификаторы содержащие сорбционные материалы с солями никеля, железа и алюминия.

2.6 Методика очистки поверхности электрода

Очистка рабочей поверхности электрода осуществляется путем срезания тонкого слоя (0,1-0,3 мм) специальным резакром. Перед работой электрод протирали фильтровальной бумагой и промывали дистиллированной водой, высушивали и модифицировали углеродной пастой с соответствующим модификатором по методике, описанной выше в разделе 2.5.

2.7 Методика измерения окисления глутатиона

Для измерения аналитического сигнала GSH были проведены следующие программные настройки к прибору TA-Lab представленные на рисунках от 2.1 до 2.4.

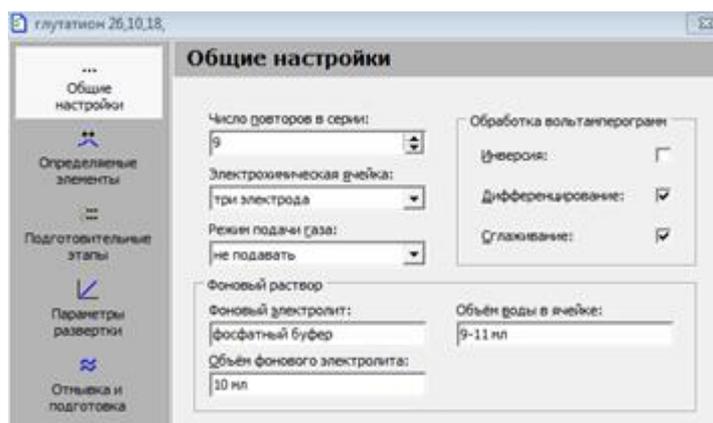


Рис. 2.2 – Параметры снятия вольтамперограм

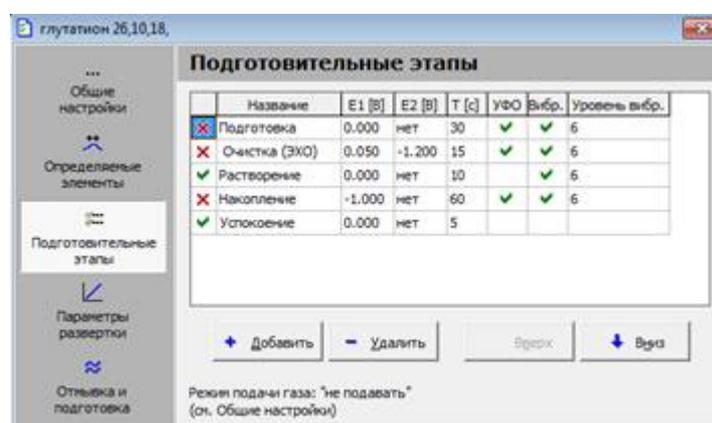


Рис. 2.3 – Параметры снятия вольтамперограм

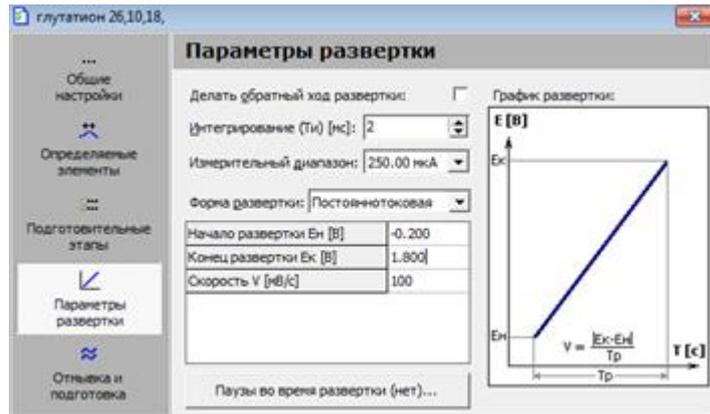


Рис. 2.4 – Параметры снятия вольтамперограмм

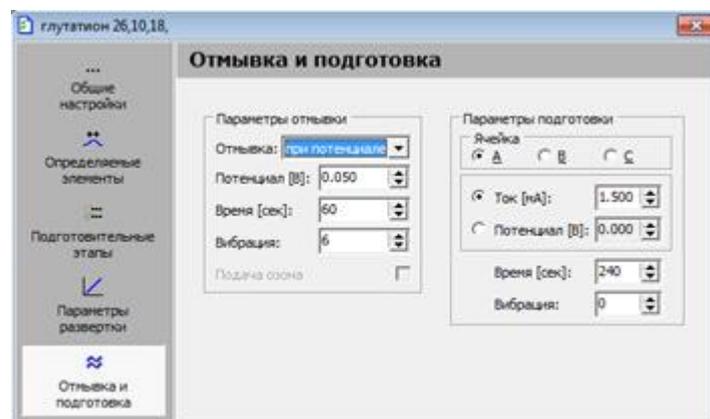


Рис. 2.5 – Параметры снятия вольтамперограмм

Для снятия вольтамперограмм были выбраны следующие параметры: обработка вольтамперограмм проходила в дифференциальном режиме со сглаживанием, подготовительные этапы включали растворение и успокоение, интегрирование 2 мс, измерительный диапазон 250мкА, форма развертки постоянноточковая, начало развертки – 0.2В, конец развертки +1.8В. Скорость развертки $W=100$ мВ/с, параметры отмытки при потенциале +0.050В, время 60 сек, вибрация 6.

4. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

4.1 Предпроектный анализ

4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Целевым рынком разработанной методики вольтамперометрического определения GSH являются различные медицинские учреждения, проводящие анализы крови. Потенциальными потребителями результатов могут быть фармацевтические компании, медицинские учреждения и лаборатории разных профилей, диагностические центры.

4.1.2 Диаграмма Исикавы

Диаграмма причины-следствия Исикавы (Cause-and-Effect-Diagram) - это графический метод анализа и формирования причинно-следственных связей, инструментальное средство для систематического определения причин проблемы и последующего графического представления.

Область применения диаграммы:

- Выявление причин возникновения проблемы;
- Анализ и структурирование процессов на предприятии;
- Оценка причинно-следственных связей.

Общий вид диаграммы Исикавы представлен на рис.

Построение диаграммы начинают с формулировки проблемной области/темы, которая является объектом анализа и наносится на центральную горизонтальную стрелку диаграммы.

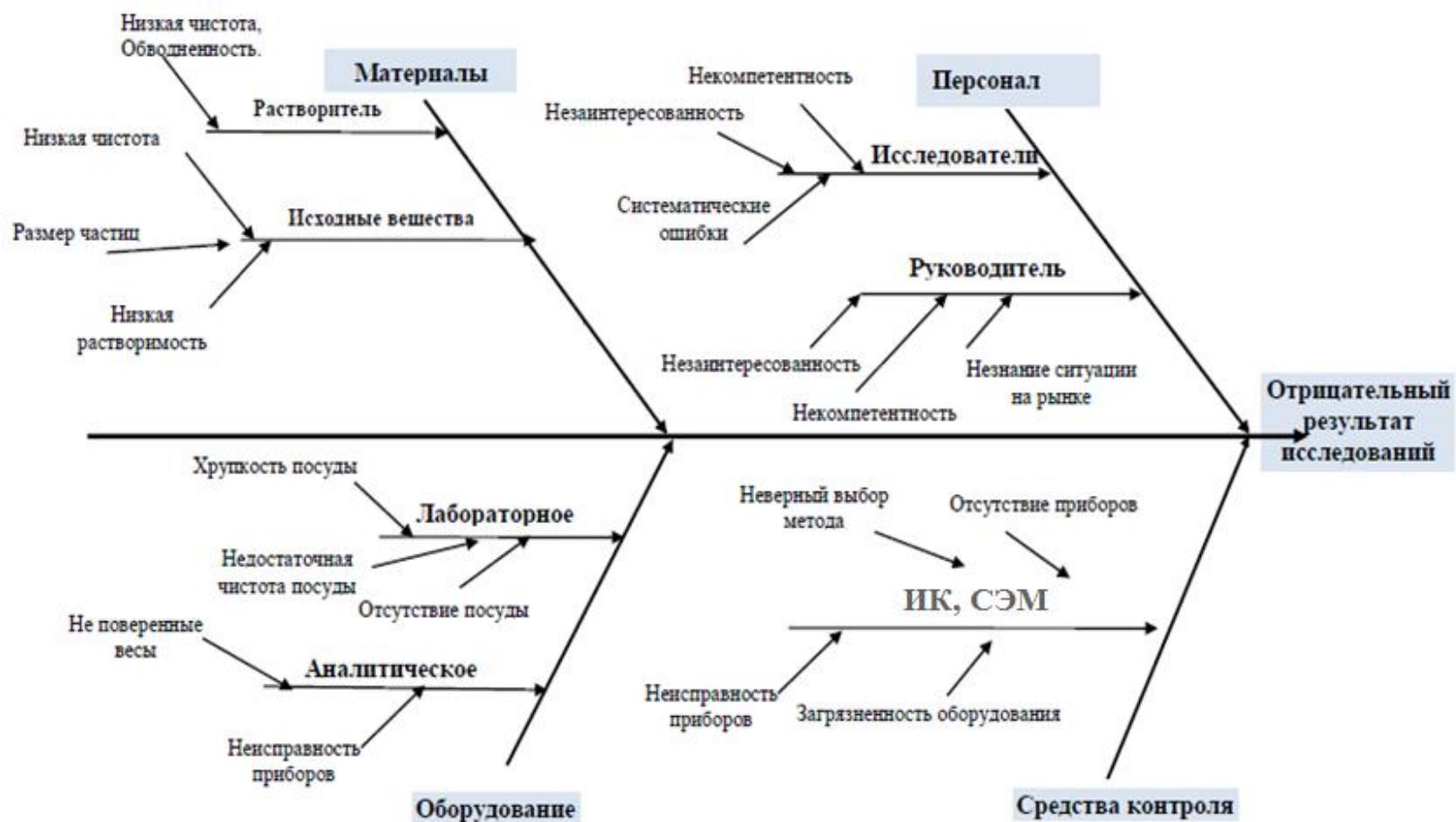


Рис. 4.1 – Общий вид диаграммы Исикавы

4.1.3 Оценка готовности проекта к коммерциализации

Бланк оценки данного научного проекта предоставлен в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Бланк оценки степени готовности научного проекта к коммерциализации

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

15.	Проработан механизм реализации научного проекта	4	3
ИТОГО БАЛЛОВ		49	45

Оценка готовности научного проекта к коммерциализации (или уровень имеющихся знаний у разработчика) определяется по формуле:

$$B_{\text{сум}} = \sum B_i, \quad (1)$$

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

B_i – балл по i -му показателю.

Суммарное значение баллов данной таблицы позволяет говорить о готовности научной разработки и ее разработчика к коммерциализации выше среднего.

4.1.4. Методы коммерциализации результатов научно -технического исследования

Существуют различные методы коммерциализации научных разработок. На данной стадии представленной научной разработки успешному продвижению способствует торговля патентными лицензиями, с помощью которой будет достигнута передача третьим лицам интеллектуальной собственности на лицензионной основе.

4.2. Инициация проекта

Инициация проекта определяют изначальные цели проекта или содержание работы.

Таблица 4.2 – Цели и результат проекта

Цели проекта:	Определение глутатиона в сыворотке крови человека методом вольтамперометрии
Ожидаемые результаты проекта	Разработка вольтамперометрической методики определения глутатиона в сыворотке крови на модифицированном

	углеродсодержащем электроде
Критерии приемки результата проекта:	Не использование вредных реактивов, получение новой методики определения содержания глутатиона в сыворотке крови
Требования к результату проекта:	Разработать вольтамперометрическую методику определения глутатиона в сыворотке крови человека. Точность определения данной методики; Экспрессность получения результатов.

4.2.1. Организационная структура проекта

На данном этапе работы необходимо решить следующие вопросы: кто будет входить в рабочую группу данного проекта, определить роль каждого участника в данном проекте, а также прописать функции, выполняемые каждым из участников и их трудозатраты в проекте. Эта информация представлена в табличной форме Таблица 4.3 – Рабочая группа проекта

Таблица 4.3 – Рабочая группа проекта

№ п/п	ФИО, основное место работы, должность	Роль в проекте	Функции	Трудозатраты, час.
1	К.х.н. Доцент Каф. ФАХ, ИШПР Дорожко Е.В.	Руководитель	Распределение обязанностей, корреляция выполнения плана, формирует цели проекта, ограничения проекта по срокам и затратам (бюджету), Контроль над ходом выполнения проекта	72
2	Ассистент каф. ФАХ, инженер Гусар А.О.	Консультант	Контроль над ходом выполнения проекта, консультации по поводу проведения эксперимента, получения и анализа результатов НИР	275
3	Айткулова А.У.	Исполнитель	Выполнение проекта (проведение эксперимента, получение и анализ результатов НИР)	420
ИТОГО:				767

4.2.2. Ограничения и допущения проекта

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

Ограничения и допущения проекта представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.4 – Ограничения проекта

Фактор	Ограничения/ допущения
3.1. Бюджет проекта, руб.	2060620
3.1.1. Источник финансирования	НИ ТПУ
3.2. Сроки проекта:	С 01.06.2018 по 1.06.2019
3.2.1. Дата утверждения плана управления проектом	01.06.2018
3.2.2. Дата завершения проекта	10.06.2019

4.3. Планирование управления научно-техническим проектом

Группа процессов планирования состоит из процессов, осуществляемых для определения общего содержания работ, уточнения целей и разработки последовательности действий, требуемых для достижения данных целей.

4.3.1. Иерархическая структура работ проекта

Иерархическая структура работ (ИСР) – детализация укрупненной структуры работ. В процессе создания ИСР структурируется и определяется содержание всего проекта. На рис. 4.2 представлен шаблон иерархической структуры работ по проекту.



Рисунок 4.2 – Иерархическая структура работ проекта

4.3.2. Контрольные события проекта

Контрольные события проекта представлены в таблице 4.5.

Таблица 4.5 – Контрольные события проекта

№ п/п	Контрольное событие	Дата	Результат (подтверждающий документ)
1	Литературный обзор по теме проекта	Июнь, 2018 г.	Литературный обзор в ВКР
2	Постановка цели и задач	Июль, 2018 г.	Раздел цели и задачи в ВКР
3	Разработка плана экспериментальных работ	Август, 2018 г.	План работ
4	Подбор материала рабочего электрода	Сентябрь, 2018 г.	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
5	Подбор модификатора	Октябрь, 2018	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
6	Подбор условий нанесения слоя модификатора на	Ноябрь, 2018	Результаты экспериментов, представленных в ВКР

	поверхность рабочего электрода		
7	Подбор электрохимических условий определения холестерина	Декабрь, 2018	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
8	Исследование кинетических и термодинамических параметров процесса.	Январь, 2019	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
9	Обсуждение результатов Доработка экспериментальной части ВКР	Февраль - март, 2019	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
10	Оформление ВКР	Апрель - июнь, 2019	Результаты экспериментов, представленных в ВКР

4.3.3. План проекта

В рамках планирования научного проекта построены календарный и сетевой графики проекта. Линейный график представляется в виде таблицы (табл. 4.6).

Таблица 4.6 – Календарный план проекта

Код работы (из ИСР)	Название	Длительность, дни	Дата начала работ	Дата окончания работ	Состав участников (ФИО ответственных исполнителей)
1	Литературный обзор по теме проекта	30	01.06.18	31.07.18	Айткулова А.У.
2	Постановка цели и задач	5	15.07.18	20.07.18	Дорожко Е.В. Гусар А.О. Айткулова А.У.
3	Разработка плана экспериментальных работ	5	01.08.18	05.08.18	Дорожко Е.В. Гусар А.О. Айткулова А.У. (дипломник)
4	Подбор материала рабочего электрода	30	01.09.18	31.09.18	Гусар А.О. Айткулова А.У.
5	Подбор модификатора	30	01.10.18	31.10.18	Гусар А.О. Айткулова А.У.
6	Подбор условий нанесения слоя модификатора на поверхность рабочего электрода	30	01.11.18	31.11.18	Гусар А.О. Айткулова А.У.
7	Подбор электрохимических условий определения холестерина	30	01.12.18	31.12.18	Гусар А.О. Айткулова А.У.
8	Исследование	45	01.01.19	15.02.19	Гусар А.О.

	кинетических и термодинамических параметров процесса.				Айткулова А.У.
9	Обсуждение результатов. Доработка экспериментальной части ВКР	45	15.02.19	31.03.19	Дорожко Е.В. Гусар А.О. Айткулова А.У.
10	Оформление ВКР	75	01.04.19	10.06.19	Айткулова А.У.
И т о г о:					

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

График приведен в таблице 4.7.

4.3.4. Бюджет научного исследования

Бюджет затрат на выполнение НИР составлялся с учетом проведения НИР за один год (365 дней). Затраты на НИР рассчитывали по статьям калькуляции, которые включают две группы затрат прямые затраты и накладные затраты.

Прямые затраты –это затраты на сырье, энергию, амортизацию оборудования.

Накладные затраты включали лабораторные затраты, связанные с освещением, отоплением, содержанием персонала.

Основными статьями калькуляции являются:

- 1) Затраты на сырье и материалы;
- 2) Фонд заработной платы исполнителей;
- 3) Амортизация оборудования;
- 4) Накладные расходы, включающие затраты на содержание административно-управленческого аппарата, по охране труда и т.п.;
- 5) Прочие затраты.

Сырье, материалы, покупные изделия и полуфабрикаты (за вычетом отходов)

В эту статью включаются затраты на приобретение всех видов материалов, комплектующих изделий и полуфабрикатов, необходимых для выполнения работ по данной теме. Количество потребных материальных ценностей определяется по нормам расхода.

Сырье и материалы

В эту статью включены затраты на приобретение всех видов реактивов и материалов необходимых для выполнения НИР по данной теме. Расчет стоимости материальных затрат производился по действующим прейскурантам и ценам с учетом НДС. В стоимость материальных затрат включили транспортно-заготовительные расходы (3 – 5 % от цены). В эту же статью включили затраты на оформление документации. Результаты расчета

затрат на сырье, материалы и покупные изделия в процессе проведения НИР представлены в таблице 4.8.

Таблица 4.8 – Сырье, материалы, комплектующие изделия и покупные полуфабрикаты

Наименование	Марка, размер	Количество	Е д. из м.	Цена за единицу, руб.	Сумма, руб.
Фосфатный буферный раствор рН 4,01	Производство Россия	1	шт	240	240
Фосфатный буферный раствор рН 6,85	Производство Россия	1	шт	240	240
Фосфатный буферный раствор 9,18	Производство Россия	1	шт	240	240
Калий хлорид насыщенный	ГОСТ 4234-77	500	г	34	34
Глутатион	Fluka, Германия	1	шт	1634	1634
Лабораторная химическая посуда - колбы мерные на 50 и 100 см ³ - цилиндры мерные с носиком на 25, 50, 100 см ³ - Пипетки, градуированные на 5, 10 см ³ - Стаканы на 25, 50, 100 см ³ - стеклянные палочки - стеклянные воронки - пробирки -эппендорф 2 см ³	ГОСТ 1770-74	2 3 10 4 2 3 5 1	 шт шт шт шт шт шт шт шт шт	 1200 100 50 152 7 600 20 1548	6900
Транспортные расходы (5%)					464
ИТОГО:					9752

Специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ

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

аппаратуры), необходимого для проведения работ по теме НИР. Определение стоимости спецоборудования производили по действующим прейскурантам с учетом НДС. При приобретении спецоборудования учтены затраты по его доставке и монтажу в размере 15 % от его цены. Расчет затрат представлен в таблице 4.9.

Таблица 4.9 – Расчет затрат по статье «Спецоборудование для научных работ»

№, п/п	Наименование оборудования	Количество единиц оборудования, шт	Цена единицы оборудования, руб.	Общая стоимость оборудования, руб.
1	Дистиллятор для приготовления воды очищенной (Россия, ЧЗБТ)	1	35000	35000
2	Весы аналитические (класс точности 0,0001 г., Россия)	1	38000	38000
3	pH – метр (Mettler Toledo, Швейцария)	1	26500	26500
4	Дозатор 1-канальный, переменного объема 1-5 мл (Россия);	1	5780	5780
5	Дозатор 1-канальный, переменного объема 10-100 мкл (Россия);	1	7906	7906
6	Вольтамперометрический анализатор TA-Lab	1	157000	157000
7	Хлорид серебряный электрод	2	760	1520
8	Углеродсодержащий электрод	1	790	790
Итого				272496

Стоимость оборудования, используемого при выполнении НИР имеющегося на кафедре ФАХ стоимостью свыше 40 тыс. рублей, учитывалось в виде амортизационных отчислений. Расчет затрат по статье «Амортизация оборудования» представлена в таблице 4.10.

Таблица 4.10 – Расчет затрат по статье «Амортизация оборудования»

Наименование оборудования	Цена оборудования, руб.	Эксплуатации оборудования, количество лет	А, руб.
Вольтамперометрический анализатор ТА-Lab	157000	5	31400
Итого			31400

Основная заработная плата

В настоящую статью включается основная заработная плата научных и инженерно-технических работников, рабочих макетных мастерских и опытных производств, непосредственно участвующих в выполнении работ по данной теме. Величина расходов по заработной плате определяется исходя из трудоемкости выполняемых работ и действующей системы оплаты труда. В состав основной заработной платы включается премия, выплачиваемая ежемесячно из фонда заработной платы (размер определяется Положением об оплате труда).

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

$$C_{зп} = Z_{осн} + Z_{доп}, \quad (2)$$

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

$Z_{доп}$ – дополнительная заработная плата.

Основная заработная плата ($Z_{осн}$) руководителя (лаборанта, инженера) от предприятия (при наличии руководителя от предприятия) рассчитывается по следующей формуле:

$$Z_{осн} = Z_{дн} \cdot T_{раб}, \quad (3)$$

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

T_p – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн. (табл. 19);

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

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$$Z_{\text{дн}} = \frac{Z_{\text{м}} \cdot M}{F_{\text{д}}}, \quad (4)$$

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

M – количество месяцев работы без отпуска в течение года:

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

при отпуске в 48 раб. дней $M = 10,4$ месяца, 6-дневная неделя;

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

Расчет заработной платы научно – производственного и прочего персонала проекта проводили с учетом работы 3-х человек – научного руководителя, консультанта и исполнителя. На выполнение НИР понадобилось

237 рабочих дней. Баланс рабочего времени исполнителей представлен в таблице 4.11.

Таблица 4.11 – Баланс рабочего времени

Показатели рабочего времени	Руководитель	Ассистент (инженер)	Инженер дипломник
Календарное число дней	365	365	365
Количество нерабочих дней	58	58	58
- выходные дни	44	44	48
- праздничные дни	14	14	14
Потери рабочего времени			
- отпуск	56	56	28
- невыходы по болезни	-	-	-
Действительный годовой фонд рабочего времени	251	251	279

Месячный должностной оклад работника:

$$Z_{\text{м}} = Z_{\text{б}} \cdot (k_{\text{пр}} + k_{\text{д}}) \cdot k_{\text{р}}, \quad (5)$$

где Z_b – базовый оклад, руб.;

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

k_d – коэффициент доплат и надбавок (в НИИ и на промышленных предприятиях – за расширение сфер обслуживания, за профессиональное мастерство, за вредные условия: определяется Положением об оплате труда);

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

При расчете заработной платы научно – производственного и прочего персонала проекта учитывались месячные должностные оклады работников, которые рассчитывались по формуле:

$$Z_m = Z_b * K_p \quad (6)$$

Где Z_b – базовый оклад, руб.;

K_p – районный коэффициент, равный 1,3 (для Томска).

Согласно информации сайта Томского политехнического университета должностной оклад (ППС) доцента кандидата наук в 2018 году без учета РК составил 26300 руб., консультанта – 7634 руб., исполнителя – 2425 руб. Расчет основной заработной платы приведен в табл. 4.12.

Таблица 4.12 – Расчет основной заработной платы

Исполнители	Z_b , руб.	$k_{пр}$	k_d	k_p	Z_m , руб.	$Z_{дн}$, руб.	T_p , раб. дн.	Z_o , руб.
Руководитель	33664	1,2	1,1	1,3	100655	4171	55	229405
Ассистент (инженер)	21760	1,2	1,1	1,3	65062	2696	154	415184
Инженер дипломник	26300	1,2	1,1	1,3	78637	3157	259	817663

Дополнительная заработная плата научно-производственного персонала

В данную статью включается сумма выплат, предусмотренных законодательством о труде, например, оплата очередных и дополнительных отпусков; оплата времени, связанного с выполнением государственных и общественных обязанностей; выплата вознаграждения за выслугу лет и т.п. (в среднем – 12 % от суммы основной заработной платы).

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

$$З_{\text{доп}} = k_{\text{доп}} \cdot З_{\text{осн}} \quad (7)$$

где $З_{\text{доп}}$ – дополнительная заработная плата, руб.;

$k_{\text{доп}}$ – коэффициент дополнительной зарплаты;

$З_{\text{осн}}$ – основная заработная плата, руб.

В табл. 4.13 приведена форма расчёта основной и дополнительной заработной платы.

Таблица 4.13- Заработная плата исполнителей НИИ

Заработная плата	Руководитель	Ассистент (инженер)	Инженер (дипломник)
Основная зарплата, руб.	229405	415184	817663
Дополнительная зарплата, руб.	22940	41518	81766
Итого по статье $C_{\text{зп}}$, руб.	252345	456702	899429

Отчисления на социальные нужды

Статья включает в себя отчисления во внебюджетные фонды.

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

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

Отчисления на социальные нужды составляет 27,1 % от суммы заработной платы всех сотрудников. Отчисления на социальные нужды

составляют отчисления в пенсионный фонд 22 %, отчисление на социальное страхование 0%, отчисления на медицинское страхование 5,1 %.

Затраты на отчисления на социальные нужды рассчитывали по

$$\text{формуле: } Z_{\text{о.с.н.}} = 0,271 * Z_{\text{осн.}} \quad (9)$$

Где $Z_{\text{о.с.н.}}$ – затраты на отчисления на социальные нужды, руб.

Накладные расходы

В эту статью включены затраты на управление и хозяйственное обслуживание, которые могут быть отнесены непосредственно на конкретную тему.

Расчет накладных расходов ведется по следующей формуле:

$$C_{\text{накл}} = k_{\text{накл}} \cdot (Z_{\text{осн}} + Z_{\text{доп}}), \quad (10)$$

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

На основании полученных данных по отдельным статьям затрат составляется калькуляция плановой себестоимости НТИ (название темы) по форме, приведенной в табл. 6.

Где $K_{\text{накл}}$ – коэффициент накладных расходов составил 0,9.

Затраты на проведение НИР

На основании полученных данных по отдельным статьям затрат составляется калькуляция плановой себестоимости НИР. В проекте не предусмотрены затраты, связанные с выплатой дополнительной заработной платы научно – производственного и прочего персонала проекта, научными и производственными командировками, оплатой работ, выполняемых другими организациями и предприятиями. Смета затрат приведена в таблице 4.14.

Таблица 4.14 – Смета затрат на выполнение НИР

Статьи затрат	Затраты, руб.
Сырье и материалы	9752
Специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ	146896

Фонд заработной платы	1608476
Отчисления на социальные нужды	68385
Накладные расходы	227111
Итого	2060620

4.3.5. Организационная структура проекта

Данный проект представлен в виде проектной организационной структуры. Проектная организационная структура проекта представлена на рисунке 4.3.

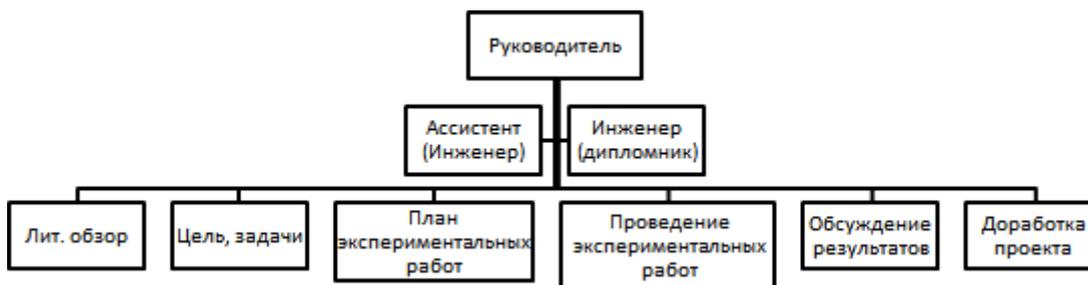


Рис.4.3 – Проектная организационная структура проекта

4.3.6. Матрица ответственности

Для распределения ответственности между участниками проекта формируется матрица ответственности (табл. 4.15).

Таблица 4.15 – Матрица ответственности

Этапы проекта	Руководитель	Ассистент (инженер)	Инженер (дипломник)
Литературный обзор по теме проекта			О
Постановка цели и задач	У, С	О	И
Разработка плана экспериментальных работ	У, С	О	И
Подбор материала рабочего электрода	О	И	И
Подбор модификатора	О	И	И

Подбор условий нанесения слоя модификатора на поверхность рабочего электрода	О	И	И
Подбор электрохимических условий определения холестерина	О	И	И
Исследование кинетических и термодинамических параметров процесса.	О	И	И
Обсуждение результатов Доработка экспериментальной части ВКР	У, С	О	И
Оформление ВКР			И

Степень участия в проекте может характеризоваться следующим образом:

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

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

Утверждающее лицо (У) – лицо, осуществляющее утверждение результатов этапа проекта (если этап предусматривает утверждение).

Согласующее лицо (С) – лицо, осуществляющее анализ результатов проекта и участвующее в принятии решения о соответствии результатов этапа требованиям.

4.3.7. План управления коммуникациями проекта

План управления коммуникациями отражает требования к коммуникациям со стороны участников проекта. Пример плана управления коммуникациями приведен в табл. 4.16.

Таблица 4.16 – Пример плана управления коммуникациями

№ п/п	Какая информация передается	Кто передает информацию	Кому передается информация	Когда передает информацию
1.	Статус проекта	Исполнитель проекта	Руководителю проекта	Еженедельно (понедельник)

2.	Обмен информацией о текущем состоянии проекта	Исполнитель проекта	Участникам проекта	Еженедельно (пятница)
3.	Даты и информация по проекту	Исполнитель проекта,	Руководителю проекта	Сроки графиков и к. точек
4.	О выполнении контрольной точки	Исполнитель проекта	Руководителю проекта	Не позже дня контрольного события по плану управления

4.3.8. Реестр рисков проекта

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

Возможные риски проекта приведены на рис.

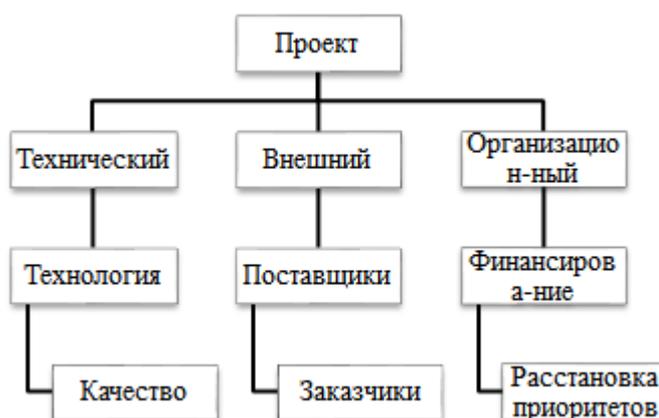


Рис. 4.4 – Возможные риски проекта

4.3.9. План управления контрактами и поставками

Этот план формируется в случае необходимости заключения контрактов для осуществления поставок или работ по проекту. Данные по этому разделу сводятся в табл.4.17 .

Таблица 4.17 – Требования к объектам контрактов

№	Объект контракта (продукт/услуга)	Требования к продукту/услуге	Требования к срокам поставки	Требования к поставщику/подрядчику
1.	Дихлорэтан	Чистота 99,95	Не более 10 суток	Исправность

Таблица 4.18 – План закупок проекта

№	Закупаемые материалы/услуги	Количество	Поставщик
Дихлорэтан	ТГУ	1л	Дихлорэтан

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

4.4.1 Оценка сравнительной эффективности исследования

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

Интегральный показатель финансовой эффективности научного исследования получают в ходе оценки бюджета затрат трех (или более) вариантов исполнения научного исследования (табл. 32). Для этого наибольший интегральный показатель реализации технической задачи принимается за базу расчета (как знаменатель), с которым соотносятся финансовые значения по всем вариантам исполнения.

Интегральный финансовый показатель разработки определяется как:

$$I_{\phi}^p = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\max}}, \quad (11)$$

где I_{ϕ}^p - интегральный финансовый показатель разработки;

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

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

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

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

$$I_m^a = \sum_{i=1}^n a_i b_i^a, \quad I_m^p = \sum_{i=1}^n a_i b_i^p \quad (12)$$

где I_m – интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов;

a_i – весовой коэффициент i -го параметра;

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

n – число параметров сравнения.

Расчет интегрального показателя ресурсоэффективности рекомендуется проводить в форме таблицы, пример которой приведен ниже.

Таблица 4.19 – Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

Объект исследования	Весовой коэффициент параметра	Вольтамперометрический метод анализа Текущий проект	Спектрофотометрический метод анализа Аналог 1
Точность определения	1	10	9
Скорость определения	0,9	10	8
Простота эксплуатации	1	10	9
Итого	0,96	10	8,7

$$\text{Текущий проект} = 10 \cdot 1 + 10 \cdot 0,9 + 10 \cdot 1 = 9,7$$

$$\text{Аналог 1} = 9 \cdot 1 + 8 \cdot 0,9 + 9 \cdot 1 = 8,4$$

Сравнение значений интегральных показателей эффективности позволяет понять и выбрать более эффективный вариант решения поставленной в магистерской работе технической задачи с позиции финансовой и ресурсной эффективности, то есть разработка с применением

вольтамперометрической методики более эффективна, так как она более точна и проста в эксплуатации.

Список публикаций

1. А.У. Айткулова, А.О. Гусар Определение глутатиона на углеродсодержащих электродах, модифицированных сорбционными материалами с солями Ni и Fe методом вольтамперометрии// XX Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулева «Химия и химическая технология в XXI веке», секция 3, Россия, Томск, 20-23 мая 2019г.