

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

Инженерная школа природных ресурсов
 Направление подготовки: 18.03.01 «Химическая технология»
 ООП/ОПОП: Аналитический контроль в химической промышленности
 Отделение школы (НОЦ): Отделение химической инженерии

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА БАКАЛАВРА

Тема работы
Применение персональных глюкометров в электрохимическом иммуноанализе

УДК 612.122.1.08

Обучающийся

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д93	Азарова Анастасия 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	Меньшикова Екатерина Валентиновна	к.ф.н., доцент		

По разделу «Социальная ответственность»

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

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

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

ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОСВОЕНИЯ ООП/ОПОП

«Аналитический контроль в химической промышленности»

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

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

Инженерная школа природных ресурсов
 Направление подготовки (ООП/ОПОП): 18.03.01 «Химическая технология»
 Уровень образования: бакалавриат
 Отделение школы (НОЦ): Отделение химической инженерии
 Период выполнения: весенний семестр 2022/2023 учебного года

КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН выполнения выпускной квалификационной работы

Обучающийся:

Группа	ФИО
2Д93	Азарова Анастасия Вячеславовна

Тема работы:

Применение персональных глюкометров в электрохимическом иммуноанализе
--

Срок сдачи обучающимся выполненной работы:

Дата контроля	Название раздела (модуля) / вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
15.02.2023	Обзор литературных данных	20
20.03.2023	Выполнение серии экспериментов	30
25.04.2023	Обработка полученных данных	30
13.05.2023	Разработка раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»	10
18.05.2023	Разработка раздела «Социальная ответственность»	10

СОСТАВИЛ:

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ ИШПР	Дорожко Елена Владимировна	К.Х.Н.		

СОГЛАСОВАНО:

Руководитель ООП/ОПОП

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Михеева Елена Валентиновна	К.Х.Н.		

Обучающийся

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д93	Азарова Анастасия Вячеславовна		



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

Инженерная школа природных ресурсов

Направление подготовки (ООП/ОПОП): 18.03.01 «Химическая технология»

Отделение школы (НОЦ): Отделение химической инженерии

УТВЕРЖДАЮ:

Руководитель ООП/ОПОП

_____ Михеева Е.В.
(Подпись) (Дата) (ФИО)

ЗАДАНИЕ

на выполнение выпускной квалификационной работы

Обучающийся:

Группа	ФИО
2Д93	Азарова Анастасия Вячеславовна

Тема работы:

Применение персональных глюкометров в электрохимическом иммуноанализе	
Утверждена приказом директора (дата, номер)	№ 30-94/с от 30.01.2023

Срок сдачи обучающимся выполненной работы:

15.06.2023

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

<p>Исходные данные к работе (наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к функционированию (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.)</p>	<p>Объект исследования: конъюгаты на основе инвертазы и иммуноглобулинов</p>
<p>Перечень разделов пояснительной записки подлежащих исследованию, проектированию и разработке (аналитический обзор литературных источников 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)</p>	<p>Обзор литературных данных по тематике научно-исследовательской работы. Проведение серии экспериментов для достижения цели исследования. Анализ, обработка и обсуждение результатов проведенных исследований. Анализ экономической привлекательности, ресурсоэффективности и ресурсосбережения работы. Анализ рисков и опасностей проведения исследования и составление перечня нормативных документов для их регулирования. Обобщение результатов и формулирование выводов по итогам проделанной работы</p>
<p>Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей)</p>	
<p>Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы (с указанием разделов)</p>	

Раздел	Консультант
Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	Меньшикова Екатерина Валентиновна
Социальная ответственность	Гуляев Милий Всеволодович

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

Задание выдал руководитель / консультант:

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

Задание принял к исполнению обучающийся:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д93	Азарова Анастасия Вячеславовна		

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

Обучающемуся:

Группа	ФИО
2Д93	Азаровой Анастасии Вячеславовне

Школа	ИШПР	Отделение	ОХИ
Уровень образования	Бакалавриат	Направление/специальность	18.03.01 «Химическая технология»

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

1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих	Бюджет проекта – не более 442699 руб. в т.ч. затраты по оплате труда – не более 210829 руб.
2. Нормы и нормативы расходования ресурсов	Значение показателя интегральной ресурсоэффективности не менее 4,3 баллов из 5
3. 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:

1. Оценка коммерческого потенциала, перспективности и альтернатив разработки проекта с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения	Определение потенциальных потребителей результатов исследования: проведение анализа конкурентных технических решений: SWOT-анализ.
2. Планирование и формирование бюджета разработки	Определение структуры плана проекта и трудоемкости работ, разработка графика проведения исследования; составление бюджета исследования.
3. Определение ресурсной, финансовой, экономической эффективности разработки	Расчет сравнительной эффективности проекта.

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):

1. Оценка конкурентоспособности технических решений
2. Матрица SWOT
3. График проведения и бюджет проекта
4. Оценка ресурсной, финансовой и экономической эффективности разработки

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику

Задание выдал консультант по разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОСГН	Меньшикова Екатерина Валентиновна	к.ф.н., доцент		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д93	Азарова Анастасия Вячеславовна		

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»

Обучающемуся:

Группа	ФИО
2Д93	Азарова Анастасия Вячеславовна

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

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><i>Объект исследования:</i> применение персональных глюкометров в электрохимическом иммуноанализе.</p> <p><i>Область применения:</i> химическая и фармацевтическая промышленность.</p> <p><i>Рабочая зона:</i> лабораторное помещение физико-химических методов анализа ОХИ НИ ТПУ, 2 корпус, 223 аудитория;</p> <p><i>Размеры помещения</i> 30,5 м² и 285,4 м².</p> <p><i>Количество и наименование оборудования рабочей зоны:</i> компьютер, спектрофотометр, персональный глюкометр, биошейкер.</p> <p><i>Рабочие процессы, связанные с объектом исследования, осуществляющиеся в рабочей зоне:</i> синтез конъюгатов, оценка активности конъюгатов различными методами, работа за компьютером.</p>
--	---

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

<p>1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности при разработке проектного решения/при эксплуатации</p> <ul style="list-style-type: none"> – специальные (характерные при эксплуатации объекта исследования, проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства; – организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны. 	<ul style="list-style-type: none"> - «Трудовой кодекс Российской Федерации» от 30.12.2001 N 197-ФЗ (ред. От 01.04.2019) - ГОСТ 12.0.004-90. «Организация обучения безопасности труда». - ПНДФ 12.13.1-03. «Методические рекомендации. Техника безопасности при работе в аналитических лабораториях (общие положения)». - ГОСТ 12.2.032-78 ССБТ «Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические требования». - ГОСТ 12.2.033-78 ССБТ «Рабочее место при выполнении работ стоя. Общие эргономические требования».
<p>2. Производственная безопасность при разработке проектного решения/при эксплуатации:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Анализ потенциальных вредных и опасных производственных факторов; – Разработка мероприятий 	<p>Разработка мероприятий по снижению воздействия вредных и опасных факторов в соответствии с ГОСТ 12.0.003-2015:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Производственные факторы, обладающие свойствами химического воздействия на организм работающего человека; 2. Факторы, связанные с аномальными микроклиматическими параметрами воздушной

<p>по снижению воздействий вредных и опасных производственных факторов.</p>	<p>среды на местонахождении работающего; 3.Отсутствие или недостаток необходимого искусственного освещения; 4. Повышенный уровень шума; 5. Длительное сосредоточенное наблюдение. Потенциальные опасные факторы при разработке и эксплуатации научного исследования: 1. Производственные факторы, связанные с чрезмерно высокой температурой материальных объектов производственной среды, которые могут вызвать ожоги тканей организма человека. 2. Производственные факторы, связанные с электрическим током. В лабораторных помещениях должны быть предусмотрены требования СанПиН 2.2.4.548-96 и ГОСТ 12.1005 – 88 (2000).</p>
<p>3. Экологическая безопасность при разработке проектного решения/при эксплуатации</p>	<p>Воздействие на селитебную зону: не выявлено. Воздействие на литосферу: не выявлено. Воздействие на гидросферу: химическое и биологическое загрязнение водных стоков в результате удаления неорганических и органических отходов в канализационную сеть. Воздействие на атмосферу: вредные вещества, которые выделяются через вентиляционную систему вовремя проведения серии экспериментов.</p>
<p>4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях при разработке проектного решения/при эксплуатации</p>	<p>Возможные ЧС: - пожар, взрыв; - поражение электрическим током; - утечка химикатов. Наиболее типичная ЧС: пожар, возникающий вследствие неисправности электрооборудования.</p>
<p>Дата выдачи задания для раздела по линейному графику</p>	

Задание выдал консультант по разделу «Социальная ответственность»:

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

Задание принял к исполнению обучающийся:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д93	Азарова Анастасия Вячеславовна		

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа содержит: 88 страниц, 19 рисунков, 31 таблицу, 35 источников.

Ключевые слова: инвертаза, конъюгаты, иммуноферментный анализ, клещевой боррелиоз, глюкометр.

Объектами исследования являются инвертаза и ее конъюгаты с иммуноглобулинами.

Целью работы: осуществить синтез и исследовать ферментную активность конъюгатов на основе инвертазы и антител для задач иммуноанализа.

В процессе исследования были синтезированы конъюгаты на основе инвертазы и иммуноглобулинов, оценка их каталитической активности, а также апробирование конъюгатов с помощью иммуноферментного анализа.

В результате исследования представлены сравнительные исследования синтезированных конъюгатов на основе инвертазы с иммуноглобулинами человека класс G, периодатным методом и методом с использованием глутарового альдегида; получена сравнительная характеристика каталитической активности конъюгатов; проведена апробация конъюгатов для определения антител к клещевому боррелиозу (болезнь Лайма) с помощью иммуноферментного анализа.

Основные конструктивные, технологические и техникоэксплуатационные характеристики: научно-исследовательская работа проводилась в аналитической физико-химической лаборатории ОХИ ИШПР ТПУ, оснащённой всем необходимым для исследования оборудованием.

Степень внедрения: работа находится на стадии исследований.

Область применения: медицинские и диагностические учреждения.

Экономическая эффективность/значимость работы: использование домашней персонализированной тест-системы.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АГ- антиген

АТ-антитело

ПХ – пероксидаза хрена

ТМБ – тетраметилбензидин

ИФА – иммуноферментный анализ

ПХ – пероксидаза хрена

ЧС – чрезвычайные ситуации

ОГЛАВЛЕНИЕ

РЕФЕРАТ	10
ВВЕДЕНИЕ	15
1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	17
1.1 Способы получения инвертазы	17
1.2 Методы оценки активности конъюгатов на основе инвертазы и иммуноглобулинов.....	18
1.3 Синтез конъюгатов на основе инвертазы и иммуноглобулинов	20
1.3.1 Перйодатный метод получения конъюгатов.....	20
1.3.2 Метод получения конъюгатов с использованием глутарового альдегида	21
1.4 Примеры использования персонального глюкометра для задач иммунохимии	22
1.5 Классификация методов ИФА.....	23
1.6 Конъюгаты и субстраты, используемые в ИФА.....	25
1.7 Болезнь Лайма: общие сведения и способы диагностики.....	26
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	28
2.1 Измерительные средства, вспомогательные устройства	28
2.2 Реактивы.....	28
2.3 Объект исследования.....	29
2.4 Методы исследования.....	29
2.4.1 Методика измерения активности инвертазы	29
2.4.2 Методика очистки иммуноглобулинов класса IgG	30
2.4.3 Получение конъюгата инвертазы с иммуноглобулинами IgG перйодатным методом.....	31
2.4.4 Получение конъюгата инвертазы с иммуноглобулинами IgG с использованием глутарового альдегида	31
2.4.5 Методика проведения ИФА по выявлению иммуноглобулинов класса G к возбудителям клещевого боррелиоза.....	32
3 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	34
3.1 Построение градуировочного графика для выбора концентраций	34
3.2 Каталическая активность не конъюгированной инвертазы	35

3.3 Каталитическая активность конъюгата полученного периодатным методом	39
3.4 Каталитическая активность конъюгата полученного методом с использованием глутарового альдегида	41
3.5 Сравнение каталитической активности инвертазы и ее конъюгатов	43
3.6 Проведение ИФА по выявлению иммуноглобулинов класса G к возбудителям клещевого боррелиоза.....	44
4 ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ.....	45
4.1 Предпроектный анализ	45
4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования	45
4.1.2 Анализ конкурентных технических решений	45
4.1.3 SWOT-анализ.....	47
4.2 Планирование научно-исследовательских работ	50
4.2.1 Структура работ в рамках научного исследования	50
4.2.2 Определение трудоемкости выполнения работ	51
4.2.3 Разработка графика проведения научного исследования	52
4.3 Бюджет научно-технического исследования (НТИ)	57
4.3.1 Расчет материальных затрат исследования.....	57
4.3.2 Расчет затрат на специальное оборудование для научно-технического исследования	58
4.3.3 Основная заработная плата исполнителей темы	60
4.3.4 Дополнительная заработная плата исполнителей темы	62
4.3.5 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления).....	62
4.3.6 Накладные расходы	63
4.3.7 Прочие прямые затраты.....	64
4.3.8 Формирование бюджета затрат научно-исследовательского проекта	64
4.4 Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования.....	65
5 СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ.....	69
5.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности	69
5.2 Производственная безопасность	71
5.3 Анализ потенциальных опасных и вредных производственных факторов.....	73

5.3.1 Производственные факторы, обладающие свойствами химического воздействия на организм человека	74
5.3.2 Факторы, связанные с аномальными микроклиматическими параметрами воздушной среды на местонахождении работающего	75
5.3.3 Отсутствие или недостаток необходимого искусственного освещения	76
5.3.4 Повышенный уровень шума	77
5.3.5 Длительное сосредоточенное наблюдение.....	77
5.4 Обоснование мероприятий по снижению уровней воздействия опасных и вредных факторов на исследователя.....	78
5.5 Экологическая безопасность.....	79
5.5.1 Анализ влияния объекта на атмосферу.....	80
5.5.2 Анализ влияния процесса исследования на гидросферу	80
5.5.3 Анализ влияния процесса исследования на литосферу	80
5.6 Безопасность в чрезвычайных ситуациях	80
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	84
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	85

ВВЕДЕНИЕ

Научно-исследовательская работа связана с синтезом конъюгатов на основе фермента-инвертазы и иммуноглобулинов класса G, для определения антител к клещевому боррелиозу (болезнь Лайма) с измерением аналитического сигнала персональным глюкометром.

Основная идея и новизна проекта заключается в осуществлении возможности замены традиционно используемой ферментной метки (пероксидазы хрена) в конъюгатах для иммуноферментного метода анализа на более дешёвый и доступный фермент-инвертазу. Инвертаза-это фермент, катализирующий гидролиз сахарозы (столового сахара) на фруктозу и глюкозу. Образование продукта реакции – глюкозы открывает возможности измерения антител или антигенов персональным глюкометром, что расширяет возможности домашней персонализированной медицины, для снижения нагрузки на стационары и клинические лаборатории в период пандемии.

Объектами исследования в данной работе являются инвертаза и ее конъюгаты с иммуноглобулинами.

Цель исследования: Осуществить синтез и исследовать ферментную активность конъюгатов на основе инвертазы и антител для задач иммуноанализа.

Задачи исследования:

1. Осуществить входной контроль активности инвертазы методом Лайнуивера-Берка с последующим определением глюкозы глюкозооксидазным методом;
2. Осуществить синтез конъюгатов на основе инвертазы против специфических иммуноглобулинов клещевого боррелиоза (болезнь Лайма);
3. Определить активность конъюгатов методом Лайнуивера-Берка с последующим определением глюкозы глюкозооксидазным методом;
4. Провести калибровку персонального глюкометра по стандартным растворам глюкозы;

5. Провести апробацию конъюгатов на основе инвертазы через определение специфических иммуноглобулинов (Ig G) клещевого боррелиоза (болезнь Лайма).

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Способы получения инвертазы

Инвертаза - это фермент, относящийся к семейству 32 гликозил-гидролаз, обозначаемое как GH32. Систематическое название инвертазы – β -фруктофуранозидаза. Альтернативные названия инвертазы включают ЕС 3.2.1.26, сахаразу, глюкозукразу, бета-н-фруктозидазу, бета-фруктозидазу, инвертин, сахаразу, maxinvert L 1000, фруктозилинвертазу, щелочную инвертазу, кислотную инвертазу. Инвертаза широко изучается из-за ее потенциального применения в пищевой промышленности, так же она катализирует гидролиз сахарозы до глюкозы и фруктозы в эквимольной смеси [1]

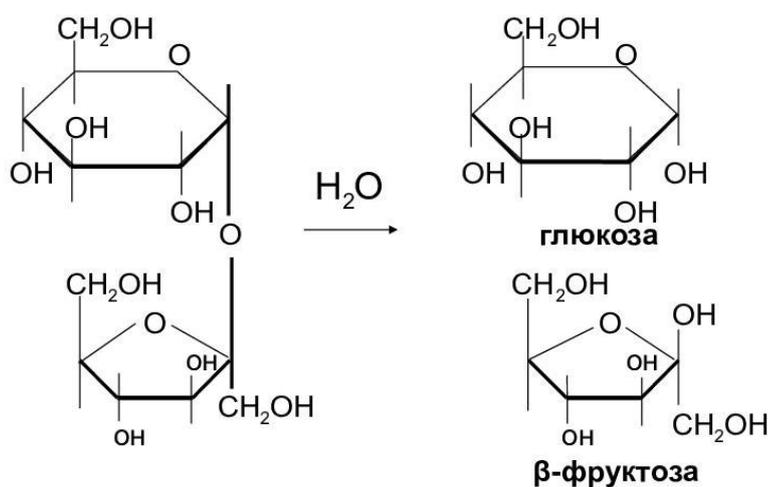


Рисунок 1 – Схема расщепления сахарозы инвертазой [2]

Оптимальная температура, при которой скорость реакции достигает максимума, составляет 60 °С, а оптимальный pH составляет 4,5. Обычно сахар инвертируют серной кислотой или лимонной кислотой [3].

В природе источниками инвертазы являются [1]:

1. Дрожжи: Инвертаза присутствует в дрожжах, и ее можно извлечь путем выделения фермента из целых клеток дрожжей. В таких как *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis* и *Pichia sp.*

2. Растительные источники: Инвертаза содержится в цитрусовых, яблоках, грушах, дынях и других фруктах и овощах. Фермент можно извлечь путем экстрагирования фруктовых и овощных тканей.

3. Индустриальное производство: Инвертазу также можно производить промышленным способом, используя культуры микроорганизмов, таких как *E. coli*, *Pichia pastoris*, *Aspergillus*, *Aureobasidium* и *Penicillium*.

4. Биотехнология: Существует множество методов, используемых в биотехнологии для создания инвертазы, таких как рекомбинантная ДНК-технология, генетический инжиниринг, карликовая культура и др.

Извлечение инвертазы из естественных источников дешевле и проще, чем производство фермента путем биотехнологических процессов. Однако, использование биотехнологии может давать более высокие выходы и надежность в качестве продукции, что в свою очередь упрощает процесс коммерческой продукции.

1.2 Методы оценки активности конъюгатов на основе инвертазы и иммуноглобулинов

Каталитическая характеристика ферментов определяется кинетическими константами, которые связывают скорость реакции с концентрацией субстрата в соответствии с уравнением Михаэлиса-Ментена [4]. В общей ОФС.1.2.4.0013.15 Определение активности ферментных препаратов представлен алгоритм оценки кинетики реакций, катализируемых ферментами, в присутствии различных концентраций субстрата. Определяют каталитические константы из кинетических кривых Михаэлиса-Ментена,

Существует несколько методов изучения активности инвертазы:

1. Метод определения концентрации глюкозы:

Этот метод основан на том, что инвертаза способна превратить сахарозу в равные молярные концентрации глюкозы и фруктозы. После реакции сахарозы с инвертазой, концентрация глюкозы измеряется. Один из возможных вариантов определения глюкозы это глюкозооксидазный метод, основанный на образовании цветного комплекса (хинонимин). Реакция образования хинонимина представлена на рисунке 2[5].

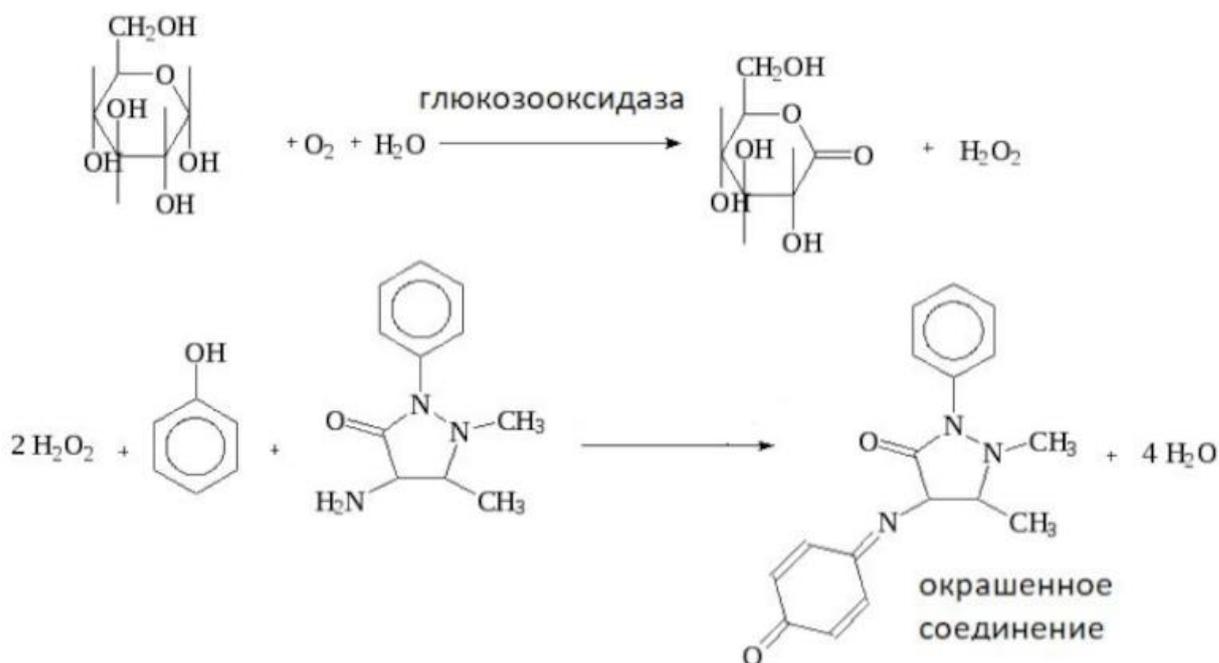


Рисунок 2 – Реакция получения хинонимина

Хинонимин поглощает свет при длине волны 510 нм, что позволяет провести анализ на спектрофотометре, что позволяет найти концентрацию глюкозы через Закон Бугера — Ламберта — Бера.

2. Метод Фелинга [6]:

Этот метод заключается в том, что инвертаза превращает сахарозу в глюкозу, которая окрашивает раствор смеси Фелинга. Реактив включает два компонента: щелочной раствор тартрата натрия-калия и раствор сульфата меди в специально подобранных концентрациях; как правило, реактив готовится непосредственно перед анализом путём смешения равных объемов двух указанных растворов. Реакция образует осадок оксида меди, который можно измерять для определения активности инвертазы.

3. Метод Вознесенского [7]:

Метод основан на определенной зависимости между содержанием сахаров в растворе и обесцвечиванием его после кипячения с жидкостью Феллинга и последующим фотометрическим анализом.

1.3 Синтез конъюгатов на основе инвертазы и иммуноглобулинов

В иммуноферментном анализе используют биоконъюгаты, состоящие из молекул белка, меченные ферментной меткой. Для эффективности метода, белок должен сохранять свою иммунологическую активность, а ферментная метка не должна потерять свою активность. При правильном создании биоконъюгата в соотношении 1:1, возникают стерические препятствия при проведении иммунной реакции, что может произойти из-за увеличенного количества молекул фермента. Однако, недостаток молекул фермента также может привести к снижению активности, поэтому важно найти равномерное соотношение. Для очистки биоконъюгатов от растворителей и других примесей часто используют метод диализа, а также реже - гельфильтрацию и аффинную хроматографию [8].

Одни из самых распространённых методов получения конъюгатов являются периодатный метод и метод с использованием глутарового альдегида.

1.3.1 Периодатный метод получения конъюгатов

Самым распространённым способом ковалентной «пришивки» антител с ферментной меткой является периодатный метод, схема синтеза на рисунке 3 [9]. Этот метод был разработан японскими учеными Накане и Каваои. Основная цель этого метода - получение биоконъюгатов инвертазы с иммуноглобулинами. Метод основан на образовании активных альдегидных групп в молекуле пероксидазы инвертазы.

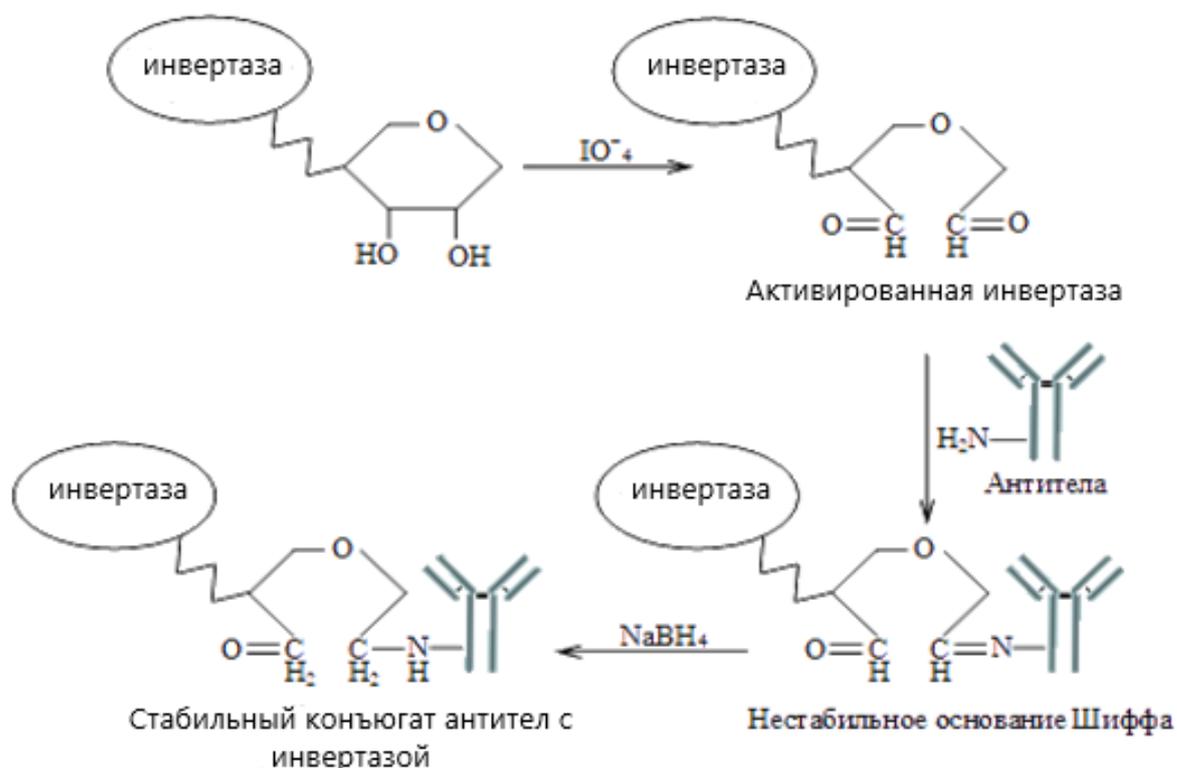


Рисунок 3 – Схема периодатного метода [9]

Окисление полисахаридных цепей инвертазы периодатом натрия приводит к образованию активных альдегидных групп. Альдегидные группы взаимодействуют с аминогруппами иммуноглобулинов, что приводит к образованию нестабильных оснований Шиффа. Полученные основания стабилизируются путем восстановления их боргидридом натрия [10].

1.3.2 Метод получения конъюгатов с использованием глутарового альдегида

Глутаровый альдегид был одним из первых и до сих пор остается одним из наиболее часто используемых сшивающих агентов для создания конъюгатов АТ-фермент. Процесс сшивания, включает в себя механизм, образования основания Шиффа с возможной перегруппировкой в стабильный продукт, с помощью цианоборгидрида натрия с образованием стабильных вторичных аминных связей [11] Схема синтеза представлена на рисунке 4.

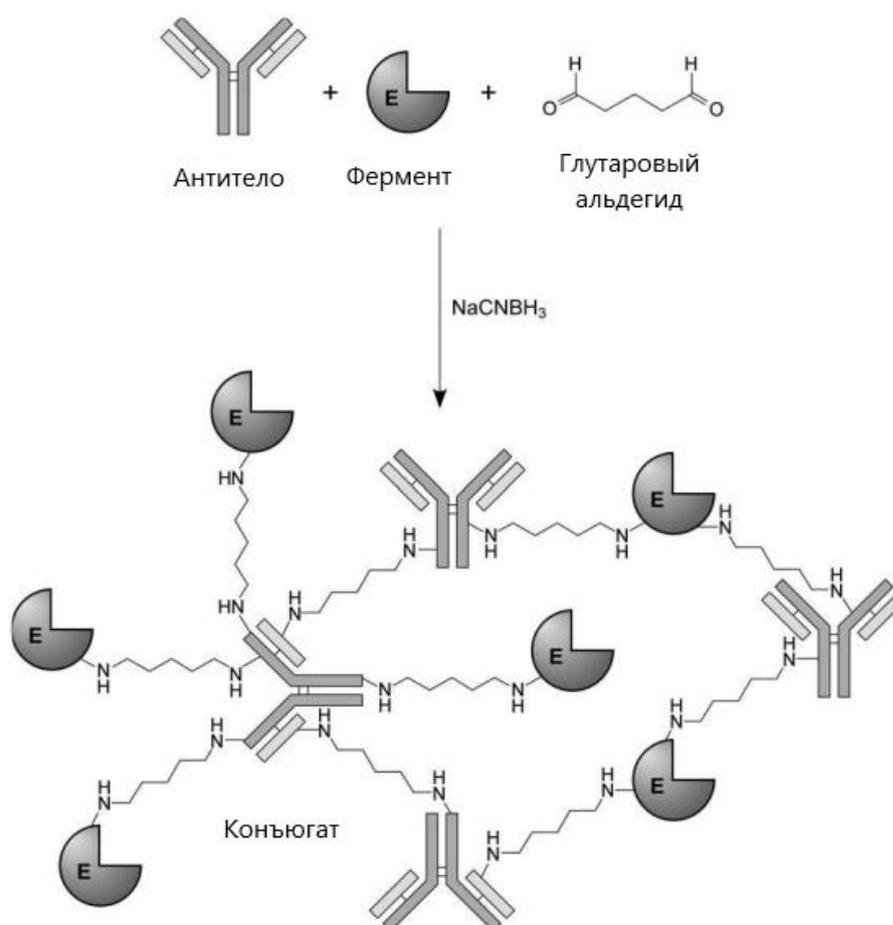


Рисунок 4 – Схема синтеза с глутаровым альдегидом[11]

1.4 Примеры использования персонального глюкометра для задач иммунохимии

Известны работы по разработке сенсорных систем с использованием глюкометров для скрининга аналитического сигнала, возникшего в каскаде реакций с образованием D-глюкозы. Так, например, в работе авторов [12] предложена иммуносенсорная система для определения сердечного биомаркера –миоглобина для ранней диагностики инфаркта миокарда. На рисунке 5 продемонстрирована работа такой сенсорной системы.

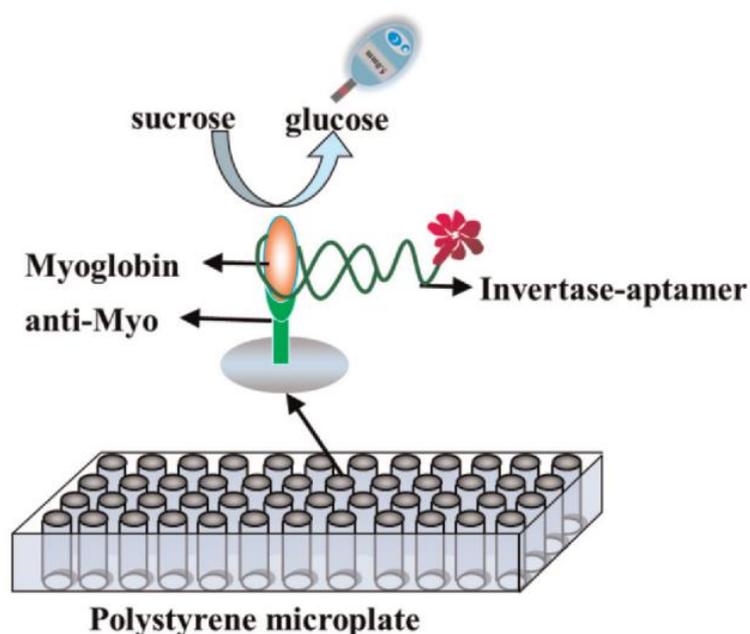


Рисунок 5 – Схема обнаружения миоглобина с использованием аптамера и персонального глюкометра

В работе авторами [12] предложено синтезировать конъюгат на основе аптамера и инвертазы, субстратом является сахароза. Измерение аналитического сигнала связано с определением глюкозы персональным глюкометром.

Кроме того, известны работы по использованию персональных глюкометров для измерения лактозы в молоке и других молочных продуктах [13], фунгицидов в сельскохозяйственных объектах [14], токсинов в продуктах питания [15] в различных конструкциях иммуносенсоров.

1.5 Классификация методов ИФА

Данная работа посвящена синтезу конъюгатов на основе инвертазы и иммуноглобулинов IgG для определения антител к болезни Лайма и определение с использованием персонального глюкометра. В перспективе такие конъюгаты могут использоваться в ИФА для обнаружения антител к клещевому боррелиозу. В связи с этим в работе приведен краткий обзор методов ИФА и способов диагностики болезни Лаймы.

Иммуноферментный анализ – это распространенный иммунобиологический метод анализа, который используется для количественно и качественного выявления специфических иммуноглобулинов к определенным возбудителям различных болезней – антигенам. Методы ИФА предполагают три последовательных этапа: 1) Формирование комплекса АГ-АТ, 2) Связывание биоконъюгата с комплексом АГ-АТ, 3) Получение аналитического сигнала от метки биоконъюгата и его детектирование [16].

Методы ИФА разделяют на две большие категории, представленные на рисунке 6: тип I – определение специфического иммунного комплекса анализируемого соединения, тип II – определение оставшихся свободными центров специфического связывания [17].



Рисунок 6 – Классификация методов ИФА [17]

1.6 Конъюгаты и субстраты, используемые в ИФА

В ИФА используются субстраты, которые связываются с ферментной меткой, образуя продукт для последующего обнаружения исследуемого комплекса АГ-АТ [18]. При выборе субстрата учитывается природа ферментной метки.

Субстраты и хромогены должны соответствовать ряду требований. Субстрат при взаимодействии с ферментом должен обеспечивать высокую чувствительность метода. Кроме того, при смешивании субстрата с хромогеном, образующийся продукт должен быть ярко окрашен для дальнейшего обнаружения [19]. Важно, чтобы продукт реакции не выпадал в осадок и имел высокий показатель поглощения.

Ферментные метки, которые используются в ИФА – ПХ, бета-D-галактозидаза и щелочная фосфатаза [20]. Для ПХ субстратом является H_2O_2 . При использовании метода фотометрии для количественного определения продукта ферментной реакции используют вещества-проявители, такие как хромогены, которые образуют интенсивно окрашенные продукты при взаимодействии с O_2 , высвобождаемым при взаимодействии ПХ с H_2O_2 . Соединения хромогены [21]: 2,2'-азинобис-(3-этилбензтиазолин)-6-сульфоная кислота (АБТС), тетраметилбензидин (ТМБ), ортофенилдиамин (ОФД).

Продукт окисления ТМБ дает синее окрашивание анализируемого раствора, при добавлении H_2SO_4 , в качестве стоп-реагента, окраска раствора меняется на ярко желтую окраску. ТМБ широко используется в ИФА из-за его преимуществ, таких как отсутствие мутагенности и канцерогенности в продуктах окисления [21]. Показатель поглощения определяется при длине волны равной 450 нм (рис. 7)

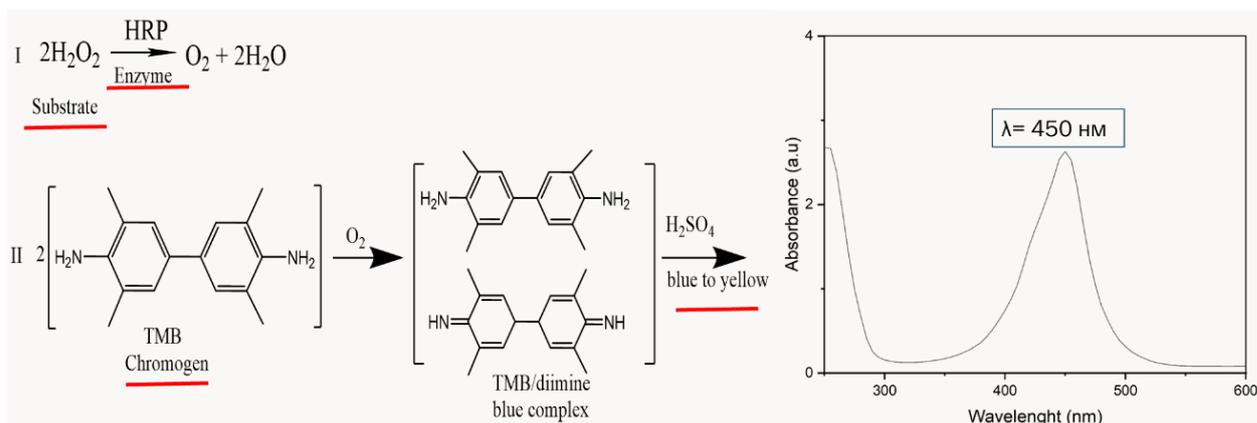


Рисунок 7 – Схема ферментативной реакции ПХ в отношении ТМБ и спектр поглощения продукта окисления ТМБ

Показатель поглощения для ОФД определяются при длине волны равной 492 нм. Для АБТС показатель поглощения определяется при длине волны 405-414 нм [20], окрас раствора при этом приобретает зелено-голубой цвет. Реакция с АБТС не останавливается.

В методах ИФА используются различные способы детектирования аналитического сигнала. Выбор способа детекции основывается на природе метки, используемой в анализе. Спектрофотометрия, записывающая спектр поглощения окрашенного продукта взаимодействия проявителя со ферментной меткой, является наиболее распространенным методом [22]. Данный способ довольно прост, однако требует использования специальных спектрофотометров для ИФА планшетов – ридеров. Для флуорометрического и хемилюминесцентного способов детектирования используются индикаторные системы, основанные на п-оксифенилпропионовой кислоте и H₂O₂, п-иодфеноле, люминоле соответственно [22]. Отдельно выделяется электрохимический метод детектирования аналитического сигнала от полученного комплекса АГ-АТ.

1.7 Болезнь Лайма: общие сведения и способы диагностики

Болезнь Лайма это рецидивирующая трансмиссивная природно-очаговая инфекция, вызываемая спирохетой *Borrelia burgdorferi* [23].

Данное заболевание развивается в три этапа [23]:

1. Первый этап характеризуется лихордкой и кожной сыпью, инкубационный период составляет от 3 до 33 дней после укуса клеща.
2. Второй – развитие патологий сердечно-сосудистой системы, а также проявление неврологических отклонений таких, как паралич Белла, асептический менингит, периферические невропатии. Время проявления данного этапа наступает после четырех недель.
3. Для третьего этапа характерно развитие артрита. Время проявления данного этапа наступает от шести недель до нескольких лет.

Постановка диагноза основывается на выявлении специфических антител классов IgM и IgG к боррелиям методом иммуноферментного анализа. Для более точной диагностики заболевания используют алгоритм проведения анализа, представленный на рисунке 8 [24].



Рисунок 8 – Алгоритм проведения анализа [24]

4.1 Предпроектный анализ

Научно-исследовательская работа связана с синтезированием новых конъюгатов на основе инверазы и иммуноглобулинов для использования их в электрохимическом иммуноанализе.

4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Потенциальными потребителями являются инфекционные медицинские учреждения, проводящие анализы крови, а также фармацевтические компании, медицинские учреждения и лаборатории разных профилей, диагностические центры.

4.1.2 Анализ конкурентных технических решений

В лабораторной диагностике по определению антигена клещевого боррелиоза (болезнь Лайма) применяются два основных метода анализа: иммуноферментный (Б_{К1}) и полимеразная цепная реакция (Б_{К2}). В иммуноферментном анализе антиген определяют методом спектрофотометрии. Но у этого метода есть такие недостатки, как использование специальных нанообъемных спектрофотометров (ридеров) из-за малых объемов анализируемого раствора, длительное время анализа, связанное с включением дополнительного этапа постановки ферментной реакции с использованием стоп-реагентов, ограниченный срок службы и низкая селективность. В основе полимеразная цепной реакции лежит многократное увеличение малых концентраций фрагментов РНК и ДНК. На чувствительность и специфичность ПЦР теста серьезно влияют правила и условия его проведения.

Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения позволяет провести оценку сравнительной эффективности научной разработки и определить направления для ее будущего повышения.

Анализ конкурентных технических решений определяется по формуле:

$$K = \sum B_i \cdot B_j \quad (2)$$

где K – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;

B_i – вес показателя (в долях единицы);

B_j – балл i -го показателя.

Целесообразно проводить данный анализ с помощью оценочной карты, которая приведена в таблице 10

Таблица 10– Оценочная карта для сравнения конкурентных разработок

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы			Конкурентоспособность		
		B_{ϕ}	B_{K1}	B_{K2}	K_{ϕ}	K_{K1}	K_{K2}
1	2	3	4	5	6	7	8
Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Точность определения	0.1	4	5	4	0.4	0.5	0.4
2. Удобство в эксплуатации	0.2	5	2	2	1	0.4	0.4
3. Экспрессность	0.1	5	4	4	0.5	0.4	0.4
Экономические критерии оценки эффективности							
1. Конкурентоспособность разработки	0.1	3	5	3	0.3	0.5	0.3
2. Стоимость оборудования	0.2	5	4	3	0.5	0.4	0.3
3. Затраты на подготовку специалиста	0.1	4	4	3	0.4	0.4	0.3
4. Стоимость реактивов	0.2	4	4	3	0.4	0.4	0.3
Итого	1	30	28	22	3.5	3.0	2.4

B_{ϕ} – наша разработка;

B_{K1} – иммуноферментный анализ;

B_{K2} – полимеразная цепная реакция.

По результатам оценочной карты сравнения конкурентных методов анализа по определению антигена клещевого боррелиоза можно сделать вывод

о том, что основным конкурентом метода измерения персональным глюкометром является иммуноферментный анализ.

4.1.3 SWOT-анализ

SWOT – Strengths (сильные стороны), Weaknesses (слабые стороны), Opportunities (возможности) и Threats (угрозы) – представляет собой метод стратегического планирования, заключающийся в выявлении факторов внутренней и внешней среды организации.

Первым этапом является описание сильных и слабых сторон проекта, выявление возможностей и угроз для реализации проекта, которые проявились или могут появиться в его внешней среде. Результаты SWOT – анализа приведены в таблице 11.

Таблица 11 – Матрица SWOT

	<p>Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1. Простота использования; С2. Доступность реагентов; С3. Экспрессность.</p>	<p>Слабые стороны научно-исследовательского проекта: Сл1. Не точная воспроизводимость результатов; Сл2. Необходимость специализированных реактивов; Сл3. Необходимость наличия глюкометра.</p>
<p>Возможности: В1. Возможность использования для домашней персонализированной медицины; В2. Использование в разработке в промышленных масштабах; В3. Появление дополнительного спроса на новый продукт. В4. Разработка методики определения других антигенов.</p>		

Угрозы: У1. Отсутствие спроса на продукт; У2. Развитая конкуренция имеющихся методов анализа. У3. Отсутствие необходимых реактивов.		
---	--	--

Вторым этапом является построение интерактивной матрицы проекта на основании таблицы SWOT. Ее использование помогает разобраться с различными комбинациями взаимосвязей областей матрицы SWOT. Каждый фактор помечается либо знаком «+» (означает сильное соответствие), либо знаком «-» (что означает слабое соответствие). Пример интерактивной матрицы проекта представлен в таблицах 12 и 13.

Таблица 12 – Интерактивная матрица возможностей проекта

Возможности	Сильные стороны			Слабые стороны		
	С1	С2	С3	Сл1	Сл2	Сл3
В1	+	+	+	-	-	+
В2	+	+	+	-	+	+
В3	+	+	+	-	+	+
В4	+	+	-	+	-	+

Таблица 13 – Интерактивная матрица угроз проекта

Угрозы	Сильные стороны			Слабые стороны		
	С1	С2	С3	Сл1	Сл2	Сл3
У1	-	-	-	+	+	+
У2	+	-	-	+	+	+
У3	-	-	-	+	+	-

Таким образом, в рамках третьего этапа может быть составлена итоговая матрица SWOT-анализа, представленная в таблице 5.

Таблица 14 – SWOT-анализ

	<p>Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1. Простота использования; С2. Доступность реагентов; С3. Экспрессность.</p>	<p>Слабые стороны научно-исследовательского проекта: Сл1. Не точная воспроизводимость результатов; Сл2. Необходимость специализированных реактивов; Сл3. Необходимость наличия глюкометра.</p>
<p>Возможности: В1. Возможность использования для домашней персонализированной медицины; В2. Использование разработки в промышленных масштабах; В3. Появление дополнительного спроса на новый продукт. В4. Разработка методики определения других антигенов.</p>	<p>Благодаря спросу на новый продукт, появляется возможность использовать его в качестве альтернативного метода анализа в домашней персонализированной медицине и в промышленных масштабах. Кроме того, возможно увеличить спектр определяемых антигенов.</p>	<p>Отсутствие у производителя квалифицированных кадров и долгий срок поставок материалов и оборудования могут негативно сказаться на успешном внедрении данного продукта, а соответственно, на его спросе.</p>
<p>Угрозы: У1. Отсутствие спроса на продукт; У2. Развитая конкуренция имеющихся методов анализа; У3. Отсутствие необходимых реактивов.</p>	<p>Низкая стоимость и экспрессность могут сделать предлагаемую методику конкурентоспособной.</p>	<p>Отсутствие спроса на новые методы и развитая конкуренция методов обусловлено тем, что данный продукт разрабатывается без прототипа научной разработки. Несвоевременное финансовое обеспечение научного исследования приводит к тому, что для проведения испытаний и опытов не хватает оборудования и реактивов, которые приводят к большим затратам времени на проведение научных исследований</p>

В результате SWOT-анализа выявлено, что для данного проекта характерен некий баланс сильных и слабых сторон, а также возможностей и угроз. При правильно разработанной концепции продвижения проекта, можно внедрить продукт на рынок производства и сбыта.

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, научный руководитель, консультант по части социальной ответственности (СО) и консультант по экономической части (ЭЧ) выпускной квалификационной работы.

Планирование комплекса предполагаемых работ осуществляется в следующем порядке:

1. определение структуры работ в рамках научного исследования;
2. определение участников каждой работы;
3. установление продолжительности работ;
4. построение графика проведения научных исследований.

Примерный порядок составления этапов и работ, распределение исполнителей по данным видам работ приведен в таблице 15.

Таблица 15 – Перечень этапов, работ и распределение исполнителей

Основные этапы	№ раб	Содержание работ	Должность исполнителя
Разработка технического задания	1	Выбор направления исследования	Научный руководитель, бакалавр
Выбор направления исследований	2	Подбор и изучение литературных данных	Бакалавр
	3	Обсуждение проработанных данных и составление плана работ	Научный руководитель, бакалавр
	4	Литературный обзор	Бакалавр

Теоретические и экспериментальные исследования	5	Подготовка необходимого оборудования и образцов для исследования	Научный руководитель, бакалавр
	6	Проведение экспериментов и получение результатов	Бакалавр
	7	Проведение расчетов и их обоснование на основании экспериментальных данных	Научный руководитель, бакалавр
	8	Сопоставление полученных результатов с теоретическими исследованиями	Научный руководитель, бакалавр
Обобщение и оценка результатов	10	Определение целесообразности проведения ВКР	Научный руководитель, бакалавр
Проведение ВКР			
	11	Оценка ресурсоэффективности проекта	Бакалавр
	12	Разработка социальной ответственности по теме	Бакалавр
Оформление комплекта документации по ВКР	13	Составление пояснительной записки	Бакалавр
Сдача выпускной квалификационной работы	14	Подготовка к защите ВКР	Бакалавр

4.2.2 Определение трудоемкости выполнения работ

Трудовые затраты в большинстве случаев образуют основную часть стоимости разработки, поэтому важным моментом является определение трудоемкости работ каждого из участников научного исследования.

Трудоемкость выполнения проекта измеряется в человеко-днях и носит вероятностный характер, т.к. зависит от множества трудно учитываемых факторов. Для определения ожидаемого (среднего) значения трудоемкости $t_{ожі}$ используется следующая формула:

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

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:

$$T_{p_i} = \frac{t_{ожі}}{Ч_i} \quad (4)$$

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 расчетов представлены в таблице 16.

4.2.3 Разработка графика проведения научного исследования

При выполнении дипломных работ студенты в основном становятся участниками сравнительно небольших по объему научных тем. Поэтому наиболее удобным и наглядным является построение ленточного графика проведения научных 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 из этапов работ из рабочих дней следует перевести в календарные дни. Для этого необходимо воспользоваться следующей формулой:

$$T_{ki} = T_{pi} \cdot k_{\text{кал}} \quad (5)$$

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.

Коэффициент календарности определяется по следующей формуле:

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{T_{\text{кал}} - T_{\text{вых}} - T_{\text{пр}}} \quad (6)$$

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 2022/2023 учебного года составляет 365. Выходные и праздничные дни примем 52 и 14 соответственно.

Тогда коэффициент календарности составит:

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

В таблице 16 представлены временные показатели проведения научного исследования.

Таблица 16 – Временные показатели проведения научного исследования, где НР – научный руководитель; Б – бакалавр.

Название работы	Трудоёмкость работ			Исполнители	Раб. дни T_{pi}	Кал. дни T_{ki}
	t_{min} , чел-дни	t_{max} , чел-дни	$t_{\text{ож}}$, чел-дни			
Выбор направления исследования	1	2	1,4	НР	1,4	2
	1	2	1,4	Б	1,4	2

Продолжение таблицы 16

Подбор и изучение литературных данных	3	7	4,6	Б	4,6	6
Обсуждение проработанных данных и составление плана работ	1	3	1,8	НР	1,8	3
	1	3	1,8	Б	1,8	3
Литературный обзор	7	14	9,8	Б	9,8	12
Подготовка необходимого оборудования и образцов для исследования	7	10	8,2	НР	8,2	10
	7	10	8,2	Б	8,2	10
Проведение экспериментов и получение результатов	30	35	32	Б	32	30
Проведение расчетов и их обоснование на основании экспериментальных данных	2	3	2,4	НР	2,4	3
	2	7	4	Б	4	5
Сопоставление полученных результатов с теоретическими исследованиями	2	4	2,8	НР	2,8	4
	4	7	5,2	Б	5,2	7
Определение целесообразности проведения ВКР	3	5	3,8	НР	3,8	5
	3	5	3,8	Б	3,8	5
Оценка ресурсоэффективности проекта	5	10	7	Б	7	9
Разработка социальной ответственности по теме	3	7	4,6	Б	4,6	6
Составление пояснительной записки	15	25	19	Б	19	23
Подготовка к защите ВКР	3	5	3,8	Б	3,8	5
Итого					125,6	150
				Научный руководитель	20,4	27
				Бакалавр	105,2	123

Календарный план-график проведения научного исследования представлен в таблице 17.

Таблица 17 – Календарный план-график проведения научного исследования

Вид работ	Исполнители	T_{ki} , кал. дн.	Продолжительность выполнения работ													
			февр.		март			апрель			май			июнь		
			2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	
Выбор направления исследования	Научный руководитель	2	■													
	Бакалавр	2	■													
Подбор и изучение литературных данных	Бакалавр	6	■	■												
Обсуждение проработанных данных и составление плана работ	Научный руководитель	3		■												
	Бакалавр	3		■												
Литературный обзор	Бакалавр	12		■	■	■										
Подготовка необходимого оборудования и образцов для исследования	Научный руководитель	10				■	■									
	Бакалавр	10				■	■	■	■							
Проведение экспериментов и получение результатов	Бакалавр	30					■	■	■	■	■	■				
Проведение расчетов и их обоснование на основании экспериментальных данных	Научный руководитель	3								■						
	Бакалавр	5								■						

4.3 Бюджет научно-технического исследования (НТИ)

При планировании бюджета НТИ должно быть обеспечено полное и достоверное отражение всех видов расходов, связанных с его выполнением. В процессе формирования бюджета НТИ используется следующая группировка затрат по статьям:

1. материальные затраты НТИ;
2. затраты на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ;
3. основная заработная плата исполнителей темы;
4. дополнительная заработная плата исполнителей темы;
5. отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления);
6. затраты научные и производственные командировки;
7. контрагентные расходы;
8. накладные расходы.

4.3.1 Расчет материальных затрат исследования

Данный раздел включает стоимость всех материалов, используемых при разработке проекта, т.е. затраты на сырье и материалы, комплектующие изделия, используемые в качестве объектов исследования, а так же для эксплуатации и технического обслуживания используемого оборудования.

Значения цен на материальные ресурсы могут быть установлены по данным, размещенным на соответствующих сайтах в Интернете предприятиями-изготовителями (либо организациями-поставщиками).

Транспортные расходы принимаются в пределах 15-25% от стоимости материалов.

Расчет материальных затрат осуществляется по формуле:

$$Z_m = (1 + k_T) \cdot \sum_{i=1}^m C_i \cdot N_{расхi} \quad (7)$$

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

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

$Ц_i$ – 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.

Материальные затраты, необходимые для данной разработки, представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Материальные затраты

Наименование	Единица измерения	Количество	Цена за ед., руб.	Затраты на материалы, (З _м), руб.
Инвертаза	мл	0,5	6000	3000
Сахароза	г	250	500	250
Лимонная кислота	г	100	1500	6
Набор реагентов для ИФА анализа D-5501 болезнь Лайма АО «Вектор-Бест»	шт.	1	16000	16000
Набор для определения глюкозы GOD	шт.	1	2450	2450
Колбы мерные на 50 и 100 см ³	шт.	10	120	1200
Эппендорфы на 2 мл	шт.	100	7	700
Пенициллинки на 10 мл	шт.	10	45	450
Стаканы лабораторные 50 см ³	шт.	4	40	160
Итого				24216

4.3.2 Расчет затрат на специальное оборудование для научно-технического исследования

Затраты на оборудование для научно-экспериментальных работ представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Затраты на оборудование для научно-экспериментальных работ

№ п/п	Наименование оборудования	Кол-во единиц оборудования	Цена единицы оборудования, тыс. руб.	Общая стоимость оборудования, тыс. руб.
1.	Весы аналитические (класс точности 0,0001 г., Россия)	1	35000	35000
2.	Дозатор 1-канальный переменного объема 20-200 мкл (Россия)	1	10000	10000
3.	Дозатор 1-канальный переменного объема 100-1000 мкл (Россия)	1	7000	7000
4.	Дозатор 1-канальный переменного объема 500-5000 мкл (Россия)	1	15000	15000
5.	Глюкометр Contour TS	1	1000	1000
Итого:				68000

Стоимость оборудования, используемого при выполнении исследования, имеющегося в распоряжении Отделения химической инженерии ТПУ, свыше сорока тысяч рублей, учитывалась в виде амортизационных отчислений. Срок полезного использования оборудования – 40 дней.

Величина амортизации для оборудования рассчитывается по следующей формуле:

$$A = \frac{C_{\text{перв}} \cdot N_a \cdot a}{100 \cdot 12} \quad (8)$$

Где $C_{\text{перв}}$ – первоначальная стоимость, руб;

N_a – норма амортизации, %;

a – срок работы, месяц.

Норма амортизации определяется по формуле:

$$N_a = \frac{1}{T} \cdot 100\% \quad (9)$$

Где T – срок эксплуатации, год.

Затраты на оборудование с учетом амортизационных отчислений представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Затраты на оборудование с учетом амортизационных отчислений

Наименование оборудования	Цена оборудования, руб.	Эксплуатация оборудования, кол-во лет	Амортизация, руб.
Термостат BioShake IQ	1014000	5	22224,66
Спектрофотометр Agilent Cary 660	650000	10	7123,29
Итого:			29347,95

4.3.3 Основная заработная плата исполнителей темы

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

$$Z_{\text{зп}} = Z_{\text{осн}} + Z_{\text{доп}} \quad (10)$$

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

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

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

$$Z_{\text{осн}} = Z_{\text{дн}} \cdot T_p \quad (11)$$

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

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

В таблице 21 приведен баланс рабочего времени каждого работника принимающего участие в рамках данной ВКР.

Таблица 21 – 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	48	48
- невыходы по болезни		
Действительный годовой фонд рабочего времени	251	251

Месячный должностной оклад работника:

$$Z_m = Z_{тс} \cdot (1 + k_{пр} + k_d) \cdot k_p \quad (12)$$

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

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

k_d – коэффициент доплат и надбавок;

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

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$$Z_{дн} = \frac{Z_m \cdot M}{F_d} \quad (13)$$

где Z_m – месячный должностной оклад работника, руб.;

M – количество месяцев работы без отпуска в течение года:

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

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

F_d – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб. дн.

$$Z_{\text{осн}} = Z_{\text{дн}} \cdot T_p \quad (14)$$

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

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

В таблице 22 приведен расчет основной заработной платы.

Таблица 22 – Расчёт основной заработной платы

Исполнители	Оклад	$k_{\text{пр}}$	$k_{\text{д}}$	$k_{\text{р}}$	$Z_{\text{м}}$, руб	$Z_{\text{дн}}$, руб.	T_p , раб. дн.	$Z_{\text{осн}}$, руб.
Научный руководитель	39300	0,3	0,35	1,3	84298,5	3492,8	20	69856
Бакалавр	20064	-	-	1,3	26083,2	1080,7	105	113473,5

4.3.4 Дополнительная заработная плата исполнителей темы

Расчет дополнительной заработной платы рассчитывается по формуле:

$$Z_{\text{доп}} = k_{\text{доп}} \cdot Z_{\text{осн}} \quad (15)$$

где $k_{\text{доп}}$ – коэффициент дополнительной заработной платы (на стадии проектирования принимается равным 0,12 – 0,15).

Общая заработная плата исполнителей работы с учетом дополнительной заработной платы в 15% представлена в таблице 23

Таблица 23 – Полная заработная плата исполнителей

Заработная плата	Руководитель	Бакалавр
Основная зарплата	69856	113473,5
Дополнительная зарплата	10478,4	17021
Итого	80334,4	130494,5

4.3.5 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления)

В данной статье расходов отражаются 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 отчислений во внебюджетные фонды определяется исходя из следующей формулы:

$$Z_{\text{внеб}} = k_{\text{внеб}} \cdot (Z_{\text{осн}} + Z_{\text{доп}}) \quad (16)$$

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 24.

Таблица 24 – Отчисления во внебюджетные фонды

Исполнитель	Основная заработная плата, руб.	Дополнительная заработная плата, руб.
Научный руководитель	69856	10478,4
Бакалавр	113473,5	17021
Коэффициент отчислений во внебюджетные фонды	0,30	
Итого:		
Научный руководитель	24100,32	
Бакалавр	39148,35	

4.3.6 Накладные расходы

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

$$Z_{\text{накл}} = (\text{сумма статей } 1 \div 7) \cdot k_{\text{нр}} \quad (17)$$

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

Величину коэффициента накладных расходов можно взять в размере 16% от общей суммы затрат.

4.3.7 Прочие прямые затраты

В данной статье рассчитывается затраты на электроэнергию, потребляемую оборудованием. По формуле:

$$E = P \cdot t \cdot Ц \quad (18)$$

где P – мощность оборудования, кВт;

t – время использования, час;

$Ц$ – стоимость 1 кВт/час (5,8 руб.)

Расчеты представлены в таблице 25.

Таблица 25 – затраты на электроэнергию

Оборудование	Потребляемая мощность, кВт	Время использования, час	Затраты, руб.
Весы аналитические	0,011	50	3,19
Термостат BioShake IQ	0,2	200	232
Спектрофотометр Agilent Cary 660	0,038	50	11,02
Итого			246,21

4.3.8 Формирование бюджета затрат научно-исследовательского проекта

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 научно-исследовательскую работы представлено в таблице 26.

Таблица 26 – Расчет бюджета затрат НТИ

Наименование статьи	Сумма, руб.	Примечание
1. Материальные затраты НТИ	24216	Таблица 18
2. Затраты на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ	97347,96	Таблица 19
		Таблица 20
3. Затраты по основной заработной плате исполнителей темы	183329,5	Таблица 22
4. Затраты по дополнительной заработной плате исполнителей темы	27499,4	Таблица 23
5. Отчисления во внебюджетные фонды	48997,65	Таблица 24
6. Прочие прямые затраты	246,21	Таблица 25
Итого основные расходы		
7. Накладные расходы	61061,8752	16% от суммы ст. 1-6
8. Бюджет затрат НТИ	442698,5952	Сумма ст. 1- 7

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

Определение эффективности происходит на основе расчета интегрального показателя эффективности научного показателя. Его

нахождение связано с определением двух средневзвешенных величин: финансовой эффективности и ресурсоэффективности.

Интегральный финансовый показатель разработки определяется по следующей формуле:

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

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

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

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

Полученная величина интегрального финансового показателя разработки отражает соответствующее численное увеличение бюджета затрат разработки в 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:

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

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

a_i – весовой коэффициент i -го варианта исполнения разработки;

b_i^a, b_i^p – 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 27.

Таблица 27 – Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

Критерии \ Объект исследования	Весовой коэффициент параметра	Исп.1 Текущий проект	Исп.2 ИФА	Исп.3 ПЦР
1. Рост производства	0,1	4	5	4
2. Удобство в эксплуатации (соответствует требованиям потребителей)	0,1	5	5	3
3. Цена (уменьшение себестоимости продукции)	0,2	4	4	3
4. Энергосбережение	0,2	4	3	4
5. Надежность	0,2	4	4	3
6. Материалоемкость	0,2	5	4	4
ИТОГО	1	26	25	21

$$I_{p-исп1} = 4 \cdot 0,1 + 5 \cdot 0,1 + 4 \cdot 0,2 + 4 \cdot 0,2 + 4 \cdot 0,2 + 5 \cdot 0,2 = 4,3;$$

$$I_{p-исп2} = 5 \cdot 0,1 + 5 \cdot 0,1 + 4 \cdot 0,2 + 3 \cdot 0,2 + 4 \cdot 0,2 + 4 \cdot 0,2 = 4,0;$$

$$I_{p-исп3} = 4 \cdot 0,1 + 3 \cdot 0,1 + 3 \cdot 0,2 + 4 \cdot 0,2 + 3 \cdot 0,2 + 4 \cdot 0,2 = 3,5.$$

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

$$I_{исп.1} = \frac{I_{p-исп1}}{I_{финр.1}}, \quad I_{исп.2} = \frac{I_{p-исп2}}{I_{финр.2}} \text{ и т.д.}$$

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

Сравнительная эффективность проекта (Θ_{cp}):

$$\mathcal{E}_{cp} = \frac{I_{исп.1}}{I_{исп.2}}$$

Сравнение значений интегральных показателей эффективности позволяет понять и выбрать более эффективный вариант решения поставленной в бакалаврской работе технической задачи с позиции финансовой и ресурсной эффективности. Данное сравнение представлено в таблице 28.

Таблица 28 – Сравнительная эффективность разработки

№ п/п	Показатели	Текущий проект	ИФА	ПЦР
1	Интегральный финансовый показатель разработки	0,4	0,6	0,6
2	Интегральный показатель ресурсоэффективности разработки	4,3	4,0	3,5
3	Интегральный показатель эффективности	10,75	6,66	5,83
4	Сравнительная эффективность вариантов исполнения	1,6	0,6	0,5

Проанализировав эффективности каждого исполнения, можно сделать вывод, что ресурсосбережение и ресурсоэффективность данного исполнения является наиболее эффективным.

Вывод по разделу:

В ходе проведения данной работы был разработан конкурентоспособный научно-исследовательский проект, отвечающий современным требованиям в области ресурсоэффективности, ресурсосбережения и финансового менеджмента

5 СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ

Научно-исследовательская работа направлена на синтезирование новых конъюгатов на основе наночастиц серебра и инвертазы для использования их в электрохимическом иммуноанализе. Работа выполнялась в лаборатории, находящейся в НИ ТПУ в 223 аудитории 2 учебного корпуса.

В качестве объекта исследования выбраны конъюгаты на основе фермента и специфического иммуноглобулина.

Проверка синтезированного конъюгата проводилась на персональном глюкометре Contour TS и спектрофотометре Agilent Cary 60, подключенном к персональному компьютеру.

Целью данной части ВКР является обеспечение социальной ответственности при выполнении экспериментальной части научно-исследовательской работы, а также и на производстве, заключающееся в создании безопасных, безвредных, благоприятных и комфортных условий труда.

5.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности

Правовую и организационную основу, при разработке проектного решения, обеспечения безопасности жизнедеятельности составляют Конституция Российской Федерации, общепризнанные принципы и нормы международного права, международные договоры Российской Федерации, федеральные конституционные законы, другие федеральные законы и иные нормативные правовые акты Российской Федерации, законы и иные нормативные правовые акты субъектов Российской Федерации, органов местного самоуправления, принятые в пределах их компетенции в области безопасности. Персонал, работающий в химикоаналитической лаборатории, относится к 4 классу. При выполнении работы с источником

электромагнитного излучения при наличии химических веществ с различным типом взаимодействия предполагается специальная оценка условий труда. Специальная оценка условий труда является единым комплексом последовательно осуществляемых мероприятий по идентификации вредных и (или) опасных факторов производственной среды и трудового процесса и оценке уровня их воздействия на работника с учетом отклонения их фактических значений от установленных уполномоченным Правительством Российской Федерации федеральным органом исполнительной власти нормативов (гигиенических нормативов) условий труда и применения средств индивидуальной и коллективной защиты работников. Во избежание несчастных случаев следует проводить обучение и проверять знания работников согласно [25].

Эргономическое проектирование рабочих пространств и рабочих мест производится для конкретных рабочих задач и видов деятельности с учетом антропометрических, биомеханических, психофизиологических и психических возможностей и особенностей работающих людей. Правильное расположение и компоновка рабочего места, обеспечение удобной позы и свободы трудовых движений, использование оборудования, отвечающего требованиям эргономики и инженерной психологии, обеспечивают наиболее эффективный трудовой процесс, уменьшают и предотвращают опасность возникновения профессиональных заболеваний.

В результате анализа условий труда при работе в лаборатории физико-химических методов анализа можно сделать вывод, что выполнение научно-исследовательской работы требует четкого соблюдения правил техники безопасности.

Согласно трудовому кодексу РФ [26] и федеральному закону РФ «О специальной оценке условий труда» статья 14 предусматривается [27]:

1. Сокращенная продолжительность рабочего времени устанавливается [ТК РФ Статья 92]: для работников, условия труда на рабочих местах которых по результатам специальной оценки условий труда

отнесены к вредным условиям труда или опасным условиям труда, - не более 36 часов в неделю;

2. Обеспечение работников средствами индивидуальной защиты, а также их хранение, стирку, сушку, ремонт и замену. Также оснащения рабочих мест средствами коллективной защиты [ТК РФ Статья 221];

3. Ежегодный дополнительный оплачиваемый отпуск работникам, занятым на работах с вредными и (или) опасными условиями труда [ТК РФ Статья 117];

4. Установления работникам предусмотренных ТК РФ гарантий и компенсаций [ТК РФ Статьи 182 – 188];

5. Предварительные и периодические медицинские осмотры [ТК РФ 213]: Работники, занятые на работах с вредными и (или) опасными условиями труда, а также на работах, связанных с движением транспорта, проходят обязательные предварительные (при поступлении на работу) и периодические (для лиц в возрасте до 21 года – ежегодные) медицинские осмотры для определения пригодности этих работников для выполнения поручаемой работы и предупреждения профессиональных заболеваний;

6. Работники имеют право на подготовку и дополнительное профессиональное образование [ТК РФ 197].

5.2 Производственная безопасность

Производственная безопасность сводится к защите человека и окружающей среды от негативного влияния производства. Основная цель производственной безопасности свести к минимуму поражения человека на рабочем месте. Большинство ядовитых веществ попадает в организм человека через органы дыхания. Это опасно из-за большой всасывающей способности слизистой оболочки носа и дыхательной поверхности легких.

Для обеспечения производственной безопасности необходимо проанализировать воздействия на человека вредных и опасных

производственных факторов, которые могут возникать при разработке или эксплуатации проекта.

Производственный фактор считается вредным, если воздействие этого фактора на работника может привести к его заболеванию. Производственный фактор считается опасным, если его воздействие на работника может привести к его травме.

В таблице 29 приведены основные вредные и опасные факторы при работе на спектрофотометре и персональном глюкометре.

Таблица 29 – Опасные и вредные факторы при определении активности конъюгата на спектрофотометре и персональном глюкометре

Факторы (ГОСТ 12.0.003-2015)	Нормативные документы
1. связанные с аномальными микроклиматическими параметрами воздушной среды на местонахождении работающего	СанПиН 2.2.4.548–96. Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений
2. Повышенный уровень вибрации и шума	ПНД Ф 12.13.1-03. Методические рекомендации. Техника безопасности при работе в аналитических лабораториях (общие положения); ГОСТ 12.1.003–83. Шум. Общие требования безопасности.
3. связанные с электрическим током	Приказ Министерства труда и социальной защиты РФ от 24 июля 2013 г. N 328н "Об утверждении Правил по охране труда при эксплуатации электроустановок" ГОСТ 12.1.019-79 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты» ГОСТ 12.1.002-84 «Допустимые уровни напряженности и требования к проведению контроля на рабочих местах»
4. отсутствие или недостаток необходимого естественного/искусственного освещения	ГОСТ Р 55710-2013 «Освещение рабочих мест внутри зданий. Нормы и методы измерений»

5. Монотонность труда	ПНД Ф 12.13.1-03. Методические рекомендации. Техника безопасности при работе в аналитических лабораториях (общие положения).
6. Пожаровзрывоопасность	Федеральный закон «О пожарной безопасности», УК РФ; ГОСТ 12.1.004 – 94. Пожарная безопасность. Общие требования; ГОСТ 12.1.004 – 89. Пожаровзрывоопасность веществ и материалов.

5.3 Анализ потенциальных опасных и вредных производственных факторов

Основные показатели микроклимата в помещении лаборатории: температура воздуха, относительная влажность и скорость движения воздуха. Фактическая температура воздуха в теплый период составляла 23-24 °С, в холодный период 19-21°С. Относительная влажность около 60 % и скорость движения 0,2 м/с.

Основной причиной шума и вибрации является прибор, с помощью которого выполняется определение активности фермента.

В лаборатории используется как естественное, так и искусственное общее освещение. Есть возможность использования местного освещение при необходимости.

Источником электромагнитного излучения являются монитор и системный блок. Длительное воздействие электромагнитного поля на организм человека может вызвать нарушение функционального состояния нервной и сердечно-сосудистой систем. Это выражается в повышенной утомляемости, снижении качества выполнения рабочих операций, изменение кровяного давления и пульса. Допустимые уровни напряженности электрических полей зависят от времени пребывания человека в контролируемой зоне. При работе в помещении с ЭП в течение 8 часов уровень напряженности не превышал 25 кВ/м.

5.3.1 Производственные факторы, обладающие свойствами химического воздействия на организм человека

В научном исследовании используются химические реактивы, большинство которых не токсично. Характеристика химических веществ, используемых в работе, представлена в таблице 30.

Таблица 30 – Характеристика химических веществ

Наименование	Физические свойства	Величина ПДК мг/дм ³	Класс опасности	Токсическое действие
Инвертаза	Густая жидкость от желтого до светло-коричневого цвета	-	-	-
Сахароза	Бесцветные моноклинные кристаллы	-	-	-
Лимонная кислота	Кристаллическое вещество белого цвета, без запаха и имеющее сильный кислый вкус	1	3	Специфическая избирательная токсичность, поражающая отдельные органы мишени при однократном воздействии (раздражение дыхательных путей)

В процессе выполнения работ возможно уменьшить риск для организма человека при проведении следующих мероприятий []:

- использование средств индивидуальной защиты (лабораторный халат, перчатки, защитные очки);
- система вентиляции (вытяжные шкафы, в который проводят работу с химическими реактивами);
- герметичные тары для хранения опасных химических реактивов;
- герметичное оборудование для проведения работ;
- соблюдение работниками техники безопасности и инструкций по работе с реактивами.

5.3.2 Факторы, связанные с аномальными микроклиматическими параметрами воздушной среды на местонахождении работающего

В соответствии с [28] показателями, характеризующими микроклимат в производственных помещениях, являются:

- температура воздуха;
- температура поверхностей;
- относительная влажность воздуха;
- скорость движения воздуха;
- интенсивность теплового облучения.

Таблица 31 - Оптимальные величины показателей микроклимата на рабочих местах производственных помещений.

Период года	Категория работ по уровню энергозатрат, Вт	Температура воздуха, °С	Температура поверхностей, °С	Относительная влажность воздуха, %	Скорость движения воздуха, м/с
Холодный	Ia (до 139)	22-24	21-25	60-40	0,1
	Iб (140-174)	21-23	20-24	60-40	0,1
	IIa (175-232)	19-21	18-22	60-40	0,2
	IIб (233-290)	17-19	16-20	60-40	0,2
	III (более 290)	16-18	15-19	60-40	0,3

Теплый	Ia (до 139)	23-25	22-26	60-40	0,1
	Iб (140-174)	22-24	21-25	60-40	0,1
	IIa (175-232)	20-22	19-23	60-40	0,2
	IIб (233-290)	19-21	18-22	60-40	0,2
	III (более 290)	18-20	17-21	60-40	0,3

5.3.3 Отсутствие или недостаток необходимого искусственного освещения

Согласно [29] в зависимости от назначения помещений существуют требования к искусственному освещению. Применение на рабочих местах, на которых проводятся работы с высоким зрительным напряжением, одного местного освещения не допускается. При выполнении измерений в химической лаборатории освещенность на поверхности стола в зоне размещения рабочего документа должна быть согласно СНиП 23-05-95 в пределах 300 - 500 лк. В лаборатории используется совмещенная система освещения, то есть общее искусственное и местное освещение.

Для операторов персональных компьютеров и видео дисплейных терминалов ограничивают неравномерность распределения яркости в поле зрения, при этом соотношение яркости между рабочими поверхностями не должно превышать 3:1 - 5:1, между рабочими поверхностями и поверхностями стен и оборудования 10:1.

Для осветительных установок общего освещения коэффициент запаса составляет 1,8 — 2,0. Коэффициент пульсации не превышает 5%.

Для обеспечения нормируемых значений освещенности в рабочих помещениях проводится чистка стекол оконных рам и светильников два раза в год и своевременная замена перегоревших ламп.

5.3.4 Повышенный уровень шума

Для разработки метода и проведения исследований в работе использовались следующие оборудования: спектрофотометр и биошейкер, которые являются источником шума и вибрации. Шум и вибрация ухудшают условия труда, оказывая вредное воздействие на организм человека. При длительном воздействии шума на организм человека происходят нежелательные явления: снижение остроты зрения, слуха; повышение кровяного давления; снижение внимания.

Согласно нормативным документам [30] уровень звука в помещении не должен превышать 80 дБА.

В качестве средств индивидуальной защиты для органов слуха от шума и вибрации применяются наушники, беруши. Наушники понижают негативное воздействие в диапазоне от 7 до 38 дБ с частотой от 125 до 8000 Гц. Вкладыши (беруши) закрывают слуховой проход. Этот вид защиты дешев, компактен и применим ко многим ситуациям, но не всегда результативен, т.к. снижает уровень негативного воздействия всего на 5 – 20 дБ.

5.3.5 Длительное сосредоточенное наблюдение

Статические перегрузки вызываются длительным пребыванием человека в вынужденном положении тела во время работы или длительным напряжением отдельных групп мышц.

Примером таких перегрузок может являться работа с наклоненной головой или туловищем, на корточках, с упором на локоть, удержание изделия на весу и так далее.

В связи с этим, рабочее место должно обеспечивать выполнение трудовых операций в пределах легкой и оптимальной зоны досягаемости моторного поля в вертикальной и горизонтальной плоскостях. При

проектировании рабочей зоны необходимо учитывать антропометрические показатели как мужчин, так и женщин [31]

5.4 Обоснование мероприятий по снижению уровней воздействия опасных и вредных факторов на исследователя

1. Факторы, связанные с аномальными микроклиматическими параметрами воздушной среды на местонахождении работающего:

Помещение лаборатории оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с [32] и санитарными правилами. Также имеются вытяжные шкафы. Температура, относительная влажность воздуха и скорость его движения в данной лаборатории соответствуют требованиям [28].

2. Повышенный уровень шума:

Для предотвращения шума и вибрации от прибора установлены специальные амортизирующие прокладки. Также для обеспечения безопасности от вибрации могут быть применены следующие меры: применение индивидуальных средств защиты, соблюдение специального режима труда и отдыха, оздоровительные мероприятия. Уровень общей и локальной вибрации и шума в аудитории 223 2 корпуса НИ ТПУ не превышает допустимого уровня и не требует специальных мер защиты, чтобы безопасно продолжать работу.

3. Отсутствие или недостаток необходимого естественного/искусственного освещения:

Для допустимого уровня освещенности в данной лаборатории имеется возможность использования местного освещения при недостаточности естественного и искусственного общего освещения.

4. Длительное сосредоточенное наблюдение:

Для снижения дискомфорта от монотонности труда соблюдается режим труда и отдыха.

5. Производственные факторы, связанные с электрическим током:

Электробезопасность обслуживающего персонала и посторонних лиц должна обеспечиваться выполнением таких мероприятий, как:

1. соблюдение соответствующих расстояний до токоведущих частей за счет их ограждения;
2. применение блокировки аппаратов;
3. предупреждающие надписи;
4. применение устройств для снижения напряженности электрических и магнитных полей до допустимых значений.

В соответствии с [33] и [34] все помещения лаборатории должны иметь средства пожаротушения и выполнять все требования пожарной безопасности.

В помещениях, в которых эксплуатируются компьютеры, не допускается расположение рабочих мест в подвальных помещениях и площадь на одно рабочее место должна быть не меньше $4,5 \text{ м}^2$, а объем – не менее 20 м^3 .

В целях предотвращения поражений электрическим током запрещается работать на неисправных электрических приборах и установках, перегружать электросеть, переносить и оставлять без надзора включенные электроприборы, загромождать подходы к электрическим устройствам.

В аудитории 223, 2 корпуса ТПУ предприняты все меры по предотвращению потенциальных опасных и вредных факторов, в соответствии с требованиями.

5.5 Экологическая безопасность

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

5.5.1 Анализ влияния объекта на атмосферу

Вредное воздействие могут оказывать выбросы вредных веществ при выполнении работ через вентиляционную систему. С целью очистки промышленных выбросов все работы должны проводиться в вытяжном шкафу при включенной вентиляции и обеспечении герметичности тары и установки.

5.5.2 Анализ влияния процесса исследования на гидросферу

Возможно попадание опасных химических растворов и реактивов в общую систему водоотведения. В исследовании используются растворы кислот, солей. Для предотвращения негативных воздействий предусмотрено обезвреживание растворов с агрессивной средой химическим или физическим способом, а так же организация безопасного слива химических реагентов.

5.5.3 Анализ влияния процесса исследования на литосферу

В лаборатории существуют твердые отходы в виде бытового мусора, который выбрасывается в урну. Твердые отходы подлежат обезвреживанию методом стерилизации и выбрасываются в мусорный контейнер. Организация правильной утилизации органических отходов, а также твердых химических отходов, позволяет минимизировать вредные воздействия.

5.6 Безопасность в чрезвычайных ситуациях

В данном подразделе выявлены ЧС, которые могут возникнуть при разработке проектируемого в ВКР решения, отображены правила поведения в таких ЧС, а также спланированы мероприятия по защите персонала

С учетом специфики работы и наличием вычислительной техники наиболее вероятной ЧС является возникновение пожара в аудитории 223 2 корпуса ТПУ. Пожарная безопасность должна обеспечиваться системами предотвращения пожара и противопожарной защиты, в том числе организационно-техническими мероприятиями.

Основные источники возникновения пожара:

1. токи короткого замыкания;
2. небрежность работника при работе с оборудованием;
3. неисправность устройства компьютера или электросетей;
4. воспламенение ПК из-за перегрузки.

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

Пожарная безопасность обеспечивается комплексом мероприятий [33]:

1. организация пожарной охраны;
2. паспортизация веществ, материалов, изделий, технологических процессов, зданий и сооружений объектов в части обеспечения пожарной безопасности;
3. разработка и реализация норм и правил пожарной безопасности, инструкций о порядке обращения с пожароопасными веществами и материалами, о соблюдении противопожарного режима и действиях людей при возникновении пожара;
4. порядок хранения веществ и материалов, тушение которых недопустимо одними и теми же средствами, в зависимости от их физикохимических и пожароопасных свойств;
5. основные виды, количество, размещение и обслуживание пожарной техники по ГОСТ 12.4.009.

Согласно [35] для оповещения о возникновении пожара в каждом помещении могут использоваться следующие способы:

1. подача звуковых и (или) световых сигналов во все помещения здания с постоянным или временным пребыванием людей;
2. трансляция текстов о необходимости эвакуации, путях эвакуации, направлении движения и других действиях, направленных на обеспечение безопасности людей;
3. трансляция специально разработанных текстов, направленных на предотвращение паники и других явлений, усложняющих эвакуацию;
4. размещение эвакуационных знаков безопасности на путях эвакуации;
5. включение эвакуационных знаков безопасности;
6. связь пожарного поста-диспетчерской с зонами пожарного оповещения.

Аудитория 223 2 корпуса ТПУ оснащена первичными средствами пожаротушения: огнетушителями ОУ-3 1шт., ОП-3, 1шт. (предназначены для тушения любых материалов, предметов и веществ, применяется для тушения ПК и оргтехники, класс пожаров А, Е.). В корпусе 2 ТПУ имеется пожарная автоматика, сигнализация. В случае возникновения загорания любой увидевший должен незамедлительно заявить об инциденте в пожарную службу по телефону 01, или можно сообщить о происшествии по общему номеру 112 и соблюдать покой. По возможности принять меры по эвакуации людей, тушению пожара и сохранности материальных ценностей.

Выводы по разделу

При проведении СОУТ были замерены уровни соответствующих факторов и установлено, что они не превышают норм, указанных в ГОСТах, СНИПах и других нормативных документах.

В данном разделе были рассмотрены вопросы техники безопасности при работе с вредными веществами, а также проанализированы вредные и опасные факторы, влияющие на здоровье человека. Были отмечены

источники негативного воздействия, меры коллективной и индивидуальной защиты.

Выявлено, что в аудитории 223 2 учебного корпуса НИ ТПУ соблюдены все меры по безопасности сотрудников и студентов, комфортных условий труда, а также оснащена всем необходимым для предотвращения и ликвидации ЧС (пожар, взрыв).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполнения выпускной квалификационной работы:

1. Определили активность инвертазы методом Лайнуивера-Берка.
2. Осуществили синтез конъюгатов на основе инвертазы методом периодатного окисления и с использованием глутарового альдегида.
3. Определили активность инвертазы и ее конъюгатов методом Лайнуивера-Берка.
4. Провели калибровку персонального глюкометра.
5. Осуществили тестирование работоспособности конъюгата персональным глюкометром.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Kuddus, M. Enzymes in Food Technology Improvements and Innovations. Nail, Saudi Arabia, 2018, 419 p.
2. Neumann, N. P., Lampen J. O. Purification and properties of yeast invertase // Biochemistry, 1967, 6 (2): 468-75.
3. Aurin M. Chase, Hildegard C. Von Meier, Vincent J. Menna. The Non-Competitive Inhibition and Irreversible Inactivation of Yeast Invertase by Urea // J. of Cellular and Comparative Physiology, 1962, 59 (1): 1-
4. Общая фармакопейная статья определение активности ферментных препаратов. ОФС.1.2.4.0013.15 Определение активности ферментных препаратов/<https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-4-0013-15-opredelenie-aktivnosti-fermentnyh-preparatov/> доступ свободный, дата обращения 15.04.2023.
5. Паспорт № 72-22. Глюкоза GOD. Набор реагентов для определения концентрации глюкозы в крови и моче глюкозооксидазным методом.
6. Çakıroglu B., Özacar M. Photoelectrochemical and Non-Enzymatic Glucose Sensor Based on Modified Fehling's Test by Using Ti/TiO₂ NTs-rGO-Cu₂O Electrode // J. of The Electrochemical Society, 2019. Vol. 166 (8) B728-B734.
7. Большой практикум «Биохимия». Лабораторные работы: учеб. пособие / сост. М.Г. Кусакина, В.И. Суворов, Л.А. Чудинова; Перм. гос. нац. исслед. унт.- Пермь, 2012.- 148 с.
8. Иммуноглобулины I / Под ред. Г. Литман, Р. Гуд. — М.: Мир, 1981.
9. Теория и практика иммуноферментного анализа. / Т 33 А.М Егоров, А.П Осипов, Б.Б. Дзантиев, Е.М Гаврилова – М.: Высш. шк., 1991,-288 с.
10. Черешнев В.А. Иммунология : учебник / В.А. Черешнев, К.В. Шмагель.—Москва : Центр стратегического партнерства, 2014.— 520 с.— ISBN 978-5-995814-1-8.

11. Hermanson G. T. Bioconjugate Techniques 2nd Edition. Rockford, Illinois, USA. 2008. 1233 p.
12. Wang Q. Sensitive point-of-care monitoring of cardiac biomarker myoglobin using aptamer and ubiquitous personal glucose meter // Biosensors and Bioelectronics, 2015. Vol. 64.
13. Wagner C. Adapting blood glucose meter biosensors for the measurement of lactose in dairy ingredients // J. Dairy Sci. 103:7585–7597, 2019,
14. Liu H. Construction of a portable immunosensor for the sensitive detection of carbendazim in agricultural products using a personal glucose meter // Food Chemistry, 2023. Vol. 407.
15. Chen S. A portable and antibody-free sandwich assay for determination of chloramphenicol in food based on a personal glucose meter // Anal Bioanal Chem, 2015, DOI 10.1007/s00216-015-8478-8.
16. Общая фармакопейная статья метод иммуноферментного анализа. ОФС.1.7.2.0033.15 Метод иммуноферментного анализа / <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-7-2-0033-15-metod-immunofermentnogo-analiza/> доступ свободный, дата обращения 19.04.2023.
17. Иммуноферментный анализ /Под ред. Г. Г. Нго, Г. М. Леикофф. — М.: Мир, 1988
18. Иванская Н.В. Практическое пособие по иммуноферментному анализу. — М.: Киев, 2003.
19. Введение в иммунологию / Л. В. Ирвинг, Е. Х. Лерой, Б. В. Уильям.— М.: Высшая школа, 1983.
20. Раевская Г.Е, Певец М.Я., Пилипенко В.Г., Ростопира Н.М., Ткачикова Л. Получение пероксидазной конъюгатов для выявления ВИЧ-специфических антител методом иммуноферментного анализа // Иммунология и аллергология, 2002, № 2-3, С.39-42.
21. Гончаренко В.С., Раевская Е., Касьяненко Т.В., Ганова Л.А., Шимко Н.М. сравнительное изучение использование в-фенилендиамину и тетраметилбензидина в иммуноферментном анализе для диагностики

- ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С и сифилиса // Иммунология и аллергология, 2002, № 4, с.18-21.
22. Неизотопные методы иммуноанализа // Итоги науки и техники. — М.: ВИНТИ, 1987. Сер. Биотехнология. Т. 3.
 23. Кишкин А.А Иммунологические и серологические исследования в клинической практике. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. -536 с.
 24. Карпищенко А. И. (ред.) Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы): Справочник. –СПБ.: Интермедика, 1997.- 304 с.
 25. ГОСТ 12.0.004-90. Организация обучения безопасности труда. 01.07.1991.
 26. Трудовой кодекс Российской Федерации от 30.12.2001 № 197-ФЗ (ред. от 05.04.2021) // Собрание законодательства РФ. – 07.01.2002. - № 1 (ч. 1). – Ст. 3.
 27. Федеральный закон от 23.12.2013 (ред. от 30.12.2020) «О специальной оценке условий труда» // Собрание законодательства РФ. –28.12.2013. - № 426.
 28. СанПиН 2.2.4.548-96. Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/901704046>.
 29. СП 52.13330.2016. Естественное и искусственное освещение. Актуализированная редакция СНиП 23-05-95 [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/456054197>.
 30. ГОСТ 12.1.003-2014 ССБТ. Шум. Общие требования безопасности. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200118606>.
 31. ГОСТ 12.2.032-78 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические

- требования. [Электронный ресурс] – Режим доступа:
<http://docs.cntd.ru/document/1200003913>.
32. ГОСТ 12.4.021-75 ССБТ. Системы вентиляционные. Общие требования. [Электронный ресурс] – Режим доступа:
<https://docs.cntd.ru/document/1200005274>.
33. ГОСТ 12.1.004-91 ССБТ. Пожарная безопасность. Общие требования. [Электронный ресурс] – Режим доступа:
<https://docs.cntd.ru/document/9051953>.
34. ГОСТ 12.4.009-83 ССБТ. Пожарная техника для защиты объектов. [Электронный ресурс] – Режим доступа:
<https://docs.cntd.ru/document/1200003611>.
35. Федеральный закон от 20.06.2003 (ред. от 07.02.2008) «Проектирование систем оповещения людей о пожаре в зданиях и сооружениях». [Электронный ресурс] – Режим доступа:
<https://www.mchs.gov.ru/dokumenty/normativnye-pravovye-akty-mchs-rossii/774>.