

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

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

Тема работы
Исследование электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии

УДК 547.367:544.6

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д6Б	Малова Марина Анатольевна		

Руководитель ВКР

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

КОНСУЛЬТАНТЫ ПО РАЗДЕЛАМ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

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

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент ООД	Сечин Андрей Александрович	К.Х.Н.		

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

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

Томск – 2020 г.

Планируемые результаты обучения по ООП 18.03.01 (бакалавр)

направление «Химическая технология»

специальность «Химическая технология синтетических биологически активных веществ, химико-фармацевтических препаратов и косметических средств».

Код результата	Результат обучения (выпускник должен быть готов)	Требования ФГОС ВПО, критериев и/или заинтересованных сторон
<i>Профессиональные компетенции</i>		
P1	Применять базовые и специальные, математические, естественнонаучные, социально-экономические и профессиональные знания в профессиональной деятельности	Требования ФГОС ВО (ОПК - 1, 2, 3) Критерий 5 АИОР (п.1.1), СДИО(п. 1.1, 4.1, 4.3, 4.8)
P2	Применять знания в области современных химических технологий для решения производственных задач	Требования ФГОС ВО (ПК-1, 4,18), Критерий 5 АИОР (пп.1.1,1.2), СДИО (п. 1.1, 3.2, 4.2, 4.3, 4.5, 4.6)
P3	Ставить и решать задачи производственного анализа, связанные с созданием и переработкой материалов с использованием моделирования объектов и процессов химической технологии	Требования ФГОС ВО (ПК-1, 2, 4, 16 ОПК-2,3), Критерий 5 АИОР (пп.1.2), СДИО (1.2, 2.1, 4.5)
P4	Разрабатывать <i>новые</i> технологические процессы, проектировать и использовать новое оборудование химической технологии, <i>проектировать объекты химической технологии в контексте предприятия, общества и окружающей среды</i>	Требования ФГОС ВО (ПК-4, 5, 11), Критерий 5 АИОР (п.1.3), СДИО (п.1.3, 4.4, 4.7)
P5	Проводить теоретические и экспериментальные исследования в области современных химических технологий	Требования ФГОС ВО (ПК-10, 16), Критерий 5 АИОР (п.1.4), СДИО (п. 2.2)

P6	Внедрять, эксплуатировать и обслуживать современное высокотехнологичное оборудование, обеспечивать его высокую эффективность, <i>выводить на рынок новые материалы</i> , соблюдать правила охраны здоровья и безопасности труда на химико-технологическом производстве, выполнять требования по защите окружающей среды.	Требования ФГОС ВО (ПК-6,10,12,13,14,15, ОПК-6), Критерий 5 АИОР (п.1.5) CDIO (п. 4.1, 4.7, 4.8, 3.1, 4.6)
<i>Общекультурные компетенции</i>		
P7	Демонстрировать знания социальных, этических и культурных аспектов профессиональной деятельности.	Требования ФГОС ВО (ОК-1,2,3,4,6,7), Критерий 5 АИОР (пп.2.4,2.5), CDIO (п. 2.5)
P8	Самостоятельно учиться и непрерывно повышать квалификацию в течение всего периода профессиональной деятельности.	Требования ФГОС ВО (ОК-7), Критерий 5 АИОР (2.6), CDIO (п. 2.4)
P9	<i>Активно владеть иностранным языком</i> на уровне, позволяющем разрабатывать документацию, презентовать результаты профессиональной деятельности.	Требования ФГОС ВО (ОК-5, ПК-20) , Критерий 5 АИОР (п.2.2), CDIO (п. 3.2, 3.3)
P10	Эффективно работать индивидуально и в коллективе, <i>демонстрировать лидерство в инженерной деятельности и инженерном предпринимательстве</i> , ответственность за результаты работы и готовность следовать корпоративной культуре организации.	Требования ФГОС ВО (ОК-6, 7, ПК-14), Критерий 5 АИОР (пп.1.6, 2.3) CDIO (п. 4.7, 4.8, 3.1)

Инженерная школа природных ресурсов
 Направление подготовки: 18.03.01 Химическая технология
 Уровень образования: бакалавриат
 Отделение школы (НОЦ): Отделение химической инженерии
 Период выполнения: весенний семестр 2020 учебного года

Форма представления работы:

Бакалаврская работа

КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН
выполнения выпускной квалификационной работы

Срок сдачи студентом выполненной работы:	04.06.2020
--	------------

Дата контроля	Название раздела (модуля) / вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
17.02.2020	<i>Литературный обзор</i>	15
16.03.2020	<i>Экспериментальная часть</i>	35
08.04.2020	<i>Обсуждение результатов</i>	20
04.05.2020	<i>Оценка эффективности применения анализа</i>	15
11.05.2020	<i>Разработка социальной ответственности по теме</i>	15

СОСТАВИЛ:

Руководитель ВКР

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

СОГЛАСОВАНО:

Руководитель ООП

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

Руководителю отделения (НОЦ школы)
химической инженерии
(название отделения (НОЦ) школы)
Коротковой Елене Ивановне
(Ф.И.О.)
От студента гр. 2Д6Б
Маловой Марины Анатольевны
(Ф.И.О.)

ЗАЯВЛЕНИЕ

Прошу разрешить мне выполнение выпускной квалификационной работы в форме
бакалаврской работы

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

по направлению подготовки (специальности):

18.03.01 Химическая технология

на тему:

Исследование электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии

под руководством

доцента ОХИ Дорошко Елены Владимировны

_____ 20__ г.

(Личная подпись студента)

Руководителю отделения (НОЦ школы)
химической инженерии
(название отделения (НОЦ) школы)
Коротковой Елене Ивановне
(Ф.И.О.)
От студента гр. 2Д6Б
Маловой Марины Анатольевны
(Ф.И.О.)

ЗАЯВЛЕНИЕ

Прошу уточнить ранее утвержденную тематику ВКР в форме

бакалаврской работы

(бакалаврской работы, дипломного проекта/работы, магистерской диссертации)
по направлению подготовки (специальности):

18.03.01 Химическая технология

Ранее утвержденная тема ВКР:

Исследование электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии

Руководитель:

доцент ОХИ Дорошко Елена Владимировна

Консультант:

аспирант ОХИ Гашевская Анна Сергеевна

Дата защиты ВКР:

16.06.2020

Уточненная тема ВКР:

Исследование электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии

_____ 20__ г.

(Личная подпись студента)

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

УТВЕРЖДАЮ:
 Руководитель ООП
 _____ Михеева Е.В.
 (Подпись) (Дата) (Ф.И.О.)

ЗАДАНИЕ
на выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

бакалаврской работы

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

Студенту:

Группа	ФИО
2Д6Б	Маловой Марине Анатольевне

Тема работы:

Исследование электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии	
Утверждена приказом директора (дата, номер)	07.05.2020 № 128-27/с

Срок сдачи студентом выполненной работы:	04.06.2020
--	------------

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

<p>Исходные данные к работе</p> <p><i>(наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к особенностям функционирования (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.).</i></p>	<p>Объект исследования: восстановленный (GSH) и окисленный (GSSG) глутатион (Sigma, USA).</p>
---	---

<p>Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов <i>(аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).</i></p>	<p>Обзор и анализ литературы по теме исследования, с целью выяснения достижений мировой науки и техники в рассматриваемой области; определение задач исследования; постановка эксперимента; обсуждение результатов выполненной работы; расчёт экономической составляющей; оценка безопасности исследования; заключение по работе.</p>
<p>Перечень графического материала <i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i></p>	<p>Графический материал полученных результатов</p>
<p>Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы <i>(с указанием разделов)</i></p>	
<p>Раздел</p>	<p>Консультант</p>
<p>Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение</p>	<p>Якимова Татьяна Борисовна</p>
<p>Социальная ответственность</p>	<p>Сечин Андрей Александрович</p>
<p>Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:</p>	
<p> </p>	

<p>Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику</p>	<p>27.01.2020</p>
--	-------------------

Задание выдал руководитель:

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

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д6Б	Малова Марина Анатольевна		

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

Студенту:

Группа	ФИО
2Д6Б	Маловой Марине Анатольевне

Школа	ИШПР	Отделение школы (НОЦ)	ОХИ
Уровень образования	Бакалавриат	Направление/специальность	Химическая технология/Химическая технология синтетических биологически активных веществ, химико-фармацевтических препаратов и косметических средств

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

1. <i>Стоимость ресурсов исследования: материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих</i>	Стоимость выполняемых работ, материальных ресурсов, согласно применяемой техники и технологии, в соответствии с рыночными ценами. Оклады в соответствии с окладами сотрудников «НИ ТПУ»
2. <i>Нормы и нормативы расходования ресурсов</i>	- районный коэффициент- 1,3; - накладные расходы – 16%; - норма амортизации 12%.
3. <i>Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования</i>	В соответствии с налоговым кодексом Российской Федерации. Отчисления во внебюджетные фонды – 30,2 %

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

<i>Оценка коммерческого потенциала, перспективности выполнения проекта с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения</i>	Определение потенциальных потребителей и анализ конкурентных технических решений. Проведение SWOT-анализа проекта.
<i>Формирование плана и графика разработки проекта</i>	Определение этапов работ; определение трудоемкости работ; разработка графика Ганта.
<i>Планирование и формирование бюджета проекта</i>	Определение затрат на проектирование (смета затрат)
<i>Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности проекта</i>	Расчет сравнительной эффективности проекта

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):

*Оценка конкурентоспособности технических решений
Матрица SWOT
Календарный план график проведения работ*

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	02.03.2020
---	------------

Задание выдал консультант:

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

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д6Б	Малова Марина Анатольевна		

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА
«СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»**

Студенту:

Группа	ФИО
2Д6Б	Маловой Марине Анатольевне

Школа	ИШПР	Отделение школы (НОЦ)	ОХИ
Уровень образования	Бакалавриат	Направление/специальность	Химическая технология/Химическая технология синтетических биологически активных веществ, химико-фармацевтических препаратов и косметических средств

Тема ВКР:

Исследование электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии	
Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:	
1. Характеристика объекта исследования (вещество, материал, прибор, алгоритм, методика, рабочая зона) и области его применения	Объект исследования – <i>глутатион</i> ; Прибор – <i>вольтамперометрический анализатор TA-Lab</i> ; Рабочая зона – <i>научно-исследовательская лаборатория 2 корпуса ТПУ</i> ; Область применения – <i>пищевая и фармацевтическая промышленности</i> .
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности: <ul style="list-style-type: none"> – специальные (характерные для рабочей зоны исследователя) правовые нормы трудового законодательства; – организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны исследователя. 	<ul style="list-style-type: none"> – виды компенсаций при работе во вредных условиях труда: <ul style="list-style-type: none"> • уменьшение рабочего времени; • дополнительный ежегодный отпуск; • досрочный выход на пенсию; • обязательные периодические медосмотры за счёт работодателя и др. – эргономическое проектирование рабочего места.
2. Профессиональная социальная безопасность. 2.1. Анализ вредных и опасных факторов, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований. 2.2. Обоснование мероприятий по защите исследователя от действия опасных и вредных факторов.	2.1 Выявление вредных факторов: <ul style="list-style-type: none"> • отклонение показателей микроклимата в лаборатории; • повышенный уровень шума и вибрации; • недостаточная освещённость. Выявление опасных факторов: <ul style="list-style-type: none"> • контакт с химическими реактивами; • электрический ток.

	<p>2.2 Для устранения и (или) минимизации влияния вредных и опасных факторов необходимо:</p> <ul style="list-style-type: none"> • соблюдение микроклиматических условий в соответствии с требованиями СанПиН 2.2.4.548- 96; • поддержание оптимального уровня шума, прописанного в ГОСТ 12.1.003 – 83 и ГОСТ 17187 – 81; • нормирование освещения в соответствии с ГОСТ Р 55710-2013; • использование средств индивидуальной защиты; • соблюдение соответствующих расстояний до токоведущих частей или их закрытие (заземление электрооборудования).
<p>3. Экологическая безопасность: 3.1. Анализ влияния процесса исследования на окружающую среду. 3.2. Обоснование мероприятий по защите окружающей среды.</p>	<p>3.1 Влияние вредных веществ, используемых в исследовании (серная кислота, сульфит натрия, этиловый спирт), на окружающую среду. 3.2 Рассмотрение мероприятий по защите окружающей среды:</p> <ul style="list-style-type: none"> • утилизация отходов; • нейтрализация серной кислоты; • установление основных параметров, существенных для качества сточных вод.
<p>4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях: 4.1. Анализ вероятных ЧС, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований. 4.2. Обоснование мероприятий по предотвращению ЧС и разработка порядка действия в случае возникновения ЧС.</p>	<p>4.1 Возможные ЧС: пожар, химический или термический ожоги, отравление. 4.2 Порядок действия при пожаре:</p> <ul style="list-style-type: none"> • сообщить в пожарную охрану; • обесточить электрооборудование; • принять меры к тушению очага; • принять меры по эвакуации людей.

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	04.03.2020
--	------------

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент ООД	Сечин Андрей Александрович	к.х.н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д6Б	Малова Марина Анатольевна		

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа изложена на 84 страницах, включая 11 рисунков, 19 таблиц, 49 литературных источников.

Ключевые слова: глутатион, электрохимические методы анализа, вольтамперометрия, вольтамперограмма, углеродсодержащий композитный электрод, хлоридсеребряный электрод.

Объектом исследования является глутатион в окисленной GSSG и восстановленной GSH формах.

Целью работы является исследование электрохимических свойств глутатиона GSH/GSSG методом вольтамперометрии.

В процессе исследования были подобраны оптимальные условия определения глутатиона GSH/GSSG в модельном растворе методом вольтамперометрии на углеродсодержащем композитном электроде, модифицированном частицами золота. Проведена оценка экономической эффективности данного процесса и рассмотрено воздействие разработанных аспектов деятельности с точки зрения социальной ответственности на человека и окружающую среду.

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

Выпускная квалификационная работа выполнена в отделении химической инженерии Томского политехнического университета под руководством к.х.н. Е.В. Дорожки. Консультационную поддержку в данной работе оказал аспирант ОХИ А.С. Гашевская. Работу выполнил студент группы 2Д6Б М.А. Малова.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ВКР – выпускная квалификационная работа

GSH – восстановленный глутатион

GSSG – окисленный глутатион

АФК – активная форма кислорода

АФА – активная форма азота

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

УКЭ - углеродсодержащий композитный электрод

ХСЭ – хлорид серебряный электрод

ЗУКЭ - золото-углеродсодержащий композитный электрод

ВА – вольтамперограмма

ЦВА – циклическая вольтамперограмма

СИЗ – средства индивидуальной защиты

ЧС – чрезвычайные ситуации

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	17
1 Литературный обзор	18
1.1 Химическая структура и свойства глутатиона.....	18
1.2 Биохимическая роль.....	20
1.3 Методы определения глутатиона	22
1.3.1 Оптические методы.....	22
1.3.2 Хроматографические методы	23
1.3.3 Электрохимические методы.....	24
1.4 Исследование GSH и GSSG для оценки пестицидной загрязнённости.....	26
2 Экспериментальная часть.....	27
2.1 Приборы и оборудование	27
2.2 Реактивы.....	29
2.3 Объекты исследования	30
2.4 Методика очистки поверхности электрода	30
2.5 Оценка чувствительности поверхности углеродсодержащего композитного электрода (УКЭ), модифицированного частицами золота	30
2.6 Способы удаления кислорода из электрохимической ячейки.....	33
2.7 Исследование электрохимических свойств восстановленного GSH и окисленного GSSG глутатиона	35
2.7.1 Исследование электрохимических свойств восстановленного GSH глутатиона	35
2.7.2 Исследование электрохимических свойств окисленного GSSG глутатиона	38

2.8 Аналитическое применение вольтамперных сигналов восстановленного GSH и окисленного GSSG глутатиона на ЗУКЭ.....	41
2.9 Оценка мешающего влияния этилового спирта C ₂ H ₅ OH на токи восстановления глутатиона.....	42
3 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение...	45
3.1 Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения.....	45
3.1.1 Потенциальный потребитель результатов исследования.....	45
3.1.2 Анализ конкурентных технических решений.....	45
3.1.3 SWOT-анализ.....	47
3.2 Планирование исследовательских работ в рамках ВКР.....	49
3.2.1 Структура работ в рамках проводимого исследования.....	49
3.2.2 Определение трудоемкости выполнения работ.....	51
3.2.3 Разработка графика проведения научного исследования.....	52
3.2.4 Бюджет исследования.....	57
3.2.4.1 Расчёт материальных затрат и затрат на специальное оборудование .	57
3.2.4.2 Основная и дополнительная заработная плата исполнителей темы....	60
3.2.4.3 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления) и накладные расходы.....	62
3.2.4.4 Формирование бюджета затрат ВКР.....	63
3.3 Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования.....	63
Вывод по разделу.....	64
4 Социальная ответственность.....	65
4.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности.....	65

4.1.1 Специальные (характерные для рабочей зоны исследователя) правовые нормы трудового законодательства	65
4.1.2 Организационные мероприятия при компановке рабочей зоны исследователя	66
4.2 Профессиональная социальная безопасность	67
4.2.1 Анализ вредных и опасных факторов, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении анализа.....	67
4.2.2 Обоснование мероприятий по защите исследователя от действия опасных и вредных факторов.....	68
4.3 Экологическая безопасность.....	71
4.3.1 Анализ влияния процесса исследования на окружающую среду	71
4.3.2 Обоснование мероприятий по защите окружающей среды	72
4.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях.....	74
4.4.1 Анализ вероятных ЧС, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований	74
4.4.2 Обоснование мероприятий по предотвращению ЧС и разработка порядка действия в случае возникновения ЧС	75
Вывод по разделу	77
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	78
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ	79
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	80

ВВЕДЕНИЕ

Глутатион (L-гаммаглутамил-L-цистеинилглицин) представляет собой трипептид, состоящий из аминокислот цистеина, глицина и глутаминовой кислоты. Важнейшая функция глутатиона – антиоксидантная защита клеток, заключающаяся в нейтрализации излишнего количества свободных радикалов кислорода, образующихся в ходе непрерывных биохимических реакций в организме. Глутатион присутствует в организме в двух формах: восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG).

Цель работы: Исследовать электрохимические свойства глутатиона GSH/GSSG методом вольтамперометрии.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи:**

1. модифицировать углеродсодержащий электрод золотыми частицами для дальнейшего его использования в определении GSH/GSSG;
2. выбрать способ удаления кислорода из электрохимической ячейки для исследования GSH/GSSG: барботирование азотом, введение сульфита натрия;
3. исследовать электрохимические свойства GSH/GSSG на ЗУКЭ;
4. определить некоторые метрологические характеристики определения GSH/GSSG в модельных растворах;
5. исследовать влияние мешающих факторов на определение GSSG в модельном растворе;
6. разработать рекомендации для дальнейшего определения GSH/GSSG на ЗУКЭ.

1 Литературный обзор

1.1 Химическая структура и свойства глутатиона

Глутатион (γ -глутамил-цистеинил-глицин) представляет собой внутриклеточное низкомолекулярное тиолсодержащее соединение, обнаруженное в большинстве прокариотических и эукариотических клеток и находящееся в них в восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG) формах. Структуры форм глутатиона представлены на рисунке 1.

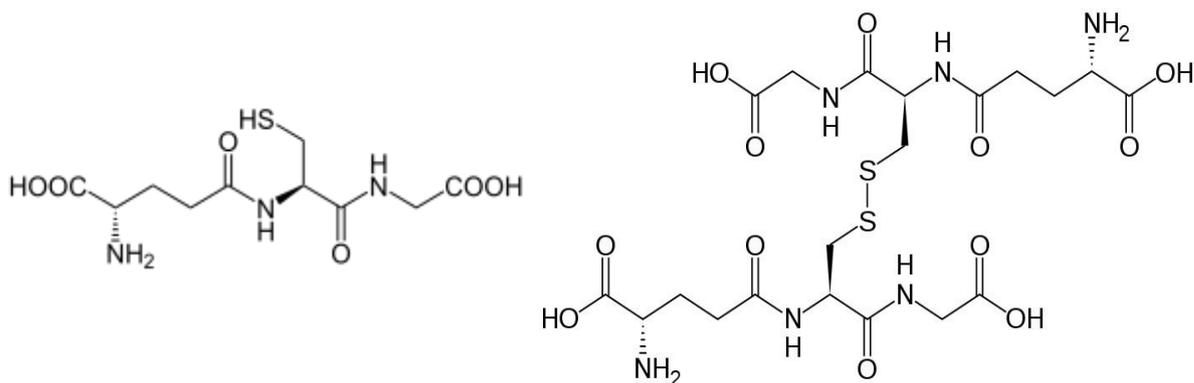


Рисунок 1 – Структурные формулы глутатиона в GSH (слева) и GSSG (справа) формах

Молекулярная масса GSH равна 307,32 г/моль, а молекулярный вес GSSG равен 612,39 г/моль. Окисленный и восстановленный глутатион представляют собой белые кристаллические порошки, которые хорошо растворимы в воде при комнатной температуре.

Превращение восстановленной формы GSH в окисленную GSSG осуществляется при высокой концентрации первой, поскольку это благоприятствует восстановлению образующихся дисульфидных связей в цитоплазматических белках с цистеинами.

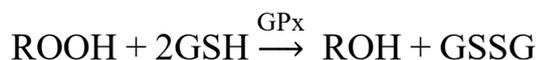
Тиольная группа $-SH$, которая присутствует в молекуле GSH, является наиболее реакционноспособной. Она способна вступать в следующие реакции: алкилирование, ацилирование, одно- и двухэлектронное окисление, тиол-дисульфидный обмен [1]. Активные формы кислорода (АФК), активные

формы азота (АФА) и другие свободные радикалы при окислительном стрессе оказывают негативное воздействие на полноценное функционирование клеток. Основная функция глутатиона – осуществление защиты клеток от этого воздействия.

Пероксид водорода H_2O_2 относится к одной из реактивных форм кислорода O_2 . При взаимодействии H_2O_2 с GSH, выступающем в роли косубстрата, реакция катализируется ферментом глутатионпероксидазой (GPx). Глутатионпероксидаза восстанавливает пероксид водорода до воды:



Каталитическая активность GPx также позволяет восстанавливать органические гидроперекиси до соответствующих спиртов [2]:



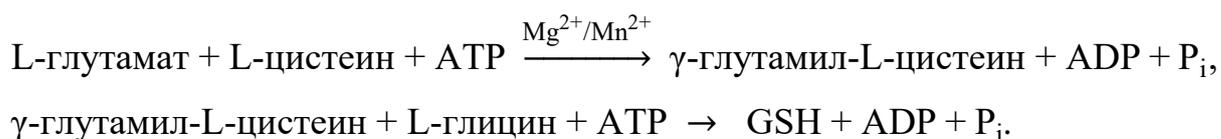
Кроме того, данная реакция способна быть осуществлена благодаря пероксидазной активности Se-независимой глутатион S-трансферазы (GST), также использующей GSH в качестве косубстрата [2]:



Окисленный глутатион может быть снова восстановлен при помощи фермента глутатионредуктазы (GSR), используя кофермент NADP-H в качестве донора электронов [3]:



Синтез GSH происходит только в цитозоле всех клеток млекопитающих [4]. Данное соединение не является незаменимым и может быть синтезировано из аминокислот: L-цистеин, L-глутаминовая кислота и глицин. Синтез осуществляется в две стадии [1]:



Внутриклеточное содержание окисленной формы глутатиона GSSG не превышает 1 % относительно восстановленной формы, являющейся основной.

Около 85–90 % восстановленной формы глутатиона располагается в цитозоле, при этом некоторая его часть после синтеза обнаружена в митохондриях, ядре, пероксисомах и эндоплазматическом ретикулуме [5]. Риск окислительного повреждения клетки возможен при недостатке GSH. Установлено, что дисбаланс в регуляции GSH наблюдается при широком ряде патологий, таких как рак, нейродегенеративные заболевания, муковисцидоз, ВИЧ [6]. Правильное функционирование и выживание клеток возможно при поддержании оптимального соотношения GSH/GSSG.

1.2 Биохимическая роль

Развитие окислительного стресса, при котором реактивные формы кислорода и других свободных радикалов воздействуют на клетки организма, способствует повреждению молекул углеводов, белков, липидов, а также нуклеиновых кислот, что в свою очередь приводит к нарушению функциональной способности клеток.

Антиоксидантная защита митохондрий, играющая важную роль в условиях окислительного стресса, формируется за счёт антиоксидантов, находящихся внутри митохондрий [7]. Основным антиоксидантом клетки - глутатион. Уменьшение содержания глутатиона приводит к изменению уровней транскрипции в ядре, что может модулировать структурную организацию хроматина [8]. Следствием воздействия окислительного стресса является изменение состояния ядерного хроматина, которое в свою очередь приводит к одно- и/или двухцепочечным разрывам ДНК. Повреждения в митохондриях, вызываемые окислительным стрессом, сопровождаются снижением трансмембранного потенциала, изменением проницаемости мембран и ускорением высвобождения апоптотических факторов, что приводит к гибели клеток [9]. АФК и АФА принимают важное участие в процессах редокс-сигналинга, которые представлены быстрыми и обратимыми реакциями, регулирующими активность ключевых для жизнедеятельности клетки белков.

Нормальное функционирование белков и их способность участвовать в каскадах передачи сигналов зависит от обратимости процессов окисления тиольных остатков цистеина –SH. Ключевым субстратом, при котором происходит восстановление –SH, является GSH. Изменение в соотношении GSH:GSSG выступает основным показателем редокс-статуса. Нарушение данного соотношения оказывает существенное влияние с точки зрения редокс-регуляции функционирования белков на процессы сигнальной трансдукции, контроля экспрессии генов, клеточной пролиферации, дифференцировки, состояние клеточного метаболизма и жизнедеятельности клетки в целом [10, 11] (рисунок 2). При нормальных физиологических условиях GSH:GSSG составляет 100:1, что минимизирует окислительное действие АФК и АФА.

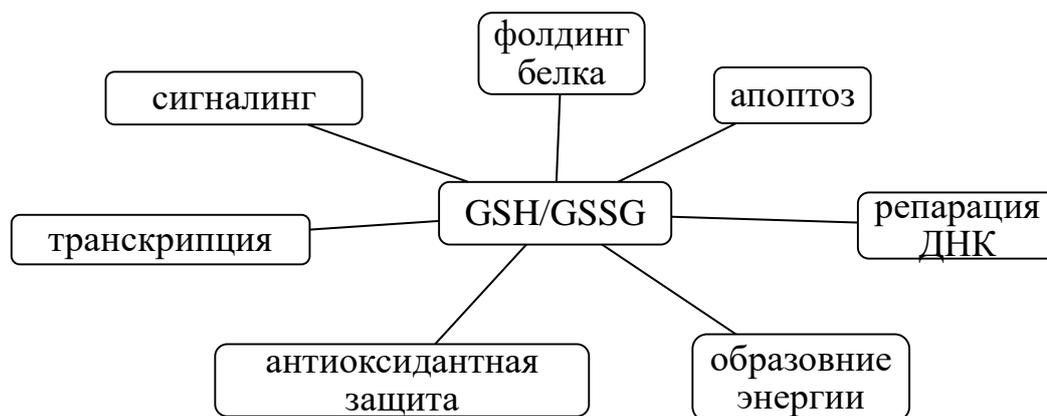


Рисунок 2 – Роль GSH/GSSG в редокс-регуляции основных процессов жизнедеятельности клетки

Соотношение GSH и его окисленного дисульфидного продукта (GSSG) играет важную роль в возникновении рака [12], болезни Паркинсона [13] и связанных с этих проблем в организме. Для устранения этих проблем требуется стандартный метод мониторинга или количественного определения этих биомолекул в организме человека с высокой точностью.

1.3 Методы определения глутатиона

На сегодняшний день для определения содержания глутатиона в разных природных объектах могут быть использованы следующие аналитические методы: оптические, хроматографические и электрохимические.

1.3.1 Оптические методы

Разработан метод количественного колориметрического определения GSH глутатиона в крови. Способ включает смешивание образца крови с реагентом, содержащим стабилизированную вольфрамную кислоту, этанол и 5,5 " - дитиобис (2-нитробензойную кислоту) с последующим центрифугированием и измерением оптической плотности супернатанта [14]. Расчёт концентрации глутатиона в образце осуществляется по полученным данным оптической плотности.

Другой метод определения малого количества глутатиона основан на реакции GSH с ортофталевым альдегидом при $\text{pH} = 8$. Измеряется флюоресценция полученного продукта реакции, которая в 420 нм линейна от 0.065 до 32.5 ммоль/мл. В соответствии с указанными условиями реакции, снижение или отсутствие флюоресценции получают из окисленного GSH, сульфгидрильных, содержащих аминокислоты, пептидов, пуринов, или других родственных смесей [15]. Данный метод отличается специфичностью, высокой чувствительностью и простотой проведения эксперимента.

В статье итальянских исследователей от 2014 года предложен спектрофотометрический метод определения глутатиона в сыворотке крови человека. Определение GSH измеряют в прозрачном супернатанте с помощью колориметрии с использованием реактива Элмана (DTNB) в водном растворе при $\text{pH} = 7,8$. Метод является точным с относительным стандартным отклонением в течение дня от 1,7 до 3,4 % (RSD) и межсуточным RSD от 2,2 до 4,2 %, а также с относительной погрешностью в пределах от -1,4 % до 2,3 % (RE) и от -2,8 % до 1,6 % в течение дня [16]. Описанный

спектрофотометрический метод позволяет избегать окисления GSH, которое является большим недостатком при определении глутатиона. Кроме того, метод отличается скоростью проведения анализа.

1.3.2 Хроматографические методы

В исследовании 2009 года был разработан улучшенный и модифицированный метод измерения концентрации GSH и GSSG в тканях животных. В качестве подвижной фазы использовали 50 мМ NaClO₄ 0,1 % H₃PO₄, колонка для ВЭЖХ - а Discovery RP-Amide C16. Детектирование молекул осуществлялось при длине 215 нм УФ-детектором, степень извлечения GSH и GSSG составила 99,32 и 90,29 % соответственно [17]. Достоинствами метода являются быстрота и чувствительность. Кроме того, метод не нуждается в прямом процессе дериватизации в отличие от многих методов ВЭЖХ.

Работа 2015 года посвящена разработке метода ВЭЖХ-УФ, который позволяет проводить количественные определения GSH, GSSG и нитрозо-GSNO глутатиона одновременно. Хроматографическое разделение осуществляли на колонке YMC ODS-A C18, соединенной с предварительной колонкой Guard-c, с последующим детектированием при 215 нм с помощью УФ-детектора. Пределы обнаружения составляли 1 мкМ для видов глутатиона, измеренных в клетках A549 (альвеол базальные эпителиальные клетки), со значениями RSD ниже 2,5 % [18]. Предложенный метод может быть использован для одновременного и точного измерения состояния GSH, GSSG и GSNO в клетках человека. Одновременная количественная оценка этих соединений помогает лучше прогнозировать потенциальное воздействие химических веществ на здоровье человека.

Количественная оценка GSH в биологических системах с помощью УФ-детектирования при 280 нм может быть проведена при образовании стабильного димера между GSH и DTNB. В данной работе разделение осуществлялось на колонке C8 с подвижной фазой, состоящей из фосфатного

буфера, доведенного до $\text{pH} = 2,5$ (подвижная фаза А), и ацетонитрила (подвижная фаза В). Предел обнаружения (LOD) и предел количественного определения (LOQ) составляли 0,05 и 0,1 мкг/мл соответственно [19]. Вместе с определением глутатиона, метод показывает применимость для мониторинга окислительного стресса в клетках РС-12.

Хотя было разработано много методов количественного определения с использованием высокоразвитых измерительных приборов (ВЭЖХ), электрохимический метод количественного определения нашел больше уважения из-за легкости в обращении и портативности.

1.3.3 Электрохимические методы

Статья иранских исследователей от 2009 года посвящена разработке химически модифицированных электродов для дальнейшего определения GSH. В этой статье было предложено использование вольтамперометрического датчика, основанного на использовании 2,7-бис(ферроценилэтил) флуорен-9-она в качестве медиатора в матрице электродов из углеродной пасты. К достоинствам ферроцен и его производных относятся хорошая стабильность в растворе, быстрый отклик на многие электроактивные вещества, независимость от pH раствора [20]. Пригодность 2,7-BFEFMCPE в электрокатализе и определении глутатиона обсуждается на основе результатов циклической вольтамперометрии и дифференциальной импульсной вольтамперометрии.

Предложен метод определения GSH с использованием многостенного углеродного нанотрубного электрода в качестве датчика и изопреналина в качестве посредника. Было обнаружено, что при циклической вольтамперометрии окисление глутатиона происходило при потенциале около 629 мВ [21]. Предложенный метод характеризуется простотой, селективностью и точностью. Кроме того, он был использован для определения GSH в реальных образцах: гемолизированный эритроцит, моча.

Работа 2014 года посвящена возможности использования различных медиаторов, таких как ацетаминофен, 4-аминофенол, 4-амино-2,6-дихлорфенол и 4-амино-2,6-дифенилфенол, для обнаружения глутатиона с использованием наноуглеродного пастообразного электрода. Детекция основана на электрокаталитическом отклике с участием электрохимически генерируемых хинониминов и глутатиона. Согласно результатам, п-аминофенол показал высокую электрокаталитическую активность окисления GSH, образуя острый пик окисления при потенциале +0,285 В, вместе с тем показав самый низкий предел обнаружения ($0,80 \pm 0,03$) мкмоль/л⁻¹ для глутатиона [22]. Данный метод был также успешно использован в качестве селективного и точного метода определения GSH в гемолизированных образцах эритроцитов, моче и некоторых таблетках.

На основе электрокаталитического окисления GSH в узкой области pH был предложен метод распознавания глутатиона на электроде из оксида олова, легированного фтором (FTO). Электрод FTO может быть использован для определения GSH из 20 α-аминокислот и других видов. Предел обнаружения для распознавания GSH составляет 5 нМ при pH = 4,4 [23]. Метод электрохимического определения GSH на электроде FTO прост, селективен и имеет высокую чувствительность. Недостатком является невозможность использования для точного определения GSH из-за отсутствия хороших линейных отношений между током реакции и концентрацией GSH.

В данной работе будет рассмотрен вольтамперометрический метод исследования GSH и GSSG на углеродсодержащем электроде, модифицированном золотом. Метод основан на получении и изучении вольтамперных (поляризационных) кривых, отражающих зависимость силы тока (I), протекающего через электрохимическую ячейку от приложенного к ячейке напряжения (E) [24]. К достоинству вольтамперометрии относят высокую чувствительность анализа неорганических и органических веществ в химических, биологических, геологических, экологических и других объектах.

1.4 Исследование GSH и GSSG для оценки пестицидной загрязнённости

Современное сельское хозяйство не способно обойтись без применения пестицидных препаратов, борющихся с сорняками, вредителями и болезнями растений. Химические средства защиты растений (пестициды) представлены 30 классами химических соединений [25]. Использование пестицидов позволяет получать высококачественный урожай. Однако, многие используемые химические средства являются токсичными загрязняющими веществами.

Одна из групп пестицидов, широко применяемая в сельском хозяйстве – карбаматы. При попадании данной группы пестицидов в организм происходит нарушение окислительно-восстановительных процессов, что выражается признаками гипоксии и поражения центральной нервной системы [26]. Содержание карбаматов и их остатков в пищевых продуктах недопустимо [27]. Необходимо осознавать, что даже малое количество пестицида, которое присутствует в пище или воде, может нанести существенный вред здоровью человека. На сегодняшний день одним из важных шагов по минимизации потенциальных опасностей для людей и животных является мониторинг остатков пестицидов.

Глутатион, являясь низкомолекулярным антиоксидантом, может участвовать в ферментативной антиоксидантной защите, выступая эффективным скэвенджером («ловушкой») свободных радикалов [28, 29]. Для электрохимического детектирования карбаматов может быть использован аналитический сигнал от глутатиона, который будет уменьшаться при ингибирующем действии пестицидов.

2 Экспериментальная часть

2.1 Приборы и оборудование

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

Анализатор вольтамперометрический TA-Lab предназначен для высокочувствительных измерений содержания токсичных примесей в питьевых, природных, сточных водах, водных растворах проб почв, пищевых продуктов, продовольственного сырья, биологических объектов и других материалов вольтамперометрическими методами [30]. Одно из главных достоинств анализатора TA-Lab заключается в проведении анализа с малым количеством реактивов.

Имеет четыре формы разверток поляризующего напряжения: постоянно-токовую, ступенчатую, квадратно-волновую и дифференциально-импульсную. Может работать не только в простом режиме, но и в дифференциальном.

Работа с вольтамперометрическим анализатором TA-Lab позволяет одновременно анализировать три разных образца. Перемешивание раствора в электрохимической ячейке достигается за счет стабилизированного колебания индикаторного электрода.

Кроме того, к дополнительным функциям анализатора относятся следующие:

- возможность обработки анализируемых растворов инертным газом и озоном;
- программный метод проведения анализов с возможностью работы в двух- и трехэлектродном режиме;
- исключение контакта оператора с рабочей поверхностью электродов, путём их надёжного и удобного крепления;
- встроенная ультрафиолетовая лампа позволяет устранять мешающее влияние O_2 ;

Наиболее важные технические характеристики анализатора:

- чувствительность $5 \cdot 10^{-11}$ А;
- воспроизводимость аналитических сигналов 1-5 %;
- продолжительность одновременного анализа трех подготовленных проб 5-30 мин.

Совмещение вольтамперометрического анализатора TA-Lab с ПК производили в соответствии с инструкцией по эксплуатации и техническому описанию соответствующего прибора.

Поиск высот и потенциалов пиков вольтамперограмм анализируемых соединений осуществлялся программным обеспечением анализатора в автоматическом режиме.

Для взвешивания точной навески веществ использовали лабораторные аналитические весы общего назначения (класс точности 0,0001 г., Россия).

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

Добавки исследуемых веществ производили дозаторами типа ДП-1-50, ДП-1-200, ДП-1-1000 с дискретностью установки доз 1,0 мкл и погрешностью не более 5 % отн. Для каждого раствора использовали отдельный сменный наконечник дозатора.

При проведении исследований на вольтамперометрическом анализаторе TA-Lab в качестве электрохимических ячеек выступали кварцевые стаканчики, устанавливаемые на мобильную платформу в специализированные отверстия корпуса анализатора.

Чистоту фонового электролита и кварцевых стаканчиков контролировали перед каждой серией экспериментов посредством проведения «холостого» опыта. Фоновый электролит и посуда считались чистыми в случае отсутствия пиков металлов и сорбции-десорбции на анодно-катодных вольтамперограммах и емкостных кривых, соответственно.

Хлоридсеребряные электроды (ХСЭ) выступали в качестве электрода сравнения и вспомогательного электрода благодаря своей стабильности, простоте конструкции. Устройство ХСЭ следующее: полый цилиндр, в который опущена серебряная проволока, покрытая труднорастворимой солью хлорида серебра, заполнен насыщенным раствором хлорида калия.

В качестве индикаторного электрода в работе использовали углеродсодержащий композитный электрод (УКЭ), состоящий из полиэтиленового корпуса, который заполнен электропроводящей смесью полиэтилена с техническим углеродом, и является твердым композитным электродом. Для создания высокой чувствительности и стабильности работы электрода проводили модифицирование его поверхности частицами золота. Регенерация рабочей поверхности электрода осуществлялась путем срезания тонкого слоя (0,1 - 0,3 мм) специальным резаком. Перед работой индикаторный электрод промывали дистиллированной водой, после чего протирали фильтровальной бумагой.

Общий рабочий диапазон потенциалов индикаторного электрода от -2 до +0,2 В.

2.2 Реактивы

Для исследования электрохимических свойств глутатиона в работе были использованы следующие реактивы:

- GSH – глутатион восстановленный (Sigma, USA);
- GSSG – глутатион окисленный (Sigma, USA);
- стандартный буферный раствор: тетраборат натрия 1-водный $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (pH= 9,18) (стандарт-титр);
- сульфит натрия Na_2SO_3 (C = 4 М) (ГОСТ 195-77);
- раствор тетрахлоаурат (III) водорода HAuCl_4 (C = 1000 мг/дм³) (ампульный препарат, ООО «Томьаналит»);
- раствор серной кислоты H_2SO_4 (C = 0,025 М) (ГОСТ 4166-76).

3 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

Все технологические процессы сопровождаются потреблением первичных ресурсов (вода, воздух, энергия), материальных и трудовых. Формирование и реализация стратегии ресурсосбережения на всех уровнях управления – один из важнейших вопросов стратегического менеджмента, поскольку ресурсоемкость является второй стороной товара, когда первой является его качество.

Целью раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» является определение перспективности и успешности научно-исследовательского проекта, разработка механизма управления и сопровождения конкретных проектных решений на этапе реализации.

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

3.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Потенциальными потребителями результатов исследования электрохимических свойств глутатиона могут быть фармацевтические компании и лаборатории разных профилей.

3.1.2 Анализ конкурентных технических решений

Проведение детального анализа конкурирующих разработок, существующих на рынке, необходимо проводить систематически, поскольку рынки пребывают в постоянном движении. Данный анализ позволяет вносить коррективы в научное исследование для улучшения его конкурентоспособности.

Целесообразно проводить данный анализ с помощью оценочной карты. Оценочная карта сравнения конкурирующих технических решений исследования глутатиона представлена в таблице 1.

Анализ конкурентных разработок определяется по формуле:

$$K = \sum V_i \cdot B_i,$$

где K – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;

V_i – вес i -го показателя;

B_i – балл i -го показателя.

Таблица 1 - Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений (разработок): K_B – вольтамперометрический метод анализа, K_{K1} – хроматографический метод анализа, K_{K2} – спектрофотометрический метод анализа.

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы			Конкурентоспособность		
		B_B	B_{K1}	B_{K2}	K_B	K_{K1}	K_{K2}
1	2	3	4	5	6	7	8
Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Точность определения	0,25	5	4	5	1,25	1	1,25
1. Экспрессность	0,15	5	4	3	0,75	0,6	0,45
2. Простота эксплуатации	0,15	4	3	5	0,6	0,45	0,75
Экономические критерии оценки эффективности							
1. Цена	0,25	5	3	4	1,25	0,75	1
2. Предполагаемый срок эксплуатации	0,10	4	4	3	0,4	0,4	0,3
6. Стоимость оборудования	0,10	4	3	3	0,4	0,3	0,3
Итого	1				4,65	3,5	4,05

По итогам анализа оценочной карты можно сделать вывод, что научная разработка, исследуемая в данной ВКР, является конкурентоспособной.

3.1.3 SWOT-анализ

SWOT-анализ – комплексный анализ научно-исследовательского проекта, применяемый для исследования внешней и внутренней среды проекта, в котором Strengths - сильные стороны, Weaknesses - слабые стороны, Opportunities - возможности и Threats – угрозы [37].

Результаты первого этапа SWOT-анализа представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты первого этапа SWOT-анализа

	Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1. Экспрессность С2. Простота эксплуатации С3. Широкий спектр объектов анализа С4. Селективность	Слабые стороны научно-исследовательского проекта: Сл1. Невысокая точность определения Сл2. Обязательная необходимость прибора Сл2. Обязательная необходимость дополнительных материалов к прибору и реактивов
Возможности: В1. Появление дополнительного спроса на продукт В2. Разработка методики определения в разных биологических объектах В3. Перспективы внедрения вольтамперометрии в качестве метода анализа в медицине.		
Угрозы: У1. Развитие конкурентных методов анализа У2. Ограниченный круг потребителей У3. Повышение стоимости оборудования У4. Отсутствие необходимых реактивов		

Второй этап SWOT-анализа состоит в выявлении соответствия сильных и слабых сторон проекта внешним условиям окружающей среды. Это

соответствие или несоответствие должны помочь выявить степень необходимости проведения стратегических изменений. В рамках данного этапа были построены интерактивные матрицы проекта, представленные в таблицах 3, 4, 5, 6.

Таблица 3 – Интерактивная матрица проекта «Сильные стороны и возможности»

		Сильные стороны проекта			
		С1	С2	С3	С4
Возможности проекта	В1	+	+	+	+
	В2	+	0	+	+
	В3	+	+	-	+

Таблица 4 – Интерактивная матрица проекта «Слабые стороны и возможности»

		Слабые стороны проекта		
		Сл1	Сл2	Сл3
Возможности проекта	В1	+	-	-
	В2	+	-	-
	В3	-	-	-

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

		Сильные стороны проекта			
		С1	С2	С3	С4
Угрозы проекта	У1	-	-	-	-
	У2	-	-	+	-
	У3	-	0	+	+
	У4	-	+	+	-

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

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

Таким образом, в рамках третьего этапа составлена итоговая матрица SWOT-анализа, представленная в таблице 7.

Таблица 7 – Итоговая матрица SWOT-анализа

	Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1. Экспрессность С2. Простота эксплуатации С3. Широкий спектр объектов анализа С4. Селективность	Слабые стороны научно-исследовательского проекта: Сл1. Невысокая точность определения Сл2. Обязательная необходимость прибора Сл2. Обязательная необходимость дополнительных материалов к прибору и реактивов
Возможности: В1. Появление дополнительного спроса на продукт В2. Разработка методики определения в разных биологических объектах В3. Перспективы внедрения вольтамперометрии в качестве метода анализа в медицине.	Благодаря спросу на новый продукт, появляется возможность использования его в качестве альтернативного метода анализа в медицине.	Долгий срок поставок материалов и оборудования может негативно сказаться на успешном внедрении данного продукта, а соответственно, на его спросе.
Угрозы: У1. Развитие конкурентных методов анализа У2. Ограниченный круг потребителей У3. Повышение стоимости оборудования У4. Отсутствие необходимых реактивов	Заявленная точность и экспрессность могут сделать предлагаемую методику определения конкурентоспособной.	Отсутствие спроса на новые методы и развитая конкуренция методов, плохо сказывается на внедрение разработки на рынок. Кроме того, отсутствие дополнительных материалов к оборудованию и реактивов, может привести к большим затратам времени на проведение научных исследований.

3.2 Планирование исследовательских работ в рамках ВКР

3.2.1 Структура работ в рамках проводимого исследования

Для выполнения данной ВКР была сформирована рабочая группа, в состав которой входят: бакалавр, научный руководитель, консультант,

консультант по части социальной ответственности (СО) и консультант по экономической части (ЭЧ) выпускной квалификационной работы. В таблице 8 представлен составленный перечень этапов и работ в рамках проведения научного исследования с распределением исполнителей по видам работ.

Таблица 8 – Перечень этапов, работ и распределение исполнителей

Основные этапы	№ раб.	Содержание работ	Должность исполнителя
1	2	3	4
Разработка технического задания	1	Составление и утверждение технического задания	Научный руководитель, консультант ЭЧ,СО, бакалавр
Выбор направления исследований	2	Ознакомление с экспериментальными данными и выбор направления исследований	Научный руководитель, консультант ВКР, бакалавр
	3	Подбор и изучение материалов по теме	Научный руководитель, бакалавр
	4	Патентный обзор литературы	Бакалавр
	5	Календарное планирование работ по теме	Научный руководитель, бакалавр
Теоретические и экспериментальные исследования	6	Проведение лабораторных анализов	Бакалавр
	7	Проведение расчётов и их обоснование на основании экспериментальных данных	Бакалавр
	8	Сопоставление результатов с теоретическими исследованиями	Научный руководитель, бакалавр, консультант ВКР
Обобщение и оценка результатов	9	Оценка эффективности полученных результатов	Научный руководитель, бакалавр, консультант ВКР
	10	Определение целесообразности проведения ВКР	Научный руководитель, бакалавр
Проведение ВКР			
Разработка технической документации и проектирование	11	Оценка эффективности применения анализа	Бакалавр, консультант по ЭЧ
	12	Разработка социальной ответственности по теме	Бакалавр, консультант по СО
Оформление комплекта документации по ВКР	13	Составление пояснительной записки	Бакалавр

3.2.2 Структура работ в рамках проводимого исследования

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

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

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

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

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

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

$$T_{pi} = \frac{t_{ожі}}{C_i},$$

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

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

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

Результаты расчётов представлены в таблице 9.

3.2.3 Разработка графика проведения научного исследования

При выполнении дипломных работ студенты 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 – это горизонтальный ленточный график, на котором работы по теме представляются протяженными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ. Диаграмма Ганта строится на основании данных таблицы 9.

Для удобства построения графика, длительность каждого из этапов работ из рабочих дней следует перевести в календарные дни. Для этого необходимо воспользоваться следующей формулой:

$$T_{ki} = T_{pi} \cdot k_{кал} ,$$

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

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

$k_{кал}$ – коэффициент календарности.

В свою очередь коэффициент календарности определяется по формуле:

$$k_{кал} = \frac{T_{кал}}{T_{кал} - T_{вых} - T_{пр}} ,$$

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

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

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

Количество календарных дней для 2019/2020 учебного года составит 366. Количество выходных и праздничных дней 52 и 14 соответственно.

Тогда коэффициент календарности составит:

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

Календарный план-график проведения научного исследования по исследованию электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии представлен в таблице 10.

Таблица 9 - Временные показатели проведения научного исследования:
Р- научный руководитель, Б – бакалавр, К – консультант ВКР, К¹ – консультант по экономической части, К² – консультант по социальной ответственности.

№	Название работ	Трудоемкость работ			Исполнитель	T _p , раб.дн	T _к , кал.дн.
		t _{min} , чел- дн.	t _{max} , чел- дн.	t _{ож} , чел- дн.			
1	Составление и утверждение технического задания	1	2	1,4	Р	0,4	0,5
		1	2	1,4	Б	0,4	0,5
		1	2	1,4	К ¹	0,4	0,5
		1	2	1,4	К ²	0,4	0,5
2	Ознакомление с экспериментальными данными и выбор направления исследований	3	5	3,8	Р	1,3	1,6
		5	7	5,8	Б	1,9	2,3
		5	7	5,8	К	1,9	2,3
3	Подбор и изучение материалов по теме	3	5	3,8	Р	1,9	2,3
		3	7	4,6	Б	2,3	2,8
4	Патентный обзор литературы	4	7	5,2	Б	5,2	6,4
5	Календарное планирование работ по теме	1	3	1,8	Р	0,9	1,1
		1	3	1,8	Б	0,9	1,1
6	Проведение лабораторных анализов	14	21	16,8	Б	16,8	20,5

Продолжение таблицы 9

7	Проведение расчётов и их обоснование на основании экспериментальных данных	3	4	3,4	Б	3,4	4,2
8	Сопоставление результатов с теоретическими исследованиями	2	3	2,4	Р	0,8	1
		2	7	4	Б	1,4	1,7
		2	5	3,2	К	1,1	1,3
9	Оценка эффективности полученных результатов	2	4	2,8	Р	0,9	1,1
		4	7	5,2	Б	1,7	2,1
		4	7	5,2	К	1,7	2,1
10	Определение целесообразности проведения ВКР	3	5	3,8	Р	1,9	2,3
		3	5	3,8	Б	1,9	2,3
11	Оценка эффективности применения анализа	5	10	7	Б	3,5	4,3
		5	10	7	К ¹	3,5	4,3
12	Разработка социальной ответственности по теме	3	8	5	Б	2,5	3,1
		3	8	5	К ²	2,5	3,1
13	Составление пояснительной записки	25	30	27	Б	27	32,9
14	Итого					88,5	108,2

Продолжительность работ, выполняемых исполнителями:

- научный руководитель – 8,1 раб.дн.;
- бакалавр – 68,9 раб.дн.;
- консультант ВКР – 4,7 раб.дн.;
- консультант по ЭЧ – 3,9 раб.дн.;
- консультант СО – 2,9 раб.дн.

Таблица 10 - Календарный план-график проведения ВКР по теме «Исследование электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии»

Вид работы	Исполнители	T_k , кал. дней	Продолжительность выполнения работ													
			февраль		март			апрель			май					
			2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
Составление и утверждение технического задания	Научный руководитель, консультант ЭЧ,СО, бакалавр	0,5	█													
		0,5	█													
		0,5	█													
		0,5	█													
Ознакомление с экспериментальными данными и выбор направления исследований	Научный руководитель, консультант ВКР, бакалавр	1,6	█													
		2,3	█													
		2,3	█													
Подбор и изучение материалов по теме	Научный руководитель, бакалавр	2,3	█													
		2,8	█													
Патентный обзор литературы	Бакалавр	6,4		█												
Календарное планирование работ по теме	Научный руководитель, бакалавр	1,1			█											
		1,1			█											
Проведение лабораторных анализов	Бакалавр	20,5			█	█	█	█								
Проведение расчётов и их обоснование на основании эксперимента	Бакалавр	4,2						█	█							

3.2.4 Бюджет исследования

В процессе формирования бюджета работ в рамках выполнения ВКР используется следующая группировка затрат по статьям: материальные затраты; затраты на оборудование; основная заработная плата исполнителей темы; дополнительная заработная плата исполнителей темы; отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления); накладные расходы.

3.2.4.1 Расчёт материальных затрат и затрат на специальное оборудование

Материальные затраты включают стоимость всех материалов, используемых при разработке проекта, в частности, сырье и материалы, покупные комплектующие изделия и полуфабрикаты, используемые в качестве объектов исследований (испытаний) и для эксплуатации, технического обслуживания и ремонта изделий – объектов испытаний (исследований). Материальные затраты и затраты на оборудование для данного исследования представлены в таблице 11, 12.

Расчет материальных затрат осуществляется по формуле:

$$Z_m = (1 + k_T) \cdot \sum_{i=1}^m C_i \cdot N_{расхи} ,$$

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.);

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

k_T – коэффициент, учитывающий транспортно-заготовительные расходы.

Таблица 11 – Материальные затраты

Наименование	Ед.изм.	Количество	Цена за ед., руб.	Сумма, руб.
Фосфатный буферный раствор рН = 9,18	мл	120	24	2880
Сульфит натрия	г	25	0,5	12,5
Тетрахлороаурат(III) водорода	г	5	675	3375
Серная кислота концентрированная	мл	1	0,3	0,3
Калий хлорид насыщенный	мл	20	3,4	68
L-глутатион (GSH)	мл	2,5	1634	4085
L-глутатион (GSSG)	мл	2,5	1634	4085
ХСЭ	шт	2	750	1500
УКЭ	шт	1	800	800
Лабораторная химическая посуда: – колбы мерные на 50 и 100 см ³ ; – цилиндры мерные с носиком на 25, 50, 100 см ³ ; – стаканы на 25, 50 см ³ ; – стеклянные палочки	шт	4 2 4 1	1200 100 150 10	5610
Транспортные расходы (5 %)				1120,8
Итого				23536,6

Для оборудования нужно рассчитать величину амортизации по следующей формуле:

$$A = \frac{C_{перв} \cdot H_a \cdot a}{100 \cdot 12},$$

где $C_{перв}$ – первоначальная стоимость, руб.;

H_a – норма амортизации, %;

a – срок работы, месяц.

Норма амортизации:

$$H_a = \frac{1}{T} \cdot 100\%,$$

где T – срок эксплуатации, год.

Таблица 12 – Затраты на оборудование

Наименование оборудования	Кол-во единиц, шт.	Цена единицы оборудования, руб.	Общая стоимость оборудования, руб.	Срок работы, месяц	Амортизация, руб.
Вольтамперометрический анализатор ТА-Lab (ООО «НПП Томьаналит», г.Томск)	1	230 000	230000	3	11500
Дистиллятор для приготовления воды очищенной (Россия, ЧЗБТ)	1	35000	35000	1	291,7
Весы аналитические (класс точности 0,0001 г., Россия)	1	38000	38000	2	1266,7
Дозатор 1-канальный, переменного объема 1-5 мл (Россия)	1	5780	5780	3	481,7
Дозатор 1-канальный, переменного объема 10-100 мкл (Россия)	1	7906	7906	3	658,8
Итого			316686		14198,9

3.2.4.2 Основная и дополнительная заработная плата исполнителей темы

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

$$Z_{зн} = Z_{осн} + Z_{доп} ,$$

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

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

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

$$Z_{осн} = Z_{дн} \cdot T_p ,$$

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

T_p – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн. (таблица 10).

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$$Z_{дн} = \frac{Z_m \cdot M}{F_{\partial}} ,$$

где Z_m – месячный должностной оклад работника, руб.;

M – количество месяцев работы без отпуска в течение года:

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

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

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

В таблице 13 приведен баланс рабочего времени каждого работника ВКР.

Таблица 13 - Баланс рабочего времени в 2020 году

Показатели рабочего времени	Научный руководитель	Бакалавр	Консультант ВКР	Консультант по ЭЧ	Консультант по СО
Календарное число дней	366	366	366	366	366
Количество нерабочих дней					
– выходные дни	52	52	52	52	52
– праздничные дни	14	14	14	14	14
Потери рабочего времени					
– отпуск	48	-	48	48	48
– невыходы по болезни	-	-	-	-	-
Действительный годовой фонд рабочего времени	252	300	252	252	252

Месячный должностной оклад работника:

$$Z_m = Z_{mc} \cdot k_p,$$

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

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

Расчет основной заработной платы приведен в таблице 14.

Таблица 14 - Расчет основной заработной платы

Исполнитель	Z_{mc} , руб.	k_p	Z_m , руб.	$Z_{дн}$, руб.	T_p , раб.дн.	$Z_{осн}$, руб.
Научный руководитель	35120	1,3	45656	1884,2	8,1	15262,0
Консультант ВКР	22700		29510	1217,9	4,7	5724,1
Консультант по ЭЧ	35120		45656	1884,2	3,9	7348,4
Консультант по СО	27770		36101	1489,9	2,9	4320,7
Бакалавр	12130		15769	650,8	68,9	44840,1
Итого						77495,3

Общая заработная плата исполнителей работы с учётом дополнительной заработной платы в 15 % представлена в таблице 15.

Таблица 15 - Общая заработная плата исполнителей

Заработная плата	Научный руководитель	Консультант ВКР	Консультант по ЭЧ	Консультант по СО	Бакалавр
Основная	15262,0	5724,1	7348,4	4320,7	44840,1
Дополнительная	2289,3	858,6	1102,3	648,1	6726,0
Итого	17551,3	6582,7	8450,7	4968,8	51566,1

3.2.4.3 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления) и накладные расходы

Отчисления во внебюджетные фонды рассчитываются по формуле:

$$Z_{внеб} = \sum Z_{зн} \cdot K_{внеб},$$

где $K_{внеб}$ – коэффициент отчислений на уплату во внебюджетные фонды (пенсионный фонд, фонд обязательного медицинского страхования и пр.)
Общий совокупный тариф отчислений составляет 30,2 %.

Получаем:

$$Z_{внеб} = (17551,2 + 6582,7 + 8450,7 + 4968,8 + 51566,1) \cdot 0,302 = 26914,1$$

руб.

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

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

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

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

3.2.4.4 Формирование бюджета затрат ВКР

Определение бюджета затрат на ВКР по теме: «Исследование электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии» приведен в таблице 16.

Таблица 16 - Расчет бюджета затрат ВКР

№	Наименование статьи	Сумма, руб.	Примечание
1	Материальные затраты	23536,6	Табл. 11
2	Затраты на оборудование	14198,9	Табл. 12
3	Основная заработная плата исполнителей	77495,3	Табл. 14
4	Дополнительная заработная плата исполнителей	11624,3	Табл. 15
5	Отчисления во внебюджетные фонды	26914,1	Пункт 4.2.4.3
6	Накладные расходы	24603,1	Пункт 4.2.4.3
7	Бюджет затрат исследования	178372,3	Сумма ст. 1-6

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

Определение эффективности происходит на основе расчета интегрального показателя эффективности научного исследования. Интегральный показатель ресурсоэффективности объекта исследования можно определить следующим образом:

$$I_{pi} = \sum a_i \cdot b_i,$$

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

a_i – весовой коэффициент i -го варианта исполнения разработки;
 b_{i_j} – бальная оценка i -го варианта исполнения разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания.

Результаты по расчету интегрального показателя ресурсоэффективности представлены в таблице 17.

Таблица 17 - Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта: В – вольтамперметрическая методика, С – спектрофотометрическая методика, Х – хроматографическая методика.

№	Критерий	Весовой коэффициент параметра	В	С	Х
1	Точность определения	0,4	5	4	5
2	Экспрессность	0,3	4	3	4
3	Простота эксплуатации	0,3	5	4	3
4	Итого	1	2,04	1,61	1,44

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, то есть разработка с применением вольтамперметрической методики более эффективна, так как она более точна и проста в эксплуатации.

Вывод по разделу

В результате проведенной работы была спроектирована и создана конкурентоспособная разработка, отвечающая современным требованиям в области ресурсоэффективности и ресурсосбережения.

4 Социальная ответственность

Научно-исследовательская работа направлена на исследование электрохимических свойств глутатиона, как перспективного вещества для исследования и использования в пищевой и фармацевтической промышленности.

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

4.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности

Основу правовых и организационных вопросов обеспечения безопасности составляют законы, постановления, а также подзаконные акты, принятые представительными органами Российской Федерации и входящих в неё республик.

4.1.1 Специальные (характерные для рабочей зоны исследователя) правовые нормы трудового законодательства

На работу в химико-аналитические лаборатории принимаются лица не моложе 18 лет, прошедшие медицинское освидетельствование для решения вопроса о возможности работы в лаборатории.

При выполнении своих обязанностей лаборант может быть подвержен воздействию опасных и вредных производственных факторов: физических и химических. Для защиты от данных факторов лаборанту выдаются сертифицированные средства индивидуальной защиты согласно установленным нормам, а также смывающие и обезвреживающие средства.

Вредные условия труда негативно влияют на состояние здоровья работников и их дееспособность. В зависимости от класса опасности условий и их влияния на организм работника, государство обязывает работодателя в

соответствии ТК РФ статья 147 выплачивать ему повышенную заработную плату [38]. В качестве дополнительных льгот и компенсаций предусмотрены следующие:

- уменьшение рабочего времени;
- дополнительный ежегодный отпуск;
- досрочный выход на пенсию;
- обязательные периодические медосмотры за счёт работодателя и др.

4.1.2 Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны исследователя

К организационным мероприятиям при компоновке рабочей зоны в аналитической лаборатории следует отнести следующие:

- наличие естественного и искусственного освещения, в соответствии с требованием СП 52.13330.2011 «Естественное и искусственное освещение» [39];

- обеспечение водопроводными раковинами для мытья рук персонала и химической посуды, канализацией;

- поддержание температуры воздуха в пределах 18 – 21 °С в соответствии с требованиями СанПиН 2.2.4.548-96 "Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений" [40];

- наличие приточно-вытяжной вентиляции, обеспечивающей надлежащий воздухообмен для работников и способной поддерживать требуемый уровень температуры и влажности;

- стены помещения должны быть облицованы на высоту 1,5 м белой глазурованной плиткой или выкрашены масляной краской светлых тонов. В боксах - белой глазурованной плиткой или плиткой из гладких синтетических материалов. Ширина основных проходов к рабочим местам или между двумя рядами оборудования должна быть не менее 1,5 м с учетом выступающих конструкций стен;

- покрытие полов осуществляется линолеумом или резином. В боксах - гладкой плиткой;

- лабораторная мебель должна быть окрашена масляной или эмалевой краской светлых тонов, рабочие поверхности столов покрываются пластиком или другим кислото- и щелочеустойчивым материалом. Внутренние и наружные поверхности мебели не должны иметь щелей и пазов, затрудняющих обработку дезинфицирующими веществами;

- электроприборы (плитки, сушильные шкафы и др.) включают в сеть с соответствующим прибору напряжением;

- обеспечение персонала необходимыми средствами индивидуальной защиты: спецодежда, обувь, перчатки, предохранительные приспособления, предусмотренные действующими нормами.

4.2 Профессиональная социальная безопасность

В Федеральном законе РФ от 28 декабря 2013 г. N 426-ФЗ «О специальной оценке условий труда» в «Статья 3. Специальная оценка условий труда» установлено, что необходимо выявить все вредные и опасные факторы для оценки их влияния на работников, для последующего установления способов индивидуальной и коллективной защиты [41]. Выполнение научно-исследовательской работы по данной тематике требует четкого соблюдения правил по технике безопасности и охране труда работников, поскольку осуществляется работа с химическими реактивами, электрооборудованием.

4.2.1 Анализ вредных и опасных факторов, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований

В процессе исследования электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии возможно возникновение вредных и опасных факторов. В таблице 18 рассмотрены вероятные источники их возникновения.

Таблица 18 – Опасные и вредные факторы при выполнении работ по исследованию электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии.

Источник фактора (наименование видов работ)	Факторы (в соответствии с ГОСТ 12.0.003-74 [42])	
	Вредные	Опасные
Работа с химическими реактивами	Отклонение показателей микроклимата в лаборатории	Контакт с химическими реактивами
Работа на вольтамперометрическом анализаторе Та-Lab (ООО «НПП Томьаналит» г.Томск)	Повышенный уровень шума и вибрации	Электрический ток
Работа за компьютером	Недостаточная освещённость	

4.2.2 Обоснование мероприятий по защите исследователя от действия опасных и вредных факторов

Микроклимат в аналитической лаборатории

Основные показатели микроклимата воздуха в лаборатории составляют:

- температура – 18-21 °С;
- относительная влажность – 60 – 65 %;
- скорость движения воздуха – 0,2 м/с.

Эти показатели относятся к оптимальным условиям, удовлетворяющим требованиям СанПиН 2.2.4.548-96 "Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений" [40].

Наличие системы вентиляции позволит поддерживать требуемые параметры микроклимата.

Контакт с химическими реактивами

Характеристика потенциально опасных химических веществ, используемых при исследовании электрохимических свойств глутатиона, представлена в таблице 19.

Таблица 19 - Характеристика химических веществ

Наименование	Физические свойства	ПДК, мг/м ³	Класс опасности	Токсическое действие
Серная кислота концентрированная H ₂ SO ₄	Тяжёлая маслянистая жидкость без цвета и запаха	1	2	Поражает кожу, слизистые оболочки, дыхательные пути (вызывает химические ожоги). При вдыхании паров затрудняется дыхание, возникает кашель, нередко — ларингит, трахеит, бронхит.
Сульфит натрия Na ₂ SO ₃	Кристаллический порошок от белого до желтого цвета (в зависимости от марки и сорта)	10	3	При длительном воздействии раздражает кожу, затрудняет дыхание. При попадании в глаза вызывает раздражение. Может причинить вред при проглатывании.
Спирт этиловый C ₂ H ₅ OH	Летучая, горючая, бесцветная прозрачная жидкость	1000	4	Относится к наркотическим средствам жирного ряда. В результате действия на кору головного мозга вызывает опьянение с характерным алкогольным возбуждением. В больших дозах вызывает наркотический эффект. Угнетающе действует на центральную нервную систему. При отравлении характерны тошнота, рвота и дегидратация.

Минимизировать возможный риск для здоровья в процессе выполнения работы и снизить содержание реактивов в воздухе рабочей зоны позволят следующие мероприятия:

1. использование средства индивидуальной защиты (очки, маски, резиновые перчатки, спецодежда);
2. герметизация тары хранения и оборудования для проведения реакции;
3. вытяжная система вентиляции - вытяжной шкаф, внутри которого проводится работа с химическими реактивами;
4. точное соблюдение техники безопасности и инструкций к используемым веществам.

Повышенный уровень шума и вибрации

Длительное воздействие шума снижает остроту слуха и зрения, повышает кровяное давление, утомляет центральную нервную систему, в результате чего ослабляется внимание, увеличивается количество ошибок в действиях рабочего, снижается производительность труда.

Уровни шума не должны превышать значений, установленных в ГОСТ 12.1.003 – 83 [43] и ГОСТ 17187 – 81 [44], и проводится не реже двух раз в год.

Для снижения шума и вибрации в помещениях проводятся следующие основные мероприятия:

1. уменьшение уровня шума в источнике его возникновения;
2. виброизоляция;
3. рациональное размещение оборудования.

Важным для снижения опасного воздействия данных факторов на организм человека является правильная организация труда и отдыха, постоянное медицинское наблюдение, лечебно-профилактические мероприятия.

Электрический ток

Помещение лаборатории согласно ГОСТ Р12.1.019-2009 [45] относится к 1-ой категории по условиям опасности поражения электрическим током, без опасности поражения электрическим током, в которых отсутствуют условия, создающие повышенную или особую опасность. Для предотвращения воздействия тока на работника необходимо:

1. соблюдение соответствующих расстояний до токоведущих частей или путем закрытия (заземление электрооборудования);
2. ограждения токоведущих частей;
3. применение предупреждающей сигнализации, надписей;
4. целостность электрооборудования.

Недостаточная освещённость

Для нормальной зрительной работы без перенапряжения глаз в лаборатории должно быть организована комбинированная система освещения. Требования к норме и равномерности освещённости, коэффициенту пульсации освещённости, общего индекса цветопередачи и других параметров для лабораторий нормируются в соответствии с ГОСТ Р 55710-2013 «Освещение рабочих мест внутри зданий» [46].

4.3 Экологическая безопасность

4.3.1. Анализ влияния процесса исследования на окружающую среду

Вредные вещества могут попадать в окружающую среду (атмосферу, гидросферу, литосферу) по сточным водам в виде пыли, дыма, газа, твердых отходов производства.

В процессе данного исследования используются потенциально опасные серная кислота, сульфит натрия и этанол, которые в дальнейшем попадают в сточные воды. Количество данных реагентов незначительно, но установление их влияния в целом важно.

Повышенное содержание сульфатов ухудшают органолептические свойства воды.

Сульфит натрия может быть опасным для окружающей среды, особенно в отношении гидробионтов, поскольку способствует удалению кислорода из воды.

4.3.2. Обоснование мероприятий по защите окружающей среды

Жизненный цикл химических реактивов в университете начинается поставкой необходимых веществ от фирмы-поставщика сотруднику или студенту, занятому в лабораторном курсе. Вещества используют в синтезе или для анализа. В процессе использования образуются загрязненные исходные материалы, побочные продукты, загрязненные растворители и реагенты, их следует разложить или утилизировать, если их выделение для повторного использования невозможно. В отличие от промышленных отходов, химические отходы в университетских лабораториях образуются обычно в небольших количествах и представляют собой очень сложные смеси.

Лучше всего было бы избегать образования отходов с самого начала. Это является основной целью закона о рецикле и управлении отходами «Recycling and Waste Management Act». Если этого невозможно избежать, количество отходов нужно снижать путем отдельного сбора и мер по повторному использованию. Наконец, после того, как предприняты все вышеперечисленные усилия, все еще оставшееся количество отходов следует утилизировать без риска для здоровья и окружающей среды.

Некоторые виды отходов, произведенных в лабораториях, нельзя разлагать в их исходной форме, их сначала следует довести до требуемого состояния. Используя подходящие процессы, эти отходы можно подвергнуть детоксификации на месте их образования. Преимуществом детоксификации является снижение риска воздействия на неподготовленных работников, которые могут иметь дело с этими отходами, и несчастных случаев, то есть снижение риска загрязнения окружающей среды.

Сточные воды представляют собой любые жидкости, которые выливают в раковину. В идеальном случае они содержат только воду. В ежедневной практике они обычно включают водные растворы, которые предварительно нейтрализуют до рН от 6 до 8, и не содержат тяжелых металлов. В процессе утилизации сточных вод должны соблюдаться предельные концентрации, принятые для бытовых сточных вод.

Основные параметры, существенные для качества сточных вод:

- величина рН для сточных вод должна находиться в интервале от 6,0 до 10,5;
- температура не должна превышать 35 °С;
- токсичность сточных вод должна быть меньше такой, при которой вещество воздействует на биологические процессы на станциях водоочистки, переработки ила и его утилизации;
- предельно допустимые концентрации для веществ, реагирующих с кислородом, например, сульфита натрия, солей железа (II) и тиосульфатов, установлены на уровне 50 мг/л сточной воды).

Ненужные химические вещества в хорошо закрытых сосудах нужно предложить другому лаборанту для дальнейшего применения. Их подвергают утилизации только в том случае, если никто не проявит интерес к этим веществам в течение определенного периода времени.

Кислые растворы, которые не содержат тяжелых металлов или других опасных веществ, можно нейтрализовать гидроксидом натрия или гидроксидом калия в эквимолярном количестве и затем вылить в лабораторные сточные воды.

4.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях

Согласно ФЗ «О защите населения и территорий от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера» [47], чрезвычайная ситуация – обстановка на определенной территории, сложившаяся в результате аварии, опасного природного явления, катастрофы, стихийного или иного бедствия, которые могут повлечь или повлекли за собой человеческие жертвы, ущерб здоровью людей или окружающей среде, значительные материальные потери и нарушение условий жизнедеятельности людей.

Чрезвычайную ситуацию можно квалифицировать следующим образом:

1. ЧС, связанная с производственными авариями (пожары, взрывы, выброс вредных веществ в окружающую среду)
2. ЧС, связанная со стихийными бедствиями (землетрясения, наводнения, ураганы, смерчи, снежные бури, заносы, оползни, обвалы, эпидемии, лесные и торфяные пожары).
3. ЧС конфликтного характера (вооруженное нападение, волнения в отдельных районах, вызванные выступлениями экстремистских групп, применения оружия массового поражения).

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

4.4.1 Анализ вероятных ЧС, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований

При выполнении исследования электрохимических свойств глутатиона может возникнуть чрезвычайная ситуация – замыкание проводки, которое вероятнее всего послужит причиной возгорания.

Помимо вышеупомянутой ситуации возможно получение химического или термического ожога, который происходит в случае, когда некоторые или все клетки кожи или других тканей разрушаются под воздействием либо

горячих жидкостей (ожоги кипятком или паром), либо горячих твердых предметов (контактные ожоги).

Ещё одна вероятная ситуация – отравление, характеризующееся попаданием в организм токсичного вещества. Ситуации, способные привести к данной ЧС:

- потребление пищи и напитков в лаборатории;
- отсутствие внимательности и осторожности лаборанта при использовании химических реагентов;
- пренебрежение СИЗ.

4.4.2 Обоснование мероприятий по предотвращению ЧС и разработка порядка действия в случае возникновения ЧС

Для минимизации потенциальных опасностей все лабораторные помещения должны соответствовать требованиям пожарной безопасности согласно ГОСТ 12.1.004-91 [48] и иметь необходимые средства противопожарной безопасности согласно ГОСТ 12.4.009-83 [49].

Возможные причины возникновения пожара: короткое замыкание проводки или электрооборудования, неосторожное обращение с легковоспламеняющимися жидкостями, несоблюдение правил противопожарной безопасности.

Лабораторное помещение по степени пожароопасности относится к классу П-Па. Для пожароопасных зон данного класса характерно расположение в помещениях, в которых обращаются твердые горючие вещества в количестве, при котором удельная пожарная нагрузка составляет не менее 1 мегаджоуля на квадратный метр.

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

- незамедлительно сообщить в пожарную часть с городского телефона по номеру «01», с мобильного телефона по номерам «101» или «112»;

- принять всевозможные меры по недопущению распространения огня (убрать все огне- и взрывоопасные вещества от очага возгорания, обесточить электрооборудование);
- известить начальника лаборатории, который в свою очередь обязан провести эвакуацию сотрудников;
- знать и уметь пользоваться первичными средствами пожаротушения.

В Национальном Исследовательском Томском политехническом университете, где проводились исследования, предприняты все необходимые по нормативным документам меры для предотвращения возникновения пожаров. Для тушения возможного возгорания и пожаров лаборатория оснащена специальным оборудованием:

1. огнетушитель углекислотный газовый типа ОУ-2 для тушения всех видов горючих веществ и электроустановок, кроме веществ, горящих без доступа воздуха;
2. ручной огнетушитель порошковый ОП, применяемый для тушения установок, находящихся под напряжением;
3. асбестовое одеяло, которое используется при тушении обесточенных электропроводов, горячей одежды;
4. ящик с песком для тушения обесточенных горящих на горизонтальной поверхности проводов;

Для обнаружения пожара, оповещения и эвакуации людей установлена система пожарной сигнализации, разработан и размещён план эвакуации, с которым ознакомлены сотрудники лаборатории.

При химическом ожоге серной кислотой пораженное место сразу же промывают большим количеством проточной холодной воды 15-20 мин. Если кислота попала на кожу через одежду, то сначала надо смыть ее водой с одежды, после чего промыть кожу. Следует помнить, что при химическом ожоге полностью смыть химические вещества водой не удастся. Поэтому после промывания пораженное место обрабатывают раствором пищевой соды (одна чайная ложка на стакан воды).

При попадании кислоты в пищевод необходимо срочно вызвать врача скорой помощи. Нельзя промывать желудок водой. Хороший эффект дает прием внутрь молока, яичного белка, растительного масла, растворенного крахмала.

При попадании сульфита натрия на кожу, в глаза надо промыть место контакта большим количеством воды. При отравлении пероральным путём – прополоскать рот. При ухудшении самочувствия обратиться за медицинской помощью.

Перед началом работы проводится обучение и проверка знаний работника к требованиям безопасности труда. Во избежание любых ЧС необходимо строгое соблюдение техники безопасности.

Вывод по разделу

В разделе «Социальная ответственность» рассмотрены вопросы охраны труда, связанные с работой в аналитической лаборатории, а также мероприятий по предотвращению воздействия на здоровье опасных и вредных факторов для работников лаборатории и создания безопасных условий труда для обслуживающего персонала в ходе выполнения работ по исследованию электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенной работы можно сформулировать рекомендации по определению восстановленной GSH и окисленной GSSG форм глутатиона в тетраборатном буферном растворе $\text{pH} = 9,18$ на углеродсодержащих композитных электродах, модифицированных частицами золота:

1. модифицирование углеродсодержащего электрода золотыми частицами следует производить путём электролиза из раствора HAuCl_4 (1000 мг/дм^3) при скорости развертки потенциала $\omega = 5 \text{ мВ/с}$ в диапазоне от $-0,1 \text{ В}$ до $+0,05 \text{ В}$ до получения удовлетворительных ЦВА;

2. для удаления кислорода из фонового электролита следует использовать химический метод, основанный на введении 4 М раствора сульфита натрия Na_2SO_3 в электрохимическую ячейку;

3. исследование электрохимических свойств GSH/GSSG на ЗУКЭ надлежит производить записью катодной ВА в области потенциалов от $+0,2 \text{ В}$ до $-2,0 \text{ В}$ со скоростью развёртки потенциала $\omega = 100 \text{ мВ/с}$;

4. этиловый спирт с концентрацией 96% не оказывает влияния на токи восстановления GSSG, поэтому может быть использован для дальнейшего определения пестицидной активности, основанной на подавлении сигнала глутатиона.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

1. А.С. Гашевская, М.А. Малова Вольтамперометрическое определение карбонила на импрегнированном электроде, модифицированный углеродными чернилами // XX Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулева «Химия и химическая технология в XXI веке», секция 3, Россия, Томск, 20-23 мая 2019. – с. 234-235