

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

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

Тема работы
Разработка электрохимической иммуносенсорной тест-системы на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил

УДК 542.2:616-097.2

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д83	Логунова Дарья Вячеславовна		

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Дорожко Елена Владимировна	к.х.н., доцент		

КОНСУЛЬТАНТЫ ПО РАЗДЕЛАМ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

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

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Гуляев Милий Всеволодович			

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

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

Рецензент

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
	Гавриленко Н.А.	к.х.н.		

**ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОСВОЕНИЯ
ООП «Химические технологии в биологии и медицине»**

Код компетенции	Наименование компетенции
Универсальные компетенции	
УК(У)-1	Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач
УК(У)-2	Способен определять круг задач в рамках поставленной цели и выбирать оптимальные способы их решения, исходя из действующих правовых норм, имеющихся ресурсов и ограничений
УК(У)-3	Способен осуществлять социальное взаимодействие и реализовывать свою роль в команде
УК(У)-4	Способен осуществлять деловую коммуникацию в устной и письменной формах на государственном языке Российской Федерации и иностранном(-ых) языке(-ах)
УК(У)-5	Способен воспринимать межкультурное разнообразие общества в социально-историческом, этическом и философском контекстах
УК(У)-6	Способен управлять своим временем, выстраивать и реализовывать траекторию саморазвития на основе принципов образования в течение всей жизни
УК(У)-7	Способен поддерживать должный уровень физической подготовленности для обеспечения полноценной социальной и профессиональной деятельности
УК(У)-8	Способен создавать и поддерживать безопасные условия жизнедеятельности, в том числе при возникновении чрезвычайных ситуаций
УК(У)-9	Способен проявлять предприимчивость в практической деятельности, в т.ч. в рамках разработки коммерчески перспективного продукта на основе научно-технической идеи
Общепрофессиональные компетенции	
ОПК(У)-1	Способность и готовность использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности
ОПК(У)-2	Готовность использовать знания о современной физической картине мира, пространственно-временных закономерностях, строении вещества для понимания окружающего мира и явлений природы
ОПК(У)-3	Готовность использовать знания о строении вещества, природе химической связи в различных классах химических соединений для понимания свойств материалов и механизма химических процессов, протекающих в окружающем мире
ОПК(У)-4	Владение пониманием сущности и значения информации в развитии современного информационного общества, осознания опасности и угрозы, возникающих в этом процессе, способностью соблюдать основные требования информационной безопасности, в том числе защиты государственной тайны
ОПК(У)-5	Владение основными методами, способами и средствами получения, хранения, переработки информации, навыками работы с компьютером как средством управления информацией
ОПК(У)-6	Владение основными методами защиты производственного персонала и населения от возможных последствий аварий, катастроф, стихийных бедствий

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

Инженерная школа природных ресурсов
 Направление подготовки 18.03.01 «Химическая технология»
 Уровень образования: бакалавриат
 Отделение школы (НОЦ) Отделение химической инженерии
 Период выполнения: весенний семестр 2021/2022 учебного года

Форма представления работы:

Бакалаврская работа

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

КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН выполнения выпускной квалификационной работы

Срок сдачи студентом выполненной работы:

Дата контроля	Название раздела (модуля)/вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
	Литературный обзор	
	Оборудование и методы исследования	
	Результаты проведенного исследования	
	Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	
	Социальная ответственность	

Составил руководитель ВКР:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Дорожко Е. В.	к.х.н., доцент		

Согласовал руководитель ООП:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Михеева Е.В.	к.х.н., доцент		

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

УТВЕРЖДАЮ:
 Руководитель ООП

 (Подпись) (Дата) Михеева Е.В.
 (Ф.И.О.)

ЗАДАНИЕ на выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

Бакалаврской работы

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

Студенту:

Группа	ФИО
2Д83	Логунова Дарья Вячеславовна

Тема работы:

Разработка электрохимической иммуносенсорной тест-системы на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил	
Утверждена приказом директора (дата, номер)	05.04.2022, №95-70/с

Срок сдачи студентом выполненной работы:	
--	--

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

Исходные данные к работе <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>	Разработать электрохимическую иммуносенсорную тест-систему на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил
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>	Введение Литературный обзор Материалы и методы Результаты и их обсуждение Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение Социальная ответственность Заключение
Перечень графического материала <i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i>	В работе содержится 22 рисунка
Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы <i>(с указанием разделов)</i>	
Раздел	Консультант

Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	Креницына Зоя Васильевна, доцент ОСГН ШБИП ТПУ, к.т.н.
Социальная ответственность	Гуляев Милий Всеволодович, старший преподаватель
Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:	
Разделы, написанные на русском языке: литературный обзор, исследовательская часть, экспериментальная часть, финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение, социальная ответственность, заключение.	

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

Задание выдал руководитель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Дорожко Е. В.	к.х.н., доцент		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д83	Логунова Дарья Вячеславовна		

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

Студенту:

Группа	ФИО
2Д83	Логунова Дарья Вячеславовна

Школа	ИШПР	Отделение школы (НОЦ)	ОХИ
Уровень образования	Бакалавриат	Направление/специальность	18.03.01 «Химическая технология»

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

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

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

Оценка коммерческого потенциала, перспективности и альтернатив проведения НИ с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения	Определение потенциальных потребителей результатов исследования; проведение анализа конкурентных технических решений; SWOT-анализ
Планирование и формирование бюджета научных исследований	Определение структуры плана проекта и трудоёмкости работ, разработка графика проведения исследования, бюджет исследования.
Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования	Расчет сравнительной эффективности проекта

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):

Оценка конкурентоспособности технических решений Матрица SWOT Альтернативы проведения НИ График проведения и бюджет НИ Оценка ресурсной, финансовой и экономической эффективности НИ
--

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

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОСГН	Креницына З.В.	к.т.н., доцент		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д83	Логунова Дарья Вячеславовна		

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА
«СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»**

Студенту:

Группа		ФИО	
2Д83		Логунова Дарья Вячеславовна	
Школа	Инженерная школа природных ресурсов	Отделение (НОЦ)	Отделение химической инженерии
Уровень образования	Бакалавриат	Направление/специальность	18.03.01 Химическая технология

Тема ВКР:

Разработка электрохимической иммуносенсорной тест-системы на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил	
Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:	
<p>Введение</p> <ul style="list-style-type: none"> – Характеристика объекта исследования (вещество, материал, прибор, алгоритм, методика) и области его применения. – Описание рабочей зоны (рабочего места) при разработке проектного решения/при эксплуатации 	<p>Объект исследования: электрохимическая иммуносенсорная тест-система (углеродные чернила, наночастицы золота, нитрат ртути (I), иммуноглобулины)</p> <p>Область применения: фармацевтическая промышленность, контроль качества лекарственных средств.</p> <p>Рабочая зона: научно-исследовательская лаборатория, аудитория № 223 корпус № 2 НИ ТПУ.</p> <p>Размер помещения: 30 м³.</p> <p>Количество и наименование оборудования рабочей зоны: ПК, потенциостат/гальванометр PalmSens4.</p> <p>Рабочие процессы, связанные с объектом исследования, осуществляющиеся в рабочей зоне: подготовка и синтез объектов, исследование их электрохимических свойств, работа с оборудованием.</p>
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
<p>1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности:</p> <ul style="list-style-type: none"> – специальные (характерные при эксплуатации объекта исследования, проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства; – организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны. 	<ul style="list-style-type: none"> - Трудовой кодекс РФ №197 -ФЗ (с изменениями на 16 декабря 2019 года); - Правила производства и контроля качества лекарственных средств (GMP) ГОСТ Р 52249-2009; - Пожарная безопасность ГОСТ 12.1.044-89 (ИСО 4589-84); - Электробезопасность ГОСТ 12.1.038-82. - Организация работы лабораторий МУ 1.3.2569-09
<p>2. Производственная безопасность:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Анализ потенциально вредных и опасных производственных факторов – Обоснование мероприятий по снижению воздействий 	<p>Вредные факторы:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Отсутствие или недостаток искусственного освещения; 2. Производственные факторы, связанные с аномальными микроклиматическими параметрами воздушной среды на местонахождении работающего; 3. Производственные факторы, связанные с электромагнитными полями. <p>Опасные факторы:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Производственные факторы, связанные с электрическим током; 2. Производственные факторы, обладающие свойствами химического воздействия на организм работающего. <p>Требуемые средства коллективной и индивидуальной защиты от выявленных факторов: использование средств индивидуальной защиты (халат, очки, перчатки).</p>

3. Экологическая безопасность:	Воздействие на селитебную зону: заражение территории при аварии химическими веществами. Воздействие на литосферу: твердые химические отходы. Воздействие на гидросферу: жидкие химические отходы. Воздействие на атмосферу: выбросы, содержащие низкую концентрацию химических веществ, из вентиляционных систем.
4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях:	Возможные ЧС: 1. Пожар; 2. Взрыв с выбросом химических реагентов; 3. Отравление парами легколетучих реагентов. Наиболее типичные ЧС: 1. Разлив химических реагентов; 2. Химические ожоги.
Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Гуляев Милий Всеволодович	–		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д83	Логунова Дарья Вячеславовна		

Реферат

Выпускная квалификационная работа 100 страниц, 22 рисунка, 29 таблиц, 64 источников.

Ключевые слова: углеродные чернила, полистироловый планшет, наночастицы золота, иммуноглобулины класса G, вольтамперометрический метод, электрохимические методы анализа, каталитическое восстановление ртути.

Объектом исследования является электрохимическая иммуносенсорная тест-система, углеродные чернила, наночастицы золота, нитрат ртути, иммуноглобулины класса G, а также их электрохимические свойства.

Цель работы – разработать электрохимическую иммуносенсорную тест-систему на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил.

Во время разработки проводили исследования по подбору оптимальной концентрации углеродных чернил и токосъемного контакта для создания электрохимических ячеек в лунках полистиролового планшета, осуществили модификацию поверхности рабочего электрода наночастицами золота и подобрали условия регистрации аналитического сигнала вольтамперометрическим методом. А также разработали электрохимическую иммуносенсорную тест-систему для определения модельных иммуноглобулинов.

Степень внедрения: полученная разработка после незначительных модификаций может быть использована для определения иммуноглобулинов класса G в аналитических лабораториях.

Область применения: лаборатории ИФА, фармацевтическая промышленность, лаборатории контроля-качества.

В будущем планируется провести определение и расчет метрологических характеристик полученной иммуносенсорной тест-системы.

Обозначения и сокращения

ИФА – иммуноферментный анализ

IgG – иммуноглобулин класса G

НЧ Au – наночастицы золота

ЦВА – циклическая вольтамперограмма

ЧС – чрезвычайные ситуации

Оглавление

Введение.....	15
1 Литературный обзор	17
1.1 Электродные материалы, используемые для электрохимических иммуносенсоров	17
1.1.1 Основы вольтамперометрии.....	17
1.1.2 Современные электрохимические материалы применяемые в иммуносенсорах	18
1.2 Особенности иммуносенсорного анализа для определения иммуноглобулинов.....	20
1.2.1 Иммуноанализ.....	20
1.2.2 Определяемые компоненты в иммуносенсорном анализе	23
1.2.3 Сигналообразующие ферментатные метки.....	24
1.2.4. Сигналообразующие металлические метки в электрохимических иммуносенсорах	26
1.2.4.1 Наночастицы золота, как сигналообразующие метки в электрохимических иммуносенсорах	28
1.3 Основные сведения о биоконъюгатах.....	29
1.3.1 Нековалентная конъюгация	30
1.3.2 Биоконъюгаты на основе наночастиц металлов	32
2 Оборудование и методы исследования.....	33
2.1 Оборудование, материалы, реактивы.....	33
2.2 Методика эксперимента	34
2.2.1 Методика приготовления токопроводящих углеродных чернил.....	34
2.2.2 Методика создания и тестирования электропроводящих свойств лунок полистиролового планшета	35
2.2.3 Методика синтеза наночастиц золота	36
2.2.4 Методика тестирования электропроводящих свойств лунок полистиролового планшета модифицированных НЧ Au.....	37

2.2.5	Методика химического восстановления ртути на НЧ Au и тестирования лунок полистиролового планшета.....	38
2.2.6	Методика разработки электрохимической иммуносенсорной тест-системы	39
2.2.7	Методика определения антител вольтамерометрическим методом	40
3	Результаты проведенного исследования	41
3.1	Исследование влияния объема углеродных чернил на электрохимический сигнал меди токосъемного контакта	41
3.2	Исследование влияние фонового электролита на электрохимических свойства иммуносенсорной тест-системы модифицированной НЧ Au	43
3.3	Исследование электрохимических свойств при каталитическом восстановление ртути на НЧ Au	46
3.4	Исследование электрохимических свойств иммуносенсорной тест-системы	47
4	Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение.....	49
4.1	Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения	50
4.1.1	Потенциальные потребители результатов исследования	50
4.1.2	Анализ конкурентных технических решений.....	50
4.1.3	SWOT-анализ	52
4.2	Планирование научно-исследовательских работ.....	55
4.2.1	Структура работ в рамках научного исследования.....	55
4.2.2	Определение трудоемкости выполнения работ	56
4.2.3	Разработка графика проведения научного исследования.....	57
4.3	Бюджет научно-технического исследования (НТИ)	63
4.3.1	Расчет материальных затрат научно-технического исследования.....	63
4.3.2	Расчет затрат на специальное оборудование для НТИ	65
4.3.3	Основная заработная плата исполнителей темы	66
4.3.4	Дополнительная заработная плата исполнителей темы	68

4.3.5 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления).....	69
4.3.6 Накладные расходы.....	70
4.3.7 Формирование бюджета затрат научно-технического исследования ..	70
4.4 Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования.....	71
5 Социальная ответственность	75
5.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности	75
5.1.1 Специальные (характерные для проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства	75
5.2 Производственная безопасность	78
5.3 Экологическая безопасность.....	85
5.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях.....	87
Заключение	92
Список использованных источников	93

Введение

Диагностика вирусных заболеваний на территории России является одним из первостепенных вопросов для контроля распространённости заболеваний. Такая важность обусловлена тем, что вирусы, попадая в организм человека, способны вызывать неврологические, иммунные и психологические нарушения, которые могут сопровождаться летальным исходом [1]. После инфицирования организм начинается вырабатывать специфические антитела путем клеточных и гуморальных реакций в ответ на атаку чужеродным агентом. Для подтверждения развивающемуся или перенесенному заболеванию проводятся исследования по определению специфических антител к возбудителю. На сегодняшний день иммуноферментный анализ (ИФА), в основе которого лежит специфическая реакция «антиген-антитело», является одним из наиболее распространённых методов диагностики вирусных заболеваний [2]. При определении антител для регистрации сигнала используют ферментные метки, которые обеспечивают чувствительность и специфичность анализа. Однако, главный недостаток ферментных меток – их восприимчивость к условиям хранения, что приводит к периодической необходимости подтверждения их активности [3] и валидации ИФА тест-систем. Также, для этого метода характерно сложное и дорогостоящее оборудование, которое требует опытного и квалифицированного оператора.

Несмотря на существующий метод ИФА в последнее время возрос интерес к созданию электрохимических иммуносенсоров для определения иммуноглобулинов в клинических и биологических исследованиях, где в качестве сигналообразующей метки используются не ферменты, а наночастицы (НЧ) благородных металлов. Разработка электрохимических иммуносенсоров представляет собой новое направление в аналитической химии, сочетая в себе преимущества ИФА и электрохимического определения, позволяя создать чувствительные, недорогие и миниатюризированные тест-системы для диагностики.

Таким образом, целью работы является разработать электрохимическую иммуносенсорную тест-систему на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил.

Для достижения поставленной цели следовало решить следующие задачи:

1. Разработать электрохимические ячейки на основе 96 луночного титровального планшета и углеродных чернил;
2. Модифицировать поверхность углеродных чернил НЧ Au и исследовать их электрохимические свойства;
3. Подобрать условия каталитического восстановления ртути (I) на наночастицах золота;
4. Разработать электрохимическую иммуносенсорную тест-систему на основе 96 луночного титровального планшета и углеродных чернил для определения модельных иммуноглобулинов.

1 Литературный обзор

1.1 Электродные материалы, используемые для электрохимических иммуносенсоров

1.1.1 Основы вольтамперометрии

В работе предполагается разработать электродный материал, который может быть использован в электрохимических исследованиях, в основе которых лежат процессы, протекающие на поверхности электрода или межэлектродном пространстве.

Вольтамперометрический метод, основанный на изучении изменения силы тока в электрохимической ячейке, от приложенного к ней напряжения, является распространенным электрохимическим методом исследования. При исследовании различных объектов, обладающих электрохимической активностью, изучают аналитический сигнал, который возникает в результате электрохимической реакции, при которой происходит перенос электронов через границу раздела фаз [4]. Аналитический сигнал представляется в виде ЦВА (рисунок 1).

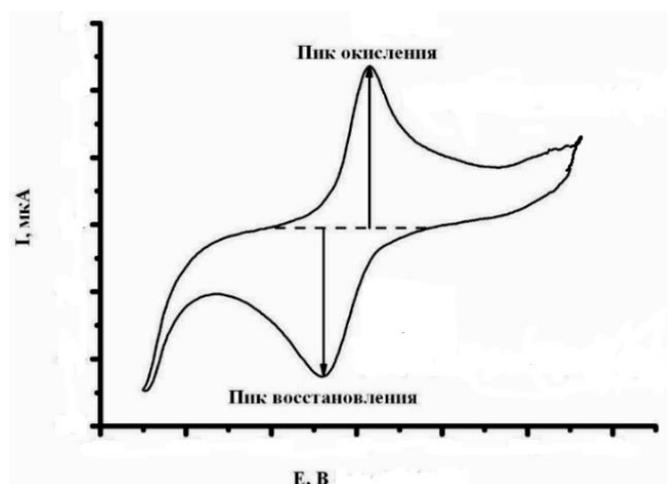


Рисунок 1 – Типичная ЦВА

Смещение потенциала электрода от равновесного значения происходит за счет поляризации, возникающий под действием прилагаемого напряжения [5].

В вольтамперометрии наиболее часто используется трехэлектродная электрохимическая ячейка, которая состоит из рабочего, вспомогательного и электрода сравнения. В качестве рабочего электрода наиболее часто применяются углеродсодержащие электроды, реже ртутный капельный электрод. Вспомогательным электродом выступает платина либо ртуть, а электродом сравнения каломельный или хлоридсеребрянный электрод. В последнее время широкое применение находят модифицированные электроды и микроэлектроды.

1.1.2 Современные электрохимические материалы применяемые в иммуносенсорах

В настоящее время наблюдается тенденция к замене ртутьсодержащих электродов, что привело к созданию модифицированных, нетоксичных электрохимических материалов для вольтамперометрии [6-7]. К таким можно отнести электроды, полученные методом трафаретной печати (SPE электроды), графитсодержащие электроды, или электроды, поверхность которых модифицирована современными материалами, такими как нанотрубки, графен и наночастицы благородных металлов.

Применение современных углеродсодержащих наноматериалов значительно увеличивают электроактивную площадь электрода. Широкая распространенность углеродных наноматериалов в качестве модификатора электродной поверхности связана с их уникальными свойствами, такими как электропроводность, прочность и деформационная упругость [8].

Среди наиболее доступных, но не отличающихся по свойствам от дорогих наноматериалов, выделяют углеродные материалы графитового типа. Поэтому высокочистый углерод, сажа и графит часто используют в качестве

модификатора для создания чувствительных электрохимических иммуносенсоров с расширенным диапазоном потенциалов [9].

Создание микро- и ультроэлектродов с рядом характерных свойств, таких как меньшее время получения аналитического сигнала и низкое омическое падение напряжения, позволило повысить коэффициент концентрирования и использовать такие электроды в тонких анализах, например, определение глюкозы в плазме крови [10].

Для уменьшения объемов аналита, что особенно актуально в медико-биологических исследованиях, создаются электроды методом трафаретной печати (screen-printed электроды, SPE), толщина которых составляет 20-50 мкм. В качестве подложки для таких электродов используется бумага, полимеры, керамика или другие материалы на поверхность которых может быть нанесены углеродные чернила или паста с различными модификаторами [11-12]. Отсутствие токсичных материалов, низкая стоимость, простота конструкции, возможность создания трехэлектродной системы на одной подложке делает SPE привлекательным для электрохимических исследований. Наглядное изображение SPE представлено на рисунке 2.

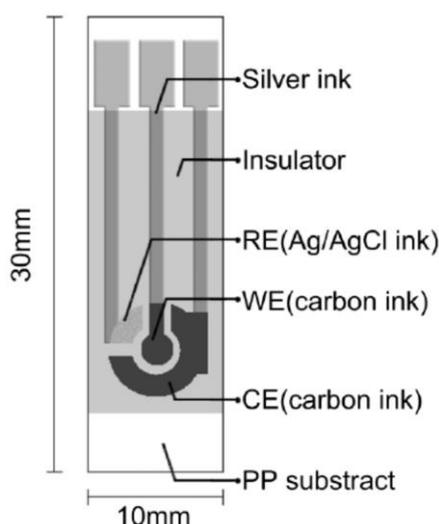


Рисунок 2 – Схема SPE электрода

Создание современных электродных модификаторов на основе углеродных нанотрубок, графитовых нановолокн и стержней на основе благородных металлов с совершенно новыми электрохимическими свойствами позволяет использовать их в индикаторных электродах за счет высокой каталитической и электрохимической активности, термостабильности, а пористость и деферентность обеспечивают хорошие сорбционные свойства наноматериалов. Все это позволяет снизить пределы обнаружения следовых содержаний веществ вольтамперометрическим методом анализа, а также успешно использовать наноматериалы в создании чувствительных и селективных электрохимических иммуносенсоров [13].

1.2 Особенности иммуносенсорного анализа для определения иммуноглобулинов

1.2.1 Иммуноанализ

Первое упоминание об иммуноанализе датируется 1959 годом, когда Ялоу и Берсон смогли определить молекулы инсулина путем введения радиоактивной метки антигенов и антител. Радиоиммунологический анализ на инсулин проложил путь к разработке иммуноанализов для тысяч других анализируемых веществ [14]. Уже более 60 лет иммуноанализ занимает особое место в развитии биологических, химических и медицинских наук. Он используется в качестве одного из важнейших направлений диагностики и профилактики вирусных инфекционных заболеваний. С помощью него осуществляется контроль качества продукции в различных областях от фармацевтической, до продуктов питания и мониторинг окружающей среды [15].

Стремительное развитие науки повлекло за собой создание новых и эффективных типов иммуноанализа, так на рисунке 3 представлена классификация современных модификаций иммуноанализа.

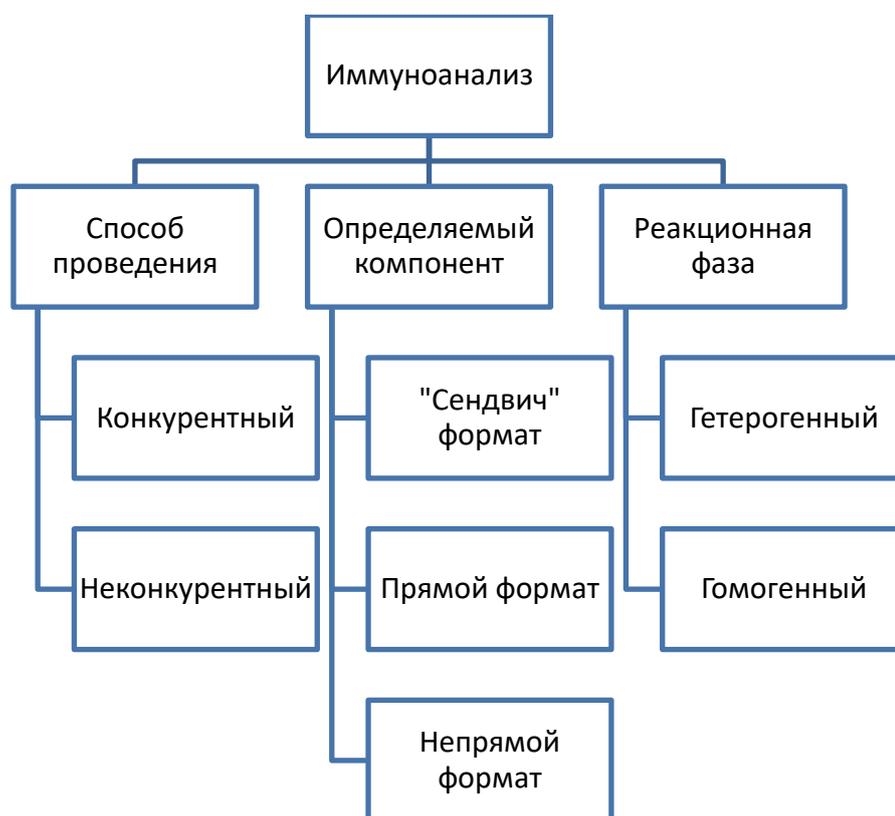


Рисунок 3 – Методы иммуноанализа

На сегодняшний день наибольшую популярность для определения антител к природным возбудителям нашел гетерогенный (твердофазный) метод иммуноанализа [16]. Данный подход позволяет достигать минимально возможные пределы обнаружения патогенов. Использование твердой фазы, на поверхности которой иммобилизуется один из компонентов, и удалении не участвующих в реакции субстанций позволяет упростить процесс разделения реагирующих компонентов. Одним из наиболее известных твердофазных методов является ИФА. В основе ИФА лежит специфическая реакция «антиген–антитело», где в качестве сигналообразующей метки выступает фермент [17].

Большая аналитическая и практическая база в сфере исследований иммуноанализов совместно с современными высокочувствительными методами побудило к созданию иммуносенсоров [18]. Они могут включать в себя множество различных биологических чувствительных агентов, например ферменты, клеточные рецепторы, нуклеиновые кислоты, микроорганизмы и, в случае иммуносенсоров, антитела или фрагменты антител. Иммуносенсоры

используют высокую специфичность взаимодействия антиген-антитело для обнаружения присутствия анализируемого вещества, как показано на рисунке 4 [19].

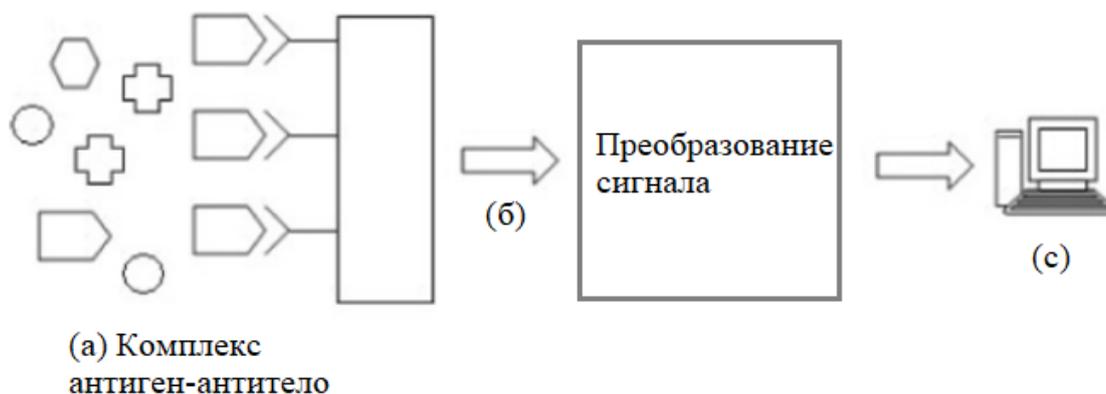


Рисунок 4 – Схематическая иллюстрация механизма стандартного иммуносенсора.

(а) Образуется комплекс антиген-антитело, (б) затем сигнал преобразуется либо электрохимическим, термометрическим, оптическим, либо пьезоэлектрическим способом, и (с) формируется электрический сигнал, который может отображаться на цифровом дисплее.

Принцип работы иммуносенсора основан на твердофазном иммуноанализе, где на твердую поверхность иммобилизируется антиген или антитело [20].

Иммуносенсоры могут быть как прямыми, так и косвенными, что означает, что механизм обнаружения работает либо непосредственно через взаимодействие антиген-антитело, либо для определения того, произошло ли связывание, используется дополнительная метка, такая как фермент или флуоресцентная молекула [19].

1.2.2 Определяемые компоненты в иммуносенсорном анализе

При разработке высокочувствительных и селективных электрохимических сенсоров используются различные биологические агенты, такие как: антитела, ферменты, антигены, фрагменты антител, клеточные рецепторы, нуклеиновые кислоты [21].

За счет высокой специфичности связывания антиген-антитело наиболее широкое распространение среди определяемых компонентов в иммуноанализе занимает антитела (иммуноглобулины), которые продуцируются организмом во время иммунного ответа на соответствующий антиген [22].

Известно несколько классов иммуноглобулинов в зависимости от структурных особенностей и антигенных свойств: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. Среди них наибольшее применение нашли иммуноглобулины класс G (IgG). В основе IgG лежит способность связывать гены за счет двух Fab-фрагментов и Fc-фрагмента, который отвечает за эффекторную функцию антител [23]. Схематическое отображение строения IgG представлено на рисунке 5.

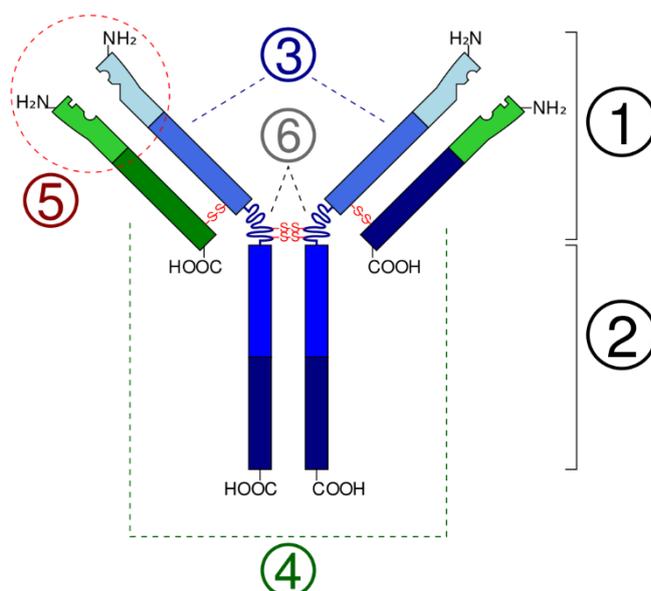


Рисунок 5 – Схематическое изображение структуры молекулы IgG

1 – фрагмент Fab, 2 – фрагмент Fc, 3 – тяжелые цепи, 4 – легкие цепи, 5 – антигенсвязывающие участки, 6 – шарнирные участки

Несмотря на то, что в структуре молекулы присутствует окислительно-восстановительная группа, которая может выступать в качестве сигналообразующего элемента, чаще всего она электрохимически неактивна. Поэтому прибегают к использованию антител в качестве основы для сигналообразующих меток с образованием биоконъюгатов, которые эффективно используются в современном иммуноанализе [24]. Основной причиной потери активности антитела является их чувствительны к изменению температурной среды, а также возможные взаимодействия с сигналообразующей меткой приводящие к денатурации антитела, отсюда возникает необходимость в контроле методов модификации (конъюгирования) и иммобилизации их на твердой поверхности [25]. В качестве такой поверхности при проведении иммуноанализа может выступать электрод или 96 луночный полистироловый планшет или другие платформы способные к сорбции белка.

1.2.3 Сигналообразующие ферментатные метки

На настоящий момент существует множество статей посвящённых разработке биосенсоров на основе ферментных меток. Такой интерес вызван тем, что ферменты являются специфичными и чувствительными реагентами по отношению к широкому кругу субстратов. Большинство работ основано на применении таких ферментов, как пероксидаза [26], глюкозооксидаза [27], щелочная фосфатаза [28], и эстераза [29].

Наиболее широкое распространение получили амперометрические и вольтамперометрические иммуносенсоры с ферментативной меткой, такой как пероксидаза хрена [30]. В данном случае аналитический сигнал может быть получен с помощью прямого переноса электронов фермента как показано на рисунке 6. Однако использование в качестве метки пероксидазы хрена ограничивает выбор детекции до амерометрии [31].

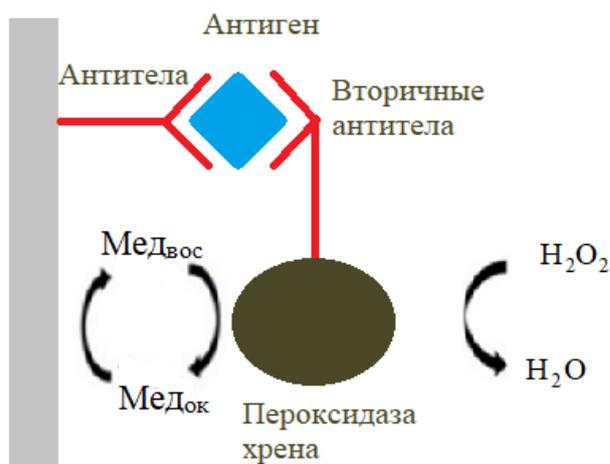


Рисунок 6 – Схематичное отображение механизма действия электрохимического иммуносенсора на основе ферментной метки

Другой метод детекции представляет собой превращение электронеактивного субстрата в детектируемый электроактивный продукт (рисунок 7). К данному типу ферментных меток относится щелочная фосфатаза, однако ее применение ограничивает область анализа в определенном диапазоне рН [32].

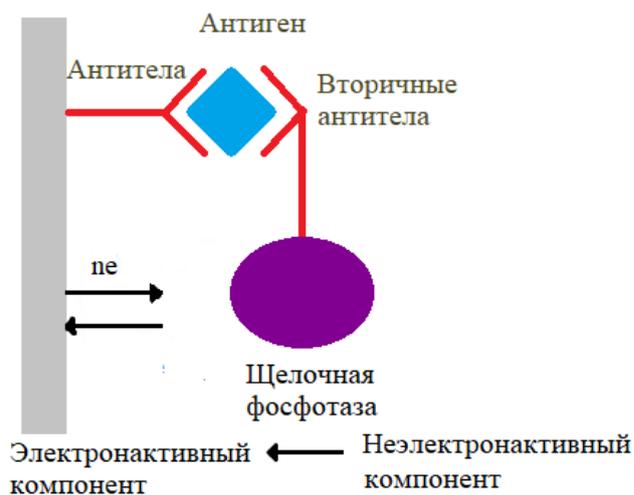


Рисунок 7 – Схематичное отображение механизма действия электрохимического иммуносенсора на основе ферментной метки

Последние десятилетия основное внимание исследователей было направлено на увеличение чувствительности анализа при применении ферментной метки в иммуносенсорах. Именно поэтому перспективным является использование антител с комбинированными ферментными метками [32] и вместе с тем недостатком данного подхода является существенное услаждение анализа за счет увеличения количества стадий [33-34].

Однако данные иммуносенсоры обладают рядом недостатков, которые присущи также ИФА: необходимость использования специальных дорогостоящих субстратов, обеспечивающих протекание сигналообразующей реакции, снижение активности ферментов, нестабильность ферментов, что приводит к необходимости периодической оценки их активности. Данные недостатки компенсируются за счет использования наноматериалов, а в особенности наночастиц благородных металлов.

1.2.4. Сигналообразующие металлические метки в электрохимических иммуносенсорах

Последние десятилетия в научном мире все больше встречаются публикации, где автор прибегает к использованию в биосенсорах в качестве сигналообразующей метки – наночастицы (НЧ) благородных металлов. Интерес к использованию НЧ металлов в электрохимическом иммуноанализе обусловлен рядом уникальных свойств, таких как большая площадь поверхности, возможность управлять формой и размерами частиц, способность к связыванию с молекулами биологической природы, электрохимические свойства, а также их физическая и химическая устойчивость [35]. Применение НЧ продемонстрировало исключительные результаты в разработке довольно простых, надежных и легких иммуноанализов [36].

Одни из широко применяемых методов количественного определения НЧ металлов в качестве сигналообразующих меток является их химическое растворение в растворах кислот с последующим переносом содержимого в

электрохимическую ячейку и концентрированием ионов металла на поверхности электрода методом инверсионной вольтамперометрией. Именно благодаря электрохимическому концентрированию иона металла, возможно, достичь меньший предел обнаружения [37].

Так в работе автора [38] в качестве сигналообразующей метки использовали специфические биоконъюгаты $Ab@NCuAg$, меченные коллоидным серебром. Для переноса серебра из лунок полистиролового планшета в электрохимическую ячейку использовался раствор азотной кислоты, который способствовал растворению серебра, что облегчало процедуру переноса Ag^+ в электрохимическую ячейку.

На сегодняшний день известно четыре основных формата иммуноанализа: прямой, прямой «сэндвич», непрямой и непрямой «сэндвич», но наибольшее распространение для определения антител получили последние два формата. На рисунке 8 представлена схема электрохимического иммуносенсора формата «сэндвич» и непрямого неконкурентного для определения антигена, с последующей регистрацией сигнала от НЧ, выступающих в качестве сигналообразующих меток.

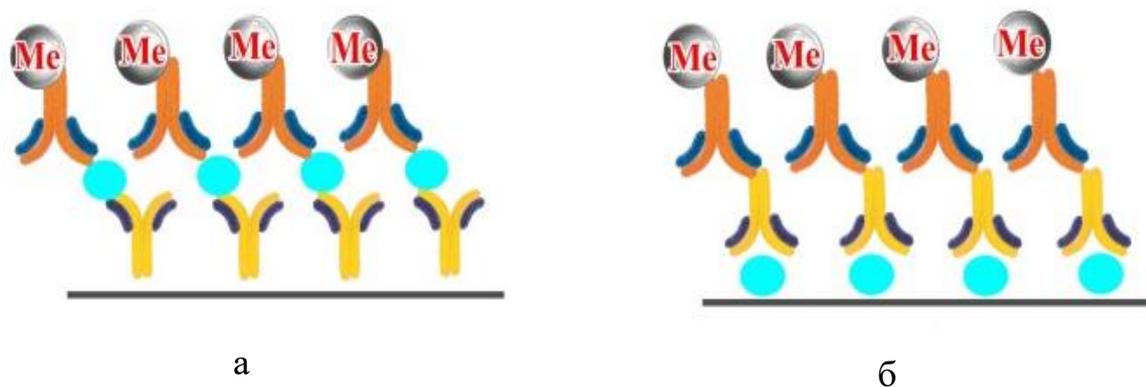


Рисунок 8 – Вид сборки электрохимического иммуносенсора формата «сэндвич» (а) и непрямого неконкурентного иммуноанализа (б), где в качестве сигналообразующей метки используют НЧ металла [38]

Большинство публикаций, посвященных электрохимическому обнаружению биомолекул, используют наночастицы золота [39-41], что свидетельствует о повышенном интересе к созданию электрохимических иммуносенсоров на основе этого металла.

1.2.4.1 Наночастицы золота, как сигналообразующие метки в электрохимических иммуносенсорах

Повышение чувствительности системы, использования малых объёмов анализируемых компонентов, сокращение времени и автоматизация процедур анализа причины, по которым создание электрохимических иммуносенсоров привлекает все большее внимание. Также развитие новых наноматериалов, таких как наночастицы, а в особенности НЧ золота представляет особый интерес для исследователей в области электрохимии, поскольку они обладают высокой проводимостью и электрохимической активностью, а методы их синтеза относительно просты.

Наиболее используемый метод синтез НЧ состоит в химическом восстановлении солей золота (таких как HAuCl_4) от Au^{3+} до Au^0 с последующим образованием зародышей и ростом восстановленного металлического золота в НЧ определенных размеров и форм [42]. Размеры и форма НЧ зависят от концентрации восстановителя, концентрации соли золота, температуры реакции, pH и времени. Типичный синтез НЧ представлен на рисунке 9.

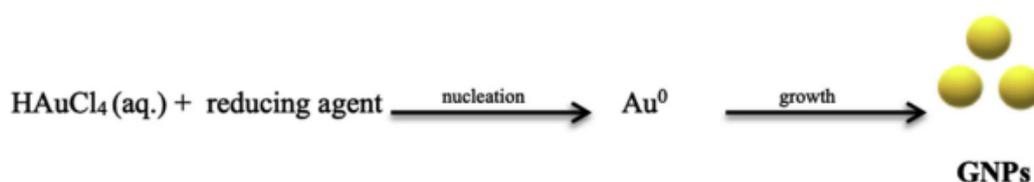


Рисунок 9 – Синтез наночастиц

Один из наиболее известных методов синтеза НЧ Au – синтез по Френсу, где в качестве восстановителя используется цитрат натрия, который также выступает как стабилизатор заряжающий золь отрицательным зарядом [43].

Данный способ позволяет синтезировать коллоидные НЧ Au с высокой монодисперсностью. На рисунке 10 представлена схема синтеза НЧ Au по методу Френса.

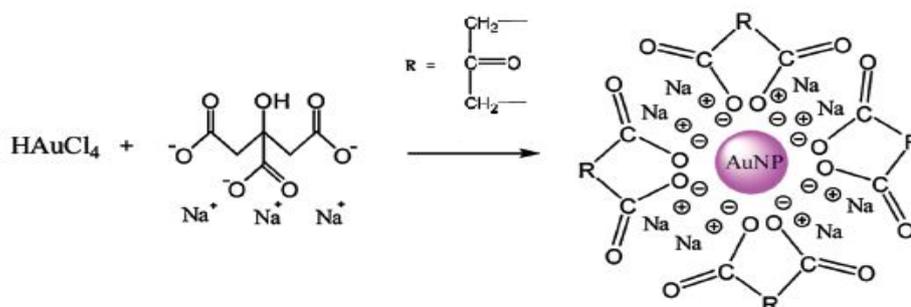


Рисунок 10 – Схема синтеза НЧ Au по методу Френса

Современные и чувствительные системы совместно с антителами и наночастиц золота в качестве метки позволяют определять IgG методом инверсионной вольтамерометрией в низком диапазоне концентраций порядка 10^{-12} М. Такой предел обнаружения позволяет электрохимическим иммуносерсорам с металлическими метками конкурировать с колориметрическим ИФА.

1.3 Основные сведения о биоконъюгатах

Образование биоконъюгатов основано на связывании нескольких молекул с образованием нового комплекса, который включает в себя основные свойства отдельных молекул. Благодаря такой способности белок может быть связан с другой молекулой, которую можно определить с помощью следового конъюгата [44]. Создание новых конъюгатов со специфическими свойствами позволило определять различные компоненты в малых концентрациях. Большая часть биологических анализов стала возможна благодаря применению конъюгатов с их уникальными способностями взаимодействовать с определенными аналитами в сложных смесях, на основе этого активно

развивается область биоконъюгатной химии [45]. При разработке электрохимических высокочувствительных и селективных биосенсоров важным этапом является получение конъюгатов, состоящих из элемента обнаружения – антитела и сигналообразующей метки, в качестве которой могут выступать наночастицы металлов. Биоконъюгаты на основе наночастиц можно получить путем нековалентного связывания (рисунок 11).

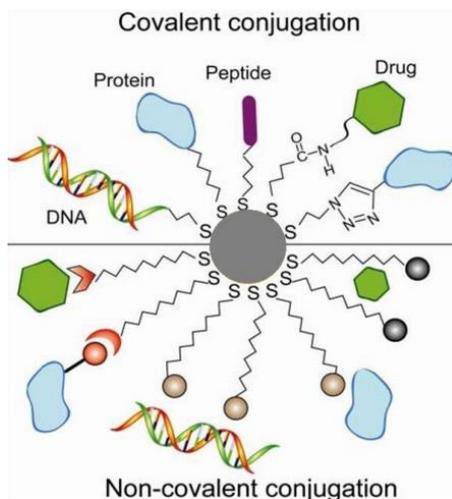


Рисунок 11 – Механизмы конъюгирования

1.3.1 Нековалентная конъюгация

Наиболее легким механизмом связывания НЧ металлов с антителами является нековалентное биоконъюгирование (физическая адсорбция) основанное на Ван-дер-Вальсовых силах или силах притяжения, электростатических, водородных и гидрофобных взаимодействиях [46]. Данный механизм основан на физической абсорбции без между НЧ и антителами путем прямого смешения нескольких компонентов. Метод нековалентного связывания показан авторами [47], которые успешно применили метод физической адсорбции на моноклональных антителах, иммобилизованных на поверхности НЧ Au без использования химических модификаторов. Данные конъюгаты применялись в качестве сигналообразующей метки в иммуносенсорах на антитела к хорионическому гонадотропину (ХГЧ) и простатспецифического антигена

(ПСА) в сыворотке крови человека. Существует множество работ, посвящённых получению биоконъюгатов методами физической адсорбции [48-50], где в протоколе используются методы биоконъюгации на гидрофобных и электростатических взаимодействиях между НЧ металлов и антителами. При разработке электрохимических иммуносенсоров данные биоконъюгаты могут иметь широкий спектр применения.

Нековалентное взаимодействие разнозаряженных НЧ с антителами за счет электростатического притяжения представлено на рисунке 12.

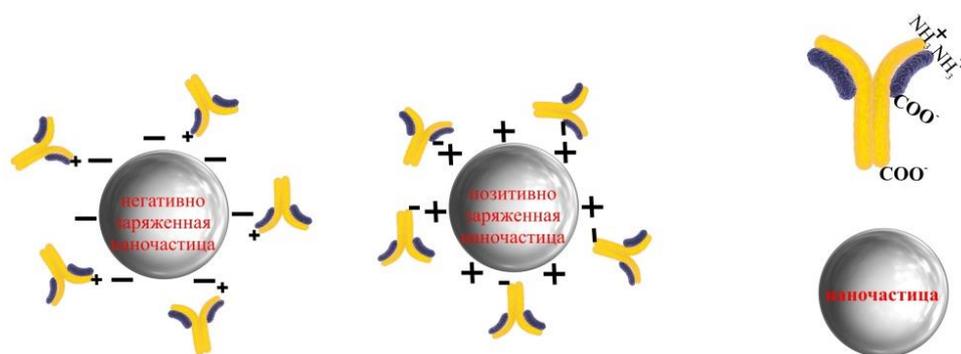


Рисунок 12 – Нековалентное взаимодействие антитело-наночастица [38]

За счет того, что поверхность НЧ заряжена происходит взаимодействие с антителами. Данное взаимодействие чувствительно к изменению рН [51], которое вызывает отщепление антител с поверхности НЧ, поэтому важно поддерживать рН в заданном диапазоне значений.

Среди возможных недостатков применения нековалентного механизма при получении биоконъюгатов является возможность потери конъюгатом биологической активности при длительном взаимодействии с липофильными наночастицами, а также изменении формы антител за счет гидрофобных взаимодействий, что приводит к денатурации [52]. Несмотря на недостатки нековалентный механизм получения биоконъюгатов успешно реализуется за счет простоты протоколов синтеза и минимальных затрат на химические реактивы.

1.3.2 Биоконъюгаты на основе наночастиц металлов

Ряд уникальных физико-химических свойств делают наночастицы благородных металлов привлекательными для их использования в биовизуализации и маркировки [53]

Биомолекула конъюгированная с НЧ металлов (Au, Ag, Pt) может выступать основой для синтеза новых комплексов с уникальным набором характеристик, который зависит от вида субстрата и вида наночастиц [54]. Возможность применения наночастиц металлов в качестве сигналообразующей метки обусловлено высокой площадью поверхности, благодаря которой наночастицы проявляют высокую транспортную способность [55]. Высокая стабильность, биосовместимость и низкая цитотоксичность позволило использовать наночастицы для адресной доставки в клетки и органы. Так биоконъюгаты на основе наночастиц металла могут быть использованы в диагностике раковых заболеваний [56]. Металл-метки в биоконъюгатах позволяют проводить диагностику на ранних этапах течения болезни.

2 Оборудование и методы исследования

2.1 Оборудование, материалы, реактивы

При выполнении научно-исследовательской работы были задействованы следующие позиции:

Оборудование:

- Потенциостат/ гальваностат PalmSens4;
- 1-канальный дозатор, объемом 10-100 мкл;
- 1-канальный дозатор, объемом 100-1000 мкл;
- Шейкер BioShake IQ (Q.Instruments, Германия);
- Нагревательная плитка с магнитной мешалкой PL-R-steps-H (Primelab, Россия);
- аналитические весы (1-й класс точности, Россия).

Материалы:

- Наконечники на дозатор;
- эппендорф 2 см³;
- луночный полистироловый планшет;
- мерные колбы: 50 и 100 см³;
- электротехническая медь;
- медный скотч;
- химический стаканы на 50 см³.

Реактивы:

- Дистиллированная вода, ГОСТ 6709-72;
- Углеродная сажа;
- Полистирол;
- 1,2-дихлорэтан (C₄H₄Cl₂), ГОСТ 1942-86;
- Стандартный раствор золота 1 % (HAuCl₄·3H₂O), ГОСТ 6835-2002;
- Цитрат натрия (Na₃C₆H₅O₇), ГОСТ 31227-2004;

- Нитрат ртути (I) ($\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), ГОСТ 4521-78;
- Метол (параметиламинофенолсульфат, $(\text{C}_7\text{H}_{10}\text{NO})_2\text{SO}_4$), ГОСТ 25664-83;
- Хлорид калия (KCl), ГОСТ 4233-77;
- Нитрат калия (KNO_3), ГОСТ 4217-77;
- Азотная кислота (HNO_3), ГОСТ 4461-77;
- Серная кислота (H_2SO_4), ГОСТ 4204-77.

Перед началом проведения научно-исследовательской работы необходимо удостовериться в чистоте оборудования, посуды и материалов поскольку вольтамерометрический метод анализа чувствителен к малейшим загрязнениям. Для проверки системы на чистоту перед каждой регистрацией необходимо провести «холостой опыт» с применением фонового электролита. По отсутствию посторонних пиков на вольтамограмме можно судить о электрохимической чистоте.

2.2 Методика эксперимента

2.2.1 Методика приготовления токопроводящих углеродных чернил

В качестве электропроводящего материала использовались углеродные чернила, методика приготовления которых заключалась в создании смеси из навесок $(0,180 \pm 0,005)$ г углеродной сажи и $(0,020 \pm 0,005)$ г полистирола с последующим растворением в $0,5 \text{ см}^3$ 1,2-дихлорэтана в эппендорфе объёмом 2 см^3 .

2.2.2 Методика создания и тестирования электропроводящих свойств лунок полистиролового планшета

Создание электропроводящих ячеек:

1. Основой для создания токопроводящих ячеек служил 96 луночный полистироловый планшет, в лунках которого были просверлены микроотверстия. В качестве контакта применялась электротехническая медь, используемая для изготовления кабелей и проводов, которая закреплялась в микроотверстиях с помощью медного скотча.

2. В подготовленные ранее лунки планшета вносили углеродные чернила. Для предотвращения образования воздушных полостей, препятствующих передачи тока, углеродные чернила вносили пятикратно по 50 мкл при разовом нанесении, для дополнительной дегазации планшет помещался в шейкер BioShake IQ на 10 минут при каждом внесении. Каждый слой просушивали при комнатной температуре под тягой не менее 5 часов.

Наглядное изображение электрохимической ячейки луночного полистиролового планшета представлена на рисунке 13.

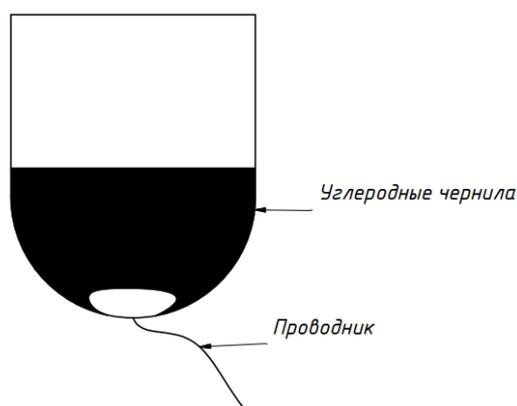


Рисунок 13 – Электрохимическая ячейка

В качестве рабочего электрода использовали углеродные чернила, а вспомогательным электродом и электродом сравнения служила платина и хлоридсеребрянный электрод соответственно. С целью использования лунок титровального планшета в качестве электрохимических ячеек необходимым

этапом было регистрация фоновых токов электролита KNO_3 и HNO_3 с концентрацией $0,1 \text{ моль/дм}^3$ в соотношении 1:1. В качестве отрицательного контроля использовались лунки, в которых отсутствовал электрохимический сигнал от продуктов электролиза токоёмного медного контакта. Тестирование электрохимических ячеек проводилось на анализаторе PalmSens4 с подключенными к нему электродами методом ЦВА. Электрохимические условия регистрации вольтамерограмм фонового электролита в диапазоне потенциалов от $-0,5$ до $+1,8 \text{ В}$, скорость развертки потенциала 40 мВ/с .

Для фиксации электродов с статическом положении применялась модель держатель вспомогательного электрода и электрода сравнения специально разработанная и выполненная под нужды научно-исследовательского проекта. Модель реализована с помощью 3D принтера DEXP T220S, материал АБС-пластик (рисунок 14).

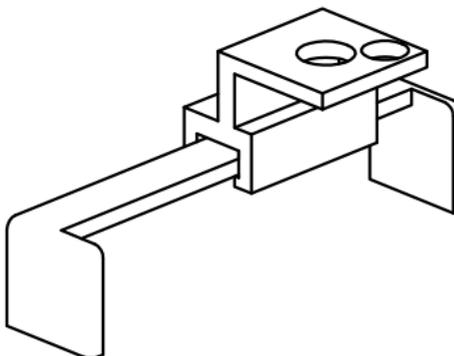


Рисунок 14 – Держатель для электродов

2.2.3 Методика синтеза наночастиц золота

Синтез наночастиц золота осуществлялся по методу Френса [43], путем восстановления НЧ Au из 1 % стандартного раствора золота цитратом натрия.

Первый этап. Приготовили 0,01 % раствора $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ путем разбавления 1 % стандартного раствора золота.

Второй этап. Приготовили 1 % раствора цитрата натрия путем растворения навески массой 0,1 г в 10 мл дистиллированной воды в пенициллиновом флаконе с резиновой пробкой объемом 20 мл.

Третий этап. Синтез наночастиц золота. Приготовленный ранее 0,01 % раствор $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ довели до закипания при постоянном перемешивании с помощью магнитной мешалки. После закипания при постоянном перемешивании по каплям вводили 1 % раствор цитрата натрия в объеме 400 мкл до формирования золя с характерным оранжевым цветом (частицы размером $16,0 \div 24,5$ нм). После формирования золя раствор оставляется перемешиваться в течение 5 ± 1 минут. Синтезированный раствор с НЧ Au необходимо хранить в темном месте.

2.2.4 Методика тестирования электропроводящих свойств лунок полистиролового планшета модифицированных НЧ Au

В качестве модификатора углеродной поверхности электрохимических ячеек выбрали НЧ Au синтезированные по методу Френса. На поверхность рабочего электрода при помощи 1-канального дозатора наносили НЧ Au в объеме 50 мкл и выдерживали до полного высыхания капли на поверхности (около 8 часов).

В электрохимическую ячейку помещали вспомогательный хлоридсеребряный электрод и электродом сравнения – платина. В качестве рабочего электрода выступала поверхность углеродных чернил. Для регистрации сигнала в электрохимическую ячейку вносили фоновый электролит H_2SO_4 с концентрацией 0,05 моль/дм³, который позволяет зарегистрировать окислительно-восстановительные сигналы от оксида золота смешанного состава (Au_xO_y) методом ЦВА. Тестирование электрохимических ячеек проводили на анализаторе PalmSens4 с подключенными к нему электродами методом циклической вольтамперометрии. Электрохимические условия регистрации

вольтамперных кривых в диапазоне потенциалов от -0,75 до +1,8 В, скорость развертки потенциала 40 мВ/с.

2.2.5 Методика химического восстановления ртути (I) на НЧ Au и тестирования лунок полистиролового планшета

После модификации поверхности проводили каталитическое восстановление ртути на НЧ Au для усиления сигнала при последующей регистрации белковых соединений.

Методика заключалась в химическом восстановлении до металлической ртути органическим восстановителем метолом концентрацией 1 мг/мл. В лунки планшета вносили 1:1 нитрат ртути(I) и метол. Время проявления составило 5 ± 1 минут. Далее производили однократную промывку электрохимических ячеек дистиллированной водой.

В электрохимическую ячейку помещали вспомогательный хлоридсеребрянный электрод и электродом сравнения – платина. В качестве рабочего электрода выступала поверхность углеродных чернил. Для регистрации сигнала хлорида ртути в электрохимическую ячейку вносили фоновый электролит ($0,1 \text{ моль/дм}^3 \text{ HNO}_3 + 0,1 \text{ моль/дм}^3 \text{ KCl}$, в соотношении 1:1). Тестирование электрохимических ячеек проводилось на анализаторе PalmSens4 с подключенными к нему электродами методом ЦВА. Электрохимические условия регистрации вольтамограмм в диапазоне потенциалов от -0,1 до +0,4 В со скоростью 40 мВ/с, предварительно на этапе накопления при потенциале -0,6 В ртуть концентрировалась на поверхности электрода 60 с.

2.2.6 Методика разработки электрохимической иммуносенсорной тест-системы

Этапы разработки электрохимической иммуносенсорной тест-системы заключались в модификации ячеек планшета специфичным стафилококковым белком А (SpA), который был иммобилизован на поверхности углеродных чернил в объеме 50 мкл. Время инкубации ячеек составило 12 часов при температуре $4 \div 5$ °С. Затем лунки планшета однократно промыли 100 мкл дистиллированной водой для удаления избытка SpA.

После иммобилизации SpA на поверхность электрода наносили IgG в объеме 50 мкл, которые инкубировали при 4 °С в течении 12 часов. Для удаления избытка IgG лунки планшета однократно промыли 100 мкл дистиллированной водой.

Следующим этапом в разработке иммуносенсора являлось внесение биоконъюгатов маркированных НЧ Au (AuSpA, Sigma-Aldrich, США) в объеме 50 мкл, инкубация которых проходила при 4 °С в течении 12 часов. Для удаления избытка AuSpA лунки планшета однократно промыли 100 мкл дистиллированной водой.

Поскольку регистрация электрохимического отклика от золотой метки при работе с белковыми компонентами затруднена провели химическое восстановление ртути из 50 мкл 0,1 % раствора $Hg_2(NO_3)_2$ в 1 моль/дм³ HNO_3 органическим восстановителем метолом концентрацией 1 мг/мл в соотношении 1:1. Время восстановления ртути из ее соединения составило 5 минут с последующей однократной промывкой лунок 100 мкл дистиллированной водой.

Наглядная схема сборки электрохимической иммуносенсорной тест-системы представлена на рисунке 15.

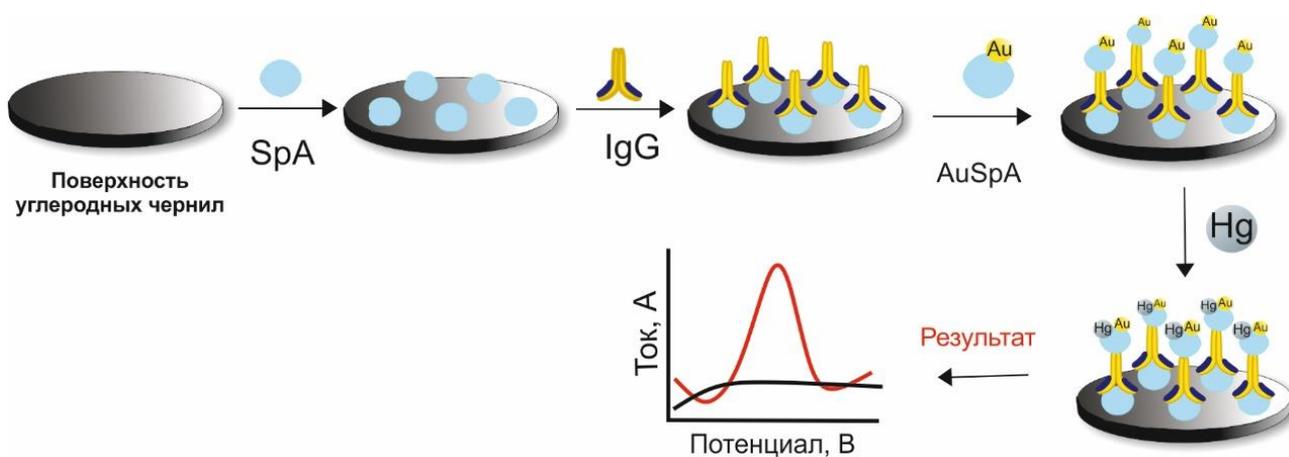


Рисунок 15 – Схематичное представление сборки электрохимического иммуносенсора в лунках титровального планшета

2.2.7 Методика определения антител вольтамерометрическим методом

В лунку электрохимической иммуносенсорной тест-системы, на поверхности которой образован комплекс антиген-антитело помещали вспомогательный хлоридсеребряный электрод и электродом сравнения – платина. В качестве рабочего электрода выступала поверхность углеродных чернил. Для регистрации сигнала в электрохимическую ячейку вносили фоновый электролит (0,1 моль/дм³ HNO₃ + 0,1 моль/дм³ KCl, в соотношении 1:1). Тестирование электрохимических ячеек проводилось на анализаторе PalmSens4 с подключенными к нему электродами методом ЦВА. Электрохимические условия регистрации вольтамерограмм: этап накопления при потенциале -0,6 В и времени 60 с в виде Hg₂Cl₂ на НЧ Au биоконъюгата, с последующей регистрацией вольтаперометрического сигнала окисления Hg₂Cl₂ в диапазоне потенциалов от -0,1 до +0,8 В со скоростью 40 мВ/с.

4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

На сегодняшний день ИФА, в основе которого лежит специфическая реакция «антиген-антитело», является одним из наиболее распространённых методов диагностики вирусных и инфекционных заболеваний. Повышение чувствительности и специфичности для определения иммуноглобулинов в тест-системе может быть достигнута применением ферментов в качестве метки. Несмотря на это, главный недостаток биологических меток – их восприимчивость к условиям хранения, и как следствие периодическая необходимость подтверждения их активности.

В последнее время актуальным является разработка электрохимических иммуносенсоров на основе металлических меток за счет их уникальных электрохимических свойств.

Целью данной работы разработка электрохимической иммуносенсорной тест-системы на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил.

На сегодняшний день основной критерий успешности научного открытия – коммерческая ценность разработки на рынке, которая является необходимым условием при поиске источников финансирования для проведения научного исследования и коммерциализации его результатов.

В данном разделе будет произведена оценка всех технико-экономических факторов каждой стадии проектирования, востребованности рынком продукта, его цены, бюджета научного проекта, а также срока, который потребует для выхода продукта на рынок. Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения исследования является основной целью раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение».

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

4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Целевыми потенциальными потребителями результатов разработанной электрохимической иммуносенсорной тест-системы на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил являются различные клинические лаборатории, диагностические центры, фармацевтические компании, занимающиеся производством вакцин, предприятия, связанные с биосенсорами. В таблице 2 приведена карта сегментирования рынка.

Таблица 2 – Карта сегментирования рынка

Критерий	Электрохимическая тест-система	Твердофазный ИФА
Размер бизнеса		
Крупный		
Средний		
Мелкий		
Отношение к продукту		
Доверяют		
Не доверяют		
Цена		
Высокая		
Средняя		
Низкая		

4.1.2 Анализ конкурентных технических решений

Постоянное движение рынка вынуждает систематически проводить детальный анализ конкурирующих разработок, существующих на рынке. На основании этого можно вносить коррективы в научное исследование, чтобы успешнее противостоять своим конкурентам.

Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения позволяет провести оценку сравнительной эффективности научной разработки и определить направления для ее будущего повышения. Так как разработанная электрохимическая тест-система на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил будет использованная в качестве биосенсора, то целесообразно проводить анализ конкурентных технических решений в области действующих биосенсоров. Данный анализ произведен с помощью оценочной карты, которая приведена в таблице 3.

Где:

- объект исследования: электрохимическая иммуносенсорная тест-системы на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил;
- конкурент: твердофазный ИФА.

Таблица 3 – Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы		Конкурентоспособность	
		Б _ф	Б _{к1}	К _ф	К _{к1}
1	2	3	4	6	7
Технические критерии оценки ресурсоэффективности					
1. Чувствительность	0,2	5	5	1	1
2. Простота применения	0,1	5	3	0,5	0,3
3. Стабильность реагентов	0,1	5	2	0,5	0,2
4. Простота аппаратного оформления	0,1	5	3	0,4	0,3
5. Безопасность для человека и окружающей среды	0,1	4	4	0,4	0,4
Экономические критерии оценки эффективности					
6. Срок эксплуатации	0,2	3	3	0,6	0,6
7. Стоимость оборудования	0,2	4	2	0,8	0,4
Итого	1	31	24	4,2	3,2

Из таблицы 3 видно, разработка показывает хорошую конкурентоспособность, особенно по стабильности реагентов, простоте аппаратурного оформления и применении, а также стоимости оборудования.

4.1.3 SWOT-анализ

SWOT – Strengths (сильные стороны), Weaknesses (слабые стороны), Opportunities (возможности) и Threats (угрозы) – представляет собой комплексный анализ научно-исследовательского проекта. SWOT-анализ применяют для исследования внешней и внутренней среды проекта.

На начальном этапе происходит описание сильных и слабых сторон проекта, выявление возможностей и угроз для реализации проекта, которые проявились или могут появиться в его внешней среде. Результаты данного этапа SWOT-анализа представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Первый этап SWOT-анализа

	<p>Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1. Простота эксплуатации оборудования; С2. Высокая специфичность; С3. Высокая чувствительность оборудования; С4. Устойчивость реагентов; С5. Низкая стоимость оборудования.</p>	<p>Слабые стороны научно-исследовательского проекта: Сл1. Высокий процент отбраковки лунок планшета; Сл2. Отсутствие стандартов и правил; Сл3. Окисление токопроводящего контакта.</p>
<p>Возможности: В1. Использование инновационной инфраструктуры ТПУ В2. Использование разработки в промышленных масштабах; В3. Повышение стоимости конкурентных разработок</p>		

Продолжение таблицы 4

<p>Угрозы: У1. Отсутствие спроса на разработанный биосенсор У2. Развитая конкуренция технологий производства У3. Ограничения на экспорт технологии У4. Политические ограничения</p>		
--	--	--

Второй этап SWOT-анализа состоит в выявлении соответствия сильных и слабых сторон научно-исследовательского проекта внешним условиям окружающей среды. Этот этап позволит выявить степень необходимости проведения стратегических изменений.

Для этого необходимо построить интерактивные матрицы проекта. Их использование помогает разобраться с различными комбинациями взаимосвязей областей матрицы SWOT. Интерактивные матрицы представлены в таблицах 5-8.

Таблица 5 – Интерактивная матрица проекта «Сильные стороны и возможности»

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

Таблица 6 – Интерактивная матрица проекта «Слабые стороны и возможности»

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

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

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

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

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

Таким образом, в рамках третьего этапа составлена итоговая матрица SWOT-анализа и представлена в таблице 9.

Таблица 9 – Итоговая матрица SWOT-анализа

	<p>Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1. Простота эксплуатации оборудования; С2. Высокая специфичность; С3. Высокая чувствительность оборудования; С4. Устойчивость реагентов; С5. Низкая стоимость оборудования.</p>	<p>Слабые стороны научно-исследовательского проекта: Сл1. Высокий процент отбраковки лунок планшета; Сл2. Отсутствие стандартов и правил; Сл3. Окисление токопроводящего контакта.</p>
<p>Возможности: В1. Использование инновационной инфраструктуры ТПУ В2. Использование в промышленных масштабах; В3. Повышение стоимости конкурентных разработок</p>	<p>Уникальные свойства разработки позволят ей занять лидирующие позиции на рынке. Разработанный биосенсор за счет своих сильных сторон может быть использован как в фармацевтической промышленности, так и в клинических лабораториях.</p>	<p>Привлечение сторонних источников финансирования и оборудования, которые позволят более тщательно исследовать свойства материалов и исключить недостатки разработки.</p>

Продолжение таблицы 9

<p>Угрозы: У1. Отсутствие спроса на разработанный биосенсор У2. Развитая конкуренция технологий производства У3. Ограничения на экспорт технологии У4. Политические ограничения</p>	<p>Продвижение исследования с целью создания спроса. Нарботка и укрепление конкурентных преимуществ использования нового биосенсора. Организация финансового обеспечения научного исследования.</p>	<p>Проведение дополнительных исследований с привлечением сторонних специалистов позволит доработать проект и исключить факторы, связанные с недостатками разработанного планшета.</p>
--	---	---

Анализ интерактивной матрицы показал, что необходимо уделить больше внимания сильным сторонам проекта поскольку они сходятся с большей частью возможностей. Анализ слабых сторон проекта показал, что необходимо приложить усилия для усовершенствования функциональной составляющей тест-системы, потому что, исходя из интерактивной матрицы, эти слабости соответствуют большему числу угроз.

4.2 Планирование научно-исследовательских работ

4.2.1 Структура работ в рамках научного исследования

Для выполнения научных исследований формируется рабочая группа, в состав которой входят: бакалавр и научный руководитель. После определения рабочей группы составляется перечень этапов и работ в рамках проведения научного исследования и проведем распределение исполнителей по видам работ.

Примерный порядок составления этапов и работ, распределение исполнителей по данным видам работ приведен в таблице 10.

Таблица 10 – Перечень этапов, работ и распределение исполнителей

Основные этапы	№ раб	Содержание работ	Должность исполнителя
1	2	3	4
Разработка технического задания	1	Составление и утверждение технического задания	Научный руководитель, бакалавр
Выбор направления исследований	2	Подбор и изучение материалов по теме	Научный руководитель, бакалавр,
Теоретические и экспериментальные исследования	3	Ознакомление с экспериментальными данными и выбор направления исследований	Научный руководитель, бакалавр
	4	Календарное планирование работ по теме	Научный руководитель, бакалавр
	5	Проведение лабораторных анализов	Бакалавр
	6	Проведение расчетов и обоснование на основании экспериментальных данных	Бакалавр
	7	Сопоставление результатов с теоретическими исследованиями	Научный руководитель, бакалавр
Обобщение и оценка результатов	8	Оценка эффективности полученных результатов	Научный руководитель, бакалавр
	9	Определение целесообразности проведения исследования	Научный руководитель, Бакалавр
Проведение ВКР			
Разработка технической документации и проектирование	10	Разработка электрохимической тест-системы на основе луночного планшета и углеродных чернил	Научный руководитель, Бакалавр
	11	Получение опытных образцов	Бакалавр
	12	Лабораторные испытания опытных образцов	Бакалавр
Оформление комплекта документации по ВКР	13	Составление пояснительной записки	Бакалавр

4.2.2 Определение трудоемкости выполнения работ

Для определения ожидаемого (среднего) значения трудоемкости $t_{ожі}$ используется формула:

$$t_{ожі} = \frac{3t_{mini} + 2t_{maxi}}{5} \quad (1)$$

Где:

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

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

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

Исходя из ожидаемой трудоемкости работ, определяется продолжительность каждой работы в рабочих днях T_p , учитывающая параллельность выполнения работ несколькими исполнителями по формуле:

$$T_{pi} = \frac{t_{ожі}}{Ч_i} \quad (2)$$

Где:

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

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

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

Результаты расчётов представлены в таблице 10.

4.2.3 Разработка графика проведения научного исследования

При выполнении дипломных работ студенты в основном становятся участниками сравнительно небольших по объему научных работ, поэтому наиболее удобным и наглядным является построение ленточного графика проведения работ в форме диаграммы Ганта

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

Для удобства построения графика длительность каждого этапа работ из рабочих дней следует перевести в календарные дни по следующей формуле:

$$T_{ki} = T_{pi} \cdot k_{\text{кал}} \quad (3)$$

Где:

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

T_{pi} – продолжительность выполнения i -й работы в рабочих днях;

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

В свою очередь коэффициент календарности определяется по формуле:

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{T_{\text{кал}} - T_{\text{вых}} - T_{\text{пр}}} \quad (4)$$

Где:

$T_{\text{кал}}$ – количество календарных дней в году;

$T_{\text{вых}}$ – количество выходных дней в году;

$T_{\text{пр}}$ – количество праздничных дней в году.

Количество календарных дней для 2021-2022 учебного года составит 365, из них количество выходных и праздничных дней примем 52 и 14 соответственно. Исходя из этого коэффициент календарности составит:

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{T_{\text{кал}} - T_{\text{вых}} - T_{\text{пр}}} = \frac{365}{365 - 52 - 14} = 1,22.$$

Календарный план-график проведения НИР по разработке электрохимической иммуносенсорной тест-системы представлен в таблице 11.

Таблица 11 – Временные показатели проведения научного исследования:

Р – научный руководитель; Б – бакалавр

№	Название работ	Трудоемкость работ			Исполнитель	T _{рi} , раб. дни	T _{кi} , кал. дни
		t _{min} , чел- дни	t _{max} , чел- дни	t _{ожi} , чел- дни			
1	Составление и утверждение технического задания	1	2	1,4	Р	1,4	2
		1	2	1,4	Б	1,4	2
2	Ознакомление с экспериментальными данными и выбор направления исследований	3	5	3,8	Р	3,8	5
		6	8	6,8	Б	6,8	8
3	Подбор и ознакомление с материалами по теме	3	5	3,8	Р	3,8	5
		6	9	7,2	Б	7,2	9
4	Календарное планирование работ по теме	1	3	1,8	Р	1,8	3
		1	3	1,8	Б	1,8	3
5	Проведение лабораторных анализов	21	35	26,6	Б	26,6	32
6	Проведение расчетов и их обоснование на основании экспериментальных данных	3	4	3,4	Б	3,4	5
7	Сопоставление результатов с теоретическими исследованиями	2	3	2,4	Р	2,4	3
		2	9	4,8	Б	4,8	6
8	Оценка эффективности полученных результатов	2	4	2,8	Р	2,8	4
		4	7	5,2	Б	5,2	7
9	Определение целесообразности проведения ВКР	2	5	3,2	Р	3,2	4
		3	5	3,8	Б	3,8	5
10	Разработка электрохимической тест-системы на основе луночного планшета и углеродных чернил	5	7	5,8	Р	5,8	7
		5	7	5,8	Б	5,8	7
11	Получение опытных образцов	3	4	3,4	Р	3,4	4
		3	4	3,4	Б	3,4	4
12	Лабораторные испытания опытных образцов	1	2	1,4	Б	1,4	2
13	Составление пояснительной записки	25	30	27	Б	27	33
Итого:		Руководитель				29	37
		Бакалавр				99	120

Таблица 12 – Календарный план-график проведения научного исследования

Вид работы	Исполнители	Т _к , кал. дн	Продолжительность выполнения работ													
			февраль			март			апрель			май				
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
Составление и утверждение технического задания	Научный руководитель, бакалавр	2	■													
		2	■													
Ознакомление с экспериментальными и данными и выбор направления исследований	Научный руководитель, бакалавр	5	■													
		8	■													
Подбор и изучение материалов по теме	Научный руководитель, бакалавр	5		■												
		9		■												
Календарное планирование работ по теме	Научный руководитель, бакалавр	3			■											
		3			■											

Продолжение таблицы

Проведение лабораторных анализов	Бакалавр	32												
Проведение расчётов и их обоснование на основании экспериментальных данных	Бакалавр	5												
Сопоставление результатов с теоретическими исследованиями	Научный руководитель,	3												
	бакалавр	6												
Оценка эффективности полученных результатов	Научный руководитель,	4												
	бакалавр	7												

4.3 Бюджет научно-технического исследования (НТИ)

Бюджет затрат составляется с учетом проведения научно-исследовательской работы (НИР) за один год (365 дней). Затраты на НИР рассчитывается по следующим статьям калькуляции: материальные затраты; затраты на оборудование; основная заработная плата исполнителей темы; дополнительная заработная плата исполнителей темы; отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления); накладные расходы.

4.3.1 Расчет материальных затрат научно-технического исследования

Материальные затраты включают стоимость всех материалов, используемых при разработке проекта, в частности, сырье и материалы, покупные комплектующие изделия и полуфабрикаты, используемые в качестве объектов исследований (испытаний) и для эксплуатации, технического обслуживания и ремонта изделий – объектов испытаний (исследований). Материальные затраты на мерную посуду, материалы и реактивы для данного исследования представлены в таблице 12.

Расчёт материальных затрат осуществляется по формуле:

$$Z_M = (1 + k_T) \cdot \sum_{i=1}^m C_i \cdot N_{\text{расх}i} \quad (5)$$

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

$N_{\text{расх}i}$ – количество материальных ресурсов i -го вида, планируемых к использованию при выполнении научного исследования (шт., кг., м, м² и т.д.);

C_i – цена приобретения единицы i -го вида потребляемых материальных ресурсов (руб./шт., руб./кг., руб./м., руб./м² и т.д.);

k_T – коэффициент, учитывающий транспортно-заготовительные расходы.

Таблица 13 – Материальные затраты исследования

Наименование	Ед.изм.	Количество	Цена за ед., руб.	Сумма, руб.
Мерные колбы лабораторные стеклянные объёмом:	шт			
– 50 см ³ ;		3	200	600
– 100 см ³ ;		1	230	230
Стаканы лабораторные стеклянные объёмом:	шт			
– 50 см ³ ;		10	40	400
– 100 см ³ ;		2	50	100
– 250 см ³ .		2	70	140
Эппендорф 2 см ³	шт	30	12,7	380
Наконечники	шт	100	5,3	530
Углеродная сажа	кг	0,0036	25340	92
Луночный полистироловый планшет	шт	1	16214	16214
1,2-дихлорэтан	л	0,0192	15850	304
Золотохлористоводородная кислота	г	0,2	2000	400
Цитрат натрия	кг	0,005	7390	37
Метол	кг	0,007	16070	113
Нитрат ртути (I)	кг	0,001	12700	13
Пробирки химические	шт	8	20	160
Серная кислота	кг	0,1	500	50
Азотная кислота	кг	0,1	3700	370
Хлорид калия	кг	0,1	1030	103
Транспортные расходы (15%)				1012
Итого				23272

4.3.2 Расчет затрат на специальное оборудование для НТИ

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 14.

Таблица 14 – Затраты на оборудование

Наименование оборудования	Кол-во единиц, шт.	Цена единицы оборудования, руб.	Общая стоимость оборудования, руб.
Дистиллятор для приготовления воды очищенной (Россия, ЧЗБТ)	1	92 500	92 500
Вольтамперометрический анализатор PalmSens4	1	1 200 000	1 200 000
Весы аналитические ACCULAB ALC 210 (класс точности 0,0001г, Россия)	1	51 600	51 600
Дозатор 1-канального переменного объема 10-100 мкл (Россия)	1	10 500	10 500
Дозатор 1-канального переменного объема 100-1000 мкл (Россия)	1	11 800	11 800
Итого			1 366 400

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 15.

Таблица 15 – Расчет затрат по статье «Амортизация оборудования»

Наименования оборудования	Цена оборудования, руб.	Срок эксплуатации, лет	Амортизация за период исследования, руб.
Вольтамперометрический анализатор PalmSens4	1 200 000	10	35 000
Дистиллятор для приготовления очищенной воды (Россия, ЧЗБТ)	92 500	10	3083
Весы аналитические ACCULAB ALC 210 (класс точности 0,0001г, Россия)	51 600	8	2150
		Итого:	40 233

4.3.3 Основная заработная плата исполнителей темы

Статья заработной платы исполнителей темы включает основную заработную плату работников, непосредственно занятых выполнением НИИ, (включая премии и доплаты) и дополнительную заработную плату. Также включается премия, выплачиваемая ежемесячно из фонда заработной платы в размере 20 – 30 % от тарифа или оклада:

$$Z_{зп} = Z_{осн} + Z_{доп} \quad (6)$$

Где:

$Z_{осн}$ – основная заработная плата;

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

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

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

Где:

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

T_p – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн. (таблица 11).

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$$Z_{\text{дн}} = \frac{Z_m \cdot M}{F_{\partial}} \quad (8)$$

Где:

Z_m – месячный должностной оклад работника, руб.;

M – количество месяцев работы без отпуска в течение года ($M = 10,1$ месяца, 6-дневная неделя; при отпуске в 56 раб.);

F_{∂} – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб. дней.

В таблице 16 приведен баланс рабочего времени каждого работника ВКР.

Таблица 16 – Баланс рабочего времени

Показатели рабочего времени	Научный руководитель	Бакалавр
Календарное число дней	365	
Количество нерабочих дней:		
– Выходные дни	52	52
– Праздничные дни	14	14
Потери рабочего времени:		
– Отпуск	56	28
– Невыходы по болезни	0	0
Действительный годовой фонд рабочего времени	243	271

Месячный должностной оклад работника:

$$Z_M = Z_{TC} \cdot (1 + k_{пр}) \cdot k_p \quad (9)$$

Где:

Z_{TC} – заработная плата по тарифной ставке, руб.;

$k_{пр}$ – премиальный коэффициент, равный 0,3 (т.е. 30% от Z_{TC});

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

Расчет основной заработной платы приведен в таблице 16.

Таблица 17 – Расчет основной заработной платы

Исполнители	Должность	Z_{TC} , руб	$k_{пр}$	k_p	Z_M , руб	$Z_{дн}$, руб	T_p , раб. дн.	$Z_{осн}$, руб
Научный руководитель	Доцент, кандидат наук	37700	0,3	1,3	63713	2648,15	29	76796,35
Бакалавр	Инженер	19200	0,3	1,3	32448	1341,05	99	132763,95
Итого								209560,30

4.3.4 Дополнительная заработная плата исполнителей темы

Расчет дополнительной заработной платы ведется по следующей формуле:

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

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

В таблице 18 приведена форма расчёта основной и дополнительной заработной платы.

Таблица 18 – Заработная плата исполнителей НТИ

Исполнитель	З _{осн} , руб.	З _{доп} , руб.	З _{зп} , руб.
Научный руководитель	76796,35	11519,45	88315,80
Бакалавр	132763,95	19914,59	152678,54
Итого	209560,30	31434,04	240994,34

4.3.5 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления)

Отчисления во внебюджетные фонды отражают обязательные отчисления по установленным законодательством Российской Федерации нормам органам государственного социального страхования (ФСС), пенсионного фонда (ПФ) и медицинского страхования (ФФОМС) от затрат на оплату труда работников.

Величина этих отчислений определяется по следующей формуле:

$$Z_{\text{внеб}} = k_{\text{внеб}} \cdot (Z_{\text{доп}} + Z_{\text{осн}}), \quad (11)$$

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

Общий совокупный тариф отчислений составляет 30 %.

Отчисления во внебюджетные фонды представлены в таблице 18.

Таблица 19– Отчисления во внебюджетные фонды

Исполнители	Основная заработная плата, руб.	Дополнительная заработная плата, руб.
Научный руководитель	76796,35	11519,45
Бакалавр	132763,95	19914,59
Коэффициент отчислений во внебюджетные фонды	0,3	
Итого:	72298,3	
Научный руководитель	26494,74	
Бакалавр	45803,56	

4.3.6 Накладные расходы

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

$$Z_{\text{накл}} = (\text{сумма статей } 1 \div 4) \cdot k_{\text{нр}} \quad (12)$$

Где:

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

Величину коэффициента накладных расходов $k_{\text{нр}}$ допускается взять в размере 16 %.

$$Z_{\text{накл}} = (23272 + 40233 + 209560,3 + 31434,04) \cdot 0,16 = 48719,89 \text{ руб.}$$

4.3.7 Формирование бюджета затрат научно-технического исследования

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

Определение бюджета затрат на ВКР по теме: «Разработка электрохимической иммуносенсорной тест-системы на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил» представлено в таблице 20.

Таблица 20 – Расчет бюджета затрат НИИ

№	Наименование статьи	Сумма, руб.	Примечание
1	Материальные затраты	23272	Таблица
2	Затраты на оборудование	40233	Таблица
3	Основная заработная плата исполнителей	209560,30	Таблица
4	Дополнительная заработная плата исполнителей	31434,04	Таблица
5	Отчисления во внебюджетные фонды	72298,3	Таблица
6	Накладные расходы	48719,89	16 % от статей 1-4
7	Бюджет затрат исследования	425517,5	Сумма статей 1-6

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

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

Интегральный финансовый показатель разработки определяется по формуле:

$$I_{\text{финр}}^{\text{исп.}i} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\text{max}}} \quad (13)$$

Где: $I_{\text{финр}}^{\text{исп.}i}$ – интегральный финансовый показатель разработки;

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

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

Результаты расчета приведены в таблице 21.

Таблица 21 – Расчет интегрального финансового показателя

№ исп.	Стоимость исполнения	Максимальная стоимость исполнения	Интегральный финансовый показатель
1	425517,5	425517,5	1
2	400669,81		0,94

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

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

$$I_{pi} = \sum a_i b_i \quad (14)$$

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

a_i – весовой коэффициент i -го варианта исполнения разработки;

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

n – число параметров сравнения.

Расчет интегрального показателя ресурсоэффективности представлен в таблице 22.

Таблица 22 – Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения научно-технического проекта

Критерии \ Объект исследования	Весовой коэффициент параметра	Электрохимическая тест-система Исп. 1	Твердофазный ИФА Исп. 2
1. Чувствительность	0,25	5	5
2. Простота анализа	0,15	4	5
3. Экспрессность	0,15	4	4
4. Простота аппаратного оформления	0,25	5	4
5. Срок хранения	0,20	5	3
Итого	1	4,7	4,2

$$I_{p-исп1} = 5 \cdot 0,25 + 4 \cdot 0,15 + 4 \cdot 0,15 + 5 \cdot 0,25 + 5 \cdot 0,20 = 4,7;$$

$$I_{p-исп2} = 5 \cdot 0,25 + 5 \cdot 0,15 + 4 \cdot 0,15 + 4 \cdot 0,25 + 3 \cdot 0,20 = 4,2.$$

Интегральный показатель эффективности вариантов исполнения разработки определяется на основании интегрального показателя ресурсоэффективности и интегрального финансового показателя по формуле:

$$I_{исп.i} = \frac{I_{p-исп.i}}{I_{финр.i}}. \quad (15)$$

Сравнение интегрального показателя эффективности, вариантов исполнения разработки позволяет определить сравнительную эффективность проекта и выбрать наиболее целесообразный вариант из предложенных.

Сравнительная эффективность проекта:

$$\mathcal{E}_{ср} = \frac{I_{исп1}}{I_{исп2}}. \quad (16)$$

Результаты расчета приведены в таблице 23.

Таблица 23 – Сравнительная эффективность разработки

№	Показатели	Исп.1	Исп.2
1	Интегральный финансовый показатель разработки	1	0,94
2	Интегральный показатель ресурсоэффективности разработки	4,70	4,20
3	Интегральный показатель эффективности	4,42	4,20
4	Сравнительная эффективность вариантов исполнения	1	1,10

В ходе выполнения данной части выпускной квалификационной работы проведен комплексный анализ разрабатываемой электрохимической тест-системы. Определена конкурентоспособность разработки, установлен объем затрат по каждой из статей, а также общий объем затрат. На основании таблицы 23, приведенной в разделе, можно сделать вывод о том, что была создана конкурентоспособная разработка (Исп.1), отвечающая необходимым современным критериям в области ресурсоэффективности и ресурсосбережения для успешной реализации проекта.

5 Социальная ответственность

Разработка электрохимической иммуносенсорной тест-системы на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил проводилась с использованием вольтамперометрического анализатора PalmSens4, который применяется для высокочувствительных измерений методом циклической вольтамперометрией.

5.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности

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

В соответствии с Трудовым Кодексом Российской Федерации от 30.12.2001 N 197-ФЗ (ред. от 16.12.2019) каждый работник имеет право на:

- рабочее место, соответствующее требованиям охраны труда;
- обязательное социальное страхование от несчастных случаев на производстве и профессиональных заболеваний в соответствии с федеральным законом;
- получение достоверной информации от работодателя, соответствующих государственных органов и общественных организаций об условиях и охране труда на рабочем месте, о существующем риске повреждения здоровья, а также о мерах по защите от воздействия вредных и (или) опасных производственных факторов;
- отказ от выполнения работ в случае возникновения опасности для его жизни и здоровья вследствие нарушения требований охраны труда, за исключением случаев, предусмотренных федеральными законами, до устранения такой опасности;

- обеспечение средствами индивидуальной и коллективной защиты в соответствии с требованиями охраны труда за счет средств работодателя;
- обучение безопасным методам и приемам труда за счет средств работодателя;
- внеочередной медицинский осмотр в соответствии с медицинскими рекомендациями с сохранением за ним места работы (должности) и среднего заработка во время прохождения указанного медицинского осмотра.

5.1.2 Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны

При работе в лаборатории она должны быть оснащена баксами с приточно-вытяжной вытяжкой, водопроводом с горячим и холодным водоснабжением, канализацией, электричеством, а также центральным отоплением.

Помещение лаборатории должно быть оснащено естественным и искусственным освещением, отвечающим строительным нормам и правилам, а температура внутри помещения должна поддерживаться в пределах 18÷21 °С. В лаборатории должны быть оборудованы водопроводные раковины для мытья рук персонала и раковины, предназначенные для мытья инвентаря.

В состав лаборатории могут быть включены вспомогательные помещения (комнаты персонала, кабинет заведующего лабораторией, раздевалки для сотрудников, комната приема пищи, туалет, подсобные (складские) помещения), которые должны быть вынесены за пределы рабочей зоны.

Газовые краны вытяжных шкафов должны быть расположены у передних бортов (краев) с учетом устранения возможности случайного их открывания. Штепсельные розетки должны размещаться на торцевой стороне рабочего стола вне вытяжного шкафа.

Внутреннюю отделку помещений осуществляют кафелем (пол, стены) или краской (стены, потолок), устойчивой к действию моющих и дезинфицирующих

средств. Ширина основных проходов к рабочим местам или между двумя рядами оборудования должна быть не менее 1,5 м с учетом выступающих конструкций стен.

Полы в лабораторных помещениях покрываются линолеумом или резином. В боксах, операционных и виварии - гладкой плиткой. Лабораторная мебель должна быть окрашена масляной или эмалевой краской светлых тонов, рабочие поверхности столов покрываются пластиком или другим кислото- и щелочеустойчивым материалом и не портящимся также от применения кипячения. Внутренние и наружные поверхности мебели не должны иметь щелей и пазов, затрудняющих обработку дезинфицирующими веществами.

При эксплуатации приборов и аппаратов необходимо строго руководствоваться правилами, изложенными в техническом паспорте. Стационарные электроприборы должны быть заземлены. Ежемесячно проверяется исправность электроприборов. Особое внимание уделяется круглосуточно работающим электроприборам. При нарушении работы электроприбора (запах, выделение дыма, изменение характера шума и т.д.) прибор отключают от сети и не используют до проверки и проведения необходимого ремонта.

Электроприборы (плитки, сушильные шкафы, пылесосы, воздуходувки с мотором и др.) включают в сеть с соответствующим прибору напряжением. Все работы с воздуходувкой и пылесосом (смазывание, монтаж, ремонт и пр.) проводят при отключении их от электросети.

При работе в лаборатории персонал должен пользоваться санитарной одеждой, спецодеждой, обувью, резиновыми перчатками и предохранительными приспособлениями, предусмотренными действующими нормами.

5.2 Производственная безопасность

При работе в химических лабораториях требуется соблюдение техники безопасности и охраны труда, для обеспечения максимально безопасных условий необходимо использовать средства индивидуальной защиты (СИЗы).

Нарушения или несоблюдение норм санитарно-гигиенического режима в химических лабораториях может повлечь за собой неблагоприятные факторы производственной среды, которые могут повлиять на работников. К числу таких факторов можно отнести контакт с агрессивными и токсическими химическими веществами, перенапряжение зрительного аппарата при выполнении работы. Анализ основных вредных и опасных факторов при разработке электрохимической биосенсорной тест-системы представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Возможные опасные и вредные факторы

Факторы (ГОСТ 12.0.003 – 2015)	Этапы работы			Нормативные документы
	Разработка	Изготовление	Эксплуатация	
1. Отсутствие или недостаток искусственного освещения		+	+	Параметры нормируемого освещения устанавливаются СП 52.13330.2016 [57]
2. Производственные факторы, связанные с аномальными микроклиматическими параметрами воздушной среды на местонахождении работающего	+	+	+	СанПиН 2.2.4.548–96 «Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений» [58]
3. Производственные факторы, связанные с электромагнитными полями	+	+	+	Установление предельно допустимых уровней (ПДУ) напряжения и тока согласно ГОСТ 12.1.038–82 [59] Защитные мероприятия от поражений электрическим током – защитное заземление ГОСТ 12.1.030-81 [60]

Продолжение таблицы 24

4. Производственные факторы, связанные с электрическим током	+	+	+	ГОСТ 12.1.019-2017 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты [61]
5. Производственные факторы, обладающие свойствами химического воздействия на организм работающего	+	+	+	Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны согласно ГН 2.2.5.3532-18 [62] Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности устанавливаются ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ [63]

Отсутствие или недостаток искусственного освещения

Одним из основных вредных факторов при длительной работе считается недостаточное освещение рабочего места, которое вызывает быстрое утомление и является главной причиной развития близорукости, а в некоторых случаях даже чувства тревоги. При низком уровне освещения рабочего места возникает апатия и сонливость, что влечет за собой снижение работоспособности.

При работе с документами требуется хорошая освещенность рабочего места, однако излишне яркий свет влияет на снижение зрительных функций, приводит к перевозбуждению нервной системы, влияет на механизм сумеречного зрения, все это приводит к снижению работоспособности работника. Также яркий свет может вызывать фотоожоги сетчатки глаза и кожных покровов, катаракту и другие нарушения.

Искусственное освещение в помещениях для эксплуатации ПК должно осуществляться системой общего равномерного освещения. В случаях преимущественной работы с ПК следует применять системы комбинированного освещения (к общему освещению устанавливаются светильники местного освещения). В таблице 25 указаны нормативные показатели естественного, искусственного и совмещенного освещения для высокой точности зрительной работы в соответствии СП 52.13330.2016.

Таблица 25 – Требования к освещению помещений [57]

Подразряд зрительной работы	Контраст объекта с фоном	Характеристика фона	Искусственное освещение				
			Освещенность, лк			Сочетание нормируемых величин показателя ослепленности и коэффициента пульсации	
			При комбинированном освещении		При общем освещении		
			Всего	В том числе от общего		Р	Кп, %
а	Малый	Темный	2000	200	500	25	15
б	Малый Средний	Средний Темный	1000	200	400	25	15
в	Малый Средний Большой	Светлый Средний Темный	750	200	300	25	15
г	Средний Большой	Светлый Средний	400	200	200	25	15
Естественное освещение			Совмещенное освещение				
КЕО ен, %							
При верхнем или комбинированном освещении		При боковом освещении		При верхнем или комбинированном освещении		При боковом освещении	
–		–		3,0		1,2	

Для обеспечения нормируемых значений освещенности в помещении следует проводить чистку оконных стекол и светильников не реже двух раз в год и проводит своевременную замену перегоревших ламп.

Аудитория №223, 2 корпуса ТПУ соответствует допустимым нормам освещенности согласно СП 52.13330.2016 [57].

Производственные факторы, связанные с аномальными микроклиматическими параметрами воздушной среды на местонахождении работающего

Допустимые значения характеристик микроклимата устанавливаются в соответствии с СанПиН 2.2.4.548-96 [58] и приведены в таблице 26.

Таблица 26 – Допустимые параметры микроклимата

Период года	Категория работ	Температура, °С	Относительная влажность, %	Скорость движения воздуха, м/с
Холодный и переходный	Ia	22–24	40-60	0,1
Тёплый		23–25		

Несоответствие оптимальным и допустимым параметрам микроклимата в помещении может привести не только к дискомфорту работающего человека, но и к различным заболеваниям. Например, при длительном нахождении при низкой температуре человек может простыть, а проблемы с сердечно-сосудистой системой могут быть вызваны слишком высокой температурой в помещении.

Чрезмерно сухой воздух приводит к снижению работоспособности, нарушению водного баланса организма, сухости слизистых оболочек, что приводит к обезвоживанию организма делая его более уязвимым к вирусным и инфекционным заболеваниям.

Нарушение водного баланса неблагоприятно сказывается на всем организме, кроме того, влияет так же на внешний вид кожи, она становится стянутой и начинает шелушиться. Слишком влажный воздух тоже плох для здоровья. Сырость повышает риск возникновения плесени в помещении, что может привести к заболеваниям дыхательных путей.

Мероприятия по нормализации состояния воздушной среды производственных помещений:

- применение систем приточно-вытяжной вентиляции, отопления и кондиционирования воздуха в помещении;
- механизация и автоматизация производственных процессов, использование более совершенных машин и оборудования;
- теплоизоляция нагреваемых поверхностей оборудования и установка защитных экранов;

- организация рационального питьевого режима с целью компенсации потерь организмом влаги и солей;
- использование средств индивидуальной защиты работающих, с целью предотвращения перегрева или переохлаждения организма;
- для профилактики отрицательного влияния дискомфортных условий труда важно спланировать рациональное чередование периодов труда и отдыха и медицинские осмотры.

Согласно СанПиН 2.2.4.548-96 [58] микроклимат аудитории №223, 2 корпуса ТПУ соответствует допустимым нормам.

Производственные факторы, связанные с электромагнитными полями

Допустимые уровни электромагнитных полей (ЭМП) в аудитории №223, 2 корпуса ТПУ, создаваемых ЭВМ, не должны превышать значений [59], представленных в таблице 27:

Таблица 27 – Допустимые уровни ЭМП, создаваемых ЭВМ

Параметры	Диапазон	ДУ ЭМП
Напряженность	в диапазоне частот 5 Гц - 2 кГц	25 В/м
	в диапазоне частот 2 кГц - 400 кГц	2,5 В/м
Плотность магнитного потока	в диапазоне частот 5 Гц - 2 кГц	250 нТл
	в диапазоне частот 2 кГц - 400 кГц	25нТл
Напряженность электромагнитного поля	–	15 кВ/м

Уровни ЭМП, ЭСП на рабочем месте в аудитории №223, 2 корпуса ТПУ, перечисленные в таблице 27. соответствуют нормам [59], [63].

Производственные факторы, связанные с электрическим током

Работа с неисправным электрооборудованием, прикосновение к металлическим предметам и корпусам приборов, случайно оказавшимся под током, контакт с находящимся под током плохо изолированным или совсем не

изолированным проводом являются основными причинами несчастных случаев на рабочем месте. Соблюдение определенных правил при работе с оборудованием, находящимся под напряжением, позволит минимизировать возможность получения травм и несчастных случаев.

При нормальном функционировании электрооборудования пользователь защищен от воздействия электрического тока. Тем не менее, есть вероятность выхода из строя блока питания, тогда напряжение питающей сети будет подано на корпус. Напряжения прикосновения и токи, протекающие через тело человека при нормальном (неаварийном) режиме согласно ГОСТ 12,1,038-82, ССБТ, не должны превышать значений, указанных в таблице 28.

Таблица 28 – Допустимые значения напряжения прикосновения и тока

Род тока	U, В	I, мА
Переменный 50 Гц	2,0	0,3
Переменный 400 Гц	3,0	0,4
Постоянный	8,0	1,0

Запрещается использовать для подключения электроприборов провода с поврежденной изоляцией или вообще без изоляции, а также провода, не снабженные штекерами или припаянными клеммами. Запрещается вскрывать электрощитки и магнитные пускатели, находящиеся на лабораторных столах. В лабораториях разрешается использовать электроприборы только заводского производства. Приборы должны содержаться в чистоте [57].

Производственные факторы, обладающие свойствами химического воздействия на организм работающего

Данная работа связана с использованием вредных и опасных химических реактивов. При несоблюдении мер безопасности они могут причинить вред

здоровью и угрозу жизни. Характеристика химических веществ, используемых при выполнении НИР представлена в таблице 29.

Таблица 29 – Характеристика веществ, применяемых при выполнении НИР

Вещества	Физические свойства	ПДК, мг/м ³	Класс опасности	Характеристика действия на организм
Азотная кислота	бесцветная или слегка желтоватая прозрачная жидкость с характерным запахом	2	3	При непосредственном контакте с кожей азотная кислота вызывает ожоги. Дым, содержащий азотную кислоту, раздражает дыхательные пути, вызывает разрушение зубов, конъюнктивиты.
Серная кислота	Тяжёлая маслянистая жидкость без цвета и запаха	1	2	Пары обладают сильным прижигающим и раздражающим слизистые оболочки действием
1,2-дихлорэтан	бесцветная жидкость со сладковатым запахом	10	2	Сильное наркотическое средство, канцероген. Вызывает дистрофические изменения в печени, почках и других органах, может вызвать помутнение роговицы глаз.
Хлорид калия	белое кристаллическое вещество без запаха	5	3	Со стороны иммунной системы: аллергические реакции. Со стороны нервной системы: утомляемость, мышечная слабость, спутанность сознания, тяжесть в конечностях, мышечные судороги, парестезии, восходящий паралич.
Нитрат ртути (I)	бесцветные кристаллы, без запаха	0,0001	1	Вещество оказывает сильное раздражающее воздействие на глаза, кожу и дыхательные пути. Вещество может оказать воздействие на желудочно-кишечный тракт и почки.
Метол	порошок из бесцветных или сероватых кристаллов или иголок	10	3	Со стороны иммунной системы: аллергические реакции. Со стороны нервной системы: утомляемость, мышечная слабость, спутанность сознания, тяжесть в конечностях

При нарушении санитарно-гигиенического режима в аналитической лаборатории на работников могут воздействовать неблагоприятные факторы производственной среды. Основными из них являются прежде всего контакт с токсичными химическими веществами. К средствам защиты от попадания на кожу вредных химических веществ служат резиновые перчатки, лабораторные халаты, шапочки, обувь. Для защиты дыхательных путей от действия вредных химических веществ служат специальные ватно-марлевые повязки, респираторы, противогазы. Для защиты слизистой оболочки глаз можно использовать специальные очки. Средством защиты от поражения вредными химическими веществами служит также точное соблюдение техники безопасности и инструкций к используемым веществам [62].

Согласно ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ [62], использование химических реактивов в аудитории №223, 2 корпуса ТПУ соответствует допустимым нормам.

5.3 Экологическая безопасность

Основным источником загрязнения окружающей среды (атмосферы, гидросферы, литосферы) является попадание через сточные воды вредных веществ.

Главный источник загрязнения атмосферы – газообразные отходы (имеющие разнообразный состав радиационные газы от инертных газов до активированных паров воды, собранных от теплообменных аппаратов), которые прошли ряд очистительных и фильтрационных установок рассеивающихся через вентиляционные трубы в атмосферу.

Должны соблюдаться требования нормативных актов, регулирующих отношения в области охраны атмосферного воздуха.

На АС разрабатываются и выполняются мероприятия:

– по организации производственного экологического контроля;

– по регулированию выбросов загрязняющих веществ в атмосферный воздух при неблагоприятных метеорологических условиях;

– по проверке эффективности работы газоочистного оборудования.

Гидросфера. Радиоактивные отходы образуются главным образом на атомных электростанциях, при обработке ядерного топлива, в ядерных исследовательских центрах. Также идет тепловое загрязнение от использования воды в теплообменном оборудовании.

Должны соблюдаться требования нормативных актов, регулирующих отношения в области охраны водных ресурсов. Для обеспечения безопасного пользования гидросферой применяется оборудование отдельных систем хозяйственно-бытовой и ливневой канализации.

Литосфера. Основное воздействие работы энергоблока на литосферу происходит от захоронения отработавшего ядерного топлива, но также сюда можно включить влияние сточных вод.

При этом должны соблюдаться требования нормативных правовых актов, регулирующих отношения в области охраны земельных ресурсов и недр в соответствии с законами.

При выполнении работы в качестве объекта исследования выступает электрохимическая иммуносенсорная тест-система на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил, которая не оказывает негативного влияния на окружающую среду.

При выполнении работы основными отходами являлись: сточные воды с низкой концентрацией хлорида калия, серной и азотной кислот, нитрат ртути (I), концентрация которой была меньше предельно допустимой, и слив воды при промывке химической посуды после проведения эксперимента. Основной компанией в городе Томске по утилизации медицинских и химических отходов является АО «Полигон», компания «ЭкоАрхитектура», работающая по всей России,

занимается обезвреживанием отходов химических веществ, таких как кислоты, щелочи и т.п.

Предварительный сбор, погрузка и утилизация химических отходов (сточных вод содержащих низкие концентрации химических веществ) должна производиться персоналом организации, имеющим лицензию на данный вид деятельности, поскольку работа с данным видом отходов может причинить вред здоровью человека, а также при неправильной погрузке и транспортировке нанести ущерб экологии. Поэтому без специального оборудования любое взаимодействие с химическими отходами запрещены. Для сохранения окружающей среды необходимо постоянно совершенствовать технологические процессы.

5.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях

Одним из важнейших факторов в безопасности жизнедеятельности людей является подготовленность к чрезвычайным ситуациям.

Согласно ГОСТ Р 22.0.02-94 ЧС – это обстановка на определенной территории или акватории, сложившаяся в результате аварии, опасного природного явления, катастрофы, стихийного или иного бедствия, которые могут повлечь или повлекли за собой человеческие жертвы, ущерб здоровью людей или окружающей природной среде, значительные материальные потери и нарушение условий жизнедеятельности людей [64].

Химический взрыв

Химический взрыв – взрыв, возникающий за счет протекания химической реакции веществ или разложения вещества. Обычно характеризуется значительной разрушительной мощностью и поражающей способностью. Может приводить к пожару в лаборатории.

Ситуации, которые могут привести к химическому взрыву:

- работа со взрывчатыми веществами.

– хранение кислот в металлических емкостях или пролив их на металлические поверхности приводит к выделению водорода. В замкнутом объеме может накопиться взрывоопасная концентрация. Аналогично опасно хранить щелочи рядом с металлами амфотерного характера (алюминий, цинк).

При химическом ожоге кислотой пораженное место сразу же промывают большим количеством проточной холодной воды 15-20 мин. Если кислота попала на кожу через одежду, то сначала надо смыть ее водой с одежды, после чего промыть кожу. При попадании на тело человека серной кислоты в виде твердого вещества необходимо удалить ее сухой ватой или кусочком ткани, а затем пораженное место тщательно промыть водой. При химическом ожоге полностью смыть химические вещества водой не удастся. Поэтому после промывания пораженное место обрабатывают раствором пищевой соды (одна чайная ложка на стакан воды). При попадании брызг щелочи или паров в глаза и полость рта необходимо промыть пораженные места большим количеством воды, а затем раствором борной кислоты (0,5 чайной ложки кислоты на стакан воды).

Отравление

Отравление – попадание в организм токсичного вещества. Ситуации, которые могут привести к отравлению:

1. Потребление пищи в лаборатории. Уже много пострадавших.
2. Со всеми новыми веществами следует обращаться очень осторожно, так как они могут оказаться неожиданно сильнотоксичными.
3. Работа с высокотоксичными веществами требует внимательности и осторожности.

При выполнении дипломной работы может возникнуть чрезвычайная ситуация замыкание проводки и возгорание. По возможности, пламя необходимо потушить песком, но перед этим необходимо сообщить руководителю. Соблюдая все правила с электрическим оборудованием, можно избежать ЧС.

Ситуации, которые могут привести к пожару:

1. Термическое лопание колбы с легковоспламеняющимися жидкостями. Для локализации очага пожара рекомендуется под установку с колбой заранее помещать металлический поддон с загнутыми краями.

2. Смешивание веществ, дающих экзотермическую реакцию с воспламеняющимися материалами.

3. Работа с очень легковоспламеняющимися жидкостями и горючими газами если в помещении находятся источники с открытым пламенем или сильнонагретые предметы.

При возникновении пожара в лаборатории необходимо соблюдать следующие правила:

1. При возникновении пожара в лаборатории все огнеопасные и взрывчатые вещества должны быть убраны в безопасное место, которое следует особо предохранять от пламени.

2. Все имеющиеся под рукой средства тушения надо немедленно использовать и одновременно вызвать местную пожарную охрану.

3. Надо помнить, что горящие не растворимые в воде вещества, особенно жидкости (бензол, бензин и т.п.), тушить водой нельзя.

4. С инструкцией по обращению с огнетушителями должны быть знакомы все работающие в лаборатории.

5. Песок, заготовленный для противопожарных целей, всегда должен быть сухим, чистым и сыпучим.

6. Надо постоянно соблюдать правила противопожарной охраны и пожарного надзора.

7. Огнеопасные жидкости необходимо хранить в специально организованных местах.

8. Электрическая проводка всегда должна содержаться в исправном состоянии.

9. Нагревательные приборы, работающие на газе, а также газовые краны и газопровод должны быть исправны.

Предотвращению ЧС и разработка порядка действия в случае возникновения ЧС

Все лабораторные помещения должны соответствовать требованиям пожарной безопасности согласно ГОСТ 12.1.004-91 и иметь необходимые средства противопожарной безопасности согласно ГОСТ 12.4.009-83. Каждое рабочее помещение должно быть оснащено песком и огнетушителями, а помещения с легковоспламеняющимися и огнеопасными веществами дополнительными средствами пожаротушения. На видном в помещении лаборатории должен висеть план эвакуации. Каждый сотрудник лаборатории должен быть ознакомлен с правилами обращения с взрыво- и огнеопасными веществами, газовыми приборами, а также использовать противогаз, огнетушитель и другие средства пожаротушения, имеющимися в наличие лаборатории. В лаборатории, а также в непосредственной близости от них (под лестницами, в коридорах) строго запрещается хранение горючих материалов, и установление предметов, загромождающих пути эвакуации и доступа к средствам пожаротушения. Курение разрешается только в специально отведенных и оборудованных зонах.

Сотрудники лаборатории, заметивший задымление, пожар или другие признаки пожара обязаны:

- незамедлительно сообщить в пожарную часть по телефону (01, 101,112);
- принять всевозможные меры по недопущению распространения огня;
- известить начальника лаборатории, в свою очередь который обязан известить сотрудников, принять меры по ликвидации пожара к их эвакуации;
- знать и уметь пользоваться первичными средствами пожаротушения.

План эвакуации персонала с лаборатории кафедры «Физической и аналитической химии» при возникновении пожара представлен на рисунке 18.



Рисунок 22 – План эвакуации при пожаре

Лаборатория оснащена порошковым огнетушителем ОП-4-АВСЕ – 1 шт., предназначенным для ликвидации пожаров твердых веществ, в основном органического происхождения (класс А); пожаров горючих жидкостей или плавящихся твердых веществ (класс В); пожаров газообразных веществ (класс С), а также пожаров электрооборудования, находящегося под напряжением не более 1000 В (пожар класса Е).

В разделе «Социальная ответственность» были рассмотрены требования безопасности, связанные с работой в лаборатории. Проанализированы вредные и опасные производственные факторы. Выявлены предполагаемые источники загрязнения окружающей среды. Также проведен анализ возможных чрезвычайных ситуаций, которые могут возникнуть при проведении научно-исследовательских работ.

Полученные результаты раздела содержат в себе основные рекомендации и указания, обеспечивающие безопасность технологического процесса и эксплуатации оборудования, и, требующие четкого соблюдения.

Заключение

В результате проведенных исследований разработан электрохимический иммуносенсор на основе луночного полистиролового планшета и углеродных чернил, который был протестирован с использованием золотых биоконъюгатов в качестве сигналообразующих меток для определения модельных иммуноглобулинов класса G (свинья, собака, человек).

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. Подобран материал токосъемного контакта – медь электротехническая, также разработан алгоритм создания электрохимические ячейки и подобраны условия упаковки углеродных чернил в лунки полистиролового планшета, а также исследованы электрохимические свойства полученных лунок методом вольтамперометрии;
2. Проведены модельные исследования по модификации углеродной поверхности НЧ Au и исследованы их электрохимические свойства;
3. Подобраны условия каталитического восстановления ртути (I) на НЧ Au;
4. Разработан алгоритм создания электрохимической иммуносенсорной тест-системы и апробирован на модельных иммуноглобулинах класса G.

В дальнейшем исследования будут направлены на расчет основных метрологических характеристик и созданию лунок с разнотипными металлическими метками. Полученный электрохимический сенсор может стать перспективным инструментом в лабораторно-диагностических и фармацевтических областях.

Список использованных источников

1. Yoshii K. Epidemiology and pathological mechanisms of tick-borne encephalitis / K. Yoshii // *Journal of Veterinary Medical Science*. – 2019. – Vol. 81. – № 3. – P. 343–347.
2. Набиева Ф. С. Значение иммуноферментного анализа в диагностике инфекционных заболеваний / Ф. С. Набиева, Г. А. Душанова, О. О. Бобокулов // *Вестник науки и образования*. – 2021. – №. 4-1 (107). – С. 54-56.
3. Espina V. Protein microarray detection strategies: focus on direct detection technologies. / V. Espina, E.C. Woodhouse, J. Wulfschlegel, H.D. Asmussen, E.F. Petricoin, L.A. Liotta // *J. Immunol. Meth.* – 2004. Vol. 290. – P. 121–133. DOI: 10.1016/j.jim.2004.04.013.
4. Прохорова Г. В. Введение в электрохимические методы анализа // М.: МГУ. – 1999.
5. Будников Г. К., Майстренко В. Н., Вяселев М. Р. Основы современного электрохимического анализа. – 2003.
6. Будников Г.К., Евтюгин Г.А., Майстренко В.Н. Модифицированные электроды в вольтамперометрии. химии, биологии и медицине. - М.: Бином. Лаборатория знаний. 2010. – 416 с.
7. Будников Г.К., Майстренко В.Н., Муринов Ю.И. Вольтамперометрия с модифицированными ультрамикрoэлектрoдами. - М.: Наука. 1994.-240С.
8. Yang N. Nanocarbon Electrochemistry and Electroanalysis: Current Status and Future Perspectives / N. Yang, G.M. Swain, X. Jiang // *Electroanalysis*. – 2016. – Vol. 28. – P. 27 – 34.
9. Khaskheli A.R. Differential pulse voltammetric determination of paracetamol in tablet and urine samples at a micro-crystalline natural graphite-polystyrene composite film modified electrode / A.R. Khaskheli, J. Barek, V. Vyskocil, M.I. Bhangar // *Electrochim. Acta*. – 2013. – Vol. 101. – P. 238 – 242.

10. Fan Y. Recent Advances in Development and Application of Nanoelectrodes / Y. Fan, C. Han, B. Zhang // *Analyst* – 2016. – Vol. 141. – №19. – P. 5474–5487.
11. Lazenby R.A. Advances and Perspectives in Chemical Imaging in Cellular Environments Using Electrochemical Methods / R.A. Lazenby, R.J. White // *Chemosensors*. – 2018. – № 6, – P.1–28. <https://doi.org/10.3390/chemosensors6020024>.
12. Narmaeva G. Achievements and problems of electrode modification for voltammetry / G. Narmaeva, S. Aronbaev, D. Aronbaev // *International Journal of Research – Granthaalayah*. – 2018. – №6. – P.368-381. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1345218>.
13. Исакова Д. Электродные материалы в современном электроанализе / Д. Исакова, Г.З. Нармаева, С.Д. Аранбаев, Д.М. Аронбаев // *Universum: химия и биология*. – 2019. – №. 8. – С. 15-21.
14. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA / S. Aydin // *Peptides*. Elsevier Inc. – 2015. – Vol. 72. – P. 4–15.
15. Тараканова Ю. Н. Твердофазный иммуноферментный анализ: история, теория и практическое использование / Ю.Н. Таранова, А.Д. Дмитриев, Д.А. Дмитриев, В.Ф. Лавров, Ю.С. Массино, А.А. Печелюлько, О.Л. Сегал // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2019. – №. 3. – С. 117–125.
16. Ramirez N.B. The evolution and developments of immunosensors for health and environmental monitoring: Problems and perspectives / N.B. Ramirez, A.M. Salgado, B. Valdman // *Brazilian J. Chem. Eng.* – 2009. – Vol. 26. – № 2. – P. 227–249.
17. Жебентяев А.И., Каткова Е.Н. Иммуноферментный метод анализа / А.И. Жебентяев, Е.Н. Каткова // *Вестник фармации*. – 2013. – №. 2. – С. 90-97.
18. Findlay J.W.A. Validation of immunoassays for bioanalysis: A pharmaceutical industry perspective / J.W.A. Findlay, W.C. Smith, J.W. Lee, G.D. Nordblom, I. Das, B.S. DeSilva, M.N. Khan, R.R. Bowsher // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2000. – Vol. 21. – № 6. – P. 1249–1273.

19. Holford T.R.J. Recent trends in antibody based sensors / T.R.J. Holford, F. Davis, S.P.J. Higson // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2012. – Vol. 34. – №. 1. – P. 12–24.
20. Pei X. Sandwich-type immunosensors and immunoassays exploiting nanostructure labels: A review / X. Pei, B. Zhang, J. Tang, B. Liu, W. Lai, D. Tang // *Anal. Chim. Acta*. – 2013. – Vol. 758. – P. 1–18.
21. Goud K.Y. Progress on nanostructured electrochemical sensors and their recognition elements for detection of mycotoxins: A review / K.Y. Gouda, S.K. Kailasac, V. Kumard, Y.F. Tsang, S.E. Lee, K.V. Gobib, K.H. Kim // *Biosens. Bioelectron.* – 2018. – Vol. 121, – P. 205–222.
22. Pettinello R. The immunoglobulins of cold-blooded vertebrates / R. Pettinello, H. Dooley // *Biomolecules*. – 2014. – Vol. 4. – № 4. – P. 1045–1069.
23. Farka Z. Nanoparticle-Based Immunochemical Biosensors and Assays: Recent Advances and Challenges / Z. Farka // *Chem. Rev.* – 2017. – Vol. 117. – № 15. – P. 9973–10042.
24. Montenegro J.M. Controlled antibody/(bio-) conjugation of inorganic nanoparticles for targeted delivery / J.M. Montenegro // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2013. – Vol. 65. – № 5. – P. 677–688.
25. Lu B. Oriented immobilization of antibodies and its applications in immunoassays and immunosensors / B. Lu, M. R. Smyth, R. O'Kennedy // *Analyst*. – 1996. – Vol. 121. – № 3. – P. 29R–32R.
26. Yuan Y. An electrochemical enzyme bioaffinity electrode based on biotin-streptavidin conjunction and bienzyme substrate recycling for amplification / Y. Yuan, R. Yuan, Y. Chai, Y. Zhuo, L. Bai, Y. Liao // *Anal. Biochem.* – 2010. – Vol. 405.– № 1. – P. 121–126.
27. Lai G. Dual signal amplification of glucose oxidase-functionalized nanocomposites as a trace label for ultrasensitive simultaneous multiplexed electrochemical detection of tumor markers / G. Lai, F. Yan, H. Ju // *Anal. Chem.* – 2009.

–Vol. 81. – № 23. – P. 9730–9736.

28. Preechaworapun A. Development of amperometric immunosensor using boron-doped diamond with poly(o-aminobenzoic acid) / A. Preechaworapun, T.A. Ivandini, A. Suzuki, A. Fujishima, O. Chailapakul, Y. Einaga // *Anal. Chem.* – 2008. – Vol. 80. – № 6. – P. 2077–2083.

29. Wang Y. Esterase 2-oligodeoxynucleotide conjugates as sensitive reporter for electrochemical detection of nucleic acid hybridization / Y. Wang, M. Stanzel, W. Gumbrecht, M. Humenik // *Biosens. Bioelectron.* – 2007. – Vol. 22. – № 8. – P. 1798–1806.

30. Ma C. MultisHRP–DNA–coated CMWNTs as signal labels for an ultrasensitive hepatitis C virus core antigen electrochemical immunosensor / C. Ma, M. Liang, L. Wang, H. Xiang, Y. Jiang, Y. Li // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2013. – Vol. 47. – P. 467 – 474.

31. Rusling J.F. Nanomaterials–based electrochemical immunosensors for proteins / J.F. Rusling // *Chemical Record.* – 2012. – Vol. 12. – P. 164–176.

32. Wan Y. Development of electrochemical immunosensors towards point of care diagnostics / Y. Wan, Y. Su, X. Zhu, G. Liu, C. Fan Wan // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2013. – Vol. 47. – P. 1 – 11.

33. Moschou D. Amperometric IFN immunosensors with commercially fabricated PCB sensing electrodes / D. Moschou, L. Greathead, P. Pantelidis, P. Kelleher, H. Morgan, T. Prodromakis // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2016. – Vol. 86. – P. 805 – 810.

34. Yang H. Enzyme–based ultrasensitive electrochemical biosensors / H. Yang // *Current Opinion in Chemical Biology.* – 2012. – Vol. 16. – P. 422 – 428.

35. Popov A. Metal Nanoparticle and Quantum Dot Tags for Signal Amplification in Electrochemical Immunosensors for Biomarker Detection / A. Popov, B. Brasiunas, A. Kausaite-Minkstimiene, A. Ramanaviciene // *Chemosensors.* – 2021. – Vol. 9. – №. 4. – P. 85.

36. Tabatabaei M. S. Applications of gold nanoparticles in ELISA, PCR, and immuno-PCR assays: a review / M.S. Tabatabaei, R. Islam, M. Ahmed // *Analytica Chimica Acta*. – 2021. – T. 1143. – C. 250-266.
37. Sanvicens N. Nanoparticle-based biosensors for detection of pathogenic bacteria / N. Sanvicens, C. Pastells, N. Pascual // *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 2009. Vol. 28, – № 11. P. 1243–1252.
38. Khristunova E. Electrochemical immunoassay for the detection of antibodies to tick-borne encephalitis virus by using various types of bioconjugates based on silver nanoparticles / E. Khristunova, J. Barek, B. Kratochvil, E. Korotkova, E. Dorozhko, V. Vyskocil // *Bioelectrochemistry*. – 2020. – Vol. 135. – P. 107576.
39. Yang G. Ultrasensitive electrochemical immunosensor of carcinoembryonic antigen based on gold-label silver-stain signal amplification / G. Yang, Y. Lai, Z. Xiao, C. Tang, Y. Deng // *Chinese Chem. Lett. Chinese Chemical Society* – 2018. – Vol. 29, – № 12. – P. 1857–1860.
40. Lim S.A. et al. A highly sensitive gold nanoparticle bioprobe based electrochemical immunosensor using screen printed graphene biochip / S.A. Lim, H. Yoshikawa, E. Tamiya, H.M. Yasin, M.U. Ahmed // *RSC Adv. Royal Society of Chemistry* – 2014. – Vol. 4, – № 102. – P. 58460–58466.
41. Tanaka R. A novel enhancement assay for immunochromatographic test strips using gold nanoparticles / R. Tanaka, T. Yuhi, N. Nagatani, T. Endo // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2006. – Vol. 385, – № 8. – P. 1414–1420.
42. Ahmed M. Synthesis and evaluation of polymeric gold glyco-conjugates as anti-cancer agents / M. Ahmed, S. Mamba, X.H. Yang, J. Darkwa // *Bioconjugate Chemistry*. – 2013. – Vol. 24. – №. 6. – P. 979-986.
43. Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions // *Nature physical science*. – 1973. – T. 241. – №. 105. – C. 20-22.

44. Wang S. Antigen/Antibody Immunocomplex from CdTe Nanoparticle Bioconjugates / S. Wang, N. Mamedova, N.A. Kotov, W. Chen, J Studer // Nano Lett. American Chemical Society – 2002. – Vol. 2, – № 8. – P. 817–822.
45. Li Z. Current conjugation methods for immunosensors / Z. Li, G.Y. Chen // Nanomaterials. – 2018. – Vol. 8, – № 5. – P. 1–11.
46. Sidorov I.A., Prabakaran P., Dimitrov D.S. Non-covalent conjugation of nanoparticles to antibodies via electrostatic interactions - A computational model / I.A. Sidorov, P. Prabakaran, D.S. Dimitrov // J. Comput. Theor. Nanosci. American Scientific Publishers. – 2007. – Vol. 4, – № 6. – P. 1103–1107.
47. Tanaka R. A novel enhancement assay for immunochromatographic test strips using gold nanoparticles / R. Tanaka, T. Yuhi, N. Nagatani, T. Endo // Anal. Bioanal. Chem. – 2006. – Vol. 385, – № 8. – P. 1414–1420.
48. Szymanski M.S. Preparation and quality control of silver nanoparticle-antibody conjugate for use in electrochemical immunoassays / M.S. Szymanski, R.A. Porter // J. Immunol. Methods. Elsevier. – 2013. – Vol. 387, – № 1–2. – P. 262–269.
49. Wan Y. Highly Specific Electrochemical Analysis of Cancer Cells using Multi-Nanoparticle Labeling / Y. Wan, Y.G. Zhou, M. Poudineh, T.S. Safaei // Angew. Chemie Int. Ed. – 2014. – Vol. 53, – № 48. – P. 13145–13149.
50. Khristunova Y. Preparation and Investigation of Silver Nanoparticle – Antibody Bioconjugates for electrochemical immunoassay of tick-borne encephalitis / Y. Khristunova, E. Korotkova, B. Kratochvil, J. Barek // Sensors. – 2019. – Vol. 19. – P. 2103–2113.
51. Walkey C.D. Nanoparticle size and surface chemistry determine serum protein adsorption and macrophage uptake / C.D. Walkey, J.B. Olsen, H. Guo, A. Emili // J. Am. Chem. Soc. – 2012. – Vol. 134, – № 4. – P. 2139–2147.
52. Mitragotri S. Overcoming the challenges in administering biopharmaceuticals: Formulation and delivery strategies / S. Mitragotri, P.A. Burke, R.

Langer // Nature Reviews Drug Discovery. Nature Publishing Group, – 2014. – Vol. 13, – № 9. – P. 655–672.

53. Ge L. Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity / L. Ge, Qi. Li, M. Wang, J. Ouyang, X. Li, M. MQ Xing // Int J Nanomedicine, – 2014. – Vol. 9. – P. 2399–2407.

54. Hsieh C. Synthesis of silver nanoparticles on carbon papers for electrochemical catalysts / C. Hsieh, C. Pan, W. Chen // J Power Sources, – 2011. – Vol. 196. – P.6055–6061.

55. Aubin-Tam M.E., Hamad-Schifferli K., Structure and function of nanoparticle–protein conjugates / M.E. Aubin-Tam, K. Hamad-Schifferli // Biomed. Mater. – 2008. – Vol. 3. – P. 155-158.

56. Huang X. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods / X. Huang, I. El-Sayed, M. El-Sayed // Journal of the American Chemical Society. – 2006. – Vol. 128, – № 6. – P. 2115–2120.

57. СП 52.13330.2016. Естественное и искусственное освещение. Актуализированная редакция СНиП 23-05-95: дата 08.05.2017. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/456054197> (дата обращения: 22.03.2022). – Текст : электронный.

58. СанПиН 2.2.4.548-96. Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений: дата введения 01.10.1996. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/901704046/titles> (дата обращения: 22.03.2022). – Текст : электронный.

59. ГОСТ 12.1.038-82 ССБТ. Электробезопасность. Предельно допустимые значения напряжений прикосновения и токов: дата введения 01.07.1983. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/5200313> (дата обращения: 02.04.2022). – Текст : электронный.

60. ГОСТ 12.1.030-81. Электробезопасность. Защитное заземление и зануление: дата введения 01.07.1982. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/5200289> (дата обращения: 02.04.2022). – Текст : электронный.

61. ГОСТ Р 12.1.019-2009. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты: дата введения 01.01.2011. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200080203> (дата обращения: 06.04.2022). – Текст : электронный.

62. ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности: дата введения 01.01.1977. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/5200233> (дата обращения: 07.04.2022). – Текст : электронный.

63. ГОСТ 12.1.030-81 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Электробезопасность. Защитное заземление. Зануление: дата введения 01.07.1982. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/5200289> (дата обращения: 11.04.2022). – Текст : электронный.

64. ГОСТ Р 22.0.02-94 Безопасность в чрезвычайных ситуациях. Термины и определения основных понятий: дата введения 01.01.2017. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200001517> (дата обращения: 15.04.2022). – Текст : электронный.