

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

Инженерная школа новых производственных технологий  
 Направление подготовки 12.04.02 Опотехника  
 Отделение материаловедения

### МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Тема работы
<b>Анализ и мониторинг сельскохозяйственных культур методом рамановской спектроскопии</b>

УДК 633/635:535.33

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
4ВМ81	Черепнев Александр Игоревич		

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор	Шеремет Е.С.	PhD		

### КОНСУЛЬТАНТЫ ПО РАЗДЕЛАМ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

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

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Романцов Игорь Иванович	К.Т.Н		

### ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Руководитель ООП	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор ОМ	Полисадова Е.Ф.	д.ф.-м.н.		

## ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ ПО ООП

Код результата	Результат обучения (выпускник должен быть готов)
<i>Профессиональные компетенции</i>	
P1	Способность формулировать цели, задачи научного исследования или разработки в области светотехники и фотонных технологий и материалов, способность выделять и обосновывать критерии, на основании которых формируются модели принятия решений, составлять план работ, способность строить физические и математические модели объектов исследования и выбрать алгоритм решения задачи
P2	Способность разрабатывать программы экспериментальных исследований, применять современные методы исследования, оценивать и представлять результаты выполненной работы, защищать приоритет и новизну полученных результатов исследований в области обработки, изучения и анализа фотонных материалов, корпускулярно-фотонных технологий, оптоволоконной техники и технологии, в области оптических и световых измерений, люминесцентной и абсорбционной спектроскопии, лазерной техники, лазерных технологий и оборудования, взаимодействия излучения с веществом, производства и применения светодиодов
P3	Способность к профессиональной оценке проблем проектирования в области светотехники, оплотехники, фотонных технологий и материалов на основе подбора и изучения литературных и патентных источников. Способностью к разработке структурных и функциональных схем оптических, оптико-электронных, светотехнических приборов, лазерных систем и комплексов с определением их физических принципов работы, структуры и технических требований на отдельные блоки и элементы
P4	Способность к конструированию и проектированию отдельных узлов и блоков для осветительной, облучательной, оптико-электронной, лазерных техники, оптоволоконных, оптических, оптико-электронных, лазерных систем и комплексов различного назначения, осветительных и облучательных установок для жилых помещений, сельского хозяйства, промышленности

P5	Способность к разработке и внедрению технологических процессов и режимов сборки оптических и светотехнических изделий, к разработке методов контроля качества изготовления деталей и узлов, составлению программ испытаний современных светотехнических и оптических приборов и устройств, фотонных материалов.
P6	Способность эксплуатировать и обслуживать современные светотехнические и оптические приборы и устройства, соблюдать правила охраны здоровья и безопасности труда на производстве, выполнять требования по защите окружающей среды
<b><i>Универсальные компетенции</i></b>	
P7	Способность проявлять творческий, нестандартный подход, требующий абстрактного мышления, при решении конкретных научных, технологических и проектно-конструкторских задач в области фотонных технологий и материалов и светотехники, нести ответственность за принятые решения
P8	Способность к саморазвитию, самореализации, использованию творческого потенциала
P9	Способность к инновационной инженерной деятельности, менеджменту в области организации освоения новых видов перспективной и конкурентоспособной оптической, оптико-электронной и световой, лазерной техники с учетом социально-экономических последствий технических решений
P10	Способностью к координации и организации работы научно-производственного коллектива, принятию исполнительских решений для комплексного решения исследовательских, проектных, производственно-технологических, инновационных задач в области светотехники и фотонных технологий и материалов
P11	Способность к оценке современного состояния развития науки и техники, владение иностранным языком на уровне, позволяющем работать в интернациональной среде с пониманием культурных, языковых и социально – экономических различий, разрабатывать документацию, презентовать и защищать результаты инновационной инженерной деятельности
P12	Способность к сбору сведений, анализу и систематизации знаний об исследуемом объекте

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

---

Школа ИШНПТ

Направление подготовки (специальность) 12.04.12 «Оптехника»

Отделение школы

(НОЦ) Материаловедения

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
4ВМ81	Черепнев Александр Игоревич

Тема работы:

Анализ и мониторинг сельскохозяйственных культур методом рамановской  
спектрометрии

Утверждена приказом директора (дата, номер)

Срок сдачи студентом выполненной работы:

**ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:**

**Исходные данные к работе**

*(наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к особенностям функционирования (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.).*

объектом исследования данной работы является спектрометрия комбинационного рассеяния света на примере сельскохозяйственных культур; предоставляется доступ к специализированной литературе, рамановскому спектрометру DXR2xi и портативной рамановской установке AvaRaman Bundle D, предполагаемым образцам (салат, базилик, зеленая водоросль хлорелла).

<p><b>Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов</b></p> <p><i>(аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).</i></p>	<p>аналитический обзор о современных достижениях в указанной области и выявлению основных проблем; постановка цели и задачи исследования; экспериментальное исследование применения спектроскопии комбинационного рассеяния света на примере предложенных сельскохозяйственных культур; обсуждение результатов; выводы по работе.</p>
<p><b>Перечень графического материала</b></p> <p><i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i></p>	<p>Рамановские спектры салата, базилика и хлореллы.</p>
<p><b>Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы</b></p> <p><i>(с указанием разделов)</i></p>	
<p><b>Раздел</b></p>	<p><b>Консультант</b></p>
<p>Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение</p>	<p>Якимова Т.Б., Доцент ОСГН</p>
<p>Социальная ответственность</p>	<p>Романцов И.И., Доцент</p>
<p>Раздел ВКР на иностранном языке</p>	<p>Сумцова О.В., Старший преподаватель</p>
<p><b>Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:</b></p>	
<p>Методы для анализа сельскохозяйственных культур</p>	

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

**Задание выдал руководитель:**

<p>Должность</p>	<p>ФИО</p>	<p>Ученая степень, звание</p>	<p>Подпись</p>	<p>Дата</p>
<p>Профессор</p>	<p>Шеремет Евгения Сергеевна</p>	<p>PhD</p>		

**Задание принял к исполнению студент:**

<p>Группа</p>	<p>ФИО</p>	<p>Подпись</p>	<p>Дата</p>
<p>4ВМ81</p>	<p>Черепнев Александр Игоревич</p>		

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

Студенту:

<b>Группа</b>	<b>ФИО</b>
4ВМ81	Черепневу Александру Игоревичу

<b>Школа</b>	<b>ИШНПТ</b>	<b>Отделение школы(НОЦ)</b>	<b>Материаловедения</b>
<b>Уровень образования</b>	<b>Магистратура</b>	<b>Направление/специальность</b>	<b>12.04.02 «Оптотехника»</b>

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

1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих	<i>Стоимость выполняемых работ, материальных ресурсов, согласно применяемой техники и технологии, в соответствии с рыночными ценами. Оклады в соответствии с окладами сотрудников «НИ ТПУ»</i>
2. Нормы и нормативы расходования ресурсов	<i>– ГОСТ 14.322-83 «Нормирование расхода материалов»; – районный коэффициент- 1,3; – коэффициент доплат – 0,2; – накладные расходы – 16%</i>
3. Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования	<i>Коэффициент отчислений на уплату во внебюджетные фонды – 30,2%</i>

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

1. Оценка коммерческого потенциала, перспективности и альтернатив проведения НТИ с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения	<i>Технико-экономическое обоснование научно-исследовательской работы; Потенциальные потребители результатов исследования; Swot-анализ НТИ.</i>
2. Планирование процесса управления НТИ: структура и график проведения, бюджет, риски и организация закупок	<i>Планирование комплекса работ по проведению НТИ; Расчет бюджета затрат на НТИ.</i>
3. Определение ресурсной, финансовой, экономической эффективности исследования	<i>Оценка эффективности НТИ; Определение научно-технического уровня проекта</i>

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

1. Матрица SWOT
2. График проведения и бюджет НТИ.

<b>Дата выдачи задания для раздела по линейному графику</b>	02.03.20
---	----------

**Задание выдал консультант:**

<b>Должность</b>	<b>ФИО</b>	<b>Ученая степень, звание</b>	<b>Подпись</b>	<b>Дата</b>
Доцент ОСГН	Якимова Татьяна Борисовна	К.Э.Н.		02.03.20

**Задание принял к исполнению студент:**

<b>Группа</b>	<b>ФИО</b>	<b>Подпись</b>	<b>Дата</b>
4ВМ81	Черепнев Александр Игоревич		02.03.20

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА  
«СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»**

Студенту:

<b>Группа</b>	<b>ФИО</b>
4ВМ81	Черепнев Александр Игоревич

<b>Школа</b>	<b>ИШНПТ</b>	<b>Отделение</b>	<b>Материаловедения</b>
Уровень образования	Магистратура	Направление/специальность	12.04.02 «Опготехника»

Тема ВКР

Анализ и мониторинг сельскохозяйственных культур методом рамановской спектроскопии	
<b>Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:</b>	
1. Характеристика объекта исследования (вещество, материал, прибор, алгоритм, методика, рабочая зона) и области его применения	<p><b>Объект исследования</b> – спектроскопия комбинационного рассеяния света на примере сельскохозяйственных культур</p> <p><b>Рабочая зона</b> – учебная лаборатория ТПУ корпус 10, аудитория №036. Характеристика рабочей зоны: - Размеры: длина – 4,55м, ширина – 5,95м высота 3,8 м;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Интерьер: белые потолки, светлые однотонные стены, темный пол;</li> <li>- Освещение создается светодиодными лампами;</li> <li>- Оснащена системой противопожарной безопасности и огнетушителем, ПК и мебелью</li> </ul> <p><b>Области применения</b> – сельскохозяйственная промышленность</p>
<b>Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:</b>	
<b>5.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности:</b>	<p>Правовое обеспечение и организационные мероприятия согласно ГОСТ 12.4.299-2015 и ТК РФ от 30.12.2001 N197ФЗ Законодательные и нормативные документы по теме:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Федеральный закон № 426-ФЗ от 28.12.2013 г</li> <li>2. СанПиН 2.2.2/2.4.1340-03.</li> <li>3. ГОСТ 12.1.003-2014 ССБТ</li> <li>4. ГОСТ 12.2.032-78 ССБТ</li> <li>5. СанПиН 2.2.1/2.1.1.1278-03</li> <li>6. СН 2.2.4/2.1.8.566–96</li> <li>7. СанПиН 2.2.4/2.1.8.562-96</li> <li>8. СН 181 –70</li> <li>9. СП 52.13330.2016 Естественное и искусственное освещение. Актуализированная редакция СНиП 23-05-95*</li> <li>10. Федеральный закон от 22.07.2013 г. №123 – ФЗ, Технический регламент о требованиях пожарной безопасности.</li> </ol>
<b>5.2 Производственная безопасность</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Вредные факторы: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Освещение рабочей зоны;</li> <li>- Зрительное напряжение;</li> <li>- Микроклимат в помещении;</li> <li>- Степень нервно-эмоционального напряжения;</li> <li>- Монотонность труда;</li> <li>- Шум;</li> <li>- Вибрации;</li> </ul> </li> <li>2. Опасные факторы <ul style="list-style-type: none"> <li>- Электрический ток;</li> <li>- Короткое замыкание</li> <li>- Повышенная температура поверхностей оборудования, материалов</li> </ul> </li> </ol>
<b>5.3 Экологическая безопасность:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Правила утилизации электроники</li> <li>- Правила утилизации люминесцентных ламп</li> <li>- Макулатуры, ТБО</li> </ul>
<b>5.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях:</b>	<p>Определить перечень наиболее возможных ЧС: пожар, взрыв, разрушения зданий в результате землетрясения, урагана, воздействия разрядов атмосферного электричества.</p>

	<i>Наиболее актуальная ЧС – возникновения пожара</i>
--	--

<b>Дата выдачи задания для раздела по линейному графику</b>	<b>02.03.2020</b>
---	-------------------

**Задание выдал консультант:**

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Романцов Игорь Иванович	к.т.н		

**Задание принял к исполнению студент:**

Группа	ФИО	Подпись	Дата
4ВМ81	Черепнев Александр Игоревич		

## Содержание

Реферат.....	11
Определения.....	12
Введение.....	13
<b>1.1. Объекты исследования .....</b>	<b>14</b>
1.1.1. Салат латук (лат. <i>Lactuca sativa</i> ) .....	14
1.1.2. Водоросль хлорелла .....	16
<b>1.2. Методы для анализа сельскохозяйственных культур .....</b>	<b>20</b>
1.2.1. ИК - спектроскопия .....	24
1.2.2. Спектроскопия комбинационного рассеяния (КР) .....	26
<b>Глава 2. Теоритический анализ .....</b>	<b>31</b>
<b>2.1. Подготовка образцов.....</b>	<b>31</b>
2.1.1 Приготовление хлореллы .....	31
2.1.2. Выращивание салата.....	33
<b>2.2. Методы исследования и оборудование.....</b>	<b>35</b>
2.2.1. Анализ салата и хлореллы.....	35
<b>Глава 3. Результаты проведенного исследования .....</b>	<b>38</b>
<b>3.1. Салат .....</b>	<b>38</b>
<b>3.2. Хлорелла. ....</b>	<b>43</b>
<b>4. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение.....</b>	<b>46</b>
<b>4.1. Техничко-экономическое обоснование научно-исследовательской работы.....</b>	<b>46</b>
<b>4.2. Потенциальные потребители результатов исследования .....</b>	<b>46</b>
<b>4.3. SWOT-анализ .....</b>	<b>47</b>
<b>4.4. Планирования комплекса работ по проведению НТИ .....</b>	<b>50</b>
4.4.1. Определение трудоемкости выполнения работ .....	51

4.4.2. Техническая готовность НТИ .....	53
4.4.3. Построение графика работ.....	54
4.5. Расчет бюджета затрат на НТИ .....	56
4.5.1. Расчет основной заработной платы исполнителей .....	58
4.5.2. Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления).....	60
4.5.3. Расчет накладных затрат .....	61
4.5.4. Формирование бюджета затрат научно-исследовательского проекта.....	62
4.6. Оценка ресурсоэффективности .....	62
5. Социальная ответственность .....	63
5.1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности.....	63
5.2. Производственная безопасность .....	65
5.2.2. Обоснование мероприятий по защите исследователя от действия опасных и вредных факторов.....	68
5.3. Экологическая безопасность .....	74
5.3.1. Анализ влияния объекта исследования на окружающую среду .....	75
5.3.2 Обоснование мероприятий по защите окружающей среды.....	75
5.4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях .....	77
5.4.2. Обоснование мероприятий по предотвращению ЧС и разработка порядка действия в случае возникновения ЧС .....	78
Вывод по разделу социальная ответственность .....	79
Заключение.....	80
Список использованных источников: .....	81
Methods for the analysis of agricultural cultures. ....	86

## Реферат

Магистерская диссертация 83 с., 21 рис., 23 табл., 35 источников.

**Ключевые слова:** СПЕКТРОСКОПИЯ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЙЯНИЯ (КР), СПЕКТР, САЛАТ, ХЛОРЕЛЛА.

**Объектом исследования являются** сельскохозяйственные культуры: салат и хлорелла.

**Цель исследования** внедрение технологии рамановской спектроскопии для оценки тенденции роста и количества полезных веществ на примере салата и хлореллы.

**Метод проведения работы:** проводился литературный обзор схожих исследований, разрабатывалась методика для мониторинга и анализа сельскохозяйственных культур, проводились измерения образцов с разным возрастом и факторами роста с помощью рамановской спектроскопии; анализ полученных спектров; анализировался потенциал работы с точки зрения экономики, проводился анализ соблюдения техники безопасности и мер предосторожности в лаборатории.

**Полученные результаты:** в ходе научно-технического исследования сделан вывод об потенциальном применении данного метода.

**Степень внедрения:** данное исследование является перспективным и потенциально может использоваться в агропромышленных комплексах.

## **Определения**

В выпускной квалификационной работе используются следующая терминология:

**Спектроскопия комбинационного рассеяния** – спектроскопия, основанная на неупругом рассеянии света.

### **Обозначения и сокращения**

ФАР – фотосинтетическая активная радиация;

КР – комбинационное рассеяние;

ИК – инфракрасный;

## Введение

Сельскохозяйственный мониторинг необходим для повышения урожайности сельскохозяйственных культур, борьбы с болезнями растений, прогнозирования атак вредителей и заражения сельскохозяйственных культур. Современные методы анализа состояния растений дороги и требуют разрушения частей растений.

Рост растений определяется их взаимодействием с солнечным светом, которое регулируется основными пигментами – хлорофиллами и каротиноидами. Контроль количества этих пигментов на протяжении роста растения позволяет обнаруживать заболевания и прогнозировать потери урожая. Для анализа пигментов в растениях часто используют такие методы как флуоресцентный, фотоколориметрический и биохимический анализ. Рамановская спектроскопия (или спектроскопия комбинационного рассеяния, спектроскопия КР) является неинвазивным, чувствительным к пигментам и наиболее быстрым и удобным методом, не требующим какой-либо подготовки образца.

Целью данной работы является оценка и развитие подходов КР спектроскопии для анализа сложных органических матриц с помощью портативного спектрометра.

Задачи:

1. Литературный обзор источников по исследуемой теме.
2. Ознакомление с принципом работы используемого оборудования.
3. Измерение КР спектров и подбор подходящего режима для четкой регистрации спектра.
4. Идентификация пиков каротиноидов и хлорофиллов (а,б).
5. Определение количества каротиноидов и хлорофиллов.

## 1.1. Объекты исследования

### 1.1.1. Салат латук (лат. *Lactuca sativa*)

Овощеводство – единственная отрасль агропромышленного комплекса России, которая не только сохранилась, но и превысила объемы производства в среднем на 12,7 % по сравнению с советским союзом. Удельный вес сельхозпредприятий в посевной площади овощных культур составляет 16,4%, в валовом сборе – 17,8%, фермерских хозяйств – 3,9%, 23%, 67% соответственно [1].

Особое место в структуре овощеводства стали занимать в последнее время зеленые культуры, в частности – салат.

*Lactuca sativa*, широко известный как салат, представляет собой травянистое растение, типичное для умеренного климата, которое выращивается в качестве пищи. Из-за множества существующих сортов и его выращивания в теплицах его можно употреблять в течение всего года.

Это растение с поворотным и ветвящимся корнем около 25 см. Рост развивается на розетке; листья расположены вокруг короткого цилиндрического центрального ствола, который постепенно удлиняется, образуя соцветия, образованные желтыми главами (похожими на одуванчики), собранными в щитки. В зависимости от разновидностей края листьев могут быть гладкими, волнистыми или зубчатыми.



## Рис.1 Салат-латук

Обычное размножение салата в результате половой гибридизации затрудняется цветочной структурой и случаями во время антеза, которые обычно приводят к самоочищению. Тычинки сливаются, образуя пыльник, внутри которого пыльца собирается при раскрытии цветка. Пыльца сбрасывается на рыльце, поскольку пестик растягивается и выходит из пыльника.

Тем не менее, перекрестная гибридизация может быть достигнута, например, путем удаления оболочек пыльника до появления пестиков. Самый практичный метод - вымыть пыльцу из рыльца тонкой струей воды сразу же после того, как пестик вылез из пыльника. Чужая донорская пыльца затем переносится к пестику.

Качество продукции при сборе важно, особенно в отношении однородности размеров, урожайности, срока годности после сбора урожая и содержания нитратов. Накопление нитрата в листовых овощах нежелательно, так как он производит нитрит у людей. Нитрит в сочетании с гемоглобином образует метгемоглобин, причем последний не способен связывать кислород.

Технологии, основанные на эксплантации, обеспечивают дополнение к обычному разведению для генетического улучшения салата. Важно, что салат латук и его дикие сородичи поддаются культивированию в лаборатории, при этом существуют эффективные системы регенерации побегов, существующие для культивируемых органов, тканей, клеток и изолированных протопластов нескольких видов [2].

Основными потребителями и производителями салата являются США и Европа. В Соединенных Штатах собирается более  $3.18 \cdot 10^9$  тонн урожая в год [3]. Сумма урожая в Соединенных Штатах оценивается в  $9.8 \cdot 10^8$  долларов США в год. Италия, Испания, Франция, Нидерланды и Великобритания являются основными производителями в Европе. Наружное производство

салата в Северной Европе ограничено летними месяцами, а в другие времена урожай выращивают в теплицах. Рынок салата увеличился за последние два десятилетия, что сопровождалось в некоторых случаях изменением ассортимента выращиваемых сортов, вызванного в свою очередь скрещиванием разных видов салата. В питательном отношении салат содержит умеренные концентрации фосфора, железа, натрия, меди, аскорбиновой кислоты и витамина А, что делает его примерно 26-м по «полезности» в сравнении с другими фруктами и овощами в рационе питания человека. В Соединенных Штатах салат идет следом за томатом и апельсином в отношении массового потребления.

### **1.1.2. Водоросль хлорелла**

Хлорелла - это одноклеточная водоросль. Размер колеблется от 2 до 10 мкм. Для обеспечения фотосинтеза хлорелле необходим свет, вода и углекислый газ. Минеральные вещества используются только для размножения.

Хлорелла ценится за высокое содержание белков и витаминов. Также в водоросли высоко содержание железа, что позволяет использовать её в качестве терапии и лечения болезней. Хлорелла ценится за высокое содержание белка и витаминов. В хлорелле особо высоко содержание железа и иммуностимулирующих веществ, что позволяет использовать её в профилактике и лечении болезней.

Хлорелла является одним из видов зеленых водорослей Chlorophyceae. В качестве основных пигментов выступают хлорофиллы а и б, чем и объясняется зеленый цвет. Также в водоросли присутствуют такие пигменты как каротины и ксантофиллы, которые обеспечивают поглощение в сине-зеленой области и перенасыщения хлорофиллов [4].

Хлорелла используется для производства кислорода в закрытых экосистемах. Эти водоросли по содержанию питательных веществ не

уступают мясу и значительно превосходят пшеницу. Так, если пшеница содержит только 12% белка, то в хлорелле - более 50% [5].

При благоприятных условиях окружающей среды клетки быстро растут и размножаются путем бесполого деления на 2, 4, 8 или 16 аутоспор. Сам процесс высвобождения аутоспор не зависит от света и может происходить в темноте только после того, как хлорелла активно увеличила клеточную массу на свету. Чтобы способствовать энергичному и здоровому росту экспериментальной культуры, хлорелла, суспендированная в жидкой среде с подходящим составом минеральных питательных веществ в адекватной концентрации, должна снабжаться достаточным количеством углекислого газа, а также световой энергией в видимой области спектра. Хлорелла должна содержаться при благоприятной температуре и постоянно перемешиваться для предотвращения осаждения клеток водорослей. Перемешивание обеспечивает, кроме того, что все клетки культуры в среднем одинаково подвержены воздействию света. Для нормального размножения хлореллы культуры освещаются непрерывно. В такой культуре водоросли на всех этапах жизненного цикла присутствуют одновременно. Если ход роста культуры водорослей демонстрируется путем построения графика зависимости числа клеток, вещества клетки или объема упакованных клеток от времени, получается характерная S-образная кривая (кривая роста).



Рис.2 S-образная кривая роста [6].

Хлорелла сильно зависит от света для автотрофного роста; следовательно, ход кривой роста определяется освещением культуры. При условии, что все внешние условия поддерживаются постоянными, ход роста можно обсудить в очень сокращенной форме следующим образом: вначале в культуре, инокулированной небольшим количеством активных клеток, энергия света, полученная каждой клеткой, равна выше точки насыщения и не ограничивает рост. Увеличение количества клеток происходит «экспоненциально» (лаг-фаза роста). Из-за увеличивающегося количества клеток водорослей в суспензии, организмы затеняют друг друга, так что вход света на клетку приблизительно постоянен. Из этого факта следует, что увеличение количества клеток в зависимости от времени становится «линейным» (линейная фаза роста). Третья область кривой роста характеризуется высокой плотностью суспензии. Увеличение количества клеток в единицу времени теперь уменьшается, почти приближаясь к нулю.

Физиологические и биохимические характеристики хлореллы сильно различаются в разные фазы роста. Поэтому важно контролировать условия, особенно в отношении времени сбора клеток хлореллы для экспериментальной работы, чтобы получить воспроизводимые экспериментальные результаты. Изменения физиологических и биохимических характеристик хлореллы обусловлены также изменениями условий окружающей среды. Изменения в снабжении минеральными питательными веществами особенно приводят к очень заметным различиям в химическом составе хлореллы. Органическое вещество нормально выращенной культуры состоит из 53% углерода, 7,5% водорода, 28,5% кислорода и 10,8% азота [7]. Из этого можно рассчитать приблизительный процент основных клеточных соединений. В пересчете на сухую массу это: белок 50%; углеводы 30%; липид 1,5%; и зола 5%. Содержание хлорофилла может варьироваться в среднем от 1,5 до 4,0%. При определенных условиях большая часть золы может состоять из фосфатов, происходящих из

неорганических конденсированных фосфатов (полифосфатов), которые в значительной степени накапливаются хлореллой [8].

В автотрофных условиях (при наличии только источника неорганического углерода) хлорелла растет фотосинтетически. Если организмы снабжаются глюкозой или другим подходящим органическим соединением в качестве единственного источника углерода, они также будут расти гетеротрофно. В последнем случае органическое соединение будет частично окислено для выделения энергии, которая, в свою очередь, необходима для превращения оставшейся части соединения в клеточный материал.

В настоящее время хлорелла стала все чаще использоваться в качестве добавки к пище. Также хлорелла используется в качестве терапии при лечении вирусных инфекций, железодефицитных анемий, наркотической и алкогольной зависимости [9].

## **1.2. Методы для анализа сельскохозяйственных культур**

Для исследования и анализа роста растений используются как наблюдательные методы так и инструментальные.

Под наблюдательным методом подразумевается использование линейки для оценки роста растений. Так аллометрический рост растений описывается функцией:

$$y = b \cdot x^{\alpha}, \quad (1)$$

где  $y$  – длина листа,

$x$  – ширина листа,

$b$  – константа начального роста (при  $x=1, y=b$ ),

$\alpha$  – константа равновесия, передающая скорость роста длины по сравнению с шириной.

Аллометрический показатель ( $\alpha$  – константа) характеризует следующую биологическую закономерность: при значении, превышающем единицу, из-за преимущества в скорости роста величина длины увеличивается относительно ширины листа и наоборот [10].

Наиболее используемые инструментальные методы исследования и анализа растений [11]:

1. Спектроскопический (оптический).
2. Поляриметрический.
3. Ионометрический.
4. Рентгенофлуоресцентный.
5. Атомно-эмиссионный с использованием индуктивно связанной аргоновой плазмы.
6. Нейтронно-активационный.
7. Метод сухого сжигания образцов в высокотемпературной печи.
8. Хроматографический.

Оптические методы анализа основаны на взаимодействии анализируемого вещества с электромагнитным излучением. По используемым длинам волн различают следующие разновидности методов оптической спектроскопии:

- 1) ультрафиолетовая (180–400 нм);
- 2) спектроскопия в видимой области (400–700 нм);
- 3) спектроскопия в ближней (обертонной) инфракрасной области (740–2500 нм);
- 4) инфракрасная спектроскопия в основной области (2500–20000 нм).

Взаимодействие вещества с электромагнитным излучением сопровождается различными явлениями, важнейшими из которых для современных аналитических приложений являются излучение, поглощение, отражение, рассеяние, преломление.

Поляриметрический метод химического анализа основан на оптической активности определяемого вещества. Оптически активные материалы асимметричны; то есть их молекулы или кристаллы не имеют плоскости или центра симметрии. Эти асимметричные молекулы могут встречаться в любой из двух форм, d- и l-, называемых оптическими изомерами. Асимметричные вещества обладают способностью вращать плоскость поляризации плоскополяризованного света. Измерение степени этого вращения называется поляриметрией. Поляриметрия применяется как к органическим, так и к неорганическим материалам.

Метод ионометрии основан на определении активности (концентрации) представляющих интерес ионов с помощью ионоселективных (индикаторных) электродов. Ионоселективный электрод проявляет селективную чувствительность к определенным ионам; его потенциал зависит от содержания этих ионов. Этот метод основан на принципе потенциометрического анализа, который включает измерение разности потенциалов (электродвижущей силы) индикаторного ионоселективного электрода и электрода сравнения, который имеет постоянный потенциал.

Рентгенофлуоресцентный метод заключается в регистрации характеристического «вторичного» (или флуоресцентного) рентгеновского излучения из материала, который был возбужден бомбардировкой высокоэнергетическим рентгеновским или гамма-излучением. Интенсивность флуоресцентного излучения пропорциональна концентрации исследуемого элемента в образце.

Атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой, является аналитическим методом, используемым для обнаружения химических элементов. Это тип эмиссионной спектроскопии, в котором используется индуктивно связанная плазма для получения возбужденных атомов и ионов, которые излучают электромагнитное излучение на длинах волн, характерных для конкретного элемента. Плазма является высокотемпературным источником ионизированного исходного газа (часто аргона). Плазма поддерживается индуктивной связью от охлажденных электрических катушек на мегагерцовых частотах. Температура источника находится в диапазоне от 6000 до 10000 К. Интенсивность излучения от различных длин волн света пропорциональна концентрации элементов в образце.

Нейтронно-активационный анализ (НАА) – это ядерный процесс, используемый для определения концентрации элементов в огромном количестве материалов. НАА облучает образец нейтронами, из-за чего сам образец испускает гамма-лучи. Поток нейтронов взаимодействует с ядрами элементов, составляющих растительную пробу. Это приводит к тому что ядра элементов переходят в нестабильное состояние, сопровождающиеся радиоактивным распадом, который в свою очередь сопровождается гамма излучением. Энергия гамма квантов от элемента уникальна и характерна только для этого элемента, а интенсивность гамма излучения пропорциональна концентрации элемента в образце.

Сущность метода сухого сжигания в высокотемпературной печи заключается в сжигании пробы в токе кислорода при градиенте температур от 1000 до 1100°С. В процессе горения выделяется углекислый газ и другие оксиды, которые улавливаются специальным анализатором.

Хроматография - это метод, в котором компоненты смеси разделяются на основе их дифференциального взаимодействия с двумя химическими или

физическими фазами: подвижной фазой и стационарной фазой. Подвижная фаза проходит через систему и несет компоненты образца после того, как образец был нанесен или введен. Стационарная фаза удерживается внутри системы опорой и не движется. По мере того, как компоненты образца проходят через эту систему, компоненты, которые имеют наиболее сильное взаимодействие со стационарной фазой, будут в большей степени задерживаться этой фазой и будут проходить через систему медленнее, чем компоненты, которые имеют более слабые взаимодействия с неподвижной фазой и проводят больше времени в подвижной фазе. Это приводит к разнице в скорости перемещения этих компонентов и их разделению при перемещении через хроматографическую систему. После разделения в хроматографической колонке, аналитические сигналы (светопоглощение, показатель преломления, электрическая проводимость, зависит от типа хроматографической колонки) детектируются регистрирующим устройством [12].

### **1.2.1. ИК - спектроскопия**

Спектральная область ближнего инфракрасного диапазона обычно определяется как диапазон длин волн от 700 нм до 2500 нм, хотя существуют значительные различия в диапазонах длин волн разных типов приборов. Полосы поглощения в этой области обусловлены обертонами и комбинациями основных молекулярных вибрационных полос среднего ИК-диапазона. Энергетические переходы находятся между основным состоянием и вторым или третьим возбужденными колебательными состояниями. Поскольку переходы с более высокой энергией происходят с меньшей вероятностью, каждая комбинационная полоса последовательно слабее по интенсивности.

Инфракрасное излучение, поглощаемое молекулой, вызывает колебания отдельных связей подобно тому, как это делает простой гармонический генератор. Если бы молекула была идеальным гармоническим осциллятором, ее потенциальная энергия ( $U_q$ ) могла бы быть описана следующим образом:

$$U_q = -kx^2, \quad (2)$$

где  $k$  – это коэффициент связи, а  $x$  – смещение.

Квантовая механическая теория гармонического осциллятора предусматривает, что энергия  $E$ , в любой момент времени должна быть ограничена конкретными уровнями в соответствии с:

$$E = h \cdot \nu_{osc}(v + 0.5), \quad (3)$$

где  $h$  - постоянная планка,  $\nu_{osc}$  – колебательное квантовое число,  $v$  - частота вибрации генератора.

Для идеального гармонического осциллятора правила квантово-механического отбора запрещают переходы между несколькими уровнями энергии. Наблюдаются только фундаментальные колебания, и не будет никакого спектра ИК [13].

ИК спектроскопия широко использовалась для анализа зерна, кормов и других сельскохозяйственных продуктов. Большая часть технологий этого класса приборов была разработана исследователями в пищевой и сельскохозяйственной промышленности, и возрождение интереса к региону ближнего ИК во многом связано с этой областью.

Преимущества, предлагаемые ближней ИК спектроскопией: высокое отношение отражательной способности к поглощению, высокое отношение сигнал / шум и высокая степень идентификации.

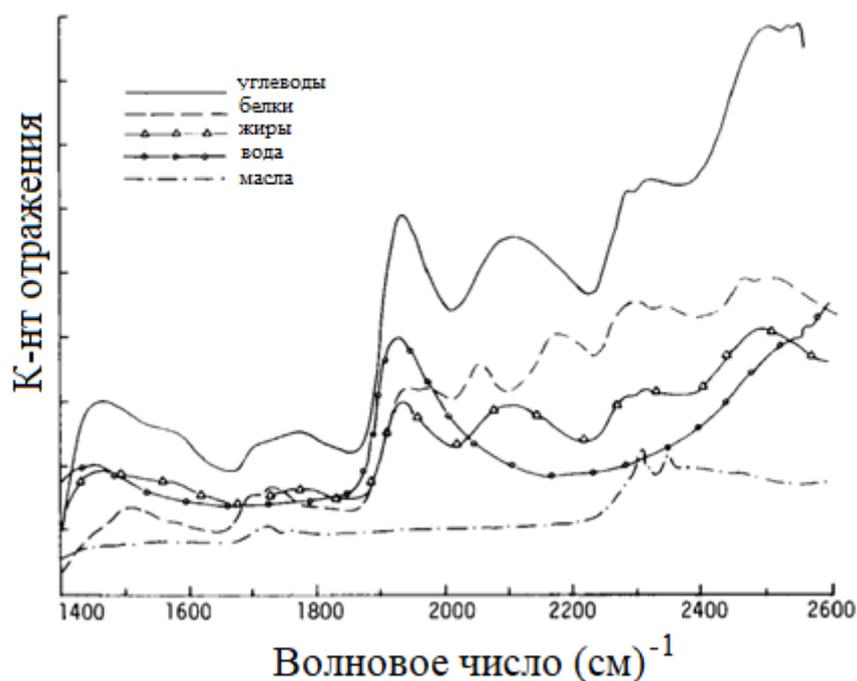


Рис.3 ИК спектр отражения пшеницы [14].

Рисунок 3 иллюстрирует основные составляющие в пшенице, которые являются примерами спектров, встречающихся в большинстве пищевых продуктов. Спектр крахмала является репрезентативным спектру углеводов с сильной полосой O-H при 2100 нм и первым обертоном O-H с растяжением при 1460 нм. Белок, который имеет большое значение во многих продуктах, имеет ряд полос N-H комбинации в 1980, 2060 и 2180 нм, наряду с N-H растяжением первого обертона при 1510 нм. Масла и жиры имеют комбинацию C-H и полосы обертонов характерные для углеводородов в области 2300-2400 нм и 1720 нм соответственно. Отличительная полоса воды O-H 1940 нм, также O-H обертоном при 1450 нм.

Различные другие продукты питания и сельскохозяйственные продукты также были проанализированы методами отраженного ИК. Например хлорофилл в ядрах рапса [15].

### 1.2.2. Спектроскопия комбинационного рассеяния (КР)

Рамановская спектроскопия (комбинационного рассеяния) представляет собой молекулярную спектроскопию для наблюдения за неупруго-рассеянным светом и позволяет идентифицировать вибрационные состояния (фононы) молекул. Поэтому рамановская (КР) спектроскопия является бесценным аналитическим инструментом для молекулярного получения «отпечатков пальцев» и контроля изменений в молекулярной структуре связей. Преимущества рамановской (КР) спектроскопии заключаются в детектировании и анализе рассеянного, а не поглощенного излучения. Поэтому рамановская (КР) спектроскопия нечувствительна к полосам поглощения и не требует пробоподготовки. Это свойство рамановской (КР) спектроскопии облегчает процесс непосредственного измерения в твердых, жидких и газообразных средах, а также измерения через прозрачные материалы, например, стекло, кварц, пластмассу.

По аналогии с ИК-Фурье спектроскопией, рамановская спектроскопия весьма избирательна, что позволяет идентифицировать и дифференцировать молекулы и химические образцы, которые очень похожи между собой. На рис.4 показан пример с пятью похожими молекулами – ацетоном, этанолом, диметилсульфоксидом, этилацетатом и толуолом. Несмотря на то, что каждый химический элемент имеет подобную молекулярную структуру, их рамановский спектр весьма различен, это видно даже невооруженным взглядом. С помощью справочника рамановских спектров можно без труда определить материал.

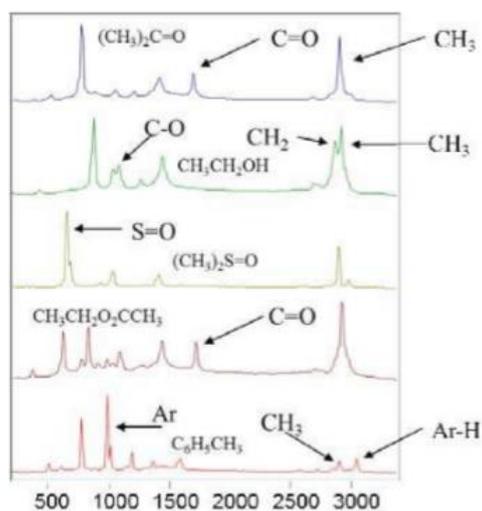


Рис.4 Рамановские спектры разных органических молекул [15]

При рассмотрении рамановского рассеяния можно воспользоваться двумя методами, а именно, волновой теорией света или квантовой теорией. В классической (волновой) интерпретации свет рассматривается как электромагнитное излучение, которое создает изменяемое электромагнитное поле, взаимодействующее с молекулами через эффект поляризации. Поляризуемость определяется способностью электронного облака взаимодействовать с электрическим полем. Поэтому молекулы с большим электрическим диполем (неравномерностью распространения плотности электронов между атомами) лучше воздействуют с электрическим полем падающего света, чем молекула с меньшим электрическим диполем. Например, легкие молекулы, такие как бензин, легко рассеивают рамановский свет, а более тяжелые молекулы, например, вода, рассеивают его хуже.

В квантовой теории свет рассматривается в виде фотонов, которые, сталкиваясь с молекулой, рассеиваются. Количество рассеянных фотонов зависит от силы химической связи. Например, молекулы с сильными связями, бензин, рассеивают большое количество фотонов, а вода, имеющая слабые связи, обладает низким рамановским рассеянием.

Изменение частоты отраженного света характеризуется конкретной молекулярной связью. Рост частоты известен как антистоксов сдвиг, а снижение частоты как стоксов сдвиг. Измеряя изменение частоты падающего света относительно отраженного (обычно используется только стоксов сдвиг), рамановский эффект дает значение частоты колебания молекулярной связи. Для лучшей визуализации указанного процесса и получения дополнительной информации воспользуемся квантовой теорией света. Как говорилось ранее, рамановский эффект представляет собой неупругое рассеяние фотонов молекулярной связи. Из диаграммы Яблонского, представленной на рис. 5, следует, что фотон света возбуждает молекулу и переводит ее в «виртуальное» состояние.

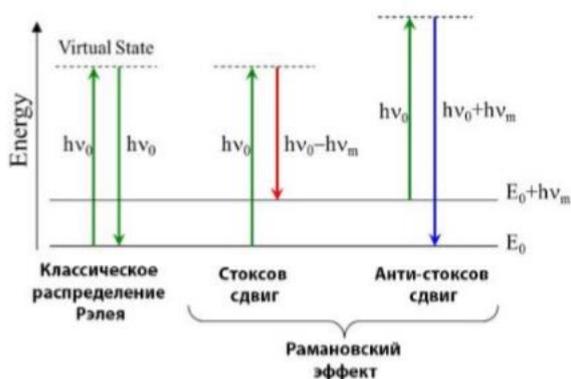


Рис.5 Диаграмма Яблонского, на которой представлены процессы изменения энергетического состояния при распределениях Рэля и Рамана [17].

При этом сформировывается три основных механизма рассеяния. Первый: молекула может вернуться в основное состояние, испустив фотон энергией, равной фотону падающего света; этот процесс является упругим и его называют рассеянием Рэля. Второй: молекула может перейти в возбужденное колебательное состояние и испустить фотон с меньшей энергией по сравнению с падающим фотоном; этот процесс называется стоксовым сдвигом рамановского рассеяния. Третий – это когда молекула

находится в возбужденном колебательном состоянии, возбуждается и переходит в виртуальное состояние, затем возвращается в основное состояние и испускает фотон с более высокой энергией, чем фотон падающего света; этот эффект называется антистоксовым рамановским распределением. Поскольку большинство молекул находятся в основном состоянии при комнатной температуре, вероятность данного явления очень низкая. В результате этого большинство рамановских измерений выполняются только при стоксовом сдвиге.

Дальнейшее исследование рамановского эффекта приводит к тому, что мощность рассеянного света  $P_s$ , пропорциональна интенсивности падающего света,  $I_0$  или значению параметра, которое называют сечением рамановского рассеяния  $\sigma_R$ . Это можно отобразить как:

$$\sigma_R \sim \frac{1}{\lambda^4}, \quad (4)$$

где  $\lambda$  – это длина волны падающего фотона. Поэтому:

$$P_s \sim \frac{I_0}{\lambda^4}, \quad (5)$$

Из уравнения 5 очевидно, что существует линейная зависимость между мощностью рассеяния и интенсивностью падающего света, а также между мощностью рассеянного света и обратной величине длины волны, взятой в четвертой степени. Поэтому желательно использовать коротковолновое возбуждение и источник возбуждения высокой мощности.

Спектроскопия комбинационного рассеяния (КР) позволяет получать информацию о молекулярном составе растительного материала на месте. Использование классических гистохимических методов или иммуноцитохимического анализа для анализа пространственного расположения полимеров клеточной стенки требует специальной химической

обработки образцов (экстракция, фиксация, гидролиз, окрашивание), которая может быть более или менее разрушительной, в отличие от рамановской. Кроме того, такие подходы обычно предоставляют информацию о выбранном компоненте клетки. Таким образом, одновременный анализ химического распределения, количества или структурного расположения основных составляющих клетки является очень трудным.

Новым подходом, разработанным в последнее десятилетие, является рамановская спектроскопия, которая дает возможность проследить за всеми полимерами, образующими стенки клеток растений одновременно. Более того, рамановская спектроскопия получает и иную информацию о молекулярной структуре различных полимеров клеточной стенки растений, такие как кристалличность, пространственное расположение или даже деформация растяжения в почти естественном состоянии стенки [18]. Падающее лазерное излучение, используемое в спектрометрии, обычно поляризовано, создавая возможность получения информации о преимущественной ориентации функциональных групп полимеров клеточной стенки. Одним из наиболее представительных примеров чувствительного к поляризации соединения является целлюлоза, которая образует микрофибриллы. Интенсивность комбинационных полос, связанных с вибрацией его функциональных групп (О-гликозидная связь между глюкопиранозными кольцами, метиновыми СН или метиленовыми СН<sub>2</sub> связями), сильно зависит от пространственной ориентации целлюлозных микрофибрилл по отношению к направлению поляризации падающего света [19]. Подводя итог, можно сказать, что рамановский подход полезен при анализе распределения полимеров клеточной стенки и ориентации некоторых полимеров стенки. Последнее требует калибровки данных, опираясь на измерения отдельных спектров [20].

## Глава 2. Теоритический анализ

### 2.1. Подготовка образцов

#### 2.1.1 Приготовление хлореллы

Специальные емкости в которых растет и размножается хлорелла называются фотобиореакторами [21]. Фотобиореактор представляет собой емкость с водой внутри которой будет культивироваться хлорелла. Внутри емкости расположены светодиодные источники света. Для выращивания хлореллы необходимо создать излучение заданного спектра ФАР (400-700 нм) и освещенность на уровне 14 клк [22]. Также фотобиореактор оснащен необходимыми системами регулировки углекислого газа и температуры. Температура поддерживается на уровне 36.5-37.5 °С.

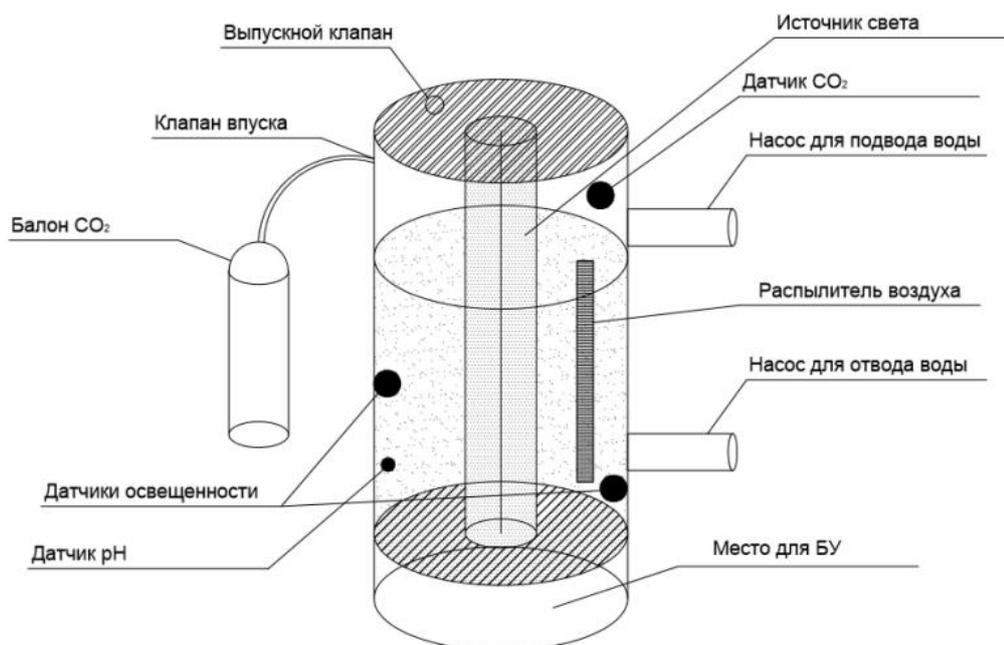


Рис. 6 Цилиндрический фотобиореактор [23].

Фотобиореактор имеет цилиндрическую форму, что позволяет добиться равномерной освещенности по всей площади емкости. Также по всему периметру поверхности расположено отражающее покрытие, чтобы свести потери облученности к минимуму.

В питательный раствор внутри фотобиореактора вводят маточную структуру хлореллы. Хлорелла начинает интенсивно размножаться и готовый раствор можно получить уже в этот же день.

Подсчет количества клеток на миллилитр производится с помощью метода прямого счета клеток в камере Горяева – Тома. Камера Горяева – Тома представляет собой толстое предметное стекло, разделенное бороздками.

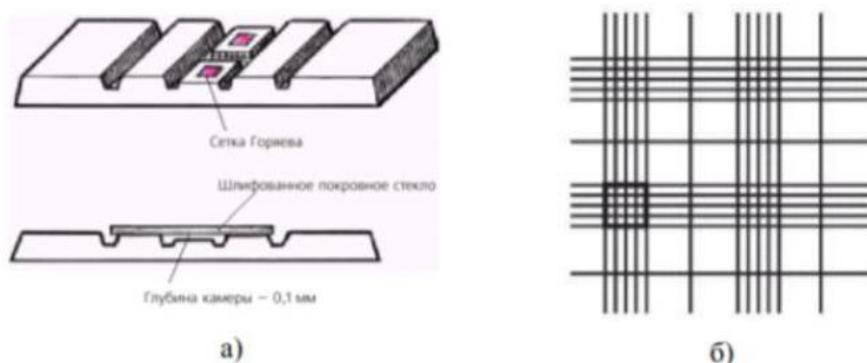


Рисунок 7 – Счетная камера Горяева – Тома: а) вид сверху и сбоку; б) сетка камеры под малым увеличением микроскопа [24]

Центральная часть стекла содержит выемку глубиной 0,1 мм, на дно которой нанесена сетка и боковые пластины, к которым притирается покровное стекло.

Перед началом работы покровное стекло притирали к боковым пластинам до появления колец интерференции, свидетельствующих о том, что стекло притерто к сторонам камеры. Камера позволяет проводить подсчет всех, содержащихся в исследуемом объекте клеток. Для отделения живых клеток от мертвых использовали слабый раствор (0,2 – 0,001 %) красителя фуксина. Полученную суспензию вносили под покровное стекло, под действием капиллярных сил суспензия затягивается в область нанесенной сетки. Подсчет проводился через 2 – 3 минуты после заполнения камеры, чтобы клетки осели и при микроскопировании находились в одной плоскости.

Число клеток подсчитывалось с объективом 10 х. Подсчет проводится в 10 больших и в 20 малых квадратах сетки. Подсчет повторялся 3 – 5 раз, перед каждым подсчетом камера заполнялась заново для получения более точных результатов. Количество клеток в 1 мл исследуемого объекта рассчитывалось по формуле:

$$M = 2,5 \cdot 10^6 \cdot N, \quad (6)$$

где N – количество клеток в одном большом квадрате.

### **2.1.2. Выращивание салата**

Салат выращивался в специальном устройстве с замкнутой экосистемой – фитотроне. Фитотроны – это камеры, которые обеспечивают контролируемые условия окружающей среды для выращивания растений. В фитотроне можно контролировать:

- спектр излучения
- влажность
- мощность излучения
- период светового дня

В эксперименте использовались 2 партии салата; одна партия была выращена под динамическим освещением, а другая под стационарным.

- ❖ Статическое освещение – постоянное освещение, не изменяющееся по времени.
- ❖ Динамическое освещение – освещение, имитирующее излучение солнца.

Исследования, проведенные с растениями салата показали, что по параметрам морфогенеза: общая масса надземной части (листьев и стебля), корней, высота растений и площадь листьев растений, выращенных при динамическом режиме освещения были значительно выше, чем при стационарном (табл. №1, рис.8).



Рис.8 Салат, выращенный под динамическим освещением (слева) и статическим (справа).

Таблица №1 Морфометрические показатели растений салата

Вариант	Возраст (сутки)	Масса листьев (сырая), г	Масса корней (сырая), г	Масса стебля (сырая), г	Высота растений, см	Площадь листьев салата (среднее), см <sup>2</sup>
ФТ1	16	2,31 ± 0,16	1,51 ± 0,18	-	12,71 ± 0,37	15,93 ± 1,15
	23	11,32 ± 0,45	2,46 ± 0,22	1,44 ± 0,10	16,78 ± 0,57	53,61 ± 1,71
ФТ2	16	1,25 ± 0,13	0,65 ± 0,07	-	7,61 ± 0,15	11,05 ± 0,80
	23	5,66 ± 0,67	1,81 ± 0,26	1,11 ± 0,19	11,19 ± 0,42	34,66 ± 2,67

- ❖ ФТ1 – салат, выращенный под динамическим светом;
- ❖ ФТ2 – салат, выращенный под статическим светом.

Таким образом, результаты исследования показали, что при динамическом режиме освещения параметры морфогенеза были значительно выше, чем при стационарном воздействии.

Изучение фотосинтетических пигментов выявило более высокий уровень содержания хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов у 16 и 23 дневных растений салата при стационарном режиме освещения (таблица № 2).

Следует отметить, что при стационарном режиме облучения, содержание пигментов характеризовалось относительной стабильностью и практически не зависело от возраста салата. А у растений, выращенных при

динамическом режиме, пигментная система характеризовалась изменчивостью (пластичностью). Содержание всех фотосинтетических пигментов увеличивалось по мере роста пигментов.

Таблица №2 Содержание фотосинтетических пигментов в листьях салата

Вариант	Возраст/ сутки	Содержание пигментов, мкг/г сырой массы				
		Хл. <i>a</i>	Хл <i>b</i>	Хл <i>a</i> /Хл. <i>b</i>	Хл <i>a+b</i>	Сумма каротиноидов
ФТ1	16	487,77 ± 19,82	146,71 ± 4,23	3,32 ± 0,05	634.48 ± 23.94	171,89 ± 10,23
	23	542,99 ± 20,59	161,09 ± 6,86	3,37 ± 0,03	704.07 ± 27.38	159,44 ± 6,73
ФТ2	16	666,87 ± 35,38	209,76 ± 2,18	3,18 ± 0,15	876.63 ± 36.97	228,86 ± 8,91
	23	675,1 ± 8,58	196,72 ± 3,12	3,43 ± 0,01	871.82 ± 11.68	195,99 ± 2,65

Таким образом, результаты исследования показали, что при динамическом режиме освещения параметры морфогенеза были значительно выше, чем при стационарном воздействии. Более высокое содержание каротиноидов, флавоноидов и нитратов в листьях салата указывают на менее благоприятный режим освещения в стационарных условиях [25].

## 2.2. Методы исследования и оборудование.

### 2.2.1. Анализ салата и хлореллы.

Для исследования химического состава хлореллы и салата использовали спектрометры с разной длиной волны 785 нм и 1064 нм.



Рис.9 Микроскоп со встроенным рамановским спектрометром DXR2xi [26].

Характеристики прибора представлены в таблице 3. Для сухой хлореллы использовали лазер длиной волны 532 нм, а для суспензии 785 нм.

Таблица 3. Технические характеристики рамановского спектрометра DXRxi.

Длина волны лазера, нм	785, 532
Спектральный диапазон, $\text{см}^{-1}$	50 - 3500
Спектральное разрешение, $\text{см}^{-1}$	2
Мощность лазера, мВт	0.1 – 30

Также проводились исследования на длине волны 1064 нм с помощью портативного рамановского спектрометра Rigaku xantus-2.



Рис.10 Рамановский спектрометр Rigaku xantus-2 [27].

Основные характеристики прибора, представлены в таблице 4

Таблица 4. Основные характеристики прибора Rigaku xantus-2

	Длины волн	
	785 нм	1064 нм
Диапазон длин волн	200-2000 нм	200-2000 нм
Спектральное разрешение	7-10 см <sup>-1</sup>	15-18 см <sup>-1</sup>
Мощность лазера	30-490 мВт	300-490 мВт

Для исследования хлореллы и салата важно подобрать такую длину волны излучения, при которой получается четкий рамановский сигнал. Для этого необходимо также минимизировать люминесценцию. Поэтому важно подобрать такие параметры измерения, при которых отношение сигнал/шум (КР сигнала) максимально и люминисценция не мешает идентифицировать рамановские пики.

Исходя из доступных вариантов, были проверены 3 длины волны: 532, 785 и 1064нм. На зеленом лазере четкого спектра снять не удалось, из-за переотражения (так как лист и лазер зеленого цвета) и слишком шумного сигнала. На ИК лазере также не получилось получить четкий спектр, предположительно из-за слабой энергии возбуждения. Спектрометр Rigaku xantus-2, хоть и имеет большую энергию излучения, но диаметр выходного

пучка составляет 1 см; из-за этого удельная плотность энергии довольно мала  $\approx 0.3 \text{ Вт/см}^2$ . Самым оптимальным вариантом был лазер 785нм и спектрометр DXR2xi с энергией луча до 30 мВт, но с диаметром пучка 10 мкм, имея удельную плотность энергии  $300 \text{ Вт/см}^2$ .

Для измерения использовался корень, стебель и сам лист салата. Раствор с хлореллой с помощью шприца наносился на предметное стекло. Перед измерением хлореллы и салата необходимо измерить спектр стекла на наличие люминесценции.

Для салата оптимальными параметрами для измерения являются: энергия 30 мВт, число экспозиций – 5. Большое число экспозиций позволяет улучшить соотношение сигнал/шум за счет усреднения результатов нескольких измерений. Измерения проводились в нескольких точках, для статистики.

В случае с хлореллой, живые клетки постепенно перемещаются в камере, делая невозможным использование большого количества экспозиций. Поэтому спектр измерялся на разных клетках для статистики.

После измерения спектров, данные обрабатывались в программном обеспечении OMNIC и ORIGIN.

## Глава 3. Результаты проведенного исследования

### 3.1. Салат

Четкий рамановский сигнал от салата получился только на листьях, потому что на корнях и стебле остаются частички земли и сигнал получается слишком зашумлённым. Для сравнения спектра листьев использовались разные сроки снятия спектров: 3 неделя и 4 неделя (16 и 23 суток возраст салата соответственно).

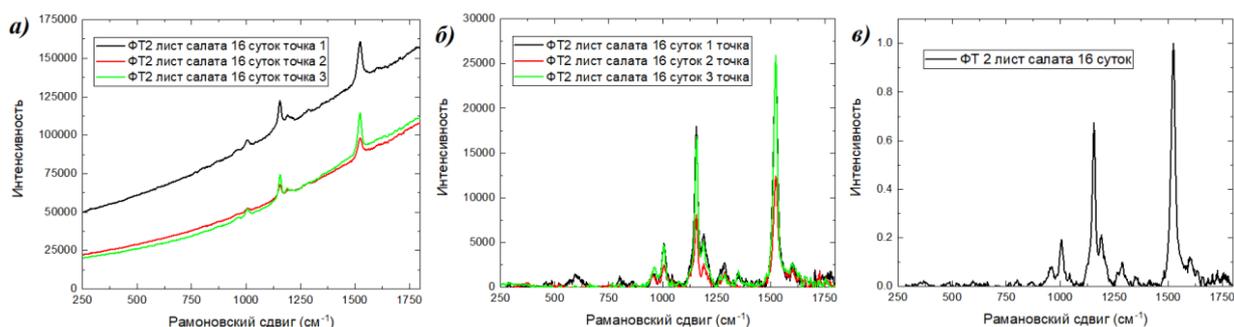


Рис.11 Рамановские спектры листа ФТ2 – 16 суток: а) необработанные; б) после вычета люминесценции и фонового сигнала; в) усредненный и нормированный сигнал.

На рисунке 11 представлены спектры листа ФТ2 возрастом 16 суток (динамическое освещение). Измерения проводились по всему листу в 3 точках в разных местах. Рисунок 11 в показывает суммарный спектр всех трех точек.

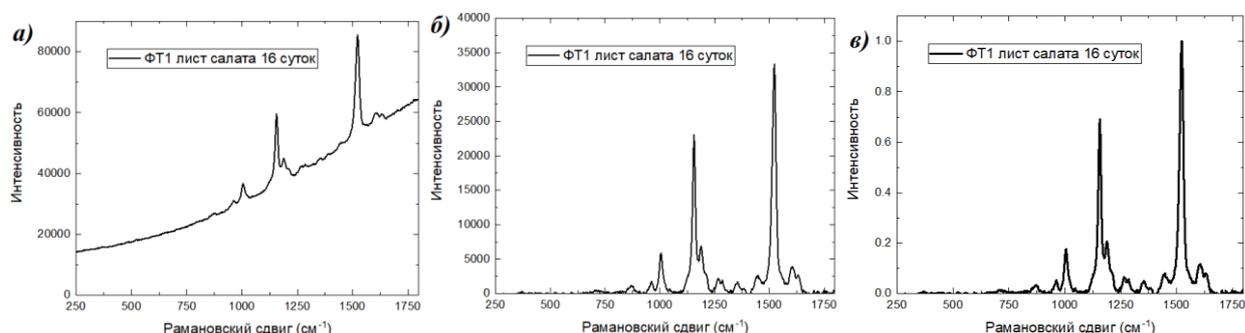


Рис.12 Рамановский спектр листа ФТ1 – 16 суток: а) необработанный; б) после вычета люминесценции и фонового сигнала; в) в относительной шкале.

На рисунке 12 представлен спектр листа ФТ1 возрастом 16 суток (статическое освещение).

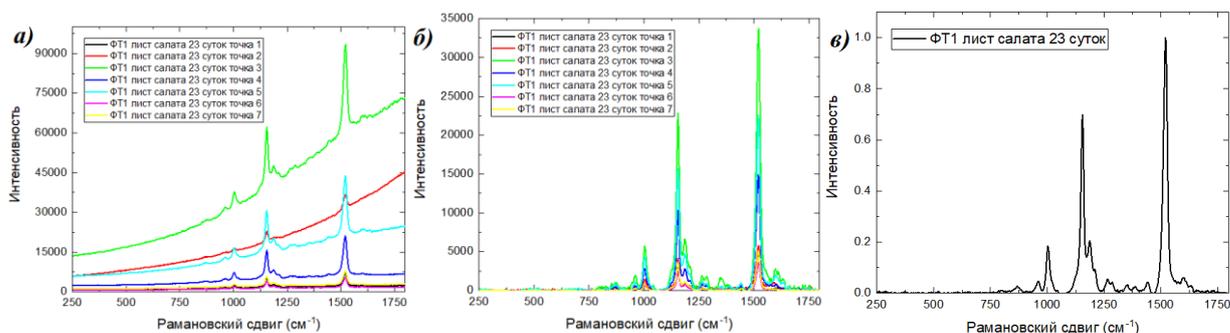


Рис.13 Рамановские спектры листа ФТ1 – 23 суток: а) необработанные; б) после вычета люминесценции и фонового сигнала; в) усредненный и нормированный сигнал.

На рисунке 13 представлены спектры листа ФТ1 (см. Таблицу 1) возрастом 23 суток (статическое освещение). Измерения проводились по всему листу в 7 точках в разных местах. Рисунок 13в показывает усредненный и нормированный спектр всех семи точек.

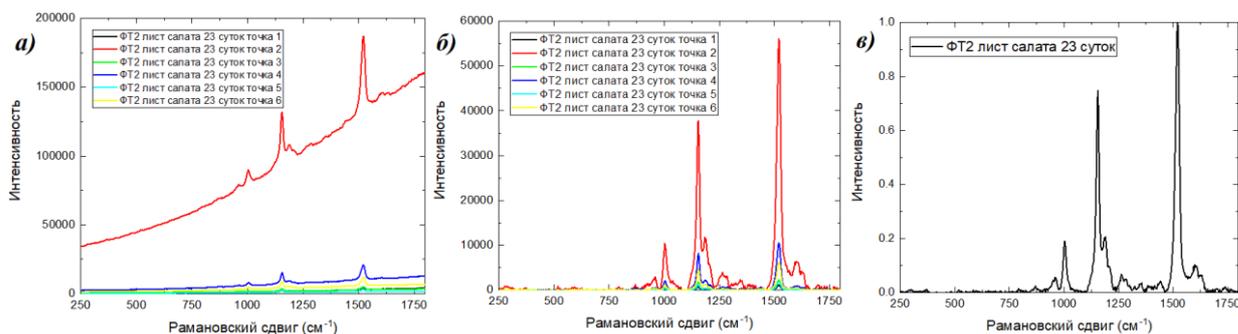


Рис.14 Рамановские спектры листа ФТ2 – 23 суток: а) необработанные; б) после вычета люминесценции и фонового сигнала; в) усредненный и нормированный сигнал.

На рисунке 14 представлены спектры листа ФТ2 возрастом 23 суток (динамическое освещение). Измерения проводились по всему листу в 6 точках в разных местах. Рисунок 14в показывает суммарный спектр всех шести точек.

Усредненные спектры от всех листов представлены на рисунке 15 в относительной шкале.

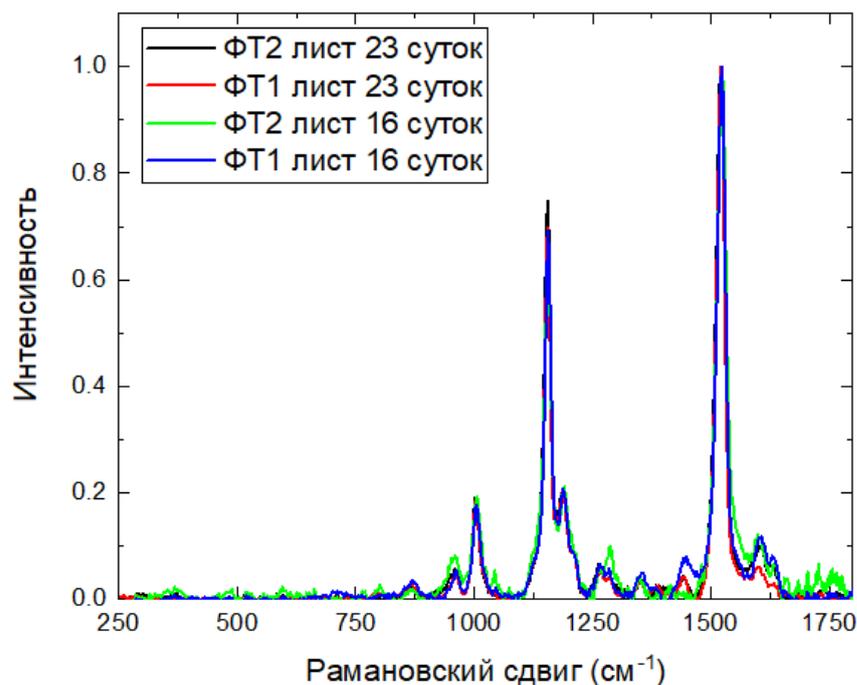


Рис.15 Спектры ФТ1 и ФТ2 с возрастaми 16 и 23 суток.

Как видно из рисунка 15, характерные особенности всех спектров совпадают, некоторые различия наблюдаются в диапазоне 1620-1640  $\text{cm}^{-1}$ , 1220-1255  $\text{cm}^{-1}$ . Можем заметить, что положение характерных пиков сохранилось. Самые высокие и интенсивные пики являются пиками каротиноидов: Zeaxanthin 1523  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\beta$ -carotene 1156  $\text{cm}^{-1}$  and Zeaxanthin,  $\beta$ -carotene 1005  $\text{cm}^{-1}$  [27]. Менее интенсивные характерные пики хлорофиллов а и б. Хлорофилл(б): 1190  $\text{cm}^{-1}$ , 1607  $\text{cm}^{-1}$ , 1267  $\text{cm}^{-1}$ , 1633  $\text{cm}^{-1}$ . Хлорофилл(а): 1285  $\text{cm}^{-1}$ , 1619  $\text{cm}^{-1}$ , 1285  $\text{cm}^{-1}$ , 1630  $\text{cm}^{-1}$ [29].

В результате было рассчитано отношение пика каротиноидов (1523  $\text{cm}^{-1}$ ) к пику хлорофилла (1630  $\text{cm}^{-1}$ ). Полученные результаты внесли в таблицу 5.

Таблица 5. Результаты расчета отношения пиков каротиноидов к пику хлорофиллов.

Вариант	Отношение интенсивностей пиков каротиноидов/ хлорофилла	
	Дата	
	22.11.18 (16 суток)	29.11.18 (23 суток)
ФТ1	12.4	14.4
ФТ2	14.1	15.3

Также рассчитали полуширину на полувысоте по основным пикам (FWHM - full width at half maximum) и занесли в таблицу 6.

Таблица 6. Полуширина спектра на характерных пиках салата

16 суток				23 суток			
ФТ1		ФТ2		ФТ1		ФТ2	
Положение пика (см <sup>-1</sup> )	FWHM (см <sup>-1</sup> )	Положение пика (см <sup>-1</sup> )	FWHM (см <sup>-1</sup> )	Положение пика (см <sup>-1</sup> )	FWHM (см <sup>-1</sup> )	Положение пика (см <sup>-1</sup> )	FWHM (см <sup>-1</sup> )
1523	19.9	1523	21.8	1520	20.8	1520	21.2
1285	2.8	1285	3.6	1285	3.4	1283	3.7
1156	25.1	1156	26.3	1156	17.5	1156	25.2
1188	12.2	1188	13.8	1186	13.8	1186	14.4
1006	17.6	1006	18.8	1006	20.5	1006	19.6
962	14.7	962	20.3	962	14.4	962	22.2

Отношение интенсивности пиков каротиноид/хлорофилл показывает отношение концентрации каротиноид/хлорофилл. Из этого можно сделать вывод, что концентрация каротиноидов увеличивается с возрастом салата, что при статическом, что при динамическом освещении. Но при динамическом освещении (ФТ1) прирост концентрации каротиноидов с возрастом выше, чем при статическом (14.44/12.40 > 15.27/14.08). Так как возраст растений одинаковый, то можно сделать вывод, что и концентрация в целом хлорофиллов и каротиноидов у салата, выращенного при динамическом освещении выше, чем у салата, выращенного под статическим освещением. Сравним с результатами биохимического анализа (таблица 8).

Таблица 8. Сравнение результатов биохим. анализа и расчётными данными.

Вариант	Сумма каротиноидов/ Хл а+б		Отношение интенсивности пика каротиноидов/пик хлорофилла	
	Дата	Дата	Дата	Дата
	22.11.18 (16 суток)	29.11.18 (23 суток)	22.11.18 (16 суток)	29.11.18 (23 суток)
ФТ1	0.2709	0.2264	12.40356	14.4446
ФТ2	0.2610	0.2248	14.0765	15.26507

Как можно видеть по результатам, никакой четкой зависимости не наблюдается. Было предположено, что разница между разными датами может быть усреднена погрешностями измерений.

Расчет погрешностей производился по формуле распространения неопределенностей (или распространения ошибки).

$$S_f = \sqrt{\left(\frac{\partial f}{\partial x}\right)^2 * s_x^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial y}\right)^2 * s_y^2}, \quad (7)$$

где  $S_f$  представляет стандартное отклонение функции  $f$ ,  $s_x$  представляет стандартное отклонение  $x$ ,  $s_y$  – стандартное отклонение  $y$ .

Так как наша функция  $f = \frac{x}{y}$ , то уравнение 1 примет вид:

$$S_f = \sqrt{\left(\frac{1}{y}\right)^2 * s_x^2 + \left(-\frac{x}{y^2}\right)^2 * s_y^2}$$

Из таблицы 2,  $x$  – количество каротиноидов,  $y$  – количество хлорофиллов(а+б).  $s_x$  и  $s_y$  погрешности измерения каротиноидов и хлорофиллов соответственно. Стандартное отклонение для спектров было рассчитано с помощью ПО “ORIGIN”. Результаты с погрешностями внесены в таблицу 9.

Таблица 9. Отношение интенсивности пика каротиноидов/пик хлорофилла с рассчитанной погрешностью.

Вариант	Сумма каротиноидов/ Хл а+б		Отношение интенсивности пика каротиноидов/пик хлорофилла	
	22.11.18 (16 суток)	29.11.18 (23 суток)	22.11.18 (16 суток)	29.11.18 (23 суток)
ФТ1	0.271±0.013	0.226±0.009	12.40±0.04	14.44±0.01
ФТ2	0.261±0.004	0.225±0.013	14.08±0.02	15.27±0.02

Как видно из полученных данных погрешность не может перекрыть различия в данных. Результаты биохимического анализа противоречат расчётным.

### 3.2. Хлорелла.

На рисунке 16 показана фотография клеток хлореллы, сделанная с помощью микроскопа.

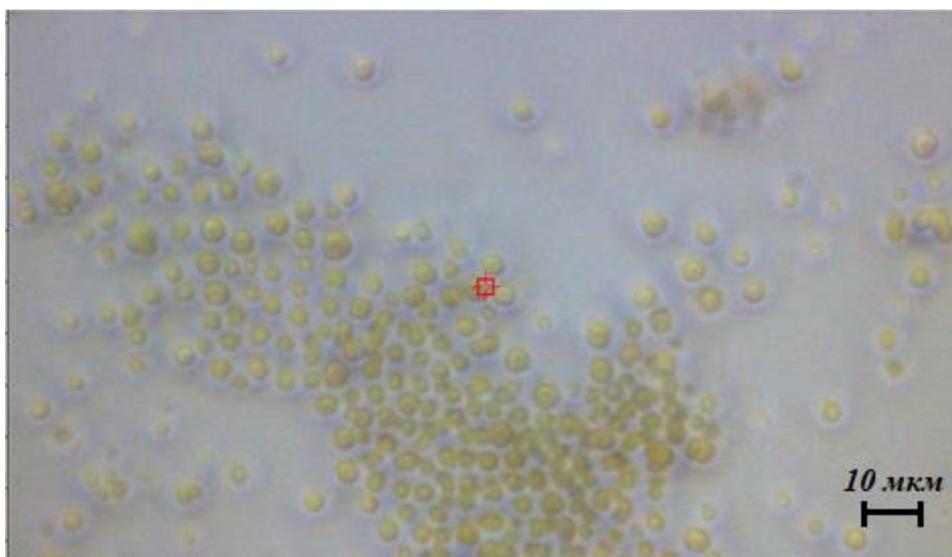


Рис.16 Фотография хлореллы

Измерения проводились на покровном стекле. Спектр стекла приведен на рисунке 17.

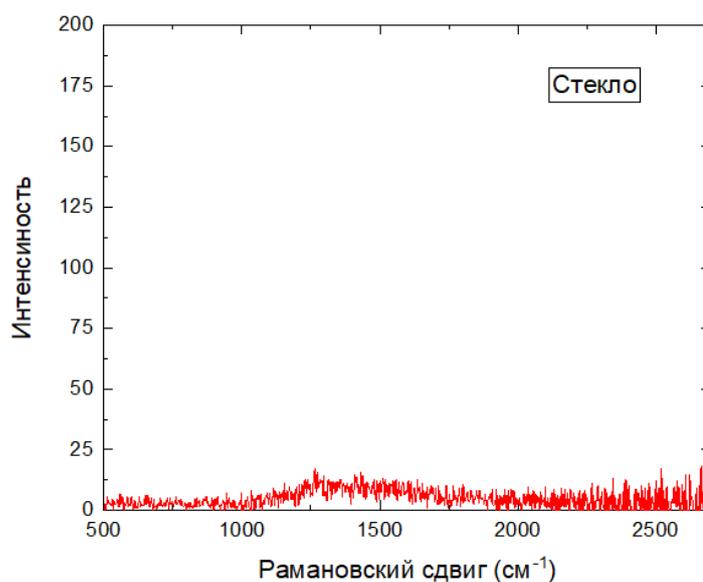


Рис. 17 Рамановский спектр стекла.

Из спектра стекла видно, что в районе 1000-1800 см<sup>-1</sup> наблюдается люминесценция, но интенсивность её настолько мала по сравнению с интенсивностью спектра хлореллы, что этой люминесценцией можно пренебречь.

Проводилось 2 измерения разных хлорелл, с разной концентрацией клеток на мкл (млн/мкл), а также высушенная водоросль. Результаты представлены на рисунках ниже.

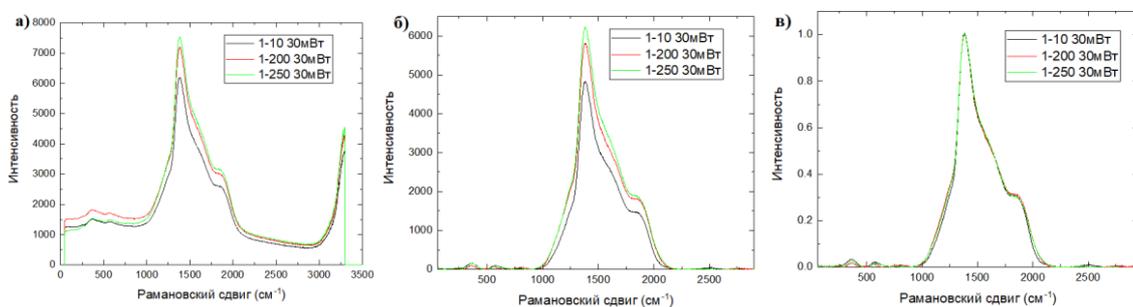


Рис.18 Рамановский спектр 1 хлореллы: а) необработанный; б) после вычета фонового сигнала; в) в относительной шкале.

Измерения проводились с мощностью 30 мВт и при 3 разных концентрациях (10, 200, 250 млн. клеток/мкл).

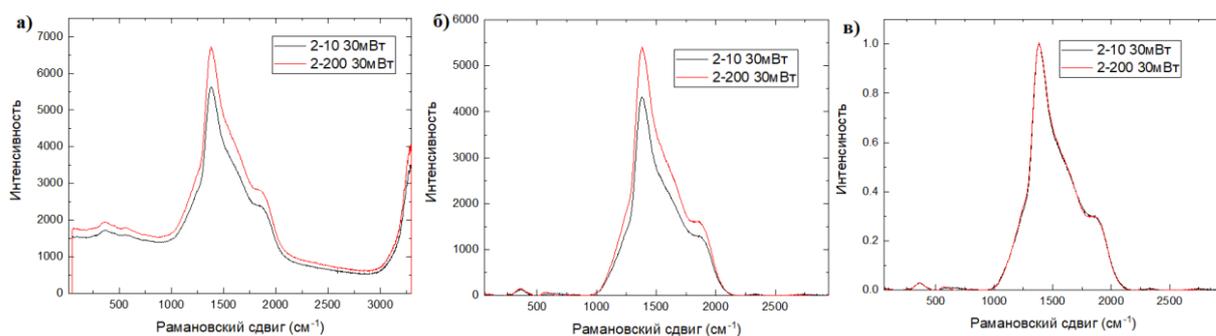


Рис.19 Рамановский спектр 2 хлореллы: а) необработанный; б) после вычета фонового сигнала; в) в относительной шкале.

Измерения проводились с мощностью 30 мВт и при 2 разных концентрациях (10, 200 млн. клеток/мкл).

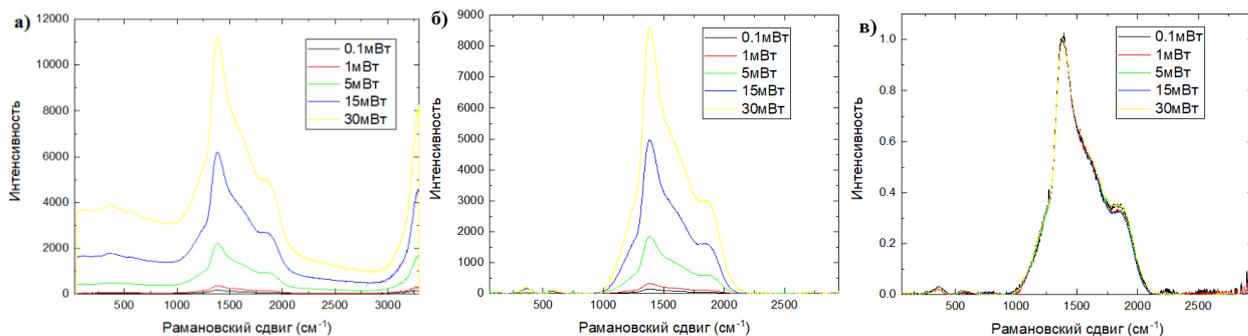


Рис.20 Рамановский спектр сухой хлореллы: а) необработанный; б) после вычета фонового сигнала; в) в относительной шкале.

Измерения проводились при разных мощностях 0.1 мВт, 1 мВт, 5 мВт, 15мВт, 30 мВт.

Все данные усреднены и собраны на одном графике в относительной шкале на рисунке 21.

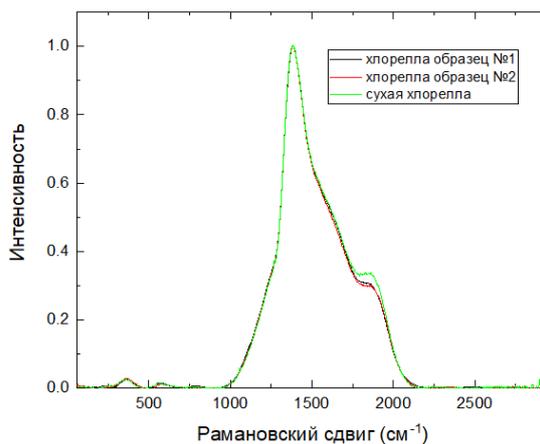


Рис.21 Спектры высушенной, 1 и 2 хлореллы в относительной шкале.

Интенсивный пик  $1350\text{ см}^{-1}$  отражает пик хлорофилла а и б. Также следует учитывать люминесценцию от стекла. Разница состоит в пике  $1800$ , который соответствует валентным колебаниям (растягивающие вибрации)  $\text{C}=\text{O}$  [27].

На образцах хлореллы анализируемый спектр можно наблюдать только на красном лазере ( $785\text{ нм}$ ) из-за высокой люминесценции. Как можно заметить при высушивании хлореллы изменяется соотношение  $\text{C}=\text{O}$ . Спектр не зависит от концентрации хлореллы.

## Заключение

В ходе данного научного исследования было подробно изучено применение рамановской спектроскопии для мониторинга и анализа роста сельскохозяйственных культур на примере листьев салата и хлореллы. В ходе экспериментов было определено, что с помощью рамановской спектрометрии возможно детектировать характерные пики пигментов, определяющих рост и развитие растений – хлорофиллов а и б, каротиноидов. За счет чего по предварительным данным возможно отслеживать рост культуры салата, однако данные противоречивы. Отслеживать рост хлореллы, с помощью рамановской спектрометрии при длинах волн 532, 785 и 1064 нм не удалось из-за большой люминесценции.

В ходе работы также были получены оптимальные параметры для спектроскопии салата, что является инструментальным в разработке нового подхода к оценке полезных веществ и влияния факторов окружающей среды на рост растений. В дальнейшей работе планируется анализировать не зеленые культуры и проводить измерения портативным рамановским оборудованием, для измерения *in situ* без снятия листьев с растения.

При развитии методики потенциально возможно ее использование на предприятиях агропромышленного комплекса для точного контроля роста растений на основе изменения количества пигментов неразрушающим способом, и за счет этого прогнозирование объема сельскохозяйственной продукции.

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

Раздел «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» имеет своей целью анализ перспектив и успешности научно-исследовательского проекта. Также в данном разделе разрабатываются механизмы управления и другие проектные решения этапа реализации проекта.

Достижение поставленной цели требует решения следующих задач:

- дать оценку коммерческому потенциалу проекта и перспективам его разработки;
- обозначить поэтапный план выполнения исследования;
- произвести расчёт бюджета исследования;
- оценить эффективность проекта по ресурсным и экономическим показателям.

##### **4.1. Техничко-экономическое обоснование научно-исследовательской работы**

Научно - исследовательская работа представляет собой процесс исследования и анализа пигментов сельскохозяйственных культур. Количество полезных пигментов, таких как хлорофиллы и каротиноиды в свою очередь определяют развитие растения. Анализ пигментов позволяет прогнозировать и применять своевременные меры для изменения параметра выращивания растения.

Разработка НИР производится группой, состоящей из двух человек – руководителя и магистранта.

##### **4.2. Потенциальные потребители результатов исследования**

Проект обладает огромным инновационным потенциалом. Результат проекта представляет собой компактная, простая технология для контроля

роста растений. Для анализа потребителей результатов исследования необходимо рассмотреть целевой рынок и провести его сегментирование. Для контроля роста растений используется технология рамановской спектроскопии.

Целевым рынком данной методики являются фермерские и сельскохозяйственные предприятия. Проведем сегментирование и построим карту сегментирования рынка.

Таблица 1 – Карта сегментирования рынка

Размер компании	Способ контроля роста растений		
	Химический	Спектро-колориметрический	Рамановской спектроскопии
Крупные	Фирма А	Фирма Г	
Средние	Фирма Б	Фирма Д	
Мелкие	Фирма В		Фирма Е

Из приведенной карты можем видеть, что способ измерения рамановской спектроскопией еще не так широко используется в оценки степени восстановления, соответственно, уровень конкуренции в этой категории низок. Таким образом, получили, что:

- к основному сегменту данного рынка можно отнести средние компании и крупные компании;
- больше перспектив представляется малым компаниям, которые контролируют рост растений с помощью метода рамановской спектроскопии;
- в будущем также перспективным и привлекательным является предложение контролировать рост растений с помощью метода рамановской спектроскопии средними компаниями.

### 4.3. SWOT-анализ

SWOT–анализ представляет собой комплексный анализ научно-исследовательского проекта. Данный вид анализа применяют для исследования внешней и внутренней среды проекта. Он проводится в несколько этапов:

Первый этап состоит в описании сильных и слабых сторон разработки и выявлении ее возможностей и угроз. Эти параметры заносятся в матрицу SWOT-анализа. Второй этап состоит в выявлении сильных и слабых сторон разработки при помощи интерактивных матриц, представленных в таблице ниже. Третий этап заключается в составлении итоговой матрицы SWOT-анализа.

Таблица 2 – SWOT–анализ НТИ

Сильные стороны	Возможности во внешней среде
<p>С1. Мобильность технологии и измерение «на месте».</p> <p>С2. Точный метод для качественного анализа сельскохозяйственных культур. Разработка технологии измерения растений с помощью рамановской спектроскопии позволит повысить объем выпускаемой продукции.</p> <p>С3. Простота используемого оборудования;</p> <p>С4. Данная методика является экономически выгодной, ресурсоэффективной (требуется один специалист для работы по разработанной методике).</p>	<p>В1. Точность, скорость измерения и неразрушающий метод контроля роста растений позволит найти потенциальных покупателей на внутреннем и международном рынке;</p> <p>В2. Возможность использования на мировом уровне;</p>
Слабые стороны	Угрозы внешней среды
<p>Сл1. Необходимость квалифицированного персонала;</p> <p>Сл2. Трудность с внедрением разработанной методики в устоявшийся производственный процесс;</p> <p>Сл3. Возникновения возможных недочетов из-за недостаточного количества тестирования методики.</p>	<p>У1. Результаты конкурирующих коллективов, работающих в этом направлении;</p> <p>У2. Отсутствие заинтересованных инвесторов проекта.</p>

Следующим этапом является выявление соответствия сильных и слабых сторон проекта условиям внешней среды. Данный анализ соответствий (или

несоответствий) необходим для оценки необходимости каких-либо стратегических изменений. В таблице 3 представлены корреляции сильных сторон проекта и возможностей его реализации.

Таблица 3 – Сильные стороны проекта и возможности

Возможности проекта		C1	C2	C3	C4
	B1	+	+	-	+
	B2	+	+	+	+

Из таблицы 3 следует, что сильные стороны проекта соответствуют возможностям реализации по параметрам:

B1C1C2C4

B2C1C2C3C4

Таблица 4 – Слабые стороны проекта и возможности

Возможности проекта		Сл1	Сл2	Сл3
	B1	-	-	+
	B2	-	+	+

Из таблицы 4 следует, что слабые стороны проекта коррелируют с возможностями реализации по параметрам:

B1Сл3

B2Сл2Сл3

Таблица 5 – Сильные стороны проекта и угрозы

Угрозы		C1	C2	C3	C4
	У1	-	-	-	+
	У2	+	+	+	+

Из таблицы 5 следует, что сильные стороны проекта соответствуют угрозам реализации по параметрам:

У1C4

У2C1C2C3C4

Таблица 6 – Слабые стороны проекта и угрозы

Возможности проекта		Сл1	Сл2	Сл3
	У1	-	+	-
У2	-	+	+	

Из таблицы 6 следует, что слабые стороны проекта соответствуют угрозам реализации по параметрам:

У1Сл2

У2Сл2Сл4

Проанализировав полученные данные, можно сказать, что наибольшую угрозу проекту представляет результаты конкурирующих коллективов. Разрабатываемая методика является более экономически выгодной и точной относительно уже имеющихся методов контроля роста сельскохозяйственных культур. В данном направлении конкурирующих коллективов не существует. Статьи по данной теме используется как теория, но на практике никто не применял.

Слабой стороной проекта является необходимость в квалифицированном персонале для работы на рамановском спектрометре. Решением данной проблемы может послужить обучение персонала работе с необходимым оборудованием, а также обучение по использованию ПО.

Другой слабой стороной проекта является сложность внедрения методики в производство. Так как методика новая, стоит прописать методичку и провести множество проверочных экспериментов.

#### **4.4. Планирования комплекса работ по проведению НТИ**

Трудоемкость выполнения НТИ оценивается экспертным путем в человеко-днях и носит вероятностный характер, т.к. зависит от множества трудно учитываемых факторов. Разделим исследование на этапы, представленные в таблице 7.

Таблица 7 – Перечень этапов, работ и распределение исполнителей

Основные этапы	№ работы	Содержание работы	Должность исполнителя
Разработка задания ВКР	1	Определение направления исследования	Руководитель, инженер
	2	Составление задания	Руководитель, инженер
	3	Согласование задания с исполнителем	Руководитель, инженер
Выбор направления исследований	4	Подбор и изучение материалов по теме	Инженер
	5	Календарное планирование работ по теме	Руководитель, инженер
Теоретические и экспериментальные исследования	6	Проведение теоретических обоснований	Руководитель, инженер
	7	Выбор оборудования и пробные эксперименты	Инженер
	8	Выбор образцов измерения	Руководитель, инженер
	9	Проведение экспериментов	Инженер
	10	Обработка результатов в ПО	Инженер
	11	Оптимизация параметров	Инженер
	12	Сравнение результатов экспериментов с теоретическими исследованиями	Руководитель, инженер
Обобщение и оценка результатов	13	Оценка эффективности полученных результатов	Руководитель, инженер
Оформление отчета по НИР	14	Представление результатов для отчета по НИР	Инженер
	15	Анализ результатов отчета, выводы	Инженер

#### 4.4.1. Определение трудоемкости выполнения работ

Так как трудовые затраты составляют основную часть стоимости разработки, трудоемкость определяется для каждого из участников исследования экспертным путем в человеко-днях по следующей формуле:

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

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

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

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

Для установления продолжительности работы в рабочих днях используем формулу:

$$T_{pi} = \frac{t_{ожi}}{Ч_i},$$

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

$t_{ожi}$  – ожидаемая трудоемкость выполнения одной работы, чел.-дн.;

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

Для удобства построения календарного план-графика, длительность этапов в рабочих днях переводится в календарные дни и рассчитывается по следующей формуле:

$$T_{ki} = T_{pi} * k,$$

где  $T_{ki}$  – продолжительность выполнения одной работы, календ.дн.;

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

$k$  – коэффициент календарности, предназначен для перевода рабочего времени в календарное.

Коэффициент календарности рассчитывается по формуле:

$$k = \frac{T_{кГ}}{T_{кГ} - T_{вД} - T_{пД}},$$

где  $T_{кГ}$  – количество календарных дней в году;

$T_{вД}$  – количество выходных дней в году;

$T_{пД}$  – количество праздничных дней в году.

Определим длительность этапов в рабочих днях и коэффициент календарности:

$$k = \frac{T_{\text{КГ}}}{T_{\text{КГ}} - T_{\text{ВД}} - T_{\text{ПД}}} = \frac{365}{365 - 108 - 10} = 1,48.$$

Длительность этапов в рабочих днях. Следует учесть, что расчетную величину продолжительности работ  $T_{\text{К}}$  нужно округлить до целых чисел.

#### 4.4.2. Техническая готовность НТИ

Техническая готовность исследования отражает то, насколько выполнены запланированные этапы или работа. Численно показатель технической готовности выражается как отношение продолжительности работ, выполненных на момент исчисления этого показателя, к общей запланированной продолжительности работ, при этом следует учесть, что период исследования составляет примерно 6 месяцев, студент-дипломник выступает в качестве основного исполнителя.

Для выделения удельного значения отдельной работы из общей продолжительности работ используется формула:

$$Y_i = \frac{T_{pi}}{T_p} * 100\%,$$

где  $Y_i$  – удельное значение каждой работы в%;

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

$T_p$  – суммарная продолжительность работ, раб.дн.

Техническую готовность индивидуальной работы определим по формуле:

$$\Gamma_i = \frac{\sum_{i=1} T_{pi}}{T_p} * 100\%,$$

где  $\sum_{i=1} T_{pi}$  – нарастающая продолжительность на момент выполнения  $i$ -той работы.

Результаты расчетов приведены в таблице 8.

Таблица 8 – Временные показатели проведения НИР

№ Работы	Исполнители	Продолжительность работ				
		$t_{\min}$ , чел.-дн.	$t_{\max}$ , чел.-дн.	$t_{\text{ож}}$ , чел.дн.	$T_p$ , раб.дн.	$T_k$ , кал.дн.
1	Руководитель, инженер	1	2	1,4	1,4	2
2	Руководитель, инженер	8	10	8,8	8,8	13
3	Руководитель, инженер	4	6	1,4	4,8	7
4	Инженер	1	2	1,4	1,4	2
5	Руководитель, инженер	2	3	2,4	2,4	4
6	Руководитель, инженер	1	2	1,4	1,4	2
7	Инженер	14	21	16,6	16,6	25
8	Руководитель, инженер	1	2	1,4	1,4	2
9	Инженер	2	3	2,4	2,4	4
10	Инженер	1	2	1,4	1,4	2
11	Инженер	4	6	4,8	2,4	3
12	Руководитель, инженер	2	3	2,4	1,2	2
13	Руководитель, инженер	2	3	2,4	1,2	2
14	Инженер	7	10	8,2	8,2	12
15	Инженер	5	8	6,2	6,2	9
Руководитель					21,6	32
Инженер					61,2	91

По данным таблицы 8 видно, что в исследовании для данной работы задействовано два человека (руководитель и инженер), а на выполнение НИР требуется 91 календарных дней.

#### 4.4.3. Построение графика работ

В качестве графика можно использовать диаграмму Ганта – горизонтальный ленточный график, на котором работы по теме представляются протяженными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ.

График строится по данным таблицы 8 с разбивкой по месяцам и неделям (7 дней) за период времени всех работ. При этом работы на графике выделяются различной штриховкой в зависимости от исполнителей, ответственных за тот или иной этап работы.

Таблица 9 – Диаграмма Ганта

Этапы	Вид работы	Исполнитель и	$T_k$	Декабрь	Февраль	Март	Апрель	Май
1	Определение направления исследования	Руководитель, инженер	2					
2	Составление задания	Руководитель, инженер	13					
3	Согласование задания с исполнителем	Руководитель, инженер	7					
4	Подбор и изучение материалов по теме	Инженер	2					
5	Календарное планирование работ по теме	Руководитель, инженер	4					
6	Проведение теоретических обоснований	Руководитель, инженер	2					
7	Выбор оборудования и пробные эксперименты	Инженер	25					
8	Проведение экспериментов	Руководитель, инженер	2					
9	Обработка результатов в ПО	Инженер	4					
10	Оценка эффективности полученных результатов	Инженер	2					
11	Оптимизация параметров	Инженер	3					
12	Сравнение результатов экспериментов с теоретическими исследованиями	Руководитель, инженер	2					
13	Оценка эффективности	Руководитель, инженер	2					



Таблица 10 – Материальные затраты

Наименование	Единица измерения	Количество	Цена за ед., руб.	Затраты на материалы, З <sub>м</sub> , руб.
Электроэнергия	(кВт/ч)	60	2,7	162
Канцелярские товары				330
Расходные материалы	шт.	1	1000	1000
Связь			450	900
Итого				2392

Стоимость спецоборудования и оборудования для проведения НТИ, сводятся в таблице 11. Все необходимое спецоборудование имеется в лаборатории.

Таблица 11 – Стоимость спецоборудования для научных работ

№ п/п	Наименование оборудования	Кол-во единиц оборудования	Цена единицы оборудования, тыс. руб.	Общая стоимость оборудования, тыс. руб.
1	Рамановский спектрометр AVARaman Bundle D	1	1200	1200
2	Компьютер	1	45	45
Итого:				1245

Расчёт амортизации оборудования  $I_{ам.обор}$  ведется по следующей формуле:

$$I_{ам.обор} = \left( \frac{T_{исп.обор.}}{365} \right) * K_{обор} * N_a,$$

где  $T_{исп.обор.}$  – время использования оборудования;

365 дней – количество дней в году;

$K_{обор}$  – стоимость оборудования;

$N_a$  – норма амортизации.

$$H_a = \frac{1}{T_{\text{с.с.обор}}}$$

где  $T_{\text{с.с.обор}}$  – срок службы оборудования.

$$I_{AVARaman} = \left( \frac{T_{AVARaman}}{365} \right) \times K_{AVARaman} \times H_a = \left( \frac{30}{365} \right) \times 1200000 \times \left( \frac{1}{10} \right) = 9863 \text{ руб.}$$

$$I_{\text{ам.комп}} = \left( \frac{T_{\text{комп}}}{365} \right) \times K_{\text{комп.}} \times H_a = \left( \frac{60}{365} \right) \times 45000 \times \left( \frac{1}{10} \right) = 739,7 \text{ руб}$$

Результаты расчета сведем в таблицу 12

Таблица 12 – Затраты на амортизацию оборудования

Наименование оборудования	$K_{\text{обор}}$ , руб.	$T_{\text{исп. обор}}$ , дней	$I_{\text{ам.обор}}$ , руб.
Рамановский спектрометр AVARaman Bundle D	1200000	30	9863
Компьютер	45000	60	739.7
ИТОГ			10602.7

#### 4.5.1. Расчет основной заработной платы исполнителей

В данном разделе рассчитывается основная заработная плата всех участвующих в выполнении работы дипломной работы. Данные об окладе в зависимости от трудоемкости работ служат основой для расчета заработной платы. В состав основной заработной платы включается премия, выплачиваемая ежемесячно из фонда заработной платы в размере 20 –30 % от тарифа или оклада. Заработную плату:

$$Z_{\text{зн}} = Z_{\text{осн}} + Z_{\text{доп}}$$

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

$Z_{\text{доп}}$  – дополнительная заработная плата (15 % от  $Z_{\text{осн}}$ ).

Основная заработная плата ( $Z_{\text{осн}}$ ) руководителя рассчитывается по следующей формуле:

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

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

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

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

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$$Z_{дн} = Z_m \cdot M / F_d$$

где  $Z_m$  – месячный должностной оклад работника, руб.;  $M$  – количество месяцев работы без отпуска в течение года: при отпуске в 48 раб. дней  $M=10,4$  месяца, 6-дневная неделя;

$F_d$  – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб. дн. (таблица 13).

Таблица 13 – Баланс рабочего времени

Показатели рабочего времени	Руководитель	Студент
Календарное число дней	365	365
Количество нерабочих дней	118	118
Потери рабочего времени	0	0
Действительный годовой фонд рабочего времени	247	247

Месячный должностной оклад сотрудника рассчитывается следующим образом:

$$Z_m = Z_{мс} \cdot k_p$$

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

$k_p$  – районный коэффициент, равный 1,3

Расчёт основной заработной платы приведён в таблице 14.

Таблица 14 – Расчет основной заработной платы руководителя

Наименование этапов	Исполнители по категориям	Трудоемкость, чел.-раб.дн.	Заработная плата по тарифу (окладам) с учётом РК, руб.	Заработная плата, приходящаяся на один чел.-дн., руб.	Итоговая з/п
1-15	Инженер (УВП, 1 кв. уровень)	62	15769	15769/21=750,9	46555,8
1,2,3,5,6,8,12,13	Руководитель (Профессор, д.н)	22	63895	63895/21=3042,6	66937,6
Итого: 113493,4					

Дополнительная заработная плата исполнителей темы

Расчет дополнительной заработной платы ведется по следующей формуле:

$$Z_{доп} = k_{доп} \cdot Z_{осн}$$

где  $k_{доп}$  – коэффициент дополнительной заработной платы равен 0,15.

$$Z_{доп} = 0,15 \cdot 113493,4 = 17024 \text{ руб.}$$

#### 4.5.2. Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления)

Величина отчислений во внебюджетные фонды определяется исходя из следующей формулы:

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

где  $k_{внеб}$  – коэффициент отчислений на уплату во внебюджетные фонды, равен 30,2%.

Отчисления во внебюджетные фонды:

$$Z_{внеб} = 0,302 \cdot (113493,4 + 17024) = 39416,25 \text{ руб.}$$

### 4.5.3. Расчет накладных затрат

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

$$Z_{\text{накл}} = (\text{сумма статей 1 – 5}) \cdot k_{\text{нр}}$$

где  $k_{\text{нр}}$  – коэффициент, учитывающий накладные расходы. можно взять в размере 16%.

$$Z_{\text{накл}} = (2392 + 10602,7 + 39416,25 + 113493,4 + 17024) \cdot 0,16 = 29268,5 \text{ руб.}$$

### 4.5.4. Формирование бюджета затрат научно-исследовательского проекта

Определение бюджета затрат на научно-исследовательский проект по варианту руководителя приведен в таблице 15.

Таблица 15 – Расчет бюджета затрат НИИ

Наименование статьи	Сумма, руб.	Порядок расчета
Материальные затраты НИИ	2392	Таблица 4.10
Амортизация специального оборудование для научных (экспериментальных) работ	10602,7	Таблица 4.12
Затраты по основной заработной плате исполнителей темы	113493,4	Таблица 4.13
Затраты по дополнительной заработной плате исполнителей темы	17024	Пункт 4.5.2
Отчисления во внебюджетные фонды	39416,25	Пункт 4.5.3
Накладные расходы	29268,5	Пункт 4.5.4
<b>Бюджет затрат НИИ</b>		<b>212196,85 руб.</b>

#### **4.6. Оценка ресурсоэффективности**

В данном разделе бакалаврской работы был проведен анализ потенциальных потребителей разработки, выполнено планирование исследовательских работ и бюджета НИИ, определена эффективность научно-технического исследования.

Планирование исследовательских работ показало, что для выполнения всего исследования необходимо затратить 62 дня. Следовательно, работа может быть выполнена менее чем за 3 месяца. Наиболее продолжительным этапом является написание отчета о работе.

Бюджет данного исследования составил 212196,85 руб. рублей. Основные затраты составляют заработная плата, накладные расходы и отчисления во внебюджетные фонды. Исследование довольно ресурсоэффективно, то есть с точки зрения ресурсопотребления экономически целесообразно.