НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

Магістерська дисертація

на здобуття ступеня магістра

за освітньо-професійною програмою «Біотехнології»

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»

на тему: «Технологія виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma sp.*»

Виконала:

студентка 6 курсу, групи БЕ-01мп

Ревіна Юлія Олегівна _____
(прізвище, ім'я, по батькові) (підпис)

Науковий керівник доц. к.т.н. Щурська К. О. _____
(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали) (підпис)

Дата захисту _____

Робота захищена з оцінкою _____

Київ - 2021 року

Формат	Зона	Позиція	Позначення	Найменування	Кіль кість	Примітка
				Документація		
А4			ЕКБ.БЕ6117.МД.ПЗ	Пояснювальна записка	114	
А1			ЕКБ.БЕ6117.МД.Ф	Ферментер вид загальний і розріз	1	
А1			ЕКБ.БЕ6117.МД.ТС	Технологічна схема	1	
А1			ЕКБ.БЕ6117.МД.АС	Апаратурна схема	1	
А1			ЕКБ.БЕ6117.МД.А	Схема автоматизації	1	
А1			ЕКБ.БЕ6117.МД.СП	Стартап-проєкт	1	

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	ЕКБ.БЕ6117.ОП		
Розроб.		Ревіна Ю.О.			Технологія виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma sp.*	Літ.	Арк. 1 / Аркушів 114
Перевір.		Щурська К.О.					
Реценз.						«КПІ ім. І.Сікорського», ФБТ	
Н. Контр.		Щурська К.О.					
Затверд.							

НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

«На правах рукопису»
УДК _____

До захисту допущено:
В.о. завідувача кафедри
_____ Наталія ГОЛУБ
«___»_____2021 р.

Магістерська дисертація

на здобуття ступеня магістра

за освітньо-професійною програмою «Біотехнології»

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»

на тему: «Технологія виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma sp.*»

Виконала:
студентка VI курсу, групи БЕ-01мп
Ревіна Юлія Олегівна _____

Науковий керівник:
доц., к.т.н.,
Щурська Катерина Олександрівна _____

Консультант з графічної частини:
проф., д.т.н.,
Саблій Лариса Андріївна _____

Консультант з стартап-проєктування:
доц., к.е.н.,
Ткаченко Тетяна Петрівна _____

Рецензент:
менеджер систем якості випробувальної
лабораторії ТОВ «ІНСТИТУТ АГРОБІОЛОГІЇ»
Спатару Катерина Вадимівна _____

Засвідчую, що у цій магістерській дисертації немає запозичень з праць інших авторів без відповідних посилань.
Студентка _____

Київ – 2021 року

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

Рівень вищої освіти – другий (магістерський)

Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології»

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор ТОВ «Інститут Агробіології»
_____ Ірина БРОВКО
«___»_____2021 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ
В.о. завідувача кафедри
_____ Наталія ГОЛУБ
«___»_____2021 р.

ЗАВДАННЯ
на магістерську дисертацію студентці
Ревіній Юлії Олегівні

1. Тема дисертації «Технологія виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma sp.»,* науковий керівник дисертації доцент, к.т.н. Щурська Катерина Олександрівна, затверджені наказом по університету від «___»_____ 20__ р. №_____

2. Термін подання студентом дисертації _____

3. Об'єкт дослідження: біопрепарат на основі видів *Trichoderma*

4. Вихідні дані: річний обсяг продукту 547 500 л/рік, спроєктувати посівний ферментер об'ємом 16 м^3 для культивування *Trichoderma viride* та *Trichoderma harzianum.*

5. Перелік завдань, які потрібно розробити: проаналізувати існуючі технології виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma sp.*, навести основні характеристики біологічних агентів, обґрунтувати вибір технології виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma sp.*, здійснити технологічні розрахунки та вибір обладнання для виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma sp.*, навести характеристику обраного обладнання, розрахувати матеріальний баланс процесу, розробити технологічну, апаратурну схеми виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma sp.* та схему автоматизації. здійснити розробку стартап-проєкту, надати основні вимоги з охорони праці та захисту довкілля при виробництві біопрепарату.

6. Орієнтовний перелік ілюстративного матеріалу 5 листів А1: технологічна схема виробництва, апаратурна схема виробництва, схема автоматизації, посівний ферменте, стартап-проєкт.

7. Орієнтовний перелік публікацій: дві тези доповідей.

8. Консультанти розділів дисертації

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Графічна частина	д.т.н., проф. Саблій Л. А.		
Розробка стартап-проєкту	к.е.н., доц. Ткаченко Т. П.		

9. Дата видачі завдання _____

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Термін виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
1	Літературні дослідження, вибір технології		
2	Вибір видів та характеристика біологічних агентів		
3	Розробка апаратурної та технологічної схеми		
4	Розрахунок виробничого обладнання		
5	Розробка схеми автоматизації		
6	Розробка креслення апарату		
7	Розробка стартап-проєкту		
8	Огляд охорони праці та довкілля		
9	Оформлення пояснювальної записки		

Студентка Юлія РЕВІНА

Науковий керівник Катерина ЩУРСЬКА

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка: 114 сторінок, 16 рисунків, 34 таблиць, 42 посилань.

В магістерській дисертації обрано та розраховано процес виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma sp*., а саме *Trichoderma viride* та *Trichoderma harzianum*. Річний випуск продукції 547,5 тис. л/рік. Технологічний процес включає в себе ряд стадій: підготовчі роботи персоналу та приміщень, підготовку поживного середовища та посівного матеріалу, вирощування маточної культури, розмноження культури в посівному ферментерів, виробниче культивування біологічних агентів, змішування культур, маркування, пакування.

Обґрунтовано вибір удосконаленої технології культивування *Trichoderma viride* та *Trichoderma harzianum*. Наведено характеристику кінцевого продукту. Розглянуто морфологічну характеристику запропонованих біологічних агентів.

Розраховано матеріальний баланс виробничого процесу, розроблена та описана технологічна та апаратурна схеми виробництва біопрепарату. Розроблено стартап-проєкт.

Сформовані методи контролю виробництво на стадіях, наведено схему автоматизації, що забезпечують моніторинг якісного перебігу процесів. Розраховано та спроектовано посівний ферментер об’ємом 16 м^3, з діаметром 2,4 м.

Ключові слова: БІОПРЕПАРАТ, БІОПЕСТИЦИД, БІОФУНГІЦИД, TRICHODERMA VIRIDE, TRICHODERMA HARZIANUM, КУЛЬТИВУВАННЯ, АНТИБІОТИКИ, КОНІДІЇ, МІКРОМІЦЕТИ, ФЕРМЕНТЕР.

ABSTRACT

The Explanatory note: 114 pages, 16 figures, 34 tables, 42 references.

In the master's dissertation the process of production of a biological product based on *Trichoderma sp*., Namely *Trichoderma viride* and *Trichoderma harzianum*, is selected and calculated. Annual output 547,5 thousand l / year. The technological process includes a number of stages: preparatory work of personnel and premises, preparation of nutrient medium and sowing material, cultivation of mother culture, propagation of culture in sowing fermenters, industrial cultivation of biological agents, mixing of crops, labeling, packaging.

The choice of advanced cultivation technology *Trichoderma viride* and *Trichoderma harzianum* is substantiated. The characteristics of the final product are given. The morphological characteristics of the proposed biological agents are considered.

The material balance of the production process is calculated, the technological and hardware schemes of biological product production are developed and described. A startup project has been developed.

Methods of control of production at stages are formed, the scheme of automation providing monitoring of a qualitative course of processes is resulted. A sowing fermenter with a volume of 16 m^3 and a diameter of 2,4 m was calculated and designed.

Keywords: BIOPREPARATION, BIOPESTICIDE, BIOFUNGICIDE, TRICHODERMA VIRIDE, TRICHODERMA HARZIANUM, CULTIVATION, ANTIBIOTICS, CONIDIA, MICROMYCETES, FERMENTER.

ЗМІСТ

СПИСОК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ 9

ВСТУП 10

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА МІКРОМІЦЕТІВ 13

1.1. Таксономічне положення *Trichoderma viride* та *Tr. harzianum* 13

1.2. Морфологічна будова 16

1.3. Розмноження мікроміцетів роду *Trichoderma* 19

1.4. Антибіотики – метаболіти *Trichoderma* 19

РОЗДІЛ 2. ІСНУЮЧІ СПОСОБИ КУЛЬТИВУВАННЯ ВИДІВ *TRICHODERMA* 25

2.1. Культивування на агаризованому середовищі 26

2.2. Культивування в рідкій культурі 27

2.3. Культивування поверхневим способом 28

2.4. Фактори впливу на комерційне виробництво препаратів *Trichoderma* 28

РОЗДІЛ 3. АНТИМІКОТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ *TRICHODERMA SPP.* 30

3.1. Фітопатогенні гриби 30

3.2. Антагонізм 31

3.3. *Trichoderma spp.* як біофунгіцид 33

3.4. Механізми фунгіцидної дії вторинних метаболітів *Trichoderma spp.* 34

3.5. Антагоністичний вплив *Trichoderma spp.* на найпоширеніші фітопатогени 35

РОЗДІЛ 4. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА 39

4.1. Сировина і матеріали технологічного процесу 39

4.2. Опис технологічного процесу виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma* 41

4.3. Характеристика готового продукту 46
4.4. Контроль виробництва біопрепарату 48
4.5. Матеріальний баланс 50
РОЗДІЛ 5. ВИБІР І ТЕХНОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ 52
5.1. Опис та обґрунтування вибору обладнання для вирощування посівного матеріалу мікроскопічних грибів 52
5.2. Технічна характеристика апарата 56
5.3. Конструкційний розрахунок апарату 58
5.4. Розрахунок перемішуючого пристрою 59
5.4.1. Розрахунок потужності, що витрачаються при перемішуванні 61
5.5. Розрахунок аераційного пристрою – барботеру 63
5.6. Тепловий розрахунок 63
5.7. Вибір загальнозаводського обладнання 67
РОЗДІЛ 6. АВТОМАТИЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА БІОПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ *TRICHODERMA SP.* 68
6.1. Опис технологічного процесу: культивування мікроміцетів 68
6.2. Основні рішення щодо автоматизації 71
6.2.1. Технологічний контроль 71
6.2.2. Автоматичне регулювання 72
6.2.3. Технологічна сигналізація 72
6.2.4. Дистанційне керування виконавчими механізмами та двигунами 73
6.2.5. Специфікація засобів вимірювання та автоматизації 74
РОЗДІЛ 7. РОЗРОБКА СТАРТАП-ПРОЄКТУ 76
7.1. Резюме: конкретизація бізнес ідеї, мети стартапу, об’єкту дослідження, місця розробки в інноваційному ланцюжку цінності 74
7.2. Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу 77
7.3. Визначення ключових факторів успіху проєкту 81

7.4. Визначення потенційних споживачів 82
7.5. Ціна інноваційної пропозиції на ринку 88
7.6. Концепція бізнес-моделі проєкту та карта бізнес-процесів реалізації проєкту 95
7.7. Ризики стартап-проєкту та методи управління ними 98
РОЗДІЛ 8. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ 101
8.1. Техніка безпеки на біотехнологічних виробництвах 101
8.2. Охорона довкілля 103
8.2.1.Очистка повітря 105
8.2.2. Очистка стічних вод 105
ВИСНОВКИ 106
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ 107
ДОДАТОК А 112

СПИСОК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ЛОС – леткі органічні сполуки

6-РР – 6-пентил-2Н-піран-2-он

КДА – картопляний агар з декстрозою

БАР – біологічно активні речовини

ВСТУП

Важливе місце в житті населення та економіці України займає сільськогосподарська галузь, а конкретно вирощування культурних рослин, так як вона забезпечує інші галузі: фармацевтичну, харчову, косметичну тощо. Одним із рушійних факторів для врожайності є фітопатогени та хвороби, які вони спричиняють – віруси, бактерії, гриби, комахи. Погіршення врожайності позначається на постачанні сировини та економіці держави.

Одночасно існує проблема застосування хімічних пестицидів та інших речовин, які шкодять навколишньому середовищу та споживачам. Чудовою альтернативою для біоконтролю рослин та лікування заражених рослин є біофунгіцидні препарати на основі грибів-антогоністів для фітопатогенів. Широким спектром дії володіють види грибів роду *Trichoderma* (сімейства *Hypocreaceae*, класу *Sordariomycetes*, відділу *Ascomycota)*, завдячуючи ряду метаболітів, що вони виділяють: літичні ферменти, вітаміни, фактори росту, фітогормони, органічні кислоти, антибіотики та амінокислоти [1].

Триходерми виступають мікопаразитами для патогенів, продукуючи ферменти, що розщеплюють клітини шкідника, одночасно проникаючи у гіфи та спори. В цьому процесі важливу роль виконує комплекс хітино- та целюлолітичних ферментів, за рахунок яких гриби роду *Trichoderma* відомі як біодеструктори. Високу фунгіцидну активність триходерма проявляє по відношенню до родів: *Cladosporum*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Phytium* тощо. Конкретно ці ж патогени є збудниками хвороб для пшениці, ячменю, сої, огірків тощо – продуктів, які важливі для забезпечення населення першочерговим набором продуктів [2].

Крім літичних ферментів гриби-антагоністи виділяють леткі та нелеткі антибіотики. Під впливом антибіотиків патогени інгібуються або ж зовсім гинуть.

Гриби роду *Trichoderma* користуються популярністю в агропромисловості, проте можуть розглядатися як перспектива для подальших досліджень та оптимізацію процесу цільового культивування для отримання окремих речовин, типу антибіотиків, фітогормонів, ферментів [3,4].

Метою роботи є удосконалення технології отримання біопрепарату на основі *Trichoderma.*

Новизною роботи є удосконалення технології отримання біомаси конідій *Trichoderma viride* та *Tr. harzianum* шляхом додаткового підживлення, освітлення світлом синього спектру та створення дефіциту нітрогену для підвищення продуктивності мікроміцетів у стресових умовах.

Актуальність: Для України, як аграрної держави, дуже гостро стоїть проблема збереження цілісності овочевих та злакових культур та їхньої високої врожайності. Для вирішення цих проблем останнім часом широко застосовують біопрепарати на основі грибів, які знищують фітопаразитів, не зашкоджуючи при цьому навколишньому середовищу. Тому розробка нових та удосконалення існуючих технологій культивування гриба-антагоніста є вкрай актуальними.

Об'єкт дослідження – біопрепарат на основі видів *Trichoderma.*

Предмет дослідження – удосконалена технологія отримання посівного матеріалу *Trichoderma sp.* для виробництва біопрепарату.

Для досягнення поставленої мети потрібно вирішити задачі:

1. Проаналізувати існуючі технології виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma*, навести основні характеристики біологічних агентів.
2. Обґрунтувати вибір технології виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma.*

3. Здійснити технологічні розрахунки та вибір обладнання для виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma*. Навести характеристику обраного обладнання. Розрахувати матеріальний баланс процесу.
4. Розробити технологічну, апаратурну схеми виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma* та схему автоматизації.
5. Здійснити розробку стартап-проєкту.
6. Надати основні вимоги з охорони праці та захисту довкілля при виробництві біопрепарату.

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА МІКРОМІЦЕТІВ

1.1. Таксономічне положення *Trichoderma viride* та *Tr. harzianum*

Види *Trichoderma viride* та *Tr. harzianum* належать до класу Trichoderma, місце триходерми у таксономії наведено у табл. 1.

Таблиця – 1.1.1. Таксономічне положення *Trichoderma viride* та *Tr. harzianum* згідно UniProt [5].

Таксономічна група	Назва
	Cellular organisms
Домен	› Eukaryota
Надцарство	› Opisthokonta
Царство	› Fungi
Підцарство	› Dikarya
Відділ	› Ascomycota
Клада	› saccharomyceta
Підвідділ	› Pezizomycotina
	› leotiomyceta
	› sordariomyceta
Клас	› Sordariomycetes
Підклас	› Hypocreomycetidae
Порядок	› Hypocreales
Сімейство	› Hypocreaceae
Рід	› Trichoderma
Види	›Trichoderma viride, Tr. harzianum

Підцарство *Dykaria* - на сьогоднішній день найбагатша на види та найбільш вивчена група грибів. До складу входять два види: *Basidiomycota* та *Ascomycota*. Представники Дикарії характеризуються статевим циклом, який включає злиття гіф, не пов'язане з мейозом, в результаті чого утворюються гіфи, які містять дві незалежні ядерні популяції (дикаріотичні гіфи). Більшість із них також містить перегородки, ергостерол як мембранний стерин, а кілька

родів навіть здатні утворювати багатоклітинні репродуктивні або вегетативні структури [6].

Відділ *Ascomycota* – велике різноманіття угрупувань грибів, що досить широко використовується у експериментальній практиці. Деякі види (наприклад, *Saccharomyces cerevisiae*, *Neurospora crassa*, *Emericella nidulans*, *Schizosaccharomyces pombe*) широко використовувалися як модельні організми, для яких були проведені важливі генетичні дослідження і які послужили поштовхом до проривних відкриттів у галузі біології.

Аскомікоти - від простих дріжджів до грибів з дуже складними макроскопічними плодовими тілами. Відділ містить три основні підвідділи: *Taphrinomycotina*, *Saccharomycotina* та *Pezizomycotina*, при цьому *Saccharomycotina* та *Pezizomycotina* є сестринськими родами [6].

Представники підвідділу *Pezizomycotina* мають ниткоподібну або анастомозну будову тіла, з перегородками, які представляють собою електрочутливу органелу, що походить від пероксисом – тільця Вороніна.

Пезізомікоти зазвичай захищені та підтримуються багатоклітинними структурами під назвою аскокарпи або аскомати. Деякі члени є одноклітинними. Порівняно з іншими грибами, вони, як правило, містять велику кількість ферментів для вторинного метаболізму [6].

Клас *Sordariomycetes* як правило, характеризується як нелишайниковий, з колбоподібними аскоматами. Представники сордаріоміцетів зустрічаються в різних нішах, включаючи наземні та прісноводні місця проживання. Деякі види є патогенами. Багато видів беруть участь у розщепленні та кругообігу поживних речовин. Сордаріоміцети мають 6 підкласів: *Sordariomycetidae*, *Hypocreomycetidae*, *Xylariomycetidae*, *Savoryellomycetidae*, *Diaporthomycetidae* та *Lulworthiomycetidae* [7].

Представників сімейства *Hypocreaceae* зазвичай розпізнають за яскраво забарвленими перитеціальними аскоматами, зазвичай жовтими, оранжевими або червоними. Сімейство було запропоноване Джузеппе Де Нотарісом у 1844 році. До *Hypocreaceae* входить рід *Trichoderma*.

Перший опис роду *Trichoderma* припадає на 1794 рік, а в 1865 році було запропоновано зв'язок із статевим способом розмноження *Hypocrea*. Різні види, віднесені до роду *Trichoderma/Hypocrea*, важко було морфологічно виділити. Було запропоновано звести таксономію лише до одного виду - *Trichoderma viride*.

Отже, до 1969 року почалася розробка концепції ідентифікації. Після цього було відкрито численні нові види, і до 2006 року рід вже налічувалось понад 100 філогенетично визначених видів [8].

Таблиця – 1.1.2. Визначні дати досліджень видів *Trichoderma* [9].

Рік	Досягнення	Довідка
1932	Перші докази мікопаразитарної природи та потенціалу біоконтролю *Trichoderma spp*.	Weindling and Emerson (1936)
1934	Відкриття першої антимікробної сполуки гліотоксину з *Trichoderma spp*.	Weindling (1934)
1972	Демонстрація біологічного придушення *Sclerotium rolfsii T. harzianum* у польових умовах	Wells at al. (1972)
1986	Демонстрація стимулювання росту рослин з допомогою *Trichoderma*	Chang et al. (1986)
1994	Розробка першої техніки, здатної відрізнити комерційно використовуваний біоконтрольний штам, *T. harzianum* T-39 проти B. cinerea, від інших штамів триходерми	Zimand et al. (1994)

1997	Відкриття здатності триходерми викликати системну резистентність у рослин	Bigirimana et al. (1997)
2009	Ідентифікація Thctf1, транскрипційного фактора *T. harzianum*, що бере участь у виробництві 6-пентил-2H-пірен-2-он та фунгіцидної активності	Rubio et al. (2009)
2012	Повна секвенування геному *T. harzianum, T. asperellum, T. longibrachiatum і T. citrinoviride* за допомогою Секвенування Наступного Покоління	-
2017	Проєкт послідовності геному *T. harzianum*	Compant et al. (2017)

1.2. Морфологічна будова

Аскоміцетам або сумчастим грибам властивий добре розгалужений міцелій з перегородками. В результаті статевого процесу у типових представників із зиготи утворюється аскогенні гіфи, на яких утворюються, так звані, сумки. Сумка являє собою спеціалізовану клітину, що формується у результаті статевого процесу і є його кінцевим етапом після плазмогамії, каріогамії та мейозу. В сумці утворюються спори, за допомогою яких відбувається подальше розмноження.

У деяких аскоміцетів функцію антеридію виконуються спермації – малі нерухливі клітини, які потрапляють на аскогін з повітрям, дощем, за допомогою комах; або клітини вегетативних гіф – конідії.

Безстатеве розмноження аскоміцетів відбувається з допомогою конідій – екзогенних спор різної структури і способом утворення.

Для деяких аскоміцетів існують інші способи статевого процесу [10].

Представники роду *Trichoderma* мають вегетативне одноклітинне тіло з перегородками, які визначають репродуктивні органи, або ж багатоклітинне, розгалужене, з перфорованими перегородками. Кріплення до субстрату здійснюється за допомогою спеціальних присосок.

Види *Trichoderma* виробляють широкий спектр пігментів від яскраво-зеленувато-жовтого до червонуватого кольору, хоча деякі - безбарвні. Подібним чином, конідіальна пігментація варіюється від безбарвного до різних зелених відтінків, а іноді також сірого або коричневого. Крім пігментації, ідентифікація видів у роді утруднена через вузький діапазон варіацій спрощеної морфології *Trichoderma* .

Trichoderma характеризуються швидким ростом, переважно яскраво-зеленими конідіями та багаторазово розгалуженою конідієфорною структурою [11].

Trichoderma є повсюдними колонізаторами целюлозних матеріалів і тому їх часто можна зустріти скрізь, де є гнилий рослинний матеріал, а також у ризосфері рослин, де вони можуть викликати системну стійкість проти патогенів [12]. Наприклад, зустріти гриби часто можна на корі, деревині, на сухому листі, стеблах, а також на насінні різних трав, кущів та дерев. Гриби легко виділяються з ґрунту на підкисленому сусло-агарі. Через 2-3 дні інкубації при 23-25 ^{o}C на поверхні агару з’являється білий, а потім уже зеленкуватий рихлий наліт, що утворився міцелієм і скупченням конідієносців [11].

У грибів *Trichoderma* безбарвні гіфи міцелію з перегородками, часто розгалужені, гладкі. Хламідіоспори шароподібні або еліпсовидні. Конідієносці дуже розгалужені, компактно скупчені у подушечках, хаотично згуртовані або поодиноко на повітряних гіфах. Конідієносці мають систему типу ялини, тобто, від основної осі конідієносця під великим кутом відходять

розгалуження по 2-3 або по одному, а від них вже менші галуження другого порядку. І всі вони до верху вкорочені (рис. 1.). Верхівка закінчується фіолідами – кеглеподібними або пляшкоподібними гілками. Конідії утворюються на фіалідах по одній, формуючи шароподібну або більш продовгувату голівку; безбарвні, жовті, темно-зелені (рис. 2.) [10].

Гриби енергійно розщеплюють білкові сполуки і різні вуглеводи від хітину до глюкози. Маючи антибіотичні властивості, гриби виконують оздоровчу функцію в ґрунті [12].

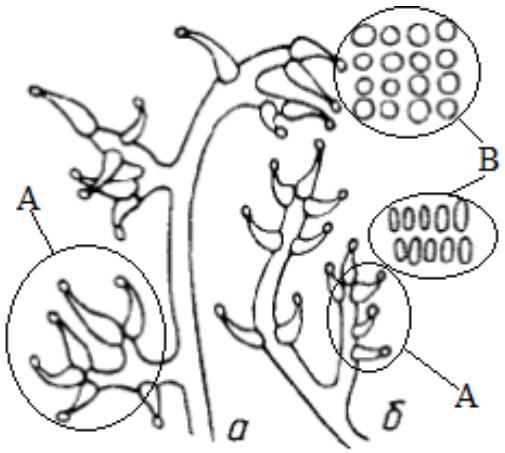


Рис.1.2.1. Морфологічна будова; Конідієносці (А) та конідії (В) представників роду *Trichoderma:* а – *T. lignorum*, б – *T. koningii* [10].

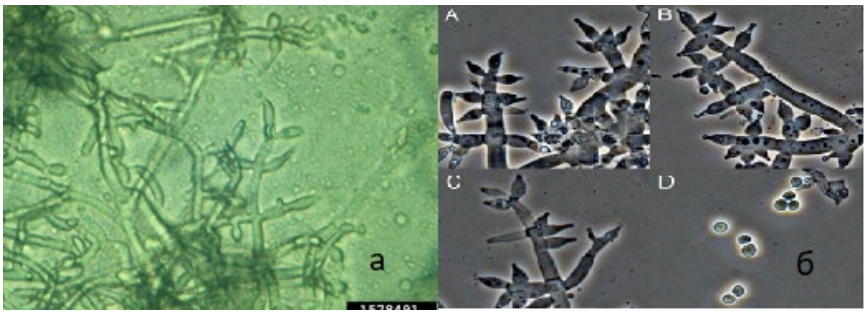


Рис.1.2.2. Мікроскопія грибів *Trichoderma*: а - *Tr. viride*, б - *Tr. harzianum* (A, B, C- конідієфора , D- конідії) [13].

Труднощі, що виникають під час ідентифікації ізолятів триходерми на видовому рівні, стають все більш значними, оскільки морфологічні відмінності рідкісні і важко помітні. У 1969 році Ріфай ввів поняття «видовий агрегат» та класифікував штами триходерми у дев'ять агрегатів на основі морфологічних особливостей. На жаль, деякі з них складаються з двох або

більше морфологій, які були недиференційованими. У наступних дослідженнях Біссетт (1991) переглянув роботу Ріфая та спробував інтегрувати подібні форми у видову концепцію на основі морфології, включаючи характеристики системи розгалуження конідієфору. В результаті, *Trichoderma* був класифікований на п'ять розділів: *Saturnisporum*, *Pachybasium*, *Longibrahiatum*, *Trichoderma* та *Hypocreanum* [8].

1.3. Розмноження мікроміцетів роду *Trichoderma*

Грибам властиві три способи розмноження: вегетативне, статеве та безстатеве.

Вегетативне розмноження відбувається з утворенням хламідоспор – клітини гіфів з товстою оболонкою. Зазвичай вони забарвлені та вміщують багато запасних речовин.

При безстатевому розмноженні утворюються спеціалізовані органи з диференційованими спороносними клітинами. Для триходерм властиве екзогенне конідіальне спороношення. Конідії утворюються на конідієносцях. На поверхні конідієносця утворюються стеригми, фіаліди, які несуть конідії. Утворення конідій починається з проростання кінця конідієносця, результатом чого є невеликий пагорб. Потім цей пагорб відділяється поперечними перегородками, які утворюються шляхом випирання цитоплазми. Після дозрівання конідія відпадає та дає початок новій особині [10].

Зустрічаються випадки розмноження ендоспорами – спорангієспор та рухомих амебоїдних клітин [14].

Статеве розмноження у аскоміцетів: запліднення диференційованої жіночої статевої клітини – архікарпа чоловічою – антеридій. В процесі чого спочатку зливаються цитоплазми – цитогамія, а ядра, зійшовшись, не зливаючись, утворюють дикаріон. В результаті після запліднення виростають аскогенні гіфи. Ядра в дикаріоні окремо діляться і зливаються – каріогамія у сумці, яка розвивається, після чого відбувається редукційне ділення [10].

1.4. Антибіотики – метаболіти *Trichoderma*

Для мікроміцетів *Trichoderma* характерний широкий спектр метаболітів:

Фактори росту: ауксини, цитокіни.

Фітогормони: індоліл оцтової кислоти, зеатин, гіберилін, тощо.

Органічні кислоти: глюконова, лимонна, фумарова.

Амінокислоти: серин, лізин, гістидин, теонін, тирозин, валін, ізовалін та багато інших.

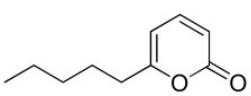
Вітаміни: тіамін, біотин, інозит, піридоксин.

Серед **антибіотиків**, які продукуються триходермами, відомо більше ста представників. Серед них: харзіанові кислоти, аламетицини, трихолін, пептаіболи, 6-пептил-α-пірон, віридин, гліовірин, глизопреніни, гептелідова кислота, стероїди, сесквітерпени тощо.

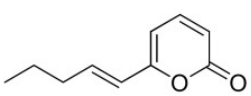
- ***Алкілпірони***: 6-пентил-пірон, що придає запах кокосу культурі *T. viride* та алкіл-6-Δ-лактони [15].

Пірон 6-пентил-2H-піран-2-он (6-PP) є ароматизатором, який відповідає за характерний аромат кокоса, і має протигрибкову дію та активність, що сприяє росту рослин. Він належить до хімічно різноманітної групи низькомолекулярних метаболітів, які мають високий тиск пари при кімнатній температурі та низьку розчинність у воді, які класифікуються як леткі органічні сполуки (ЛОС). Пірон 6-PP вперше був виявлений в культуральному середовищі *T. viride*, він також продукується *T. koningii* і *T. harzianum*.

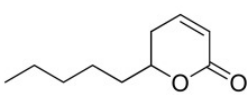
Встановлено, що *T. harzianum* виробляє три біоактивні аналоги пірону 6-PP [16].



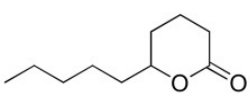
[11]



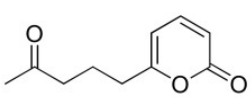
[12]



[13]



[14]



[15]

Рис.1.4.1. Структури протигрибкових піронів з роду *Trichoderma*: 11- 6-PP, виділений з *T. viride*; 12, 13, 14, 15 аналоги 6-PP, виділені з *T. harzianum* [16].

- ***Ізонітрили***: ізонітрин A-D та ізонітрилові кислоти E і F із культур *T. viride, T. harzianum, T. koningii, T. polysporum, T. longibrachiatum.*
- ***Полікетиди***: харзінолід в культурі *T. harzianum* та *T. koningii,* октакетидкетодіол-6 *T. koningii.*
- ***Пептаіболи*** – лінійні пептиди, у синтезі яких беруть участь не рибосомні пептид-синтетази [15].

Пептаіболи виробляються в основному представниками роду *Trichoderma*, і перший відкритий пептаібол, аламетицин F30, був отриманий з *T. viride*. Пептаіболи трихорзіанін A1 і B1 від *Trichoderma harzianum* можуть інгібувати проростання спор, а також подовження гіф патогенних грибів рослин, і відмічається синергічна взаємодія між гідролітичними ферментами та пептаіболами. Також зустрічаються інформаційні джерела, що повідомляють про противірусні властивості пептайвіринів A і B, що належать до групи пептаіболу, проти інфекції тютюнової мозаїки [16].

- ***Трихополіни А і В*** – пептидні антибіотики культури *T. polysporum.*
- ***Дикетопіперазіни*** – антибіотики гліотоксин (Q тип) та гліовірин (P тип) – близьке за структурою до гліотоксину [15].

Гліотоксин – перший антибіотик грибного походження, ізольований в чистому вигляді Вайндлингом та Емерсоном з культури *Trichoderma viride*.

Антибіотик утворюється на 3-4 день росту культуральної рідини при культивуванні грибів на середовищі, яке містить виннокислий амоній в якості джерела азоту, при низькому pH і сильній аерації. Наявність в середовищі складних сполук азоту інгібує утворення гліотоксина. Він активується в лужному середовищі та при доступі кисню.

Ізоляція гліотоксина відбувається шляхом екстрагування хлороформом (0,1 об'єму) і наступним осадженням бензолом або етиловим спиртом на холоді.

Гліотоксин не стійкий на світлі. Має широкий спектр антибіотичної дії на грампозитивхі бактерій, фітопатогенів та патогенних грибів.

Фунгіцидна активність проявляється в таких мінімальних розведеннях: для *Ceratostomella ulmi* – 1:12 000, *Ascochyta pisi*, *Botrytis alli*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia* sp. – 1:300 000 – 1:450 000 [15].

- ***Сесквитерпени*** – гептелідова кислота, виділена з культур *T. viride,* та *T. koningii.*
- ***Стероїди***: антибіотик вірідин. Кінцевим продуктом біосинтезу є вірідіол. Для отримання вірідину культуру потрібно вирощувати на середовищах з низьким вмістом азоту.

Вірідин – першочергово був виділений із жовтопігментних штамів *Tr. viride* із культуральної рідини. Утворюється в культуральній рідині з середовищем на виннокислому амонію та глюкозі.

Ізолюється екстракцією хлороформом, потім екстракцією метанолом на холоді. В результаті випадають кристали світлого кольору – ізомер β-вірідин, який у нейтральній або слабкокислій колонці оксиду алюмінія розділюється. Після очистки і перекристалізції виділяється другий ізомер – α-вірідин.

Найбільш характерним для вірідина є фунгіцидна дія.

Таблиця – 1.4.1. Мінімальна концентрація, при якій відбувається протигрибкова активність в мг/мл [17].

Патоген	**Конц-ція, мг/мл**		**Конц-ція, мг/мл**
Colletotrichum lini	0,003	*Saccharomyces*	6,2
Fusarium coeruleum	0,003	*cerevisiae*	
Botrytis allii	0,006	*Torula utilis*	6,2
Trichothecium roseum	0,05	*Trichophyton*	6,2
Cladosporium herbarum	0,2	*interdigitale*	
Fusarium culmorum	0,2	*Penicillium expansum*	6,25
Penicillium notatum	0,2	*Stachybotrys atra*	6,25
Stemphylium sp.	0,2	*Botrytis sp.*	12,5
Cephalosporium sp.	0,8	*Mucor pusilus*	12,5
Aspergillus niger	3,1	*Candida crusei*	25
Candida albicans	6,2	*Willia sp.*	25
		Absidia orchidis	50

T. longibrachiatum продукує ***похідні тетронової кислоти***, а *T. reesei* виробляє білок ***своленін*** [15].

Деякі види триходерми не виділяють антибіотиків в культуральне середовище, але в той же час при внесенні культур в стерильне середовище спостерігається зменшення загального числа мікроорганізмів. Це слугувало причиною для гіпотези існування ***летких антибіотиків*** [17].

Розглянемо на прикладі поліпептидного антибіотика аламетицина його дію на патогенів. Синтез аламетицина *T. viride* відбувається на рибосомальному шляху, має 20 амінокислотних залишків. Він інгібує розвиток тільки грампозитивнх бактерій. Має іонофорну дію, утворюючи в мембранах бактерій водневі канали змінного діаметра. В утворенні одного такого канальця бере участь 6 молекул антибіотика. Аламетицин індукує проникність через мембрану катіонів та аніонів [18].

Для успішного існування грибів-антагоністів вони повинні бути забезпечені захисними механізмами проти своїх же антибіотиків:

- деякі продуценти антибіотиків виділяють ферменти, які інактивують дію антибіотичних сполук.

- також можуть виділятися інші речовини-інактиватори антибіотиків, як наприклад – цистеїн для гліотоксину.

- мікроорганізми після виведення антибіотиків перешкоджають їх послідуючому проникненню в клітини.

- мікроорганізми також можуть бути захищені за рахунок цистерн з антибіотиками, які активуються після вивільнення в навколишнє середовище.

- резистентність.

- захист на генетичному рівні [18].

Для отримання біопрепаратів для захисту рослин потрібно вирощувати посівний матеріал з високим вмістом конідій, які утворюються у вегетаційному стані при екзогенному конідіальному спороношенні. Рід мікроскопічних грибів *Trichoderma* з Підцарства *Dykaria* включає в себе види, які мають велике розмаїття метаболітів:

фітогормони, гормони росту, органічні сполуки, амінокислоти, вітаміни, протеїни, антибіотичні речовини, літичні ферменти. Гриби облаштовані протекторними механізмами проти дії власних метаболітів.

РОЗДІЛ 2. ІСНУЮЧІ СПОСОБИ КУЛЬТИВУВАННЯ ВИДІВ *TRICHODERMA*

Для росту та розмноження мікроміцетів, прояву їхньої активності потрібно вносити джерела живлення – Карбон, Нітроген, Гідроген; неорганічні сполуки калію, натрію, фосфору, магнію, кальцію, сірки, заліза; мікроелементи – марганець, цинк, молібден, кобальт, мідь, бор; стимулятори росту. Важливо підтримувати оптимальну температуру, вологість, аерацію, освітлення [14].

Макроелементи фосфор, сірка, калій, кальцій, магній входять до складу клітини як структурні елементи або ж частини ферментних систем, активні центри. Ці макроелементи виконують важливі функції у регулюванні проникність клітинної мембрани, переносять енергію, виконують роль активаторів багатьох ферментів.

Фосфор – входить до складу нуклеопроїдів, нуклеїнових кислот, поліфосфатів, фосфоліпідів; приймає участь у вуглеводневому обміні, переносі енергії, диханні клітин, процесах синтезу білків та нуклеїнових кислот. Вміст фосфору в середовищах міцеліальних грибів має великий вплив на розвиток. Близько 30-50 % потребуючого фосфора припадає на першу добу росту культури.

Сірка – відсутність якої викликає неповноцінний синтез білка, порушення обміну речовин. Найпоширенішим джерелом сірки є неорганічні сульфати. Вкрай важливою сірковмісною речовиною є цистеїн, яка присутня в структурі білків як амінокислотний залишок. Сірка також входить до складу гліотоксину.

Калій – виконує каталітичну функцію, виступає активатором деяких ферментів та підвищує гідратацію цитоплазми.

Кальцій – регулює активну кислотність, виступає фактором зв'язування залишків фосфорної кислоти.

Магній – активатор ферментів, бере участь у стабілізації подвійної ДНК та у активації амінокислот при синтезі білка. Іони магнію беруть участь у фосфорилюванні. Ефект дії магнію залежить від концентрації джерел вуглецю, від концентрації інших іонів. Для яких магній виступає антагоністом.

Мікроелементи цинк, марганець, кобальт, молібден входять в склад ферментів, беруть участь у обміні речовин.

Цинк – при недостачі може порушитися функція іРНК при синтезі білка, що впливає на синтез антибіотиків та інших метаболітів. Цинк впливає на процес накопичення грибами органічних кислот.

Марганець – бере участь у переносі фосфорної кислоти, входить до складу багатьох ферментів [18].

Як середовище для посіву чистими культурами мікроміцетів можна застосовувати різні субстрати. Так для роду *Trichoderma* застосовується ячмінь, горох, кукурудза, суміш ячменю з горохом (3:1) високої якості [14].

Найкращими умовами для культивування *T. viride* сьогодні вважаються: 45 г/л Карбон, 0,35 г/л Нітроген, температура 30ºС, pH=6, аерація 175 об/хв. Такі умови зазвичай передбачають отримання біомаси 13,6 г/л протягом 5 днів.

При нарощуванні біомаси важливим є високе співвідношення C/N – 160:1 [19].

2.1. Культивування на агаризованому середовищі

Для нарощування культури *T. harzianum* використовується картопляний агар з декстрозою (КДА), який розливається по 20 мл у стерилізовані чашки Петрі. Блоки чистих культур віком 3 дні, діаметром 5 мм розташовують в центр чашки Петрі. Блоки чистих культур відділяються за допомогою пробкового каналу, стерилізуючи над полум'ям. Інокульовані чашки Петрі зберігають в термостаті при температурі 27 ± 2ºС.

Для подальшого пересіву культури *T. harzianum* середовище стерилізованого КДА розливають в стерилізовані пробірки по 10 мл у кожну. Потім пробірки стерилізували в автоклаві при температурі 121 ° С протягом 20 хвилин. Після автоклавування пробірку потрібно нахилити під кутом 45 °, для збільшення площі поверхні середовища в пробірці. Міцелій 7-денних культур зішкрібають за допомогою скребка над полум'ям та переносять на скошені пробірки. Після пересіву пробірки тримають в термостаті при температурі 27 ± 2ºС.

Для приготування поживного середовища pH доводять до 6 за допомогою 1% HCl. Потім середовище стерилізують в автоклаві при 121 ° С температурі протягом 20 хвилин.

Модифікований КДА готується, використовуючи 125 г картоплі та 15 г декстрози замість 200 г картоплі та 20 г декстрози відповідно порівнюючи із звичайним КДА. pH середовища доводили до 6 за допомогою pH -метра за допомогою 1% HCl та проводиться автоклавування відповідно [20].

Оптимальним діапазоном pH для культур триходерми є 5,5-7. Діапазон температур, при яких триходерми зберігають свою здатність відтворення 20-40ºС , найкращими є умови при 25-30ºС. Аерацію слід підтримувати до 150 об / хв, а при перебільшені обертів понад 200 об/хв продуктивність культури значно зменшується [21].

Згідно з експериментальними даними, проведених на ґрунтах Єгипту найвищі показники сухих мас триходерми спостерігаються при умовах: 20ºС, джерело азоту – аспарагін, джерело вуглецю – хітин, целюлоза, співвідношення C/N = 160:1 [22].

2.2. Культивування в рідкій культурі

Для культивування в рідкій культурі зазвичай використовуються такі поживні середовища: бульйон картопляної декстрози, овочевий сік, мелясно-дріжджові середовища та пшеничні висівки. Проте культивування в рідкій культурі не користується популярністю у порівнянні з іншими методами [23].

2.3. Культивування поверхневим способом

Для сипучих культур характерне утворення більшої кількості конідій, що обумовлює біофунгіцидну активність. В якості субстрату використовують зерна, які зволожують, стерилізують та інокулюють культурою триходерми та інкубують від 10 до 15 днів. В результаті чого з'являється темно-зелене спорове покриття на насінні. Ці зерна можна подрібнити і використовувати для обробки насіння або збагачення ґрунту. Культивування на сипучих субстратах значно вигідніше [23].

2.4. Фактори впливу на комерційне виробництво препаратів *Trichoderma*

Вплив pH. Для регулювання pH використовують цитратний буфер. Максимальний ріст міцелію (14,29±0,56 г/л) відбувається при pH=4,0. Найгірший ріст відбувається з 6,0. Ріст міцелію сприятливий в межах оптимального діапазону pH =3,5-5,0.

Аналогічно, максимальне спороутворення підтримується при pH= 4,0, тоді як найнижчий вихід спор спостерігається від pH =3,0.

Вплив температури. З огляду на дослідження знаємо, що оптимальна температура при оптимальному pH для росту міцелію *Trichoderma* t^o=30^{o}C. В той час як при t^o=45^{o}C значно пригнічується ріст міцелію. Ріст міцелію вважається сприятливим в оптимальному діапазоні температур 25-30^{o}C.

Найвищий вихід спор підтримується при 25^{o}C, тоді як значне погіршення спороутворення починається з 37^{o}C.

Максимальний ріст міцелію при оптимальних температурах може бути пов'язаний із тим, що це впливає на їх метаболічну активність, особливо на виробництво летких антибіотиків та ферментів. Хоча температура відіграє важливу роль у зростанні організмів, при підвищеному рівні вона пошкоджує організми, денатуруючи ферменти, транспортні носії, цілісність клітинної мембрани.

Режим культивування. Існують технології ферментації триходерми для отримання біопрепарату: періодичне культивування та напівперіодичне культивування із підкормкою (Fed-batch і Batch culture fermentation). Вважається, що Fed-batch (ферментація із підживленням – наприклад, дріжджовий екстракт) значно краще підходить для отримання біопрепарату, так як допомагає досягнути бажаного ефекту: високого вмісту конідій [24].

РОЗДІЛ 3. АНТИМІКОТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ *TRICHODERMA SPP.*

3.1. Фітопатогенні гриби

Фітопатогенні гриби паразитують на різних сільськогосподарських рослинах, вражають і викликають захворювання різних органів наземної частини та кореневої системи рослин під час вегетації, а також під час зберігання насіння злаків, овочів та фруктів.

Існує декілька основних типів захворювань рослин викликаних фітопатогенами:

В’янення – ураження провідної та кореневої системи. Патоген проростає в судини, закупорюючи прохід води та поживних речовин, утворення некрозів на листках, опадання листя.

Гниль – під дією ферментів тканина пом’якшується та руйнується.

Плямистість або некрози – відмирання у місцях зараження окремих частин тканини.

Антракнози – п’ятнистості, характерні пом’якшенням тканини, утворення заглибин, в яких розвиваються гриби.

Грибні нальоти - розвиток міцелію на поверхні уражених органів.

Пустули - утворення на ураженій тканині при розриві епідермісу або перидерми опуклих колоній гриба.

Муміфікація – тип захворювання, при якому уражений орган, пронизаний міцелієм, часто набуває форму темнозабарвленого склероцію.

Окремі види фітопатогенів викликають руйнування органів рослин, їхнє надмірне розростання, кущистість, утворення наростів, різні деформації.

За сприятливих умов для розвитку грибів, вони наносять значну шкоду врожаю та сільському господарству.

Фітопатогенні гриби можуть поширюватися багатьма шляхами: потоками вітру, водою, через ґрунт, насінням, клунями, цибулинами, рослинними рештками, тваринами, комахами тощо.

Шляхи проникнення грибів до рослин здебільшого через поранені порожнини, структурні отвори, інтактну поверхню рослини [10].

Приклади конкуренції між фітопатогенними грибами та *Trichoderma* можна зустріти по всьому ґрунту. Наприклад, *Botrytis cinera* є основним патогеном під час збору врожаю в багатьох країнах, може ефективно контролюватися *Trichoderma*, що припиняє надходження поживних речовин.

Проте *Fusarium oxysporum*, патогенний космополіт з багатьма мішенями, перевершує колонізацію в ризосфері.

Trichoderma відмінно поглинає поживні речовини швидше, ніж інші організми, в основному завдяки своєму різноманітному спектру розщеплення цукрів, від целюлози, глюкану до хітину, які можуть розкладатися на глюкозу за допомогою арсеналу ферментів.

Види *Trichoderma* пригнічують або руйнують ферменти, необхідні для патогенних рослин, таких як *Botrytis cinera*, наприклад пектинази, які допомагають проникати в листя. Їхні протигрибкові та антибактеріальні властивості характеризуються в основному виробництвом невеликих пептидів, які називаються пептаіболами, але їхні антагоністичні властивості також передбачають активацію інших механізмів, які створюють конкуренцію за поживні речовини та простір, сприяння росту рослин і захисну реакцію рослин [25].

3.2. Антагонізм

Гриби-антагоністи, які ростуть в дуже конкурентних умовах, мають чудові характеристики для застосування в якості біопрепаратів для захисту рослин, серед яких: змога виживати в присутності зазвичай токсичних метаболітів (наприклад, антибіотиків), що виробляються іншими видами, гербіцидів, пестицидів, ксенобіотиків та інших хімічних речовин, які

зустрічаються на полі. Голодування є найпоширенішою причиною смерті мікроорганізмів, і саме тому для більшості ниткоподібних грибів поглинання заліза є важливим для життєдіяльності.

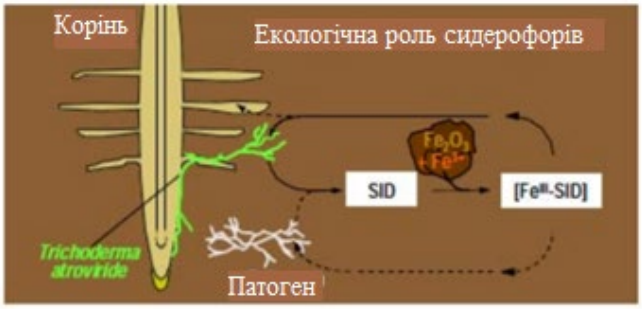


Рис.3.2.1. Механізм утворення сидерофорів. *Trichoderma* виділяє сидерофори для збору заліза, яке буде утворюватися у вигляді Fe(III)-Sid і використовуватися грибом або рослиною [25].

У гонці за поживними речовинами сидерофори можуть зв'язувати Fe^{3+} (як показано на рис.4.), таким чином роблячи його недоступним для інших грибів і зупиняючи їх ріст. Вони виробляються при голодуванні (обмеженні заліза) ($<10^{-6}$ моль/л) і виводяться з організму для хелатування заліза і транспортування його до клітини, де воно може зберігатися або використовуватися.

Для *Trichoderma spp.* властивий мікопаразитизм, коли один штам грибів атакує інший. Ця особливість може бути спеціально використана для патогенів таких як *Botrytis, Rhizoctonia, Phytium, Fusarium, Phytophthora, Crinipellis* і *Verticillum spp*., які є шкідниками сотень рослинних культур, у тому числі помідорів, кукурудзи, бавовни, какао та винограду, для запобігання поширеним захворюванням.

Механізм мікопаразитизму такий: у відповідь на ферменти атакуючого штаму виділяються речовини, що активують ріст гачків на гіфах, які механічно проникають в клітинну стінку патогена. При цьому виділяються хітинази, що знищують патогена ферментативно [25].

3.3. *Trichoderma spp.* як біофунгіцид

Триходерма широко і успішно знаходить своє застосування у агрономічній галузі у якості біопрепарату для захисту та росту рослин.

Загалом комерційні препарати *Trichoderma spp.* для біологічного контролю складаються з конідій, що утворюються в біомасі, тоді як висока активність біоконтролю в навколишньому середовищі залежить від того, що гриб залишається вегетативним і, таким чином, антагоністично активним [24].

Для боротьби з хворобами рослин рекомендується кілька методів застосування біофунгіцидів. Найпоширенішими методами застосування *Trichoderma* є біоґрунтування насіння, занурення розсади, внесення в ґрунт та перев'язування ран, а от обприскування листя застосовується вкрай рідко.

Обробка насіння є одним із простих та ефективних методів. При обробці насіння покривають сухим порошком *Trichoderma* безпосередньо перед посівом. Для комерційних цілей використовується сухий порошок антагоніста від 3 до 10 г на кг насіння в залежності від розміру насіння.

Види *T. harzianum*, *T. virens* і *T.viride* є ефективними засобами захисту насіння від *Pythium spp.* і *Rhizoctonia solani*.

Біопраймінг (біоґрунтування) насіння: насіння обробляють біопрепаратом та інкубують у теплих і вологих умовах безпосередньо до появи корінця. Цей метод має потенційні переваги перед простою обробкою насіння, оскільки він призводить до швидкого і рівномірного зростання. Конідії триходерми проростають на поверхні насіння і утворюють шар навколо біоґрунтованого насіння. Таке насіння краще переносить несприятливі умови ґрунту.

Обробка коренів: коріння розсади можна обробити суспензією спор або клітин антагоністів шляхом поливання біоагентом у розсадниках або занурення коренів у суспензію біоагенту перед пересадкою. Цей метод зазвичай використовується для овочевих культур, рису, або рослин, для яких практикується пересадка.

Внесення в ґрунт ідеально застосовувати для теплиць та розплідників. Агенти біоконтролю застосовуються на субстратах та ґрунті під час посадки або до висадки розсади для боротьби з широким спектром фітопатогенів.

Також *Trichoderma* успішно застосовується для надземних частин рослин для біоконтролю поширення патогенних грибів у ранах на кущах і деревах [26].

3.4. Механізми фунгіцидної дії вторинних метаболітів *Trichoderma spp.*

Успіх боротьби *Trichoderma spp.* з патогенними грибами можна пояснити комбінованою дією вторинних метаболітів і гідролітичних ферментів.

Пригнічення проростання спор *B. cinerea* пояснюється синергетичним ефектом гліотоксину та ферментів. Подібно до інших корисних для рослин мікроорганізмів, гриби *Trichoderma* виділяють речовини, подібні до еліситорів, які викликають у рослин системну або локальну резистентність.

Різні вторинні метаболіти, що виробляються *Trichoderma spp.*, такі як гарціаноліди, пептаіболи та деякі леткі сполуки, мають протигрибковий потенціал, а також діють як стимулятор росту рослин, що призводить до підвищення стійкості рослин до нападу патогенів.

Наприклад, 6-пентил-пірон (6-PP), поряд зі зниженням росту міцелію *F. oxysporum*, *B. cinerea* та *R. solani*, також сприяє росту рослин і викликає системну резистентність, ймовірно, діючи як ауксин-подібна сполука.

Протигрибкова активність пептаіболів обумовлена їх здатністю утворювати іонні канали в мембранах і пригнічувати ферменти, відповідальні за синтез клітинних стінок.

Іншим механізмом вторинних метаболітів для боротьби з фітопатогенними грибами є їхня роль у конкуренції за поживні речовини. Швидкозростаюча здатність *Trichoderma spp*. робить їх потенційними конкурентами за поживні речовини та простір: як згадувалося вище, *Trichoderma spp*. робить залізо недоступним для конкуруючих

мікроорганізмів, вивільняючи сидерофори, які збирають залізо з навколишнього середовища.

Деякі вторинні метаболіти взаємодіють з токсинами патогенних грибів і пригнічують їх ріст. Наприклад, 6-PP, що виділяється з *T. harzianum*, розкладає фузаринову кислоту та мікотоксини та пригнічує ріст міцелію *Fusarium moniliforme.*

Важливо згадати про мікопаразитарну властивість: здатність триходерми обвиватися навколо гіф гриба-патогена. Антрахінонові метаболіти, емодин і пахібазин, отримані з *T. harzianum*, відіграють роль у саморегуляції згортання гачків у *T. harzianum*. Додавання цих сполук в поживне середовище збільшує кількість клубків мікопаразита навколо гіф жертви [16].

Trichoderma **володіє високою конкурентоспроможністю за поживні речовини, виділяючи сидерофори, що звязують залізо, яке використовує рослина для живлення, і блокують живлення патогенів; володіє набором ферментів, які розщеплюють усі форму цукрів. Суперницькі умови активують біофунгіцидні властивості грибів.**

3.5. Антагоністичний вплив *Trichoderma spp.* на найпоширеніші фітопатогени

Культури мікроорганізмів, використані у досліді були отримані: *A.chactorum, Tr. harzianum*, *Cladosporum sp.* – з колекції Інституту агробіології «БІОНОРМА»; *Tr. viride* – дикий штам, виділений із зараженого насіння соняшника; *Fusarium sp. (3)* – виділений із насіння сої; *Fusarium sp. (4)* – виділений із колоса пшениці.

На рисунку 3.5.1. видно, що *Trichoderma harzianum* не виявляє антагоністичної активності стосовно *A.chactorum,* на чашці Петрі спостерігається суцільний ріст фітопатогена, *Trichoderma harzianum* присутня лише на агарових блоках.

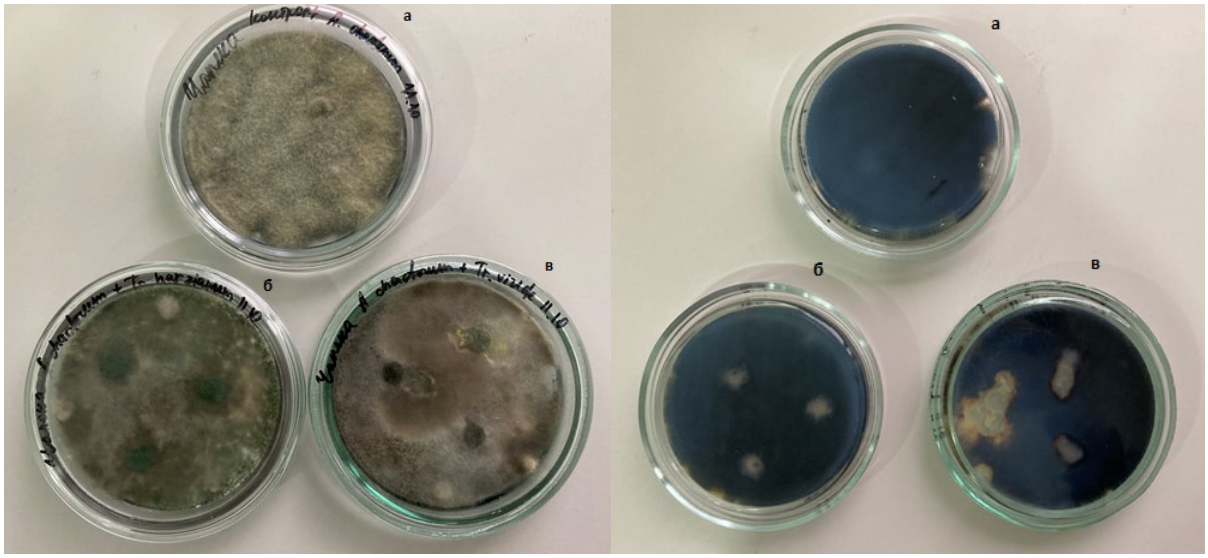


Рис.3.5.1. Антагоністична дія стосовно *A. chactorum*: а – контроль, б – *Trichoderma harzianum*, в – *Trichoderma viride*.

Trichoderma viride виявляє більш активний ріст, в межах якого не спостерігається росту *A. chactorum.*

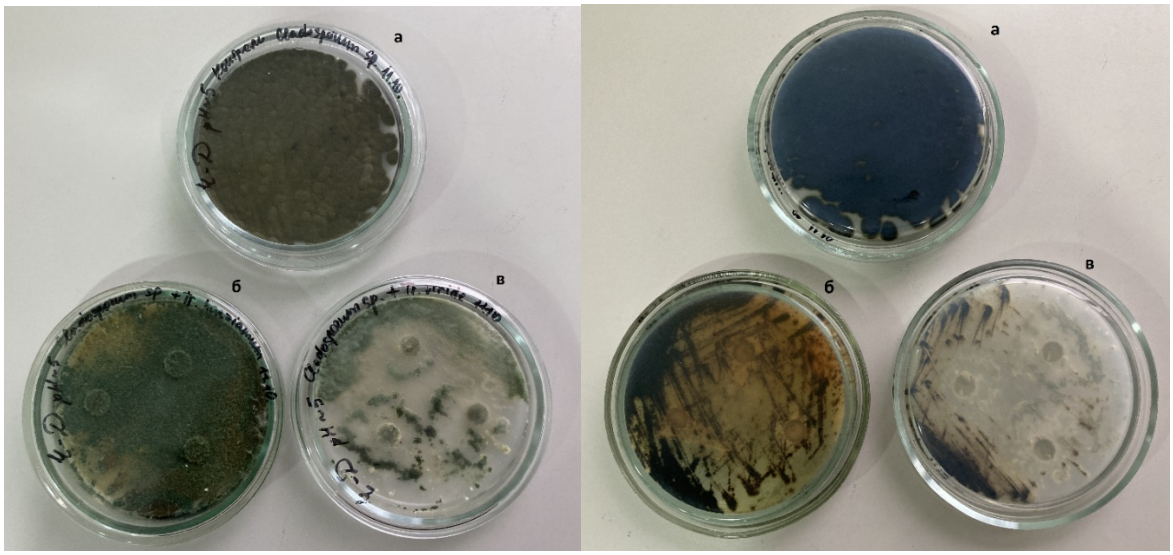


Рис.3.5.2. Антагоністична дія стосовно *Cladosporum sp.*: а – контроль, б – *Trichoderma harzianum*, в – *Trichoderma viride*.

Trichoderma harzianum стосовно *Cladosporum sp.* проявляє високу антагоністичну активність: на початку закладання досліду спостерігалося зростання культури *Cladosporum sp.* , проте через 7 діб спостерігається суцільний ріст та пригнічення культурою *Tr. harzianum.*

У випадку *Tr. viride* спостерігається висока антагоністична активність, але відрізняється від *Tr. harzianum* не густим обростанням, а більшим

пригніченням фітопатогену. На зображенні явно спостерігається прозора зона пригнічення *Cladosporum sp.*

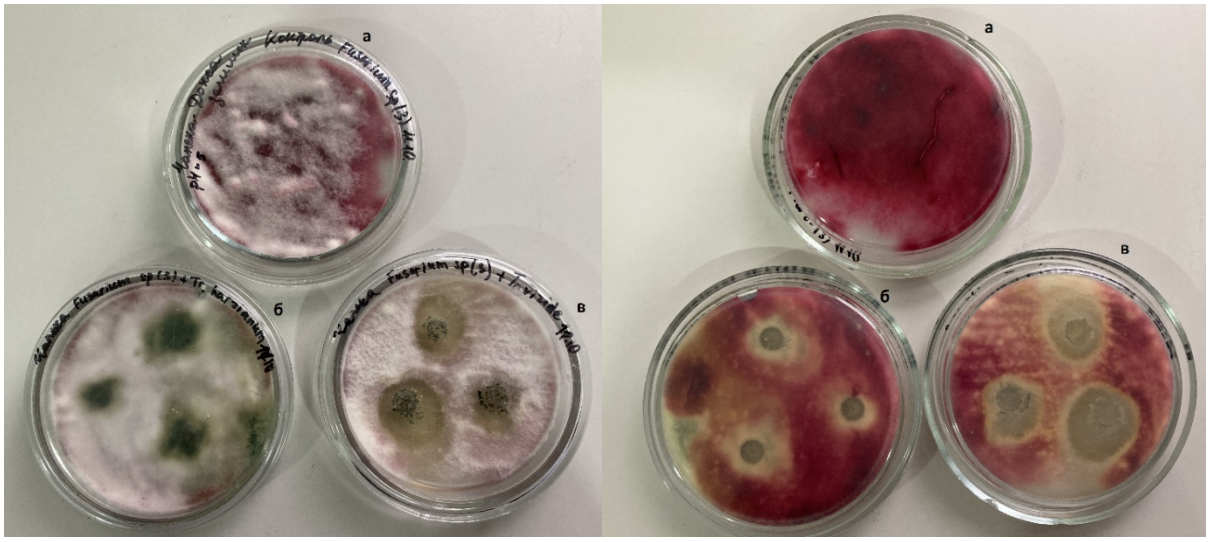


Рис.3.5.3. Антагоністична дія стосовно *Fusarium sp. (3)*: а – контроль, б – *Trichoderma harzianum*, в – *Trichoderma viride*.

У дослідному зразку з антагоністом спостерігається пригнічення виділення пігменту у зоні росту *Tr. harzianum.* Ріст *Tr. harzianum* відбувається по верх культури фітопатогену.

Tr. viride проявляє значно кращі антагоністичні властивості, на рисунку явно спостерігаються зони пригнічення росту, діаметром 29,6 мм.

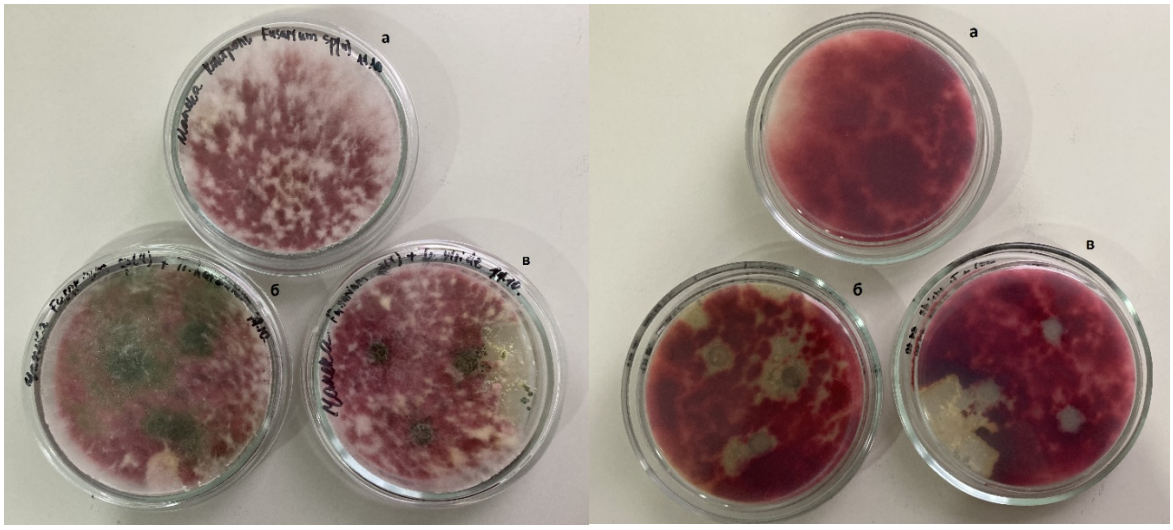


Рис.3.5.4. Антагоністична дія стосовно *Fusarium sp. (4)*: а – контроль, б – *Trichoderma harzianum*, в – *Trichoderma viride*.

З рисунку помітно, що *Tr. harzianum* проявляє мінімальну антагоністичну активність проти штаму *Fusarium sp. (4)*, зони пригнічення відповідають зонам

росту *Tr. harzianum* на агарових блоках, також спостерігається ріст антагоніста по верх культури фітопатогену та пригнічення виділення пігменту.

Колонія *Tr. viride* з кращим спороношенням проявляє антагоністичну активність стосовно *Fusarium sp. (4)*, що видно з рисунку, на інших агарових блоках відбувається ріст *Tr. viride* з мінімальною антагоністичною дією.

Таблиця – 3.5.1. Антагоністична активність видів *Trichoderma* стосовно фітопатогенний мікроміцетів.

	A. chactorum	*Cladosporum sp.*	*Fusarium sp. (3)*	*Fusarium sp. (4)*
Trichoderma harzianum	Антагоністичної дії не виявлено	Суцільний ріст *Tr. harzianum* (Висока антагоністична активність)	Пригнічення росту *Fusarium sp.,* що проявляється у відсутності пігменту	Мінімальна антагоністична активність (зона затримки росту відповідає зоні росту *Tr. harzianum*)
Trichoderma viride	Мінімальна антагоністична активність (зона затримки росту відповідає зоні росту *Tr. viride*)	Суцільний ріст *Tr. viride* (Висока антагоністична активність)	Діаметр зони затримки росту – 29,6 мм	Мінімальна антагоністична активність (зона затримки росту відповідає зоні росту *Tr. viride*)

РОЗДІЛ 4. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

4.1. Сировина і матеріали технологічного процесу

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якої перевіряються показники якості	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1. Основна сировина			
1.1. Вода питна	ДСТУ 7525:2014 «Вода питна. Вимоги та методи контролювання якості»	Мікробіологічна та хімічна чистота, загальна жорсткість не більше 5 ммоль/л, pH в діапазоні 5,5-7,5	Приготування розчинів, посівного матеріалу, ополіскування обладнання
1.2. Мінеральні солі (NH_4Cl, $KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, K_2HPO_4, $CaCl_2$, KH_2PO_4, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnSO_4$, $CoCl_2$, $NaNO_3$)	ГОСТ 3773-72 «Реактиви. Амоній хлористий. ТУ»; ДК 021:2015 24310000-0 — «Основні неорганічні хімічні речовини»; ДСТУ 8145:2015 «Реактиви та особливо чисті речовини. Методи готування буферних розчинів»; ДСТУ 7274:2012	Відсутність домішок	Живлення біологічних агентів

Продовження табл. 4.1.

	«Хімічні реактиви. Реактиви, розчини для аналізу. Методи приготування»		
1.3. Дистильована вода	-	Мікробіологічна та хімічна чистота	Приготування поживних середовищ
1.4. Кукурудзяний лікер	-	Без домішок	Живлення біологічних агентів
1.5. Дріжджовий екстракт	-	Без домішок	Живлення біологічних агентів
1.6. Глюкоза	ДСТУ 4464:2005 «Глюкоза кристалічна гідратна. Технічні умови»	Без домішок	Живлення біологічних агентів
1.7. Штам *Trichoderma viride*	-	Відсутність сторонньої мікрофлори	Посівний матеріал
1.8. Штам *Trichoderma harzianum*	-	Відсутність сторонньої мікрофлори	Посівний матеріал
1.9. Розчин перекису водню	-	Хімічний аналіз (Концентрація 35%)	Дезінфікуючий засіб
2. Допоміжна сировина			
2.1. Вода технічна	-	Відсутність механічних забруднень	Миття обладнання
2.2. Цитратний буфер	-	Відсутність сторонніх хімічних сполук	Регуляція pH культуральної рідини

Продовження табл. 4.1.

2.3. Стиснене повітря	ДСТУ 4169:2003 «Стиснене повітря. Частина 1. Забруднювачі та класи чистоти» (ISO 8573-1:2001, MOD)	Відсутність механічних домішок	Аерація
3. Матеріали			
3.1. Пластикові банки 1 л	ДСТУ EN 13974:2007 «Тара тверда пластмасова»	Присутність маркування, відсутність зайвих розчинів, відповідність об'єму	Пакування кінцевого продукту
4. Напівпродукти			
4.1. Посівний матеріал	Згідно виробничого регламенту	Відсутність сторонніх мікроорганізмів	Засів ферментера
4.2. Культуральна рідина	-	$1 \cdot 10^9$ КУО/мл	Нарощування біомаси

4.2. Опис технологічного процесу виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma*

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

Підготовка виробництва передбачає підготовку персоналу, приготування дезінфікуючих та миючих розчинів, підготовку робочих приміщень та поверхонь, перевірку та стерилізацію обладнань, комунікацій. Санітарна підготовка проводиться згідно з вимогами ДСанПіН, GMP та інших нормативних актів в галузі біотехнологічних виробництв.

ДР 1.1. Підготовка води очищеної

Очищена вода використовується для миття обладнань та приготування робочих розчинів, тому важливим є дотримання якості води. Очищена вода отримується за допомогою пропускання через інертні фільтри, а після чого

доочищається на мембранних фільтрах. Проводиться аналіз якості води та вмісту на біологічно та хімічно шкідливі вкраплення.

ДР 1.2. Підготовка персоналу

Для персоналу в першу чергу проводиться інструктаж про техніку безпеки роботи на підприємстві, плановий медичний огляд, санітарна підготовка, контроль рівня освіченості та компетентності.

ДР 1.3. Підготовка дезінфікуючих та миючих розчинів

Миючі та дезінфікуючі розчини використовуються для миття обладнань та поверхонь у робочих приміщеннях. Приготування розчинів повинно здійснюватися відповідно «Методичних рекомендацій щодо приготування і застосування робочих розчинів мийних, дезінфекційних, мийно-дезінфекційних засобів та антисептиків» затверджених Наказом МОЗ України від 14 грудня 2001 р. № 502.

Найвигідніше в якості дезінфікуючих засобів використовувати порошкоподібний миючий засіб (перед використанням перемішують з водою при температурі 40-50ºС та 40об/хв) та перекис водню 6% розчин (готують у змішувачі додаючи до 35% - ого розчину перекису водню воду при перемішуванні 40 об/хв).

ДР 1.4. Підготовка виробничих приміщень, обладнання та комунікацій

Забезпечення безперешкодного перебігу виробничого процесу згідно з МУ 42-51-4-93. Обладнання та комунікації обробляють миючими та дезінфікуючими засобами, після чого ополіскують очищеною водою.

До підготовки обладнання окрім миття та дезінфекції входить плановий ремонт та технічний огляд, що повинен забезпечити механічну чистоту та унеможливити закупорку труб та ржавіння поверхонь Після підготовки та обробки проводять мікробіологічний контроль поверхонь та повітря. Перевірка на герметичність відбувається за допомогою мильного розчину.

ДР 2. Підготовка повітря

Важливим є процес аерації та забезпечення якості повітря, яке поступає у реактор, тому проводиться забір та очистка повітря.

ДР 2.1. Забір повітря

Здійснюється шляхом забору повітря з атмосфери не нижче 4-6 м над землею за допомогою повітрозбірника, а потім транспортують із залученням забірної шахти висотою 20-30 м.

ДР 2.2. Фільтрування повітря від механічних забруднень

Волокнистий фільтр затримує пил, механічні решітки. Фільтрувальним матеріал – це тканина Петрянова (ФПП- 15-30) з максимальним діаметром часток, що затримуються 1,5 мкм, ефективністю очищення 98%. На даній стадії проводиться механічний контроль якості очищення.

ДР 2.3. Компресування повітря

Для компресування повітря застосовують повітродувки з продуктивністю від 2 до 190 $м^3$ /хв зі стисненням повітря до 5 кПа. При стисненні повітря відбувається нагрівання. На стадії здійснюється контроль тиску та температури.

ДР 2.4. Стабілізація термодинамічних показників повітря

В кондиціонері з повітря видаляється зайва волога та інші домішки, стабілізуються фізичні та хімічні властивості, досягаючи тиску на виході 0,3 МПа. На стадії здійснюється контроль тиску та температури.

ДР 2.5. Стерилізація повітря

Стерилізація робочого повітря важлива задля унеможливлення потрапляння спор грибів або бактерій, що можуть вплинути на хід виробництва та кінцевий продукт.

Після кондиціонування повітря з класу D перетворюється до класу C. Відбувається очистка від мікроорганізмів у фільтрах HEPA. Проводиться фізичний і мікробіологічний контроль.

ДР 3. Підготовка та стерилізація поживного середовища для Trichoderma viride та Trichoderma harzianum

Рідке поживне середовище містить (г/л дистильованої води): хлорид амонію (2,0), сегнетова сіль (2,0), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (4,0), K_2HPO_4 (14,0), $CaCl_2$ (0,2), KH_2PO_4 (4,0), дріжджовий екстракт (4,5), мікроелементи (2,0 мл): [$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,0014), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,005), $MnSO_4$ (0,0016), $CoCl_2$ (0,002)], глюкоза (7,5), $NaNO_3$ (6,0) і кукурудзяний лікер (5,0) [24].

Після приготування поживного середовища проводиться автоклавування при тиску 50 кПа протягом 30 хв [15].

ДР 4. Підготовка посівного матеріалу

Музейні культури *Trichoderma viride* та *Trichoderma harzianum* зберігаються у холодильнику в пробірках із скошеним агаром. Для отримання посівного матеріалу гриби пересіюють у рідке середовище [17].

ТП 5. Вирощування маточної культури в колбах

Посівний матеріал пересіюють у колби з рідким середовищем по 750 мл. Колби розміщують на качалку на 2 доби при 200 об/хв [21].

ТП 6. Розмноження в посівному ферментері

В посівні ферментери об'ємом 16 $м^3$ у рідке середовище стерильно вносять посівні матеріали *Tr. viride* та *Tr. harzianum*. Культивують протягом 2 діб. Через кожні 10 годин вмикають освітлення синього спектру довжиною 400—485 нм.

ТП 7. Культивування грибів Trichoderma viride та Trichoderma harzianum

У ферментері 100 $м^3$, обладнаному барботером та мішалкою впродовж 14 годин проводиться розмноження культур при t=28°C, pH=4, λ=400-485 нм. Важливо підтримувати оптимальну температуру та pH. Для корегування pH застосовують цитратний буфер. В ході процесу проводять контроль росту біомаси [19].

ПМВ 8. Змішування та розлив препарату

Препарат складається з двох культур, які змішані у рівній концентрації. Перед пакуванням у ємкості 1 л стерильно вносять культури *Tr. viride* та *Tr. harzianum.*

ПМВ 9. Пакування і маркування кінцевої продукції

Біопрепарат від ПМВ 8 розливають та пакують у пластмасові бляшанки об'ємом 1 л згідно регламенту. Маркування повинно передбачувати попереджувальні знаки про можливі алергічні реакції. Біопрепарат відноситься до 4 класу небезпеки для людини, та 3 класу небезпеки для бджіл. Гарантійний строк зберігання – в закритій ємкості не більше 6 місяців при температурі не більше 25°С.

ЗВ 10. Знешкодження відходів виробництва

Відпрацьоване повітря в кінці повинно пройти знезараження та стерилізацію. Стічні води підприємства знезаражуються та відводяться у міську каналізацію для доочищення. Заражене повітря проходить очистку через сепаратор, після чого проходить доочистку у скрубері. Суміші хімічних речовин відправляють на нейтралізацію. Промивні води нейтралізують та урівнюють pH до 7.

ПВ 11. Переробка відходів виробництва

Відходи від виробництва містять у собі біомасу грибів *Trichoderma*, які чинять позитивний вплив на рослини та ґрунт.

4.3. Характеристика готового продукту

Біопрепарат на основі видів грибів *Trichoderma* рідинна форма має блідо-зелений, мутний колір. Діюча речовина гриби-антагоністи *Trichoderma viride* та *Trichoderma harzianum.* Цільові культури: бобові, овочеві, злакові. Біопрепарат повинен підлягати регламентації відповідно Національному Стандарту України «Захист рослин. Терміни та визначення понять» ДСТУ

4756:2007 та «Добрива органічні. Агрономічні вимоги щодо якості добрив для використання в органічному виробництві» ДСТУ 7938:2015.

Характеристика продукту згідно ТУ У 24.1-30165603-024:2020:

Опис: рідина або концентрат суспензії, від зеленого до коричнево-зеленого кольору зі слабким специфічним запахом.

Склад:

- спори та міцелій грибів-антагоністів роду *Trichoderma*. Загальне число життєздатних ефективних мікроорганізмів не менше ніж 1×10^7 КУО/см^3
- антибіотичні метаболіти, що пригнічують розвиток багатьох видів збудників хвороб
- БАР, які стимулюють ріст та розвиток рослин, підвищують їх стійкість до хвороб.

Призначення:

- обробка ґрунту
- обробка насіння
- обробка розсади перед висаджуванням
- обприскування вегетативних рослин
- внесення в рядок

Біологічна дія біопрепарату:

- захист рослин від широкого спектру грибних та бактеріальних хвороб (*Fusarium spp., Gibberella spp., Rhizoctonia spp., Verticillium spp., Dreschlera spp., Ascochyta spp., Phytophthora spp., Erysiphe spp*. та ін.)
- пригнічення росту та розвитку фітопатогенів у ґрунті
- розкладання органічних решток
- стимуляція росту та розвитку рослин.

Спосіб застосування:

Перед використанням біопрепарат ретельно збовтують, після чого нормовану кількість препарату розчиняють в об’ємі води згідно рекомендацій, зазначених у таблиці розсаду та саджанці обробляють зануренням кореневої системи в розчин препарату на 20-30 хвилин.

Таблиця – 4.3.1. Норми витрат на приготування розчину біопрепарату перед використанням [27].

Культури	**Обробка насіння**		**Обробка саджанців та розсади**		**Обприскування**	
	Триходерма, л/т	Робочий розчин, л/т	Триходерма, л/1 000 од.	Робочий розчин, л/1 000 од.	Триходерма, л/га	Робочий розчин, л/га
Зернові	1,0 – 3,0	10 – 20	–	–	0,7 – 2,0	200–300
Бобові	1,0 – 2,5	5 – 15	–	–	0,7 – 2,5	200–300
Овочі	1,0 – 3,0	10 – 25	0,2 – 0,5	5 – 15	1,0 – 3,0	200–400
Плодові	–	–	0,4 – 0,7	10 – 20	1,0 – 3,0	200–300

Особливості застосування:

— обробка насіння найкраще проводиться без дії променів сонця

— кореневе та позакореневе підживлення бажано проводити в безвітряну погоду, вранці або ввечері

— приготований розчин біопрепарату не зберігати більше ніж 4 години [27].

4.4. Контроль виробництва біопрепарату

Назва стадії та номер контрольної точки	Об’єкт контролю та показник, що вивчається	Метод контролю	Періодичність перевірки	Нормативна характеристика показника
ДР 1.1. Підготовка	Хімічна чистота (вміст	Хімічний аналіз	Кожного тижня	Згідно регламенту

Продовження табл. 4.4.

води очищеної $К_х$ 1.1.1 $К_м$ 1.1.2	важких солей)	Мікробіологічний контроль		
	Мікробіологічна чистота (присутність патогенів та алергенів)			
ДР 1.3. Підготовка дезінфікуючих та миючих розчинів $К_х$ 1.3.1 $К_х$ 1.3.2	Концентрація перекису водню	Хімічний аналіз	Кожного разу перед використанням	Згідно методик № 502
	Маса миючого порошку			Згідно методик № 502
ДР 1.4. Підготовка виробничих приміщень, обладнання та комунікацій $К_м$ 1.4.1	Мікробіологічна чистота поверхонь	Мікробіологічний контроль	Кожного разу перед проведенням дослідних робіт	Згідно з МУ 42-51-4-93
	Мікробіологічна чистота повітря			
$К_м$ 1.4.2 $К_ф$ 1.4.3	Герметичність приладів	Фізичний контроль		
ДР 2.5. Стерилізація повітря $К_м$ 2.5.1 $К_ф$ 2.5.2	Мікробіологічна чистота повітря	Мікробіологічний контроль	2 рази в тиждень та перед виробничим циклом	Вміст мікрофлори на 40-50% менше ніж вхідний показник
	Температура	Термометр	Постійно	20-25°С
	Вологість	Психрометр	За годину до подачі на процес	>60%

Продовження табл. 4.4.

ДР 3. Підготовка та стерилізація поживного середовища $К_ф$ 3.1 $К_ф$ 3.2 $К_ф$ 3.3 $К_ф$ 3.4 $К_м$ 3.5	Час	Таймер	Постійно	30 хв
	Температура	Термометр		28°С
	pH	pH-метр		4
	Тиск	Манометр		50 кПа
	Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний аналіз		Стерильно
ТП 5. Вирощування маточної культури в колбах $К_ф$ 5.1 $К_ф$ 5.2 $К_ф$ 5.3 $К_м$ 5.4	Час	Годинник	Постійно	2 доби
	Температура	Термометр		28°С
	Перемішування	Контрольні прилади		200 об/хв
	Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний контроль		Асептично
ТП 6. Розмноження в посівному ферментері $К_ф$ 6.1 $К_ф$ 6.2 $К_ф$ 6.3 $К_м$ 6.4	Час	Годинник	Постійно	2 доби
	Температура	Термометр		28°С
	pH	pH-метр		4
	Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний контроль		Асептично
	Освітлення	Фотометр	Кожні 10 годин	400-485 нм
ТП 7. Культивування грибів $К_ф$ 7.1 $К_ф$ 7.2 $К_ф$ 7.3 $К_ф$ 7.4 $К_м$ 7.5 $К_м$ 7.6	Час	Годинник	Постійно	14 год
	Температура	Термометр		28°С
	pH	pH-метр		4
	Аерація	Витратомір		60 $м^3$/год·л
	Ріст біомаси	Мікробіологічний контроль		$1 \cdot 10^9$ КУО /мл

Продовження табл. 4.4.

	Освітлення	Фотометр		400-485 нм
	Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний контроль		Асептично
ПМВ 8. Змішування та розлив препарату $К_т$ 8.1	Об'єм та вміст банки	Візуально	Під час розливу	1 л
ПМВ 9. Пакування і маркування кінцевої продукції $К_т$ 9.1	Наявність попереджувальних знаків та терміну придатності	Візуально	Після маркування	Знаки та позначки про вміст згідно НТД
ЗВ 10. Знешкодження відходів виробництва $К_ф$ 10.1	pH	pH-метр	Перед скидом	Згідно НТД про характер відходів
	Наявність хімічних забруднень	Хімічний аналіз		

4.5. Матеріальний баланс

Посівний ферментер ємкістю 16 м^3. Для культивування грибів використовуємо ферментер ємністю 100 м^3 для кожного виду окремо. З одного виробничого циклу отримується 140 л біопрепарату.

Використано			Отримано		
Стадія	Назва сировини, матеріалу, напівпродукту	К-сть, кг	Стадія	Назва кінцевого напівпродукту, продукту, відходу	К-сть, кг
ДР 3. Підготовка та стерилізація поживного середовища	Дистильована вода	1	*ДР 3. Підготовка та стерилізація поживного середовища*	Поживне середовище	1,0512
	хлорид амонію	0,002			
	сегнетова сіль	0,002			
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,004			
	K_2HPO_4	0,014			

Продовження табл. 4.5.

	$CaCl_2$	0,0002			
	KH_2PO_4	0,004			
	дріжджовий екстракт	0,0045			
	кукурудзяний лікер	0,005			
	$NaNO_3$	0,006			
	глюкоза	0,0075			
	Мікроелементи	0,002			
ТП 5. Вирощування маточної культури в колбах	Музейна культура *Tr. viride*	0,002		Маточна культура *Tr. viride*	0,5
	Музейна культура *Tr. harzianum*	0,002		Маточна культура *Tr. harzianum*	0,5
	Поживне середовище	0,45			
	Поживне середовище	0,45			
ТП 6. Розмноження в посівному ферментері	Поживне середовище	9,6	*ТП 6. Розмноження в посівному ферментері*	Культуральна рідина *Tr. viride*	9,6
	Поживне середовище	9,6			
	Маточна культура *Tr. viride*	0,0096		Культуральна рідина *Tr. harzianum*	9,6
	Маточна культура *Tr. harzianum*	0,0096			
ТП 7. Культивування грибів	Поживне середовище	70	*ТП 7. Культивування грибів*	Біопрепарат	140
	Поживне середовище	70			
	Посівний матеріал *Tr. viride*	0,07			
	Посівний матеріал *Tr. harzianum*	0,07			
Всього		161,3	Всього		161,3

РОЗДІЛ 5. ВИБІР І ТЕХНОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ

5.1. Опис та обґрунтування вибору обладнання для вирощування посівного матеріалу мікроскопічних грибів

Обираємо типовий ферментер для нарощування посівного матеріалу.

Для забезпечення гомогенізації середовища з продуцентом, насичення киснем та рівномірному розподіленню світла у ферментері потрібно використовувати перемішуючі та аераційні пристрої.

При глибинному культивуванні мікроорганізмів посівний матеріал готують також глибинним способом з поетапним збільшенням біомаси продуцента. Загальна схема отримання посівного матеріалу в асептичних умовах зображена на рис.5.1.1 [28].

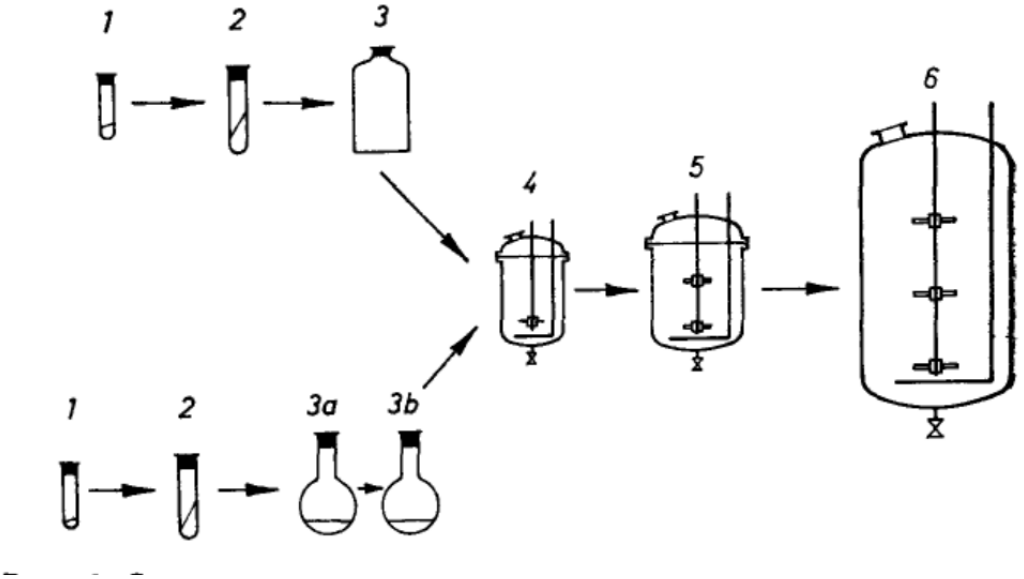


Рис.5.1.1. Схема отримання посівного матеріалу в асептичних умовах: 1 – законсервований штам, 2 – перше покоління на скошеному агарі в пробірці із спороутворенням, 3 – друге покоління в колбах на твердому середовищі, 3а і

3b – перше і друге покоління на рідких середовищах в колбах, 4 – інокулятор, 5 – посівний ферментер, 6 – виробничий ферментер [29].

Ферментери малих об’ємів засівають з качалочних колб. На підприємстві великої потужності біомасу чистої культури розмножують в інокуляторі, а потім в посівному апараті з дотриманням умов асептики. Передача посівного матеріалу із апарата в апарат здійснюють перетиском стерильним повітрям без порушення асептики. Кількість посівного матеріалу повинна бути 8-10% від кількості поживного середовища [28].

Вибір типового інокулятора можливо у випадку, якщо розглянута специфіка технологічної стадії, фенотипові ознаки продуцентів. В подальшому для конкретного типу проводиться конструктивний розрахунок, розрахунок гідродинамічних, масообмінних, теплообмінних характеристик, тощо.

Серед головних вимог до конструювання та виборі типового ферментера такі:

- Гідродинамічні показники
- Тип культивування (періодичний процес, напівперіодичний, безперервний)
- Продуктивність
- Терміни культивування
- Рівень асептики
- Ступінь аерації
- Контроль піноутворення

Найпоширеніша класифікація ферментерів – за способом введення енергії на рис. 5.1.2 [30].

Властивості ферментерів з механічними перемішуючими пристроями зазвичай визначає тип мішалки.

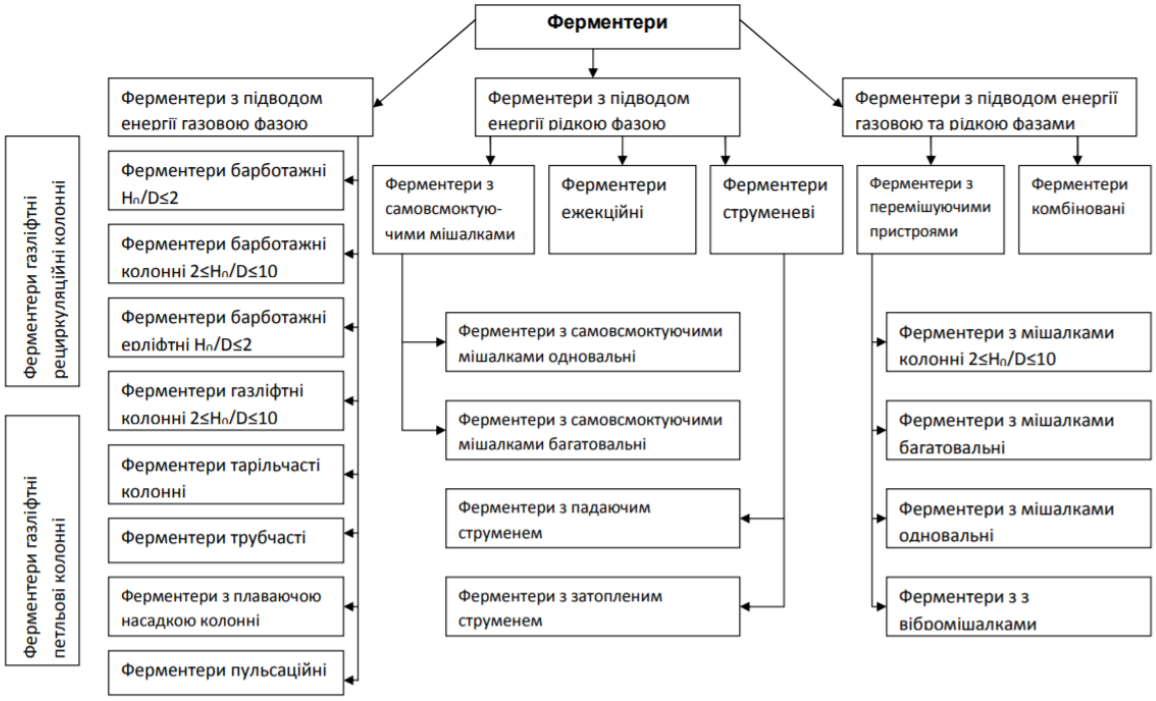


Рис.5.1.2. Класифікація ферментерів [30].

ГОСТ 20680-75 передбачає 10 типів конструювання вертикальних апаратів із пристроями, що відрізняються формою кришок (днищ) і конструкціями мішалок. В цьому випадку мішалка є робочим елементом механічного перемішуючого пристрою. Перемішування в промислових ферментерах може здійснюється переліком відомих мішалок (ГОСТ 20680-75, 12 типів мішалок), що використовуються в рідкофазних системах але в біотехнології традиційно перевага віддається швидкісним – лопатевим, гвинтовим та турбінним, які працюють при в'язкості КР не більше 50 Па·с. (рис. 5.1.3.).

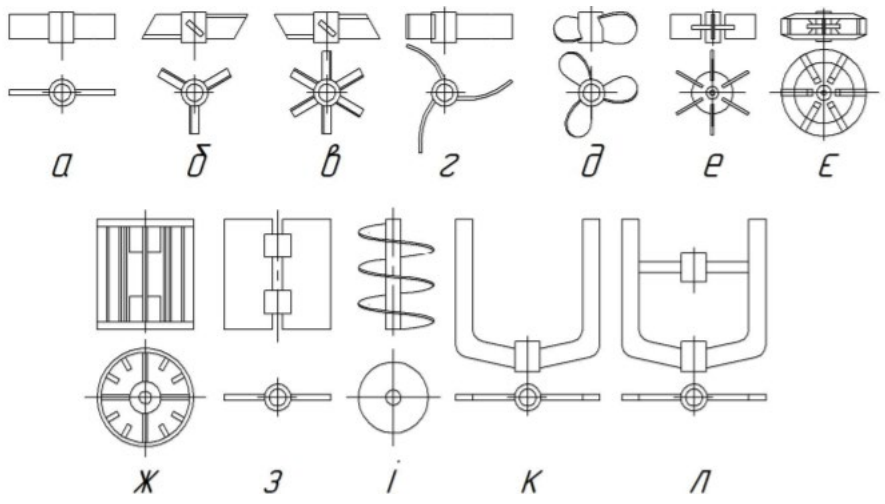


Рис. 5.1.3. Ескізи механічних мішалок: а – лопатева мішалка; б – трьохлопатева мішалка; в – шестилопатева мішалка; г – спірально-лопатева мішалка; д – гвинтова мішалка; е – відкрита турбінна мішалка; є – закрита турбінна мішалка; ж – клітьова мішалка; з – листова мішалка; і – шнекова мішалка; к – якірна мішалка; л – рамна мішалка [30].

У аеробних процесах застосовують комбіновані системи ведення енергії: газова фаза з механічним перемішуванням. Такий метод забезпечує насичення киснем середовища і рівномірне перемішування культуральної рідини. Серед переваг: мобільність – можливе створення оптимального гідродинамічного режиму за рахунок зміни швидкості обертання або зміни швидкості руху газової фази. Головний конструктивний елемент апарату – мішалка, що забезпечує високу інтенсивність подачі кисню та високий рівень диспергації газової фази [30].

У біотехнологічних процесах використовується турбінна мішалка, яка найбільш бережно перемішує культуральні рідини, особливо якщо це міцелій. Мішалка створює радіальні потоки, для уникнення утворення воротки встановлюють відбивні перегородки. Потужність працюючої мішалки не залежить від в’язкості рідини, тому чудово підходить для перемішування посівного матеріалу. Кількість обертів мішалки в межах 2-5 в секунду, а окружна швидкість становить 3-8 м/сек [31].

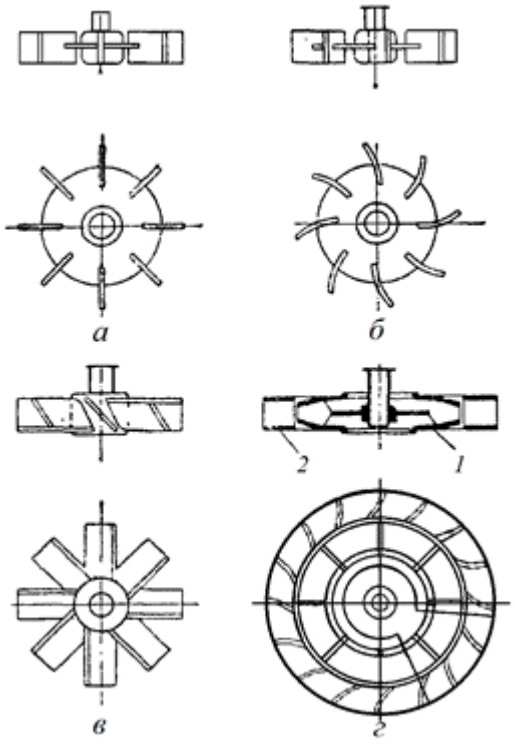


Рис. 5.1.4. Турбінні мішалки: а – відкрита з прямими лопатками; б – відкрита з криволінійними лопатками; в – відкрита з похилими лопатками; г – закрита з направляючим апаратом; 1 – турбінна мішалка, 2 – направляючий апарат [31].

Для аерації середовища використовують барботери, які розміщуються на дні ферментера. Швидкість подачі повітря встановлюють так, щоб повітря підіймалося у вигляді окремих пузирів. Існує головний недолік: нерівномірність розподілу мікроорганізмів і компонентів по об'єму апарата. Цей недолік виключається у комбінованому використанні з мішалкою яка розподіляє пузирі по всьому об'ємі [32].

Для посівного ферментера обираємо турбінну мішалку та барботер.

5.2. Технічна характеристика апарата

Для підтримки виробництва 1 500 л біопрепарату в день, необхідно 22 л посівного матеріалу. В рік потрібно 8 030 л посівного матеріалу.

За рік отримується 547,5 тис. л/ рік біопрепарату.

Для досягнення виробництва біопрепарату за рік $P_р$= 547,5 тис. л/ рік, потрібно виробляти посівного матеріалу за добу:

$$m_{\text{п.м.доб}} = \frac{m_{\text{бп.р}}}{365} = \frac{8\,030}{365} = 22 \text{ л/добу} \quad (5.2.1)$$

Для досягнення добового виробництва посівного матеріалу потрібно розрахувати кількість біомаси біологічного агенту:

$$m_{\text{бм}} = \frac{m_{\text{п.м.доб}}}{f} = \frac{22}{0{,}08} = 275 \text{ л/добу} = 0{,}275 \text{ м}^3\text{/добу} \quad (5.2.3)$$

Під час росту мікроорганізмів 7-10% об'єму – втрати, важливо враховувати коефіцієнт втрат, який рівний – 0,9. Коефіцієнт заповнення – 0,6. Дізнаємось робочий об'єм ферментеру:

$$V_{\text{р}} = V_{\text{ф}} \cdot 0{,}9 \cdot 0{,}7 = 16 \cdot 0{,}9 \cdot 0{,}6 = 8{,}64 \text{ м}^3 \quad (5.2.4)$$

Визначаємо кількість виробничих процесів на добу:

$$n = \frac{m_{\text{бм}}}{V_{\text{р}}} = \frac{275}{8{,}64} = 32 \quad (5.2.5)$$

Необхідна кількість поживного середовища на добу:

$$m_{\text{п.с}} = \frac{8{,}03}{0{,}08} = 100 \text{ м}^3\text{/добу} \quad (5.2.6)$$

Поживні речовини у поживному середовищі – 5%.

Необхідна кількість посівного матеріалу на добу:

$$m_{\text{п.м}} = m_{\text{п.с}} \cdot 0{,}1 = 100 \cdot 0{,}1 = 10 \text{ м}^3\text{/добу} \quad (5.2.7)$$

Необхідна кількість поживних речовин:

$$m_{\text{п.р}} = m_{\text{п.с}} \cdot 0{,}005 = 100 \cdot 0{,}005 = 0{,}5 \text{ м}^3\text{/добу} \quad (5.2.8)$$

Необхідна кількість розчину поживного середовища:

$$m_{\text{р-ну}} = m_{\text{п.с}} - m_{\text{п.м}} - m_{\text{п.р}} = 100 - 10 - 0{,}5 = 89{,}5 \text{ м}^3\text{\добу} \quad (5.2.9)$$

Максимальна кількість робочих годин виробництва на рік складає:

$$\tau = 365 \cdot 24 = 8760 \text{ год} \quad (5.2.10)$$

Кількість ферментерів на підприємстві [33]:

$$N = \frac{m_{\text{п.с}} \cdot 29}{V_{\text{р}} \cdot 8760} = \frac{100 \cdot 29}{8{,}64 \cdot 24} = 14 \quad (5.2.11)$$

5.3. Конструкційний розрахунок апарату

Вихідні дані:

Температура в апараті: $t_c = 28\ ^oC$

Холодний теплоносій - вода.

Загальний об'єм апарату: $V_н = 16\ м^3$

Коефіцієнт заповнення: k = 0,6

Тривалість культивування: $\tau = 14\ год$

Температура поживного середовища: $t = 28^o\ C$

Номінальний об'єм апарату складає 16 м^3. Стандартний діаметр згідно ГОСТ 9931-85 складає 2 400 мм. Виходячи з діаметру апарату визначимо конструктивні розміри еліптичного днища. Висота еліптичної частини днища:

$$h_{ел} = 0,25 D_{вн} = 0,25 \cdot 2,4 = 0,6 \text{ м}. \quad (5.3.1)$$

Оскільки еліптичні днища є стандартними виробами, то за ГОСТ 6533 - 78 «Днища элиптические отбортованные стальные для сосудов, аппаратов и котлов, Основные размеры» знаходимо решту конструктивних розмірів днища апарату:

- h_1= 80 мм – висота основи еліптичного днища;
- $F_{внд}$ = 6,85 м^2 – внутрішня поверхня еліптичного днища;
- $V_{дн}$ = 2163,1 дм^3 – об'єм еліптичного днища;
- $s_д$ = 16 мм – товщина стінки еліптичного днища.

Внутрішній діаметр апарата приймаємо за ГОСТ 20680-2002 «Аппараты с механическими перемешивающими устройствами, Общие технические условия»

Повна висота еліптичного днища:

$$h_{дн} = h_1 + h_н = 0,08 + 0,6 = 0,68 \text{ м}. \quad (5.3.2)$$

Об'єм циліндричної частини апарату:

$$V_ц = V_п - 2V_{дн} = 16 - 2 \cdot 2,163 = 11,67 \text{ м}^3. \quad (5.3.3)$$

Робочий об'єм апарату:

$$V_р = V_ф \cdot K_з = 16 \cdot 0,6 = 9,6 \text{ м}^3 \quad (5.3.4)$$

Висота циліндричної частини:

$$H_ц = \frac{4 \cdot V_ц}{\pi \cdot D^2} = \frac{4 \cdot 11,67}{3,14 \cdot 2,4^2} = 2,58 = 2,6 \text{ м} \quad (5.3.5)$$

Висота рівня рідини в циліндричній частині:

$$H_{\text{рц}} = \frac{4 \cdot K_{\text{з}} \cdot V_{\text{ц}}}{\pi \cdot D^2} = \frac{4 \cdot 0{,}6 \cdot 11{,}67}{3{,}14 \cdot 2{,}4^2} = 1{,}55 \text{ м} \quad (5.3.6)$$

Висота стовпа рідини в апараті:

$$H_{р} = H_{рц} + h_{дн} = 1{,}55 + 0{,}68 = 2{,}23 \text{ м} \quad (5.3.7)$$

Загальна висота апарату без штуцерів, без опор складає:

$$H_{заг} = H_{ц} + 2 \cdot h_{дн} = 2{,}58 + 2 \cdot 0{,}68 = 3{,}94 \text{ м} \quad (5.3.8)$$

Знайдемо площу перерізу ферментеру по внутрішньому діаметру:

$$F = 0{,}785 \cdot D^2 = 0{,}785 \cdot 2{,}4^2 = 4{,}5 \text{ м}^2 \quad (5.3.9)$$

Завданням стадії розмноження біомаси в посівному ферментері є нарощування продуктивної маси мікроскопічних грибів, виконуючі усі вимоги до умов культивування: pH, температура, аерація, перемішування – для запобігання утворення плівки на поверхні культуральної рідини, освітлення. Отже, важливим є обладнання апарату перемішуючими та аераційними пристроями [34].

5.4. Розрахунок перемішуючого пристрою

Для перемішування посівного матеріалу обираємо турбінну мішалку.

Діаметр турбінної мішалки визначається з формули:

$$d_M = (0,2 - 0,3)D = (0,2 - 0,3) \cdot 2\,400 = 480 - 720 \text{ мм}. \quad (5.4.1)$$

Приймаємо стандартну турбінну мішалку діаметром 500 мм. Розрахований діаметр мішалки відповідає стандартному значенню діаметра мішалки за ГОСТ 20680-75 «Аппараты с механическими перемешивающими устройствами, Общие технические условия».

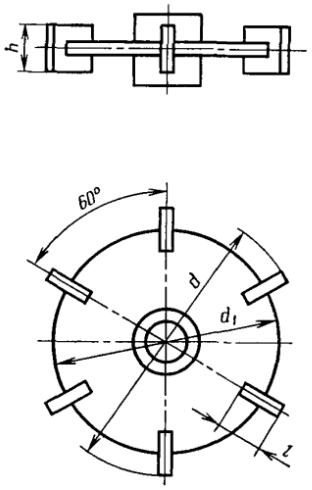


Рис.5.4.1. Ескіз турбінної мішалки за ГОСТ 20680-75, де *h=0,2d; d_1=0,75d; l=0,25d.*

Висота мішалки:

$$h_Л = 0,2 \cdot d_м = 0,2 \cdot 500 = 100 \text{ мм} \quad (5.4.2)$$

Ширина лопаті:

$$l_Л = 0,25 \cdot d_М = 0,25 \cdot 500 = 125 \text{ мм} \quad (5.4.3)$$

Висота від днища до мішалки:

$$h = 0,5 \cdot d_м = 0,5 \cdot 500 = 250 \text{ мм} \quad (5.4.4)$$

Висота прикріплення мішалки:

$$h = d_м \cdot 0,6 = 800 \cdot 0,6 = 300 \text{ мм} \quad (5.4.5)$$

Ширина перегородки:

$$b = 0,1 \cdot d_м = 0,1 \cdot 800 = 50 \text{ мм} \quad (5.4.6)$$

Окружна швидкість пристрою:

$$\text{w} = 2,5 \div 10 \ \frac{\text{м}}{\text{с}} \quad (5.4.7)$$

Приймемо w = 4 $\frac{\text{м}}{\text{с}}$;

Частота обертання мішалки:

$$\text{n} = \frac{w}{\pi d_\text{м}} = \frac{4}{3,14 \cdot 0,5} = 2,54 \text{ с}^{-1} \quad (5.4.8)$$

Діаметр вала мішалки:

$$d_\text{в} = \text{C} \cdot d_\text{м} = 0,117 \cdot 500 = 58,5 \text{ мм} \quad (5.4.9)$$

Для турбінної мішалки приймаємо С = 0,117.

5.4.1. Розрахунок потужності, що витрачаються при перемішуванні

Потужність подолання тертя у торцевому ущільненні:

$$N_{\text{ущ}} = 6020 \cdot d_{\text{в}}^{1,3} = 6020 \cdot 0{,}0585^{1,3} = 150{,}28 \text{ Вт} \qquad (5.4.1.1)$$

Розраховуємо потужність для перемішування:

$$N_n = K_N \cdot \rho \cdot n^3 \cdot d_{\text{м}}^3 = 6 \cdot 1034{,}4 \cdot 2{,}54^3 \cdot 0{,}5^3 = 12\,713 \text{ Вт} \qquad (5.4.1.2)$$

де $\rho = 1034{,}4$ – густина культурального середовища

$K_N = 6$ – критерій потужності для турбінної мішалки.

Коефіцієнт висоти рівня рідини $k_n = 1{,}05$, потужність електродвигуна:

$$N = \frac{k_n \cdot k_{\text{в}} \cdot N_n + N_{\text{ущ}}}{\eta} = \frac{1{,}05 \cdot 1 \cdot 12\,713 + 150{,}28}{0{,}9} = 14\,998{,}8 \text{ Вт}$$

$$= 14{,}9 \text{ кВт} \qquad (5.4.1.3)$$

$k_{\text{в}} = 1$ – коефіцієнт, який враховує наявність внутрішніх пристроїв у апараті з перегородками [35].

5.5. Розрахунок аераційного пристрою - барботеру

Діаметр на якому розміщені отвори в барботері:

$$D_O = (0,\ 75 - 1) \cdot d_M = 0{,}8 \cdot 500 = 400 \text{ мм} \qquad (5.5.1)$$

Відстань від мішалки до барботеру:

$$h_C = 0,\ 25 \cdot d_M = 0,\ 25 \cdot 500 = 125 \text{ мм} \qquad (5.5.2)$$

На 1 л культуральної рідини витрата повітря становить 60 м^3/год. На одиницю об'єму культуральної рідини в апараті за 1 хв витрачається в половину менше об'єму повітря. Отже, на робочий об'єм 9,6 м^3 витрати повітря складають: $V_г = 4{,}8$ м^3/хв = 288 м^3/год.

Діаметр барботеру:

$$D_0 = 0{,}5 \div 0{,}75 \qquad (5.5.3)$$

$$D_б = 2{,}8 \cdot D_0 = 2{,}8 \cdot 0{,}5 = 1{,}4 \text{ м} \qquad (5.5.4)$$

Діаметр отворів барботеру:

$$d_o = 5 \text{ мм} = 0{,}005 \text{ м} \qquad (5.5.5)$$

Швидкість повітря в отворах w_0 = 40 м/с, кількість отворів у барботері:

$$z = \frac{4 \cdot V_г}{w_0 \cdot d_м \cdot \pi \cdot d_0^2} = \frac{4 \cdot 288}{40 \cdot 2\ 400 \cdot 3{,}14 \cdot 0{,}005^2} = 153 \text{ отв.} \quad (5.5.6)$$

Кількість отворів в одному ряду:

$$z_1 = \frac{\pi \cdot D_б}{t} = \frac{3{,}14 \cdot 1400}{25} = 176 \text{ отв.} \quad (5.5.7)$$

t = 25 мм – крок між отворами.

Кількість рядів:

$$n = \frac{z}{z_1} = \frac{153}{179} = 0{,}85 = 1 \text{ ряд} \quad (5.5.8)$$

Сумарна площа поперечного перерізу отворів барботера [36]:

$$S_{отв} = \frac{\pi}{4} d_0^2 \cdot z_{отв} = \frac{3{,}14}{4} \cdot 0{,}005^2 \cdot 153 = 0{,}003 \text{ м}^2 \quad (5.5.9)$$

5.6. Тепловий розрахунок

В проєкті описані умови культивування грибів, на які може згубно вплинути зміна температури, тому важливо установлювати охолоджуючі та нагріваючі пристрої. Мета теплового розрахунку - визначення теплового навантаження та поверхні теплообміну теплообмінних пристроїв апарату. Теплоносій – вода, охолоджуючий/нагріваючий пристрій – сорочка ферментера.

Надходження енергії в апарат для вирощування посівного матеріалу відбувається [37]:

1) від поживного середовища

$$E_{пс} = M_с \cdot C_с \cdot t_с = \rho_с \cdot V_р \cdot 0{,}9 \cdot C_с \cdot t_с = 1\ 034{,}4 \cdot 9{,}6 \cdot 0{,}9 \cdot 3\ 954{,}25 \cdot 28 = 989{,}5 \text{ МДж} \quad (5.6.1)$$

$\rho_с$=1 034,4 кг/м^3 – густина середовища,

$V_р = 9{,}6$ м^3 –робочий об'єм апарата,

$C_с = 3954{,}25 \frac{\text{Дж·кг}}{\text{К}}$ – питома теплопровідність середовища,

$t_с = 28$℃ –температура середовища.

2) від посівного матеріалу

$$E_{\text{пм}} = M_{\text{пм}} \cdot C_{\text{пм}} \cdot t_{\text{пм}} = \rho_{\text{пм}} \cdot V_{\text{р}} \cdot 0{,}1 \cdot C_{\text{пм}} \cdot t_{\text{пм}} = 1\,034{,}4 \cdot 9{,}6 \cdot 0{,}1 \cdot 3\,954{,}25 \cdot 28 = 109{,}94 \text{ МДж} \quad (5.6.2)$$

$\rho_{\text{пм}}$=1 034,4 кг/м^3 – густина посівного матеріалу,

$C_{\text{пм}} = 3\,954{,}25\ \frac{\text{Дж·кг}}{\text{К}}$ – питома теплопровідність посівного матеріалу,

$t_{\text{пм}} = 28℃$ –температура посівного матеріалу.

3) від повітря

$$E_{\text{пов1}} = M_{\text{пов}} \cdot C_{\text{пов}} \cdot t_{\text{пов}} = \rho_{\text{пов}} \cdot V_{\text{г}} \cdot \tau_{\text{пр}} \cdot C_{\text{пов}} \cdot t_{\text{пов}} = 1{,}22 \cdot 0{,}08 \cdot 172\,800 \cdot 1\,005 \cdot 28 = 474{,}58 \text{ МДж} \quad (5.6.3)$$

$\rho_{\text{пов}}$=1,22 кг/м^3 – густина повітря,

$C_{\text{пов}} = 1\,005\ \frac{\text{Дж·кг}}{\text{К}}$ – питома теплопровідність повітря,

$t_{\text{пов}} = 28℃$ –температура повітря,

$V_{\text{г}} = 4{,}8 \frac{\text{м3}}{\text{хв}} = 0{,}08 \frac{\text{м3}}{\text{с}}$ – витрати повітря,

$\tau_{\text{пр}} = 48 \text{ год} = 172\,800 \text{ с}$ –тривалість культивування.

4) теплота, що виділяється в результаті дисипації механічної енергії від перемішуючих пристроїв

$$E_{\text{дис1}} = N_n \cdot \tau_{\text{пр}} = 12\,713 \cdot 172\,800 = 2196{,}8 \text{ МДж} \quad (5.6.4)$$

$N_n = 12\,713$ Вт –потужність для перемішування.

5) теплота, що виділяється в результаті дисипації механічної енергії від повітря

$$E_{\text{дис2}} = V_{\text{г}} \cdot \Delta p \cdot \tau_{\text{пр}} = V_{\text{г}} \cdot \rho_{\text{с}} \cdot g \cdot H_{\text{р}} \cdot \tau_{\text{пр}} = 0{,}08 \cdot 1\,034{,}4 \cdot 9{,}81 \cdot 2{,}23 \cdot 172\,800 = 312{,}8 \text{ МДж} \quad (5.6.5)$$

Сумарна кількість надходжень теплоти у ферментер:

$$\sum E_{\text{надх}} = E_{\text{пс}} + E_{\text{пм}} + E_{\text{пов1}} + E_{\text{дис1}} + E_{\text{дис2}} \quad (5.6.6)$$

$$\sum E_{\text{надх}} = 989{,}5 + 109{,}94 + 474{,}58 + 2\,196{,}8 + 312{,}8 = 4\,083{,}62 \text{ МДж}$$

Витрати теплової енергії:

1) від культуральної рідини

$$E_{\text{к}} = M_{\text{к}} \cdot C_{\text{к}} \cdot t_{\text{к}} = \rho_{\text{к}} \cdot V_{\text{р}} \cdot C_{\text{к}} \cdot t_{\text{к}} = 1\,085{,}1 \cdot 9{,}6 \cdot 4\,050 \cdot 28 = \\ = 1\,181{,}28 \text{ МДж} \quad (5.6.7)$$

$\rho_{\text{к}} = 1085{,}1$ кг/м^3 – густина культуральної рідини,

$C_{\text{к}} = 4050 \ \frac{\text{Дж·кг}}{\text{К}}$ – питома теплопровідність культуральної рідини,

2) від повітря

$$E_{\text{пов2}} = M_{\text{пов}} \cdot C_{\text{пов}} \cdot t_{\text{с}} = \rho_{\text{пов}} \cdot V_{\text{г}} \cdot \tau_{\text{пр}} \cdot C_{\text{пов}} \cdot t_{\text{с}} = 1{,}22 \cdot 0{,}08 \cdot 172\,800 \cdot \\ 1\,005 \cdot 28 = 474{,}58 \text{ МДж} \quad (5.6.8)$$

3) втрати теплоти в навколишнє середовище при нагріванні

$$E_{\text{втр}} = 0{,}02 \cdot (E_{\text{к}} + E_{\text{пов2}}) = 0{,}02 \cdot (1\,181{,}28 \ + 474{,}58) = \\ = 33 \text{ Дж} \quad (5.6.9)$$

Сумарні витрати становлять:

$$\sum E_{\text{витрат}} = E_{\text{к}} + E_{\text{пов2}} + E_{\text{втр}} = 1\,181{,}28 + 474{,}58 + 0{,}00033 = \\ 1\,655{,}86 \text{ МДж} \quad (5.6.10)$$

Теплове навантаження у ферментері становить:

$$E_{\text{т}} = \sum E_{\text{витрат}} - \sum E_{\text{надх}} = 4\,083{,}62 - 1\,655{,}86 = \\ = 2\,427{,}76 \text{ МДж} \quad (5.6.11)$$

$$Q < |E_{\text{т}}| \quad (5.6.12)$$

Потреба в охолодженні апарату відсутня.

Для визначення поверхні теплообміну необхідно знайти коефіцієнт тепловіддачі від теплоносія у сорочці та від середовища у посівному апараті та коефіцієнт теплопередачі.

Критерій Нуссельта визначаємо з критеріального рівняння:

$$Nu_c = 1{,}35 Re_c^{0{,}59} \cdot Pr_c^{0{,}38} \left(\frac{\mu_c}{\mu_{\text{ст}}}\right)^{0{,}14} \quad (5.6.13)$$

Приймемо $\mu_c = \mu_{\text{ст}}$.

Критерій Рейнольдса:

$$Re_{\text{с}} = \frac{d_{\text{м}}}{v_{\text{с}}} (n d_{\text{м}} + 4 W_{\text{г}}) \quad (5.6.14)$$

$v_{\text{с}} = 8{,}6 \cdot 10^{-8}\,\frac{\text{м}^2}{\text{с}}$ −коефіцієнт кінематичної в'язкості середовища.

$$W_{\text{г}} = \frac{4V_{\text{Г}}}{\pi D^2} = \frac{4 \cdot 0{,}08}{3{,}14 \cdot 2{,}4^2} = 0{,}017 \text{ м\с} \qquad (5.6.15)$$

Тоді:

$$Re_{\text{с}} = \frac{0{,}5}{8{,}6 \cdot 10^{-8}}(2{,}54 \cdot 0{,}5 + 4 \cdot 0{,}017) = \frac{0{,}669}{8{,}6 \cdot 10^{-8}} = 0{,}77 \cdot 10^7$$

Критерій Прандтля:

$$Pr_{\text{с}} = \frac{\mu_{\text{с}} \cdot c_{\text{с}}}{\lambda_{\text{с}}} = \frac{0{,}88 \cdot 10^{-5} \cdot 3954{,}25}{0{,}5845} = 0{,}059 \qquad (5.6.16)$$

$\lambda_{\text{с}} = 0{,}5845\,\frac{\text{Вт}}{\text{м·К}}$ −коефіцієнт теплопровідності

$\mu_{\text{с}} = 0{,}88 \cdot 10^{-5}\text{Па} \cdot \text{с}$ −кофіцієнт динамічної в'язкості

$c_{\text{с}} = 3954{,}25\ \frac{\text{Дж·кг}}{\text{К}}$ −питома теплопровідність.

Отже:

$$Nu_c = 1{,}35 \cdot (0{,}77 \cdot 10^7)^{0{,}59} \cdot 0{,}059^{0{,}38} \left(\frac{0{,}88 \cdot 10^{-5}}{0{,}88 \cdot 10^{-5}}\right)^{0{,}14} = 5\,324{,}6$$

Коефіцієнт тепловіддачі від культуральної рідини у ферментері становить:

$$\alpha_{\text{с}} = \frac{Nu_{\text{с}} \cdot \lambda_{\text{с}}}{D} = \frac{5\,324{,}6 \cdot 0{,}5845}{2{,}4} = 1296{,}76\,\frac{\text{Вт}}{\text{м}^2\text{·К}} \qquad (5.6.17)$$

Коефіцієнт тепловіддачі від стінки апарату до води:

$$\alpha_{\text{т}} = \frac{Nu_2 \cdot \lambda}{H_{\text{р}}} \qquad (5.6.18)$$

$$\text{де} \quad Nu_2 = C \cdot (Gr \cdot Pr)^a \quad , \qquad (5.6.19)$$

$$(Gr \cdot Pr) = H_{\text{руб}}^3 \left(t_{\text{ст}} - \theta_{\text{ср}}\right) \cdot B = 2{,}23^3 (28 - 20) \cdot 24{,}125 \cdot 10^9 =$$

$$= 2{,}14 \cdot 10^{12} \qquad (5.6.20)$$

Приймаємо $H_{\text{руб}} = H_{\text{р}} = 2{,}23$ м.

Висоту рубашки приймаємо рівній висоті рівня рідини [34]. Оскільки добуток $Gr \cdot Pr > 10^9$, то коефіцієнти мають такі значення: C = 0,15, a = 0,33:

$$Nu_2 = 0{,}15 \cdot (2{,}14 \cdot 10^{12})^{0{,}33} = 1\,758{,}44$$

$$\alpha_{\text{т}} = \frac{1\,758{,}44 \cdot 0{,}609}{2{,}23} = 480{,}22\,\frac{\text{Вт}}{\text{м}^2 \cdot \text{К}}$$

Коефіцієнт теплопередачі становить:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_C} + \frac{\delta_{\text{ст}}}{\lambda_{\text{ст}}} + \frac{1}{\alpha_{\text{т}}}} \qquad (5.6.21)$$

де $\lambda_{\text{ст}} = 16\ \frac{\text{Вт}}{\text{м·К}}$ – теплопровідність стінки,

$$K = \frac{1}{\frac{1}{1296{,}76} + \frac{0{,}01}{16} + \frac{1}{480{,}22}} = 287{,}57\,\frac{\text{Вт}}{\text{м}^2 \cdot \text{К}}$$

Розрахункова поверхня теплообміну:

$$F = \frac{Q}{K \cdot \Delta t_{\text{ср}} \cdot \tau_{\text{пр}}} = \frac{2\,427{,}76 \cdot 10^6}{287{,}57 \cdot 10 \cdot 172\,800} = 4{,}88\ \text{м}^2 \qquad (5.6.22)$$

Розрахована площа теплообміну має бути меншою за дійсну площу, яку забезпечує даний теплообмінник [36].

$$F < F_{\text{д}}$$

$$F_{\text{д}} = \pi D H_{\text{с}} = 3{,}14 \cdot 2{,}4 \cdot 1{,}55 = 11{,}68\ \text{м}^2 \qquad (5.6.23)$$

$$H_{\text{с}} = H_{\text{р}} - h_{\text{дн}} = 2{,}23 - 0{,}68 = 1{,}55 \qquad (5.6.24)$$

5.7. Вибір загальнозаводського обладнання

Для механізації, відкачування відпрацьованої води та виключення ручної роботи у виробництві застосовують відцентрові, горизонтальні, консольні насоси типу К20/30 з потужністю 4 кВт, 3 000 об/хв. Максимальна продуктивність близько 5,5 кВт.

Насос К20/30 – промисловий, центробіжний, консольного типу, використовується для перекачування чистої технічної води з температурою до 85 °С. Габаритні розміри: 466х305х305мм. Матеріал корпусу – чавун СЧ20, вал – сталь. Подача — 20 м³/год, напір – 30 м. Комплектується електродвигуном 4-5,5 кВт/3000 об. хв. Застосовується в системах промислового, комунального водопостачання сільському господарстві.

Для точного дозування сировини використовуються об’ємно-вагові дозатори типу ДОП-5 000.

Для подачі солей в середовище використовують горизонтальний відцентровий насос МВ 120, подача - 25 $м^3$/год, призначений для перекачування рідин, що містять тверді і нерозчинні частини до 6 мм.

РОЗДІЛ 6. АВТОМАТИЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА БІОПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ *TRICHODERMA SP.*

Для модернізації стадії виробництва передбачається складання схеми автоматизації, що забезпечує підвищення ефективності та надійності виробництва. Автоматизація забезпечує технологічну лінію приладами контролю обладнання, контролю показників культивування та підвищує загальну безпеку функціонування виробництва.

Схема автоматизації відтворена на кресленні формату А1.

6.1. Опис технологічного процесу: культивування мікроміцетів

Культивування *Trichoderma sp.* відбувається в періодичному режимі з підкормкою та періодичним освітленням. Вирощування посівного матеріалу відбувається у ферментері 16 м^3. Посівний матеріал стерильно переносять з колб 750 мл у посівний ферментер так, щоб поживне середовище займало 60% ферментеру, а посівний матеріал 0,1% від середовища. Нарощування біомаси проводять 2 доби, через кожні 10 годин систематично вмикаючи освітлення темно-синього спектру.

Ферментер обладнаний барботером та мішалкою, процес проходить в аеробних умовах при 28°С, pH = 4. Після закінчення стадії нарощування посівного матеріалу, біомаса стерильно переноситься в культуральний ферментер об’ємом 100 м^3. Після вивільнення біомаси у посівний ферментер знову подіється поживне середовище і посівний матеріал.

Важливі місця контролю:

— Подача об’єму (витрата) поживного середовища – важливо для підтримки співвідношень;

— Подача об’єму посівного матеріалу;

— Час культивування;

— Освітлення – покращення умов культивування;

— Аерація – для забезпечення аеробного процесу;

— Рівень рідини в апараті – мікроскопічні гриби мають змогу утворювати колонії на поверхні поживного середовища та збільшувати рівень, що негативно впливає на процес;

— Герметичність комунікацій – сировина подається через комунікації під тиском, тому важливо підтримувати стерильність і герметичність для уникнення потрапляння сторонньої мікрофлори;

— Температура середовища – відповідність оптимумів для успішного нарощування грибів;

— pH культуральної рідини – важливий параметр для життєдіяльності мікроскопічних грибів;

— Зміна параметрів – в разі змін в системі спрацьовує система сигналів, що відображається на щиті та повідомляє робочих про неполадки.

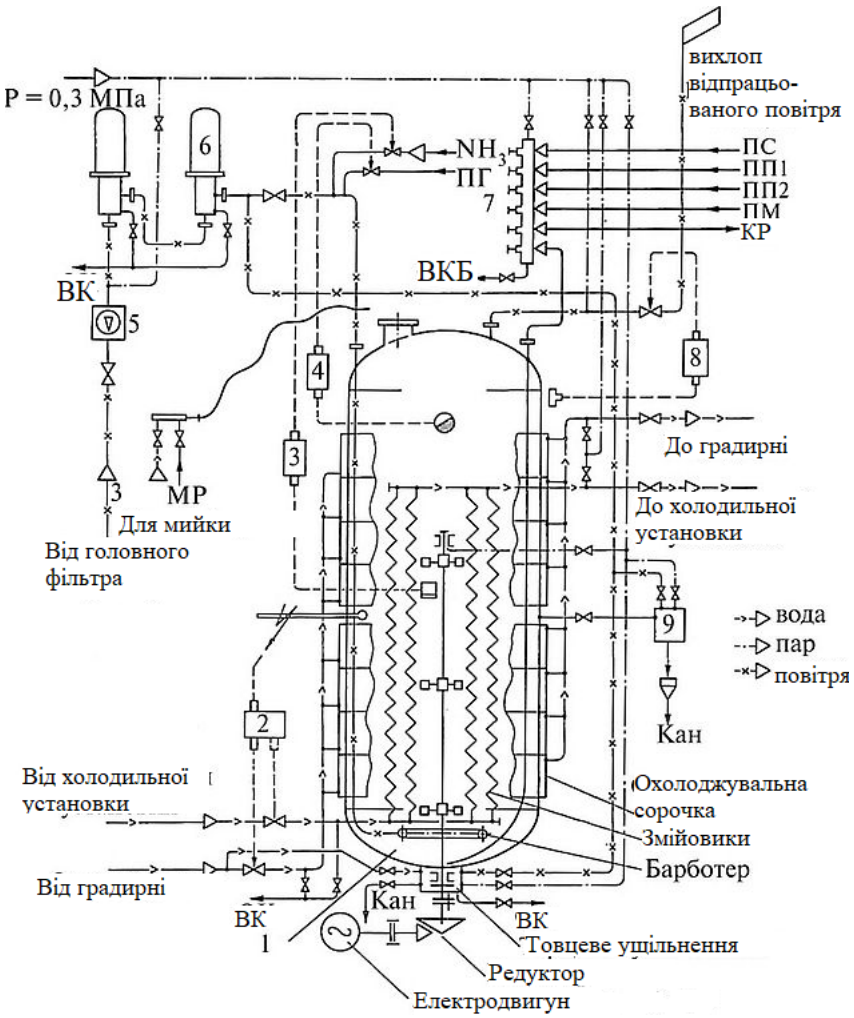


Рис.6.1.1. Типова обв'язка виробничого ферментера: 1 – ферментер, 2 – система регулювання температури, 3 – система регулювання pH, 4 – система регулювання подачі піногасника, 5 – система контрою витрати повітря, 6 – фільтр повітря, 7 – багатокорпусний вентиль, 8 – система регулювання тиску в апараті, 9 – пробовідбірник. Умовні позначення: ВК – відвід конденсату, ПГ – піногасник, ВКБ – відвід конденсату брудного, Кан – скид в каналізацію, МР – миючий розчин, КР – культуральна рідина, ПС – поживне середовище, ПП – підживлення, ПМ – посівний матеріал [38].

На підприємствах при автоматизації встановлюють програмні забезпечення контрольних систем, де відображається мнемосхема виробничої ділянки. До основних функцій відносять: автоматичне дозування інгредієнтів, підтримку параметрів, стеження за точністю дозування, контроль і реєстрація стану обладнання, ведіння архіву параметрів і подій, аварійна і

попереджувальна сигналізація. Сигналізація аварійна, зазвичай, у вигляді звуку та світла, а попереджувальна у вигляді миготливих сигналів на щиті.

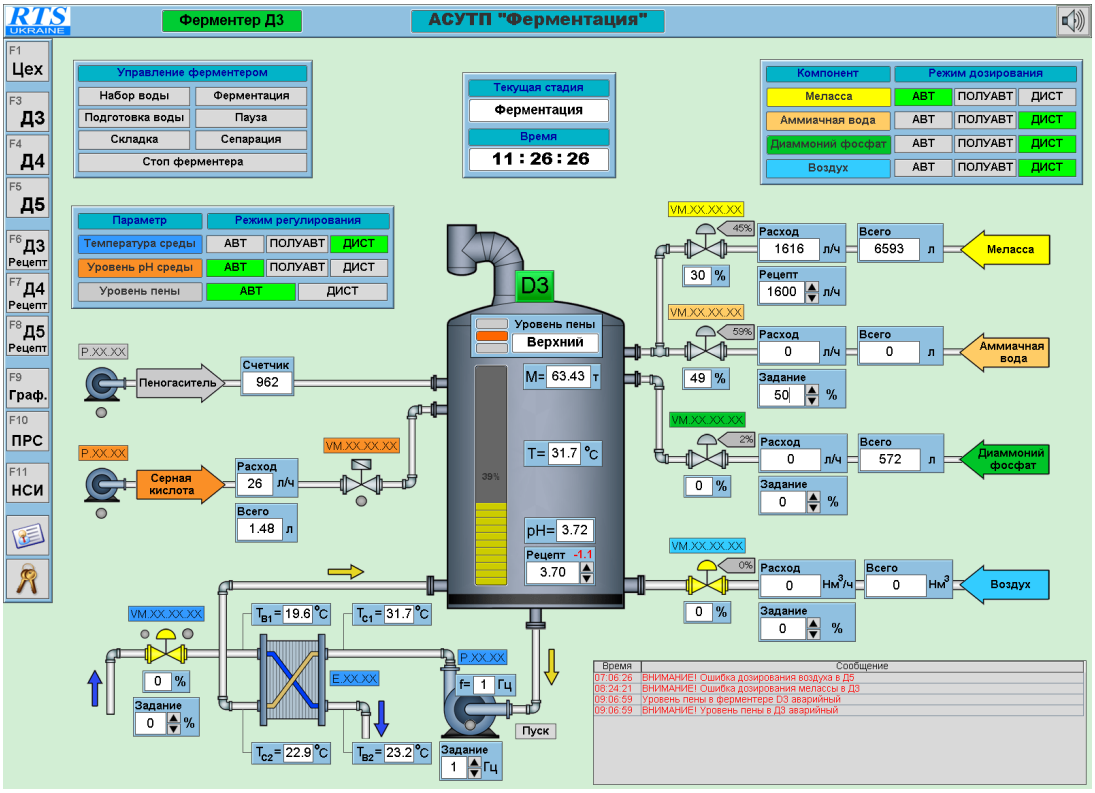


Рис.6.1.2. Приклад відображення автоматизованої системи на екрані ПЗ SCADA/Softlogic S3 [39].

6.2. Основні рішення щодо автоматизації

Приймаємо рішення щодо облаштування системи автоматизації: контроль, регулювання, сигналізація, дистанційне управління, формування специфікації.

6.2.1. Технологічний контроль

До технологічного контролю відносимо: контроль температури ферментації, pH, тиску, рівня рідини, витрат поживного середовища та посівного матеріалу.

→ Контроль температури у ферментерах здійснюється за допомогою термоперетворювачі опору ТСМ-1088, для відтворення показників температури встановлюється реєстратор температур РМТ-49Д, для здійснення

відповідності заданої температури з пристрою ЗУ-50 з наявною встановлюється регулятор МІК-21. При невідповідності температур спрацьовує пристрій пускання охолодженої рідини ПБР-3.

→ Контроль pH середовища здійснюється за допомогою pH-метра (pH-150 МП), що стерелізується, вставленого в бічний борт інокулятора. Сигнал перетворюється у електричний за допомогою П-201 і відтворюється на реєстраторі РМТ-49Д.

→ Контроль тиску здійснюється манометром МЦ-1-10, показник якого відображається МТС-711.

→ Контроль рівня рідини здійснюється буйковим пневматичним рівнеміром УБ-ПА, сигнал якого перетворюється УРМ-10А-2.

→ Витрати поживного середовища та посівного матеріалу контролюються у вхідному трубопроводі, а витрати культуральної рідини у вихідному. Контроль здійснюється за допомогою вимірювальної діафрагми ДКС-50, перетворювача різниць тисків Сапфір-22д, реєстрація сигналу проходить на РМТ-39АМ-6.

6.2.2. Автоматичне регулювання

Автоматичне регулювання здійснюється за допомогою пускача ПБР-3: подача поживного середовища, посівного матеріалу та випуск культуральної рідини.

Пускач ПБР-3 також реагує на температуру культуральної рідини та здійснює передачу сигналу на охолодження при потребі.

Для регулювання освітлення та електричного навантаження використовується реле циклічного включення ERV-09.

6.2.3. Технологічна сигналізація

Для інформування апаратника про здвиг системи потрібно облаштовувати апарат технологічною сигналізацією.

При подачі керуючих сигналів у системах автоматичного контролю або управління для включення аварійного миготливого світлового або звукового сигналу застосовується реле циклічного включення ERV-09.

До інцидентів у ферментері, які потребують сигналювання, відносять такі:

→ Невідповідність температури поживного середовища із заданими параметрами позначається сигналізаційними ліхтарями HL-1, HL-7.

→ Відхилення значення pH середовища – HL-3, HL-9.

→ Різниця тиску в комунікаціях – HL-5, HL-11.

→ Зміна рівня рідини - HL-13, HL-15.

→ Відхилення витрат поживного середовища, посівного матеріалу, культуральної рідини – HL-2, HL-17, HL-19.

6.2.4. Дистанційне керування виконавчими механізмами та двигунами

Для ручного управління окремими ділянками розробляється система дистанційного керування. Дистанційне керування – вручну здійснюється на щиті з пульта з такими параметрами:

→ Витрати теплоносія

→ Витрати води

→ Витрати миючого засобу.

З щита управління БРУ105 за допомогою пускача типу ПБР-2М активується прилад МЕО100/63-0,63, що подає сигнал вивантаження.

6.2.5. Специфікація засобів вимірювання та автоматизації

Таблиця 6.2.5.1. – Специфікація засобів автоматизації

Позиція	Шифр	Назва параметру,середовища, місце відбору сигналу	Граничне значення сигналу	Місце установки	Назва, характеристика	Тип моделі	Число за проєктом	Фактична кількість
1-2	TI	Температура	32-34	Місцево	Термоперетворювач опору	ТСМ-1088	2	2
1-3	TIRA	-	-	Щит	Реєстратор температури	РМТ-49Д	2	2
1-4	H		-	Щит	Пристрій цифрової індикації	ЗУ-50	2	2
13-1	TC	-	-	Щит	Регулятор мікропроцесорний, забезпечує цифрову сигналізації	МІК-21	2	2
13-1	NS	-	-	Щит	Пускач реверсивний	ПБР-3	5	5
3-2	QE	pH	3,9-4,2	Місцево	pH-метр	pH-150 МП	2	2
3-3	QT	-	-	Місцево	Перетворювач сигналу	П-201	2	2
5-2	PT	Тиск	0,9-1,2 атм	Місцево	Манометр	МЦ-1-10	2	2
5-3	PRA	-	-	Щит	Фіксувальний манометр	МТС-711	2	2
13-2	LE	Рівень рідини	60%	Місцево	Буйковий пневматичний рівнемір	УБ-ПА	2	2
13-3	LIA	-	-	Щит	Блок керування сигналом	УРМ-10А-2	2	2
7-4	FE	Витрати	-	Щит	Вимірювальна діафрагма	ДКС-50	3	3
9-3	FT	-	-	Місцево	Перетворювач різниць тисків	Сапфір-22д	3	3
11-3	FICA	-	-	Щит	Мікропроцесорний реєстратор сигналів	РМТ-39АМ-6	3	3
13-1	HKE	-	-	Місцево	Реле циклічного включення	ERV-09	2	2
13-1	HL	-	-	Щит	Індикатори сигналізації	HL-1, HL-7, HL-3, HL-9, HL-5, HL-11, HL-13, HL-15, HL-2, HL-17, HL-19	11	11
13-3	NS	-	-	Щит	Пускач	ПБР-2М	2	2

Висновок: наведена система автоматичного керування, яка дозволяє надійно і точно проводити контролю окремих етапів вирощування посівного матеріалу мікроскопічних грибів. Передбачене автоматичне регулювання температури, вхідної та вихідної сировини для забезпечення безперебійного функціонування виробництва. В разі перебою в системі регулювання надходить сигналізаційне сповіщення апаратника, що мінімалізує ризик виходу з ладу виробничої лінії.

Автоматичне керування та регулювання повністю або частково виключає втручання ручної роботи; враховуючи задані параметри запускає, вимикає обладнання, реєструє технічні умови та аналізує.

РОЗДІЛ 7. РОЗРОБКА СТАРТАП-ПРОЄКТУ

7.1. Резюме: конкретизація бізнес ідеї, мети стартапу, об'єкту дослідження, місця розробки в інноваційному ланцюжку цінності

Бізнес – ідея: Інноваційний біофунгіцид – добриво.

Продукт: Біопрепарат з асоціацією мікроскопічних грибів

Суб'єкт замовлення: Агрономічне підприємство

Об'єкт дослідження: Методика отримання біопрепарату

Мета розробки: Отримання економічної та екологічної вигоди в результаті отримання біопрепарату на основі мікроскопічних грибів та поширення на агрономічному ринку.

Асортимент комерційної продукції спочатку запровадження представляє біофунгіцид, проте при розширенні знань про метаболіти продуцентів можливе розширення сфери застосування.

Біофунгіцид – добриво – рідкий розчин з асоціацією мікроскопічних грибів.

Призначення препарату : лікування грибкових захворювань культурних рослин, оздоровлення рослин.

Механізм дії: при внесенні розчину до заражених рослин препарат володіє профілактично та лікувальною дією.

Обробка біопрепаратом дозволяє зберегти врожайність культурних рослин та забезпечити захист рослин від хвороб, разом з цим покращуючи поглинання корисних сполук рослинами.

Спосіб застосування: полив ґрунту розчином, обприскування пошкодженого листя рослин відповідно інструкції.

Продукт буде випускатися в рідкому стані вмістом $1 \cdot 10^9$ КУО/мл. Тара: 1 л.

Технологія: передбачає виконання допоміжних робіт (санітарна підготовка виробництва, персоналу, миття обладнання та комунікацій, підготовка води, стерилізація повітря, підготовка поживного середовища та посівного матеріалу), вирощування та розмноження посівного матеріалу, культивування мікроорганізмів, змішування та розлив готового продукту, сертифікація, маркування та пакування кінцевої продукції, утилізація та знешкодження відходів виробництва.

Персонал: 50 осіб.

Споживач: Агрохолдинги, фермерські підприємства вирощування культурних рослин, власники парників, розплідників рослин, фізичні особи.

Ринок збуту: вітчизняний ринок – Україна, експорт за кордон.

Конкурентні переваги: вітчизняний аналог хімічним пестицидам, що не шкодить довкіллю та виявляє стимулюючу та профілактичну дію.

Плановий випуск за рік: 547,5 тис. л/ рік.

Таблиця 7.1.1. – Резюме стартап-проєкту.

Показник	**Характеристика**
1. Сутність ідеї	Біопрепарат-фунгіцид
2. Наявність аналогів або прототипів ідеї	Існують аналоги з іншою продуктивністю та технологіями виробництва
3. Основна потреба, яку задовольнить реалізований стартап	Підвищення вихідної кількості продуцентів готової продукції
4. Ступінь розробленості технології реалізації	Етап впровадження – 80%
5. Класифікація продукту стартапу за міжнародною класифікацією товарів	Клас 5: Фунгіциди, гербіциди
6. КВЕД, до якого може належати дане виробництво	A. Сільське, рибне, лісове господарство: A01.1. Вирощування однорічних та дворічних культур рослин, A01.2. Вирощування багаторічних культур рослин,

	A01.6. Допоміжна діяльність у сільському господарстві та післяурожайна діяльність, A01.61. Допоміжна діяльність у рослинництві, A01.63. Післяурожайна діяльність, A01.64. Оброблення насіння, C. Переробна промисловість: C20.20. Виробництво пестицидів та іншої агрономічної продукції M. Професійна, наукова та технічна діяльність: M72.11. Дослідження й експериментальні розробки у сфері біотехнологій
7. Очікувана потужність стартапу	Середнє або велике підприємство
8. За масштабом виробництва	Серійне
9. За рівнем спеціалізації	Вузькопрофільне
10. За ресурсами, що споживатимуться	Праце-, матеріаломістке
11. За чисельністю персоналу	Середнє, велике
12. Органи управління при реалізації стартапу	Національні
13. Бажане географічне розташування: - потужностей стартапу; - офісу стартапу; - збутової мережі; - постачальників комплектуючих.	- Київська та прилеглі області - м. Київ, поряд з потужностями - Київська область - Київська та інші області України
14. Місце ідеї у ланцюжку цінностей інноваційного процесу	Етап експлуатації
15. Гранична корисність ідеї стартапу	Збереження врожайності культурних рослин
16. Бізнес – модель стартапу	B2B, B2C
17. Вітчизняні конкуренти	Конкуренти на стадії наявного виробництва з реалізованою продукцією: ІТІ «Біотехніка» м. Одеса, ТОВ ТОРГОВИЙ ДІМ «БТУ-Центр» Київська обл., ТОВ «ENZIM Agro» м. Ладижин, ТОВ «НВЦ Черкасибіозахист» м. Черкаси
18. Іноземні конкуренти	Інформація про конкурентів не виявлена

19. Ключові фактори успіху стартапу	Екологічність, економічність, якість технологічного процесу, склад
20. Споживачі (основні на етапі впровадження, орієнтовна чисельність)	Аграрний сектор, окремі фізичні особи
21. Планова кількість продукту розробки для першого етапу реалізації	70 л/добу
22. Мінімальна кількість виробництва за методом точки беззбитковості	976 од.
23. Споживачі на етапі розвитку	Аграрний сектор, окремі фізичні особи
24. Споживачі на етапі зрілості	Аграрний сектор, окремі фізичні особи
25. Конкурентна ціна на продукт стартапу	210 грн/л
26. Плановий рівень рентабельності при реалізації продукту	80-90%
27. Капіталовкладення в проєкт	7 000 000 грн
28. Період повернення капіталовкладень в проєкт	3 роки
29. Джерела фінансування	Національні, зовнішні
30. Основні компоненти продукції стартапу	Мікробна маса ~ 60 %, середовище – 30 % , тара – 10 %.
31. Потенційні постачальники складових компонентів розробки (вітчизняні і закордонні, плановий обсяг замовлень, наявна потужність постачальника)	ТОВ «ХІМЛАБОРРЕАКТИВ» - вітчизняний постачальник лабораторного обладнання та реактивів, ТОВ «ЮНІЛАБ» – постачальник лабораторного та виробничого обладнання Sentinain Technology Inc. – закордонний постачальник виробничого обладнання
32. Планове місце реалізації результату розробки	Київська область
33. Наявність посередників при реалізації	Залучення дистриб’юторів в разі експорту за кордон. Оплата – відсоток від продаж
34. Методи просування результатів розробки на ринок	Реклама

7.2. Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу

Зовнішнє середовище не повинно впливати на роботу підприємства, але створює певні загрози та можливості: політичні, географічні, демографічні, економічні, культурні, науково-технічні.

Таблиця 7.2.1. – Аналіз загроз і можливостей зовнішнього середовища.

Фактор	Загроза	Можливість
Економіка		
1. Скорочення робочих місць через пандемію	- зниження рівня продажів - скорочення виробництва - скорочення робочих місць через неспроможність виплачувати заробітні плати	- підвищення популярності в разі зниження ціни порівняно з конкурентами
2. Підвищення податків	- зменшення обсягу прибутку	- вирішення причини підвищення податків
3. Підвищення інфляції	- зниження значимості прибутку	- Розвиток експорту закордон для отримання прибутку
Політика		
1. Охорона довкілля на державному рівні	- ризик прискіпливого контролю над відходами виробництва	- позитивна позиція за рахунок впровадження екологічно безпечних пестицидів
2. Ринок землі	- урізання сільсько-господарських угідь	- підвищення попиту за рахунок привласнення землі та контроль її якості методом внесення екологічних добрив/пестицидів
Науково-технічний прогрес		
1. Застосування нових штамів	- непередбачувані мутації - конкуренція - не виконання бажаних функцій	- підвищення можливостей продукту - підвищення продуктивності препарату
2. Утворення відходів	- містять алергени та солі	- застосування в якості добрив

3. Модернізація процесів виробництва	- старіння технології на рівні конкурентів, що несе за собою зниження потужності	- пришвидшення роботи персоналу та збільшення випуску
Географія		
1. Локалізація потужностей за межами міста	- складність транспортування сировини - відстань між виробництвом та адміністрацією	- зближення із споживачем
Демографія		
1. Еміграція	- зменшення потенційної робочої сили	- впровадження автоматизації процесів
Культура		
1. Популяризація еко-товарів	- конкурентність	- ріст попиту
Екологія		
1. Зараження культур фітопатогенами	Не зацікавленість населення	Збереження чистоти ґрунту та мінімалізація токсичного впливу на тварин
2. Використання хімічних пестицидів	Неосвіченість	Охорона здоров’я та контроль якості продуктів

Таблиця 7.2.2. – Аналіз факторів зовнішнього оперативного середовища.

Фактор	**Переваги**	**Недоліки**
Постачальники		
1. Затримки постачання матеріалів/сировини	Зміна постачальників	Затримки випуску продукту
2. Підвищення вартості	Зміна постачальників	Підвищення собівартості продукту
Конкуренти		
1. Впровадження нових продуктів/ реклама	Розгляд недоліків аналогів та випуск оптимізованих товарів	Зниження попиту
2. Конкурентоспроможні аналоги	Пошук та оптимізація виробництва	Зниження прибутку
Споживачі		

1. Консервативні погляди	Можливість введення інформаційних конференцій	Недовіра потенційних споживачів

Таблиця 7.2.3. – Аналіз зацікавлених сторін.

Зацікавлена сторона	**Вплив на реалізацію проєкту**	**Цікавість до проєкту**	**Загальний коефіцієнт впливу на проєкт**
Суб'єкти зовнішнього оперативного середовища			
Виробник	10	10	1,0
Постачальник	10	3	0,3
Споживач	10	9	0,9
Посередник	9	6	0,54
Зовнішнє середовище			
Політичні структури	7	4	0,28
Суб'єкти економічного середовища	9	8	0,72
Власники географічних об'єктів	10	7	0,7
Суб'єкти демографії	9	5	0,45
Суб'єкти культурного середовища	4	3	0,12
Суб'єкти НТП	8	7	0,56

Таблиця 7.2.4. – Переваги і недоліки внутрішнього середовища.

Фактор	**Недоліки**	**Переваги**
Організаційна структура	- відстань між виробництвом та управлінням	+ раціональне розташування структур
Маркетинг	- високі витрати - вплив на вартість продукції	+ ефективність просування + якість продукції понад ціну
Виробництво	- небезпечні зони для працівників - вихід з ладу велико-габаритного обладнання	+ контроль якості + розширення виробництва + модернізація обладнання

Персонал	- бажання працювати в місті - неосвіченість	+ надання робочих місць для жителів передмістя + навчання персоналу під себе
Фінансування	- інфляція	+ доходи у стабільній валюті

7.3. Визначення ключових факторів успіху проєкту

Оцінка ключових факторів успіху ідеї, фактори, на які підприємство має змогу впливати самостійно, проводиться за методом Шонфільда.

Таблиця 7.3.1. – Оцінка характеристики за методом Шонфільда.

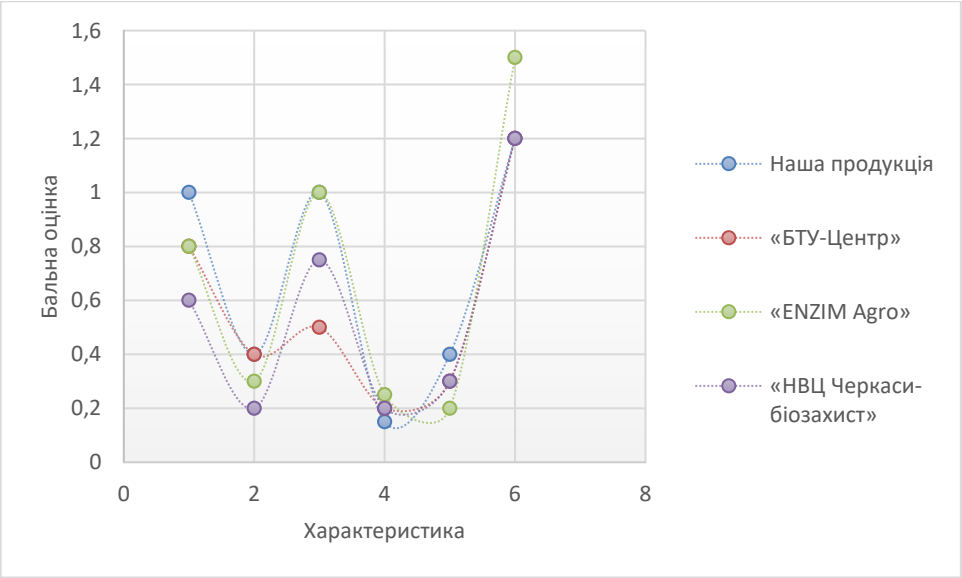
Характеристика	Коефіцієнт вагомості	Оцінка характеристик			
		Наша продукція	«БТУ-Центр»	«ENZIM Agro»	«НВЦ Черкаси-біозахист»
Ціна	0,2	5	4	4	3
Доступність	0,1	4	4	3	2
Ефективність	0,25	4	2	4	3
Дизайн	0,05	3	4	5	4
Пакування	0,1	4	3	2	3
Дотримання вимог НД	0,3	4	4	5	4

Таблиця 7.3.2. – Бальна оцінка характеристики за методом Шонфільда.

Характеристика	Бальна оцінка характеристик			
	Наша продукція	«БТУ-Центр»	«ENZIM Agro»	«НВЦ Черкаси-біозахист»
1. Ціна	5·0,2=1,0	4·0,2=0,8	4·0,2=0,8	3·0,2=0,6
2. Доступність	4·0,1=0,4	4·0,1=0,4	3·0,1=0,3	2·0,1=0,2
3. Ефективність	4·0,25=1,0	2·0,25=0,5	4·0,25=1,0	3·0,25=0,75
4. Дизайн	3·0,05=0,15	4·0,05=0,2	5·0,05=0,25	4·0,05=0,2
5. Пакування	4·0,1=0,4	3·0,1=0,3	2·0,1=0,2	3·0,1=0,3
6. Дотримання вимог НД	4·0,3=1,2	4·0,3=1,2	5·0,3=1,5	4·0,3=1,2

Опираючись на табличні значення будуємо порівняльний графік:

Рис.7.3.1. Порівняння конкурентних переваг підприємства з конкурентами.



Серед ключових факторів успіху ідеї визначено ефективність і дотримання вимог нормативних документів.

На основі аналізу факторів формуємо варіанти розвитку ідеї.

Таблиця 7.3.3. – Варіанти розвитку ідеї стартапу.

Варіант	Стислий опис можливого розвитку
1. Включення ідеї в наявне виробництво	Запровадження технологічної лінії виробництва біопрепарату в існуючому підприємстві, безпосередньо беручи участь у процесі
2. Власне виробництво	Формування підприємства з початку, пошук інвесторів, оренда приміщень, закупівля сировини та обладнання, відкриття ФОП

7.4. Визначення потенційних споживачів

На етапі впровадження ідеї важливим є оцінка потенційних споживачів для створення прогнозів ходу продаж.

Таблиця 7.4.1. – Класифікація потенційних споживачів.

Критерій	Значення
1. Юридична особа	
1. Форма власності	Приватне
2. КВЕД	А. Сільське, рибне, лісове господарство: А01.1. Вирощування однорічних та дворічних культур рослин,

	A01.2. Вирощування багаторічних культур рослин, A01.6. Допоміжна діяльність у сільському господарстві та післяурожайна діяльність, A01.61. Допоміжна діяльність у рослинництві, A01.63. Післяурожайна діяльність, A01.64. Оброблення насіння, C. Переробна промисловість: C20.20. Виробництво пестицидів та іншої агрономічної продукції M. Професійна, наукова та технічна діяльність: M72.11. Дослідження й експериментальні розробки у сфері біотехнологій
3. За потужністю	Середнє, велике
4. За масштабом виробництва	Серійне
5. За рівнем спеціалізації	Вузькопрофільне
6. За ресурсами, що споживаються	Праце-, матеріаломістке
7. За чисельністю персоналу	Середнє, велике
8. За сферою діяльності	Виробниче
9. За приналежністю капіталу і контролю	Національне
10. За географічним розташуванням	Київська область
11. За віддаленістю органів управління	Національне
12. За характером господарської діяльності	Сільськогосподарське
13. За рівнем технологічної цілісності	Провідне
14. За долею іноземного капіталу	Без іноземних інвестицій
15. За формуванням статутного капіталу	Унітарне
16. За організацією виробничих процесів	Періодичне
17. За роботою протягом року	Сезонне
18. За географічним розташуванням на території України	Київська область

19. За наявністю вільних ОбЗ	Велике, середнє
20. За динамікою розвитку регіону розташування юридичної особи: - Регіон - Чисельність населення - Динаміка росту регіону - Структура регіону - Правові обмеження торгівлі	 - Київська область - 1,781 млн. мешканців - висока динаміка - >25% структура сільського господарства - правових обмежень торгівлі не виявлено
2. Фізична особа	
1. Вік	В межах 18 - 85
2. За платоспроможністю	До 500 грн на придбання
3. За соціальним рівнем споживачів - Кількість майна - Рівень заробітної плати - Доступність ресурсів	 - задовільна - середній - відкритий доступ
4. За способом життя - фізичні показники - психологічні показники - емоційні показники - духовні критерії - соціальні критерії - інтелектуальні критерії	 - здоровий спосіб життя - психологічно здорові - емоційно стабільні - будь-які релігійні вподобання - соціально свідомі - освічені
5. Тип особистості споживачів	Реаліст
6. За ставленням до товару	Пошук вигоди
7. За сімейними цінностями - склад сім'ї - рівень сімейного доходу - етап циклу сім'ї - традиції	 - повна сім'я - від 30 тис. грн/міс. - зріла - екологічна свідомість
8. За співвідношенням бажання/ціна	30 000/ 260 грн
9. За інтенсивністю споживання товару	Систематичне, періодичне придбання
10. За інформативністю	- Спеціальні джерела - самоосвіта - ЗМІ

Ґрунтуючись на дослідженням потреб споживачів формуються основні групи потенційних клієнтів.

Таблиця 7.4.2. – Основні групи потенційних споживачів та їхні потреби.

Група споживачів	Потреби, які задовольняються Нашим продуктом
Агрохолдинги	Економічний та екологічний продукт
Фермерські підприємства	Економічний та екологічний продукт, не чинить токсичну дію на тварин
Фізичні особи	Економічний та екологічний продукт, простота використання
Відкорегована ідея стартап-проєкту	
Запровадження виробництва біопрепарату на підприємстві з початку, пошук інвесторів, оренда приміщень, закупівля сировини та обладнання, відкриття ФОП, отримання акредитації, формування технологічних карт, відкриття дослідних лабораторій, відкриття відділу контролю якості продукту, пошук потенційних споживачів, рекламування продукту.	

Для ідентифікації споживача складається Паспорт потенційного клієнта, який визначає вимоги, характеристику та потреби клієнта.

Таблиця 7.4.3. – Паспорт клієнта.

Характеристика	Значення	Примітка
Організаційно–правова форма	Товариство з обмеженою відповідальністю ТОВ	
Класифікація - за потужністю - за чисельністю персоналу - за обсягом виробництва - за сезонністю	 - середнє - мале, середнє - багатотонажне - сезонне	
Розташування	- місто - смт - село	
Вид продукту	Продукт для лікування рослин та стимуляція росту	
Призначення придбаної розробки	За призначенням	
Класифікація персоналу підприємства	- робочі – закінчена середня освіта, перший рівень вищої освіти	

	відповідної спеціальності - службовці – закінчена середня освіта - керівники – другий рівень вищої освіти, аспірантура відповідних спеціальностей	
Потенційний обсяг споживання розробки	Від 1 л	
Хто приймає рішення про придбання розробки	Керуючий	

Визначивши потенційного клієнта формуємо плановий обсяг реалізації проєкту.

Таблиця 7.4.4. – Запланований обсяг реалізації стартап-продукту.

	Грудень 2021	Січень 2022	Лютий 2022	Березень 2022	Квітень 2022	Травень 2022	Червень 2022	Липень 2022	Серпень 2022	Вересень 2022	Жовтень 2022	Листопад 2022
Запланований обсяг, т	-	-	15	40	60	100	100	80	70	70	-	-

Виробництво біопрепарату заплановане на сезон висадки рослин, тому період жовтень-січень товар не випускається.

7.5. Ціна інноваційної пропозиції на ринку

Після визначення потенційного споживача наводять ціну пропозиції для ідеї/технології.

Таблиця 7.5.1. – Проєктні ціни продажі ідеї.

Найменування товару	Планові обсяги продажу		Аналоги, прототипи	
	Кількість, од.	Ціна, грн/од.	Кількість, од.	Ціна, грн/од.
Біофунгіцид	547 500	210	620 000	260

Розраховуємо ціноутворення:

1. Витратний метод – орієнтований на витрати

Ц = С + фіксований відсоток прибутку від собівартості [грн/од], де

Ц – прогнозована ціна товару, грн/од

С – розрахункова собівартість товару, грн/од.

$$Ц = С + \%С = \frac{109\,500\,000}{547\,500} + 5\% = 200 + 5\% = 210 \text{ грн}$$

2. Параметричний метод

$$Ц_{\text{нової моделі}} = Ц_{\text{базової моделі}} \cdot \frac{\text{Балова оцінка нової моделі}}{\text{Балова оцінка базової моделі}} = 260 \cdot \frac{80 \cdot 0{,}5 + 95 \cdot 0{,}4 + 98 \cdot 0{,}2}{60 \cdot 0{,}5 + 70 \cdot 0{,}4 + 80 \cdot 0{,}2} = 342{,}9, \text{ грн/од,}$$

Де $Ц_{\text{нової моделі}}$ – ціна ідеї/технології, з якою автор пропонує її на ринку, грн/од.

$Ц_{\text{базової моделі}}$ – ціна прототипу, що існує на ринку, грн/од.

Балова оцінка нової моделі – експертна оцінка характеристик нової ідеї/технології при їх застосуванні самим експертом в ході дослідних робіт, виставляється з урахуванням коефіцієнта вагомості характеристики у переліку ключових характеристик товару.

Балова оцінка базової моделі – експертна оцінка характеристик прототипу, що існує на ринку з урахуванням коефіцієнта вагомості характеристики у переліку ключових характеристик товару.

Таблиця 7.5.2. – Розрахунок цін моделей.

Продукт	**Параметри**						**Ціна**
	Дотримання НД		Ефективність		Пакування		
	Бали	Коеф. вагомості	Бали	Коеф. вагомості	Бали	Коеф. вагомості	Бал=260/(80·0,5+ 95·0,4+98· 0,2)=2,66
Прототип	80	0,5	95	0,4	98	0,2	260
Новий продукт	60	0,5	70	0,4	80	0,2	2,66·(55·0,5+ 70·0,4+ 80·0,2)=197

3. Метод конкурентних цін

$$Ц = \frac{Ц_{x_1} + Ц_{x_2} + Ц_{x_3}}{n} = \frac{210 + 260 + 170}{3} = 213 \text{ грн,}$$

Де $Ц_{х_х}$ – ціна конкурентів, n – кількість конкурентів.

Для розрахунку ціноутворення обрано витратний метод, який враховує складність технології, що впливає на собівартість, та має найвижчу точність.

Загальні капіталовкладення: К = 7 000 000 грн.

Річний прибуток за ціною 210 грн/л: П = Ц – С = 547 500·210 – 547 500·200 = 114 975 000 – 109 500 000 = 5 475 000 грн/рік

Рентабельність: $Р = П/С \cdot 100\% = \frac{5\,475\,000}{109\,500\,000} \cdot 100\% = 5\%$

Час повернення капіталовкладень: $Т = \frac{К}{П} = \frac{7\,000\,000}{5\,475\,000} = 1{,}3$ роки

Таблиця 7.5.3. – Калькуляція собівартості стартап-продукту.

№	Етап/елемент собівартості	Кількісний показник	Вартісний показник
1.	Розробка ідеї		60 900 грн/міс
	— амортизація	5%	2 900 грн/міс
	— заробітні плати	5 осіб	50 000 грн/міс
	— електроенергія	2 000 кВт/год	5 000 грн/міс
	— паливо	100 л	3 000 грн/міс
2.	Ринкові дослідження		165 900 грн/міс
	— амортизація	5%	7 900 грн/міс
	— заробітні плати	15 осіб	150 000 грн/міс
	— електроенергія	2 000 кВт/год	5 000 грн/міс
	— паливо	100 л	3 000 грн/міс
3.	Реалізація ідеї		794 000 грн/міс
	— сировина, матеріали	1500 л	25 000 грн/міс
	— оренда	1 місяць	150 000 грн/міс
	— амортизація	5%	38 000 грн/міс
	— заробітна плата	50 осіб	500 000 грн/міс
	— електроенергія	30 000 кВт/год	75 000 грн/міс
	— паливо	200 л	6 000 грн/міс
4.	Впровадження		847 000 грн/міс
	— сировина, матеріали	1500 л	25 000 грн/міс
	— обладнання		50 000 грн/од
	— оренда	1 місяць	150 000 грн/міс
	— амортизація	5%	40 300 грн/міс
		50 осіб	500 000 грн/міс

	— заробітна плата — електроенергія — паливо	30 000 кВт/год 200 л	75 000 грн/міс 6 000 грн/міс
5.	Масова реалізація — рекламні ресурси — обладнання — амортизація — заробітна плата — електроенергія — паливо — транспорт	 1 місяць 5% 50 осіб 50 000 кВт/год 200 л 2 од.	2 200 000 грн/міс 6 000 грн/од 50 000 грн/од 105 000 грн/міс 500 000 грн/міс 125 000 грн/міс 6 000 грн/міс 1 400 000 грн

Таблиця 7.5.4. – Забезпеченість проєкту основними засобами.

Місце ОЗ у технологіч-ному процесі	**Назва ОЗ**	**Повна початкова вартість ОЗ**	**Плано-вий період експлуат ації ОЗ**	**Очікуваний постачальник**	**Джерело фінансу-вання придбання**
Локалізація виробничих потужностей	Будівлі	150 000	15 років	Наявне підприємство в Київській області	Власні та кошти інвесторів
Виробництво	Обладнання	50 000	5 років	Наявне підприємство в Київській області	Власні та кошти інвесторів
Масова реалізація	Транспорт	1 400 000	10 років	Наявне підприємство в Київській області	Власні та кошти інвесторів

Таблиця 7.5.5. – Забезпеченість проєкту оборотними фондами.

Група ОбФ	**Назва**	**Норма витрат на рік**	**Ціна, грн/од**	**Очікуваний поста-чальник**	**Джерело фінансу-вання**
Сировина і матеріали	Сировина	120 000 л	20 грн/л	Державні підприємства	Власні та кошти інвесторів
	Матеріали	180 000 л	30 грн/л		
	Паливо	72 000 л	30 грн/л	Державні підприємства	

Паливо, електро-енергія	Електроенергія	1 500 000 кВт	2,5 грн/ кВт		Власні та кошти інвесторів

Таблиця 7.5.6. – Забезпеченість проєкту трудовими ресурсами.

Категорія кадрів	Назва посади	Чисельність за списком на посаді	Кваліфікаційні вимоги	Плановий рівень заробітної плати	Джерело фінансування ФОП
Робочі основні	Апаратник	6	Професійно-технічна освіта	9 000	Прибуток від попередньої діяльності
	Електрик	3	Профейсійно-технічна освіта. Стаж від 2 років	9 000	Прибуток від попередньої діяльності
	Водій	7	Повна середня освіта. Професійно-технічна освіта	9 000	Прибуток від попередньої діяльності
	Санітарний працівник	4	Без вимог до досвіду та освіти	9 000	Прибуток від попередньої діяльності
Робочі допоміжні	Вантажник	5	Без вимог до досвіду та освіти	9 000	Прибуток від попередньої діяльності
Молодший персонал обслуговування	Лаборант	4	Вища освіта відповідного напрямку. Стаж від 1 року.	12 000	Прибуток від попередньої наукової діяльності
Спеціалісти	Інженер-технолог	3	Другий рівень вищої освіти відповідного напрямку. Стаж від 2 років.	13 000	Грант
	Технік-технолог	2	Другий рівень вищої освіти відповідного	15 000	Прибуток від реалізації

			напрямку. Стаж від 2 років.		
	Мікробіолог	3	Другий рівень вищої освіти відповідного напрямку. Стаж від 2 років.	15 000	Прибуток від попередньої наукової діяльності
	Менеджер з продажу	2	Повна вища освіта, стаж від 1 року	13 000	Прибуток від реалізації
	Бухгалтер	2	Повна вища освіта, стаж від 1 року	13 000	Прибуток від попередньої діяльності
	Менеджер з якості	2	Повна вища освіта, стаж від 1 року	13 000	Прибуток від попередньої діяльності
Керівники	Керівник лабораторії	1	Другий рівень вищої освіти, аспірантура відповідного напрямку. Стаж від 5 років.	17 000	Прибуток від попередньої наукової діяльності
	Керівник підприємства	1	Другий рівень вищої освіти, аспірантура відповідного напрямку. Стаж від 5 років. Додатково економічна освіта.	20 000	Прибуток виробництва
	Керівник виробничої ділянки	5	Другий рівень вищої освіти, аспірантура відповідного напрямку. Стаж від 5 років.	17 000	грант

Таблиця 7.5.7. – Техніко – економічні показники проєкту.

Показники	Одиниця виміру	Умовне позначення, формула	Значення
1. Річний обсяг реалізації ідеї	Од.	В	547,5 тис
2. Середньорічна чисельність персоналу за списком (процес розробки і реалізації окремо)	Осіб	$Ч_{сп}=Ч_{яв}\cdot К_{пер}$	15
	Осіб		50
3. Основний, допоміжний, інженерно-технічний персонал	Осіб	-	20
			5
			13
4. Середньорічний виробіток робітника (процес розробки і реалізації окремо)	Од./особу	$ПП_{ср}=В/Ч_{сп}$	36 500
	Од./особу		10 950
5. Капіталовкладення у проєкт - всього - на одинцю продукту	Грн	К=ОФ+ОбК	7 млн.
	Грн/од.		12,78
6. Повна собівартість - всього - на одиницю продукту	Грн	С=А+ОбК	109,5 млн
	Грн/од.		200
7. Відносний прибуток	Грн/рік	П=Ц-С	5 475 000
	Грн/од.		10
8.Рентабельність	%	Р=(П/С)·100	5
9. Період повернення капіталовкладень	Років	$Т_{пов}=К/П$	1,3
10. Фондовіддача виробничих фондів (процес розробки і реалізації окремо)	Грн/грн	ФВ=(Ц·В)/ОФ	71,86
11. Фондоємність (процес розробки і реалізації окремо)	Грн/грн	ФЄ=1/ФВ	0,0139
12. Продуктивність праці (процес розробки і реалізації окремо)	Грн/особу	$ПП=В/(Ч_{сп}\cdot Т)$	100
			30
13. Коефіцієнт економічної ефективності (процес розробки і реалізації окремо)	-	Е=П/К	0,78

7.6. Концепція бізнес-моделі проєкту та карта бізнес-процесів реалізації проєкту

Таблиця 7.6.1. – Карта бізнес-процесів виконання стартап-проєкту.

Стадія реалізації стартап-проєкту	Бізнес -процеси	Характеристики		
		Задіяні ресурси (метеріальні /трудові)	Орієнтовна тривалість процесу	Верхня межа фінансових витрат
Розробка ідеї	Зародження ідеї	-	1 день	60 900 грн/міс
	Збір інформації про існуючі аналоги та потребу в продукті	Інтернет-ресурси, дослідження	2 дні	
	Визначення сировини	Технолог	3 дні	
	Визначення прогнозованого прибутку	Бухгалтер	2 дні	
	Послідовність формування підприємства	Керівництво, інженери	1 місяць	
	Визначення витрат/прибутку	Бухгалтер	3 дні	
	Пошук фінансів	Керівництво	1 місяць	
Ринкові дослідження	Пошук інформації про потребу даного продукту	Керівництво	2 тижні	165 900 грн/міс
	Пошук споживачів	Менеджер роботи з клієнтами	2 місяці	
	Дослідження конкурентоспроможності	Менеджер з продажу	2 дні	
Реалізація ідеї	Купівля обладнання та сировини	Керівництво	2 місяці	794 000 грн/міс
	Пошук постачальників	Керівництво	2 тижні	

	Отримання акредитацій та дозволів	Керівництво, персонал	3 місяці	
	Лабораторне тестування продукції	Лабораторні працівники, мікробіолог	1 місяць	
	Навчання персоналу	Старші лаборанти	1 місяць	
Впровадження	Масове виготовлення продукції	Робітники виробництва	6 місяців	847 000 грн/міс
	Вихід на ринок	Менеджер з продажу, робітники виробництва	1 рік	
Масова реалізація	Розширення штату виробництва	Керівництво	5 місяців	2 200 000 грн/міс
	Пошук іноземних споживачів	Менеджер з продажу	1 місяць	
	Поширення реклами	SEO-спеціаліст	3 місяці	

Таблиця 7.6.2. – Системний аналіз бізнес-процесів стартапу.

Функції	**Елементи**													
	Керівник підприємства, бухгалтер	Керівник виробничої ділянки	Керівник лабораторії	Менеджер з якості	Менеджер з продажу	Мікробіолог	Технік-технолог	Інженер-технолог	Лаборант	Електрик	Апаратник	Вантажник	Санітарний працівник	Водій
Зародження ідеї	+													
Збір інформації про існуючі аналоги та потребу в продукті	+						+							

Визначення сировини						+	+							
Послідовність формування підприємства	+	+					+							
Визначення витрат/прибутку	+													
Пошук фінансів	+				+									
Пошук інформації про потребу даного продукту	+			+										
Пошук споживачів	+	+		+										
Купівля обладнання та сировини	+				+									
Пошук постачальників					+									
Отримання акредитацій та дозволів	+		+											
Лабораторне тестування продукції			+			+			+					
Навчання персоналу		+					+	+						
Затвердження технологічного процесу	+	+					+							
Контроль кінцевої продукції				+		+			+					
Виконання виробничої лінії											+			
Масове виготовлення продукції							+	+			+			
Вихід на ринок	+			+	+									
Розширення штату виробництва	+													
Пошук іноземних споживачів	+				+									
Поширення реклами					+									
Ремонт обладнання										+				
Підтримка чистоти в приміщеннях													+	
Транспортування сировини, продукції												+		+

7.7. Ризики стартап-проєкту та методи управління ними

Таблиця 7.7.1. – Ризики інноваційної розробки.

Стадія реалізації стартап-проєкту	Бізнес-процеси	Зовнішні ризики	Внутрішні ризики
Розробка ідеї	Малоефективна технологія	Ринковий ризик	Техніко-технологічний ризик
Ринкові дослідження	Низька зацікавленість інвесторів	Інвестиційний ризик	Управлінський ризик
Реалізація ідеї	Неефективно побудована система поширення продукту	Ризик бізнес-подій	Інформаційний ризик
Впровадження	Здвиг функціонування обладнання	Ринковий ризик	Ризик банкрутства
Масова реалізація	Брак продукції	Ринковий ризик	Фінансовий ризик

Таблиця 7.7.2. – Ризики інноваційної розробки та ймовірність їх настання.

Види ризиків	Назва ризику	Ймовірність настання	Вплив на очікуваний результат	Сумарне числове значення
Зовнішні ризики				
Ризик бізнес-подій	Неефективно побудовані канали поширення інформації	**1**	**2**	**A2**
Інвестиційний ризик	Відсутність зацікавленості у інвесторів	**2**	**3**	**C6**
Ринковий ризик	Брак якісних баз нерухомості	**2**	**2**	**B4**
Ринковий ризик	Брак якісних баз обладнання	**2**	**2**	**B4**
Ринковий ризик	Низька якість сировина	**2**	**3**	**C6**
Внутрішні ризики				

Інформаційний ризик	Помилковий вибір кола потенціальних споживачів	**1**	**2**	**A2**
Управлінський ризик	Неефективні методи залучення інвесторів	**2**	**3**	**C6**
Ризик банкрутства	Брак необхідних коштів	**3**	**3**	**C9**
Фінансовий ризик	Зниження рівня прибутку	**2**	**3**	**C6**
Техніко-технологічний ризик	Неефективний підбір відповідних технологій	**1**	**2**	**A2**

Таблиця 7.7.3. – Матриця оцінки ризиків.

За впливом ризиків на очікуваний результат		**За ймовірністю настання ризиків**		
Критерій ризику	**Числове значення**	Низька	Середня	Висока
		1	2	3
Високий рівень впливу	3	B3	C6	C9
Середній рівень впливу	2	A2	B4	C6
Низький рівень впливу	1	A1	A2	B3

Таблиця 7.7.4. – План заходів з управління ризиками [40].

Назва ризику	**Назва методу управління ризиком**	**Відповідальні виконавці**	**Період виконання/ застосу-вання методу**	**Очікувані результати від впровадження методів управління**
Мало-ефективна технологія	Розгляд зміни етапів технології, наукові дослідження, оптимізація виробництва	Технік-технолог	2 місяці	Впровадження нових методик виробництва
		Мікробіолог		
		Керівник виробничої лінії		
		Керівник виробництва		

Низька зацікавленість інвесторів	Активний цілеспрямований маркетинг	Менеджер по роботі з клієнтами Бухгалтер Керівник підприємства	1 місяць	Підвищення зацікавлення інвесторів
Неефективно побудована система поширення продукту	Активний цілеспрямований маркетинг	Менеджер по роботі з клієнтами Керівник виробництва	1 місяць	Підвищення зацікавлення споживача
Здвиг функціонування обладнання	Кредитування/запозичення коштів на нове обладнання	Апаратник Електрик Керівник виробництва Інженер-технолог	3 місяці	Отримання додаткових/поміч них коштів
Брак продукції	Зміна постачальника, підвищення контролю якості	Технік-технолог Менеджер з якості Керівник підприємства	2 місяці	Покращення якості кінцевого продукту

Висновок: розроблено стартап-проєкт виробництва біопрепарату-фунгіциду собівартістю одиниці продукції становить 200 грн/л, ціна – 210 грн/од. Річний обсяг реалізації ідеї – 547,5 тис/рік. Рентабельність становить 5%. Сформовано резюме ідеї, обрано групу споживачів, розглянуто конкурентні переваги ідеї, наведено техніко – економічні показники проєкту, проведена оцінка ризиків та знайдені шляхи управління.

РОЗДІЛ 8. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

8.1. Техніка безпеки на біотехнологічних виробництвах

Головною умовою забезпечення безпеки виробництва є суворе дотримання технічного регламенту, в якому наведені технологічні вказівки, перелік необхідного обладнання і систем контролю, правила безпеки методів ведення технологічного процесу і поводження з небезпечними речовинами. Інструкції з безпечного обслуговування обладнання розробляються для кожного апарата та вивішуються біля робочого місця.

В якості безпеки передбачається розпізнавальне фарбування трубопроводів: вода – зелений колір, пар – червоний, повітря – синій, кислоти – помаранчевий, основи – фіолетовий, водні напівпродукти – сірий, гази – жовтий. Червоного кольору повинні бути зафарбовані протипожежні трубопроводи. Теплові апарати та комунікації ізолюються для запобігання опіків та надмірного виділення тепла.

Біотехнологічні підприємства характеризуються наявністю факторів небезпеки:

- використання отруйних, пожежо- та вибухонебезпечних матеріалів, сировини, речовин;
- наявність біологічних забруднень у вигляді життєздатних мікроорганізмів, що відносяться до умовно патогенних штамів, продуктів їх життєдіяльності;
- виробництво продуктів, які відносяться до пожежо- та вибухонебезпечних речовинам, а також, продуктів, що володіють алергічними діями;

- використовування обладнання, яке працює під тиском;
- виникнення статичної електрики при транспортуванні вибухонебезпечних рідин, газів та порошкоподібних матеріалів по трубопроводах.

У виробничій практиці для безпечного проведення технологічного процесу передбачаються виконання наступних вимог:

- автоматизація виробничих процесів;
- дистанційне керування найбільш небезпечними технологічними операціями;
- герметизація обладнання;
- захист від статичної електрики;
- впровадження ефективних методів очистки газових відходів;
- ізоляція найбільш небезпечних ділянок виробництва;
- використання автоматичних газоаналізаторів, синхронізованих з світловою та звуковою сигналізацією та вентиляційними установками, задля контролю за вмістом вибухонебезпечних і токсичних речовин у повітрі виробничого приміщення;
- розпізнавальне фарбування трубопроводів;
- суворе дотримання правил обслуговування апаратів, які працюють під тиском;
- використання засобів індивідуального захисту.

Апарати, що працюють під тиском повинні бути обладнані манометром і запобіжними клапанами. На апаратах влаштовують таблички, де вказуються: реєстраційний номер апарат а, робочий та допусти мий тиск, дата проведених контрольних випробовувань і дата наступних випробовувань.

Вогненебезпечні рідини зберігаються в ізольованих цистернах, часто – в підземних. Велику небезпеку несуть вільні апарати, ємкості з-під горючих рідин, якщо вони довгий час не експлуатувалися. В цих апаратах може утворитися вибухонебезпечна газова суміш. При перенесенні горючих рідин із апарата в апарат необхідно використовувати не повітря, а інертний газ, який

зменшує вірогідність утворення вибухонебезпечних концентрацій газоповітряної суміші.

При необхідності виконання робіт всередині апарату з горючими рідинами його промивають водою, при цьому повністю заповнивши; провітрюють через відкриті люки; відключають привід перемішуючих пристроїв; встановлюють заглушки на комунікаціях; перевіряють вміст кисню у повітряному середовищі ємкості і проводять внутрішні роботи в присутності підстраховки.

Статична електрика може ініціювати вибух або займання пило- або газоповітряних сумішей, які виникають при пересуванні діелектриків, типу етанолу, аміаку, порошку біомаси, по комунікаціям і апаратам:

- при транспортуванні вогне- та вибухонебезпечних рідин та газів по трубам і резинових шлангах;
- при зливі рідини із цистерни і апаратів та наповненні;
- в процесів пневмотранспортуванні, подрібнення та фільтрування продукту:
- при русі пилоповітряних сумішей в трубопроводах і апаратах.

Чим вище швидкість руху рідин, газів та твердих матеріалів по трубопроводах, тим більша величина заряду. Головним способом захисту від статичної електрики – заземлення комунікацій.

Серед найбільш небезпечних місць виробництва такі: ємкості для збереження етанолу, метанолу, вуглеводнів, аміаку, трубопроводи їх подачі; відділення сепарації, компресорні, повітродувні (передбачується влаштування звукоізоляційних кімнат відпочинку); розпилювальні сушарні установки (передбачується влаштування автоматичних систем сигналізації і пожежогасіння) [41].

8.2. Охорона довкілля

Поводження для уникнення завдання шкоди довкіллю проводяться згідно Закону України «Про охорону навколишнього природного середовища».

Охорона навколишнього середовища та раціональне використання ресурсів природи в умовах інтенсивної індустріалізації є одним із найважливіших економічних та соціальних завдань.

Повітряні та водні відходи підприємств повинні піддаватися багатоступеневій та ретельній очистці від біологічних агентів, хімічних реагентів, тощо.

Системи охорони довкілля передбачають собою влаштування установок очистки повітря, стічних та промивних вод, а також поводження з твердими відходами.

Дії з відходами підприємства варто проводити згідно діючого Закону України «Про відходи».

8.2.1.Очистка повітря

Показники повітря, яке випускає підприємство, повинні бути відповідні Державним санітарним правилам охорони атмосферного повітря населених місць (від забруднення хімічними та біологічними речовинами) (ДСП-201-97).

ДСП-201-97 правила містять основні вимоги до охорони атмосферного повітря населених місць і місць масового відпочинку та оздоровлення населення, виконання яких повинно забезпечити запобігання несприятливому впливу забруднення повітряного середовища на здоров'я населення та санітарно-побутові умови його життя.

На більшості підприємств викиди в атмосферу забруднені клітинами мікроорганізмів, пилом білкових та інших продуктів синтезу, що утворились на стадіях культивування, сушки, флотації, грануляції, стандартизації, пакування, тощо.

Головними методами запобігання забруднення атмосфери є герметизація апаратів, а також застосування різних типів циклонів, гідроциклонів, пилеосадових камер, тканинних і електричних фільтрів, скруберів.

Для зниження вмісту пилу в промислових викидах застосовують скрубер Вентурі.

В промисловості широко застосовуються для очистки технологічних та вентиляційних викидів від шкідливих газів і парів адсорбери та абсорбери. В адсорберах потік повітря проходить через шар адсорбента, зерниста речовина з поверхнею з активованого вугілля, силікагелю, оксиді алюмінію, тощо.

В абсорберах для очистки газів застосовують рідинні речовини, які інтенсивно поглинають забруднення.

При вирощуванні грибів на твердих середовищах утворюється велика кількість біологічного пилу, виділення спор, продуктів метаболізму, алергенів, що небезпечно для людського організму. У зв'язку з цим апарати для нарощування посівного матеріалу необхідно герметизувати та механізувати. В цьому випадку перевагу краще надавати глибинному методу культивування [42].

8.2.2. Очистка стічних вод

Мала частка підприємств мають змогу самостійно очищати свої стічні воду, тому важливо стабілізувати стічні води перед скидом у міську каналізацію згідно «Правил приймання стічних вод до систем централізованого водовідведення».

Виробничий процес потребує великої кількості води, яка в результаті забруднюється мікроорганізмами, мінеральними солями, органічними компонентами. Речовини можуть знаходитися у розчиненому та нерозчиненому стані. Методи очистки промислових стоків обирається в залежності від складу стічних вод. Забрудненість стічних вод визначається двома найважливішими показниками ХСК (хімічне споживання кисню) та БСК (біологічне споживання кисню). Перед відведення до міської каналізації базовими етапами є механічне очищення, знезараження та хімічне зв'язування забруднюючих реагентів.

ВИСНОВКИ

1. Обрана технологія виробництва біопрепарату на основі видів *Trichoderma* складається з таких етапів: санітарна підготовка виробництва, підготовка повітря, підготовка теплоносія, підготовка води очищеної, підготовка поживних середовищ та посівних матеріалів, вирощування маточної культури, культивування у посівному ферментері, виробниче культивування, змішування, маркування та пакування біопрепарату, знешкодження відходів.

2. Для культивування посівного матеріалу було обрано та розраховано ферментер об'ємом 16 м^3, діаметром 2 400 мм, обладнаним турбінною мішалкою, сорочкою та барботером. В ньому було застосовано освітлення синього спектру для поліпшення умов культивування продуцентів.

3. Розраховано матеріальний баланс процесу, який вказує, що з одного виробничого процесу отримують 140 л біопрепарату.

4. Розроблено технологічну, апаратурну схеми виробництва біопрепарату на основі *Trichoderma* та схему автоматизації, які відображають поліпшений технологічний процес отримання біопрепарату, шляхом освітленням синього спектру та дефіцитом нітрогену.

5. В результаті власних експериментальних досліджень було виявлено найкращу антагоністичну активність стосовно *Cladosporium sp.,* що вказує на цільового споживача: власники культурних засаджень, що вражені хворобами цього збудника.

6. Розроблено стартап-проєкт, проведена калькуляція собівартості товару, яка становить 200 грн/л.

7. Технологія враховує основні вимоги з охорони праці та захисту довкілля при виробництві біопрепарату.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. В. В. Чижевська. Ґрунтові гриби- антагоністи фітопатогенних грибів/ В. В. Чижевська, Н. В. Черевач // Збірник наукових праць «Біологічні дослідження – 2017» - Дніпропетровськ, 2017.
2. Бондаренко Н. В. Биологическая защита растений / Н. В. Бондаренко. – М. : Агропромиздат, 2001. – 276 с.
3. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках / Н. С. Егоров – М.: Изд-во МГУ, 2004, 512 с.
4. Захарова И. Я. Литические ферменты микроорганизмов / И. Я. Захарова, И. Н. Павлова. – К. : Наукова думка, 2000. – 215 с.
5. Taxonomy – Trichoderma – Режим доступу до ресурсу: https://www.uniprot.org/taxonomy/5543
6. Miguel A. Naranjo-Ortiz. Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi / Miguel A. Naranjo-Ortiz, Toni Gabald´on // Biological reviews / Miguel A. Naranjo-Ortiz, Toni Gabald´on. – Barcelona, 2019. – С. 2101–2137.
7. Seo Hee Lee. Characterization of Three Species of Sordariomycetes Isolated from Freshwater and Soil Samples in Korea / Seo Hee Lee, Hyo Sun Park // Mycology / Seo Hee Lee, Hyo Sun Park. – Gwangju, Korea, 2019. – С. 20–30.
8. André Schuster. Biology and biotechnology of Trichoderma / André Schuster, Monika Schmoll // Applied Microbiology and Biotechnology / André Schuster, Monika Schmoll. – Vienna, 2010. – (Springer). – С. 767–799.
9. Nidhi Kumari. Secondary metabolites and lytic tool box of trichoderma and their role in plant health / NidhiKumari, S.Srividhya // Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture / NidhiKumari, S.Srividhya. – Gharuan, India: Academic Press, 2020. – С. 305–320.

10. Билай В. И. Основы общей микологии: Учеб. пособие для вузов. – 2-е изд., перераб. и доп. – Киев: Вища школа. Головное изд-во, 1980. – 360 с.

11. Nur A. Zin. Biological functions of Trichoderma spp. for agriculture applications / Nur A. Zin, Noor A. Badaluddin // Annals of Agricultural Sciences / Nur A. Zin, Noor A. Badaluddin. – Terengganu, Malaysia: Elsevier, 2020. – С. 168–178.

12. Практикум по микробиологии: пособие для вузов / Е. З. Теппер, В. К. Шильникова, Г. И. Переверзева; под ред. В. К. Шильниковой. – 5-е изд., перераб. и доп. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.: ил.

13. Seokyoon Jang. New Report of Three Unrecorded Species in Trichoderma harzianum Species Complex in Korea / Seokyoon Jang, Sun Lul Kwon, Hanbyul Lee// Mycobiology / Seokyoon Jang, Sun Lul Kwon, Hanbyul Lee. - 2018. – p. 177-184.

14. Дудка І. О. Методы экспериментальной микологии. Справочник / Дудка І. О., Вассер С. П., Елланська І. А., та ін.. – Київ: Наукова думка, 1982. – 550 с. – (Інститут мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного).

15. Алимова Ф.К. Промышленное применение грибов рода *Trichoderma*/ Ф.К.Алимова. – Казань: Казанский государственный университет им.В.И.Ульянова-Ленина, 2006. – 209 с.

16. Raja Asad Ali Khan. Bioactive Secondary Metabolites from Trichoderma spp. against Phytopathogenic Fungi / Raja Asad Ali Khan, Saba Najeeb. // Microorganisms. – 2020. – №8. – С. 22.

17. Білай В. І. Микроскопические грибы - продуценты антибиотиков / Білай В. І.. – Київ, 1961. – 185 с.

18. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках: Учебник. 6-е изд., перераб. и доп. / Н. С. Егоров. – М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. – 528 с.

19. Hayyan Ismaeil Al-Taweil. Optimizing of Trichoderma viride Cultivation in Submerged State Fermentation [Електронний ресурс] / Hayyan Ismaeil Al-Taweil, Mohammad Bin Osman, Aidil Abdul Hamid and Wan Mohtar

Wan Yusoff // American Journal of Applied Sciences. – 2009. – Режим доступу до ресурсу: https://www.researchgate.net/profile/Hayyan-Al-Taweil/publication/26625496_Optimizing_of_Trichoderma_viride_Cultivation_in_Submerged_State_Fermentation/links/54e67f230cf2cd2e028f5975/Optimizing-of-Trichoderma-viride-Cultivation-in-Submerged-State-Fermentation.pdf.

20. Nusrat Jahan. Evaluation Of The Growth Performance Of Trichoderma harzianum (Rifai.) On Different Culture Media [Електронний ресурс] / Nusrat Jahan, Sabiha Sultana // Journal of Agriculture and Veterinary Science. – 2013. – Режим доступу до ресурсу: https://www.researchgate.net/publication/326405457_Evaluation_Of_The_Growth_Performance_Of_Trichoderma_harzianum_Rifai_On_Different_Culture_Media.

21. Anuradha Singh. Optimal Physical Parameters for Growth of Trichoderma Species at Varying pH, Temperature and Agitation / Anuradha Singh // Virology & Mycology / Anuradha Singh., 2014. – С. 7.

22. M. I. Ali. Optimization of factors affecting proliferation and flourishment of Trichoderma harzianum in Egyptian soil / M. I. Ali, M. M. Yasser // Journal of Basic & Applied Mycology / M. I. Ali, M. M. Yasser. – Egypt: The Society of Basic & Applied Mycology, 2012. – (3). – С. 41–48.

23. Sanjeev Kumar. Trichoderma: Mass production, formulation, quality control, delivery and its scope in commercialization in India for the management of plant diseases / Sanjeev Kumar // African Journal of Agricultural Research / Sanjeev Kumar., 2014.

24. Abiodun A. Onilude. Mycelia Growth and Spore Yield of Trichoderma harzianum in Batch and Fed-Batch Cultures: Influence of pH and Temperature / Abiodun A. Onilude, Damilola O. Seyi-Amole. // International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. – 2018. – С. 627–635.

25. VIKTOR KONAKOVSKY. OPTIMIZATION OF FUNGAL FERMENTATION FOR THE PREPARATION OF BIOACTIVE METABOLITES / VIKTOR KONAKOVSKY. // BOKU - UNIVERSITY OF NATURAL RESOURCES AND LIFE SCIENCES, VIENNA. – 2012. – С. 99.

26. Mukesh Srivastava. Trichoderma- a potential and effective biofungicide and alternative source against notable phytopathogens: A review / Mukesh Srivastava, Vipul Kumar, Mohammad Shahid. // African Journal of Agricultural Research. – 2016. – С. 310–316.

27. БТУ-Центр. ІНСТРУКЦІЯ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ / БТУ-Центр. // Жива Земля. Біопрепарати. – 2021.

28. Ручай, Н. С. Технология микробного синтеза: электронный курс лекций для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» / Н. С. Ручай, И. А. Гребенчикова. – Минск: БГТУ, 2014. – 167 с.

29. Бекер М. Е. Введение в биотехнологию/ Бекер М. Е.: Пищевая промышленность. - Рига, 1974. – 230 с.

30. Методичні вказівки до практичних занять з дисципліни «Основи проектування» для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»/ Укладач: Гуляєв В.М. - Кам'янське: ДДТУ, 2019 р. – 71 с.

31. Механічне перемішування. Типи мішалок. [Електронний ресурс]. – 2016. – Режим доступу до ресурсу: https://studfile.net/preview/5009951/page:9/.

32. Кантере В. М. Основы проектирования предприятий микробиологической промышленности/ Кантере В. М., Мосичев М. С., Дорошенко М. И. и др.: Учеб. пособие для вузов. – М.: Агропромиздат, 1990. – 304 с.

33. Дытнерский Ю. И. Основные процессы и аппараты химической технологии. Пособие по проектированию. изд 2-е, пер. и доп. – М.: Химия, 1991. – 493с.

34. Соколов В.Н., Яблокова М.А. Аппаратура микробиологической промышленности. – Л.: Машиностроение. Ленингр. Отд-ние, 1988. – 278 с.

35. Лащинский А. А. Конструирование и расчет химической аппаратуры: Справочник / А. А. Лащинский, А. Р. Толчинский // СПб, Машиностроение, 1970. – 752 с.

36. Калунянц Л.И. Оборудование микробиологических производств / К. А. Калунянц, Л. И. Голгер, В. Е.Балашов // Москва, Агропроиздат, 1987. – 398 с.

37. Елинов Н.П. Основы биотехнологии. Для студентов институтов, аспирантов и практических работников. Изд. фирма "Наука" СПБ 1995, 600 стр, 166 ил.

38. Инженерная биотехнология: основы технологии микробиологических производств - Луканин А.В./ Издательство: Инфра-М. – 2018. – 304 с.

39. SCADA/Softlogic S3 эффективно решает задачи рецептурного управления (batch control) [Електронний ресурс] // RTS Ukraine. – 2013. – Режим доступу до ресурсу: https://www.rts.ua/rus/news/679/0/265/.

40. Економічна частина магістерської дисертації: розроблення стартап-проєкту/ навч. посіб. для студ./ Підлісна О. А., Тюленєва Ю. В.; КПІ ім. Ігоря Сікорського – 2019. – 32 с.

41. Ручай, Н. С. Технология микробного синтеза: электронный курс лекций для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» / Н. С. Ручай, И. А. Гребенчикова. – Минск: БГТУ, 2014. – 167 с.

42. Калунянц К. А. и др. Оборудование микробиологических производств/ Калунянц К. А., Голгер Л. И., Балашов В. Е. – М.: Агропромиздат, 1987. – 398 с.

ДОДАТОК А

Специфікація обладнання

Позиція	Позначення	Найменування, технічна характеристика	Кількість	Маса, кг	Примітка
ЗП-1		Повітрозбірник	1		Збірний
Ф-2		Волокнистий фільтр	1		Збірний
Ф-6		Фільтр HEPA	1		Збірний
Н-3		Мембранний насос для подачі повітря на конденціонування	1		Збірний
Н-18 Н-22 Н-26 Н-30 Н-34		Насоси для подачі культуральної рідини, відцентрові горизональні консольні	5		Збірний
ТО-4	СТА	Теплообмінник розбірний пластинчатого типу на консольній рамі. Поверхня одної пластини 0,5 $м^2$.	1		Неірж. сталь 12Х18Н10Т
РС-5		Ресивер повітрозбірний	1		Збірний
Д-7		Об’ємно-ваговий дозатор для компонентів поживного середовища	1		Збірний
Д-16 Д-20		Об’ємно-ваговий дозатор для подачі посівного матеріалу *Trichoderma viride*	2		Збірний

Д-25 Д-28		Об'ємно-ваговий дозатор для подачі посівного матеріалу *Trichoderma harzianum*	2		Збірний
Д-17 Д-21 Д-24 Д-29		Об'ємно-ваговий дозатор для подачі поживного середовища	4		Збірний
Д-31		Об'ємно-ваговий дозатор для подачі культуральної рідини *Trichoderma harzianum*	1		Збірний
Д-32		Об'ємно-ваговий дозатор для подачі культуральної рідини *Trichoderma viride*	1		Збірний
Р-8		Реактор для приготування поживного середовища	1		Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Пр-9 Пр-12		Пробірки	6		Лабораторне скло
К-10 К-13		Колби	6		Лабораторне скло
Т-11 Т-14		Термостати	2		
ПА-15		Посівний апарат для *Trichoderma viride* об'ємом 16 $м^3$	1		Неірж. сталь 12Х18Н10Т
ПА-23		Посівний апарат для *Trichoderma harzianum* об'ємом 16 $м^3$	1		Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Фв-19	BEE	Виробничий ферментер для культивування *Trichoderma viride* об'ємом 100 $м^3$	1		Неірж. сталь 12Х18Н10Т
Фв-27	BEE	Виробничий ферментер для	1		Неірж. сталь

		культивування *Trichoderma harzianum* об'ємом 100 м^3			12Х18Н10Т
Зб-33		Збірний апарат для змішування	1		Неірж. сталь 12Х18Н10Т
ПМ-41 ПМ-42		Пакувальні машини	2		
КП-4.1. КП-8.1. КП-15.1. КП-19.1. КП-23.1. КП-27.1. КП-33.1.	Flus "IR811"	Прилад для вимірювання температури. Пірометр, діапазон вимірювань від -50ºС до +500ºС			Збірний
КП-1.1. КП-2.1. КП-2.2. КП-3.1. КП-5.1. КП-8.2 КП-15.2. КП-19.2. КП-23.2. КП-27.2. КП-33.2.	МП 4-У	Манометр призначений для вимірювання надлишкового тиску неагресивних, рідин, пари, газу. Клас точності - 1; 1,5. Діапазони показань тиску: - газу - від 0 до 600 кгс/см^2 (від 0 до 60 МПа); - рідини - від 0 до 1600 кгс/см^2 (від 0 до 160 МПа).			Збірний
КП-15.3. КП-19.3. КП-23.3. КП-27.3.	pH-150 МП	pH-метр			