

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»

Директор інституту(декан факультету)

(підпис) Наталія ГРЕГІРЧАК
(ім'я та прізвище)

« ____ » лютого 2024 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

(підпис) Віктор СТАБНИКОВ
(ім'я та прізвище)

« ____ » лютого 2024 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА**

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми Промислова біотехнологія

на тему: Епіфітні дріжджі як засіб біоконтролю міцеліальних
грибів

Виконав: здобувач 2 курсу, групи 1

СТАНІШЕВСЬКА Марія Євгенівна

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник КРАСІНЬКО Вікторія Олегівна

(прізвище, ім'я та по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти

(прізвище та ініціали)

(підпис)

(прізвище та ініціали)

(підпис)

(прізвище та ініціали)

(підпис)

Рецензент

(прізвище та ініціали)

(підпис)

Я як здобувач(ка) Національного університету харчових технологій розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавав(-ла) і не одержував(-ла) недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувач _____

(підпис)

Київ – 2024 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Промислова біотехнологія»

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і

мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 30 ” жовтня 2023 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

СТАНІШЕВСЬКА Марія Євгенівна

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Епіфітні дріжджі як засіб біоконтролю міцеліальних грибів

керівник роботи КРАСІНЬКО Вікторія Олегівна, к.т.н., доц.

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 06 листопада 2023 року № 913-кс

2. Строк подання здобувачем роботи 05.02.2024

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Torulaspora indica*, цільовий продукт: біомаса

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)

РОЗДІЛ 1. Міцеліальні гриби, що зумовлюють псування продуктів (сировини) рослинного походження; РОЗДІЛ 2. Епіфітні дріжджі, як засіб біоконтролю міцеліальних грибів; РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування виробництва препарату біоконтролю на основі епіфітних дріжджів *Torulaspora indica* DMKU- RP31; РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях; РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання; РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення препарату біоконтролю *Rhizoctonia solani* рису; РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва продукту мікробного синтезу; РОЗДІЛ 8. Проект технічних умов на випуск товарної форми цільового продукту

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема – 1 лист формату А1. Апаратурна схема – 1 лист формату А1

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 30 жовтня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	РОЗДІЛ 1. Міцеліальні гриби, що зумовлюють псування продуктів (сировини) рослинного походження;	01.11.2023 - 12.11.2023	
2	РОЗДІЛ 2. Епіфітні дріжджі, як засіб біоконтролю міцеліальних грибів;	13.11.2023- 20.11.2023	
3	РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування виробництва препарату біоконтролю на основі епіфітних дріжджів <i>Torulasporea indica</i> DMKU-RP31;	21.11.2023- 01.12.2024	
4	РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях;	02.12.2023- 15.12.2023	
5	РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання;	16.12.2023- 25.12.2023	
6	РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення препарату біоконтролю <i>Rhizoctonia solani</i> рису;	26.12.2023- 03.01.2024	
7	РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва продукту мікробного синтезу;	04.01.2024- 09.01.2024	
8	РОЗДІЛ 8. Проект технічних умов на випуск товарної форми цільового продукту	10.01.2024- 13.01.2024	
9	Оформлення пояснювальної записки	14.01.2024- 16.02.2024	
10	Оформлення апаратурної та технологічної схеми	17.01.2024- 20.01.2024	

Здобувач _____
(підпис)

Керівник роботи _____
(підпис)

Марія СТАНІЩЕВСЬКА
(ім'я та прізвище)

Вікторія КРАСІНЬКО
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Дану роботу присвячено розробці біотехнологічного виробництва препарату на основі культуральної рідини *Torulaspora indica* DMKU-RP31 для біоконтролю патогенних грибів рису *Rhizoctonia solani*. Обраний штам – це епіфітні дріжджі, виділені з поверхні рисових листків. Порівняно з фунгіцидом, який використовується проти *R. solani* даний агент біоконтролю є більш ефективним, пригнічуючи патоген на 86,3 %, в той час як хімічний фунгіцид валідаміцин в концентрації 3% пригнічує гриб на 83,8%. Цей факт демонструє перспективність використання агентів біоконтролю як більш екологічних та безпечних препаратів для збереження рослинних продуктів та сировини.

До переваг препаратів біоконтролю варто віднести те, що їх можна застосовувати в будь який момент виробництва рослинного продукту, починаючи з обробки насіння, закінчуючи обробкою вже готової сировини. Антагоністичний ефект цих агентів проявляється як синергізм багатьох факторів, таких як синтез різних сполук, конкуренція за поживні речовини, утворення біоплівки та інше.

Враховуючи те, що наразі в Україні та Європі панує ідея зниження використання хімічних фунгіцидів, попит на біологічні, менш шкідливі препарати зростає. Відмічається, що ринок України наповнено великою кількістю біофунгіцидів, проте не всі вони можуть слугувати агентами біоконтролю, оскільки не було відповідних досліджень. Наразі, на теренах нашої країни відсутні препарати для біоконтролю патогенних грибів, а отже, готовий продукт буде унікальним і не матиме конкурентів. За розрахунками, річний об'єм культуральної рідини для виробництва препарату біоконтролю з врахуванням втрат становить 1054 м³. Враховуючи тенденції ринку, було запропоновано виробляти 2 форми препарату – рідку та порошок, це допомагає зацікавити більшу аудиторію клієнтів.

Робота складається з вступу, 8 розділів та списку літератури, що містить 145 джерел. В роботі наведено 14 таблиць та 10 рисунків. Графічна частина містить технологічну та апаратурну схему, накреслені на аркушах формату А1.

Ключові слова: антагоністична дія, синергізм, препарати біоконтролю міцеліальних грибів, *Torulaspora indica* DMKU-RP31, *Rhizoctonia solani*, рис.

ЗМІСТ

ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. Міцеліальні гриби, що зумовлюють псування продуктів (сировини) рослинного походження	11
1.1. Види міцеліальних грибів, які зумовлюють псування продуктів (сировини) рослинного походження.....	11
1.2. Види біоконтролю міцеліальних грибів.....	18
РОЗДІЛ 2. Епіфітні дріжджі, як засіб біоконтролю міцеліальних грибів	22
2.1. Епіфітні дріжджі, які потенційно можна застосовувати для біоконтролю міцеліальних грибів.....	22
2.2. Механізми дії епіфітних дріжджів стосовно міцеліальних грибів....	29
2.3. Методи обробки продуктів (сировини) рослинного походження епіфітними дріжджами з антифунгальними властивостями.....	34
2.4. Препарати на основі епіфітних дріжджів, які використовуються для біоконтролю міцеліальних грибів.....	36
2.5. Порівняння дії епіфітних дріжджів з антифунгальними властивостями хімічних речовин, які застосовуються для біоконтролю міцеліальних грибів...	38
ВИСНОВКИ ДО ЛІТОГЛЯДУ	41
РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування виробництва препарату біоконтролю на основі епіфітних дріжджів <i>Torulaspota indica</i> DMKU-RP31	42
3.1. Характеристика і галузі використання культуральної рідини <i>Torulaspota indica</i> DMKU-RP31.....	42
3.2. Потреба у засобі біоконтролю на основі культуральної рідини <i>Torulaspota indica</i> DMKU-RP31.....	46
3.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту.....	50
3.4. Розрахунок річної потужності виробництва.....	55
3.5. Обґрунтування вибору товарної форми випуску препарату для біоконтролю	60

3.5.1.	Обґрунтування форми випуску препарату біоконтролю та вибору додаткових речовин.....	60
3.5.2.	Обґрунтування вибору первинної та вторинної упаковки для препарату біоконтролю.....	66
	РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях.....	73
	РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання.....	75
	РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення препарату біоконтролю <i>Rhizoctonia solani</i> рису.....	78
	РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва продукту мікробного синтезу.....	81
7.1.	Контроль рівня культуральної рідини в збірнику.....	81
7.2.	Контроль вологості сухого порошку.....	84
7.3.	Контроль ваги сухого порошку.....	86
7.4.	Контроль об'єму рідкого препарату.....	86
7.5.	Контроль антагоністичної активності препарату щодо <i>Rhizoctonia solani</i>	87
7.5.1.	Контроль синтезу летких органічних речовин.....	87
7.5.2.	Контроль синтезу ферментів.....	88
7.5.3.	Контроль синтезу сидерофорів.....	89
7.5.4.	Визначення конкуренції за поживні речовини.....	89
7.5.5.	Визначення солюбілізації фосфату та оксиду цинку.....	90
7.5.6.	Контроль формування біоплівки.....	90
	РОЗДІЛ 8. Проект технічних умов на випуск товарної форми цільового продукту.....	92
8.1.	Розділ «Сфера застосування».....	92
8.2.	Розділ «Технічні вимоги».....	92
8.2.1	Основні показники і властивості.....	92
8.2.2	Вимоги до сировини, матеріалів, покупних виробів.....	94
8.2.3	Комплектність.....	94
8.2.4	Пакування.....	95

8.2.5. Маркування.....	95
8.3. Розділ «Вимоги безпеки».....	96
8.4. Розділ «Вимоги охорони довкілля».....	96
8.5. Розділ «Правила приймання».....	96
8.6. Розділ «Методи контролювання».....	97
8.7. Розділ «Транспортування та зберігання».....	101
8.8. Розділ «Правила експлуатації та утилізації».....	101
8.9 Розділ «Гарантії виробника».....	101
8.10. Нормативні посилання.....	102
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	108

ВСТУП

Наразі, актуальність дріжджів полягає у їх застосуванні як модельних еукаріотів для біотехнологічних застосувань і в медичній мікології. Біологічний контроль післязбиральних хвороб із використанням диких видів і штамів антагоністичних видів дріжджів є темою дослідження, якій протягом останніх 30 років приділялася значна увага в літературі. Проте, потенційне використання антагоністичних дріжджів як агентів біоконтролю все ще недостатньо застосовується на практиці. На ринок вийшла лише незначна кількість засобів захисту рослин на основі дріжджів, і навіть у фундаментальних дослідженнях протигрибковими дріжджами нехтували. Незважаючи на це, дріжджі поєднують сильну протигрибкову дію і ще деякі переваги, які мають вагому роль у складі препаратів біоконтролю (наприклад, сильна антагоністична активність, здатність до культивування, формулювання, застосовність, стресостійкість), а тому є перспективними для розробки біологічних засобів захисту рослин. Крім того, тісний зв'язок із модельними дріжджами, зокрема *Saccharomyces cerevisiae*, дозволяє використовувати молекулярні інструменти та безліч даних, розроблених для цих організмів, для орієнтованих на застосування та базових досліджень дріжджів для біоконтролю [1,2].

Біологічний контроль здебільшого розглядається та вивчається з огляду на вид/ізолят. Різні види/ізольати перевіряються на цільовий патоген рослин, а найбільш активний організм вивчається щодо його потенціалу для застосування в біоконтролі. Однак для успішного застосування та вдосконалення організмів біоконтролю потрібно розуміти задіяні механізми біоконтролю, а потім підтвердити їх експресію в польових умовах [1].

Епіфітні дріжджі у складі засобів біоконтролю є перспективною альтернативою хімічним фунгіцидам для боротьби з післязбиральною гниллю фруктів, овочів і зерна. Система біоконтролю на основі дріжджів складається з

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Станішевська М.Є.</i>			<i>ВСТУП</i>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Архивів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Красінько В.О.</i>					7	108
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

тритрофічної взаємодії між хазяїном (товаром), патогеном і видами дріжджів, на всі з яких впливають фактори навколишнього середовища, такі як температура, рН та УФ-світло, а також осмотичні та окислювальні стреси. Крім того, під час виробничого процесу агенти біоконтролю стикаються з різними серйозними абіотичними стресами, які також впливають на їх життєздатність. Таким чином, розуміння екологічної придатності потенційних агентів біоконтролю дріжджів і розробка стратегій для підвищення їх стійкості до стресу є важливими для їх ефективності та комерційного застосування [1,3].

Перевагами епіфітних антагоністів, виділених із поверхні плоду, є їх здатність покращувати стадію дозрівання плоду. Крім того, відомо, що члени мікробіому фруктів виробляють багато молекул, які можна використовувати у боротьбі з грибними патогенами. Доведено, що леткі органічні сполуки (ЛОС), які виробляються епіфітними дріжджами, викликають індукцію резистентності плодів і пригнічують розвиток патогенів плодів. Епіфітні дріжджі синтезують біологічно активні речовини, які, як правило, нешкідливі для навколишнього середовища і людини в тому числі, що не можна сказати про сучасні фунгіцидні препарати. Наразі пропонується використовувати саме дріжджі, що виділені з поверхні рослинної сировини чи продукції, оскільки вони борються саме з захворюваннями, тоді як ендоефітний механізм дії не спрямований безпосередньо на патогени, а зосереджений на покращенні здорового метаболізму плоду [3].

Rhizoctonia solani наразі визнано як один з найважливіших грибних патогенів овочів. До цих культур відносять помідори, цукіні, салат латук, цукровий буряк, рукколу, огірки, соя та навіть картопля [4,5]. Крім того, дані гриби псують пшеницю, рис, бавовник, баштанні культури, декоративні рослини, а також лісові дерева [6-8]. Поточні засоби культурального та хімічного контролю не є повністю ефективними для боротьби з хворобами *Rhizoctonia*, а тому вони залишаються постійною проблемою. Крім того, резистентність до *R. solani* у жодного виду рослин не існує [9].

Агробізнес – це локомотив української економіки. Україну історично називають житницею Європи, оскільки тут зосереджено близько 25% світових

чорноземних ґрунтів, відомих високим рівнем родючості. Країна також є найбільшим у світі експортером соняшnikової олії та одним із найбільших експортерів зерна. Основні сільськогосподарські культури України – це яра та озима пшениця, кукурудза, жито, ячмінь, овес, соняшник, соя, цукрові буряки, картопля, цибуля, часник, горіхи, виноград, ріпак, капуста, помідори, огірки, перець, баклажани, кавуни, дині. Як видно, частина важливих для нашої країни культур підпадають до ризику зараження грибами *R. solani* [10,11].

Рис – традиційна тропічна культура, але його вже понад сто років вирощують і в Україні. За цей час з'явилося чимало сортів, які найбільше пристосовані до українського клімату. Традиційними регіонами вирощування рису в Україні є Крим та південь. Після анексії півострова країна втратила близько половини посівних площ. Зараз у південних регіонах щороку збирають 65-70 тис тонн рису, що становить 30-35% від потреб внутрішнього ринку [12].

Звичайний українець споживає менше 3 кг рису на рік. Це в десятки разів менше, ніж у Китаї, де норма на людину – понад 70 кг. Для внутрішнього ринку Україні потрібно 180-200 тис тонн рису на рік [12].

Величезну роль сільське господарство відіграє і в структурі експорту. Станом на кінець 2019 року агросектор приніс країні майже 40% валютної виручки, демонструючи стабільність до 2022 року, через напад сусідньої країни. Війна майже знищила експорт. Але, поки порти були закриті, агросектор для експорту використовував автотранспорт і залізницю. Завдяки цим каналам станом на 2023 рік обсяг експорту вийшов майже в 50 000 т на місяць. А після відкриття зернового коридору було відновлено експорт через Босфор, збільшили місячний обсяг експорту до 80 000–100 000 т [10,13].

Постачання продовольства можна було б значно збільшити, намагаючись мінімізувати втрати врожаю. Ряд досліджень показали, що втрати продовольчого зерна після збору врожаю досягають 20 або навіть 40% залежно від культури та країни. Втрати відбуваються через погане управління збором урожаю, ураження комахами, гризунами та грибками при зберіганні, неякісній тарі, поганому транспортуванні, неякісному зберіганні в холодильниках і ін.. Використання

надзвичайно низьких рівнів екстракції для задоволення передбачуваних смаків міських споживачів означає менше їжі для людей і більше корму для тварин, а також менш поживний кінцевий продукт [14].

У рисі є жири, які при тривалому зберіганні стають неякісними, що спричиняє псування готового продукту. Крім того, під час тривалого зберігання рис обробляють фумігаторами від шкідників. Ці речовини можуть накопичуватися в зерні. Також, рис обробляють і під час його вирощування, що призводить до ще більшого накопичення хімічних речовин, які потенційно можуть негативно впливати на здоров'я людини [12].

Тому, актуальністю теми є застосування епіфітних дріжджів, як одного з механізмів біоконтролю псування післязбиральної рослинної сировини та продукції задля зменшення продовольчих втрат.

Новизною роботи є застосування епіфітних дріжджів *Torulasporea indica* DMKU-RP31 у складі біопрепарату для контролю *R. solani* рису [15].

РОЗДІЛ 1

МІЦЕЛІАЛЬНІ ГРИБИ, ЩО ЗУМОВЛЮЮТЬ ПСУВАННЯ ПРОДУКТІВ (СИРОВИНИ) РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

1.1. Види міцеліальних грибів, які зумовлюють псування продуктів (сировини) рослинного походження

Післязбиральна грибкова інфекція фруктів і овочів в основному спричинена грибковими патогенами, які можуть бути шкідливими як для людини, так і для тварин, оскільки вони виробляють різні токсичні речовини. Післязбиральні захворювання фруктів і овочів є серйозною проблемою, яка призводить до втрати великого відсотка врожаїв, що досягає 50% у деяких рослинних продуктах [15].

Найбільш поширеним джерелом мікробного псування є розвиток цвілі. Хлібні плісняви, такі як *Mucor* і *Rhizopus*, виявляються першими під час псування хліба. Далі йдуть деякі інші гриби, такі як *Aspergillus*, *Penicillium* і *Fusarium*. Серед них *Penicillium* sp. є найпоширенішим, а *Aspergillus* sp. частіше зустрічається в зіпсованих продуктах у тропічних країнах. Колір плісняви, що розвивається на хлібі, варіює від білого, золотисто-жовтого до зелено-сірого, залежно від виду та ступеня спороношення [17].

Через високу кількість грибів у зерні та борошні та фізико-хімічні характеристики хлібобулочних виробів, грибкове псування відіграє важливу роль. Зараження грибками відбувається переважно після випікання через відкладення спор цвілі з повітря, засобів обробки, поверхонь, обладнання для нарізки, охолодження та упаковки. Крім того, велика кількість грибкових спор у борошні та зерні, а також гігієна та умови процесу можуть сприяти псуванню кінцевого продукту. Незважаючи на наявність видимого міцелію в хлібі, грибки також відповідають за зміни сенсорних властивостей цих продуктів через синтез екзоферментів (таких як ліпази, протеази та карбогідрази) і вторинних

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Станішевська М.Є.			РОЗДІЛ 1 МІЦЕЛІАЛЬНІ ГРИБИ, ЩО ЗУМОВЛЮЮТЬ ПСУВАННЯ ПРОДУКТІВ (СИРОВИНИ) РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Красінько В.О.					11	108
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

метаболітів, які можуть становити ризик для здоров'я споживача. Основні види грибів, які викликають псування хліба, належать до родів *Penicillium*, *Aspergillus* (анаморфа та телеоморфа), *Cladosporium*, *Mucor*, *Rhizopus* та *Neurospora* [18].

A. niger часто зустрічається в ананасі, кавуні, апельсинах, папайї та помідорах з частотою 38%. *F. avenaceum* також можна доволі часто зустріти на цих зіпсованих рослинах. *P. digitatum* та *R. stolonifer* рідко, але можуть стати причиною псування томатів, а також апельсинів (лише для *Rhizopus*). Види патогенних грибів, пов'язані з псуванням фруктів, мають економічне значення та значення для охорони здоров'я. Деякі штами *A. niger* виробляють потужні мікотоксини, які називаються охратоксинами, які можуть бути шкідливими для людей і тварин [19,20].

Псування томатів — це несприятливі зміни якості томатів, які викликані дією переважно біологічних і фізичних факторів. Це можуть бути зміни смаку, запаху, зовнішнього вигляду або текстури фруктів. Гриби, що вражають томати, включають *A. phoenicis*, *Absidia* spp, *Trichoderma* spp, *Alternaria alternata*, *F. oxysporum*, *F. moniliformis*, *A. niger*, *Mucor* spp, *R. stolonifer*, *Penicillium* spp, *Geotrichum* spp і *Phytophthora* spp [21]. Цікавим фактом є те, що гриби часто зустрічаються у зразках консервів томатів. До цього списку відносять *Candida* sp., *Mucor* sp., *A. niger* та *Penicillium* sp. [22].

Частою причиною втрати цибулі під час зберігання є гнилі цибулин. Вони викликаються мікроорганізмами, особливо грибами. Чорна пліснява, викликана *A. niger*, є обмежуючим фактором у виробництві цибулі в усьому світі. Повідомлялося, що *A. niger* виживає між посівами цибулі як ґрунтовий сапрофіт у або на цибулинах у полі або на сховищах і повсюдно поширений у природі. Гриб вражає цибулини цибулі в полі або на сховищі щоразу, коли вони знаходять пошкоджені тканини, виробляючи різні ферменти або токсини. Асоціація *A. niger* з насінням цибулі, вирощеним у жаркому кліматі, та їх передача з ґрунту та природно забрудненого насіння на цибулю-сіянку спричиняє втрату або псування 30-80% посівних цибулин овочу [23].

Плоди огірків, вирощених у польових умовах і при транспортуванні, уражаються післязбиральними хворобами, що призводять до псування плодів. Післязбиральна псування плодів в основному викликана грибками. Деякі патогенні гриби, такі як *A. tenuis*, *A. alternata*, *Aspergillus* spp., *Bipolaris* sp., *Botrytis cinerea*, *Cladosporium tenuissimum*, *C. cladosporioides*, *Corynespora cassiicola*, *Choanephora cucurbitarum*, *Curvularia* sp., *Didymella bryoniae*, *F. equiseti*, *F. solani*, *G. candidum*, *P. oxalicum*, *P. capsici* та *R. nigricans*, пов'язані з гниллю як незрілих, так і зрілих плодів огірка. За оцінками, приблизно 20-30% усіх вироблених фруктів і овочів втрачається щороку через псування внаслідок післязбиральних хвороб. Економічні втрати через післязбиральні хвороби можуть досягати 50 % або навіть більше в країнах, що розвиваються [24].

Останніми роками є деякі повідомлення про несприятливі побічні ефекти рослинних препаратів. Такі реакції, як правило, зумовлені споживанням рослинної лікарської сировини, зараженої цвіллю та мікотоксинами. Сировина рослинних препаратів має найвищий шанс зараження різними грибами через ненаукові умови зберігання, особливо в тропічних і субтропічних країнах, таких як Індія, де висока температура і вміст вологи сприяють росту грибів і виробленню мікотоксинів. Мікотоксини можуть впливати на печінку, нирки, нервову систему, м'язову систему, систему травлення, статеву систему та дихальні органи людини. Найпоширенішими мікотоксинами, про які повідомляють у зберіганні рослинної лікарської сировини, є афлатоксини (виробляються *A. flavus*, *A. parasiticus* та кількома штамми *A. nomius*), охратоксин (*A. ochraceous*), цитринін (*P. citrinum*), зеараленон (*Fusarium* spp. і *Gibberella* spp.) і фумонізін (*Fusarium* spp.). Велика кількість звітів дослідників про наявність мікофлори на рослинній лікарській сировині показує, що види *Aspergillus* і *Penicillium* є найбільш домінуючими серед токсигенних плісняви, пов'язаних із сировиною [25].

Цитрусові є важливою фруктовою культурою в усьому світі, особливо в тропічних і субтропічних регіонах по всьому світу, і цитрусові містять багато поживних компонентів, корисних для здоров'я людини. На післязбиральному етапі, включаючи обробку, транспортування, зберігання та маркетинг, фрукти

піддаються ряду біотичних або абіотичних стресів, а гниття плодів і ризику для безпеки харчових продуктів, спричинені післязбиральними грибковими захворюваннями, є одними з найсерйозніших проблем. Зелена пліснява та блакитна пліснява, спричинені *P. digitatum* та *P. italicum* відповідно, є двома найважливішими післязбиральними хворобами в усіх районах виробництва цитрусових [17].

Авокадо наразі є важливим комерційним продуктом, який використовують у здоровому харчуванні як компонент салатів, брускет та інших страв, а також з нього виробляють авокадову олію. Згідно останніх досліджень, на плодах авокадо переважають гриби родів *Aspergillus*, *Penicillium* spp., *Rhizopus* sp., *Fusarium* spp. і *Candida* spp. Було показано, що всі п'ять ізольованих організмів різною мірою шкідливі для плодів. *A. niger* був найменш патогенним і викликав найменшу кількість плодової гнилі серед усіх ізольованих грибів, тоді як *R. stolonifer*, *F. solani*, *C. tropicalis* і *P. digitatum* були найбільш патогенними та викликали найшвидший розпад фруктів [26].

Виніфікація міцного винограду є важливою вимогою для виробництва високоякісних вин, єдиним винятком для яких є ботритизований виноград («благородна гниль»). Виноградна гниль зазвичай знижує якість сприйняття вина, виготовленого з гнилого винограду. *Botrytis cinerea*, *Penicillium* spp. Та інші види гнилі знищують фруктові аромати, типові для сорту винограду, і часто призводять до появи затхлого, земляного або пліснявого присмаку та гіркового смаку. Комбінації різних нитчастих грибів, окисних дріжджів і ацетогенних бактерій викликають кислу гниль, що робить заражений виноград непридатним для виробництва вина. Зараження винограду *B. cinerea* або борошністою росю (*Erysiphe necator* Schw., syn. *Uncinula necator* (Schw.) Burr.) призводить до помітного побуріння білих і червоних сортів і субстантів. Хімічний склад винограду змінюється через деградацію цукрів і кислот і виробництво мікробних метаболітів, таких як гліцерин і глюконова кислота. Крім того, мікробне утворення біогенних амінів і мікотоксинів є основною проблемою безпеки харчових продуктів через їх токсичність, що впливає на здоров'я людини. Біогенні аміни, такі як гістамін,

мають високу біологічну активність у людей, спричиняючи несприятливі ефекти. Повідомлялося про підвищення вмісту біогенних амінів у винограді, зараженому *B. cinerea* та *Penicillium* spp. І похідне сушло та вино. Крім того, *P. expansum* та інші види *Penicillium*, що інфікують виноград, можуть виробляти патулін, викликаючи важкий токсикоз із шлунково-кишковими розладами та іншими токсичними ефектами. Технологічні проблеми під час виніфікації, наприклад, порушення бродіння та утруднене освітлення можуть бути результатом гнилі винограду [27].

Традиційно спори термостійкої плісняви (HRMS) пов'язують із псуванням продуктів на основі пастеризованих фруктів. Ці спори широко поширені у виноградниках, садах і полях, на яких вирощують фрукти, де вони можуть виживати тривалий час завдяки своєму так званому стані «спокою» і, як наслідок, це може забруднити сировину, яка контактує з ґрунтом, перед доставкою на переробне підприємство. Найбільш поширені та економічно значущі термостійкі види належать до родів *Byssochlamys*, *Neosartorya*, *Talaromyces* та *Eupenicillium*. Тим не менш, на сьогоднішній день у зіпсованих харчових продуктах, які пройшли термічну обробку, було виявлено велику кількість інших термостійких грибів. Наприклад, *Rasamsonia* spp. Можуть спричинити псування пастеризованого ананасового продукту в Японії, а *Monascus* було виділено з пастеризованих зелених оливок. Зовсім недавно *Hamigera* і *Thermoascus* spp. Були ідентифіковані як причина псування продуктів на основі полуниці та підсолодженого напою, відповідно, а *Humicola* spp. Були відповідальними за псування кількох пляшок органічного яблучного соку [28].

Neosartorya spp. Відомі як *Ascomycetes* і належать до родини *Aspergillaceae*. Вони виявляють унікальні термостійкі властивості, що дозволяє їм витримувати високі температури. *Neosartorya* spp. Гриби вважаються телеоморфою (статевий стан) *Aspergillus* spp. І, отже, утворюють аскоспори. Орнаментація аскоспор є однією з ключових ознак, що дозволяє диференціювати види *Neosartorya*. Присутність *Neosartorya* на коренях рослин можна охарактеризувати як умовно-патогенну для грибка або взаємовигідну для обох сторін. У першу чергу грибок

може бути залучений до пошкоджених або хворих коренів через його сапрофітну природу. Потім це прискорює гниття і ще більше псує рослину [29].

Відомо, що гриби *Mucorales* забруднюють широкий спектр харчових продуктів. Повідомляється, що *Mucorales* псують перці, чорний чай, трав'яний чай. Гриби знаходять в ліофілізованих супах і солодкому печиві. Споживання цих харчових продуктів є потенційним ризиком для пацієнтів з ослабленим імунітетом. Протягом багатьох років відомо, що *R. oryzae*, який відноситься до *Mucorales*, легко заражає зерно, цибулю, різні горіхи та насінневу картоплю, що зберігається. Зараження мукормікозом через їжу серед груп високого ризику залишається проблемою в клінічних умовах. Шлунково-кишковий мукормікоз може виникнути внаслідок проковтування, але існує ймовірність, що ця інфекція походить з легенів. Однак лише виявлення в мікобіомі харчового продукту представляє потенційно нижчий ступінь впливу, ніж споживання зіпсованої або ферментованої пліснявою їжі, де грибкова біомаса зростає на кілька порядків. Деякі *Mucorales* є неуточненими паразитами сокових тканин вищих рослин. Різновиди *Rhizopus* зазвичай викликають м'яку гниль таких фруктів, як яблука, сливи та помідори. *Mucor* і *Rhizopus* також викликають післязбиральну псування яблук і груш, ягід, помідорів, баклажанів, вишні, персиків, цибулі та картоплі, капусти, а також різних зернових, салямів та інших продуктів з низькою або середньою активністю води [30].

Узагальнені дані щодо найпоширеніших збудників псування рослинної сировини та продукції мікроміцетного походження наведено у табл. 1.1.

Таблиця 1.1.

Культури міцеліальних грибів, які псують рослинну сировину та продукцію

Рослинна культура/продукція, що піддається ураженню	Гриб	Частота ізоляції грибних штамів, %	Література
Цибуля	<i>A. niger</i>	27	[17]
	<i>Mucor</i>	16	
	<i>P. marneffeii</i>	4	

Хліб	<i>A. flavus</i>	31	[17]
	<i>Rhizopus</i>	22	
	<i>Mucor</i>	16	
Лимон	<i>A. flavus</i>	31	
	<i>Mucor</i>	16	
	<i>P. marneffeii</i>	4	
	<i>Aspergillus</i> spp. з телеоморфним <i>Neosartorya</i>	5,6	[28]
	<i>Talaromyces</i>	52,2	
	<i>Monascus</i>	15	
Полуниця	<i>Byssochlamys</i>	5,6	
	<i>Aspergillus</i> spp. з телеоморфним <i>Eurotium</i>	38,9	
	<i>Aspergillus</i> spp. з телеоморфним <i>Neosartorya</i>	88,9	
	<i>Arthrimum</i>	5,6	
	<i>Rasamsonia</i>	5,6	
	<i>Thermoascus</i>	5,6	
Чорниця	<i>Byssochlamys</i>	66,7	
	<i>Aspergillus</i> spp. з телеоморфним <i>Eurotium</i>	33,3	
	<i>Aspergillus</i> spp. з телеоморфним <i>Neosartorya</i>	100	
	<i>Talaromyces</i>	16,7	
	<i>Rasamsonia</i>	16,7	
	<i>Penicillium</i> (склеротигенні ізоляти)	50	
	<i>Thermoascus</i>	16,7	
Ананас	<i>A. niger</i>	38	[19]
	<i>F. avenaceum</i>	31	
	<i>F. solani</i>	8	
Кавун	<i>A. niger</i>	38	
	<i>F. avenaceum</i>	31	
	<i>F. solani</i>	8	
Папая	<i>A. niger</i>	38	
	<i>F. avenaceum</i>	31	
Помідор	<i>A. niger</i>	38	
	<i>F. avenaceum</i>	31	
	<i>F. solani</i>	8	
	<i>A. flavus</i>	5	
	<i>P. digitatum</i>	4	
	<i>R. stolonifer</i>	5	

Апельсин	<i>A. niger</i>	38	[19]
	<i>F. avenaceum</i>	31	
	<i>F. solani</i>	8	
	<i>R. stolonifer</i>	5	[31]
	<i>F. oxysporum</i>	3	
	<i>C. tropicalis</i>	4	
Морква	<i>P. digitatum</i>	16	[32]
	<i>R. stolonifer</i>	32	
	<i>A. niger</i>	40	
	<i>A. alternata</i>	12	

1.2. Види біоконтролю міцеліальних грибів

Застосування фунгіцидних сумішей до посівів є рекомендованою практикою. Суміші, де фунгіциди можуть діяти синергічно, мають додаткову привабливість, оскільки вони дозволяють використовувати зменшені дози кожної сполуки для бажаного рівня інгібування, потенційно знижуючи витрати та вплив на навколишнє середовище. Враховуючи, що використання хімічних фунгіцидів залишається важливим компонентом доступних стратегій захисту рослин, використання синергії фунгіцидів допомагає задовольнити попит на зменшення використання хімікатів, зберігаючи при цьому переваги потужного захисту від грибків. Однак цю стратегію слід використовувати обережно, оскільки резистентність до однієї сполуки скасує ефект комбінації, тобто другий агент може мати надто низьку концентрацію, щоб сам по собі інгібувати ріст грибка. Наразі популярність набирають біофунгіциди [33].

Джерела натуральних продуктів створюють можливості для відкриття природних інгібіторів грибків. Речовини із притаманною фунгіцидною активністю були виділені з різних джерел, починаючи від рослин і тварин і закінчуючи морськими організмами. Перспективні НЧ можуть бути додатково вдосконалені шляхом хімічної оптимізації. Ще одним прикладом підвищення потенціалу НР є зростаюча кількість доступних біофумігантів. Біофумігація описує занесення свіжозібраного покривного врожаю в ґрунт, що дозволяє розщепленню врожаю

вивільняти глюкозинолатні продукти (тобто ізотіоціанати), які «дезінфікують» ґрунт. Цей процес також підтримує потенційні інгібіторні властивості грибків. При застосуванні біофумігації для боротьби з патогеном пшениці *F. graminearum* було показано, що обробка шару мульчі, що складається з покривних культур (наприклад, білої гірчиці, індійської гірчиці, конюшини берземської), пригнічує інфекцію, зменшує навантаження мікотоксинів і покращує врожайність зерна [33].

Специфічні стратегії боротьби з грибами допомагають вирішити екологічні проблеми за допомогою фунгіцидів і потенційної токсичності через харчовий ланцюг. РНК-інтерференція дозволяє експресію дволанцюгових молекул РНК (dsRNA) або малих РНК (sRNA), які можуть спеціально націлюватися на вірулентні гени грибкових фітопатогенів, щоб допомогти захистити рослини від грибкових інфекцій. Інгібіторні РНК можуть бути доставлені або шляхом трансгенної експресії dsРНК, хоча такий підхід викликає занепокоєння, пов'язані з ГМО, або прямим застосуванням dsРНК або sРНК у рослинах-господарях для встановлення цілеспрямованого глушіння. Показано, що розпилення РНК, націлених на критичні грибкові гени, пригнічує інфекції фітопатогенів, таких як *F. graminearum*, *B. cinerea* та *Sclerotinia sclerotiorum*, на різноманітних культурах. Докази свідчать про те, що РНК можуть або безпосередньо поглинатися патогенами, або можуть накопичуватися в рослині, звідки РНК переносяться в клітини грибів [33].

Біоконтроль також вивчався як більш природна альтернатива хімічним фунгіцидам для боротьби з різноманітними грибковими інфекціями в сільському господарстві. Займаючи подібні екологічні ніші, кілька видів грибів роду *Trichoderma* можуть обмежувати розповсюдження основних патогенів, таких як *Fusarium* spp. і *B. cinerea*. Біоконтроль передбачає конкуренцію за простір і поживні речовини, синтез протигрибкових речовин і вторинних метаболітів або біологічний ініціатор стійкості рослин. В даний час використання засобів біоконтролю не забезпечує повного контролю, тому їх зазвичай застосовують у поєднанні з фунгіцидами. В іншій формі контролю сигнальні молекули рослин, такі як саліцилова кислота та жасмонова кислота, можуть індукувати стійкість рослин до грибкових патогенів, що відкриває можливості для використання в боротьбі з

грибами. Для боротьби з грибками після збору врожаю іноді використовують обробку УФ-С, яка застосовується в низьких дозах. Така дія викликає реакцію рослини, яка включає збільшення виробництва вторинних метаболітів і підвищення стійкості до грибкових патогенів, таких як *B. cinerea* [33].

Стійкість до хімічних фунгіцидів вже є достатньо відомою, і деякі з вищезазначених стратегій також можуть бути підірвані появою резистентності, оскільки вони чинять вибірковий тиск на гриби, щоб вони адаптувалися (або були пригнічені/вбиті). Нещодавно була охарактеризована невелика група (мет)акрилатних полімерів, які ефективно блокують прикріплення спор *B. cinerea* до вкритих розпиленням поверхонь листя. Подібні матеріали також протистояли прикріпленню *Zymoseptoria tritici*. Цей антиприкріплюючий ефект полімерів є пасивним, перешкоджає першому етапу зараження, не вбиваючи патогенів (або не пошкоджуючи листя). Хімічно споріднені полімери вже використовувалися як ад'юванти в комерційних фунгіцидних композиціях, наприклад для полегшення доставки активних фунгіцидів, що свідчить про безпечне використання цих типів матеріалів у полі [33].

Хоча обмеження кисню використовується для контролю росту нитчастих грибів, *Paecilomyces fulvus* (раніше *B. fulva*) і *P. niveus* (раніше *B. nivea*), *P. expansum* і *P. roqueforti*, *Galactomyces* spp. і *Xeromyces bisporus* здатні рости з меншими витратами кисню. У продуктах з гарячим наповненням, які зберігаються на полицях, вакуум використовується як інгібітор плісняви, але деякі грибки, що викликають псування, подолали цю проблему завдяки наявності залишкового кисню. Цей ризик підвищений у продуктах із слабшим вакуумом і дещо вищим загальним вмістом кисню в упаковці через нижчі температури наповнення, в'язкі матриці та упаковки без герметичного ущільнення. Активність кислоти та води (A_w) є звичайними засобами контролю складу, які загалом пригнічують ріст бактерій, але ріст грибів відбувається в більш широкому діапазоні фізико-хімічних умов, ніж ріст більшості бактерій, які сприяють псуванню. Гриби ростуть у харчових продуктах при $pH < 2$ (органічні кислоти) до > 9 (мінеральні води) і активності води від 0,61 до 0,99. Фактично, деякі гриби можуть використовувати

органічні кислоти як джерела вуглецю, згодом збільшуючи рН продукту, сприяючи росту бактерій. Слабкі кислотні консерванти, бензоат і сорбат, також можуть бути розщеплені грибками, і їх використання сприяє вибору внутрішньо стійких видів [34].

Осмоторантні/осмофільні та ксероторантні/ксерофільні дріжджі та нитчасті гриби дуже залежні від показника A_w для свого розмноження. Ідентичність розчиненої речовини впливає на здатність даного виду до реплікації. Дріжджі краще розвиваються у середовищах з високим вмістом цукру, ніж у продуктах з високим вмістом солі або сухих продуктах того ж A_w . *Zygosaccharomyces bailii*, звичайні дріжджі-збудники псування, дещо вибагливі до поживних речовин і можуть використовувати лише певні пентози та гексози та потребують додаткового джерела азоту, відокремленого від джерела вуглецю. Нитчасті гриби були виділені з морської солі, і *Xeromyces* можуть розмножуватися в середовищах з A_w до 0,61. Нитчасті гриби також відомі своєю здатністю витримувати перепади температур. Статеві спори деяких аскоміцетів витримують екстремальну термічну обробку, виживаючи навіть в умовах, які використовуються для отримання стабільних продуктів з високим вмістом кислоти, які є «комерційно стерильними», або так званими. Крім того, температури охолодження, які використовуються для обмеження росту більшості мікроорганізмів, сприяють селекції психротолерантних бактерій і грибків. Обмежувальні умови росту, які використовуються у виробництві харчових продуктів, перешкоджають рідній мікробіоті, якщо вони виживають під час обробки. Майже стерильна природа цих продуктів дозволяє тим мікробним забруднювачам, які можуть реплікуватися, не стикаючись із високим рівнем конкуренції [34].

РОЗДІЛ 2

ЕПІФІТНІ ДРІЖДЖІ, ЯК ЗАСІБ БІОКОНТРОЛЮ МІЦЕЛІАЛЬНИХ ГРИБІВ

2.1. Епіфітні дріжджі, які потенційно можна застосовувати для біоконтролю міцеліальних грибів

B. cinerea, збудник сірої плісняви, є переважаючим агентом, який спричиняє значні втрати врожаю та якості яблук. Наразі, використання препаратів мікроорганізмів для боротьби з грибковими захворюваннями як альтернатива фунгіцидам стало гострою потребою. Найбільш перспективні штами епіфітних дріжджів, які були виділені з поверхні яблук, показали зону пригнічення збудника грибка в 10 мм. *In vivo* ці ізоляти показали чудову протигрибкову активність, оскільки вони значно зменшили тяжкість захворювання яблук з 63% до 95%. Штами *Aureobasidium pullulans* L7, *Citeromyces matritensis* L2 і *Cryptococcus flavescens* L10, були високоефективними проти сірої плісняви та можуть бути використані як потенційні агенти біоконтролю для контролю післязбиральної гнилі яблук, спричиненої *B. cinerea* [35].

Грибкові патогени спричиняють більші втрати врожаю рослинних культур в локальному та глобальному масштабі. Грибкові патогени, що походять із ґрунту, та вражають виноград включають: *A. niger*, відповідальний за виробництво охратоксину А у винограді та вині, *B. cinerea*, який викликає гниль грон і виробляє неприємний присмак у продуктах з винограду, *Colletotrichum acutatum* і *C. nymphaeae*, які викликають стиглу гниль і антракноз гілок, *P. expansum* і *P. glabrum*, які викликають післязбиральну гниль плодів і утворюють леткі сполуки, такі як геосмін, а також мікотоксини, такі як цитринін і патулін; та ооміцет *Plasmopara viticola*, який викликає несправжню борошністу росу. Поява у виноградниках та присутність на надземних частинах винограду цієї

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата					
Розроб.	Станішевська М.С.				РОЗДІЛ 2 ЕПІФІТНІ ДРІЖДЖІ, ЯК ЗАСІБ БІОКОНТРОЛЮ МІЦЕЛІАЛЬНИХ ГРИБІВ				
Перевір.	Красінко В.О.			Літ.				Арк.	Аркуші
Реценз.								22	108
Н. Контр.				Кафедра БТМ					
Затверд.	Стабніков В.П.								

групи нитчастих грибів може негативно вплинути на силу та розвиток лози, завдаючи значної шкоди післязбиральним плодам до та під час зберігання. Вони природним чином здатні виробляти спори, які є дуже стійкими до звичайних пестицидів та деяких інших санітарних заходів. Альтернативним рішенням може бути застосування епіфітних дріжджів, а саме *Wickerhamomyces anomalus* HN1, *A. pullulans* (штами LHX3 та Y11), *C. intermedia* AUMC 10767, *Rhodotorula glutinis* (штами AD407 та IFM 55305), *Metschnikowia pulcherrima* CBS:2256, *Zygoascus meyeriae* 118 і *Starmerella bacillaris* IWBT-Y505, які продемонстрували високу потенційну біоконтрольну активність проти *A. niger*, *B. cinerea*, *C. acutatum*, *C. nymphaeae*, *P. expansum* і *P. glabrum* [36].

Епіфітні дріжджі було виділено з поверхні ягід винограду сорту «Каберне Совіньон» і «Маратефтіко». Загалом 55 ізолятів дріжджів було оцінено в попередньому скринінговому тесті на агарі, щоб відібрати ізоляти, які демонструють інгібування проти охратоксигенного штаму *A. tubingensis*. Найвищу антагоністичну активність показали ізоляти *A. pullulans*, з ефективністю біоконтролю в межах від 17,1% до 95,7% [37].

Сіра пліснява *B. cinerea* також може бути причиною псування винограду. Дріжджі проти цвілі були виділені з епіфітної флори, пов'язаної з ягодами та листям винограду «Томпсон без кісточок». Два види дріжджів, включаючи *M. guilliermondii* та *C. membranifaciens*, мали високу антагоністичну здатність проти збудника. Ізоляти були здатні продукувати леткі та нелеткі речовини, які пригнічували ріст збудника. На невеликих гронах з непошкодженими ягодами всі антагоністичні ізоляти значно зменшили гниття ягід винограду, а інгібування сірої плісняви на плодах, оброблених цими ізолятами, становило близько 50% [38].

Дріжджі стали більш цікавими серед агентів біоконтролю, оскільки вони мають прості потреби в живленні та ростуть швидше, ніж грибкові патогени в дуже несприятливих умовах навколишнього середовища. Застосування *C. oleophila*, *C. sake*, *Debaryomyces hansenii*, *Kloeckera apiculata*, *Metschnikowia fructicola*, *M. pulcherrima*, *C. laurentii*, *Pichia anomala*, *P. guilliermondii*, *Meyerozyma caribbica* (анаморфа *C. fermentati*), *A. pullulans*, *R. glutinis* і *P. membranaefaciens*, показало

багатообіцяючі результати в боротьбі з гниттям цитрусових. Дріжджі відомі тим, що не утворюють алергенних спор і вважаються нешкідливими для людини. Токсикологічне дослідження *C. famata*, *C. laurentii*, *D. hansenii*, *M. caribbica* та *M. guilliermondii* додатково продемонструвало їх нешкідливість для потенційних споживачів. *M. citriensis* FL01T та FL02, *C. oleophila* FL14 та *P. antarctica* FL17 було ізольовано з листя цитрусових. Штами показали високу антагоністичну активність проти *P. digitatum* та *P. italicum*. Ці види дріжджів можна розділити на два загальні класи відповідно до їх механізмів боротьби з патогенами: види, які спричиняють пригнічення росту патогенів, які переважно добре пристосовані до середовища, включаючи *M. citriensis* FL01T і FL02 і *C. oleophila* FL14; види, які спричинили серйозне пошкодження клітин і лізис, подібні до *P. antarctica* FL17 [39].

Штами епіфітів *A. pullulans* GE17 і *Meyerozyma guilliermondii* KL3 показали високу антагоністичну активність проти двох значних післязбиральних патогенів яблук і лимонів, *P. expansum* DSM62841 (блакитна цвіль) і *P. digitatum* DSM2750 (зелена цвіль). Було встановлено, що антагоністична активність двох вивчених штамів дріжджів виникла за допомогою комбінації кількох механізмів дії, включаючи конкуренцію за простір і поживні речовини, виробництво летких органічних сполук, секрецію позаклітинних літичних ферментів і інгібування проростання грибкових спор. Найвище пригнічення росту міцелію на *P. expansum* DSM62841 і *P. digitatum* DSM2750 (83,4% і 74,7% відповідно) було досягнуто при використанні однієї культури *A. pullulans* GE17. В іншому випадку застосування змішаної культури у співвідношенні 10^8 клітин/мл пригнічувало проростання спор обох патогенів на 86-95% [40].

Помело – ще один популярний комерційний цитрус. Однак багато різних захворювань, особливо бура плямистість, спричинена грибом *Alternaria* на помело, напряду впливає на його якість. Вісім штамів дріжджів були виділені зі здорового листя, плодів помело та здорових ягід шовковиці. Їх перевірили на біологічну активність проти *Alternaria* sp.. Інгібіторна ефективність коливалася від 10,46% до 59,86%. Штам з найвищим відсотком (59,86%) був ідентифікований як *C. tropicalis* штам YZ27 [41].

Антракноз, спричинений *Colletotrichum gloeosporioides*, був найпоширенішим післязбиральним грибковим захворюванням, що вражало папайю «Frangi», де захворюваність і тяжкість захворювання становили 90-98% і 25-38% відповідно, а масштаби зростали в міру дозрівання плодів. Штами епіфітних дріжджів виділяли з плодів папайї, листя, черешка та стовбура для боротьби з появою антракнозу після збору врожаю. З 29 виділених дріжджів лише п'ять штамів YK, YC, YT, YA та YW продемонстрували найвищий відсоток інгібування радіального росту (70,3, 60,8, 59,5, 59,5 та 59,5% відповідно). На жаль, аналізу щодо визначення родової та видової належності дріжджів проведено не було [42].

Як загальні грибкові патогени рослинної сировини найчастіше за все виділяють: *A. alternata*, *P. expansum* і *B. cinerea*. Також, окремо виокремлюють хвороби, що передаються через ґрунт (*Verticillium dahliae* і *F. oxysporum*). Результати випробувань *in vivo* продемонстрували, що уражені грибками рослини томатів, вирощені в умовах гідропоніки або в ґрунті, продемонстрували значне зниження тяжкості захворювання після обробки дріжджами. *W. anomalus* Wa-32 мав антагоністичні властивості щодо двох патогенів та зменшив тяжкість захворювання до 40% (*V. dahliae*) і 50% (*F. oxysporum*). Особливості Wa-32 становлять величезний інтерес, оскільки не існує ефективного антагоністичного продукту біоконтролю для одночасного контролю цих двох грибкових патогенів. Найкращий захист від *B. cinerea* був досягнутий з *W. anomalus* Wa-32 і двома штамми *M. pulcherrima* (Mp-22 і Mp-30). Найкращими антагоністичними штамми *P. expansum* були *C. lusitaniae* Cl-28, *C. oleophila* Co-13, *D. hansenii* Dh-67 і *Nyropichia pseudoburtonii* Hp-54. Ці ефекти біоконтролю також були продемонстровані на винограді та яблуках [43].

Дослідження 2020 року показало можливість використання епіфітних дріжджів як біологічні засоби боротьби з гниллю проростків рису, спричиненою *Curvularia lunata* та *Helminthosporium oryzae*. Було виявлено, що *Torulasporea indica* DMKU-RP31 і *Wickerhamomyces anomalus* YE-42 повністю контролюють гниль проростків рису, викликану обома цими грибковими патогенами. Летючі органічні

сполуки і утворення біоплівки є ймовірно антагоністичними механізми *in vitro* для всіх антагоністичних штамів дріжджів. Крім того, *W. anomalus* DMKU-RP04 виявив 100% контроль захворювання, коли хвороба була викликана *H. oryzae* [44].

За статистикою, головною причиною псування пшениці та її продуктів виступають гриби, що продукують мікотоксини. Було виявлено, що штам дріжджів *R. glutinis* TY1, виділений із зерен пшениці, розкладає та/або метаболізує афлатоксин В1, один із найнебезпечніших мікотоксинів, який негативно впливає на фізіологічні процеси у тварин і людей. Рівень мікотоксинів у зразках зерна був значно знижений до 65% у присутності штаму дріжджів порівняно з необробленим контролем. Також є інформація, що *R. glutinis* може знижувати патулін *in vitro* та в плодах яблуні, заражених *P. expansum*. Дріжджові клітини *R. glutinis* метаболізують патулін та/або негативно впливають на його накопичення або синтез. Інші дослідження показали, що дріжджі біоконтролю *Sporobolomyces* sp. розкладають патулін *in vitro* в аеробних умовах і перетворює його на менш токсичні продукти розпаду [45].

Грибкові продуценти мікотоксинів можуть бути присутніми в середовищі на етапах підготовки та зберігання виробництва кавових зерен. Взаємозв'язок грибів із якістю та безпекою кінцевого продукту залежить не лише від умов навколишнього середовища, але й від управління культурою та обробки після збору врожаю. Як правило, нитчасті гриби ростуть при температурі від 25 до 35 °C і 0,95-0,99 Aw. Однак для виробництва мікотоксинів, умови навколишнього середовища становлять від 15 до 20 °C і від 0,95 до 0,98 Aw. Дріжджі продемонстрували більший інгібуючий ефект (53% порівняно з контролем) щодо росту міцелію ізольованого *A. ochraceus* (CDCSA10612). Дріжджі, що були ізольовані з кавових зерен - *P. anomala* ССМА0148 і *Saccharomyces cerevisiae* ССМА0159 забезпечили найбільше пригнічення росту грибів. *R. mucilaginosa* була ефективною для інгібування продукції мікотоксинів трьома ізолятами *Aspergillus* [46]. Узагальнені дані щодо потенціалу епіфітних дріжджів як агентів біологічного контролю поширення післяврожайних грибних інфекцій наведені у табл. 2.1

Таблиця 2.1.

**Культивування епіфітних дріжджів, які потенційно можна застосовувати для біоконтролю міцеліальних
грибів**

Епіфітні дріжджі	Місце виділення	Склад середовища, г/л	Умови культивування	Тест культура	Ступінь інгібування росту, %	Література
<i>A. pullulans</i> L7	Поверхня яблук	Поживний бульйон – 8, Дріжджовий екстракт – 5, Глюкоза - 5	28 °С, 48 год		95,00 ± 0,58	[35]
<i>C. matritensis</i> L2					92,90 ± 2,57	
<i>C. flavescens</i> L10					82,00 ± 4,58	
<i>M. guilliermondii</i> Kh60	Поверхня ягід та листя винограду	Глюкоза – 20, Картопляний порошок - 4	25 °С, 72 год	<i>B. cinerea</i>	42,5	[38]
<i>C. membranifaciens</i> Kh15					48,3	
<i>W. anomalus</i> HN1	Виноградні ягоди	Дріжджовий екстракт – 3, Пептон – 10, Глюкоза - 10	24 °С, 72 год		100	[36]
<i>Z. meyeriae</i> 118						
<i>C. intermedia</i> AUMC 10767			28 °С, 72 год, 150 об/хв	<i>Aspergillus</i> spp.	96	[47]
<i>Hanseniaspora guilliermondii</i> YBB3						
<i>A. pullulans</i>	Дріжджовий екстракт – 3, Екстракт солоду – 3, Пептон – 5, Глюкоза - 10	25 °С, 48 год, 140 об/хв	<i>A. tubingensis</i>	17,1 – 95,7	[37]	
<i>T. indica</i> DMKU-RP31	Поверхні рису, кукурудзи та листя цукрової тростини	Глюкоза – 20, Пептон – 20, Дріжджовий екстракт - 10	25 °С, 48 год, 150 об/хв	<i>H. oryzae</i> DOAC 2293	100	[44]
<i>W. anomalus</i> YE-42						
<i>P. guilliermondii</i> R9	Рисове насіння	Дріжджовий екстракт – 30 Манітол – 5 Сорбоза - 5	25 °С, 48 год, 200 об/хв	<i>F. fujikuroi</i>	80	[48]
<i>M. pulcherrima</i> R23					71,5	

<i>M. citriensis</i> FL01T	Поверхня листків цитрусових	Яловичий екстракт – 8, Дріжджовий екстракт – 5, Глюкоза - 5	28 °С, 48 год, 200 об/хв	<i>P. digitatum</i>	71,22 ± 4,22	[39]
<i>C. oleophila</i> FL14					64,39 ± 1,69	
<i>P. antarctica</i> FL17					71,22 ± 0,84	
<i>A. pullulans</i> GE17 i <i>M. guilliermondii</i> KL3	Поверхня яблука та лимону	Дріжджовий екстракт – 3, Пептон – 10, Глюкоза - 10	28 °С, 48 год	<i>P. digitatum</i> DSM2750	88,13	[40]
				<i>P. expansum</i> DSM62841	94,69	
<i>C. tropicalis</i> YZ27	Поверхня плодів та листя помело та шовковиці	Глюкоза – 20, Картопляний порошок - 4	28 °С, 72-120 год	<i>Alternaria</i> sp.	59,86	[41]
<i>Trichosporon asahii</i> A	Шкірка папаї	Поживний бульйон – 8, Дріжджовий екстракт – 5, Глюкоза - 5	28 °С, 48 год, 150 об/хв	<i>C. gloeosporioides</i>	23,28	[49]
<i>Trichosporon asahii</i> K					51,23	
<i>P. anomala</i> CCMA 0148	Кавові зерна	Дріжджовий екстракт – 10, Пептон – 20, Глюкоза - 10	28 °С, 24 год	<i>A. carbonarius</i> CCDCA 10608	85	[46]
<i>P. burtonii</i> CCMA 0149						
<i>P. kluyveri</i> CCMA 0165					84	
<i>P. guilliermondii</i>	Різні овочі та фрукти	Поживний бульйон – 8, Дріжджовий екстракт – 5, Глюкоза - 5	28 °С, 48 год	<i>C. capsici</i>	93,3	[50]
<i>C. musae</i>					83,1	
<i>Issatchenkia orientalis</i>					76,6	
<i>C. quercitrusa</i>					66,4	
<i>A. proteae</i>	Поверхня фісташок	Дріжджовий екстракт – 3 Пептон – 10, Глюкоза - 10	37 °С, 120 год, 300 об/хв	<i>F. graminearum</i>	25,0±0,99	[51]
<i>H. guilliermondii</i>					34,79±2,26	
<i>Diutina rugosa</i>					15,6±1,13	
<i>Eremothecium coryli</i>					8,4±0,78	

2.2. Механізми дії епіфітних дріжджів стосовно міцеліальних грибів

Повне розуміння механізму дії агентів біоконтролю (АБ) є життєво важливим для їх ефективного використання в попередженні і лікуванні захворювань. Конкуренція за поживні речовини та простір, антибіоз, мікопаразитизм, виробництво вторинних метаболітів та індукція стійкості до хвороб у хазяїна є основними механізмами, які демонструють АБ проти грибкового ураження після збору врожаю. Роль утворення біоплівки, окисного стресу і виробництва протигрибкових летких сполук у придушенні післязбиральних грибкових патогенів також відіграє чималу роль [52,53].

Конкуренція

Здатність колонізувати тканини хазяїна є основним атрибутом активного АБ, що дозволяє йому успішно конкурувати з патогеном за поживні речовини та простір. Наприклад, антагоністичні дріжджі, *Yarrowia lipolytica*, мають більшу здатність, ніж *P. digitatum* і *P. italicum*, адаптуватися до середовища покриву мандарина за обох температур зберігання 20 і 4 °С. Дріжджі також викликали резистентність плодів мандарина, що сприяло контролю гниття та ефективності біоконтролю. Антагоністичні дріжджі, *M. citriensis*, швидко колонізують поверхню цитрусових та щільно прилипають до поверхні клітин, дозволяючи їм конкурувати з *G. citri-aurantii* для поживних речовин і простору. Дослідники відзначають, що виснаження поживних речовин і колонізація на поверхні протягом перших 48 годин після введення дріжджів є критичними, оскільки це може мати прямий вплив на проростання грибкових спор [52,53].

Дріжджі та деякі бактерії можуть успішно конкурувати з патогеном у місці рани або *in vitro* за обмеження факторів харчування, пригнічуючи його ріст, але часто залишаючи його живим. У змаганні за простір дріжджі зазвичай мають перевагу у швидкому зростанні та утворенні позаклітинної полісахаридної капсули, яка може сприяти адгезії до поверхні плоду, утворюючи біоплівки, що покривають всю область рани. Дріжджі можуть задовільно використовувати широкий спектр вуглеводів, які включають дисахариди та моносахариди, а також джерела азоту. Азот, ймовірно, є обмежуючим фактором у багатому вуглецем

середовищі ран груші. Екзогенні амінокислоти, нанесені у високих концентраціях на рани яблука, значно знизили ефективність *A. pullulans* проти *P. expansum*, що свідчить про те, що конкуренція за поживні речовини може відігравати важливу роль у механізмі біоконтролю. Конкуренція за цукри та нітрати також відіграє ключову роль у взаємодії *P. guilliermondii* з *B. cinerea* на яблуні або *Colletotrichum* spp. на перці. Біологічний сенсор, що складається з промотора, що реагує на поживні речовини, злитого з геном-репортером, може бути використаний для оцінки просторового розподілу та доступності поживних речовин у ранах плодів у критичні моменти для інфекції та колонізації патогенів. Репортерні гени, що кодують зелений флуоресцентний білок, особливо корисні для досліджень, що оцінюють експресію генів бактеріальними антагоністами на та в тканинах рослин. Дослідження розподілу міченої радіоактивним ізотопом глюкози між антагоністичними дріжджами *S. roseus* і *C. laurentii* і патогеном *B. cinerea* вказують на значне споживання цукру АБ, що блокує проростання конідіалів гриба через дефіцит джерела вуглецю [53].

Нещодавні дослідження показали, що під час фази експоненціального росту *P. anomala* та в присутності *B. cinerea* пентозофосфатний шлях посилюється та забезпечує необхідні нуклеїнові кислоти та енергію для колонізації рани антагоністом. Ці результати свідчать про те, що пентозофосфатний шлях може забезпечувати дріжджам ефективне споживання поживних речовин плодів. Визначення ролі, компонентів і факторів, залучених до конкуренції за поживні речовини та простір у системі біоконтролю, має вирішальне значення для підвищення ефективності біоконтролю антагоніста. Додавання обмежуючого фактора або необхідної поживної речовини для покращення росту АБ може значно сприяти його стійкій дії проти патогенів у широкому діапазоні фруктів і овочів [53].

Формування біоплівки

Для успішної колонізації неушкоджених і пошкоджених поверхонь плодів антагоніст повинен мати здатність використовувати специфічні особливості, що полегшують його приєднання, колонізацію та розмноження. У більшості випадків ця особливість пов'язана з утворенням біоплівки, де мікроколонії укладені в

гідратовану матрицю білків, нуклеїнових кислот і полісахаридів, вироблених мікробами. Прикріплення дріжджових клітин часто опосередковується специфічними білками, закріпленими на глікофосфатидилінозитолі на клітинній стінці. Є інформація, що фенілетанол може сприяти адгезії та утворенню біоплівки *K. apiculata* в пошкоджених апельсинових плодах, що сприяє контролю *P. italicum*. В іншому дослідженні науковці припускають, що утворення біоплівки разом із адгезією гіф і виснаженням заліза є основними механізмами дії *M. citriensis* проти *P. digitatum* і *P. italicum*. Повідомляється, що утворення біоплівки дріжджоподібним, антагоністичним грибок *A. pullulans* покращило його ефективність біоконтролю проти *G. citri-aurantii* в апельсині. Але все ж таки, біоплівку частіше утворюють бактерії, ніж дріжджі [52,53].

Кисень

Не останню роль відіграє активні форми кисню (АФК) у системі біоконтролю цитрусових і яблук після збору врожаю. Деякі дослідження показують, що *M. fructicola* та *C. oleophila* генерують більшу кількість супероксидного аніону (O_2^-) на неушкоджених поверхнях плодів, ніж на бідному поживними речовинами агаризованому середовищі. Застосування *M. fructicola* та *C. oleophila* на тріщинах плодів цитрусових і яблуні корелювало з накопиченням H_2O_2 у тканинах господаря плодів. Існує припущення, що індукована дріжджами окислювальна реакція плодів-господарів пов'язана зі здатністю дріжджів контролювати післязбиральну гниль. Ці дослідження підтвердились і з іншими штамми. *P. membranaefaciens* підвищує рівень O_2 і H_2O_2 у тканинах шкірки цитрусових і пригнічує зараження плодів *P. digitatum* і *P. italicum*. *C. laurentii* і *Rhodosporidium paludigenum* посилюють активність пероксидази та супероксиддисмутази у плодах-господарях, що сприяє контролю кислої гнилі у плодах мандарина [52,53].

Залізо

Залізо необхідне для росту та патогенезу грибів, і вважається, що конкуренція за залізо відіграє значну роль у біоконтролі післязбиральних патогенів.

Згідно з [53] стратегії, які демонструють дріжджі для реагування на дефіцит заліза, складаються:

1. активації систем поглинання заліза;
2. мобілізації внутрішньоклітинних запасів заліза;
3. метаболічної адаптації до обмеження заліза.

Дріжджі експресують дві генетично відмінні системи для поглинання заліза, а саме відновну та невідновну систему. Солі заліза та хелати заліза є субстратами для відновної системи, тоді як невідновна система розпізнає виключно хелати сидерофор-залізо. Дріжджі можуть отримати користь від рани плоду, яка є мікросередовищем з низьким вмістом кисню та заліза, виробляючи сидерофори, щоб конкурувати за залізо та перешкоджати проростанню, росту та вірулентності патогенів. В умовах браку заліза гриби мають нижчу активність каталази і нижчий захист АФК [53].

Сидерофори призначені для утворення щільних і стабільних комплексів із двовалентним залізом, і їх можна розділити на три основні класи залежно від хімічної природи фрагментів, що передають кисневі ліганди для координації Fe^{3+} , які є катехолатами, гідроксамати або (гідрокси-)карбоксилати. Дріжджі виробляють сполуки гідроксаматного типу. Родоторулова кислота — це сидерофор, що містить дигідроксамат, вироблений *R. glutinis*, необхідний для покращення контролю блакитної плісняви, викликаної *P. expansum* в яблуках. *M. pulcherrima* та *M. fructicola* здатні продукувати червоний пігмент пульчеримін, утворений неферментативним шляхом з пульчеримінової кислоти та іонів заліза, який бере участь у боротьбі з *B. cinerea*, *A. alternata* та *P. expansum* на яблуні. Виснаження заліза *M. pulcherrima* в середовищі пригнічувало ріст міцелію та конідіальне проростання *B. cinerea*, *A. alternata* та *P. expansum* [53].

Інші механізми

Індукція захисту хазяїна є одним із механізмів дії в біоконтролі післязбирального гниття антагоністичними мікробами на різних фруктах та овочах. Індукція білків, пов'язаних з патогенезом, антиоксидантних ферментів і протигрибкових речовин у цитрусових можлива за допомогою різних

антагоністичних дріжджів, включаючи *D. hansenii*, *C. oleophila*, *P. membranaefaciens* і *Y. lipolytica*. Повідомлялося, що інші механізми дії також беруть участь у біоконтролі. До них належать виробництво гідролітичних ферментів і «білків-кілерів», адгезія до грибкового міцелію та паразитування в ньому, дефіцит заліза тощо. Цілком імовірно, кілька механізмів працюють разом і відповідають за біоконтрольну активність дріжджів. Примітно, що ефективність біоконтролю визначається не лише взаємодією між патогеном, АБ та господарем, але й факторами навколишнього середовища [52,53].

Виробники білків-кіллерів здатні вбивати один одного, але мають імунітет до токсинів-убивць свого класу. Найбільш вивченими прикладами є токсини K1, K2 і K28 *S. cerevisiae*. Токсини-убивці надають дріжджовим клітинам екологічну перевагу перед їхніми конкурентами. Більшість токсинів-кілерів є стабільними та активними при значеннях рН від 3 до 5,5, типових для пораних або пошкоджених плодів, і вони чутливі до протеази та термолабільні. *P. membranifaciens* може виробляти два токсини-убивці (PMKT і PMKT2), які активні проти дріжджів і грибків, що псують харчові продукти. Незважаючи на різноманітність способів дії токсинів-кілерів, кілька токсинів-кілерів (K1, PMKT) є токсинами, пов'язаними з утворенням мембранних пор. Серед метаболітів антибіотиків найбільш ретельно вивченим прикладом є фарнезол із *C. albicans*, який може інгібувати *in vitro* різні бактерії та гриби. Ще одна протигрибкова летюча речовина, 2-фенілетанол, була виділена з *K. apiculata* і продемонструвала інгібіторну дію проти зеленої та блакитної цвілі на цитрусових. *A. pullulans* може виробляти ауреобазидин А, циклічний депсипептид, який має протигрибкові та антибіотичні властивості, зокрема проти *Botrytis* spp., *Monilinia* spp. і *Penicillium* spp.. Ауреобазидин А здатний блокувати активність інозитолфосфорилцерамідесинтази, необхідного ферменту для біосинтезу грибкових сфінголіпідів. Основне занепокоєння, пов'язане з використанням протигрибкових та антибіотичних сполук у харчових продуктах, полягає в розвитку патогенних мікроорганізмів людини, стійких до цих сполук, і можливому розвитку резистентності патогенів плодів [53].

Відомо, що багато видів грибів, таких як *Trichoderma harzianum*, *Fusarium oxysporum* і дріжджі *A. pullulans*, виробляють низькі концентрації летючих протигрибкових речовин. Виробництво летючих окиснювальних сполук (ЛОС), включаючи 2-фенетиловий спирт, може відігравати важливу роль в антагоністичній активності *A. pullulans* проти патогенних мікроорганізмів після збирання плодів. *P. anomala*, при застосуванні в ранах плодів, спочатку може споживати велику частину доступного кисню, але пізніше, під час стаціонарної фази, він може використовувати спиртове бродіння для виробництва протигрибкових ЛОС, таких як етанол або етилацетат, які можуть брати участь в антимікробній активності проти *B. cinerea* [53].

2.3. Методи обробки продуктів (сировини) рослинного походження епіфітними дріжджами з антифунгальними властивостями

Умовно методи обробки можна поділити на 3 періоди: обробка до посадки насіння, дозбиральний та післязбиральний. Перший період передбачає пряму обробку розчином агента біоконтролю, або ж під час внесення ґрунтування насіння. Ґрунтування насіння – це гідратаційна обробка, яка включає застосування осмотичного стресу до насіння перед зворотним висушуванням. Це дозволяє контролювати імбібіцію та індукцію метаболізму перед проростанням. При використанні цієї методики можна застосовувати АБ і три основні етапи: гідратація, інкубація та сушіння насіння. АБ додають у вигляді суспензії у воді під час першої фази [54].

Для ефективного захисту від патогенів рослин антагоніст повинен мати можливість успішно колонізувати ризосферу рослини та конкурувати з іншими мікроорганізмами в кореневій системі рослини, щоб інгібувати атаки патогенів. Іншим аспектом, який слід враховувати, є фізична конформація оболонки насіння (текстура та орнаментация). Це визначає різні моделі просторової колонізації мікроорганізмів, оскільки деякі ділянки, такі як борозенки або тріщини на поверхні насіння, є більш сприятливими для росту патогенів. Наприклад, шорсткість насіння моркви та помідорів може забезпечити більше ніш для виживання патогенів, ніж гладке насіння цибулі. Тому важливо перевірити тип насіння та комбінації

мікроорганізмів на їх сумісність, оскільки не всі мікроорганізми закріпляться на кожному тип насіння. Інокуляція насіння АБ не призводить до змін екофізіологічної структури та фізіологічних профілів ризосферного бактеріального угруповання. Це відрізняється від фунгіцидних обробок, які можуть змінити метаболічні профілі культивованих бактеріальних спільнот ризосфери [54].

Технології біоконтролю до збору врожаю в першу чергу пов'язано із зменшенням синтезу мікотоксинів. Таке стратегічне значення може пов'язано з тим, що агропромислові корпорації використовують комбіновані препарати загальної дії для контролю посівів, до яких відносяться фунгіциди, гербіциди та інсектициди. Нерідко агенти біоконтролю комбінують разом з фунгіцидами, через їх антагоністичні властивості, але їх можливість на метаболізм мікотоксинів є більш бажаною дією при комбінованій обробці готовим розчином рослин. Нещодавні дослідження показали, що неафлатоксигенні штами біоконтролю знижують концентрацію мікотоксинів в оброблених культурах більш ніж на 80% як у полі, так і в умовах зберігання. Однак ефективність використовуваного продукту біоконтролю залежить від кількох факторів, включаючи норму інокулята, рецептуру, застосування гербіциду, температуру ґрунту та наявність води та субстрату. Екстроліти (наприклад, леткі органічні вуглеці та вторинні метаболіти), що виділяються штамами біоконтролю, також можуть підвищити ефективність контролю. Препарати біоконтролю для обробки полів мають 2 форми – готових розчинів та гранул. Однак гранульована доставка не набула поширення в польових застосуваннях через труднощі з внесенням гранульованого продукту. Наразі, для уникнення цього недоліку розробляють водно-дисперговані гранули. Також, відомі варіанти використання агентів біоконтролю в складі активної плівки. Мікроорганізми змішують з розчином крохмалю та покривають цим розчином посіви. Таку методику можна використовувати для всіх вищезазначених етапів біоконтролю [55,56].

Обробка в післязбиральний період має стратегічне значення для подовження терміну придатності готової продукції чи сировини. Цікавим фактом є те, що для біоконтролю використовують як екстракти біомаси так і супернатант (як разом, так

і окремо), оскільки він може містити необхідні для біоконтролю метаболіти. Ефективність і успіх біологічного контролю післязбиральних захворювань значною мірою залежить від властивостей АБ, а також від збудника та матеріалу-господаря (фрукти, горіхи, зерна, овочі), а також від факторів навколишнього середовища. У системах АБ існує взаємозв'язок доза-ефект. Вважається, що ефектна доза дріжджів для контролю післязбиральної гнилі плодів становить 10^6 – 10^7 клітин/мл. Відносна доза збудника та агента біоконтролю є важливим фактором, що визначає ефективність і постійність біологічного контролю післязбиральних патогенів. Титрування інфекційності патогена в присутності різних концентрацій агента біоконтролю надає дані, які можна підібрати до моделей доза-відповідь для отримання параметрів ефективності, таких як середня ефективна доза (ED_{50}) патогена та агента біоконтролю. Ефективність боротьби з проблемами після збору врожаю залежить від стратегії лікування, яка може бути профілактичною (до зараження патогеном) або лікувальною (після зараження збудником). Умови зберігання можуть мати великий вплив на екосистему рослинної продукції. Наприклад, знижений вміст кисню та збільшення атмосфери CO_2 значно сповільнюють дихання плодів і насіння та активність патогенів, та не впливають на факультативні аероби, такі як дріжджі. Низькі температури зберігання, близькі до $0\text{ }^\circ\text{C}$, достатньо сповільнюють активність АБ, збудника та рослинної продукції [57].

2.4. Препарати на основі епіфітних дріжджів, які використовуються для біоконтролю міцеліальних грибів

Серед перших продуктів на основі дріжджів Aspire® (на основі *C. oleophila*) і Yieldplus® (на основі *C. albidus*) були комерціалізовані протягом кількох років, але вони були відкликани через різні причини, включаючи низьку та непослідовну ефективність за комерційних умов, низьку прибутковість і труднощі з проникненням на ринок і сприйняття клієнтами/галуззю, а також невеликі компанії з низькими доступними ресурсами для підтримки розвитку та комерціалізації. Інші продукти були більш успішними, зокрема Shemer® на основі дріжджів *M. fructicola*, спочатку зареєстрованих в Ізраїлі для застосування як до, так і після

збору врожаю на різних фруктах і овочах, включаючи абрикоси, цитрусові, виноград, персики, перець, полуниця та солодка картопля. Пізніше Shemer® був придбаний Bayer CropScience (Німеччина) і нещодавно субліцензований на Корперт (Нідерланди). Комерційний склад *C. sake* був розроблений для використання на зерняткових плодах і виноградній лозі та зареєстрований в Іспанії під назвою Candifruit®, однак він ще не використовується в широкому колі виробників через обмеження дистриб'юторської компанії. У Південній Африці Avogreen® було введено для боротьби з плямистістю *Cercospora*, післязбиральною хворобою авокадо, але його використання було обмеженим через суперечливі результати. Крім того, Nexu® на основі іншого штаму *C. oleophila* був розроблений у Бельгії та зараз зареєстрований у всьому Європейському Союзі. BoniProtect®, розроблений у Німеччині та заснований на двох антагоністичних штаммах *A. pullulans*, використовується як передзбиральна програма для боротьби з патогенними мікроорганізмами, що розвиваються на яблуках під час зберігання [53,58].

Ряд штамів *S. cerevisiae* (наприклад, DISAABA1182, RC008, RC009, RC012 і RC016) зменшували ріст патогенів рослин, таких як *A. carbonarius*, *A. ochraceus*, *A. parasiticus* або *F. graminearum*, а також інгібували синтез мікотоксинів (наприклад, афлатоксину, охратоксину А, зеараленону, дезоксиніваленолу) цими видами. Основні механізми біоконтролю, які використовує *S. cerevisiae*, включають секрецію кілерної активності та гідролітичних ферментів, а також органічних летких сполук. Щодо комерційного використання, аналіз транскриптомів підтвердив, що застосування препарату клітинної стінки штаму LAS117 *S. cerevisiae* (тобто cerevisane®) індукує експресію генів, залучених у відповідь рослини на грибкову атаку. Однак єдиною зареєстрованою активною речовиною та комерційним застосуванням пивних дріжджів для біоконтролю є продукт Romeo® із cerevisane® як активним інгредієнтом. Цей препарат використовується як профілактичний індуктор системної стійкості проти борошнистої роси та несправжньої борошнистої роси у винограду, фруктів та овочів і, таким чином, є засобом для застосування та захисту рослин, який відрізняється від інших подібних розчинів тим, що не базується на активних живих клітинах [58].

Характеристику комерційних продуктів АБ на основі дріжджів наведено у табл.2.2

Таблиця 2.2.

Антагоністичні комерційні продукти на основі дріжджів, розроблені для боротьби з патогенами [59]

Назва	АБ - дріжджі	Продукти для обробки	Цільові патогени	Виробник	У вживанні
Nexy	<i>C. oleophila</i>	Зерняткові, цитрусові, банани	<i>Botrytis, Penicillium</i>	Lesaffre, Бельгія	Так
Aspire		Кісточкові, зерняткові, цитрусові, полуниця	<i>Botrytis, Penicillium, Monilinia</i>	Ecogen, США	Ні
Blossom Protect	<i>A. pullulans</i>	Зерняткові		<i>B. cinerea</i>	Bio-ferm, Австрія
Botector		Виноград, полуниця та помідор	Так		
Candifruit	<i>C.sake</i>	Зерняткові	<i>Penicillium, Botrytis, Rhizopus</i>	IRTA/Sipcam-Inagra, Іспанія	Ні
Noli	<i>M. fructicola</i>	Полуниця, чорниця, виноград, кісточкові	<i>Botrytis, Monilinia</i>	Koppert, Нідерланди	Так
Shemer		Зерняткові, полуниця, виноград, кісточкові плоди	<i>Botrytis, Penicillium, Rhizopus, Aspergillus</i>	Bayer/Koppert, Нідерланди	Так
Remeo	<i>S. cerevisiae</i>	Виноград	<i>Botrytis, Erysiphe, Plasmopara</i>	BASF/Agrauxine, Франція	Так
YieldPlus	<i>C. albidus</i>	Зерняткові, цитрусові	<i>Botrytis, Penicillium, Mucor</i>	Lallem, Південна Африка	Ні

2.5. Порівняння дії епіфітних дріжджів з антифунгальними властивостями хімічних речовин, які застосовуються для біоконтролю міцеліальних грибів

Деякі епіфітні дріжджі можуть скласти гарну конкуренцію вже відомим для агропромисловості фунгіцидам. Наприклад, *C. magnus* ЕРТ62, виділених з квітів чорного перцю. Протимікробну активність перевіряли щодо патогену перців

P. capsici. Дріжджі показали 86,66% ефективності біоконтролю, порівняно з 90% фунгіциду (назву препарату не вказано) [60].

В іншому дослідженні активність епіфітних дріжджів була такою ж самою, як і порівнюваний фунгіцид. Для порівняння використовували сірку, як фунгіцид. Тест культурою виступав *E. cichoracearum*. Визначення проводили на короткому проміжку часу, всього 12 годин. Проте, за ці 12 годин сірка повністю пригнічувала проростання конідій патогену, як і штам дріжджів СМУ044. Також, непогані результати показав штам СМУ073, який на 3 годині також на 100% інгібував ріст конідій *E. cichoracearum*, проте на 12 годині цей показник становив 76,54%. Ідентифікацію дріжджів проведено не було [61].

Деякі фунгіциди стають не ефективними проти різних захворювань рослин. Наприклад Mancozeb® має ступінь контролю захворюваності *C. lunata* DOAC 2313 всього 0,15%. Для порівняння, цей же показник епіфітних дріжджів *W. anomalus* YE-42 та *T. indica* DMKU-RP31 для кожного становить 100%. Інший фунгіцид, Carbendazim®, має показник в 79,47% контролю захворюваності, що також є меншим, за зазначені дріжджі. Щодо контролю захворюваності на *H. oryzae* DOAC 2293 Mancozeb® має ступінь в 3,05%, Carbendazim® - 94,04, а штамми *W. anomalus* YE-42, *W. anomalus* DMKU-RP04 та *T. indica* DMKU-RP31 – 100% [44].

Епіфітні дріжджі *D. hansenii* 1R11CB показали високу антагоністичну активність щодо збудника антракнозу манго *C. gloeosporioides*. Обробку плодів виконували суспензією дріжджів в концентрації 10^6 клітин/мл. Для порівняння, використовували фунгіцид Тесто 60, основною діючою речовиною якого є 2-(4-тіазоліл)-1H-бензimidазол. Плоди зберігали в стерилізованих пластикових контейнерах при 25°C протягом 10 днів. На останній день зберігання, дріжджі зменшили частоту захворюваності до 56% та знизили ступінь ураження на 91%. Фунгіцид мав частоту в 60% інцидентів захворюваності, а ураження плодів знизилося на 38%, що є гіршими результатами, в порівнянні з *D. hansenii* 1R11CB [62].

Штам *P. kluyveri* SEHMA6B було виділено з дикого винограду. Ізолянт був ефективним проти *B. cinerea*, *P. expansum* та *A. carbonarius*. Комерційний фунгіцид,

який містив 37,5% ципродинілу і 25% флудіоксонілу у своєму складі не проявляв такої високої активності проти цих патогенів. Якщо при обробці ягід винограду *P. kluyveri* SEHMA6B проявлялася лише невелика кількість м'якої гнилі, або зовсім ніяких симптомів зараження не було, при використанні фунгіциду спостерігалася як гниль так і формування міцелію, особливо *B. cinerea* та *P. expansum* [63].

Було виділено низка ефективних штамів дріжджів з листя манго. *T. indica* DMKU-RP35 був найефективнішим штамом у боротьбі з плодовою гниллю на післязбиральних плодах манго. Його дія була порівнянна з дією фунгіциду беномілу, зменшуючи тяжкість хвороби на 82,4%, а беномілу – на 87,5%. *Pseudozyma aspenensis* DMKU-SP67 зменшив тяжкість антракнозу на 94,1%, що було порівнянно з використанням беномілу (93,9%) [64].

В дослідженні за 2018 рік відзначається важливість визначення застосування дріжджових агентів біоконтролю як для профілактичної, так і для лікувальної обробки. Для порівняння ефективності боротьби проти *P. italicum* використовували фунгіцид імазаліл. Для обробки цитрусових використовували розчин дріжджів з концентрацією 10^7 клітин на мл. Розчин імазалілу готували в концентрації 2 мл/л. Зберігання тривало 10 діб при 10 °C. За одержаними результатами, фунгіцид виявив майже 100% антифунгальну активність. Щодо дріжджів, для профілактики найкращим штамом виявився *C. stellimalicola* ACBL-05, який знизив ріст гриба до 10%. А от для лікувальної обробки краще проявив себе штам *C. stellimalicola* ACBL-08, який зменшив появу *P. italicum* на 40% [65].

ВИСНОВКИ ДО ЛІТОГЛЯДУ

1. Грибкові патогени є основною причиною псування рослинних продуктів та сировини. Вони заражають як овочеві і фруктові культури, так і зернові, що призводить до подальшого псування харчових продуктів, які виготовляються з рослинної сировини. Загальними патогенами рослинної сировини найчастіше за все виділяють *A. alternata*, *P. expansum* і *B. cinerea*. Окремо небезпечними є гриби, які синтезують мікотоксини, що синтезують *Aspergillus* spp., *Penicillus* spp., *Fusarium* spp. і *Gibberella* spp.

2. Контроль рослин має відбуватись на кожній стадії їх підготовки, вирощування та зберігання. Зазвичай для цього застосовують різноманітні препарати агропромисловості, проте щороку вони стають все менш ефективними. Без контролю сировини та продукції, харчові отруєння стануть ще більш гострою проблемою для людства.

3. Епіфітні дріжджі є перспективною альтернативою вже відомим та не ефективним фунгіцидам. Окрім того, що вони забезпечують захист від грибних патогенів, тим самим подовжуючи термін придатності продуктів, також вони асимілюють їх мікотоксини, які є дуже загрозованими речовинами для людського здоров'я.

4. Існує дуже багато механізмів дії епіфітних дріжджів на грибні культури, більшість яких зводиться до звичайної конкуренції та синтезу токсичних речовин для міцеліальних культур.

5. Світовий ринок вже пропонує препарати на основі дріжджових культур як засобів біоконтролю рослин. Проте треба мати на увазі, що певної гарантії стабільності роботи цих препаратів немає, оскільки відома низка випадків зареєстрованих препаратів, які мають непостійну активність. Це потрібно враховувати ще при виборі відповідного біологічного агента.

6. Хоча не всі дріжджі для біоконтролю ще спроможні замінити фунгіцидні препарати, їх переваги спонукають до дослідження та розробки нових препаратів. Екологічність використання дріжджів, а також їх безпечність для людини привертають до себе увагу, як головну альтернативу хімічним препаратам.

РОЗДІЛ 3

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ПРЕПАРАТУ БІОКОНТРОЛЮ НА ОСНОВІ ЕПІФІТНИХ ДРІЖДЖІВ

TORULASPORA INDICA DMKU-RP31

3.1. Характеристика і галузі використання культуральної рідини *Torulasporea indica* DMKU-RP31

Штами *T. indica* вперше було виділено в 2012 році з ґрунту вугільної шахти Сінгарені в штаті Андхра-Прадеш, Індія та із ґрунту сільськогосподарських полів у штаті Гуджарат, Індія. Дані дріжджі дуже подібні до *T. globosa*, проте мають відмінність нуклеотидної послідовності на 3-5% [66]. Дані дріжджі мають високу протигрибкову активність проти низки грибів, у томі числі *Alternaria arborescens*, *Curvularia lunata*, *Helminthosporium oryzae* та *R. solani* [15,67,68].

Ефективність застосування штамів *T. indica* дуже наближена до хімічних фунгіцидів. Наприклад, *T. indica* DMKU-RP35 був є дуже ефективним штамом у боротьбі з плодовою гниллю на післязбиральних плодах манго. Основними причинами втрати плодів манго є післязбиральні хвороби, в тому числі плодова гниль (гниль кінця стебла), викликана *Lasiodiplodia theobromae*, і антракноз, викликаний *Colletotrichum gloeosporioides*. Дія *T. indica* DMKU-RP35 була порівнянна з дією фунгіциду беномілу, зменшуючи тяжкість хвороби на 82,4%, а беномілу – на 87,5% [69].

Симптоми плодової гнилі, викликані *L. theobromae*, проявляються у вигляді м'яких коричневих або чорних пошкоджень на кінці плоду. Гриб колонізує поверхню незрілих плодів як латентна інфекція і не виявляє жодних симптомів до збору врожаю, але розвивається після збору врожаю при високій відносній вологості та високій температурі (понад 30 °C). Симптоми захворювання починаються з плодоніжки і швидко поширюються по всьому плоду. Крім того, грибок також заражає плоди через ураження, які збільшуються

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Станішевська М.Є.			РОЗДІЛ 3 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ПРЕПАРАТУ БІОКОНТРОЛЮ НА ОСНОВІ ЕПІФІТНИХ ДРІЖДЖІВ <i>TORULASPORA INDICA</i> DMKU-RP31	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Красінько В.О.					42	108
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

і стають коричневими або чорними. Симптоми захворювання на антракноз, викликаний *C. gloeosporioides*, проявляються у вигляді темно-коричневих і чорних уражень. Гриб заражає плоди манго, утворюючи апресорії з проростаючих спор, які проникають на поверхню плодів. У незрілих плодах гриб зазвичай залишається в стані спокою, поки плоди не починають дозрівати. Після дозрівання з'являються темні плями, які збільшуються, утворюючи ураження, які можуть об'єднуватися, покриваючи майже всю поверхню плоду [69].

Штами *T. indica* DMKU-RP31, *T. indica* DMKU-RP35 здатні пригнічувати низку патогенів рисової оболонки. До цих патогенів відносяться *Pyricularia oryzae*, *R. solani*, *Fusarium moniliforme*, *H. oryzae* та *C. lunata*. Проте найбільшу антагоністичну активність визначають щодо *R. solani*. Штам *T. indica* DMKU-RP31 пригнічують захворюваність *R. solani* на $86,3 \pm 0,9\%$, в той час як фунгіцид валідаміцин в концентрації 3% - на 83,8% [15].

Управління хворобами рису, викликаними грибками, в основному базується на застосуванні хімічних фунгіцидів, таких як Карбендазим®, Валідаміцин®, Пропіконазол® і Манкоцеб®. Однак використання хімічних фунгіцидів не є довгостроковим рішенням і стає менш прийнятним через збільшення залишків, токсичність для нецільових організмів та інші небезпеки для здоров'я та навколишнього середовища [15].

Хвороба, яку викликають гриби *R. solani* та інші його види називається ризоктоніоз. Це захворювання викликає різноманітні симптоми, включаючи в'янення, ураження стебла, гниль стебла, кореневу гниль, гниль крони та повітряну гниль. Інфекція викликає в'янення, затримку росту та, можливо, загибель рослини. Деякі рослини, що розмножуються вегетативно, схильні до гниття біля основи черешка. *R. solani* це ґрунтовий патоген, він зберігається в ґрунті у вигляді міцелію та склероціїв (маленькі, коричневі структури, що довго виживають). Хвороба поширюється через переміщення зараженого ґрунту, рослинного матеріалу, інструментів та обладнання [70].

R. solani є патогеном, що передається насінням і ґрунтом. У ґрунті інфіковані рослинні залишки є основним носієм, який може виникнути від хазяїв

рису чи бур'янів. У регіонах з помірним кліматом склероції ґрунту та рослинних залишків є основним джерелом інокулята, який може поширюватися через зрошувальну воду з одного поля на інше. За сприятливих умов склероції проростають, утворюючи міцелій, який при встановленні контакту з поверхнею рослини рису росте та виробляє інфекційні структури, такі як інфекційні подушки та часткові аппресорії. Ці інфекційні структури сприяють проникненню міцелію в тканини рослини. Однак у деяких випадках зараження відбувається через продихи, де не спостерігається інфекційних структур. Поширення хвороби від рослини до рослини та від поля до поля відбувається через плаваючі склероції та міцелій, що поширюються через дощі та зливну воду. Заражене насіння є основним джерелом інокулята для поширення цієї хвороби на нові території. Інфікованість насіння та передача збудника від насіння до сходів у вигляді уражень коливається від 4,6–14,0% у польових умовах. Вітер також сприяє вторинному поширенню хвороби, поширюючи базидіоспори на нові поля. Гіменій базидії діє як постійне джерело вторинного інокулята [71].

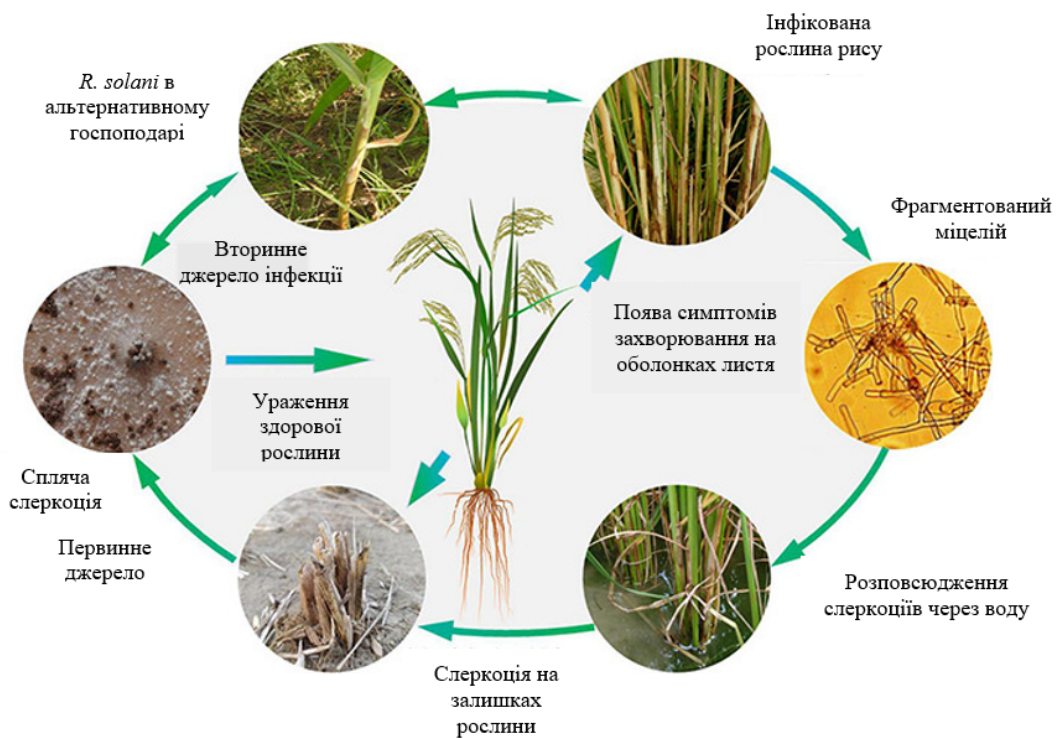


Рис.3.1. Цикл захворювання ураженням рису спричиненим *R. solani* [71]

Також, в культуральному середовищі, а конкретно в супернатанті штами можуть синтезувати летючі органічні сполуки (ЛОС) *T. indica* які також демонструють антифунгальні властивості. Проте, дослідники зазначають, що антиганостічна активність біомаси епіфітних дріжджів та ЛОС нижча, ніж в їх синергічний ефект [15].

ЛОС — це органічні хімічні сполуки, які легко випаровуються при кімнатній температурі. Було виявлено, що спирти (етилловий спирт, 3-метил-1-бутанол і фенілетилловий спирт) і складні ефіри (етилацетат і ізоамілацетат) є основними леткими органічними сполуками, що виділяються штамами дріжджів. ЛОС виробляються дріжджами, пліснявою та бактеріями під час первинного та вторинного метаболізму. Вони являють собою сполуки з низькою молекулярною масою (<300 Да), що характеризуються низькою полярністю та високим тиском пари, виробництво яких є біологічно динамічним і сильно залежить від мікробного виду та умов росту та фази. Виробництво ЛОС є видоспецифічним і діє як хімічний сигнал зв'язку між клітинами, як механізм вивільнення вуглецю та як промотор або інгібітор росту мікробів. Протигрибкову активність ЛОС, що утворюються дріжджами, було оцінено та запропоновано як ефективну стратегію біологічного контролю проти *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum acutatum*, *Penicillium expansum*, *P. digitatum* та *P. italicum* та інших грибних патогенів. ЛОС можна розглядати як ідеальні протимікробні засоби, оскільки контакт між агентом біоконтролю та патогеном або між агентом біоконтролю та їжею не є обов'язковим для виконання їхньої діяльності. Посилаючись на цю особливість, було запропоновано використання гідрогелевих сфер як опору для біоконтрольних дріжджів, що утворюють ЛОС у післязбиральній упаковці [72].

Також, дріжджі *T. indica* синтезують літичні ферменти - β -глюканазу та хітиназу, які також залучені до біоконтролю патогенних грибів. Крім біоконтролю, β -глюканази можна використовувати у косметичній галузі, в складі лікарських засобів (наприклад, вакцин та препаратів профілактики онкологічних захворювань), в їжі та дієтичних добавках, кормах для тварин та у виробництві біопалива. Хітинази можна використовувати в сфері утилізації, шляхом переробки

хітинових відходів морської харчової промисловості. Також, її можна використовувати не лише проти патогенних грибів, а й в складі пестицидів та інсектицидів. Хітіназу можна використовувати як протигрибковий засіб, а також вона відіграє вирішальну роль при астмі [15,73,74].

3.2. Потреба у засобі біоконтролю на основі культуральної рідини *Torulaspota indica* DMKU-RP31

Факторами, які безпосередньо впливають на якість зерна протягом періоду зберігання, і яким неможливо запобігти у повній мірі, є пліснява, гриби та комахи. Поява у зерновій масі плісняви та грибів є причиною утворення та виділення токсинів. За статистичними даними, від діяльності різноманітних патогенів втрати зернових культур протягом періоду зберігання в Україні оцінюють в розмірі щонайменше 10% від загального врожаю [75].

Доцільність застосування фунгіцидів залежить від фітосанітарного стану посівів, ступеня стійкості сортів до хвороб, біологічних особливостей їх збудників. Своєчасне і ефективне проведення захисних заходів від хвороб є значним резервом збереження врожайності сільськогосподарських культур та підвищення якості рослинницької продукції. Інтенсифікація виробництва сільськогосподарської продукції потребує розроблення антирезистентної системи використання новітніх фунгіцидів і проведення всебічної оцінки ефективності діючих речовин нових хімічних груп та схем диференційованого їх застосування [76].

На сьогодні ринок України пропонує для захисту зернових культур велику кількість фунгіцидів, більшість із яких мають системну і контактно-системну дію, і тільки незначна їх кількість — контактно. В залежності від класу хімічних сполук, які входять до складу препаратів, вони мають різні механізми дії на збудників хвороб, спектр фунгіцидної активності, тип метаболізму, швидкість розкладу в рослинах та ґрунті, а також ризик виникнення резистентності у грибів. Знання хімічної структури фунгіцидних засобів захисту необхідно для побудови антирезистентної стратегії використання нових хімічних груп діючих речовин фунгіцидів на зернових культурах та принципів диференційованого їх застосування [76].

Згідно з інформацією, яку опублікували фахівці Держпродспоживслужби, станом на 24 грудня 2020 українські аграрії загалом використали 40,8 тис. тонн різних хімічних пестицидів на площі 46,2 млн. га. При цьому, обсяги в 2020 році знизились, порівняно з показниками 2019 року. Хімічний метод захисту рослин дуже популярний в Україні, проте розвинені країни рухаються в бік зменшення обсягів застосування пестицидів (до чких відносяться й хімічні фунгіциди) — до 50%. Причина — у низці негативних явищ, які провокує використання хімічних методів [77,78]:

1) швидка адаптація шкідливих видів до пестицидів (частота виникнення стійких форм шкідливих організмів уже почала випереджати швидкість створення нових препаратів);

2) пестициди знищують корисну біоту;

3) залишки пестицидів накопичуються в продукції й здатні потім потрапляти в організм людини.

Ефективність застосування біологічного фунгіциду залежить від правильної ідентифікації хвороби та правильного підбору препарату, який буде ефективним проти цього збудника, а також вчасного внесення [78].

За профілактичного внесення біологічні фунгіциди ефективніші. Коли вони потрапляють на листя, на противагу хімічним, не руйнують мікрофлору рослини, яка крім шкідливих видів містить і корисні, що здатні захистити рослин від збудників хвороб. Біологічні фунгіциди зменшують кількість фітопатогенів, підвищуючи кількість корисних мікроорганізмів, а також стимулюють ріст і розвиток рослин [78].

За розвитку плямистостей на листі рослин до 30% біологічні препарати ефективно зупиняють поширення та розвиток хвороб. Також вносити біологічні засоби захисту рослин ефективно проти патогенів, що є в ґрунті [78].

Біофунгіциди – це біологічні фунгіциди, що складаються з мікроорганізмів і продуктів їх життєдіяльності, які використовуються для запобігання і лікування хвороб рослин, викликаних грибками і бактеріями різних груп. Біофунгіциди також мають антимікробну і ростостимулюючі дію, завдяки активному розмноженню

мікроорганізмів на поверхні насіння та продукування захисних і біологічно активних речовин, за рахунок яких зупиняється проникнення збудників хвороб у рослину [79].

Проте біофунгіциди не можна вважати повноцінними препаратами біоконтролю розлинної сировини. Препарати біоконтролю передбачають його застосування на будь-якому етапі виробництва сировини – починаючи від насіння, закінчуючи безпосередню обробку готової продукції з метою збільшення терміну її придатності. Це і є їх основною перевагою перед фунгіцидами. Рідко дослідження ефективності дії біофунгіцидів перевалюють за визначення їх ефективності обробки вже готової продукції. Тому, тут можна сказати, що всі препарати біоконтролю патогенних грибів є біофунгіцидами, проте не всі біофунгіциди є препаратами біоконтролю [80].

Агенти біоконтролю епіфітних дріжджів, крім антифунгальної активності демонструють й активну боротьбу з їх метаболітами. Особливу увагу приділяють саме мікотоксинам. Епіфітні дріжджі здатні акумулювати ці токсичні речовини та перетворювати їх на більш безпечні. Це є ще однією перевагою цих препаратів, оскільки не всі біофунгіциди, в тому числі й хімічні фунгіциди, можуть самостійно боротися з цими токсинами. Агенти біоконтролю в післязбиральній обробці здатні до самопідтримування, а тому продукти не потребують постійної обробки такими препаратами. Ключова перевага застосування препаратів біоконтролю полягає в тому, що стійкість патогенів до нього набагато складніше виробити [81].

У 2021 році глобальний ринок засобів для біоконтролю склав 4 851,7 мільйона доларів США, а до 2030 року його планується збільшити до 13 634,3 мільйона доларів США, а CAGR (річний темп зростання) у 2021–2030 роках збільшиться на 12,2%. Зростаюче використання біологічних продуктів над засобами захисту рослин на хімічній основі сприяє зростанню ринку. Крім того, засоби біоконтролю є екологічно чистими, не мають шкідливого впливу на людину та діють протягом усього сезону, що робить їх ідеальними для боротьби зі шкідниками [82].

У 2021 році Європа займала найбільшу ринкову частку в усьому світі, і очікується, що регіональна промисловість буде стабільно зростати в найближчі роки завдяки суворим правилам урядів щодо використання хімічних пестицидів. Європа прагне скоротити на 50% використання небезпечних пестицидів до 2030 року. Щоб задовольнити зростаючий попит на біопестициди, компанії активно залучаються до партнерства, що створює кілька можливостей для гравців ринку. Наприклад, у травні 2022 року UPL Limited і Chr. Компанія Hansen Holding A/S підписала угоду про партнерство для запуску ZOATIN (бактеріальний препарат біоконтролю), нового біологічного рішення, яке ефективно сприяє поглинанню рослинами та використанню фосфору для покращення здоров'я та врожайності рослин [82].

У 2021 році категорія мікроорганізмів (до якої входять і дріжджі) займала найбільшу частку доходу від агентів біоконтролю, близько 60%, і також очікується найшвидше зростання протягом прогнозованого періоду. Це пояснюється тим, що мікроби мають чудову здатність знищувати шкідників із поля та покращувати врожайність. Крім того, мікробні агенти надзвичайно точні проти цільових шкідників, допомагають виживати корисним комахам на оброблених культурах і стимулюють їх ріст [82].

Органічне землеробство є окремим сегментом харчової промисловості, який швидко розвивається. Наприклад, у 2021 році попит на органічне землеробство зріс на 34% порівняно з попереднім роком у всьому світі. Крім того, суворі правила щодо припинення використання синтетичних пестицидів, іонізуючого випромінювання та хімічних добрив, а також виробництва біологічних продуктів підвищать попит на органічні продукти [82].

Наразі в Україні відсутні препарати біоконтролю, які характеризуються високою ефективністю та універсальністю. Ринок забитий різноманітними біофунгіцидами, які, як було зазначено вище, не завжди можуть бути повноцінною альтернативою препаратам біоконтролю, через свою обмеженість у використанні. У цьому відношенні можна стверджувати про необхідність розробки такого

препарату, оскільки він буде унікальним по своєму функціоналу, а також збільшить попит на біологічні альтернативи хімічним фунгіцидам.

3.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту

Біоконтроль міцеліальних грибів епіфітними дріжджами включають в себе низку різних варіантів механізму дії. До них входить конкуренція за поживні речовини та простір, виробництво токсинів, секрецію ферментів, виробництво летких органічних сполук (ЛОС), паразитування та індукція системної резистентності. Якщо говорити про ферменти, в першу чергу розглядаються гідролітичні ензими, а особливу увагу надають глюканазам [83-85].

Не менш цікавою темою є синтез ЛОС для контролю патогенних грибів. Наприклад, штам епіфітних дріжджів *C. nivariensis* DMKU-CE18 інгібує ріст *A. flavus* A39 на $64,9 \pm 7,0\%$. Автори припускають, що такого успіху даний біологічний агент досягає шляхом синтезу 1-пентанолу [86].

В іншій роботі вказується на інгібуючу активність епіфітних дріжджів щодо *A. ochraceus*. В роботі використовували дріжджі *C. intermedia* 253, *Lachancea thermotolerans* 751. Ступінь інгібування становив від 25% до 38%. При цьому, дані біологічні агенти синтезують велику кількість 2-фенілетанолу [87].

Проте, дуже важко прив'язатись до тематики біосинтезу летких органічних сполук, оскільки для кожного міцеліального грибу використовуються різні речовини, які не завжди підходять для великої кількості патогенів. До того ж, концентрація речовин майже ніколи не вказується, через сукупність факторів біоконтролю епіфітних дріжджів. Оскільки обробку плодів виконують клітинами епіфітних дріжджів, які в процесі свого росту та розвитку синтезують не тільки ЛОС, а й ферменти, антибіотики та інші токсини, не завжди можна точно оцінити вагомість того чи іншого чинника [88,89].

Тому, для порівняння біологічних агентів пропонується розглядати 2 параметри: активність глюканази а також пригнічувальну здатність продуцента, яка виражається в відсотках пригнічення росту патогенного грибу.

Спираючись на таблицю 3.1. можна побачити цікаву закономірність, чим

Порівняння епіфітних дріжджів щодо загальних параметрів

Продуцент	Склад поживного середовища, г/л	Активність глюканоази	Антагоністична активність, %	Патоген	Умови культивування	Література
<i>W. anomalus</i> YE-42	Глюкоза – 20, Пептон – 20, Дріжджовий екстракт - 10	48,9 ± 3,5 МОд/мл	40	<i>C. lunata</i> DOAC 2313	48 год, 150 об/хв, 25 °С	[44]
<i>C. melibiosica</i> 2515	Дріжджовий екстракт – 3, (NH ₄) ₂ SO ₄ – 5, KH ₂ PO ₄ – 5, Глюкоза - 5	92,2 Од/мл	38	<i>B. cinerea</i>	120 год, 200 об/хв, 28 °С	[90]
<i>T. indica</i> DMKU-RP31	Глюкоза – 20, Пептон – 20, Дріжджовий екстракт - 10	1,7 ± 0,4 МОд/мл	86,3 ± 0,9	<i>Rhizoctonia solani</i> DOAC 1406	24 год, 150 об/хв, 25 °С	[15]
<i>D. hansenii</i>	Глюкоза – 20, Сублімована картопля - 4	88 Од/мл	38	<i>F. proliferatum</i>	24 год, 180 об/хв, 27 °С	[91]
<i>D. hansenii</i> ЕСР4	Глюкоза – 20, Пептон – 20, Дріжджовий екстракт - 10	7637 Од/мл	37	<i>C. gloeosporioides</i>	24 год, 100 об/хв, 25 °С	[92]

вищій ступінь інгібування росту патогену – тим нижча активність глюканази. З цього можна вивести 2 протилежні теорії. За першим припущенням глюканаза приймає активну участь в антифунгальній дії щодо грибів, а тому вичерпується, з цим і знижується її активність. У цьому випадку гарно пояснюється низька активність галактозидази та високий ступінь. При цьому, висока активність ферменту та низька антагоністична активність може казати про те, що було замало часу витримки, через що весь фермент не зміг прореагувати.

Друге припущення ґрунтується на тому, що глюканази може впливають на антагоністичні властивості епіфітних дріжджів, але в сукупності різноманітних факторів, які були зазначені вище. Через це може відбуватись така кардинальна різниця між різними біологічними агентами, оскільки сам мікроорганізм регулює ензиматичну здатність.

Якщо порівнювати дріжджі за показником антагоністичної активності, найкращим в цьому плані мікроорганізмом варто вважати *T. indica* DMKU-RP31. Патогеном при цьому виступають патогенні гриби *R. solani*. Цей збудник вражає представників *Poaceae* (кукурудза, рис, пшениця, ячмінь, овес), *Fabaceae* (соеві боби, арахіс, сухі боби, люцерна, нут, сочевиця, польовий горох), *Solanaceae* (тютюн, картопля), *Amaranthaceae* (цукровий буряк), *Brassicaceae* (ріпак), *Rubiaceae* (кава), *Malvaceae* (бавовна), *Asteraceae* (салат), *Araceae* (потос), *Moraceae* (фікус) і *Linaceae* (льон). Симптоми на різних господарях включають насінневу гніль, кореневу гніль, гіпокотильну гніль, коронкову гніль, гніль стебла, гніль кінцівок, гніль стручків, рак стебла, чорний наліт, опіки розсади та в'янення до і після сходів [93].

Варто зазначити, що *T. indica* DMKU-RP31 має широкий спектр дії проти різних патогенних грибів. Він інгібує ріст *C. lunata* DOAC 2313 на $62,0 \pm 1,7\%$, *F. moniliforme* DOAC 1224 на $46,6 \pm 3,2\%$, *H. oryzae* DOAC 2293 на $64,1 \pm 0,7\%$ та *P. oryzae* на $62,6 \pm 4,4\%$ [15].

Але, зважаючи на те, що середовища культивування для кожного продуцента відрізняються один від одного, важко виконати обґрунтований вибір

лише за вказаними параметрами. Тому, пропонується визначити ціну кожного поживного середовища, для більш ретельного вибору біологічного агента.

Таблиця 3.2

Вартість поживних середовищ для культивування продуцентів

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації (1, 2, 3)*
<i>W. anomalus</i> YE-42	Глюкоза – 20	30	0,6	1
	Пептон – 20	177,82	3,56	2
	Дріжджовий екстракт - 10	148,19	1,48	3
Вартість 1 л середовища – 5,64 грн				
<i>C. melibiosica</i> 2515	Дріжджовий екстракт – 3	148,19	0,45	3
	(NH ₄) ₂ SO ₄ – 5	23	0,12	4
	КН ₂ РО ₄ – 5	200	1	5
	Глюкоза - 5	30	0,15	1
Вартість 1 л середовища – 1,72 грн				
<i>T. indica</i> DMKU-RP31	Глюкоза – 20	30	0,6	1
	Пептон – 20	1059	3,56	2
	Дріжджовий екстракт - 10	148,19	1,48	3
Вартість 1 л середовища – 5,64 грн				
<i>D. hansenii</i>	Глюкоза – 20	30	0,6	1
	Сублімована картопля - 4	170	0,68	6
Вартість 1 л середовища – 1,28 грн				
<i>D. hansenii</i> ECP4	Глюкоза – 20	30	0,6	1
	Пептон – 20	1059	3,56	2
	Дріжджовий екстракт - 10	148,19	1,48	3
Вартість 1 л середовища – 5,64 грн				

Примітка. * - Ціни наведено станом на грудень 2023 р.

1 - <https://prom.ua/p144210781-glyukoza-pishevayamagnij-okismetionin.html>

2 - https://www.alibaba.com/product-detail/hot-sale-Peptone-CAS-73049-73_1600732659247.html

3 - https://www.alibaba.com/product-detail/Factory-direct-sale-fermented-yeast-extract_60828177771.html

4 - <https://prom.ua/p1411467213-sulfat-amoniya-ammonij.html?&primelead=M14zNzU>

5 - <https://prom.ua/p955281898-kaliya-monofosfat-mkr.html>

6 - <https://prom.ua/ua/p1600755817-kartofel-sushyonyj-pyure.html>

В таблиці 3.2 найдешевше середовище для свого культивування використовує *D. hansenii*. Але, повертаючись до табл.3.1. даний продуцент має далеко не найвищу антагоністичну активність. Найдорожче середовище використовують *D. hansenii* ЕСР4, *T. indica* DMKU-RP31 та *W. anomalus* YE-42.

Дані з табл.3.2.. не дають повноцінної картини порівняння, оскільки не відбувається прямої кореляції з попередніми даними. Для гарного обґрунтування варто було б порівняти умовну вартість продукту, але наш цільовий продукт – це біомаса дріжджів, а цікавить насамперед антагоністична активність продуцентів. До того ж, концентрація біомаси для дріжджів буде приблизно однаковою, оскільки концентрація вуглецевого живлення майже у всіх однакова (крім *C. melibiosica* 2515). Азотне живлення також майже у всіх незмінне (менше лише у *C. melibiosica* 2515 та *D. hansenii*).

Тому, пропонується зробити зведену таблицю, та визначити різницю активності для кожного біологічного агента в порівнянні з *T. indica* DMKU-RP31. Також, варто порівняти вартість поживних середовищ по відношенню до *D. hansenii*, як додаткового параметру для обґрунтованого порівняння.

Таблиця 3.3.

Узагальнені дані щодо вибору біологічного агента

Біологічний агент	Антагоністична активність, %	Вартість за 1 л середовища, грн	Різниця активності в порівнянні з <i>T. indica</i> DMKU-RP31	Різниця вартості в порівнянні з <i>D. hansenii</i>
<i>W. anomalus</i> YE-42	40	5,64	менше в 2,16 рази	більше на 4,36 грн
<i>C. melibiosica</i> 2515	38	1,72	менше в 2,27 рази	більше на 0,44 грн
<i>T. indica</i> DMKU-RP31	86,3 ± 0,9	5,64	-	більше на 4,36 грн
<i>D. hansenii</i>	38	1,28	менше в 2,27 рази	-
<i>D. hansenii</i> ЕСР4	37	5,64	менше в 2,33 рази	більше на 4,36 грн

Примітка. * знак «-» означає, що для цього мікроорганізму порівняння не виконуємо

Враховуючи те, що концентрація біомаси *C. melibiosica* 2515 та *D. hansenii* явно будуть нижчими, оскільки будуть обмежуватись джерелами вуглецевого та азотного живлення, різниця вартості поживних середовищ не буде відігравати значної ролі. До того ж, антагоністична активність цих продуцентів навряд чи

зміниться, тому використовувати дані мікроорганізми для біоконтролю міцеліальних грибів вважаємо недоцільним.

Найближчим до *T. indica* DMKU-RP31 за антагоністичною активністю є дріжджі *W. anomalous* YE-42, різниця між цим параметром складає всього 2,16 раз. Проте, оскільки для кожного з цих біологічних агентів застосовується однакове середовище, очевидна перевага *T. indica* DMKU-RP31.

Найгіршим продуцентом можна вважати *D. hansenii* ECP4. Він має найменшу антагоністичну активність, а також використовує середовище, що й *T. indica* DMKU-RP31. На фоні цього біологічного агента, більш виграшними виглядають штами *C. melibiosica* 2515 та *D. hansenii*.

Тож, враховуючи вищенаведені факти, обираємо *T. indica* DMKU-RP31, як основний біологічний агент для потенційного застосування і біоконтролі патогенних грибів.

3.4. Розрахунок річної потужності виробництва

Рис у світовому землеробстві є основною продовольчою культурою, продукцією якої харчується приблизно половина людей земної кулі, які проживають переважно у густонаселених країнах Південно-Східної Азії, таких як Китай, Індія, Пакистан, Індонезія, Японія та ін [94].

За посівними площами (140 млн га) та валовими зборами зерна (понад 470 млн т) рис є третьою у світі зерновою культурою після пшениці та кукурудзи [94].

Рисова крупа містить до 75% вуглеводів, 7,7 білка, близько 1% жиру. Вона має високі смакові і поживні якості. Проте слід зазначити, що в рисовій крупі мало вітамінів, білків, амінокислот. Рисовий крохмаль широко використовують у текстильній і парфюмерній промисловості. При шеретуванні рису мають рисове борошно, що складається з плодових і насінних оболонки та клітин ендосперму. Рисове борошно містить до 14% білка, близько 15% жиру і значну кількість вітамінів. Відходи від переробки рису на крупу у вигляді борошна із вмістом до 14 % білка використовують як концентрований корм у тваринництві. З рисового борошна і зародків зерна виробляють різні фармацевтичні препарати (фітин та ін.),

вітаміни. Зародки, крім того, є сировиною для виробництва олії, яку використовують у миловарінні, для виготовлення свічок. З битого зерна виробляють крохмаль, спирт, рисову пудру. З рисової соломи виготовляють капелюхи, корзини, найкращі сорти паперу і картону тощо [94].

У Нацакадемії аграрних наук повідомляють, що в Україні є актуальними дослідження зі створення інноваційних рішень у рисівництві для забезпечення сталого зростання виробництва зерна рису [95].

Зазначається, що останні роки площі вирощування рису в країні були у межах 11,2–12,7 тис. га з незначним зниженням в останні два роки. Все – через низьку ціну імпортного рису та здорожчання ресурсів. Виробництво цієї культури в середньому за останні три роки становило 61,5 тис. тонн зерна. Експорт у 2020 році – 112,2 тис. тонн крупи рисової шліфованої. Власне виробництво крупи рисової в Україні становить близько 35%, що говорить про імпортозалежність [95].

Висока імпортозалежність внаслідок втрати рисових систем та зменшення через це валового виробництва продовжує негативно впливати на рівень внутрішніх цін на продукцію рисівництва. Також, важливим чинником імпортозалежності нашої країни є псування продукції як під час вирощування, так і під час вже тривалого зберігання [95].

В Україні рис сіють переважно приватні фермери. Єдині державні установи – Інститут рису і його дослідні господарства. У країні залишилося близько 30 господарств, які вирощують рис. Середня площа посівів у кожному з них – 500-600 га [12].

Рис також є досить теплолюбною рослиною: для проростання насіння й появи сходів потрібна температура 13-16 °С. Оптимальна температура для росту рослин становить 25-30 °С. Через це, в Україні використовуються сам посівні площі південних регіонів. Тривалість вегетаційного періоду в українських умовах ранньостиглих сортів – 90-100 днів, пізньостиглих – 130-140 днів. Також, в Україні спостерігається тенденція до виведення нових селекційних штамів рису, які більш стійкі до умов нашої країни, що буде спонукати більший засів та явно більший час

на вирощування рису з метою отримання більшого врожаю для забезпечення внутрішніх потреб українських споживачів [94-96]. Тому, потреба у препаратах біоконтролю в найближчому майбутньому буде чи не постійною, враховуючи можливі лабораторні дослідження для підвищення врожайності, стійкості нових культур та підвищення терміну їх придатності.

Як основу препарату пропонується використати дріжджі *T. indica* DMKU-RP31, оскільки вони мають високу антагоністичну активність щодо *R. solani*, який є одним з найбільших шкідників рису. При розробці препарату, варто враховувати, що ефективною концентрацією антагоніста є близько 10^6 - 10^7 клітин/мл. При культивуванні *T. indica* DMKU-RP31 дана концентрація становить як раз 10^6 клітин/мл, що ідеально підходить для розробки препарату біоконтролю рису [14,97,98].

Препарат можна використовувати багатофункціонально, для обробки зерен перед посівом, удобрення ґрунту, обробки пророслих рослин та обробки вже готової продукції. Україна славиться своїми посівними компаніями, тому пропонується виконати відповідні розрахунки щодо посівних площ рису, з пропозицією використання інших методів обробки даним препаратом.

Для обробки земель за допомогою *T. indica* DMKU-RP31 дослідники пропонують обробку кожних 5 діб. Проте, по-перше, така рекомендація надана через зниження популяції *T. indica* DMKU-RP31 на рослинах менше ніж на 50%, по друге – дослідження проходило в лабораторних умовах. Така інтенсивна обробка дріжджами не є потрібною для польових умов, оскільки рослини все одно будуть додатково підживлювати різними добривами, що напряду буде впливати на саморегуляцію *T. indica* DMKU-RP31. До того ж, в роботі представлено вигляд рослин на 15 день без додаткової обробки, але при наявності *R. solani*, де видно, що об'єкт нормально переносить грибкове захворювання за допомогою обраних дріжджів [15].

Зазвичай, для обробки зернових культур фунгіцидами рекомендована частота – 2-3 на сезон. Це є більш оптимальним значенням, на яке і пропонується

орієнтуватись, враховуючи, що рослина напряду оброблена *T. indica* DMKU-RP31 та *R. solani* мала абсолютно здоровий вигляд. До того ж, при постійній обробці рослинних культур будь-якими речовинами довіра споживачів буде лише зменшуватись, незважаючи на те, якими б ці препарати не були екологічними [15,99].

Загальна тривалість росту ранньостиглих сортів рису – 90-100 днів, пізньостиглих – 130-140 днів [95]. Як це зазначалося раніше. Маючи ці данні, можемо визначити середню тривалість сезону:

$$\left(\frac{90+100}{2} + \frac{130+140}{2}\right)/2 = 115 \text{ днів}$$

Отже, тоді доцільно виконувати обробку кожні:

$$\frac{115}{3} \approx 39 \text{ дні} \approx 1,3 \text{ місяці}$$

Ці дані є корисною інформацією для агрокомплексу, яку варто наносити на упаковку, як рекомендація щодо застосування даного препарату для обробки полів.

Кількість препарату яка застосовується для обробки полів в середньому становить 200-300 л/га [100]. Отже, враховуючи останні статистичні дані щодо посівних площ рису (11,2–12,7 тис. га) [95], пропонується виконати усереднений розрахунок за цими даними. Тоді, кількість посівних рисових площ рису складає 11,95 тис. га. Враховуючи кількість обробок за сезон, ка становить близько 3, кількість препарату, яка необхідна для забезпечення всіх посівних рисових площ України становить:

$$11\,950 \times 3 \times 250 = 8\,962\,500 \text{ л} = 8\,962,5 \text{ м}^3$$

Оскільки Україна це аграрна країна і вона має велику кількість різноманітних препаратів для обробки полів, пропонується забезпечувати лише 10% від зазначеної кількості. Тоді, необхідна кількість препарату на рік становить:

$$8\,962,5 \times 0,1 \approx 896 \text{ м}^3$$

Препарат виготовляється на основі культуральної рідини *T. indica* DMKU-RP31, оскільки супернатант містить ЛОС та ферменти, які також є активними

учасниками у біоконтролі патогенних грибів. Тому, кількість культуральної рідини на рік еквівалентно об'єму річної потреби розробленого препарату.

Препарат пропонується випускати у двох формах: як рідкий, оскільки це дуже легка форма, яку залишилося просто розпилити та як сухий препарат, оскільки активність дріжджів з часом буде падати, а є споживачі, які люблять закуповуватись оптом. Тобто, половина культуральної рідини піде на виробництво рідкого препарату, а половина – на одержання сухого порошку. Через це маємо врахувати втрати, які будуть впливати на кінцевий об'єм продукту. Приблизні втрати на виробництво двох форм препарату становить 15% (5% - на фасування рідкого препарату та 10% на одержання сухого). Тоді, кількість культуральної рідини на рік має становити:

$$\frac{896}{1 - 0,15} \approx 1054 \text{ м}^3$$

Для подальшого опису, потрібно врахувати кількість культуральної рідини за 1 робочий цикл. Культивування *T. indica* DMKU-RP31 триває всього 24 години, що треба врахувати при визначенні кількості культуральної рідини за цикл.

Приймаємо, що для отримання 1054 м^3 культуральної рідини необхідно 300 робочих трудоднів ($T_{рд}$). Відповідно кількість культуральної рідини на добу (V_d) становитиме:

$$V_d = V_{кр} / T_{рд} = 1054 / 300 \approx 3,51 \text{ м}^3$$

Розрахуємо кількість культуральної рідини за один цикл, ($V_{крц}$):

$$V_{крц} = K_1 \cdot V_d \cdot T_{цф} / 24 = 1,1 * 3,51 * 31 / 24 \approx 4,98 \text{ м}^3,$$

де $T_{цф}$ - цикл роботи ферментера, який включає: мийку та огляд – 1,5 год, перевірку на герметичність – 0,5 год, підігрів та стерилізацію апарату – 1,5 год, охолодження ферментеру – 1 год, завантаження поживного середовища – 1,5 год, засів культурою – 0,5 год, ферментацію – 24 год, та вивантаження – 0,5 год, і становить 7 години. K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K_1 = 1,1$).

3.5. Обґрунтування вибору товарної форми випуску препарату для біоконтролю

3.5.1. Обґрунтування форми випуску препарату біоконтролю та вибору додаткових речовин

Як було вказано раніше, препарати для агропромисловості випускаються у рідкій та в твердій формі. Для виробництва препарату для біоконтролю за допомогою епіфітних дріжджів *T. indica* DMKU-RP31 використовується культуральна рідина [15]. Пропонується розглянути всі можливі варіанти виробництва препарату, а після цього зробити кінцевий вибір форми. Одна з головних переваг рідких препаратів - можливість рівномірного розподілу в ґрунті. Їх дуже зручно зберігати в пластикових ємностях, які можна виготовити на замовлення під будь-які потреби. Ґрунт однаково добре просочується розчином, чого не скажеш при застосуванні сипучих і гранульованих форм [101].

Інше достоїнство рідких препаратів - малий ризик втрати. Інші склади під впливом природних стихій змиваються водою і здуваються вітром. Рідкі просто вбираються, додатково пом'якшуючи ґрунт для подальших робіт [101].

Ще ряд переваг мінеральних комплексних складів у вигляді рідини [101]:

- o можуть вноситися без негайної обробки ґрунту;
- o в кожній краплі - однакові пропорції основних речовин;
- o роботи механізуються за допомогою адаптованих сівалок, що знижує витрати на зберігання, навантаження і розвантаження;
- o собівартість рідких комплексних добрив нижче в порівнянні з твердими, оскільки немає витрат на сушку, пиловловлювання, гранулювання і інші операції.

Але, крім рідких готових препаратів також існують концентрати. Їх перевагою, перед готовим рідким препаратом є більша кількість препарату в тому ж самому об'ємі, що заощаджує місце для зберігання та зменшує кількість використаної упаковки. Проте, є суттєві недоліки. Перший, це потреба у додатковій тарі для розведення концентрату, а також додаткове використання води

для розведення. Другий, готові розчини після розведення концентрату мають невеликий строк придатності, тому при приготування робочого розчину потрібно все ретельно прорахувати (що також є недоліком), щоб не було втрат продукції для обробки і грошової недостачі. Останній недолік, концентрати зазвичай дорожче за готовий рідкий препарат, через витрату на випарювання цього продукту [101].

Прикладами зареєстрованих на даний момент продуктів біоконтролю/біоконсервації, що містять дріжджі або дріжджоподібні гриби як активний інгредієнт, є Aspire® (*C. oleophila*), Candifruit® (*C. sake*), Shemer® (*M. fructicola*) і BoniProtect® (*A. pullulans*) [102].

З вищезазначених препаратів, в рідких формах випускають Candifruit® та BoniProtect®. Їх зображення показано на рис.3.2.



Рис.3.2. Рідкі препарати Candifruit® та BoniProtect® [103]

На жаль, дізнатися точний склад препаратів не є можливим, а тому орієнтуватись на ці продукти для подальшого визначення та обґрунтування стабілізаторів не вийде. Препарати знаходяться в готовому до використання вигляду [103], що каже про доцільність використання саме такої форми для реалізації.

Більшість фермерів використовують сухі агропрепарати – понад 80% від усіх препаратів для сільського господарства, що вносяться у світі. Сухі препарати можна вносити за допомогою розкидача, при сівбі – сівалкою, аплікатором/культиватором при ґрунтовому підживленні або за допомогою глибокорозпушувача, обладнаного бункером для внесення добрив, – одночасно з основним обробітком ґрунту. При внесенні сухих препаратів, коли змішують два

або більше їх видів, для рівномірного розподілу поживних речовин важливим є ступінь однорідності розміру частинок кожного окремого препарату [104].

Таке використання сухої форми не підходить для препаратів біоконтролю, які направлені «огортати» оброблену площу, будь то насіння, рослина чи плід. Тому, якщо і розглядати сухі препарати, то тільки у вигляді сухого порошку/таблетки/грануляту, з якого будуть робити вихідний розчин.

В першу чергу пропонується розглянути порошок як потенційну форму для виробництва. Порошок – це найлегша суха форма для одержання, оскільки крім сушарки за часту він не потребує додаткового обладнання (іноді, можливе використання млина та вібросита). Всі тверді форми зазвичай мають довший термін придатності, ніж рідкі форми, через низький вміст вологи. Порошок легше та швидше розчинити, ніж таблетки чи гранули. Також, перевагою порошків є саме зручність дозування форми. Як і для концентратів, суха форма потребує розведення у воді, а тому потребує додаткових розрахунків, щоб не приготувати більшу, ніж потрібно, кількість готового розчину. Порошки, як в принципі і всі інші сухі форми, заощаджують дуже багато місця, навіть якщо порівнювати з концентратами, а тому потребують меншої кількості упаковки [105].

Головним недоліком порошків, як і всіх сухих форм, є потреба у додатковій тарі для розведення, а також наявність води для цього процесу. Проте його переваги перекривають негативні моменти. Тим паче, сухі форми мають довший термін придатності, ніж рідкі [105].

У вигляді порошку наразі випускаються Aspire® та, знову ж таки, BoniProtect®. Їх зображення показано на рис.3.3.



Рис.3.3. Порошкові препарати Aspire® та BoniProtect® [106]

Для одержання гранул додатковою стадією є використання грануляторів та/або інших машин для одержання цієї форми. Гранулювання - цілеспрямоване укрупнення частинок, тобто – процес перетворення порошкоподібного матеріалу в зерна певної величини. Використовуються методики сухої, вологої та структурної грануляції [107].

Гранульовані препарати, органічні або комбіновані склади характеризуються такими перевагами, як-от [107]:

- незначна витрата в порівнянні з порошками;
- поступове вивільнення активного інгредієнту;
- гранули не розносяться вітром і не вимиваються водою, порівняно з порошками.

Що стосується недоліків гранульованих препаратів, то найістотніший із них полягає у відносно високій вартості в порівнянні з порошками. Це зумовлено трудомістким та тривалим процесом виробництва цієї продукції для сільського господарства. Крім того, гранули будуть довше розчинятися в робочому розчині, що буде спричиняти розпилення твердих частинок препарату, забивання сопла розпилювача, та одержання твердого вологого осаду на дні ємності. Всі ці недоліки не дають зробити вибір щодо цієї форми випуску препарату [107].

Також, до причин, за яких ми не можемо обрати таку форму є той факт, що відомі перепрати для біоконтролю не виробляють у вигляді гранул.

З сухих форм залишаються лише таблетки. Наразі таблетки без гранулювання не виробляють. Крім гранулювання для виробництва таблеток далі використовують пресування. Тому таблетки будуть самою дорогою сухою формою випуску. Таблетки є дуже зручною дозованою формою, адже їх можна виготовити таким чином, щоб одна таблетка припадала на 10 л робочого розчину, що дозволяє скоротити час прорахунку необхідної кількості готового рідкого препарату, який потрібен. Але, таблетки будуть розчинятись ще довше, ніж гранули. Хоча вони є зручними і при їх використанні, вони не будуть розсипатись як порошок чи гранули, вони залишаються більш дорогим задоволенням для агропромисловості.

Тому, таку форму також недоцільно обирати для виробництва препарату для біоконтролю [107].

Як у випадку гранул, так і з таблетками, препарати для біоконтролю не виготовляють у вигляді таблеток, а тому неможна чітко сказати про можливість використання такої форми у цьому питанні.

Отже, з усіх вище перелічених форм, найкращими виявилися готовий рідкий препарат та сухий порошок. Препарат пропонується випускати у двох формах: як рідкий, оскільки це дуже легка форма, яку залишається просто розлити після культивування та як сухий препарат, оскільки активність дріжджів з часом буде падати, а є споживачі, які люблять закуповуватись оптом.

Тепер, знаючи форми випуску препарату, варто передбачити наявність стабілізаторів та інших речовин. Оскільки препарати для біоконтролю, які вже зареєстровані, мають засекречений склад, пропонується звернути увагу на звичайні хлібопекарські дріжджі, які мають визначений склад та містять різні компоненти, які безпечні для здоров'я людини та навколишнього середовища, оскільки нікому не секрет, що багато домогосподарок, які мають город, використовують ці дріжджі для підживлення рослин [108].

Першим компонентом, який варто виділити – це гліцерин та його ефіри. Його використовують в першу чергу для пригнічення синтезу етанолу, який буде сповільнювати та інгібувати наші дріжджі. Крім того, гліцерин відіграє важливу роль у кріопротекції клітин, що напряду впливає на їх життєздатність. Крім гліцерину, можна використовувати гліцерофосфат та 3-фосфогліцеринову кислоту. Оптимальною концентрацією для цих компонентів виявилось 5% від загального об'єму [109].

Гліцерин має властивість утримувати воду з глибших шарів ґрунту в районі дії коренів рослин, створюючи сприятливі умови для розвитку рослин та мікрофлори ґрунту. Це дуже важливо, особливо у посушливі сезони. Ще одна властивість гліцерину поглинати надмірну вологість із повітря [110].

Встановлено, що гліцерин прискорює метаболізм бактерій, що фіксують азот у ґрунті. Це дозволяє їм відновлювати свою енергію для виконання важливих анаболічних функцій, таких як поділ клітин, диференціація, рухливість і ріст. Гліцерин сприяє нагріванню компостної купи до значних температур, тим самим створюючи оптимальне середовище для росту та метаболізму ґрунтових бактерій. Внесення допускається до 10-% гліцерину. Тому, можна вважати, що 5-% кількість гліцерину та його похідних не нашкодить екології, а лише покращить ситуацію [110].

За результатами досліджень – гліцерин є найкращим стабілізатором та кріопротектором [109], порівняно з його похідними. Але, для більш ретельного порівняння, пропонується визначити економічну складову цих трьох стабілізаторів, щоб кінцево визначити, який найліпше підійде для наших препаратів. Такий прорахунок показано в табл.3.4.

Таблиця 3.4

Порівняння гліцерину та його похідних за економічним показником для використання у складі препарату для біоконтролю

Стабілізатор	Вартість за 1 л, грн/л (кг)	Вартість у складі 1 л (кг) препарату (5-%), грн/л	Джерело
Гліцерин	44,5	2,23	[111]
Гліцерофосфат	186	9,3	[112]
3-фосфогліцерина кислота	3966,08	198,31	[113]

Отже, самим вигідним з табл.3.4 можна вважати по праву гліцерин. Він не буде сильно здорожчувати кінцевий продукт через свою дешевизну, а тому є бажаним компонентом у наших препаратах для біоконтролю. Гліцерин застосовується як в рідкому, так і в сухому препараті.

Також, як стабілізатор для життєздатності до дріжджів додають різні цукри. Наприклад, сахарозу також додають як частину захисного середовища для сушіння

та для підтримку життя клітин у рідкій та сухій формах. Зазвичай, для стабілізації дріжджів використовують декілька видів цукрів, до них відноситься сахароза, глюкоза, трегалоза, мальтоза та лактоза. При цьому, концентрація сахарози, глюкози та мальтози знаходиться в межах 2% від загального об'єму. Стосовно трегалози та лактози, ця концентрація становить 0,4 г на 1 г біомаси. З врахуванням того, що в поживному середовищі становить близько 7,5 г/л, то відповідна кількість останніх цукрів на 1 літр становить 3 г, а тому – 0,3%. Зазначені концентрації вважаються оптимальними для більшості дріжджів, а тому, пропонується також виконати прорахунок для визначення економічної доцільності того чи іншого цукру [109,114].

Порівняння цукрів показано в табл.3.5.

Таблиця 3.5.

**Порівняння цукрів, для підтримки життєздатності клітин *T. indica*
DMKU-RP31**

Цукор	Вартість за 1 кг, грн/кг	Концентрація в кінцевому продукті, %	Вартість в 1 л (кг) продукту, грн/л(кг)	Чи використовують субстрат обрані дріжджі	Джерело
Сахароза	15	2	0,3	+	[115,116]
Глюкоза	40		0,8	+	[116,117]
Мальтоза	44		0,88	-	[116,118]
Трегалоза	135	0,3	0,41	+	[116,119]
Лактоза	55		0,17	-	[120,121]

З врахуванням особливостей біологічного агента, використовувати мальтозу та лактозу недоцільно, оскільки дріжджі не можуть використати їх як субстрат, хоча використання лактози було б найдешевшим з усіх варіантів. З врахуванням компонентів, що залишились, найліпшим варіантом буде використання сахарози, як найдешевшого варіанту поміж інших. Отже, залишаємо свій вибір саме на цьому компоненті.

Особливу увагу треба приділити саме сухій формі препарату, оскільки дріжджі будуть висушуватись при відповідній температурі. Сорбітан моностеарат - це синтетичний складний ефір, який зазвичай використовується у виробництві харчових продуктів і продуктів охорони здоров'я як поверхнево-активна речовина з властивостями емульгування, диспергування та змочування. Він в концентрації 5% використовується у виробництві дріжджів для захисту дріжджів від надмірного висихання, а також допомагає регідратувати дріжджові клітини [122].

Оскільки інших альтернатив для сухих дріждів у ролі емульгатора знайти не вдалось, пропонується залишити свій вибір на сорбітан моностеараті як емульгатора для сухих дріжджових клітин.

Антиоксиданти здатні захищати клітини дріжджів від ендогенного та екзогенного окисного стресу. До їх функцій при додаванні до дріжджів входять [123]:

1. захищати тіолзалежний фермент алкогольдегідрогеназу від інактивації супероксидом, пероксинітридом і пероксидом водню;
2. запобігання H₂O₂-індукованій активації;
3. запобігання зниження позаклітинного окисно-відновного потенціалу середовища.

Як антиоксиданти для дріжджів найчастіше можна зустріти аскорбінову кислоту, цистеїн та глутатіон, а їх оптимальна концентрація – близько 0,1% [123]. Антиоксиданти додають як до рідких, так і до сухих препаратів, тому маємо визначитись із конкретною речовиною, яка буде задіяна. Оскільки інформація, щодо використання антиоксидантів для *T. indica* DMKU-RP31 відсутня, будемо спиратися на часто застосовані речовини. Як і минулі рази, їх пропонується порівняти по економічному показнику. Така характеристика показана в табл.3.6.

Отже, з табл.3.6. видно, що найвигіднішим компонентом є саме аскорбінова кислота, тому, залишаємо свій вибір саме на ній.

Тепер, знаючи форми випуску препаратів, можемо зробити невеличкий пропис для кожної форми, для зазначення усіх відповідних компонентів препарату.

Порівняння антиоксидантів для використання в складі препарату для біоконтролю на основі *T. indica* DMKU-RP31

Антиоксидант	Вартість за 1 кг, грн/кг	Вартість у складі 1 л (кг) препарату (0,1-%), грн/л (кг)	Джерело
Аскорбінова кислота	135	0,14	[124]
Цистеїн	720	0,72	[125]
Глутатіон	372	0,37	[126]

Рідкий препарат біоконтролю має такий склад:

Культуральна рідина *T. indica* DMKU-RP31

Гліцерин

Сахароза

Аскорбінова кислота

Сухий препарат для біоконтролю має такий склад:

Сухий порошок культуральної рідини *T. indica* DMKU-RP31

Гліцерин

Сахароза

Сорбітан моностеарат

Аскорбінова кислота

При цьому, варто зазначити, що всі компоненти (крім аскорбінової кислоти через її не термостійкість [127]) сухого препарату додаються до того, як він буде висушений, оскільки більшість з них є компонентами захисного середовища.

Варто зазначити, що для сушіння дріжджової культуральної рідини було обрано саме сушіння за допомогою розпилюючої сушарки, оскільки дріжджі в нашому випадку дуже термостійкі мікроорганізми [128], а також через об'єм культуральної рідини, яка надходить. Ліофілізація в даному випадку недоречна, через термостійкість біологічного агента, а використання конвективних шаф –

просто недоцільне через малий об'єм та ручну вивантажку продукту. Тому, сухий порошок будемо одержувати саме за допомогою розпилювальної сушарки.

Тепер, знаючи форму випуску препарату, маємо визначити його первинну та вторинну упаковку.

3.5.2. Обґрунтування вибору первинної та вторинної упаковки для препарату біоконтролю

Оскільки препарат розроблювався для біоконтролю рисових культур, пропонується розглядати агропромислові комплекси, як основного споживача такої продукції. Навряд чи звичайні люди будуть вирощувати рис у себе на городі.

Спираючись на цей факт, варто передбачити великогабаритну упаковку щонайменше для рідкого препарату. Для рідких препаратів часто використовують пластикову таку у вигляді пляшок різних об'ємів, каністр та бочок.



Рис.3.4. Приклади різної тари для пакування рідких продуктів [129,130]

Оскільки препарат пропонується для різних промислових агрокомплексів, логічно обрати пакування рідкого препарату у пластикову бочку. Для зручного вивантаження, варто передбачити не дуже великі бочки, оскільки не всі люди можуть підняти близько 100 кг. Тому, оптимальним рішенням буде використання бочок об'ємом близько 50 л, для більш менш зручного вивантаження препарату з транспорту перевізника, їх зберігання та розливу препарату в подальшому [131].

Пластикові бочки - надійна і універсальна багаторазова тара для фасування, перевезення, тимчасового або складського зберігання рідин, в'язких паст, порошків, гранульованих речовин різної природи. Пластмасові ємності використовуються в побутових умовах і практично у всіх галузях промисловості України [131]:

- о для води - питної, технічної, поливної - на підприємствах, будмайданчиках, в приватних будинках, на дачах, присадибних і фермерських господарствах, в квартирах, де є перебої з водопостачанням, як резервуари для літнього душа, накопичувачів дощової, снігової води;

- о в харчовій галузі, сировинних, заготівельних компаніях, торгових організаціях для фасування напівфабрикатів, готової продукції - молочної, хлібопекарської, кондитерської, рослинних масел, соків, джемів, бакалійних товарів (цукру, круп, бобових);

- о на хімічних, нафтопереробних, лакофарбових заводах для сухих і наливних продуктів - палива, мастил, спиртів, клеїв, емалей, добрив, рідкого скла;

- о для особливо чистих матеріалів, отрут, агресивних речовин - кислот, лугів, розчинів солей, каустичної соди, хлорвмісних дезінфікуючих засобів, деяких розчинників;

- о у фармацевтичній і косметичній галузі;

- о в агросекторі і тваринництві.

Бочки пластикові відрізняються важливими достоїнствами [131]:

- о за рахунок хімічної інертності не змінюють склад і якість міститься в них продукції, в них не відбувається гниття або бродіння;

- о не схильні до корозії;

- о безпечні для здоров'я людей і навколишнього середовища;

- о розраховані на тривалу експлуатацію під відкритим небом при будь-якій погоді, при температурах від -40 С до +70 °С;

- о в 2,5 рази легше металевих;

- о не вбирають запахи, легко миються;

- о не деформуються, не лопаються при ударах і пошкодженнях, що виключає прокидання або протоки продукції - це особливо важливо, якщо пластикову бочку використовувати під агресивні або шкідливі речовини;
- о підвищена міцність і надійність за рахунок відсутності швів, багатошарової конструкції;
- о допускається установка бочок один на одного під час штабелювання;
- о ціна пластикових бочок в 3-4 рази менше металевих.

Поліетилен з високою молекулярною масою і щільністю використовується для виготовлення пластикових бочок (HDPE). Оскільки поліетилен є інертним і стійким до високих і низьких значень рН, це чудовий матеріал. Хоча це не дуже екологічно, але цей пластик можна здати на вторинне використання, що може дати йому друге життя. Тому, пропонується виготовляти пластикові бочки об'ємом 50 л з HDPE [132].

Сухий препарат можна пакувати у тверду пластикову упаковку, або в м'який полімерний пакет як первинну упаковку. З врахуванням того, що близько з 50 л культуральної рідини вихід становить 400 гр продукту, логічно обрати саме м'які полімерні пакети з завантаженням в 400 г. Пакети мають перевагу перед контейнером у легкості транспортування, вони займають менший об'єм, ніж жорсткий контейнер [133,134].



Рис.3.5. Приклад упаковки для сухого порошку препарату для біоконтролю [133,134]

Зазвичай, м'які пакети виробляють з поліпропілену, через його гнучкість та міцність. Поліпропілен піддається вторинній переробці, а тому пропонується залишити свій вибір на цьому матеріалі [135].

Щодо вторинної упаковки, для бочок її використання недоцільне. Щодо поліпропіленових пакетів, оскільки препарат пропонується випускати для великих промислових комплексів, доречно передбачити велику, групову упаковку в картонну коробку. Це і екологічно і дозволяє збирати великий об'єм сухого розфасованого продукту.

На бочки та пропіленовий пакет додаємо самоклеючу етикетку з одного боку з назвою, складом, серією, терміном придатності на одній стороні, та повною інструкцією, даними виробника, інструкцією до застосування з іншого боку.

Отже, наше виробництво пропонує 2 препарати: сухий у вигляді порошку, розфасований по поліпропіленовим пакетам по 400 г з клейкою стрічкою та рідкий у поліетиленовій бочці з HDPE об'ємом 50 л.

РОЗДІЛ 4

ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ

Вихідні дані:

1. Об'єм культуральної рідини з однієї ферментації ($V_{кр}$) = 4,98 м³;
2. Концентрація біомаси *T. indica* DMKU-RP31 в культуральній рідині ($C_{біом}$) = 7,5 г/л;
3. Втрати на стадіях виділення і очищення препарату біоконтролю: рідкий = 5 %; порошок = 10%.

Початкова кількість сухої біомаси в культуральній рідині складає $4,98/2*7,5 \approx 18,7$ кг, а кінцева кількість сухого порошку біомаси *T. indica* DMKU-RP31, з урахуванням 10 %-ів втрат, має становити 16,8 кг. Розподіл втрат по усім стадіям виділення і очищення наведено в таблиці 4.1.

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ				
Розроб.		Станішевська М.Є.			РОЗДІЛ 4		Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Красінько В.О.			ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО			73	108
Реценз.					ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ		Кафедра БТМ		
Н. Контр.					МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО				
Затверд.		Стабніков В.П.			СТАДІЯХ				

Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіям

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіям			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати (разом 15 %)	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7
ТП 2 Зберігання культуральної рідини						
1	ТП 2 Зберігання культуральної рідини	Культуральна рідина	4,98 м ³	-	4,98 м ³	Збірник культуральної рідини об'ємом 10 м ³
ТП 3 Сушіння біомаси на розпилювальній сушірці						
2	ТП 3 Сушіння біомаси на розпилювальній сушірці	Культуральна рідина	2,49 м ³	-	-	Розпилююча сушарка об'ємом 3 м ³
		Біомаса	18,7 кг	5%	17,77 кг	Переноситься в збірник на 25 л з пересувним пристроєм
ПМВ 4 Пакування, маркування і відвантаження готових препаратів						
3	ПМВ 4.1. Пакування, маркування і відвантаження рідкого препарату для біоконтролю <i>R. solani</i> для обробки рису	Культуральна рідина	2,49 м ³	5% (0,125 м ³)	2,365 м ³	Фасувально-пакувальна машина для рідин
		Розфасований рідкий препарат	Поліетиленові бочки об'ємом 50 л	-	48 бочок	Передаються на зберігання до складу
4	ПМВ 4.2. Пакування, маркування і відвантаження порошку для біоконтролю <i>R. solani</i> для обробки рису	Біомаса	17,77 кг	5%	16,8 кг	Фасувально-пакувальна машина для порошоків
		Розфасований порошок	Поліетиленові пакети на 400 мл	-	42 пакети	Передаються на зберігання до складу

РОЗДІЛ 5

СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація апаратурного обладнання для одержання рідкого та сухого препарату на основу культуральної рідини *T. indica* DMKU-RP31 для біоконтролю *R. solani* рису продемонстровано в табл.5.1

Таблиця 5.1.

Специфікація обладнання виробництва препарату для біоконтролю *R. solani* рису

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
ПЗ – 1	Повітрозабірник	1	Обладнаний металевією сіткою для видалення механічних забруднень.
Ф - 2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Карманний фільтр G4. Комплектація: зміні фільтруючі елементами з поліефірного синтетичного волокна. Затримувальна здатність - 80%. Країна: Україна. Торгова марка: ТОВ "АЛЬТЕР ЕЙР" ¹
Ф-3	Фільтр тонкої очистки	1	Фільтр JABLOTRON F7 400x220x48 мм- клас очищення F7. Фільтр призначений для утримання часток розміром 1-3 мкм. Застосовується для досягнення більш високих вимог до якості повітря у приміщенні й ефективний проти бактерій, цементного пилу і частково проти сажі або тютюнового диму. Країна: Чехія. Торгова марка: Jablotron ²
Ф-4	HEPA фільтр	1	Фільтр HEPA клас фільтрації H14. Матеріал на основі мікрофібри. Ефективність 99,995 %. Габарити: (в×д×ш, мм): 305x305x78. Максимальна продуктивність: 200 м ³ /год. Максимальна робоча температура – 280 °С. Країна: Україна. Торгова марка: ВЕНТ-ФІЛЬТР ³
Т-5	Теплообмінник-нагрівач	1	Мідноалюмінієвий теплообмінник в трьохрядному виконанні, з крапле-влівлювачем і піддону з патрубками для відводу конденсату, теплоносій-пара або вода. Матеріал ламелей – алюміній. Товщина ламелей 0,2 мм, крок 2,5 мм. Країна: Україна. Торгова марка: ОЛЛТАН плюс ⁴

НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Станішевська М.Є.			РОЗДІЛ 5 СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	Літ.	Арк.	Архивів
Перевір.		Красінько В.О.					75	108
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

З-6	Збірник для зберігання культуральної рідини об'ємом 10 м ³	1	Збірник на 10 м ³ , оснащений подвійною сорочкою. Матеріал корпусу виготовлено зі сталі нержавіючої 304L (не контактуючі поверхні) та 316L (контактуючі поверхні). Збірник може оснащуватись мішалкою з швидкістю до 155 об/хв. Габарити: висота 3600 мм, діаметр 1900 мм. Країна: Китай. Торгова марка: Wenzhou Suote Pharmaceuticall And Chemical Engineering Co., Ltd. ⁵
Н-7 Н-11	Насос відцентровий на 5 м ³	2	Відцентровий багатоступінчастий насос Sprut MRS 3. Потужність двигуна - 750 Вт. Робочий тиск - 3.5 Атм. Продуктивність - 5 м ³ /год. Вал виконано з нержавіючої сталі AISI304. Матеріал корпусу – чавун. Країна: Китай. Торгова марка: Sprut ⁶
З-8	Збірник об'ємом 5 м ³	1	Збірник на 5 м ³ , оснащений подвійною сорочкою. Матеріал корпусу виготовлено зі сталі нержавіючої 304L (не контактуючі поверхні) та 316L (контактуючі поверхні). Збірник може оснащуватись мішалкою з швидкістю до 200 об/хв. Країна: Китай. Торгова марка: Wenzhou Chinz Machinery Co., Ltd. ⁷
Д-9 Д-12	Об'ємно-ваговий дозатор	1	Дозатор для густих рідин. Робочий тиск від 0,5 до 10 атм. Встановлює дози від 10 мл до 9999 л. Автоматизована система. Країна: Україна. Торгова марка: Агротех ⁸
Д-10 Д-13	Ваговий дозатор	1	Ваговий промисловий дозатор. Продуктивність до 5 т/год. Автоматизована система. Країна: Україна. Торгова марка: Техноваги ⁹
С-14	Конвективна сушарка на 3 м ³	1	Промислова розпилювальна сушарка з відцентровим розпилювачем продуктивністю 3 м ³ /год. Габарити: висота 6700 мм, діаметр 2300 мм. Кінцева вологість продукту – 1%. Країна: Китай. Торгова марка: GRIFFIN MACHINERY ¹⁰
З-15	Збірник для сухого порошку на 25 л	1	Пересувний збірник РСМ-25. Об'єм апарату – 25 л. Матеріал обладнання – сталь нержавіюча 316L. Габарити: висота 1000 мм, діаметр 900 мм. Країна: Україна. Торгова марка: ООО “КАБЕЛЬФАРМТЕХНИКА” ¹¹
ФА-16	Фасувальний апарат для рідин	1	Автоматизована машинна лінія для наповнення бочок. Максимальна продуктивність до 6 м ³ за годину. Може виконувати розлив від 50 до 200 л по поліетиленовим тарам. Оснащений об'ємно-ваговим дозатором. Точність розливу – 0,2%. Країна: Індія. Торгова марка: Authentic ¹²

ФА-17	Фасувальний апарат для порошку	1	Фасувальний апарат РW-500. Дозування від 5 до 500 гр. Продуктивність – 8-15 пакетів за хв. Оснащений ваговим дозатором. Точність зважування – 0,3 г. Габарити: ширина – 590 мм, довжина – 460 мм, висота 1700 мм. Країна: Китай. Торгова марка: Dingya ¹³
К-18	Калорифер для сушарки	1	Установка типу СФОЦ аверсне (з відцентровим вентилятором) 2,5. Максимальна потужність повітрям 900 м ³ /год. Країна: Україна. Торгова марка: ПВП "ТИТАН" ¹⁴

Примітка: 1 – <https://alterair.ua/product/pocket-filter-g-class/>, 2 – <https://shop.alterair.ua/product/jablotron-f7-filter/>, 3 – <https://ventfilter.kiev.ua/goods/filtr-hepa-dlya-himicheskoy-promyshlennosti/>, 4 – <https://alltan.com.ua/p2090292-teploobmennik-vodyanoj.html>, 5 – https://www.alibaba.com/product-detail/10000-litre-reactor-chemical-reactor-prices_1600185517773.html, 6 – <https://220volt.com.ua/nasos-poverhnostnij-sprut-mrs-3/>, 7 – <https://russian.alibaba.com/product-detail/High-62260713670.html>, 8 – https://agro-teh.com.ua/p370228267-dozator-vody-zhidkostej.html?source=merchant_center&gad_source=1&gclid=Cj0KCQiAqsitBhDIARIsAGMR1RgnuO8-beTZhCLIEyMlaE158GotKlQUpXpSIu-eGOh3ACErS9TSH0QaAreeEALw_wcB, 9 – <https://technowagy.com.ua/ru/products/vesovoj-diskretnyj-dozator-rashodomer-dlya-sypuchih-3/>, 10 – <https://www.griffinmachinery.com/spray-dryers/>, 11 – <http://www.kft2.com.ua/reaktor25.html>, 12 – <https://www.indiamart.com/proddetail/semi-automatic-drum-filling-machines-for-50-litre-drum-9194331612.html>, 13 – <https://packhouse.com.ua/ua/p1359748529-pnevmaticheskij-fasovochno-upakovochnyj.html>, 14 – <https://titanelektro.dp.ua/ua/products/ustanovka-typu-sfocz-aversne-z-vidcentrovym-ventilyatorom/>

РОЗДІЛ 6
ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО
ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ ПРЕПАРАТУ БІОКОНТРОЛЮ
***RHIZOCTONIA SOLANI* РИСУ**

Оскільки запропоновано виготовляти 2 форми препарату, передбачається використання розпилюючої сушарки. Для цього варто враховувати підготовку повітря, яке треба підігріти. Після цього йде технологічний процес.

ДР 1. Підготовка гарячого повітря

ДР 1.1. Забір атмосферного повітря

Атмосферне повітря забирають через повітрязабірник на висоті 10 м, де концентрація пилових часток і мікроорганізмів є мінімальною.

ДР 1.2. Груба очистка повітря

Дану операцію виконують з метою уникнення потрапляння бруду до готового порошку. Очистку повітря від пилу та механічних часток здійснюють у Ф-2, з затримуючою здатністю 90%.

ДР 1.3. Тонка очистка повітря

Оскільки препарат дуже мати прямиий контакт з рослинними культурами і навіть продуктами, даний етап очистки є необхідним для зменшення мікробного навантаження. Повітря пропускають через Ф-3, з затримуючою здатністю 95%.

ДР 1.4. Надочищення повітря для сушіння

Дана стадія є останньою перед нагріванням готового повітря. Попередня фільтрація здійснюється задля униуення великого навантаження на цб стадію та подовження життя Ф-4, яки затримує до 99,995% бруду.

ДР 1.5. Нагрівання повітря

З метою запобігання утворення зайвого конденсату, охолоджене повітря у теплообміннику Т-5 нагрівають до температури 220 °С [136].

ТП 2. Зберігання культуральної рідини

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Станішевська М.Є.			РОЗДІЛ 6 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ ПРЕПАРАТУ БІОКОНТРОЛЮ <i>RHIZOCTONIA SOLANI</i> РИСУ	Лім.	Арк.	Архувів
Перевір.		Красінько В.О.					78	108
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Культуральну рідину зберігають у З-6 при 4-8 °С для подальшого виготовлення відповідних препаратів.

ТП 3. Додавання допоміжних речовин

ТП 3.1. Додавання допоміжних речовин для одержання сухого препарату

За доопомгою відцентрового насосу (Н-7) зі збірника (З-6) передається 2,47 м³. Об'єм визначається рівнеміром, що передбачено в конструкції збірнику (З-8). За допоомгою об'ємно-вагового дозатора (Д-9) подають 123,5 л гліцерину, на ваговому дозаторі (Д-10) подають 49,4 кг сахарози, 123,5 кг сорбітану моностеарату, 2,47 кг аскорбінової кислоти. Вмикається мішалка, до повного перемішування всіх доданих компонентів. Після цього, розчин подається на розпилюючу сушарку.

ТП 3.2. Додавання допоміжних речовин для одержання рідкого препарату

За допомогою об'ємно-вагового дозатора (Д-12) до збірника (З-6), де залишилася друга половина культуральної рідини додають 123,5 л гліцерину, за допомогою вагового дозатора (Д-13) додають 49,4 кг сахарози та 2,47 кг аскорбінової кислоти. Вмикається мішалка, до повного перемішування всіх доданих компонентів. Після цього, розчин подається на фасування.

ТП 4. Сушіння біомаси на розпилювальній сушарці

Культуральну рідину з додатковими речовинами подають до розпилювальної сушарки С-14 за допомогою відцентрового насосу Н-11. Паралельно, до апарату подається нагріте повітря від ДР 1.3., яке додатково нагрівається в калорифері К-18. При цьому, контролюють температуру входу – 214 °С та температуру виходу – 60 °С. Тривалість сушіння становить 1 год. Одержана суха біомаса потрапляє до З-15 і передається на подальшу стадію. На цій стадії контролюється вологість, яка має становити не більше 5% та вага біомаси, що має становити 16,8 кг.

ПМВ 5. Пакування, маркування і відвантаження готових препаратів

ПМВ 5.1. Пакування, маркування і відвантаження рідкого препарату для біоконтролю R. solani для обробки рису

Залишок культуральної рідини разом з додатковими речовинами з 3-6 за допомогою відцентрового насосу подають до автоматичного апарату розливу рідин по бочкам (ФА-16). На автоматі встановлюється режим розливу: доза – 50 л. Тривалість процесу становить 30 хв. Після розливу, бочки закриваються вручну кришками після чого їх переносять до холодильнику на зберігання при 4 °С. Кількість бочок становить 48 шт.

ПМВ 5.2. Пакування, маркування і відвантаження порошку для біоконтролю R. solani для обробки рису

Зі 3-9 в ручну пересипають порошок сухої біомаси *T. indica* DMKU-RP31 до бункеру ФА-17. На автоматі встановлюються налаштування фасовки по 400 г. Тривалість процесу становить 10 хв. Після чого, зафасовані пакети вручну складають в коробку та переносять на склад на зберігання при 25 °С. Кількість пакетів має становити 42 шт.

РОЗДІЛ 7

КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ

7.1. Контроль рівня культуральної рідини в збірнику

Рівнемір — прилад, призначений для визначення рівня вмісту у відкритих і закритих резервуарах, сховищах і так далі. Під вмістом розуміють різноманітні види рідин, у тому числі і газотвірні, а також сипкі і інші матеріали. Рівнеміри також називають датчиками/сигналізаторами рівня, перетворювачами рівня [137].

З урахуванням технічних параметрів і функціональних особливостей рівнеміри підрозділяються на прилади, які використовуються для дискретного або безперервного виміру. Крім того, описувані датчики поділяються за типом робочого середовища [137]:

вимірювальна арматура для контролю рівня рідин різних розчинів, води, нафтопродуктів;

пристрої, що працюють з сухими сипучими продуктами (порошок, гранули).

За принципом дії рівнеміри класифікуються наступним чином [137]:

Електродні прилади, що забезпечують періодичний контроль речовини за допомогою характеристик електропровідності робочого середовища. Електричний провідник (вимірювана субстанція) стосується електрода, що провокує замикання ланцюга. В результаті виникає специфічний сигнал. Коли обсяг речовини зменшується, ланцюг розмикається.

Ємнісні датчики. Регулятори визначають показники ємності конденсатора. У разі підвищення або зниження рівня рідини площа конденсатора змінюється. Ці зміни фіксуються контролером [137].

За допомогою подібних пристроїв можна здійснювати регулярний контроль робочого середовища в таких умовах [137]:

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Станішевська М.Є.</i>			<i>РОЗДІЛ 7 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ</i>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Архивів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Красінько В.О.</i>					<i>81</i>	<i>108</i>
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

температура - до 250 градусів вище нуля;

глибина - до 50 метрів.

Поплавкові рівнеміри. Ці пристосування визначають рівень наповнення резервуара або трубопроводу за допомогою полого поплавця, який розміщений на поверхні робочого середовища. Коли рівень рідини змінюється, спрацьовує спеціальний вимикач. Такі контролери застосовуються в паливних баках, цистернах з рідиною і інших подібних системах. Можуть працювати з речовинами, що мають різну щільність і температуру [137].

Магнітні пристрої. Відповідний датчик являє собою трубку з магнітом і поплавком. Трубка опускається в резервуар з водою, внаслідок чого в ній створюється такий же рівень рідини. Зовні встановлюється магнітний покажчик, на який впливає магніт [137].

Візуальні рівнеміри. Ці прилади оснащені оглядовим склом. Вони можуть використовуватися в парових котельнях. Також їх часто застосовують при виробництві різноманітних хімічних складів і речовин [137].

Ультразвуковий рівнемір призначений для безконтактного вимірювання рівня різних рідин і дистанції до кордону розділу середовищ. Може використовуватися в якості сигналізатора або далекоміра. Дозволяє визначати середній рівень і перепад рівнів у двох точках, наповнення та об'єм рідини в резервуарах з відомими об'ємними характеристиками. Максимальна вимірювана відстань до 15 м [138].

Принцип роботи ультразвукових рівнемірів заснований на відображенні звукового імпульсу від перешкоди у вигляді поверхні вимірюваного середовища. Ультразвуковий рівнемір містить два основні елементи - це випромінювач і приймач. Випромінювач випускає ультразвукові хвилі, які відбиваючись від поверхні середовища вимірювання, повертається назад в приймач. Таким чином, контролер приладу вимірює час, за який сигнал проходить шлях від випромінювача до приймача. Переваги ультразвукових рівнемірів [138]:

- відсутній контакт з вимірюваним середовищем;
- компактна конструкція і відсутність рухомих частин;
- не потребують частого обслуговування.

Рівнемір встановлюється вертикально над поверхнею речовини. Поверхня речовини частково або повністю відбиває ультразвуковий імпульс у напрямку рівнеміра. Відбитий сигнал перетворюється приймачем рівнеміра і перетворюється в електричний сигнал. Час між випромінюванням і прийомом імпульсу прямо пропорційний відстані між датчиком і поверхнею речовини. Відстань обчислюється по наступній формулі [138]:

$$S = 0.5ct$$

де S - відстань між датчиком і поверхнею;

c - швидкість звуку у вільному просторі резервуара;

t - час проходження ультразвукового імпульсу від вимірювача до поверхні речовини і назад.

Для контролю рівня культуральної рідини пропонується використати ультразвуковий рівнемір VEGASON 61. Він застосовується для безперервного безконтактного вимірювання рівня речовин, коли не потрібна висока точність вимірювання. Може використовуватись як для рідких так і для порошкоподібних речовин. Діапазон вимірювання: рідини: 0,25...5 м, сипучі: 0,25...2 м. Точність вимірювання: ± 10 мм. Робоча температура: $-40...+80$ ° С. Робочий тиск: $-0,2...+2$ бар ($-20...+200$ кПа) [139].



Рис.7.1. Ультразвуковий рівнемір VEGASON 61 [139]

7.2. Контроль вологості сухого порошку

У різних галузях і навіть в побутових потребах іноді виникає необхідність вимірювати кількісний вміст вологи в будь-якому матеріалі або середовищі. Для цього був придуманий спеціальний прилад, який носить назву вологомір. У загальному випадку, вологомір - це сучасний і досить точний прилад, що дозволяє визначити процентний і кількісний вміст вологи в твердому або сипучому матеріалі, газі і т.д [140].

Примітно, що вимірювання рівня вмісту вологи в матеріалі або середовищі може бути дуже різним. Вологоміри мають наступний поділ [140]:

1. Ваговий - береться зразок твердого або сипучого матеріалу, зважується, а потім примусово просушується. Різниця в масі початкового і висушеного зразка і вкаже на ступінь вологості.

2. Індуктивний або СВЧ - визначає рівень вологості в твердих або сипучих матеріалах. Методика передбачає порівняння еталонного значення поширення мікрохвиль в середовищі з таким же поширенням у випробуваному зразку або сипучої суміші. Різниця вкаже на ступінь вмісту вологи. Перевага такого принципу роботи в зручності і швидкості визначення при досить високій точності. На такому принципі часто працюють вологоміри для зерна або вологомір для дерева, наприклад.

3. Хімічний - зразок матеріалу спеціально обробляють хімічним реагентом, який добре реагує з водою. За рівнем інтенсивності протікання реакції, а також кількості випаруваного реагенту прилад робить досить точні підрахунки про ступінь вмісту вологи в первісному зразку.

4. Оптичний - заснований на вимірюванні потоку фотонів при взаємодії його з досліджуваною речовиною або середовищем. При цьому можна виділити два типи вимірювань: відбитий (дзеркальний) і поглинений. Поглинений може працювати в якості виміру рівня дифузії, а також заломлення на прозорому або напівпрозорому зразку.

5. Кондуктометричний - вимірює ступінь електричного проникнення середовища або зразка залежно від рівня наявності в ньому води. Висновок про ступінь концентрації води прилад робить на підставі різниці опору.

6. Температурний або психрометричний - тут два взаємно налаштованих градусника порівнюють температурну різницю, причому один з градусників обертається мокрою тканиною. Ступінь випаровування води з тканини буде залежати від вологості середовища, що відібується на температурі і різниці показань двох градусників.

7. Діелькометричний - заснований на принципі діелектрометрії, тобто вимірі і зміні діелектричного проникнення середовища.

Найпростішим та найдешевшим вологоміром є апарат вагового типу. Тому, для виробництва сухого препарату пропонується використати вологомір польського виробництва - Radwag MA 50/1.R. Найбільша границя зважування становить 0,05 г, а найменша – 0,02 г. Діапазон температури висушування від +50 до +160 °С. Матеріал платформи - нержавіюча сталь [141].



Рис.7.2. Вологомір ваговий Radwag MA 50/1.R [141]

7.3. Контроль ваги сухого порошку

Вагу визначають за допомогою технічних ваг. Для цього з серії готового продукту беруть будь який фасований пакет та зважують на вазі. Маса нетто має становити $400 \text{ г} \pm 0,2 \text{ г}$. Для її визначення вміст пакета висипають на попередньо відтаровану на вазі посудину. Маса бруто має становити близько $401 \text{ г} \pm 0,2 \text{ г}$, вимірюється безпосередньо в упаковці [142].

Для визначення цих показників можна використати звичайні лабораторні технічні ваги. Для цих двох операцій достатньо буде моделі ТВЕ-1-0,01-а, які можуть зважувати до 1 кг з ціною поділки в 0,01 г. Цієї точності буде достатньо для проведення зазначених аналізів [142].



Рис.7.3. Ваги моделі ряду ТВЕ [142]

Також, окрім зважування на вагах, для контролю ваги продукції має постійно повірятись дозатор, за допомогою якого відбувається фасовка. Така операція відбувається згідно ДСТУ 7393:2013 Метрологія. Дозатори дискретної дії вагові автоматичні. Методика повірки. Зміна № 1. Зазвичай повіркою займають відповідні органи з метрологічного аналізу [143].

7.4. Контроль об'єму рідкого препарату

Оскільки об'єм рідкого препарату дуже великий, його не можна виміряти за допомогою мірних циліндрів. В такому випадку відбувається постійний контроль за об'ємно-ваговим дозатором, який фасує рідкий препарат. Його також, як ваговий

дозатор, потрібно постійно повіряти. Результати перевірки дозаторів вважають позитивними, якщо їх метрологічні і технічні характеристики відповідають вимогам ДСТУ ISO 8655 (Частина 1. Частина 2. Частина 3. Частина 5. Частина 6) [144].

7.5. Контроль антагоністичної активності препарату щодо *Rhizoctonia solani*

7.5.1. Контроль синтезу летких органічних речовин

Виробництво ЛОС проти патогенних рослинних грибів контролюють висівом культури на агаризоване середовище. Рідкий препарат до аналізу не готують, а сухий препарат попередньо треба розчинити. Для цього, на аналітичних вагах відважують 70 мг і розчиняють в 10 мл води. Аліквоту (100 мкл) суспензії дріжджових клітин-антагоністів наносять на чашку Петрі з картопляно-декстрозним агаром. Через 48 годин кришку чашки знімали, а картопляно-декстрозний агар з колоніями дріжджів перевертали та клали догори дном на дно чашки, в якій були колонії грибкового міцелію (5 мм у діаметрі). Дві нижні чашки закривали подвійним шаром парафільму та інкубують при 25 °С протягом 7 днів [15].



Рис.7.4. Приклад розміщення чашок Петрі [15].

Контролем слугує чашка, в якій інокульовано лише патогенний гриб. Аналіз виконують в трьох повторностях. Пригнічення росту грибів розраховували за формулою [15]:

$$\text{Інгібування росту міцелію (\%)} = [(D1-D2)/D1] \times 100.$$

D1 = діаметри грибкової колонії, культивованої окремо.

D2 = діаметр грибкової колонії, культивованої з дріжджами.

Інгібування росту за наявності ЛОС має становити $94,1 \pm 0,0\%$

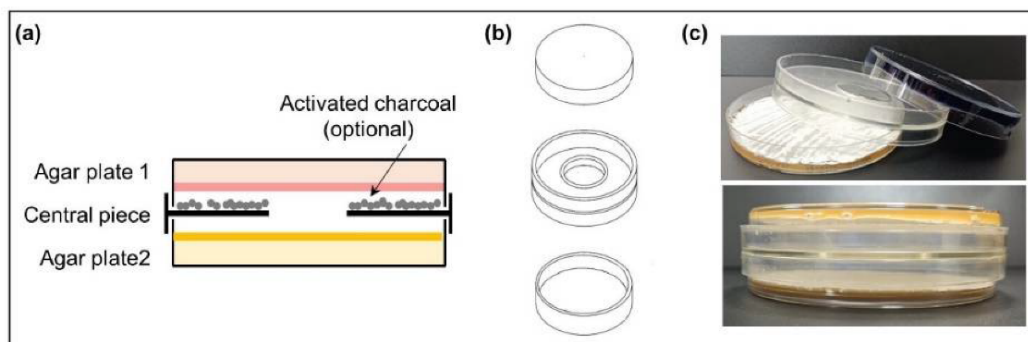


Рис. 7.5. Камера для визначення ЛОС на основі двох чашок Петрі. (а) Схематичний вид збоку камери ЛОС; (б) зображення кожної частини пристрою камери ЛОС. Отвір посередині дозволяє обмінюватися ЛОС між культурами; (с) фотографії зібраної камери ЛОС [145].

7.5.2. Контроль синтезу ферментів

Рідкий препарат в кількості 50 мл збирають і клітини відокремлюють центрифугуванням при 10000 g протягом 5 хв. Порошок піддають тим самим маніпуляціям, але попередньо розчинивши 350 мг в 50 мл води. Супернатант аналізують на активність β -глюканази та хітинази. Було виконано три реплікації [15].

Для визначення активності β -1,3-глюканази використовували колориметричне кількісне визначення глюкози (відновлюючого цукру), що виділяється з ламінарину. Ферментативну реакцію проводять шляхом змішування 200 мкл безклітинного культурального бульйону, 50 мкл натрій-ацетатного буфера (0,1 М, рН 5,0) і 250 мкл ламінарину (4 мг/мл), інкубують при 37 °С протягом 1 години, а концентрацію відновного цукру визначають за методом Міллера. До 250 мкл реагенту динітросаліцилової кислоти додають до 250 мкл ферментативної реакційної суміші та інкубують при 100 °С протягом 5 хвилин, і поглинання вимірюють спектрофотометром при 540 нм. Ферментативну активність виражають в Од/мл, в якій одну одиницю активності (Од) визначали як 1 мкг відновлюючих цукрів, що вивільняються з ламінарину за хвилину в умовах аналізу [15].

Активність глюканази має становити $1,7 \pm 0,4$ мОд/мл.

Хітиназну активність оцінюють шляхом оцінки вивільнення N-ацетилглюкозаміну (NAG) із колоїдного хітинного субстрату. Об'єм 100 мкл безклітинного культурального бульйону змішують з 200 мкл буфера McIlvaine (50 мМ лимонної кислоти, 100 мМ фосфату натрію, рН 6,0) і 100 мкл 0,01% мас./об. колоїдного хітину (приготованого в буфері McIlvaine). Після інкубації при 37 °С протягом 15 хвилин концентрацію відновного цукру визначають за допомогою методу Міллера [45], такого ж, який використовувався для визначення концентрації відновного цукру при дослідженні активності β -1,3-глюканази, за винятком того, що поглинання вимірювали при 575 нм. Ферментативну активність виражали в Од/мл, де одну одиницю активності (Од) визначали як 1 мкг відновлюючих цукрів, що вивільняються з колоїдного хітину за хвилину в умовах аналізу [15].

Порошок хітину (40 г) розчиняють в 500 мл концентрованої соляної кислоти і безперервно перемішують при 4°С протягом 1 години. Гідролізований хітин кілька разів промивають дистильованою водою для повного видалення кислоти і, отже, доведення рН до 6–7. Потім колоїдний хітин фільтрують через фільтрувальний папір. Колоїдний хітин збирають, заморожували в рідкому азоті для ліофілізації та зберігають при -20 °С до використання [15].

Активність хітинази має становити $35,2 \pm 3,5$ мОд/мл.

7.5.3. Контроль синтезу сидерофорів

Дослідження продукції сидерофорів відібраними антагоністичними дріжджами проводять шляхом культивування на хром-азурол S (CAS) синьому агарі в чашці Петрі. Суспензію дріжджових клітин (10 мкл) капали на поверхню синього агару CAS та інкубували при 25 °С протягом 10 днів у темряві. Аналіз виконують тричі. Середня зміна кольору (від синього до фіолетового або жовтого) навколо колонії вказує на виробництво сидерофора [15].

Штам не повинен синтезувати сидерофорів.

7.5.4. Визначення конкуренції за поживні речовини

Щоб визначити вплив концентрації поживних речовин на зниження росту міцелію патогенних грибів дріжджами-антагоністами, виконують подібний аналіз,

як написано в синтезу ЛОС. Винятком є те, що використовується картопляно-декстрозний агар з різними концентраціями поживних речовин, а саме стандартна концентрація поживних речовин (39 г/л порошку середовища), половина стандартної концентрації поживних речовин (19,5 г/л), одна чверть стандартної концентрації поживних речовин (9,7 г/л) і одна десяту стандартної концентрації поживних речовин (3,9 г/л). Аналіз проводять в 3 повторностях. Радіус колонії патогенних грибів, культивованих окремо, і колонії грибів, культивованих з дріжджами, визначають через 3 дні при 25 °С. Інгібування росту грибів розраховували, як описано раніше [15].

Пригнічення росту відмічається на стандартному середовищі – 86,3% та на половині стандартної концентрації поживних речовин – 80,7 %.

7.5.5. Визначення солюбілізації фосфату та оксиду цинку

Солюбілізація фосфату та оксиду цинку також є одним з механізмів антагоністичної дії епіфітних дріжджів. Для визначення солюбілізації фосфату та оксиду цинку використовують агар Піковської та агар оксиду цинку. Суспензію дріжджових клітин (5 мкл) наносять на поверхню агару Піковської або агару з оксиду цинку в чашці та інкубують при 25 °С протягом 5 днів. Потім вимірюють діаметр зони гало та діаметр колонії. Аналіз проводять тричі. Ефективність розчинення фосфату або оксиду цинку розраховують як відношення діаметра зони гало до діаметра колонії [15].

Відношення діаметру зони гало (см)/діаметру колонії (см) для фосфату та оксиду цинку має становити 1,2.

7.5.6. Контроль формування біоплівки

Дріжджову суспензію (20 мкл) вносять в кожну лунку 96-лункового планшета для мікротитрування, що містить 180 мкл PDB. Планшет для мікротитрації інкубують протягом 48 годин при 25 °С. Негативним контролем виступає лунка, що містить лише PDB. Аналіз виконують тричі. Після інкубації лунки спорожнюють, промивають водою і сушать на повітрі при кімнатній температурі. Приклеєний шар біоплівки фарбують водним розчином 1% (мас./об.)

генціан віалетом протягом 20 хв, промивають водою і сушать на повітрі. До кожної лунки пофарбованого шару біоплівки елюють 200 мкл етанолу, і вимірюють оптичну густину (A) кожної лунки при 620 нм. Утворення біоплівки вважалося позитивним у лунці, де середнє значення A обробки було вищим, ніж середнє значення A негативного контролю [15].

Утворення біоплівки вибраних антагоністичних штамів дріжджів визначали на основі значень абсорбції, отриманих від негативного контролю ($A_{620} = 0,0745$). Значення A для *T. indica* DMKU-RP31 має становити $0,5407 \pm 0,06$ [15].

РОЗДІЛ 8

ПРОЕКТ ТЕХНІЧНИХ УМОВ НА ВИПУСК ТОВАРНОЇ ФОРМИ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

8.1. Розділ «Сфера застосування»

Біопрепарат на основі культуральної рідини *T. indica* DMKU-RP31 призначений для біоконтролю *Rhizoctonia solani*, яка спричиняє патогенний стан рисових культур.

Біопрепарат ефективно захищає рисові культури (і інші культури, які може вражати даний патоген, наприклад, помідори, цукіні, салат латук, цукровий буряк, рукколу, огірки, соя, картопля, пшениця, бавовник, та ін.) від негативного впливу патогенного грибу *R. solani*.

Галузь застосування:

— аграрна промисловість з вирощування рису, помідору, цукіні, салату латук, цукрового буряку, рукколи, огірків, сої, картоплі, пшениці, бавовнику, та ін.

Умови експлуатації:

— температура навколишнього середовища, від мінус 5 до плюс 40 °С;

8.2. Розділ «Технічні вимоги»

8.2.1 Основні показники і властивості

Біопрепарат випускається у двох видах, наступних марок:

- БіоРізРід – культуральна рідина, що містить 7,5 г/л *T. indica* DMKU-RP31 та інші речовини для біоконтролю *R. solani*.

- БіоРізПор - сухий порошок, що містить біомасу *T. indica* DMKU-RP31, стабілізованих спеціальними добавками;

Можливості препарату:

— як біодобриво та додатковий компонент обробки ґрунту/насіння/рослини для додаткового підживлення

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ</i>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Станішевська М.Є.			РОЗДІЛ 8 ПРОЕКТ ТЕХНІЧНИХ УМОВ НА ВИПУСК ТОВАРНОЇ ФОРМИ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Красінко В.О.					92	108
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

- як захисний компонент проти *R. solani*

- як активна упаковка для готових плодів та іншої рослинної сировини для збільшення терміну придатності кінцевої продукції

За органолептичними показниками якості біопрепарат повинен відповідати вимогам та нормам, зазначеним у таблиці 8.1.

Таблиця 8.1

Органолептичні показники біопрепарату

Найменування показника	Характеристика та норма для марок		
	БіоРізРід	БіоРізПор	Метод випробування
Зовнішній вигляд	Культуральна рідина	Порошок	ГОСТ 28495
Колір	Коричневий	Жовтий	ГОСТ 28495
Запах	Запах дріжджів	Запах дріжджів	ГОСТ 28495

Щодо фізико-хімічних та мікробіологічних показникам біопрепарат повинен відповідати вимогам та нормам, зазначеним у таблиці 8.2.

Таблиця 8.2

Характеристика біопрепарату за фізико-хімічних та мікробіологічних показникам

Найменування показника	Характеристика та норма для марок		Метод випробування
	БіоРізРід	БіоРізПор	
Масова частка води, %, не більше: для біопрепарату теплового сушіння	-	5%	за ДСТУ 7899:2015
Бактеріальна обремененность, КУО/мл, КУО/г	1*10 ⁶	1*10 ⁶	за ДСТУ 7899:2015
pH розчину, од. pH	6,8-7,2	-	за ДСТУ 4077-2001
Наявність сторонньої мікрофлори, КУО/мл, КУО/г	1*10 ²	1*10 ²	за ДСТУ 7899:2015

За своїм складом біопрепарат повинен відповідати зазначеному у таблиці 8.3.

Таблиця 8.3

Склад біопрепарату

найменування показника	Норма для марок, мас.		Метод випробування
	БіоРізРід	БіоРізПор	
1	2	4	6
Гліцерин	5,0%	5,0%	ДСТУ ISO 1614:2003
Аскорбінова кислота	0,1%	0,1%	ДСТУ ISO 6557-2:2014
Сахароза	2,0%	2,0%	ДСТУ 3661-97
Сорбітан моностеарат	-	5%	ГОСТ 32770-2014
<i>T. indica</i> DMKU-RP31	92,9%	87,9%	ДСТУ 7899:2015

Біопрепарат ефективно працює у широкому діапазоні кислотності середовища (рН 4,5 - 9,5), температур (мінус 5 до плюс 40 °С). Тривалість обробки рису становить близько 2-3 рази на сезон в залежності від сорту та часу засіву рисових культур. Продукти життєдіяльності бактерій і самі бактерії, що відмирають, легко засвоюються аборигенною мікрофлорою, даючи основу для формування гумусу (при використанні біопрепарату для очищення ґрунту) або утворюючи донний мул (у разі його застосування на воді).

Має бути екологічно безпечним як для людини, так і для навколишнього середовища. Має збільшувати термін придатності рослинної продукції, порівняно зі зразками, які не оброблялись біопрепаратом.

8.2.2 Вимоги до сировини, матеріалів, покупних виробів

Для виробництва біопрепарату використовують компоненти та сировину, дозволена до застосування у встановленому порядку за ДСТУ 7899:2015.

Допускається використання вітчизняної та імпортової сировини, яка не поступається за якісними характеристиками сировини та відповідної ТУ щодо безпеки норм, встановлених нормативними правовими актами

8.2.3 Комплектність

У комплект поставки установки входить:

— біопрепарат з етикеткою, що містить інструкцію до застосування.

8.2.4 Пакування

Маркування споживчої тари біопрепарату. Біопрепарат постачають у тарі. Кожну одиницю споживчої тари маркують фарбою за допомогою трафарету, штемпелюванням, маркувальними машинами (наклеювання стікерів), наклеюванням етикетки, а при фасуванні у подвійні пакети (упаковка) вкладають між пакетами етикетку з позначенням:

— найменування розфасованого біопрепарату із зазначенням марки та виду біопрепарату встановленого відповідно до класифікації;

Приклад маркування споживчої тари біопрепарату – Біопрепарат «БіоРізРід». Готовий рідкий препарат з клітинами *T. indica* DMKU-RP31 10⁶ КУО/мл дріжджів.

— найменування та місцезнаходження виробника;
— товарні знаки виробника (за наявності);
— складу біопрепарату Компоненти перераховують як зменшення масової частки чи частки активних біологічних компонентів біопрепарату;

- номер партії;
- маси нетто;
- дати виготовлення та дати упаковки;
- терміну придатності;
- умов зберігання;
- позначення справжніх ТУ;
- інформацію про підтвердження відповідності.

Маркування транспортної тари - за ДСТУ 31340:2009, у частині способу поводження з вантажем - за ДСТУ EN 12195-3.

8.2.5. Маркування

При виробництві біопрепарату БіоРізРід у вигляді готового рідкого препарату, як споживчу тару використовують поліетиленові бочки об'ємом 50 л.

При виробництві біопрепарату БіоРізПор у вигляді сухого порошку та сублімованої, як споживчу тару використовують поліпропіленові пакети об'ємом заповнення 400 г.

Спосіб закупорювання споживчої тари повинен забезпечувати її герметичність та збереження розфасованого біопрепарату при транспортуванні, зберіганні та реалізації споживачеві протягом терміну придатності продукції.

Для біопрепарату БіоРізПор допускається упаковка в коробки з гофрованого картону, які мають бути обклеєні клейовою стрічкою на паперовій основі за ГОСТ 18251.

Маса нетто (БіоРізПор) у поліпропіленовому пакеті має становити 400 гр. Відхилення від маси мають бути не більше $\pm 1,5\%$.

8.3. Розділ «Вимоги безпеки»

Зміст токсичних елементів у біопрепараті має перевищувати норм, встановлених нормативними правовими актами України. Мікробіологічні показники біопрепарату не повинні перевищувати норм, встановлених нормативними правовими актами України.

8.4. Розділ «Вимоги охорони довкілля»

Біопрепарат нешкідливий. Біопрепарат екологічно чистий, нетоксичний, нешкідливий для тварин, рослин та водних біоресурсів.

Вплив на навколишнє середовище. При випробуванні, використанні, зберіганні та транспортуванні біопрепарат не чинить хімічних, механічних, радіаційних, електромагнітних та термічних впливів на навколишнє середовище.

8.5. Розділ «Правила приймання»

Біопрепарати приймають серіями. А серію рахується кількість біопрепарату, яка не має різниці по властивостям, виготовлений за один період, за однаковою технологією та з однакових сировинних матеріалів. Серія супроводжується відповідними документами про якість.

Серія під час відвантаження покупцеві супроводжується документами що містять:

- назву препарату;
- назву виробника;
- призначення та сфери застосування препарату, а також інструкцію;
- вид пакувальної тари;
- номінальна кількі КУО/мл (КУО/г), а також номінальну масу і об'єм;
- номер серії;
- дату виготовлення;
- позначення цього стандарту;
- умови зберігання та транспортування;
- гарантійний строк зберігання зберігання;
- номер приймачника технічного контролю підприємства виробника.

Під час приймально-здавальних випробувань від кожної серії біопрепарату методом випадкового відбирання з різних місць серії відбирають проби у кількості приблизно 5-10 г порошку (20-30 мл).

Під час приймально-здавальних випробувань установлюють відповідність виготовленої продукції технологічній документації, де вказують показники якості комплексного мікробного препарату згідно технічних вимог до продукції.

Під час перевірки об'єму та/або маси виготовленої продукції та правильності маркування і пакування допускають не більше, ніж 1,5% відхилів у об'ємі та/або маси від номінальних значень.

Якість пакування та маркування має відповідати технічним умовам до договору на постачання продукції.

8.6. Розділ «Методи контролювання»

Метод відбору проб

Відбір проб – за ГОСТ 28495-90.

Визначення зовнішнього вигляду, кольору та запаху препарату проводять візуально при природному денному освітленні та кімнатній температурі у білій фарфоровій чашці або ложці. Запах визначають органолептично. Препарат повинен являти собою текучу рідину коричневого кольору зі запахом дріжджів.

Допускається розшарування препарату під час зберігання. Сухий препарат має мати жовтий колір.

Визначення густини біопрепарату в рідкому вигляді. Метод ґрунтується на визначенні відносної щільності досліджуваного біопрепарату за допомогою ареометра.

Апаратура:

- ареометри та циліндри скляні місткістю 100 см за ДСТУ ISO 4787:2009;
- термометри з межами виміру 0 до плюс 150 °З ціною розподілу шкали трохи більше 1 °З за ДСТУ ISO 4787:2009;
- секундомір механічний ДСТУ 8.423.

Біопрепарат поміщають у циліндр і при температурі біопрепарату 20 °С обережно опускають у нього чистий сухий ареом гр. Ареометр не випускають з рук доти, доки стане очевидним, що він плаває; при цьому необхідно стежити, щоб ареомер не торкався стінок і дна циліндра. Звіт проводять через 3-4 хв після занурення по розподілу на шкалі ареометра, що відповідає нижньому меніску рідини (при відліку очей повинен бути на рівні меніска).

Досліджувана рідина має бути без бульбашок повітря та піни на поверхні.

Метод ґрунтується на висушуванні досліджуваного біопрепарату до постійної маси при температурі 105 °С.

У попередньо висушену до постійної маси бюкс поміщають 1,000 - 2,000 г навішування біопрепарату і щипцями ставлять в шафу на 2 год., після чого бюкс закривають кришкою, охолоджують в ексикаторі і зважують. Наступні зважування проводять через кожну годину висушування навішування до постійної ваги.

Маса вважається постійною, коли різниця між двома наступними зважуваннями не перевищуватиме 0,005 г.

Метод заснований на підрахунку колоній, що вирости у чашках Петрі ДСТУ ISO 4787:2009 з поживними засобами.

Загальна забрудненість виражається кількістю колоній мікроорганізмів на 1 г біопрепарату.

Готують низку послідовних розведень. Для цього 10 см³ попередньо перемішаного препарату перешкодають колбу з 90 см³ стерильного фізіологічного розчину - перше розведення. Потім 10 см³ з першого розведення переносять у другу колбу з 90 см³ фізіологічного розчину - друге розведення і т.д. При приготуванні розведень використовують щоразу окремі стерильні піпетки та мірні колби.

Для визначення справжності культур препарату використовують розведення, що забезпечують зростання ізольованих колоній. У стерильні чашки заливають по 20-25 см³ стерильної розплавленої і охолодженої до 40 ° С агарового живильного середовища. Після застигання середовища на її поверхню в центрі чашки в стерильних умовах (полум'я спиртування) наносять 0,1 см³ суспензії з розведення взятої стерильною піпеткою. Зразок розтирають поверхнею агарового середовища стерильним шпателем Дригальського до висихання. Чашки з посівами поміщають вгору дном в термостат і інкубують при температурі 28°С протягом 48 годин.

Досліджувану пробу попередньо розводять розчином натрію хлориду до концентрації, при якій показання за шкалою приладу знаходяться в межах від 0,1 до 0,3 одиниць екстинкції. Вимірюють оптичну щільність проби на ФЕК при довжині хвилі 540 нм (зелений світлофільтр) в кюветі з товщиною шару 0,5 см, в порівнянні з розчином хлориду натрію.

Визначення вмісту колонієутворюючих одиниць

Аналіз визначає кількість мікробних клітин за їхньою здатністю утворювати колонії на щільному поживному середовищі (ДЕЯ - кількість колонієутворюючих одиниць). Показник ДЕЯ використовується для кількісної характеристики компонентного складу біопрепаратів.

Висів на чашки суспензії, що аналізується, повинен проводитися з урахуванням результатів визначення загальної концентрації клітин, експериментальним шляхом встановлюють співвідношення загальної кількості мікробних клітин (визначення на ФЕК) до кількості клітин, здатних утворювати колонії.

Зі стандартизованої бактеріальної суспензії готують ряд послідовних десятикратних розведень. З кожного розведення від 10^{-5} до 10^{-7} висівають по 0,1 см³ на три чашки Петрі, оптимальне число колоній на чашці має дорівнювати 100-120 одиницям.

Кількість КУО в рідкому препараті «БіоРізРід» має становити не менше 10^6 мікробних клітин, а висів із максимального розведення – 10^{-5} обов'язково повинен супроводжуватися позитивним результатом.

Втрата у масі при висушуванні має бути трохи більше 5%.

Втрату маси при висушуванні визначають наступним чином. Близько 0,5 г (точна навішування) препарату сушать до постійної маси, в сушильній шафі при температурі від 100° до 105°С протягом однієї години та за різницею ваг визначають залишкову вологість препаратів.

Визначення рН виконують потенціометрично на рН-метрі рН-150А або аналогічному відповідно до ДСТУ 4077-2001.

Визначення сторонньої мікрофлори в препараті проводять за культурально-морфологічними ознаками ізольованих колоній, що виростили на живильному середовищі, при висіві в чашки біологічні (Петрі) суспензій різних концентрацій препарату у вигляді послідовних 10-кратних розведень, приготованих на фізіологічному розчині.

Після огляду цілісності упаковки її розкривають, ретельно перемішують вміст. З кожної одиниці споживчої тари відбирають із різних місць миттєві проби біопрепарату. Відбір проб – за ГОСТ 28495-90.

Миттєві проби об'єднують, перемішують, поміщають у стерильну ємність з кришкою, що щільно закривається, і використовують для проведення оцінки якості біопрепарату.

Маса сумарної проби – близько 400 г.

Одну частину упакованої сумарної проби з протоколом відбору проби направляють до лабораторії щодо аналізу, іншу пломбують і зберігають у разі виникнення розбіжностей щодо якості біопрепарату.

Контроль якості упаковки та правильності маркування проводять зовнішнім оглядом кожної одиниці споживчої тари, що потрапила вибірки.

Визначення маси біопрепарату – за ДСТУ EN 45501:2007.

8.7. Розділ «Транспортування та зберігання»

Біопрепарат, упакований у транспортну тару, допускається транспортувати всіма видами транспорту за умови захисту від прямого впливу атмосферних опадів згідно з правилами перевезень вантажів, що діють на кожному виді транспорту при температурі не вище 4-8 °С. Не допускається транспортування біопрепарату разом із мінеральними добривами, отрутохімікатами, відбілювачами для синтетичних миючих засобів.

Біопрепарат зберігають на складах (приміщеннях) в упакованому вигляді в сухому, захищеному від світла, при температурі не вище 4-8 °С. Термін зберігання у непошкодженій упаковці рідкого препарату 1 рік, порошкового – 2 роки. Не допускають зберігання біопрепарату в безпосередній близькості від опалювальних та нагрівальних пристроїв та приладів.

8.8. Розділ «Правила експлуатації та утилізації»

Рідкий препарат «БіоРізРід» використовується для обробки рисових культур. Використання препарату триває 2-3 рази на сезон (кожні 1,3 місяця). Обробка за наступного режиму: 250 л/га. Пластикову тару відправляють на утилізацію згідно ДСТУ 2195-99, СОУ ЖКГ 03.09-17:2010 та ДСанПіН 2.2.7.029-99.

Один пакет порошкового препарату «БіоРізПор» розчиняють у воді водопровідній в кількості 56 л. Використання препарату триває 2-3 рази на сезон (кожні 1,3 місяця). Обробка за наступного режиму: 250 л/га. За один пакетик можна обробити 0,224 га. Утилізація поліетиленових пакетів виконують згідно ДСТУ 2195-99, СОУ ЖКГ 03.09-17:2010 та ДСанПіН 2.2.7.029-99.

8.9. Розділ «Гарантії виробника»

Гарантується відповідність якості біопрепаратів за тими вимогам що вказано в наведених технічних умовах у випадку дотримання покупцем умов

транспортування та зберігання. Строк зберігання наночастинок срібла – 2 роки від дати його виготовлення порошку та 1 рік для рідкого препарату.

8.10. Перелік нормативних посилань

ДСТУ-Н Б А 3.2-1:2007. Система стандартів безпеки праці. Настанова щодо визначення небезпечних і шкідливих факторів та захисту від їх впливу при виробництві будівельних матеріалів і виробів та їх використанні в процесі зведення та експлуатації об'єктів будівництва

ДСТУ 8829:2019. Пожежовибухонебезпечність речовин і матеріалів. Номенклатура показників і методи їхнього визначення. Класифікація

ДСТУ 7237:2011. Система стандартів безпеки праці. Електробезпека. Загальні вимоги та номенклатура видів захисту

ДСТУ Б А.3.2-12:2009. Система стандартів безпеки праці. Системи вентиляційні. Загальні вимоги

ДСТУ ISO 1042:2005. Посуд лабораторний скляний. Колби мірні з однією позначкою

ДСТУ ISO. 3696:2003 Вода для застосовування в лабораторіях. Вимоги та методи перевіряння

ДСТУ EN 12714:2005. Бочки пластмасові. Бочки номінальної місткості від 25 л до 220 л зі знімною кришкою

ДСТУ 7232:2011. Таблички маркувальні. Технічні умови.

ДСТУ EN 12195-3. Пристрої кріплення вантажу на колісних транспортних засобах

ДСТУ EN 45501:2007. Прилади неавтоматичні зважувальні. Загальні технічні вимоги та методи випробувань

ДСТУ ISO 4787:2009. Посуд лабораторний скляний. Посуд мірний. Методи використання та перевіряння місткості

ДСТУ 31340:2009. Попереджувальне маркування хімічної продукції. Загальні вимоги.

ДСН 3.3.6.042-99 Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень

ДСТУ 2689-94 Устаткування для переробки полімерних матеріалів. Загальні вимоги безпеки

ДСТУ 2922-94. Устаткування для переробки полімерних матеріалів. Вимоги до пломбування

ДСТУ 2731-94 Сировина полімерна вторинна. Порядок збирання, зберігання і перероблення відходів

ДСТУ 3042-95. Устаткування технологічне для переробки полімерних матеріалів. Терміни та визначення

ДСанПіН 2.2.7.029-99 Гігієнічні вимоги щодо поводження з промисловими відходами та визначення їх класу небезпеки для здоров'я населення

ССБП 12.3.002-75. Процеси виробничі. Загальні вимоги безпеки

ДСТУ 8611:2016. Препарати біологічні сухі. Метод визначення масової частки вологи

ДСТУ 7881:2015 Добрива органічні та органо-мінеральні. Номенклатура показників якості

ДСТУ 7880:2015 Добрива органічні. Вимоги щодо застосування в органічному виробництві

Закон України «Про оцінку впливу на довкілля»

Постанова Кабінету Міністрів України від 13.12.2017 №1026 "Про затвердження Порядку передачі документації для надання висновку з оцінки впливу на довкілля та фінансування оцінки впливу на довкілля та Порядку ведення Єдиного реєстру з оцінки впливу на довкілля"

Постанова Кабінету Міністрів України від 13.12.2017 №989 "Про затвердження Порядку проведення громадських слухань у процесі оцінки впливу на довкілля"

Постанова Кабінету Міністрів України від 13.12.2017 № 1010 "Про затвердження критеріїв визначення планованої діяльності, яка не підлягає оцінці впливу на довкілля, та критеріїв визначення розширень і змін діяльності та об'єктів, які не підлягають оцінці впливу на довкілля"

ДСТУ 3920-99 Охорона довкілля та раціональне поводження з ресурсами.
Пробовідбірники автоматичні природних та стічних вод. Загальні технічні вимоги
і методи випробувань

ГОСТ 28495-90. Продукция микробиологическая. Правила приемки и
методы отбора проб

ДСТУ 7899:2015. Препарати ферментні для спиртового виробництва.
Методи визначання органолептичних, фізико-хімічних і мікробіологічних
показників

ДСТУ 4077-2001 Якість води. Визначення рН (ISO 10523:1994, MOD)

ДСТУ ISO 1614:2003 Гліцерин технічний. Відбір проб і методи
випробування. Загальні вимоги (ISO 1614:1976, IDT)

ДСТУ ISO 6557-2:2014 Фрукти, овочі та продукти переробляння.
Визначання вмісту аскорбінової кислоти. Частина 2. Практичні методи (ISO 6557-
2-1984, IDT)

ДСТУ 3661-97 Цукор. Метод визначення сахарози (ГОСТ 12571-98)

ГОСТ 32770-2014. Добавки пищевые. Эмульгаторы пищевых продуктов.
Термины и определения.

ДСТУ 2462-94. Сертифікація. Основні поняття. Терміни та визначення

ДСТУ 3410-96. Система сертифікації УкрСЕПРО. Основні положення

ДСТУ 3412-96. Система сертифікації УкрСЕПРО. Вимоги до
випробувальних лабораторій та порядок їх акредитації

ДСТУ 3413-96. Система сертифікації УкрСЕПРО. Порядок проведення
сертифікації продукції

ДСТУ 3414-96. Система сертифікації УкрСЕПРО. Атестація виробництва.
Порядок здійснення

ДСТУ 3415-96. Система сертифікації УкрСЕПРО. Реєстр системи

ДСТУ 3417-96. Система сертифікації УкрСЕПРО. Процедура визначення
результатів сертифікації продукції, що імпортується

ДСТУ 3419-96. Система сертифікації УкрСЕПРО. Сертифікація систем якості. Порядок проведення

ДСТУ 3498-96. Система сертифікації УкрСЕПРО. Бланки документів

КНД 50-004-93. Система сертифікації УкрСЕПРО. Вимоги до випробувальних лабораторій та порядок їх акредитації

КНД 50-019-93. Система сертифікації УкрСЕПРО. Порядок реєстрації об'єктів добровільної сертифікації

КНД 50-024-94. Система сертифікації УкрСЕПРО. Положення про експертів-аудиторів

КНД 50-029-94. Атестація технологічних процесів виготовлені виробів
Основні положення

КНД 50-034-94. Система сертифікації УкрСЕПРО. Вимоги до органів з сертифікації систем якості та порядок їх акредитації

КНД 50-035-94. Порядок здійснення державного нагляду за якістю експортної продукції

Р50-025-94. Система сертифікації УкрСЕПРО. Організації робіт з проведення перевірки випробувальних лабораторій (центрів) з метою їх акредитації

Р50-026-94. Система сертифікації УкрСЕПРО. Вибір номенклатури показників, які підлягають обов'язковому включенню до нормативних документів для забезпечення безпеки продукції

Р50-027-94. Система сертифікації УкрСЕПРО. Система розрахунків при виконанні робіт з сертифікації

Р50-043-95. Система сертифікації УкрСЕПРО. Порядок проведення експертизи документів випробувальних лабораторій

Р50-046-95. Система сертифікації УкрСЕПРО. Інспекційний контроль

ДСТУ ISO 9000-1-95. Стандарти з управління якістю і забезпечення якості.
Частина 1. Керівні вказівки по вибору і застосуванню

ДСТУ ISO 9001-95. Системи управління якістю. Вимоги

ДСТУ ISO 9002-95. Системи якості. Модель забезпечення якості в процесі виробництва, монтажу та обслуговування

ДСТУ ISO 9003-95. Системи якості. Модель забезпечення якості в процесі контролю готової продукції та її випробуваннях

ДСТУ ISO 9004-1-95. Управління якістю та елементи системи якості. Частина 1. Настанови

ДСТУ EN 12689:2019. Біотехнологія. Настанови щодо оцінювання чистоти, біологічної активності та тривкості продуктів на основ мікроорганізмів

ДСТУ EN 12683:2019. Біотехнологія. Змінені організми для використання в довкіллі. Настанови щодо складання характеристики генетично зміненого організму через аналізування тривкості зміни геному на молекулярному рівні

ДСТУ 2462-94. Сертифікація. Основні поняття. Терміни та визначення

ДСТУ СВА 15793:2016 Біотехнологія. Настанови щодо управління лабораторними біоризиками

ДСТУ EN 12689:2019 Біотехнологія. Настанови щодо оцінювання чистоти, біологічної активності та тривкості продуктів на основі мікроорганізмів

ДСТУ EN 12460:2019 Біотехнологія. Великосерійна технологія та виготовлення. Настанови щодо вибирання та встановлення устаткування відповідно до біологічного ризику

ДСП 9.9.5.-080-02 Державні санітарні правила та норми, гігієнічні нормативи. Правила влаштування та безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю

ДСТУ 8115:2015 Біотехнологія. Методи попередження контамінації культур клітин

ДСТУ EN 12741:2019 Біотехнологія. Лабораторії, що виконують дослідження, розроблення та аналізування. Настанови щодо діяльності біотехнологічних лабораторій

ДСТУ EN 12469:2017 Біотехнологія. Шафи мікробіологічної безпеки.
Експлуатаційні характеристики

ДСТУ EN 12128:2019 Біотехнологія. Лабораторії, що проводять дослідження,
розроблення та аналізування. Коефіцієнт заповнення мікробіологічних
лабораторій, зони ризику, місце розташування та вимоги фізичної безпеки

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Freimoser F. M., Rueda-Mejia M. P., Tilocca B., Migheli Q. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019, 35: 1-19. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2728-4>
2. Sui Y., Wisniewski M., Droby S., Liu J. Responses of yeast biocontrol agents to environmental stress. *Applied and Environmental Microbiology*. 2015, 81(9): 2968-2975. <https://doi.org/10.1128%2FAEM.04203-14>
3. Zhang H., Serwah Boateng N. A., Ngolong Ngea G. L., Shi Y., Lin H., Yang Q., et al. Unravelling the fruit microbiome: The key for developing effective biological control strategies for postharvest diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021, 20(5): 4906-4930. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12783>
4. Bonanomi G., Cesarano G., Antignani V., Di Maio C., De Filippis F., Scala F. Conventional farming impairs *Rhizoctonia solani* disease suppression by disrupting soil food web. *Journal of Phytopathology*. 2018, 166(9): 663-673. <https://doi.org/10.1111/jph.12729>
5. Zhang Y., Zhuang W. Y. *Trichoderma brevicrassum* strain TC967 with capacities of diminishing cucumber disease caused by *Rhizoctonia solani* and promoting plant growth. *Biological Control*. 2020, 142: 104151. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104151>
6. Yin C., Hulbert S. H., Schroeder K. L., Mavrodi O., Mavrodi D., Dhingra A., et al. Role of bacterial communities in the natural suppression of *Rhizoctonia solani* bare patch disease of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*. 2013, 79(23): 7428-7438. <https://doi.org/10.1128%2FAEM.01610-13>
7. Soltani Nejad M., Bonjar G. H. S., Khatami M., Amini A., Aghighi S. *In vitro* and *in vivo* antifungal properties of silver nanoparticles against *Rhizoctonia solani*, a common agent of rice sheath blight disease. *IET nanobiotechnology*. 2017, 11(3): 236-240. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0121>
8. Abbas A., Khan S. U., Khan W. U., Saleh T. A., Khan M. H. U., Ullah S., et al. Antagonist effects of strains of *Bacillus* spp. against *Rhizoctonia solani* for their

protection against several plant diseases: Alternatives to chemical pesticides. *Comptes Rendus Biologies*. 2019, 342(5-6): 124-135. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2019.05.002>

9. Samsatly J., Copley T. R., Jabaji S. H. Antioxidant genes of plants and fungal pathogens are distinctly regulated during disease development in different *Rhizoctonia solani* pathosystems. *PLoS One*. 2018, 13(2): e0192682. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192682>

10. Сільське господарство в Україні. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://dlf.ua/ua/silске-gospodarstvo-v-ukrayini/>

11. Види Сільськогосподарських Культур І Їх Врожайність. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://eos.com/uk/blog/vydy-silskohospodarskykh-kultur>

12. "Біле золото" півдня. Де і як вирощують рис в Україні. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.epravda.com.ua/publications/2021/10/22/678949/>

13. Український агросектор — визнаний у світі бренд. Що має робити держава, аби зберегти його. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://forbes.ua/company/ukrainskiy-agrosektor-viznaniy-u-sviti-brend-shcho-mae-robiti-derzhava-abi-zberegiti-yogo-16032023-12371>

14. Spoilage of agricultural products. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://encyclopedia.uia.org/en/problem/141150>

15. Into P., Khunnamwong P., Jindamoragot S., Am-In S., Intanoo W., Limtong S. Yeast associated with rice phylloplane and their contribution to control of rice sheath blight disease. *Microorganisms*. 2020, 8(3), 362. doi: 10.3390/microorganisms8030362 <https://www.mdpi.com/2076-2607/8/3/362>

16. Saleh I., Al-Thani R. Fungal food spoilage of supermarkets' displayed fruits. *Veterinary world*. 2019, 12(11): 1877. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1877-1883>

17. Manokaran S., Bharathi B. D. C. Incidence and Evaluation of Foodborne Fungal Pathogens. *International Journal of Science and Healthcare Research*. 2023, 8(2). <https://doi.org/10.52403/ijshr.20230202>

18. Dos Santos J. L. P., Bernardi A. O., Morassi L. L. P., Silva B. S., Copetti M. V., Sant'Ana A. S. Incidence, populations and diversity of fungi from raw materials, final products and air of processing environment of multigrain whole meal bread. *Food Research International*. 2016, 87: 103-108. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.07.002>
19. Mailafia S., Olabode H. O. K., Osanupin R. Isolation and identification of fungi associated with spoiled fruits vended in Gwagwalada market, Abuja, Nigeria. *Veterinary world*. 2017, 10(4): 393. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.393-397>
20. Chandra A. K., Raj H., Ranjan H., Anand K., Kumari P. Isolation, characterization and sporulation of fungi from decaying vegetables and fruits of local vegetable market in hazaribag India. *Plant Archives*. 2022, 22(2): 426-430. <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2022.v22.no2.077>
21. Samuel O., Orji M. U. Fungi associated with the spoilage of postharvest tomato fruits sold in major markets in Awka, Nigeria. *Universal Journal of Microbiology Research*. 2015, 3(2): 11-16. <https://doi.org/10.13189/ujmr.2015.030201>
22. Oviasogie F. E., Ogofure A. G., Obatusin S. V., Beshiru A., Onwuaduegbo J. Microbial spoilage of canned tomato sold in Benin City. *Journal of Advanced Scientific Research*. 2015, 6(1).
23. Samuel O., Ifeanyi O. Fungi associated with the deterioration of post-harvest onion bulbs sold in some markets in Awka, Nigeria. *Bioeng Biosci*. 2015, 3: 90-94. <https://doi.org/10.13189/bb.2015.030503>
24. Jidda M. B., Muhammad M. M. Assessment of fungal pathogens associated with spoilage of cucumber (*Cucumis sativa* L.) fruits. *International Journal of Current Micro-biology Applied Science*. 2017, 6(3): 510-516. <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2017.603.059>
25. Dubey N. K., Mishra P. K., Kedia A., Prakash B. Fungal and mycotoxin contamination of herbal raw materials and prospects of higher plant products as plant-based preservatives during post-harvest processing. *Microbial Diversity and*

Biotechnology in Food Security. 2014: 495-504. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1801-2_45

26. Frances E., Enoch N., Johnson O., Eziamaka A. E., Ann M. Isolation and Identification of Fungi Associated with Avocado Pear (*Persea americana* Mill). *International Journal of Pathogen Research*. 2022, 11(3): 1-13. <https://doi.org/10.9734/IJPR/2022/v11i3211>

27. Porep J. U., Walter R., Kortekamp A., Carle R. Ergosterol as an objective indicator for grape rot and fungal biomass in grapes. *Food Control*. 2014, 37: 77-84. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.012>

28. Tranquillini R., Scaramuzza N., Berni E. Occurrence and ecological distribution of Heat Resistant Moulds Spores (HRMS) in raw materials used by food industry and thermal characterization of two *Talaromyces* isolates. *International Journal of Food Microbiology*. 2017, 242: 116-123. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.023>

29. Maj W., Pertile G., Fraç M. Soil-Borne Neosartorya spp.: A Heat-Resistant Fungal Threat to Horticulture and Food Production—An Important Component of the Root-Associated Microbial Community. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023, 24(2): 1543. <https://doi.org/10.3390/ijms24021543>

30. Richardson M. D., Rautemaa-Richardson R. Biotic environments supporting the persistence of clinically relevant *Mucormycetes*. *Journal of Fungi*. 2019, 6(1): 4. <https://doi.org/10.3390/jof6010004>

31. Mohammed S. S. D., Kumar N., Damisa D., Bala E., Muhammad I. L., Muhammad R. G., Yunusa A. Fungi associated with decayed sweet oranges (*Citrus sinensis*) collected from Lapal, Niger State, Nigeria. *Indian J Life Sci*. 2013, 2(2): 123-131.

32. Samuel O., Ogonna N., Ifeanyi O. Isolation, characterization and identification of microorganisms from spoilt carrots obtained from Ose Market Onitsha, Nigeria. *Universal Journal of Biomedical Engineering*. 2016, 4(1): 6-9. <https://doi.org/10.13189/ujbe.2016.040102>

33. Davies C. R., Wohlgemuth F., Young T., Violet J., Dickinson M., Sanders J. W., et al. Evolving challenges and strategies for fungal control in the food supply chain. *Fungal biology review*. 2021, 36: 15-26. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.01.003>
34. Snyder A. B., Churey J. J., Worobo R. W. Association of fungal genera from spoiled processed foods with physicochemical food properties and processing conditions. *Food microbiology*. 2019, 83: 211-218. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.05.012>
35. Kheireddine A., Essghaier B., Hedi A., Dhieb C., Zouaoui N. S. New epiphytic yeasts able to reduce grey mold disease on apples. *Plant Protection Science*. 2018, 54(4): 248-257. <https://doi.org/10.17221/103/2017-PPS>
36. Ayogu P., Teixeira A., Gerós H., Martins V. Identification of grape berry indigenous epiphytic yeasts with in vitro and in vivo antagonistic activity towards pathogenic fungi. *OENO One*. 2023, 57(1): 253-264. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2023.57.1.7273>
37. Pantelides I. S., Christou O., Tsolakidou M. D., Tsaltas D., Ioannou N. Isolation, identification and *in vitro* screening of grapevine yeasts for the control of black *Aspergilli* on grapes. *Biological control*. 2015, 88: 46-53. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.04.021>
38. Kasfi K., Taheri P., Jafarpour B., Tarighi S. Identification of epiphytic yeasts and bacteria with potential for biocontrol of grey mold disease on table grapes caused by *Botrytis cinerea*. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 2018, 16(1): 23. <https://doi.org/10.5424/sjar/2018161-11378>
39. Liu Y., Yao S., Deng L., Ming J., Zeng K. Different mechanisms of action of isolated epiphytic yeasts against *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* on citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 2019, 152: 100-110. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.03.002>
40. Agirman B., Erten H. Biocontrol ability and action mechanisms of *Aureobasidium pullulans* GE17 and *Meyerozyma guilliermondii* KL3 against *Penicillium digitatum* DSM2750 and *Penicillium expansum* DSM62841 causing postharvest diseases. *Yeast*. 2020, 37(9-10): 437-448. <https://doi.org/10.1002/yea.3501>

41. Nguyen M. L., Le T. M. Selection and characterization of a yeast strain for the suppression of brown spot on Tru Long pummelo (*Citrus maxima*). *Can Tho University Journal of Science*. 2022, 14(CBA): 91-98. <https://doi.org/10.22144/ctu.jen.2022.034>
42. Hamizah H., Mahmud T. M. M., Ahmad S. H., Kamaruzaman S. Screening of antagonistic yeast for biological control activity against anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in 'Frangi'papaya. *Acta Horticulturae*. 2013, 1012: 739-744. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.1012.99>
43. Fernández-Pacheco P., García-Béjar B., Jiménez-del Castillo M., Carreño-Domínguez J., Briones Perez A., Arévalo-Villena M. Potential probiotic and food protection role of wild yeasts isolated from pistachio fruits (*Pistacia vera*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2021, 101(6): 2201-2209. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.10839>
44. Limtong S., Into P., Attarat P. Biocontrol of rice seedling rot disease caused by *Curvularia lunata* and *Helminthosporium oryzae* by epiphytic yeasts from plant leaves. *Microorganisms*. 2020, 8(5): 647. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050647>
45. Solanki M. K., Abdelfattah A., Sadhasivam S., Zakin V., Wisniewski M., Droby S., Sionov E. Analysis of stored wheat grain-associated microbiota reveals biocontrol activity among microorganisms against mycotoxigenic fungi. *Journal of Fungi*. 2021, 7(9): 781. <https://doi.org/10.3390/jof7090781>
46. Souza M. L. D., Passamani F. R. F., Ávila C. L. D. S., Batista L. R., Schwan R. F., Silva C. F. Use of wild yeasts as a biocontrol agent against toxigenic fungi and OTA production. *Acta Scientiarum. Agronomy*. 2017, 39: 349-358. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v39i3.32659>
47. Nandhini M., Harish S., Aiyathan K. E. A., Durgadevi D., Beulah A. Glycerol-based liquid formulation of the epiphytic yeast *Hanseniaspora guilliermondii* isolate YBB3 with multiple modes of action controls postharvest *Aspergillus* rot in

grapes. *Journal of Plant Pathology*. 2021, 103(4): 1253-1264.
<https://doi.org/10.1007/s42161-021-00909-y>

48. Matić S., Spadaro D., Garibaldi A., Gullino M. L. Antagonistic yeasts and thermotherapy as seed treatments to control *Fusarium fujikuroi* on rice. *Biological control*. 2014, 73: 59-67. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.03.008>

49. Hamizah H., Mahmud T. M. M., Ahmad S. H., Kamaruzaman S., Yasmeen S. Screening and Mode of Action of Antagonist Yeasts against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Innovative Plant Productivity and Quality*. 2013, 22: 269.

50. Chanchaichaovivat A., Ruenwongsa P. Potential of Yeast Isolates from Fruits and Vegetables for Biological Control of Chilli Anthracnose (*Colletotrichum capsici*). *Keep pace with the world of science*. 2018, 8(1): 2551.

51. Fernandez-San Millan A., Larraya L., Farran I., Ancin M., Veramendi J. Successful biocontrol of major postharvest and soil-borne plant pathogenic fungi by antagonistic yeasts. *Biological Control*. 2021, 160: 104683.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104683>

52. Wang Z., Sui Y., Li J., Tian X., Wang Q. Biological control of postharvest fungal decays in citrus: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022, 62(4): 861-870. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1829542>

53. Spadaro D., Droby S. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends in Food Science & Technology*. 2016, 47: 39-49.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.003>

54. Mancini V., Romanazzi G. Seed treatments to control seedborne fungal pathogens of vegetable crops. *Pest management science*. 2014, 70(6): 860-868.
<https://doi.org/10.1002/ps.3693>

55. Peles F., Sipos P., Kovács S., Győri Z., Pócsi I., Pusztahelyi T. Biological control and mitigation of aflatoxin contamination in commodities. *Toxins*. 2021, 13(2): 104. <https://doi.org/10.3390/toxins13020104>

56. Lopes M. R., Klein M. N., Ferraz L. P., da Silva A. C., Kupper K. C. *Saccharomyces cerevisiae*: a novel and efficient biological control agent for *Colletotrichum acutatum* during pre-harvest. *Microbiological research*. 2015, 175: 93-99. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2015.04.003>
57. Montesinos E., Francés J., Badosa E., Bonaterra A. Post harvest control. *Principles of Plant-Microbe Interactions: Microbes for Sustainable Agriculture*. 2015: 193-202. https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3_21
58. Freimoser F. M., Rueda-Mejia M. P., Tilocca B., Migheli Q. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019, 35: 1-19. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2728-4>
59. Zhang X., Li B., Zhang Z., Chen Y., Tian S. Antagonistic yeasts: A promising alternative to chemical fungicides for controlling postharvest decay of fruit. *Journal of fungi*. 2020, 6(3): 158. <https://doi.org/10.3390/jof6030158>
60. Wiyono S., Soekarno B. P. W., Achmad A. Epiphytic yeasts from *Piperaceae* as biocontrol agents for foot rot of black pepper caused by *Phytophthora capsici*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 2021, 22(4). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220436>
61. Punlerdmatee B., Cheewangkoon R., To-anun C. Controlling dahlia powdery mildew disease using antagonistic yeasts. *Int J Agric Tech*. 2017, 13: 1-17.
62. Hernandez Montiel L. G., Zulueta Rodriguez R., Angulo C., Rueda Puente E. O., Quinonez Aguilar E. E., Galicia R. Marine yeasts and bacteria as biological control agents against anthracnose on mango. *Journal of Phytopathology*. 2017, 165(11-12): 833-840. <https://doi.org/10.1111/jph.12623>
63. Cordero-Bueso G., Mangieri N., Maghradze D., Foschino R., Valdetara F., Cantoral J. M., Vigentini I. Wild grape-associated yeasts as promising biocontrol agents against *Vitis vinifera* fungal pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 2017, 8: 2025. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02025>

64. Konsue W., Dethoup T., Limtong S. Biological control of fruit rot and anthracnose of postharvest mango by antagonistic yeasts from economic crops leaves. *Microorganisms*. 2020, 8(3): 317. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030317>
65. da Cunha T., Ferraz L. P., Wehr P. P., Kupper K. C. Antifungal activity and action mechanisms of yeasts isolates from citrus against *Penicillium italicum*. *International journal of food microbiology*. 2018, 276: 20-27. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.03.019>
66. Saluja P., Yelchuri R. K., Sohal S. K., Bhagat G., Prasad G. S. *Torulasporea indica* a novel yeast species isolated from coal mine soils. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2012, 101: 733-742. <https://doi.org/10.1007/s10482-011-9687-6>
67. Bosqueiro A. S., Bizarria Jr R., Rosa-Magri M. M. Biocontrol of post-harvest tomato rot caused by *Alternaria arborescens* using *Torulasporea indica*. *Biocontrol Science and Technology*. 2023: 1-18. <https://doi.org/10.1080/09583157.2022.2163982>
68. Limtong S., Into P., Attarat P. Biocontrol of rice seedling rot disease caused by *Curvularia lunata* and *Helminthosporium oryzae* by epiphytic yeasts from plant leaves. *Microorganisms*. 2020, 8(5): 647. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050647>
69. Konsue W., Dethoup T., Limtong S. Biological control of fruit rot and anthracnose of postharvest mango by antagonistic yeasts from economic crops leaves. *Microorganisms*. 2020, 8(3): 317. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030317>
70. *Rhizoctonia solani*. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.canr.msu.edu/resources/rhizoctonia-solani>
71. Senapati M., Tiwari A., Sharma N., Chandra P., Bashyal B. M., Ellur R. K., et al. *Rhizoctonia solani* Kühn pathophysiology: Status and prospects of sheath blight disease management in rice. *Frontiers in Plant Science*. 2022, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.881116>

72. Contarino R., Brighina S., Fallico B., Cirvilleri G., Parafati L., Restuccia C. *Volatile organic compounds (VOCs) produced by biocontrol yeasts. Food microbiology.* 2019, 82: 70-74. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.01.008>
73. Caseiro C., Dias J. N. R., de Andrade Fontes C. M. G., Bule P. From cancer therapy to winemaking: The molecular structure and applications of β -glucans and β -1, 3-glucanases. *International Journal of Molecular Sciences.* 2022, 23(6): 3156. <https://doi.org/10.3390/ijms23063156>
74. Rathore A. S., Gupta R. D. Chitinases from bacteria to human: properties, applications, and future perspectives. *Enzyme research.* 2015. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/791907>
75. Охолодження зерна – важливий крок до його ефективного зберігання. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agroexpert.ua/oholodzenna-zerna-vazlivii-krok-do-iogo-efektivnogo-zberiganna/>
76. Ефективність використання фунгіцидів. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.syngenta.ua/news/zernovi/efektivnist-vikoristannya-fungicidiv>
77. В Україні підбили підсумки використання пестицидів. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://superagronom.com/news/12278-v-ukrayini-pidbili-pidsumki-vikoristannya-pestitsidiv>
78. Які переваги застосування біофунгіцидів для аграрія. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agrotimes.ua/article/biologichni-fungiczydy-efektyvni-proty-zbudnykiv-bilshosti-hvorob/>
79. Що таке Біофунгіциди їх види і список популярних препаратів. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://semena.cc/blog/uk/szr-uk/shho-take-biofungiczydy/>
80. Stenberg J. A., Sundh I., Becher P. G., Björkman C., Dubey M., Egan P. A., et al. When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms, and classifications. *Journal of Pest Science.* 2021, 94(3): 665-676. <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01354-7>

81. Palmieri D., Ianiri G., Del Grosso C., Barone G., De Curtis F., Castoria R., Lima G. Advances and perspectives in the use of biocontrol agents against fungal plant diseases. *Horticulturae*. 2022, 8(7): 577. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8070577>

82. Biocontrol Agents Market Size and Share Analysis Report by Active Substance (Microbials, Macrobials, Entomopathogenic Nematodes), Crop Type (Cereals & Grains, Vegetables & Fruits, Pulses & Oilseeds), Target Pest (Arthropods, Weeds, Microorganisms), Application (Seed Treatment, On-Field, Post-Harvest) – Global Industry Growth Forecast to 2030. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.psmarketresearch.com/market-analysis/biocontrol-agents-market#>

83. Roca-Couso R., Flores-Félix J. D., Rivas R. Mechanisms of action of microbial biocontrol agents against *Botrytis cinerea*. *Journal of Fungi*. 2021, 7(12), 1045. doi: 10.3390/jof7121045 <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/12/1045>

84. Alamri S., Hashem M., Mostafa Y. S. In vitro and in vivo biocontrol of soil-borne phytopathogenic fungi by certain bioagents and their possible mode of action. *Biocontrol Science*. 2012, 17(4), 155-167. doi: 10.4265/bio.17.155 https://www.jstage.jst.go.jp/article/bio/17/4/17_155/_article/-char/ja/

85. Suryadi Y., Susilowati D. N., Lestari P., Priyatno T. P., Samudra I. M., Hikmawati N., et al. Characterization of bacterial isolates producing chitinase and glucanase for biocontrol of plant fungal pathogens. *J Agric Technol*. 2014, 10(4): 983-999. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/IJAT/10934643.pdf>

86. Jaibangyang S., Nasanit R., Limtong S. Biological control of aflatoxin-producing *Aspergillus flavus* by volatile organic compound-producing antagonistic yeasts. *BioControl*. 2020, 65, 377-386. doi: 10.1007/s10526-020-09996-9 <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-020-09996-9>

87. Farbo M. G., Urgeghe P. P., Fiori S., Marcello A., Oggiano S., Balmas V., et al. Effect of yeast volatile organic compounds on ochratoxin A-producing *Aspergillus carbonarius* and *A. ochraceus*. *International journal of food microbiology*. 2018, 284: 1-10. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.06.023. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160518303362>

88. Jaibangyang S., Nasanit R., Limtong S. Effects of temperature and relative humidity on Aflatoxin B1 reduction in corn grains and antagonistic activities against Aflatoxin-producing *Aspergillus flavus* by a volatile organic compound-producing yeast, *Kwoniella heveanensis* DMKU-CE82. *BioControl*. 2021, 66: 433-443. doi: 10.1007/s10526-021-10082-x <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-021-10082-x>
89. Oufensou S., Ul Hassan Z., Balmas V., Jaoua S., Migheli Q. Perfume Guns: Potential of Yeast Volatile Organic Compounds in the Biological Control of Mycotoxin-Producing Fungi. *Toxins*. 2023, 15(1), 45. doi: 10.3390/toxins15010045 <https://www.mdpi.com/2072-6651/15/1/45>
90. Kordowska-Wiater M., Wagner A., Hetman B. Efficacy of *Candida melibiosica* for control of post-harvest fungal diseases of carrot (*Daucus carota* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. 2012, 11(5): 55-65. <https://czasopisma.up.lublin.pl/index.php/asphc/article/view/3139>
91. Rivas-Garcia T., Murillo-Amador B., Nieto-Garibay A., Rincon-Enriquez G., Chiquito-Contreras R. G., Hernandez-Montiel L. G. Enhanced biocontrol of fruit rot on muskmelon by combination treatment with marine *Debaryomyces hansenii* and *Stenotrophomonas rhizophila* and their potential modes of action. *Postharvest biology and technology*. 2019, 151, 61-67. doi: 10.1016/j.postharvbio.2019.01.013 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925521418310111>
92. Hernandez-Montiel L. G., Gutierrez-Perez E. D., Murillo-Amador B., Vero S., Chiquito-Contreras R. G., Rincon-Enriquez G. Mechanisms employed by *Debaryomyces hansenii* in biological control of anthracnose disease on papaya fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 2018, 139, 31-37. doi: 10.1016/j.postharvbio.2018.01.015 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925521417308335>
93. Ajayi-Oyetunde O. O., Bradley C. A. *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean. *Plant*

pathology. 2018, 67(1), 3-17. doi: 10.1111/ppa.12733

<https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/ppa.12733>

94. Культура РИС (особливості вирощування та зберігання). [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agrarii-razom.com.ua/culture/ris>

95. Україна на третину забезпечує себе рисом. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://fbc.ua/news/ekonomika-uk/ukrayina-na-tretinu-zabezpechuye-sebe-risom/>

96. Оптимальною температурою для вирощування рису є 25-30 °С. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agrotimes.ua/agronomiya/optimalnoyu-temperaturoyu-dlya-viroshchuvannya-risu-e-25-30-s/>

97. Montesinos E., Francés J., Badosa E., Bonaterra A. Post harvest control. Principles of Plant-Microbe Interactions: Microbes for Sustainable Agriculture. 2015: 193-202. https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3_21

98. Ogawa M., Vararu F., Moreno-Garcia J., Mauricio J. C., Moreno J., Garcia-Martinez T. Analyzing the minor volatilome of *Torulasporea delbrueckii* in an alcoholic fermentation. *European Food Research and Technology*. 2022: 1-12. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03910-y>

99. Фунгіциди для зернових. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://yablukom.ua/ua/fungitsidy/fungicidy-dlja-zernovyh/>

100. Рекомендации по технологии опрыскивания полевых культур. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.syngenta.kz/rekomendacii-po-tehnologii-opryskivaniya-polevyh-kultur>

101. Переваги рідких добрив для рослин. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://page.if.ua/article/430/>

102. Pretscher J., Fischkal T., Branscheidt S., Jäger L., Kahl S., Schlander M., et al. Yeasts from different habitats and their potential as biocontrol agents. *Fermentation*. 2018, 4(2): 31. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020031>

103. Utilizing the Fruit Microbiome for Biocontrol of Postharvest Diseases. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

<https://www.ars.usda.gov/ARSDocuments/2018/International%20Workshop/Presentations/Thursday%20Morning/Samir%20Droby.pdf>

104. Ефективність різних добрив та особливості їх застосування. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.agronom.com.ua/efektyvnist-riznyh-dobryv-ta-osoblyvosti-yih-zastosuvannya/>

105. Агропромисловий комплекс та декоративне садівництво. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://files.nas.gov.ua/NASDevelopmentsBook/Parts/Part_01_UA.pdf

106. Identification and quantification of antifungal compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens* BUZ-14 in low-cost culture media. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://zaguan.unizar.es/record/69484/files/TAZ-TFM-2018-027.pdf>

107. Плюси та мінуси гранульованих та рідких добрив. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agrimatco.ua/news/plyusi-ta-minusi-granulovanikh-ta-ridkikh-dobriv>

108. Дріжджі замість добрива: як приготувати і де використовувати. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tsn.ua/ukrayina/drizhdzhi-v-yakosti-dobryva-yak-prigotuvati-i-de-vikoristovuvati-2045641.html>

109. Brougham M. J., Johnson D. B. Glycerol, α -glycerophosphate and other compounds as stabilizers of alcohol dehydrogenase from yeast. *Enzyme and Microbial Technology*. 1981, 3(3): 225-228. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(81\)90090-9](https://doi.org/10.1016/0141-0229(81)90090-9)

110. 10 Phenomenal Glycerin Uses in the Garden. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://balconygardenweb.com/glycerin-uses-in-the-garden>

111. Глицерин Фармакопейный, Глицерин фармацевтический. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://prom.ua/p1152340016-glitserin-farmakopejnyj-glitserin.html?&primelead=NC43>

112. Глицерофосфат. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.alibaba.com/product-detail/Factory-supply-Choline-glycerophosphate-with-best_1600837920174.html?spm=a2700.7724857.0.0.30f469aepMHAV1

113. 3-PHOSPHOGLYCERIC ACID BARIUM SALT. [Электронный ресурс].
Режим доступа: <https://www.echemi.com/produce/pr23081053198-3-phosphoglyceric-acid-barium-salt.html>

114. Crowe J. H., Crowe L. M., Carpenter J. F., Rudolph A. S., Wistrom C. A., Spargo B. J., Anchordoguy T. J. Interactions of sugars with membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes*. 1988, 947(2): 367-384.
[https://doi.org/10.1016/0304-4157\(88\)90015-9](https://doi.org/10.1016/0304-4157(88)90015-9)

115. Сахар оптом и в розницу. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://flagma.ua/sahar-optom-i-v-roznicu-o13623258.html>

116. Starch and sucrose metabolism - *Torulaspora delbrueckii*. [Электронный ресурс].
Режим доступа:
<https://www.kegg.jp/pathway/map=tdl00500&keyword=sucrose>

117. Глюкоза харчова. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://prom.ua/p1701217420-glyukoza-harchova.html?&primelead=Mw>

118. Мальтодекстрин пищевой. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://flagma.ua/maltodekstrin-pishchevoy-o15532765.html>

119. Трегалоза. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://ua.all.biz/uk/tregaloz-g18014004>

120. Лактоза пищевая. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://prom.ua/p920075414-laktoza-pischevaya.html?&primelead=M140>

121. Galactose metabolism - *Torulaspora delbrueckii*. [Электронный ресурс].
Режим доступа: <https://www.kegg.jp/pathway/map=tdl00052&keyword=lactose>

122. Sorbitan Monostearate. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://www.omri.org/sorbitan-monostearate>

123. Bednarska, S., Leroy, P., Zagulski, M., & Bartosz, G. (2008). Efficacy of antioxidants in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* correlates with their effects on protein thiols. *Biochimie*, 90(10), 1476-1485. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2008.05.013>

124. Аскорбиновая кислота. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://prom.ua/p1412568860-askorbinovaya-kislota.html?&primelead=M14xNQ>

125. Цистеин гидрохлорид. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://soda.kiev.ua/p18862391-tsistein-gidrohlорid.html>

126. L-глутатион. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://alibaba.com/product-detail/Bulk-1600864329646.html?spm=a2700.7724857.0.0.25a922fbQm0UhI>

127. При якій температурі і умовах руйнується вітамін С. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://rogatka.if.ua/?p=24712>

128. Luna-Solano G., Salgado-Cervantes M. A., Rodríguez-Jimenes G. C., García-Alvarado M. A. Optimization of brewer's yeast spray drying process. Journal of Food Engineering. 2005, 68(1): 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.05.019>

129. Пластикова порожня тара під спиртовмісні рідини-Пляшка 1.0 л для анисептика. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://otopi.com.ua/p1157575477-plastikovaya-pustaya-tara.html/>

130. Бочка пластиковая (200л) с крышкой на хомуте б/у. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://evrokub.com.ua/bochka-plastikovaja-200l-homut>

131. БОЧКИ ПЛАСТИКОВІ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://euoplast.ua/ua/bochki-plastikovye/>

132. Commercial Uses for Plastic Barrels. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://bascousa.com/blog/commercial-uses-for-plastic-barrels>

133. Контейнер для дезінфекції ЕДПО-10-01 (320x252x160мм). [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://epikriz.com.ua/uk/kontejner-dlja-dezinphekcii-edpo-10-01.html>

134. Поліпропіленовий Пакет з клапаном і клейкою стрічкою 30x35 см, 25 мікрон. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://totoiono.com.ua/ua/p1086660870-paket-polipropilenovyj-klapanom.html>

135. Переработка отходов полипропилена. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://polymers.com.ua/%D0%BF%D0%B5%D1%80%D0%B5%D1%80%D0%B0%D0%B1%D0%BE%D1%82%D0%BA%D0%B0->

[%D0%BE%D1%82%D1%85%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D0%B2-%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%BF%D0%B8%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B0/](#)

136. Luna-Solano G., Salgado-Cervantes M. A., Rodríguez-Jimenes G. C., García-Alvarado M. A. Optimization of brewer's yeast spray drying process. *Journal of Food Engineering*. 2005, 68(1): 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.05.019>

137. Рівнеміри - принцип дії. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ayvaz.com.ua/ua/news/72-urovnyemery-printsip-deystviya>

138. Рівнеміри ультразвукові. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.google.com/search?q=%D0%A0%D1%96%D0%B2%D0%BD%D0%B5%D0%BC%D1%96%D1%80%D0%B8+%D1%83%D0%BB%D1%8C%D1%82%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B2%D1%83%D0%BA%D0%BE%D0%B2%D1%96&rlz=1C1GCEA_enUA842UA842&sourceid=chrome&ie=UTF-8

139. Рівнемір VEGASON 61. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.koda.ua/ukr/products/desc.html?id=515>

140. Вологомір - типи і принцип роботи. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://interfax.com.ua/news/press-release/757880.html>

141. Ваги-вологомір Radwag MA 50/1.R. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.vostok.dp.ua/ukr/catalog/scale/wlagomer/product.html?id=1816>

142. Зважування та маркування. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.vostok.dp.ua/ukr/infa1/vesy/ksm/>

143. ДСТУ 7393:2013 Метрологія. Дозатори дискретної дії вагові автоматичні. Методика повірки. Зміна № 1

144. ДСТУ ISO 8655-1:2018 Пристрої мірні поршневі. (ISO 8655-1:2002; Cor 1:2008, IDT)

145. Sinuco León D. C., Coconubo Guio L. C., Castellanos Hernández L. Fungicidal activity of volatile organic compounds from *Paenibacillus bacteria* against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Revista Colombiana de Química*. 2020, 49(1): 20-25. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v1n49.81996>