

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ
МИНИСТРЛІГІ

Қ.И.Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық зерттеу техникалық университеті
Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

Келден Динар

**ЦИАНОБАКТЕРИЯ ШТАММДАРЫНЫҢ СУТЕГІ БӨЛУІН
ОҢТАЙЛАНДЫРУ**

Дипломдық жоба

6B05101 - «Химиялық және биохимиялық инженерия» мамандығы

Алматы, 2024 жыл

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ
МИНИСТРЛІГІ

“Қ.И.Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті”
коммерциялық емес акционерлік қоғамы

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ

«Химиялық және
биохимиялық инженерия»
кафедра меңгерушісі PhD доктор
Амитова А.А.
2024 ж.



ДИПЛОМДЫҚ ЖОБА

Тақырыбы : « Цианобактерия штаммдарының сутегі бөлуін оңтайландыру »

6B05101– Химиялық және биохимиялық инженерия

Орындаған: Келден Дипар



Ізденуші
PhD, аға оқытушы
Бауилова М. Ө.
2024 ж.



Ғылыми жетекші
PhD, асоц. профессор
Тастамбек Қ. Т.
« 06 » 06 2024 ж.

Алматы, 2024 жыл

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ
МИНИСТРЛІГІ

“Қ.И.Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті”
коммерциялық емес акционерлік қоғамы

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ

«Химиялық және
биохимиялық инженерия»
кафедра меңгерушісі PhD доктор
Амитова А.А.
2024 ж.



Дипломдық жоба орындауға
ТАПСЫРМА

Білім алушы: Келден Динар

Тақырыбы: « Цианобактерия штамдарының сутегі бөлуін оңтайландыру »
Университеттің № 548-П/Ө «4» желтоқсан 2023 ж. бұйрығымен бекітілген
Аяқталған жобаны тапсыру мерзімі «12» маусым 2024ж.

Дипломдық жұмыстың бөлімдері: *диплом алдындағы дайындық бойынша
әдебиеттерге шолу нәтижелері, теориялық мәліметтер жиыны*

Дипломдық жұмыста қарастырылатын мәселелер тізімі

- а) Цианобактериялар және олардың биоэнергетикадағы маңызы жайлы;
- б) Цианобактериялардың сутегін бөле алу деңгейлерін зерттеу;
- в) Цианобактериялардың штамдарынан биосутек алудағы потенциалдар,
қоректік ортаның тиімділігі мен өсімділігі туралы нәтиже шығару;



Ұсынылған негізгі әдебиет 61 атаудан



Алматы, 2024 жыл

**Дипломдық жобаны дайындау
КЕСТЕСІ**

Бөлім атаулары, дайындалатын сұрақтарының тізімі	Ғылыми жетекшіге және кеңесшілерге өткізу мерзім	Ескерту
Тақырыптар бойынша әдебиетке шолу, мақалалар оқу, аудару	Қаңтар	-
Лабораторияға келу, дипломдық жобаның жазылу ретімен танысу, жұмысқа кіріспе	Қараша – Ақпан	-
Тақырыптар бойынша қолданылған әдебиеттерді дипломдық жобаға қосу	Наурыз	-
Алынған нәтижелерді талқылау, дипломдық тақырып бойынша жалпылама тұжырымдамалар жасау	Наурыз – Сәуір	-

**Дипломдық жұмыстың бөлімдерінің кеңесшілері мен қалып
бақылаушының қойған
қолтаңбалары**

Бөлімдер атаулары	Кеңесшілер, А.Ж.Т. (ғылыми дәрежесі, атағы)	Қолтаңба қойылған мерзімі	Қолы
Норма бақылау	Тастамбек Қ. Т. (PhD, ассоц.профессор)		
Ғылыми кеңесшісі	Тастамбек Қ. Т. (PhD, ассоц.профессор)		

Ғылыми жетекшісі  Тастамбек Қ. Т.
Тапсырманы орындауға алған білім алушы  - Келден Динар
Күні « 15 » қаңтар 2024ж.



ҚЫСҚАРТЫЛҒАН СӨЗДЕР

CO ₂	Көмірқышқыл газы
NO _x	Азот оксидтері
H ₂	Сутегі
O ₂	Оттегі
N ₂	Азот
ДНҚ	Дезоксирибонуклеин қышқылы
NiFe	Никель-ферменттік кешен
CBC	Кальвин-Бенсон циклі
ПАМ	Протон алмасу мембранасы
ГХ	Газ хроматографы

АҢДАТПА

Дипломдық жоба: “Цианобактерия штамдарының сутегі бөлуін оңтайландыру” 50 – компьютерлік бет санынан және белгілер мен қысқартылған сөздерден, кіріспе, әдебиетке шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері, қорытынды және 61 – зерттелген ғылыми әдебиеттер тізімінен тұрады. Жұмыстың көлеміне 9 – кесте, 24 – сурет кіреді.

Зерттеу жұмысының мақсаты: Әр түрлі экологиялық жүйелерден бөлініп алынған түр аралық белсенді цианобактериялардың штамдарының сутегін бөлуге деген потенциалдарын зерттеу. Цианобактериялардың алуан түрлігі мен физиологиялық ерекшеліктерін қарастыра отырып олардың биотехнология саласында маңызды нысана екендігін дәлелдеу.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

1. Әр түрлі экологиялық жүйелерден цианобактериялардың әр текті таза дақылдарын бөліп алу және түрлері бойынша жіктеу;
2. Алынған цианобактериялар штамдарының нитрогеназа белсенділігін анықтау;
3. Бөлініп алынған цианобактерия штамдарының жинақталу мөлшерін зерттеу;
4. Цианобактерияның дақылдарынан сутегін бөліп алу жолдарын зерттеу;
5. Цианобактерияларлар штамдарының сутегін бөлу қарқындылығын зерттеу;
6. Микробиологиялық, биотехнологиялық, молекулалық генетикалық, физикалық және химиялық әдістер қолданылды.

АННОТАЦИЯ

Дипломный проект: «Оптимизация распределения водорода штаммов цианобактерий» 50 – от количества компьютерных страниц, условных обозначений и сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования, заключения и 61 – списка литературы. В объем работы входят 9 – таблицы, 24 – изображения.

Цель исследования: изучить возможности межвидовых активных штаммов цианобактерий, выделенных из разных экологических систем, расщеплять водород. Учитывая разнообразие и физиологические особенности цианобактерий, доказано, что они являются важной в области применения биотехнологии.

Методы исследовательской работы:

1. Выделение чистых культур цианобактерий из разных экологических систем и классификация по типам;
2. Определение нитрогеназной активности полученных штаммов цианобактерий;
3. Изучение количества накопления изолированных штаммов цианобактерий;
4. Изучение способов извлечения водорода из культур цианобактерий;
5. Исследование интенсивности выделения водорода штаммами цианобактерий;
6. Использовались микробиологические, биотехнологические, молекулярно-генетические, физико-химические методы.

ANNOTATION

Diploma project: "Optimization of hydrogen distribution of cyanobacterial strains" 50 – from the number of computer pages and symbols and abbreviations, introduction, literature review, research materials and methods, research criteria, conclusion and 61 – list of references. The scope of work 9 – tables, 24 – pictures.

The purpose of the research work: Study of the potential of interspecies active cyanobacteria strains isolated from different ecological systems to split hydrogen. Considering the variety and physiological features of cyanobacteria, proving that they are an important target in the field of biotechnology.

The purpose of the research work:

1. Isolation of pure cultures of cyanobacteria from different ecological systems and classification by types;
2. Determination of nitrogenase activity of obtained cyanobacteria strains;
3. Study of the amount of accumulation of isolated cyanobacterial strains;
4. Study of ways of extracting hydrogen from cyanobacteria cultures;
5. Study of intensity of hydrogen release of cyanobacterial strains;
6. Microbiological, biotechnological, molecular genetic, physical and chemical methods were used.

МАЗМҰНЫ

	КІРІСПЕ	9
1	ӘДЕБИЕТКЕ ШОЛУ	12
1.1	Цианобактериялар, олардың маңыздылығы	12
1.2	Цианобактериялардың биоэнергетикадағы маңызы	15
1.3	Сутек энергиясының маңызды өкілі цианобактерия	20
1.4	Сутек өнімділігін арттыру жолдарын оңтайландыру (температура, рН, тұздар, жарық және т.б)	22
1.5	Биосутек өндірісіне әсер етуші факторлар	22
2	ЗЕРТТЕУ ОБЪЕКТІСІ ЖӘНЕ ӘДІСТЕРІ	25
2.1	Зерттелетін материалдар мен объектілер	25
2.2.1	Цианобактериялардың жинақы дақыл түрін және дақылдауға қажетті жарық түрін қарастырып, биомассаны микроскопта қарау	25
2.2.2	Цианобактериялардан сутек алу әдістері	27
3	ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ТАЛҚЫЛАУ	33
3.1	Цианобактериялардың штамдарынан биосутек алудағы потенциалын, қоректік ортаның тиімділігі мен өсімділігін зерттеу	33
3.2	Зерттелінген цианобактерия штамдарының сутек бөлу қарқындылығын бақылау, спектофотометрде қарау және мәндерді excel – ге енгізу	33
	ҚОРЫТЫНДЫ	44
	ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ	45

КІРІСПЕ

Биоэнергиялы сутегі өндірісі – бұл микроорганизмдерді қолдану арқылы сутегі газын алу әдістері. Сутегін бөле алатын бірнеше фотосинтетикалық және фотосинтетикалық емес микроорганизмдер бар, олар жасыл балдырлар, цианобактериялар, фотосинтетикалық бактериялар және күлгін ферментативті бактериялар. Бұл микроорганизмдердің әрқайсысының физиологиясы мен метаболизмі әртүрлі, олар әртүрлі метаболикалық жолдар мен тәсілдер арқылы сутегін алуға мүмкіндік береді.

Энергия көздерінің бірі ретінде молекулярлық сутегі қазіргі шектеулі қазбалы отындар ресурстарына балама энергия көзі болып табылады. Сутегі энергиясын отын ретінде пайдаланудың артықшылықтары өте көп, мысалы: экологиялық таза, тиімді, жаңартылатын және сутегі энергиясын өндіру мен пайдалану кезінде CO_2 газының үлесі жоқ болуы мен аз мөлшерде NO_x түзілуі. Барлық осы аталған артықшылықтарды ескере отырып сутегі газын энергия көзі ретінде тереңдете зерттеп, пайдалануға болады.

Сутегі газын кең көлемді қолданысқа келтіру үшін көптеген дәстүрлі тәсілдермен (соның ішінде фотоэлектрхимиялық немесе термохимиялық процестерде) өңдеуге болады. Бұл жұмысымда цианобактериялар арқылы сутегінің фотобиологиялық өндірісі мен өндірілген сутекті ауқымды қолдану үшін кең көлемде пайдаланудың ғылыми-техникалық аспектілері туралы талқылап, қарастыратын боламын. Сондай-ақ, цианобактериялық ферменттік жүйенің маңызды ерекшеліктерін, сутегін өндіретін әртүрлі түрлер мен штамдарды, сутегі өндірісін басқаратын параметрлерді және фотобиореакторларды пайдаланатын ауқымды өндірісті қарастырамын. Белгілі бір жағдайларда цианобактериялар CO_2 -ны азайтып қана қоймай, молекулалық сутегін өндіру үшін биохимиялық энергияны жұмсауға да бейімделеді. Сутегін алудың дәстүрлі әдістерімен салыстырғанда цианобактериялық сутегі өндірісі коммерциялық тұрғыдан тиімді. Зертханалық жағдайда қарастырылып отырған цианобактериялар арқылы сутегінің фотобиологиялық өндірісін және өндірілген сутегін жүйелі қолдану үшін кең көлемде өндірудің, өндірілген өнімді пайдаланудың ғылыми-техникалық жүйелерін қарастырдық және де қарастыру барысындамыз. Сонымен қатар, цианобактериялық ферменттердің жүйелі маңызды ерекшеліктерін, сутегін өндіруге қабілетті түрлері мен штамдарын, сутегі өндірісін басқаратын параметрлерді және фотобиореакторларды пайдаланатын ауқымды өндірісті сипаттап қарастыру үстіндеміз. Цианобактериялар жақын арада экономикалық тиімді болатын сутегі энергиясының көзі, біздерге шығынсыз арзан, әрі тиімді, сапалы энергия қажет. Бірақ, цианобактериялардан сутегін алу әлі де көптеген жұмысты қажет етеді, ал негізгі мәселе – алынатын сутегі энергиясының аз мөлшері. Цианобактериялық сутегінің көп жұмысын алу үшін ең белсенді жабайы типті штамдарды тандап, технологиялық, модульдік және генетикалық зерттеулерді бір уақытта жүргізу керек. Цианобактериялардан алынатын сутегінің энергия

тиімділігінің төмендігі де зерттеулердің кешенді жүргізу қажеттігін көрсетеді. Баламалы энергия көздерін пайдалануды арттырмаған жағдайда, болашақта мұнай мен газ қорларының таусылуына әкеп соғуы әбден мүмкін, ал бұл мәселелер мемлекеттер арасында энергия үшін бәсекелестіктің туындауына әкелуі ықтимал.

Энергия көздерінің бірі ретінде биосутекті өндіруді оңтайландыру мақсатында зертханалық жағдайда көптеген белсенді цианобактериялық штамдармен зерттеулер жүргізілді. Мысалы, олардың өсу қарқынын жақсарту әдістері, сондай-ақ тікелей және жанама биофотоллиз кезінде физикалық-химиялық өсу параметрлерін өңдеу бойынша жұмыстар. Цианобактериялар қоршаған және қоректік ортаға тез бейімделгіш және жоғары өсу қарқынына ие. Ерекшелігі қолайлы өсу жағдайында жабық фотобиореакторларда бірнеше сағат ішінде тығыздығын екі есеге дейін арттыра алады. Бұл талқыланып жатқан энергия көздері мен табиғи ресурстар сутегі үшін және болашақта қоғам үшін сәтті жаңартылатын энергия көзі ретінде қолдану және өндіру әдістерін, ең соңғы сақтау технологияларын және сутегі энергисы халық экономикасына әлеуетті серпіліс беретін тасымалдау стратегияларын ұсынады.

Баламалы энергия көзі ретінде қарастырылып отырған сутегі энергисын пайдалану артпаса, болашақта мұнай мен газ қоры таусылады, атмосфералық қысым деңгейі көтеріледі және мемлекеттер арасында энергия үшін бәсекелестік арта түседі. Бұл болжанып отырған жағдайлар баламалы энергия көздеріне сұраныстың артуына әкелді. Яғни, баламалы энергия көздер ретінде саналып отырған сутегі энергиясын пайдалануға кезең-кезеңімен көшу бүгінгі таңда әлемдік энергетикалық сектордың алдында тұрған маңызды міндеттердің бірі болып табылады. Елімізде цианобактериялардан көп мөлшерде сутегі энергиясын алу әлі де ауқымды жұмыс пен жабдықтық толықтыруларды қажет етеді. Ал, бұл аталған әдіс-тәсілдер мен өзгерістердің нәтижесі болашақ қоғамның дамуы мен өнеркәсіптік революцияның қарқынды өзгерістеріне әкелетіндігі сөзсіз.

Зерттеу жұмысының мақсаты: Әр түрлі экологиялық жүйелерден бөлініп алынған түр аралық белсенді цианобактериялардың штамдарының сутегін бөлуге деген потенциалдарын зерттеу. Цианобактериялардың алуан түрлігі мен физиологиялық ерекшеліктерін қарастыра отырып олардың биотехнология саласында маңызды нысана екендігін дәлелдеу.

Зерттеу объектісі: Зерттеу жұмысының объектісі ретінде әр түрлі экологиялық жүйелерден алынған цианобактериялардың штамдарын қолдандық. Зерттеу жұмысында пайдаланылған цианобактериялардың штамдар – *Synechocystis sp.*, *Synechococcus sp.* және *Anabaena sp.*, *Anabaena variabilis*, *Nostoc caldicola*, *Nostoc sp.*, *Synechocystis sp.* PCC 6803. Жоғары мөлшерде сутегін бөлушілері ретінде – *Anabaena sp.*, *Nostoc sp.*, *Cylindrospermum sp.* дақылдары көптеп қолданылды.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы: Алғаш рет цианобактериялардың *Anabaena sp.* B1-4, *Nostoc sp.* J-14 және *Tolypothrix tenuis* J-1 штамдары

тереңдетіле зерттеліп, филогенетикалық талдауы жасалынды. Алғаш болып цианобактериялардың нитрогеназа және гидрогеназалары бойынша белсенділігі зерттелініп, *Desertifilum sp.* IPPAS B-1220 штамының жарықта биосутек бөлу қабілетінің жоғарылығы анықталды. Сутек өнімділігіне азотфиксациялаушы цианобактерия *Anabaena sp.* B1-4 штам түрінің оң әсері анықталып, оны топырақ құрамын құнарландыруға пайдалануға ұсынылады.

Жұмыстың ғылыми және практикалық маңызы: Фототрофты микроорганизмдерді өсіруге арналған «Фототрофты микроорганизмдерді дақылдауға және сұрыптауға арналған фотобиореактор моделіне арналған патент» атты фотобиореактордың технологиялық сызбасы жасалынды. Сондай-ақ, зерттеу жұмыстарының нәтижесі бойынша *Anabaena variabilis* R-I-5 және *Anabaena sp.* B1-4 штамдарының биомассасы негізінде алынған суспензияның жасыл энергетика және ауылшаруашылық өсімдіктерінің өнімділігіне оң әсері анықталынып, Қ. И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университетінде Геология және мұнай-газ ісі институтінің, химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасындағы «Микробиология» зертханасына әрі қарай өсіруге қойылды.

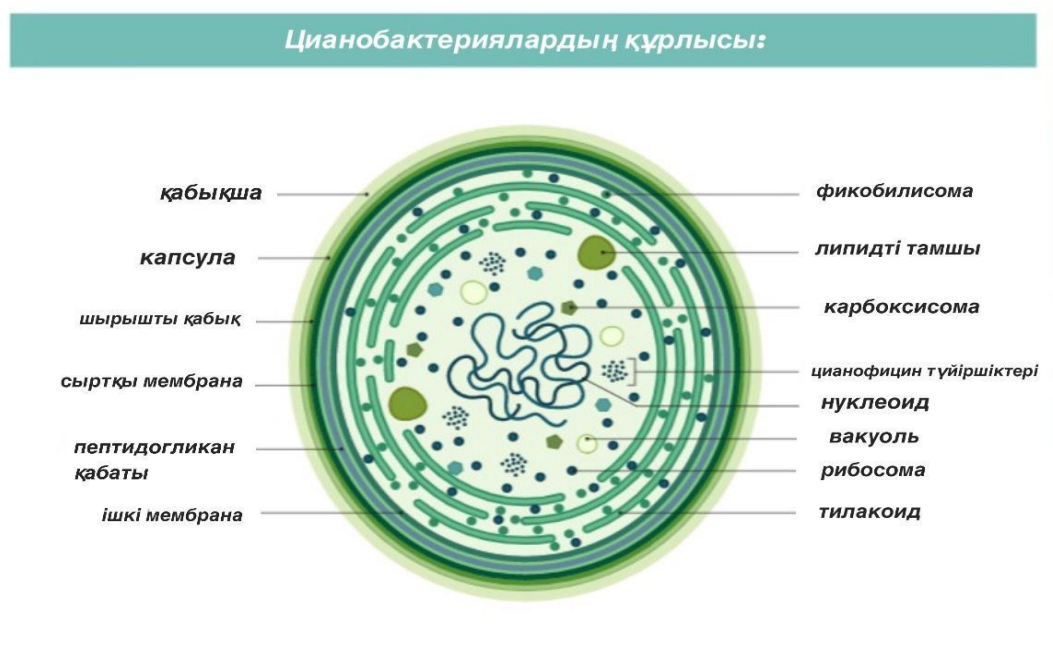
Түйін сөздер: Цианобактериялар, микроорганизімдер, сутек өндірісі, биомасса, оңтайландыру, температура, жарық, рН.

НЕГІЗГІ БӨЛІМ

1. ӘДЕБИЕТКЕ ШОЛУ

1.1 Цианобактериялар, олардың маңыздылығы

Цианобактериялар – ең көне организмдердің қатарына жатады және жердегі тіршілік эволюциясында маңызды рөл атқарды, яғни олар жоғары сатыдағы өсімдік хлоропластының тегі болып табылатын ежелгі фотосинтетикалық прокариоттар (1 – сурет).



Сурет 1 – Цианобактериялардың құрылымы.

Ежелгі грек жазбаларында цианобактериялар “көк” деген ұғыммен біздерге таныс [1]. Яғни, көк балдырлар деп те аталатын цианобактериялар фотосинтезге қабілетті бактериялар тобы болып табылады [2,3]. Олар хлорофилге ие және энергия көзі ретінде жарықты пайдалана отырып, атмосферадан көмірқышқыл газын бекітеді. Цианобактериялар жер бетіндегі ең көне организмдердің бірі болып табылады және биогеохимиялық процестерде, соның ішінде азот пен оттегі айналымында маңызды рөл атқаратын бастапқы продуценттер [4]. Микроорганизімдердің үлкен тобы цианобактериялар әр түрлі ортада мұхиттар мен топырақ, тұщы суларда, соның ішінде су экожүйесінде, тау жыныстарында өмір сүруге бейім, қоршаған ортаға және тірі организмдерге оң және теріс әсер етуі мүмкін [5]. Биотехнологиялық өнімдерді алуда маңызды рөл атқарады. Цианобактериялар қоршаған ортаға және адам денсаулығына оң және теріс әсер ететін токсиндерді шығаруға қабілетті бірегей метаболикалық қасиеттерге ие [6]. Сондай-ақ олардың тарихи маңызын, соның

ішінде жер бетіндегі тіршілік эволюциясындағы ролін атап өткен жөн [7,8]. Цианобактериялар экожүйелер мен жердегі тіршілік үшін үлкен маңызға ие, яғни цианобактериялар атмосферадағы азотты бекітіп, оны органикалық қосылыстарға айналдырып, басқа организмдерге қолжетімді етеді. Су жүйелерінің экологиялық жағдайының көрсеткіштері ретінде, цианобактериялардың болуы мен таралуы су сапасы мен экожүйедегі өзгерістерді көрсете алады [7]. Сондай-ақ, мұхиттар мен теңіздердегі тіршілік иелері үшін қоректік көзі ретінде қарастырыла отырып цианобактерияларды зерттеу биоотын, тағамдық қоспалар және фармацевтика салаларында жаңа технологиялардың дамуына әкелуі мүмкін [8,9].

Цианобактериялар суы бар кез келген ортаны мекендейді және әртүрлі жағдайларда өсе алады [10]. Бұл организмдер фотосинтездің бастамашылары болып табылады және планетаның бастапқы оттегімен қамтамасыз етілуіне жауапты [11]. Қазіргі уақытта цианобактериялар планетаның бастапқы өнімділігінің 25% және ашық мұхиттағы бастапқы өнімділіктің шамамен 2/3 бөлігін құрайды [12]. Цианобактериялар фотосинтезді және СВС циклі арқылы биомассаны тек CO_2 және көміртек және энергия көздері ретінде күн сәулесін пайдаланады [13].

Цианобактериялар көптеген тірі ағзалардың тыныс алуына қажетті фотосинтез арқылы оттегінің айтарлықтай мөлшерін шығарады [9]. Цианобактериялар құрылымы жағынан өте қарапайым, олар зат алмасу процестері жүретін цитоплазмадан, қорғаныс пен анықталған пішінді біркелкі ететін қалың жасуша қабатынан, фотосинтез процесі жүретін тилакоидтық мембраналы құрылымдардан, генетикалық материалын эукариотты организмдерден ерекшелейтін қабықшасы жоқ ядрода (ДНК), кейбір таралған түрлерінде атмосферадан азотты бекітуге бейімделген гетероцисталардан тұрады. Гетероцисталар дегеніміз фотосинтез процесін жүргізбейтін, бірақ азотты бекіте алатын жүйе болып табылады, бұл цианобактериялардың өсу мен даму үшін пайдалы [14].

Цианобактериялар – бір жасушалы организмдер және әртүрлі тұқымдар мен түрлерді қамтиды. Кейбір танымал цианобактериялар: анабаена, носток, спирулина, микроцистис, синеккокк, синехоцистис, прохлорококкалар. Бұл аталған тектердің бір бөлігі ғана, су экожүйелерінен бастап топырақ пен тау жыныстарына дейін әртүрлі орталарда өмір сүретін цианобактериялардың басқа да көптеген түрлері бар [2].

Сонымен қатар, цианобактериялар бірқатар маңызды функцияларды орындайды және экожүйелер мен жердегі тіршілік үшін маңызы зор. Олар тірі ағзалардың көпшілігінің тыныс алуына қажетті фотосинтез арқылы оттегі мен органикалық қосылыстарды түзетін маңызды бастапқы продуценттер [14]. Атмосферадан азотты бекітіп, өсімдіктер мен микроорганизмдер үшін маңызды қоректену көзі болып табылатын басқа организмдер үшін қолжетімді формаларға айналдыруға қабілетті. Цианобактериялардың болуы мен таралуы қоршаған ортаның ластануы мен өзгерістерін бағалауға көмектесетін су

экожүйелерінің сапасы мен қоршаған орта денсаулығының көрсеткіштері бола алады.

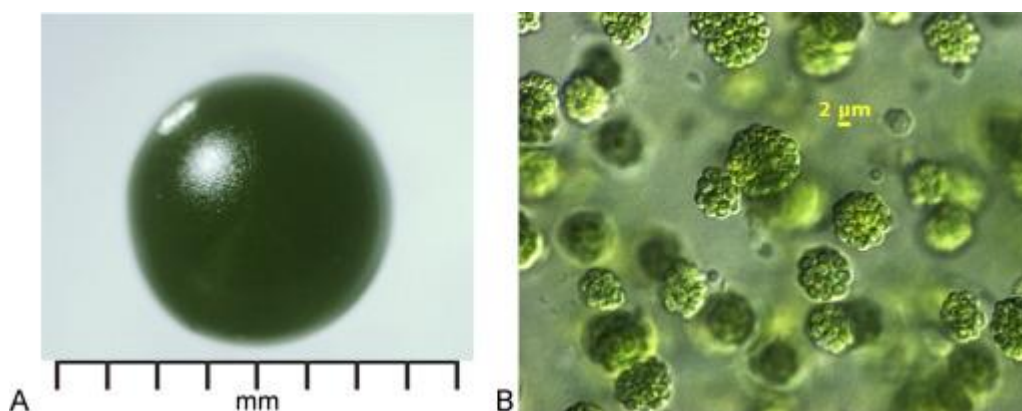
Цианобактериялардың көпшілік түрлері метаболизм кезінде сутегін сіңіруге және бөлуге қабілетті, бұл процестің сутегі алмасуы деп атап өтсекте болады. Кейбір цианобактериялар оттегі аз жағдайларда сутекті баламалы қуат көзі ретінде пайдалана алады [15]. Яғни, сутегі цианобактериялардағы бірқатар метаболикалық жолдар үшін, соның ішінде азотты бекіту және органикалық қосылыстарды өндіру үшін субстрат ретінде қызмет ете алады [9,16]. Олардың сутегі алмасуын зерттеу биоотын және ағынды суларды тазарту саласында болашақта жаңа технологиялардың дамуына әкелуі мүмкін. Цианобактериялардың әртүрлі түрлерінің сутегін бөлудегі ерекше механизмдері мен қабілеттері әртүрлі болуы мүмкін және қосымша зерттеуді қажет етеді [15]. Бірақ, бұл процесті оттегінің немесе басқа тотықтырғыштардың жетіспеушілігі туындаған жағдайларда энергия алу және коферменттерді қалпына келтіру үшін пайдалануға болады. Кейбір цианобактериялар биотехнологияда жаңартылатын энергия көзі ретінде сутегін алу үшін қолданылуы мүмкін [16].

Биотехнологияда цианобактериялардың маңызды болып табылатын негізгі салалары бар. Цианобактериялардың кейбір түрлерін органикалық материалдарды ашыту немесе фотосинтез арқылы биоэтанол, биодизель және басқа да биоотын алу үшін пайдалануға болады [14]. Ауыр металдар мен токсиндер сияқты әртүрлі ластаушы заттарды сіңіруге, метаболизмге қабілетті, ластанған су мен топырақ ортасын тазалау үшін пайдалы. Спирулина сияқты тағы басқа да цианобактериялардың белгілі бір түрлері ақуыздың, витаминдердің, минералдардың және антиоксиданттардың жоғары деңгейіне байланысты тағамдық қоспаларда қолданылады [17]. Осы мысалдардың барлығы биотехнологиядағы цианобактериялардың әлеуетін және олардың тұрақты және экологиялық таза технологияларды дамытуға ұмтылатын әртүрлі салалардағы маңызды рөлін көрсетеді [2].

Қоректік және өсу ортасына байланысты әртүрлі өсіп келе жатқан орталарда өсе алады, бірақ әдетте минералды элементтер мен көміртегі көздеріне бай ортаны қажет етеді. Олар үшін қоректік ортаның негізгі компоненттері: су, жарық, минералды тұздар, көміртек көздері. Су таза және ластаушы заттардан тазартылған болуы керек [14]. Цианобактериялар фотосинтездеуші организмдер, сондықтан олардың өсіп-өнуі және көбеюі үшін жарық қажет. Олар күн сәулесімен немесе жасанды жарықпен қамтамасыз етілген жарқын жарықты жақсы көреді. Ақуыздар мен басқа да маңызды молекулаларды синтездеу үшін азот, фосфор, калий және темір сияқты минералды элементтерді қажет етеді [7]. Олар өсу мен көбею үшін көміртегі көздері ретінде әртүрлі органикалық және бейорганикалық қосылыстарды пайдаланады.

Цианобактериялардан сутегін алудың маңыздылығын қортындылай айтатын болсақ, қазба отындарын өте көп мөлшерде пайдалану салдарынан

туындап, ұлғайып келе жатқан экологиялық проблемаларды шешу және алдын алу мақсатында, әсіресе атмосферадағы орташа температураның күрт көтеріліп кетуі тұрақты энергетикалық шешімдердің шұғыл қажеттілігін көрсетеді. Бұл аталған проблемалар жаңартылатын энергия көздерін, әсіресе сарқылмайтын табиғи энергия көздерін тереңдете зерттеп, ашуға бағытталған биологиялық зерттеулер объектілерінің маңыздылығын арттырды. Туындаған мәселелер мен қажеттіліктерді қарастыра отырып біз зертханамызда *Synechocystis sp* цианобактериясын толықтай зерттеуге кірістік. *Synechocystis sp* бойынша сутегі өндірісі бұрын жинақталған көмірсулар есебінен қараңғы анаэробты ашыту процессінде пайда болады (2 – сурет). Бұл штамның өсуі көмірсулардың жинақталу барысы мен қоректік орта құрамының өзгеруіне байланысты болады, біз зерттеу барысында қоректік орта ретінде BG 11-дің азотсыз және азотты түрлерін пайдаландық. Сондай-ақ, NiFe гидрогеназасының O₂-ге сезімталдығына байланысты, анаэробты сутек өндіру процесі аэробты көмірсулардың жинақталуынан бөлек жүреді [18]. Түркістан облысы, Бадам өзенінен алынған PSU 1262 штамын да зерттедік. PSU 1262 штамның ерекшелігі әртүрлі қоршаған орта жағдайларында да, белгілі бір температура диапазоны (27 - 30°C) мен белгілі бір жарық қарқындылығы жағдайында да сутегін оңтайлы түрде бөле алуында болды. Сондай-ақ, бұл штамм сілтілік жағдайларда сутегінің ең жоғары өндірісіне қол жеткізетінін және натрий нитратының жоғары деңгейіне ұшырағанында бөлінетін өнімнің мөлшері айтарлықтай төмендейтінін көрсетті [19]. Бұл мәліметтердің барлығы сутегі өндірісінің болашағы үшін өте маңызды болып табылады.



Сурет 2 – *Synechocystis sp.* штаммы арқылы сутегін өндіру.

Моншақтардың орташа диаметрі $5,06 \pm 0,18$ мм, көлемі $67,8 \pm 2,4$ мкл және жасушаның орташа құрғақ салмағы $46,3 \pm 0,8$ мкг болды. Сутегін өндірудегі максималды жылдамдығы $5,73 \pm 0,69$ мл H₂ мг (мысалы, $40,6 \pm 4,9$ мкмоль H₂ мг chl⁻¹ сағ⁻¹).

1.2. Цианобактериялардың биоэнергетикадағы маңызы

Қазіргі дамыған қоғамда энергия көзі ретінде табиғи шикізаттарды ауқымды пайдалану арқылы адамзат табиғатқа түсетін экологиялық

ауыртпашылықтарды азайтады және экологиялық аумақтар мен су объектілерінің ластануын төмендетеді, сонымен қатар, улы газдар, ауыр металдар мен метанның атмосфераға шығарылуын шектейді [20]. Сутегін табиғи биологиялық жолмен алу әдіс-тәсілдерінің ішінде фототрофты микроорганизмдерді – цианобактериялар мен бактерияларды қолдану жолдары маңызды. Цианобактериялардан сутегін өндіру өте тиімді, себебі олар күн энергиясын (жарықты) бойына сіңіру арқылы, сутегін түзеді және қымбат макро-микроэлементтерді қажет етпейді. Соңғы таңдағы зерттеулер көрсеткендей, цианобактериялардың барлық түрлері сутек бөлуге қабілеттілік танытады, бірақ олардың тіршілік ету ерекшеліктері мен көбеюіне қарай қалыптасқан морфологиялық және генетикалық айырмашылықтарына сай сутек бөліну мөлшері мен бөліну уақытының ұзақтығында айырмашылықтары байқалады [20]. Олардың морфологиялық биоалуантүрлілігі және метаболиттік сипаттамалары сутегін өндіруде ең қолайлы екендіктерін дәлелдейді. Бұл көбінесе цианобактериялардың гетероцисталық формаларына қатысты, яғни, клетка ішінде оттегі бөлінуі жүзеге аспағандықтан сутегі бөлінуіне қатты кедергі туындамайды. Осындай ерекшеліктері негізінде ауада молекулалық оттегі болған кезде гетероцистикалық цианобактериялар H_2 бөлінісін жүзеге асыра алады [21]. Цианобактериялардың сутегін бөлу жылдамдығын қажетті ферменттерді синтездейтін генетикалық қабілетімен және қажетті энергияны қамтамасыз ететін, ішкі және сыртқы ортаға бөлетін метаболиттік ерекшеліктерімен және қоршаған орта жағдайымен анықтауға болады [20].

Осындай әдістер арқылы цианобактериялардың – күн энергиясын бойына сіңіре отырып сутегі бөлуге қабілеттілік танытатын келешектегі биологиялық нысан екенін айта кетсек. Генетикалық және метаболиттік инженерияның көптеген әдістерін пайдалана отырып, продуценттерді өсіруде пайдаланылатын фотобиореакторлардың технологиялық сипаттамаларын жақсарту арқылы цианобактериялық сутектің биологиялық өндірісін өркендетіп, дамытуға болады [22].

Сондай-ақ, цианобактериялар, негізгі фотосинтетикалық организм ретінде, CO_2 биомассаға айналдыру және көмірсулар, май қышқылдары және биоотынның жаңартылатын көздері ретінде спирттер өндіру арқылы көміртекті бекітуге және органикалық химиялық өндіріске қатыса алады [23,24].

Жалпы алғанда, цианобактериялар фотосинтездеу және энергиясы жоғары биомасса өндіру ерекшеліктеріне байланысты биоэнергияда маңызды рөлге ие. Цианобактериялардың биоэнергия үшін маңызды болуының жолдарын жинақтап қарастырсақ: 1) биомасса өндірісі – цианобактериялар биомассаны басқа өсімдік түрлеріне қарағанда тезірек өндіре де жинақтай да алады және олар әртүрлі жағдайларда өсе алады. Бұл биомасса биодизель, биогаз немесе басқа биоэнергия өнімдерін өндіру үшін пайдаланылады; 2) сутегі өндірісі – кейбір түрлері фотосинтез процесі арқылы сутегін өндіруге қабілетті. Бұл сутегі отын элементтері немесе сутегі қозғалтқыштары сияқты әртүрлі қолданбалар үшін таза энергия көзі ретінде қазіргі таңда зерттеліп,

болашақта пайдаланылуы мүмкін; 3) көміртекті фиксациялау – атмосферадан көмірқышқыл газын сіңіріп, фотосинтез процесі арқылы органикалық қосылыстарға айналдыру арқылы көміртегі айналымында маңызды рөл атқарады. Бұл қоршаған ортадағы көмірқышқыл газының деңгейін төмендетуге және климаттың өзгеруінің әсерін азайтуға көмектеседі; 4) суды тазарту – цианобактериялардың кейбір түрлері ластанған су объектілерін улы заттар мен нитраттардан тазартуға қабілетті, олар биомасса өндіру немесе басқа биоэнергетикалық мақсаттар үшін пайдалы болуы мүмкін; 5) азық-түлік өнеркәсібінде қолдану – кейбір түрлерінде ақуыздың және басқа да пайдалы қоректік заттардың жоғары деңгейі бар, бұл оларды тағамдық қоспалар мен функционалды тағамдардың құнды көзі етеді; 6) жоғары тиімді тыңайтқыштарды өндіру – цианобактериялардың белгілі бір түрлерін өсімдіктердің өсуіне қажетті азот пен басқа қоректік заттардан тұратын биотыңайтқыштарды өндіру үшін пайдалануға болады. Бұл биоэнергия үшін маңызды аспект бола алатын ауыл шаруашылығы өндірісінің өнімділігі мен тиімділігін арттыруда маңызды рөл атқарады [22]. Цианобактерияларды қарқынды түрде өсіру және зерттеу қазіргі таңда ғалымдар үшін өте маңызды ғылым түріне айналып отыр, себебі, цианобактериялар биоэнергияның маңызды көзі болып табылады және неғұрлым тұрақты және таза энергия жүйелеріне көшуде маңызды рөл атқаруы мүмкін деп күтілуде [25].

1.3. Сутек энергиясының маңызды өкілі цианобактерия

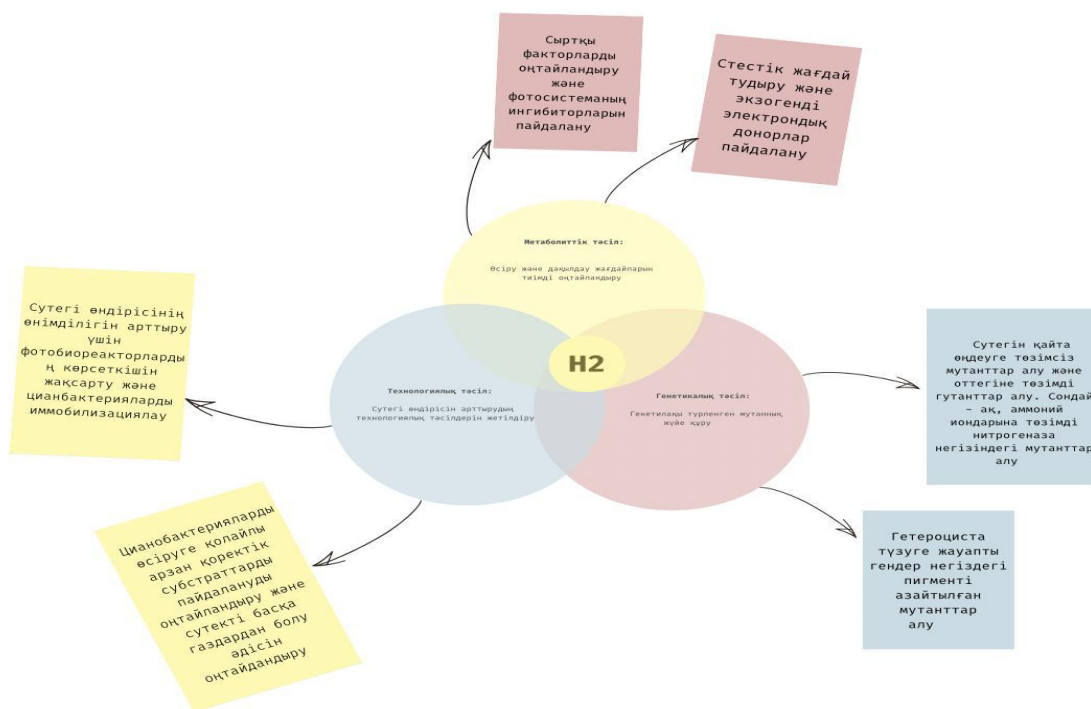
Цианобактерия клеткаларының сутек энергетикасындағы маңызы күн өткен сайын артууда. Себебі, микроорганизмдердің метаболизмінің жанама өнімі негізіндегі сутегінің биохимиялық өндірісі – қалпына келетін ресурстардан сутегі алудың жаңа технологиялық саласы, сондықтан да цианобактериялар фотобиологиялық сутегі өндіре алатын фототрофты микроорганизмдер ретінде тереңдете зерттелуде [26]. Тірі ағзалардан H_2 бөліп алу технологиясы жарты ғасырдан астам уақыт бойы зерттелгендігіне қарамастан, осы уақытқа дейін толыққанды және молдік өнім беретін технологиялар қалыптаспады. Ал, цианобактериялар жүргізетін биофотоллизге негізделген сутегін алу процесі соңғы 35 жыл ішінде белсенді зерттелді [27,28]. Аз уақыт ішінде көптеген ғалымдардың ғылыми жобалары мен зерттеулерінде микробалдырлар мен бактерияларда H_2 түзілудің негізгі молекулалық механизмдері аса маңызды қызығушылықпен зерттеле бастады. Ол жұмыстардың ішінде жетекшім, әрі ұстазымыз Қосалбаев Бекжан Дүйсенбиұлы бастаған бір қатар ғылым иелерінің “Цианобактериялар жасушаларының сутегі өндірісінің биопроцестері және олардың өнімділігін арттырудың мүмкін жолдары” және тағы басқа да жұмыстары көңіл аудартарлықтай. Фототрофты микрорганзмдердегі тікелей биофотоллиз үдерісі күн сәулесін немесе белгілі мөлшердегі жарықты энергия көзі ретінде қолданып, судың ыдырауын тудырады, соның негізінде бөлініп шыққан электрондар және протондар арқылы сутегі молекулаларын катализдеу процесі артады [28].

Фотосинтездің электрондық транспорттық тізбегі, яғни, судың ыдырау механизмі мен сутегі түзілуінің катализаторлары сияқты екі элементтен тұратын су биофотоллиз жүйелері концептуалды түрде биофотоллиз және жанама биофотоллиз ретінде қарастырылады [29]. Тікелей биофотоллиз үдерісі фотосинтетикалық пигменттер сіңірген жарық энергиясын пайдаланып, клетка құрамындағы судың оттегі (O_2) мен протондарға (H^+) ыдырауына қолданылады. Ал, тікелей биофотоллизге негізделген фотосинтез үдерісімен жүзеге асатын ферредоксин мен гидрогеназаны активтендіреді. Клетка жанама биофотоллизде көмірқышқыл газын түзу үшін судың бөлінуі және ферредоксиннің төмендеуі үдерістерін пайдаланады, процесс нәтижесінде алынған көміртегі қосындысын бөлек реакция кезінде сутектің бөлінуін активтендіру үшін қолданады [28].

Цианобактериялардың ішінде сутегін көп мөлшерде бөлуге бейімдері және аса зерттелген түрлері *Nostoc*, *Anabaena*, *Synechocystis*, *Oscillatoria*, *Synechococcus*, *Phormidium* және т.б, бұл аталған түрлер гидрогеназа және нитрогеназа қызметінің нәтижесінде сутекті бөліп шығарады [27,28]. Сондай-ақ, бұл аталған цианобактериялар тыныс алу барысында атмосферадағы CO_2 пайдаланады, қарапайым қоректік ортада өсуге де бейім және көптеген штамдар атмосфералық азотты бойына сіңіріп, сіңірілген өнімді аммиакқа айналдыруға бейім [30].

Сутегін өндіру процесінде ферменттік жүйелер мен оның цианобактериялардағы реттелуіне жауап беретін бірнеше негізгі гендер бар, олар – *NiFe*, *HuP*, *HuP*, *HoX*. Гендер гидрогеназалар және никель тетрагидрофолатдегидрогеназалары сияқты бірнеше суббірліктерден тұрады. Бұл ферменттерге жауапты гендер әдетте цианобактериялардың геномында кездеседі және белгілі бір жағдайларда, мысалы, жарықтың жоғары әсерінен және азот тапшылығында көрінуі мүмкін. *HuP*, *HuP*, *HoX* атты гендік жүйелерге сипаттама бере кететін болсақ, *HuP* – бұл азотты бекіту және сутегі өндіру процесіне қатысатын сутегі күшейткіш гидрогеназа ферменттік жүйесімен байланысты белоктарды кодтайтын гендер. Ал, *HuP* – сутегі өндірісімен байланысты гипотетикалық фермент кешенінің ақуыздарын кодтайтын гендер. Бұл гендердің әсер ету механизмі әлі толық зерттелмегенімен, олар сутегінің түзілу процесіне де қатысуы мүмкін және *HoX* – бұл *NiFe* гидрогеназаларына ұқсас, бірақ ол анаэробты жағдайда жұмыс істейді және оттегі болмаған кезде белсендіріледі [31]. Нитрогеназа азоттың аммиакқа айналуымен қоса сутегі өндірісін де катализдейді. Ал, гидрогеназалар болса протондар мен электрондардан сутектің қайтымды төмендеуін катализдейді. Бірақ, бұл екі ферментте цианобактерияларда сутектің биологиялық өндірілуіне жауап беретін негізгі клеткалық белоктық құрылымдар болады [32]. Гидрогеназадан нитрогеназаның айырмашылығы, нитрогеназа қайтымсыз үдерісті катализдейді және ол қарқынды түрдегі сутек ферменті ретінде саналады. Барлық цианобактериялардың белсенділігі, ферменттердің жетілуі мен құрылымдық ерекшеліктеріне байланысты түрлер арасында әртүрлі болады. Ал, вегетативті клеткалардан құралған түрлер

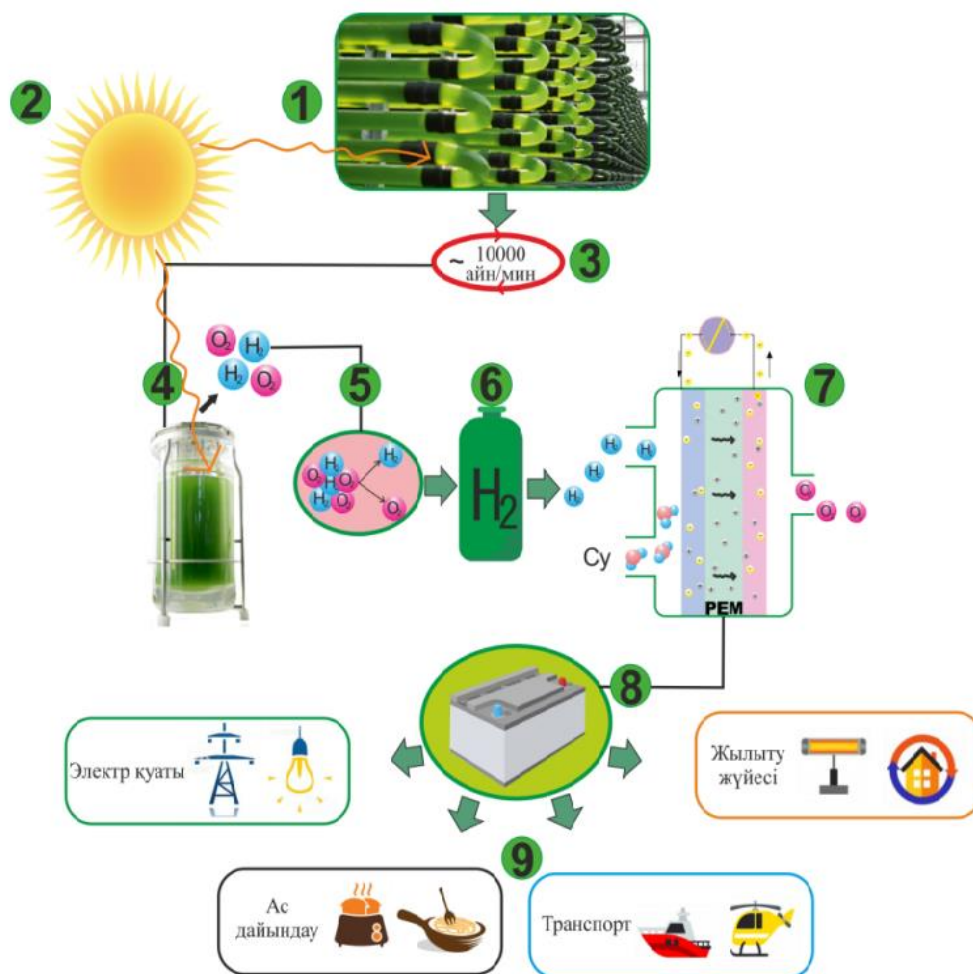
болатын болса, олар тек гетероцисталардың гендерінен тұрады. Кейбір жасушаларда гидрогеназалардың әр түрлі функциялары бар гендер тобы болуы мүмкін, олардың ерекшелігі ақуыз биосинтезін белсенді ете түседі [33,34]. Цианобактериялар арқылы H_2 өндірісін әлі де дамыту үшін түрлі әдіс-тәсілдер зерттеліп қолданылу үстінде. Осы уақытқа дейін зерттелген әдістер үш принципке бөлініп қарастырылады (3 – сурет), олар метаболиттік, генетикалық және сутегі өндірісін арттырудың технологиялық тәсілдері [32,35,36].



Сурет 3 – Цианобактерия клеткалары арқылы өндірілетін H_2 өнімділігін арттырудың әдіс-тәсілдері.

Цианобактериялардан сутегін алудың технологиялық тізбегін келесі қадамдар арқылы көрсетуге болады: 1) цианобактерияларды таңдау және биореакторда өсіру; 2) цианобактериялардың биомассасын өсіру, яғни, бұл дегеніміз ферменттік сутегі өндірісі: Бұл жарық, температура, рН және қоректік заттардың қолжетімділігін бақылауды қамтуы да мүмкін; 3) цианобактерияларды H_2 фотобиореакторында анаэробты өсіру (қараңғыда немесе жарықта); 4) сутегі өндірісі және оны басқа газдардың қоспаларынан тазарту, содан кейін оны пайдаланғанға дейін қауіпсіз ортада сақтау; 5) сутегі газын электр энергиясына айналдыру. Яғни, өндірілген сутегін отын элементтерінде электр энергиясын өндіру немесе сутегінің жануы сияқты әртүрлі өнеркәсіптік немесе энергетикалық процестерде пайдалану (3 – сурет) [37]. Осы аталған қадамдардың әрқайсысы цианобактериялардан тиімді және тұрақты сутегі өндіру үшін өте мұқиятты түрде оңтайландыруды және бақылауды талап етеді.

Өңделген газ түріндегі сутектің электр энергиясына айналдыру механизмін кері электролиздік жүйе арқылы жүзеге асыруға болады. Бұл жағдайда оттегі мен сутегі бірігуі нәтижесінде су түзіліп, электр тогы пайда болады. Құрылымдық жағынан сутегіден энергия алу ПАМ арқылы бөлінген екі электрод анод пен катод беттерінен тұрады. Сутегі құрылғының бір бөлігінен анод түрінде еніп, каталитикалық бетімен соқтығысу арқылы электрондар мен протондарға ыдырайды (4 – сурет). Мембрана протондарға өтеді, ал электрондар болса катодқа сыртқы тізбек арқылы өтіп, электр тогын түзеді [37].



Сурет 4 – Биосутек алу және оны қолданылу процесінің схемалық көрінісі: 1) цианобактериялардың таңдап алынуы және өндірістік фотобиореакторда алынған клеткалардың өсуі; 2) фотосинтез процесі жүру үшін күн энергиясын пайдалану; 3) дайын болған клетка биомассасын центрифугаға 8000-15000 rpm жылдамдықпен қою; 4) өнеркәсіптік фотобиореакторда көп мөлшердегі сутегі өндірісі үшін биомассаны жинақтау; 5) сутегі газын мембраналар көмегімен газ қоспасынан тазарту және концентрациялау; 6) пайдаланғанға дейін қауіпсіз ортада сақтау; 7) электр энергиясын PEM (ПЭМ) арқылы алу; 8) батареяға керекті мөлшерде энергия жинақтау; 9) сутегі энергиясын қуат көзі ретінде энергетикалық процестерде пайдалану.

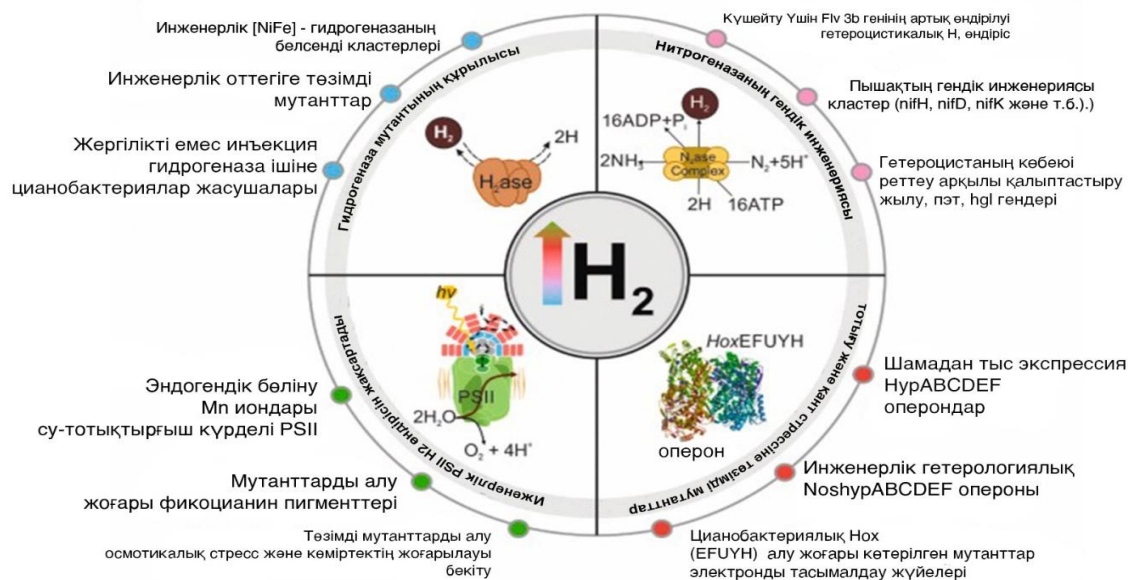
1.3. Сутек өнімділігін арттыру жолдарын оңтайландыру (температура, рН, тұздар, жарық және т.б)

Цианобактериялардың көптеген түрлері сутекті жарық және қараңғы орталарда бөлуге қабілетті, сондай-ақ, сутектің бөлінуі өз кезегінде түрлерінде шоғырланған гендердің белсенділігімен тікелей байланысты [38,39,40,41,42]. Мысалы, цианобактерияның *Spirulina platensis* түрі жарықтың болмауы және анаэробизм жағдайында 32°C температурада белсенді түрде сутек бөледі [39]. Ал, *Synechococcus* Nag. PCC 7942 24 түрі де қараңғы ортадағы анаэробты жағдайда сутегін бөлуге бейім болды. рН пен температура көрсеткіштерін белсенді қадағалау мен метаболизмді бақылай отырып ферментативті реакцияларды реттеу тәсілдері де цианобактериялардың сутегін катализдеу қабілетін арттыруда көмектеседі. Зертханалық жүйелерде байқағанымыздай цианобактериялық клеткалар арқылы биосутекті жинақтауда және өндіруде қолайлы температуралық ауқымдылығы 25-40°C аралығында болады [38]. Сутегінің катализденуіне әсер ететін көптеген цианобактериялық жасушаларды қамтитын факторлар бар, оларды тұрақты қадағалау, өзгерту мен реттеу арқылы көп мөлшердегі оң нәтижелер алуға болады. Көп мөлшерде сутек алуда цианобактерия штамдарының биомассасы мен биомассаның мөлшері өте маңызды [42].

Соңғы уақыттарда сутектің цианобактериялар арқылы бөлініп шығарылатын түрлерінің қасиеттері аса қызығушылықпен зерттелуде, олардың бір түрі *Aphanothese halophytica* салыстырмалы түрде активті [43]. Бұл түр анаэробты жағдайда қараңғыда сутегін белсенді түрде (1 мкмоль/мг ҚБ/сағ) өндіре алатындығы анықталған [43]. Сондай-ақ, нитрогеназа ферменттеріне негізделген гетероцисталы штамдарды қарастыратын болсақ бастапқы 2-3 тәулікте белсенді түрде молекулалық Н₂-ні бөліп, қысқа уақыт арасында клеткадағы қорға жинаған энергияны пайдаланады. Ал гетероцистасыз цианобактериялардың түрлері (*Synechococcus*, *Synechocystis* және т.б.) гидрогеназа ферментінің белсенділігін бір тәулік мөлшерінде тұрақты сақтай алады. Бұл екі сутектік ферменттің энергияны тұтыну ерекшеліктеріне тікелей байланысты. Ғалымдар көп мөлшерде сутек өндіру үшін көптеген штамдардың генетикалық және метаболиттік қасиеттері зерттеді. Олардың ішіндегі белсенділіктері бойынша айтсақ, күкіртпен ашыту жағдайында азот түзбейтін бір клеткалы цианобактерия *Gloeocapsa alpicola* сутегін жоғары дәрежеде өндірді [44]. Цианобактериялардың азоттық фиксациясы бойынша *Anabaena* тұқымдас түрлері сутегі белсенділігіне қатысты жағы салыстырмалы тұрғыда жақсы зерттелген. *Anabaena cylindrica* – 30 тәуліктік шектеулі жарық жағдайында аргон атмосферасында сутегі мен оттегі қатар шығара алатындығы да байқалады [45]. *Anabaena* sp. болса көп мөлшерде сутек шығаруға қабілетті, ал *Anabaena cylindrica* азот жетіспеушілігі жағдайында сутектің өте көп мөлшерін өндіруге қабілетті (30 мл/л дақыл/сағ). Сонымен қатар, цианобактериялардың ішінде ауадағы азотты фиксациялайтын түрлерінің

бірі – *Cyanothece* 51142 штамы [46]. Бұл штамның сутек өндіру процесіне қатысты толық метаболиттік теориялық моделін де қалыптастырған. Осы штам сутегіні көміртек көзі түріндегі глицерин қатысуымен 465 мкмоль/мг а/сағ мөлшерінде бөле алады [47].

ГХ флокондарының ішінде цианобактерия клеткаларындағы сутек ферменттерінің белсенділігін арттыру үшін инертті газдарды еңгізгеннен кейін [43] *Anabaena variabilis* цианобактерия штамы сутектің жоғары мөлшерін өндірді [48,49,50,51]. Яғни, бұл нәтиже арқылы аргонды қолдану нитрогеназа белсенділігінің жоғарылауына және цианобактериялардағы гетероцисталардың санының артуына алып келетіндігін байқаймыз. Себебі, қоректік ортадағы және ауадағы азоттың жетіспеушілігі клеткалардың стресстік жағдайын туғызуымен қатар, гетероцисталардың санының артуына әкеледі. Гетероцисталар ауадағы азотты сіңіру нәтижесінде нитрогеназа ферментін активтендіреді, ал нитрогеназа ферменті азотты сіңіру процессімен қатар, сутегін бөлу қызметін де атқарады [52]. Мысалы, *A. variabilis* PK 84 дақылдары биомассаны жинау үшін өсіргенде 73% аргон, 25% N және 2% CO₂, ал сутек алу процессінде 93% аргон, 5% N және 2% CO₂ мөлшеріндегі газдардың қоспасымен аэрацияланғанда 167,6 мкмоль/мг хл а/сағ мөлшерінде жоғары сутегі бөліндісін көрсетті [53,54].



Сурет 5 – сутегі экономикасын құру және арттыру мақсатында цианобактерияларға негізделген сутегі энергиясын дамытуға гендік инженерияның үлесі

1.4. Биосутек өндірісіне әсер етуші факторлар

Цианобактериялардың биосутегі өндірісіне әртүрлі факторлар айтарлықтай әсер етуі мүмкін. Атап айтқанда жарықтандыру, температура,

қоректік заттардың қолжетімділігі, CO₂ концентрациясы, стресстік жағдайлар, генетикалық факторлар және т.б. [42]. 1 – кесте арқылы биосутек өндірісіне аталған факторлардың әсер етудегі қызметтерін түсіндіре өтсек.

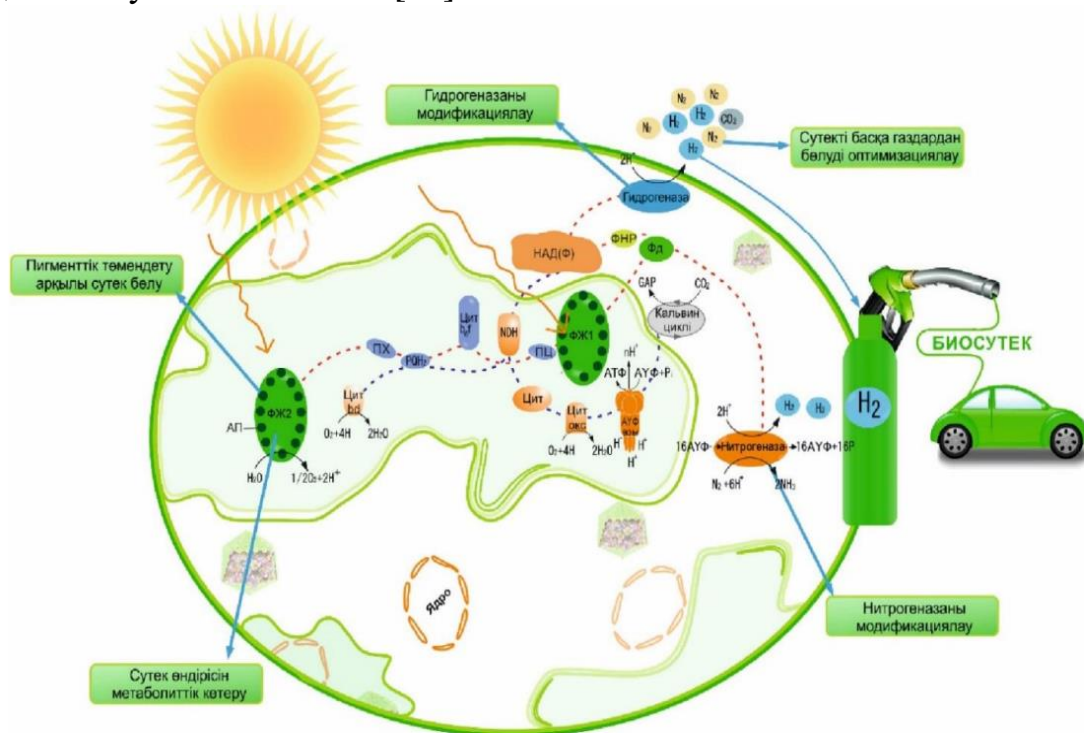
Кесте 1 – Биосутек өндірісіне кейбір факторлардың тигізер әсері:

Жарықтандыру	Жарықтың қарқындылығы мен ұзақтығы фотосинтез процессінің жүру жылдамдығына, яғни, биосутегінің өндірілуіне айтарлықтай әсер етеді.
Температура	Цианобактериялардың өсуі мен белсенділігінің артуы немесе кемуі үшін оңтайлы температура қажет. Түрлері мен штаммдарына байланысты температура өзгеруі мүмкін. Температураның өзгеруі фотосинтездің және биосутектің көлеміне әсер етуі мүмкін.
Қоректік заттардың қолжетімділігі	Цианобактериялар өсіп, көбею үшін әртүрлі қоректік заттарды қажет етеді. Азот немесе фосфор сияқты белгілі бір элементтердің жетіспеушілігі олардың биомасса мен биосутек өндіру қабілетін төмендетуі мүмкін.
CO ₂ концентрациясы	Қоршаған ортадағы көмірқышқыл газының концентрациясын арттыру фотосинтезді және цианобактериялар арқылы биосутек өндіруді жетілдіруі мүмкін.
Стресстік жағдайлар, генетикалық факторлар	pH мөлшерінің артуы, токсиндердің болуы немесе судың жетіспеушілігі сияқты белгілі бір стресстік жағдайлар цианобактериялардың өсуі мен белсенділігіне әсер етіп, биосутек өндірісін баяулатуы мүмкін.
Генетикалық факторлар	Цианобактериялардың әртүрлі штаммдарының фотосинтездеу және биосутек өндіру қабілетіне әсер ететін әртүрлі генетикалық сипаттамалары бар.

Цианобактерия клеткаларынан сутегі бөліну процессінің тиімділігі көптеген факторларға байланысты және де бұл аталған факторлар тұрақты, әрі дұрыс қадағалау оның кең көлемді өндірісі үшін өте маңызды болып табылады. Жарықтың қарқындылығы, температура, pH, қоректік орта, оттегі мен азот концентрациясының төмен болуы немесе болмауы, тұздар әсері сынды сыртқы ортадан әсер етуші факторлар сутектің бөлінуіне өз әсерін тигізеді. Айтып өткеніміздегідей, жоғарыдағы әр түрлі факторлар сутек бөлінісіне әрқалай әсер етеді [25]. Температура, анаэробты орта, жарықтандыру – цианобактериялардың сутегі бөлу белсенділігіне әсер ететін негізгі факторлар екендігі түсінікті болды [25]. Сондай-ақ, сутектің бөлінуіне бірнеше сыртқы орта факторлары да әсер етеді және де осы сутегі өндірісіне әсер ететін факторлардың бірі pH көрсеткіші. Зерттеулер бойынша сутегі өндірісіндегі

қолайлы рН көрсеткіші 5-тен 7-ге дейін болады [42]. Осы көрсеткіш арқылы цианобактериялардың ферментативті механизмінің тиімділігін реттеуге немесе арттыруға және клеткалардың тотығу-тотықсыздану реакциясын жүзеге асыруға көмектеседі. Цианобактерия штамдары тікелей жарыққа тәуелді, себебі, энергия көзін жарықтан алады.

Цианобактериялық клеткалар бойынша сутегі өндірісінің өнімділігін арттырудың тиімді тәсілдерінің бірі – ингибиторларды қолдану арқылы электрондарды тасымалдау (6 – сурет). Қазіргі таңда әр түрлі ингибиторлардың 15-тен астам түрі қолданылады, олардың ішінде көп қолданылатын түрлері: диурон (DCMU), карбонил цианид хлорофенил гидразон (СССР), метил виологен (МВ), калий цианиді (KCN), хлорамфеникол, 2,5-дибромо-3-метил-6-изопропил-р-бензокинон (DBMIB), пентахлорфенол (РСР) және малонат ФЖ ингибиторлары болып табылады. Кеңінен қолданылатын электрон тасымалдау жүйесінің ингибиторларының бірі – DCMU (диурон), бұл фотожүйе белсенділігін тежеуге және молекулалық сутек өндіруге қолайлы анаэробты жағдай жасауға бағытталған [55].



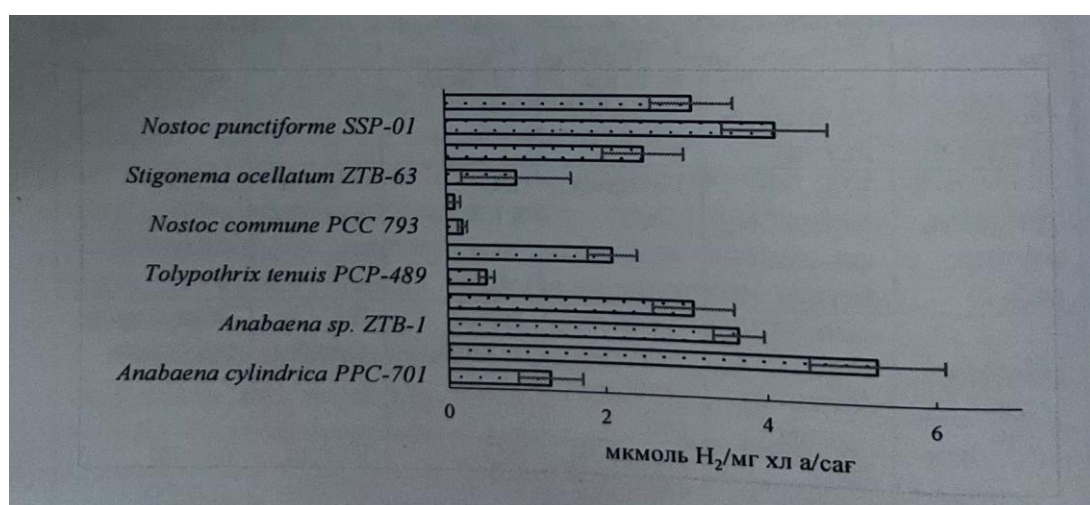
Сурет 6 – Цианобактериялар негізінде сутек өндірісін жақсарту мен қолданылу жолдары [25].

2. ЗЕРТТЕУ ОБЪЕКТІСІ ЖӘНЕ ӘДІСТЕРІ

2.1. Зерттелетін материалдар мен объектілер

Зерттелетін нысанның объектісі ретінде *Synechocystis sp.* PCC 6803 және *Anabaena sp.* 7912, *Anabaena sp.* Z-1, *Nostoc caldicola* RI-3, *Nostoc sp.* S-2. Зерттеу материалдары ретінде цианобактериялардың бірнеше түрі қолданылды: *Cylindrospermum sp.* J-8, *Anabaena variabilis* K-31. Зерттеу материалдары 1-2 м тереңдікте 3-5 нүктеден алыу арқылы жалпы сынама шығардық. Сынамалар арнайы салқындатқыш сөмкеде (НПФ - Медтехника, РФ) +6-+8°C температурада тасымалданып, сақталынады және зертханалық жағдайда алынған сынамалардың жаңа түрлері дақылдана отырып зерттеледі. Цианобактериялар түрлерін бкліп алу мақсатында сынамалар күз бен жаз ҚР табиғи экодүйелерінен алынады. Жұмыс Қ. И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университетінде Геология және мұнай-газ ісі институтінің, химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасындағы «Микробиология» зертханасына жүргізілді.

BG-11, аллен қоректік орталарын қолдандық. Бұл қоректік орта – цианобактерияларға арналған универсалды қоректік орта және құрамына кіретін тұздар мөлшерінің аз болуына байланысты өндірістік жұмыстарда кеңінен қолданылады. Ал, аллен қоректік ортасы да цианобактерияларды дақыладуға арналған универсалды қоректік орта.



Сурет 7 – Жарық фазасыда цианобактериялардын сутегін бөліну зерттеу. 30 мкмоль фотон/м²/с биомассаны BG-11 ортасында, әлсіз жарықтандыру және ауамен үздіксіз дақылдау кезінде өскен дақылдардан алынды. Жиналған жасушаларды 6000 грм жылдамдықпен 10 минут центрифугаланып, әрі қарайғы процеске жіберіледі.

2.2.1. Цианобактериялардың жинақы дақыл түрін және дақылдауға қажетті жарық түрін қарастырып, биомассаны микроскопта қарау

Цианобактериялардың жинақталған штамдарын сұйық қоректік ортасы бар колбаларға құямыз. Пробиркаға құйылған қоректік орта ½ мөлшерде

болады. Қоректік ортаға құйылған штамдарды жарықпен қамтамасыз ету үшін люминесцентті лампалар (8 – сурет) арқылы 50-200 мкмоль фотон/м² /сек қарқындылықта қоямыз [56].



Сурет 8 – Люминесцентті шамдар.

Сондай-ақ, зерттеу жұмыстарында қолданылатын жарықтың қарқындылығы Quantum Q 40555 LI250A (LI-COR Biosciences, Lincoln, NE, USA) жарық өлшегіші арқылы ыдыстың 5 жерінен өлшенеді және ортақ көрсеткіші алынып, мкмоль фотон/м² /сек өлшем бірлігінде көрсетіледі.

Біз зертханалық жағдайда цианобактериялардың жинақталған штамын алу үшін BG-11 қоректік ортасын қолданылды. 2 – кесте арқылы қолданылған қоректік ортаның құрамымен таныстырдық. Сондай-ақ, BG-11 қоректік ортасының құрамын толықтырушы өнімдердің де құрамын 3 – кестеде (Stock 1, 2, 3, 4, 5) көрсеттік.

Кесте 2 – BG-11 қоректік ортасының құрамы:

1 L	
Stock 1	2 ml
Сұйылту	200 ml

Stock 2	50 ml
Stock 3	2 ml
Stock 4	1 ml
Stock 5	1 ml
Сұйылту	800 ml

Кесте 3 – Stock 1, 2, 3, 4, 5 | 1 M | құрамы:

Stock 1	г/ 100 ml
Лимон қышқылы	0,3
Темір (III) амоний цитраты	0,3
Na ₂ EDTA	0,5

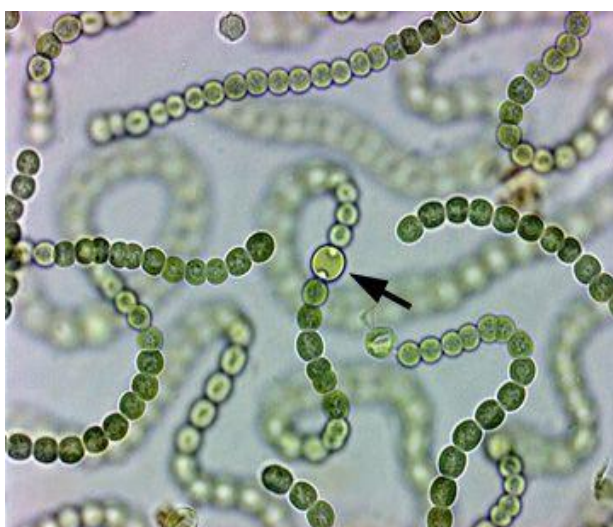
Stock 2	г/ 100 ml
NaNO ₃	30
K ₂ HPO ₄	0,78
MgSO ₄ * 7H ₂ O	1,5

Stock 3	г/ 100 ml
CaCl ₂ * 2H ₂ O	1,9

Stock 4	г/ 100 ml
Na ₂ CO ₃	2

Stock 5	г/ 100 ml
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ * 4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ * 7H ₂ O	0,22
Cu(NO ₃) ₂ * 5H ₂ O	0.08
Na ₂ MoO ₄	0.021
Co(NO ₃) ₂ * 6H ₂ O	0.0494

Цианобактерияларды дақылдарын жарық микроскопы арқылы тексеріліп (140x) морфологиялық ерекшеліктерін сипаттау жұмыстары жүргізу (9 – сурет). Биомассалар жеткілікті мөлшерде жинақталып, өсіп шыққан соң бактериялардың тазалығын микроскоп астында иммерсионды майды қолданып 140x үлкейтуімен бақыланды [57].



Сурет 9 – Цианобактерия штамы – *Nostoc*.

2.2.2. Цианобактериялардан сутек алу әдістері

Цианобактериялардың биомассасын сутегін алу үшін дайындау әдісі. Цианобактерия штамдарынан сутек алу үшін биомасса өсіру жұмыстарында жарық (белсені түрде: 45 ммоль фотон/м²/сек) пробиркалардың үстінгі жақтарынан жеткілікті мөлшерде берілді. Биомасса қарқынды түрде жинақтау мақсатында дақылдар қажетті мөлшерде сұйық BG-11 қоректік ортасында дақылданып, SPP-25GA немесе Sobo SB-648A аяа сорғышының көмегімен аэрацияланды (10 – сурет).



Сурет 10 – Sobo SB-648A аквариум аяа сорғысы.

Келесі кезекте зерттеу жұмыстары жүргізілген тәсілдермен бөлісе өтсек. Зертханамызда өсіріліп жатқан цианобактерия штамдарының арасынан 150 мл биомассаны ламинарлы шкаф (11 – сурет) ішінде аламыз.



Сурет 11 – Вертикалды тік ламинарлы шкаф.

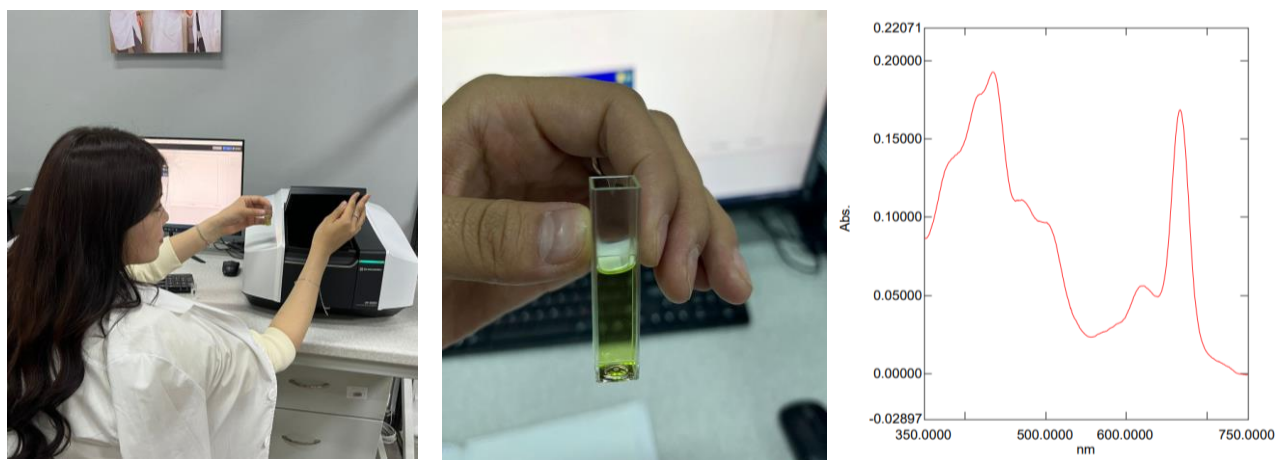
Алынған биомассаны 5 ыдысқа 30 мл мөлшермен құйамыз және 6000 грм жылдамдықта, 10 мин уақыт бойы центрифугаланады (12 – сурет). Супернатантты төгіп тастағаннан кейін клетка дақылына 30 мл BG-11 (-N)

қолданып екі рет шаю керек. Шайғаннан кейін клетка дақылдарына 100 мл BG-11 қоректік ортасы қосып, 3 мин бойына араластырамыз.



Сурет 12 – Биомассаны центрифугалау барысынан.

Центрифугаланған биомассаны спектрофотометр (V-630; JASCO International Co., Ltd, Токио, Жапония) көмегімен 730 nm толқын ұзындығында 750-350 nm аралығында 1,5 оптикалық тығыздыққа (OT_{730}) келуін тексереміз (13 – сурет).



Сурет 13 – SHIMADZU, UV-2600i спектрофотометріндегі жұмыс барысы және шыққан мәні.

Спектрофотометрмен жұмыс істегеннен кейін ГХ виалдарының (14 – сурет) ішіне 5 мл-ден құямыз және ары қарай әртүрлі жағдайлар бойынша эксперименттер жасаймыз. Мысалы, 1 М NaHCO_3 қосу арқылы жасасақ. 1 М NaHCO_3 дайындау үшін 100 мл дистилденген суға 8,4 NaHCO_3 тұзын еріту керек. Келесі кезекте 4 – кестеде көрсетілген мөлшер бойынша виалдардағы клеткаларға NaHCO_3 қосамыз.

Кесте 4 – Келеткалар мен оларға қосылатын NaHCO_3 мөлшері:

Бақылау	тек 5 мл клетка
150 мкмоль	5 мл клетка үстіне 750 мклитр мл дайындалған «1М NaHCO_3 » құю
100 мкмоль	5 мл клетка үстіне 500 мклитр мл дайындалған «1М NaHCO_3 » құю
50 мкмоль	5 мл клетка үстіне 250 мклитр дайындалған «1М NaHCO_3 » құю
25 мкмоль	5 мл клетка үстіне 125 мклитр дайындалған «1М NaHCO_3 » құю



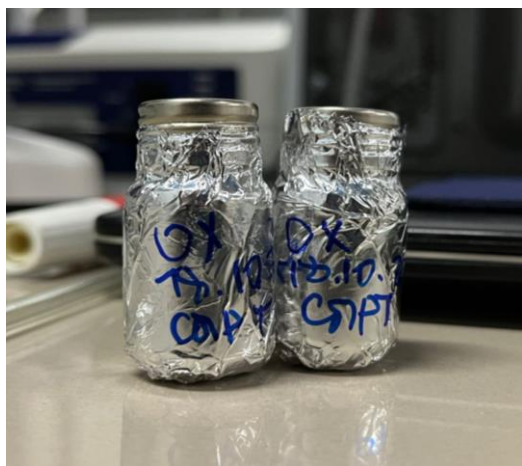
Сурет 14 – Gluvex виалы, 12x32 мм.

Дайындалған 1,5 оптикалық тығыздықтағы және әртүрлі соданың концентрациясы бар виалдарды анаэробты жағдай жасау үшін әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университетінің Биология және биотехнология факультеті, биотехнология кафедрасының «Микробиология» зертханасындағы аргон газын пайдаландық. Виалдардың әрқайсысына 5 минуттан аргон газын (15 – сурет) жібердік.

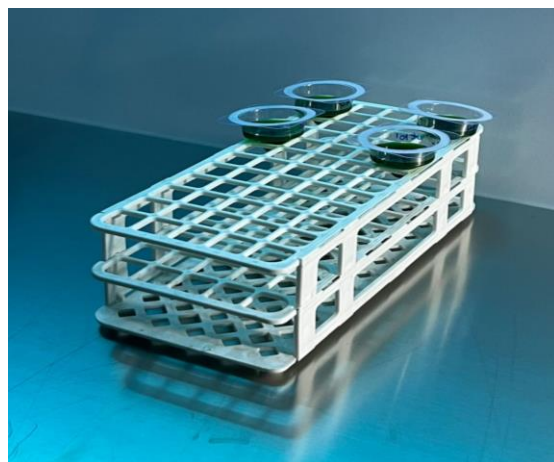


Сурет 15 – Виалдарға аргон газын толтыру барысы.

Виалдарға аргон толтырылғаннан кейін бөлме температурасында жарық немесе қараңғы жерге шайқау (BioShaker BR-22FP) процессін тұрақты түрде жүргізу арқылы қоямыз. Қараңғы фазадағы ГХ виалын фольгамен (16 – сурет) орау арқылы қараңғылаттық.



а)



ә)

Сурет 16 – а) виалдарды фольгамен орау барысы; ә) виалдарды ультракүлгін сәулелеріне қою арқылы да байқап көруге де болады.

Бөлінген сутегін молекулалық деңгейде өлшеу әдісі. Жинақталған H_2 газын газ хроматографында (17, б – сурет) өндірушінің нұсқауларына сай түрде өлшейміз (3210; GL Sciences, Inc., Токио, Жапония). Бұл құрылғыда колонка мен инжектор $80^{\circ}C$, ал детектор $120^{\circ}C$ температурада жұмыс жасады. Арнайы шприц көмегімен (17, а – сурет) ГХ виалдан 0,5 мл газ тартып алып, газ хроматографына еңгіземіз және алынған мәндерді өзімізге сақтап аламыз.



а)



ә)

Сурет 17 – а) RN 5-тен 100 мкл-ге, 250 мкл-ден 10 мл-ге дейінгі диапазондағы шприц инелері алмастырады; ә) «Хромос GC-1000» газды хроматографы.

ГХ – тіркегеннен кейін виалдардан 200 мкмоль (-0,2 мл) белок аламыз. Үстіне 200 мкмоль метанол (100%) қосып, 1мин шайқап, 10 мин-қа үстел үстіне қоямыз. Одан кейін 15000 rpm жылдамдықпен 10 минут центрифугалауға саламыз (18 – сурет). Центрифугадан кейін суспензияны алып үстіне 2200 мкмоль метанол (100%) құйып, 350-750 nm арасында ABS (663,6; 646,6; 730 nm) тексереміз.



Сурет 18 – Центрифугалау арқылы суспензия алу сәті.

Алынған мәндердің барлығын excel-ге еңгізу арқылы диаграммалық схемаларды, нәтижелерді алдық. Алынған нәтижелерді келесі бөлімде қарастыратын боламыз.

3. ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ТАЛҚЫЛАУ

3.1. Цианобактериялардың штамдарынан биосутек алуғағы потенциалын, қоректік ортаның тиімділігі мен өсімділігін зерттеу

Цианобактерия жасушалары BG-11 қоректік ортасында өсірілді, әрбір зерттелген тәжірибе белсенді күйдегі жасушаларға жасалынды [58]. Келесі кезекте бұл жасушаларды тәжірибелік өңдеулердің нақты талаптарына сәйкес келетін оңтайлы жарық және температура жағдайына жаңа BG-11 қоректік ортасы арқылы бейімдедік. BG-11 қоректік ортасы цианобактерияларды дақылдауда қолданылатын ерекше бірегей қоректік орталардың бірі. Жүргізілген барлық зерттеулерде сутегі өндірісі әртүрлі орта жағдайларында сутегін бөлу әсерін анықтау үшін жүйелі аралықтарда өлшеулер жүргізі отырып, газ хроматографиясының көмегімен автоматты түрде өлшенді. Азот көздерінің әсері өсу ортасына әртүрлі концентрациядағы натрий нитратының (NaNO_3) қосылуы арқылы зерттелді. Жарық астындағы үш күндік инкубациялық кезеңнен кейін сутегі өндірісінің жылдамдығы әр 24 сағат сайын өлшеніп, биосутек құрамында азоттың болуы биосутектің өнімділік әсеріне қосар үлесін де атап өттік. Өнімге түсірілетін жарық қарқындылығының әсері үшін жаңа BG-11 ортасына бейімделген жасушаларды әртүрлі жарық интенсивтілігіне (0, 60, 120, 240 және 360 мкмоль фотон/м²/сек) ұшырату арқылы зерттеді. Жасушалар 24 сағаттық бейімделу кезеңінен кейін анаэробты жағдайға орналастырылды және 62 сағат бойы белгіленген жарық қарқындылығында үздіксіз инкубацияланды. Бұл жасалынған процесстерден кейін жарық қарқындылығы мен H_2 өндіру тиімділігі арасындағы байланыстарды анықтау үшін сутегі өндірісі 24 сағаттық аралықпен өлшенді [59].

3.2. Зерттелінген цианобактерия штамдарының сутек бөлу қарқындылығын бақылау, спектофотометрде қарау және мәндерді excel-ге енгізу

Көптеген уақыттар аралығында цианобактериялардың әртүрлі штамдарына зерттеу жұмыстарын жүргіздік және сол жұмыстардан жиналған мәндер мен мәліметтер арқасында цианобактериялардың сутегін бөле алу ерекшеліктері туралы көптеген тұжырымдар жасадық.

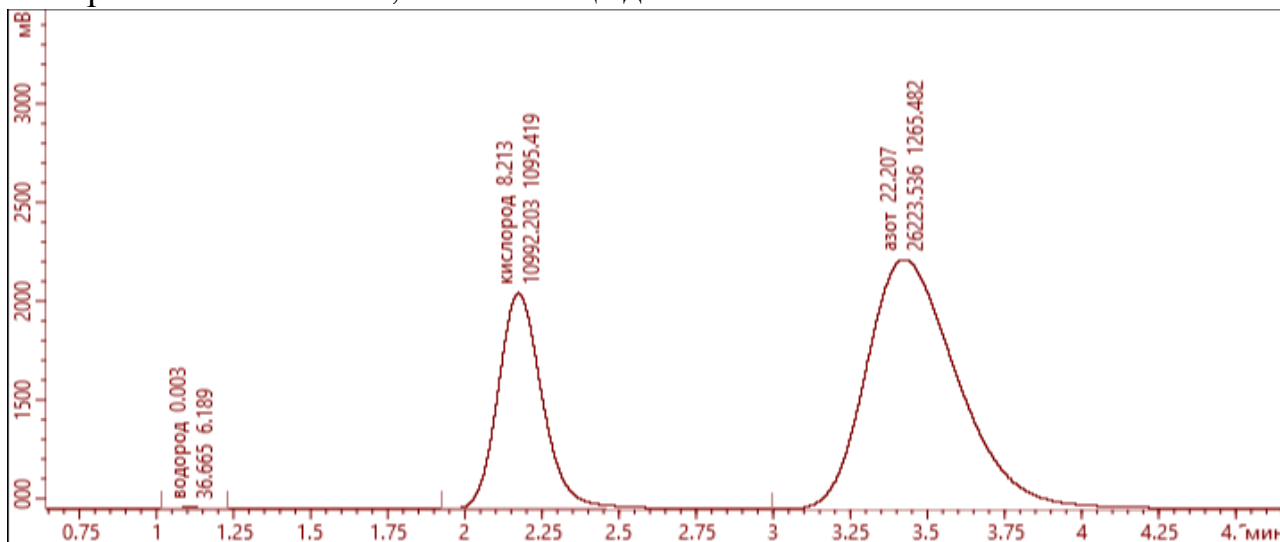
Қараңғы және жарық жағдайында, ауыспалы температуралық жағдайда, тұзды қосындылар негізінде зерттеп, сутек бөліну деңгейлеріне құралдар көмегімен (спектрофотометр, ГХ, excel) талдау жасадық және сол алынған мәндермен бөліссек.

Аргон газы толтырылып процеске дайын болған биомассалардың құрамын ГХ-да тексердік. Тексеріс арқылы белоктардың құрам бөлігін анықтадық (19 – сурет) және алынған талдау мәндерін кесте түрінде ұсындық (5 – кесте).

Кесте 5 – ГХ-да белоктардың құрам бөлігін анықтау арқылы алынған талдау мәндері:

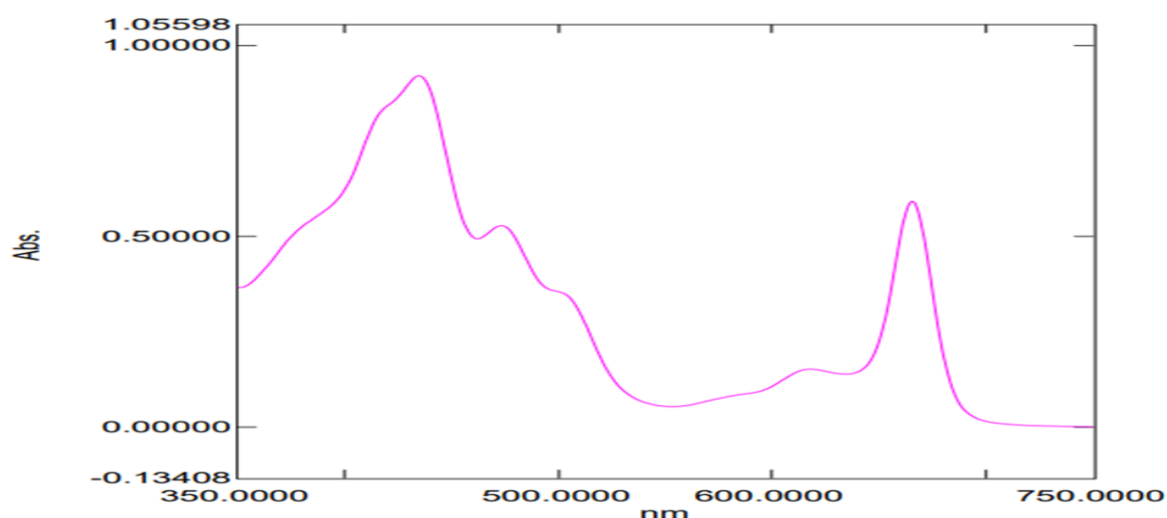
Құрамы	Уақыт (мин)	Көлем (мВ*с)	Биіктік (мВ)	Концентрация	Детектор
Сутек	1.117	36.665	6.189	0.0029119	ДТП-1
Оттек	2.175	10992.203	1095.419	8.2128	ДТП-1
Азот	3.425	26223.536	1265.482	22.207	ДТП-1

Интервал 0.000 мин-тан, 4.962 мин-қа дейін:



Сурет 19 – Цианобактерия штаммынан алынған биомассадан бөлінген өнімдер мөлшері.

Келесі кезекте спектофотометрде 663,6; 646,6 және 730 nm толқын ұзындықтарын 750-350 nm аралығында қарап, мәндерін алдық.



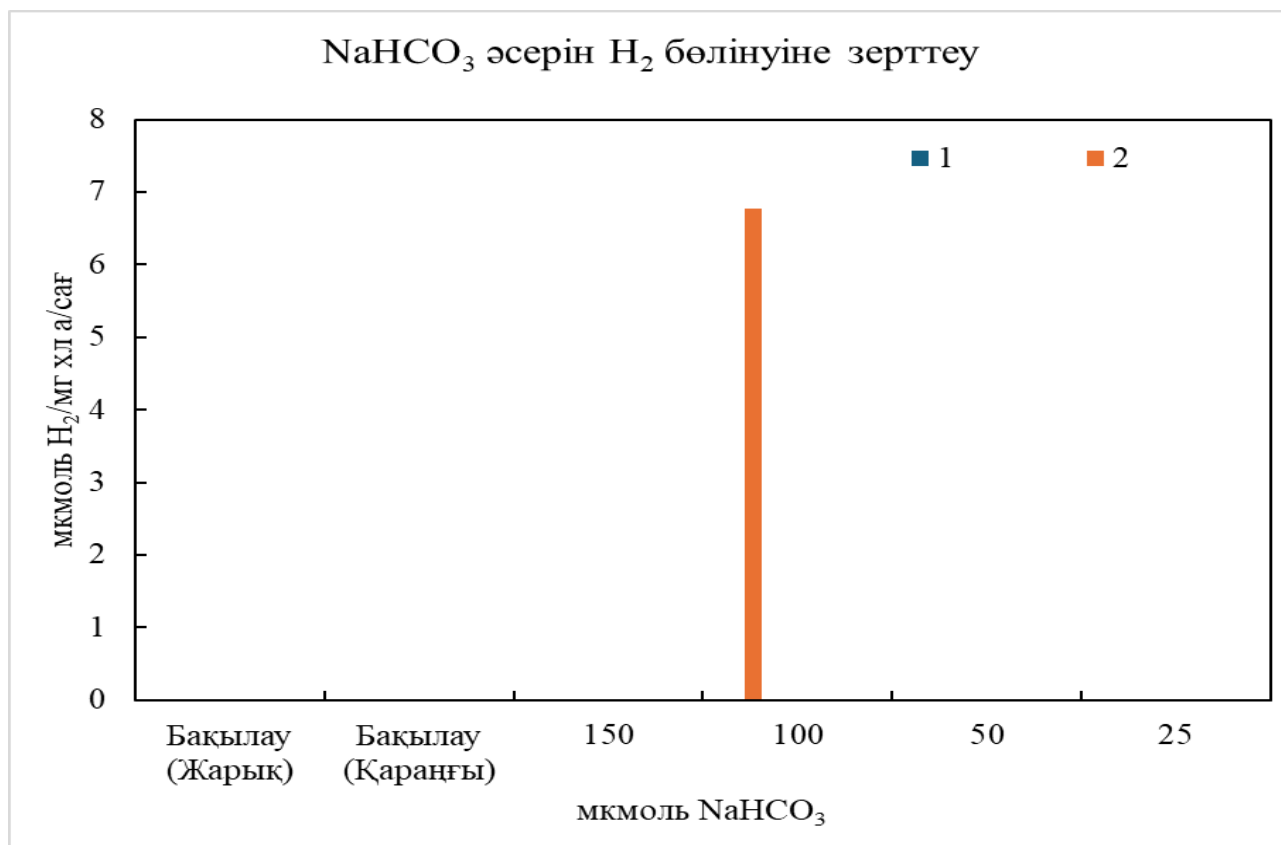
Сурет 20 – SHIMADZU, UV-2600i спектофотометрінде жасалған жұмыс және нәтижелер бойынша алынған сызбанұсқа.

ГХ арқылы және спектрофотометр арқылы алынған сызбанұсқалардың мәндерін excel қосымшасына жүктеу арқылы сутегі бөліну мөлшерін анықтадық.

Сіздерге *Synechocystis* sp. PCC 6803 ОХ мутантының сутек бөлуін зерттеуде алынған мәндерін 6; 7; 8 – кестелер бойынша ұсынамын және салыстырмалы түрле қарастырамын.

Кесте 6 – PCC 6803 ОХ мутантының сутек бөле алу мөлшері:

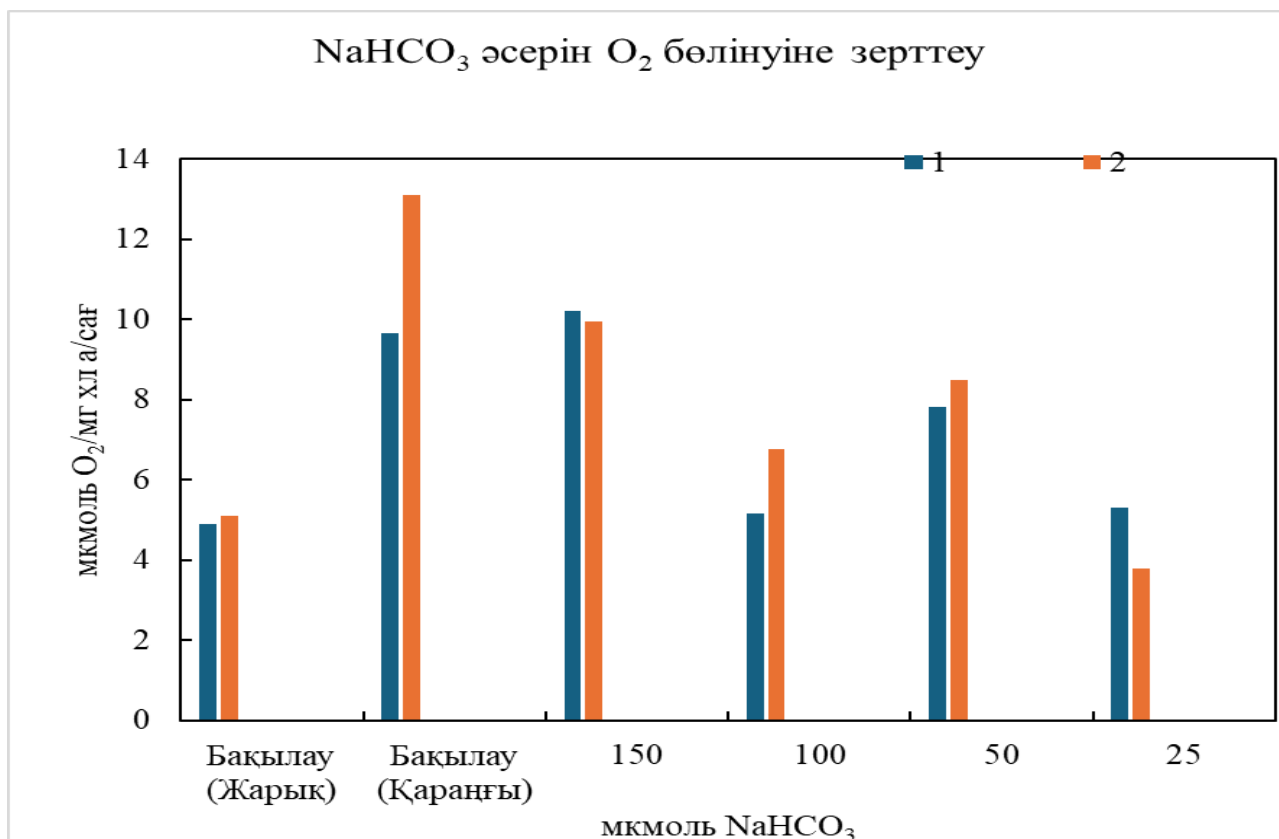
H ₂						
Уақыт	Бақылау (Жарық)	Бақылау (Қараңғы)	150	100	50	25
1	0,002535	0,001834	0,001041	0,004945	0,000959	0,002679
2	0	0,008152	0,001041	6,769059	0	0,001339



Сурет 21 – NaHCO₃ қосылыстың H₂ бөлінуіне әсерін зерттеу.

Кесте 7 – NaHCO_3 қосылыстың O_2 бөлінуіне әсерін зерттеу және H_2 бөліну мәнімен салыстыру:

O_2						
Уақыт	Бақылау (Жарық)	Бақылау (Қараңғы)	150	100	50	25
1	4,907217	9,654386	10,20947	5,157771	7,801423	5,310213
2	5,106826	13,0967	9,945152	6,769059	8,481601	3,785269

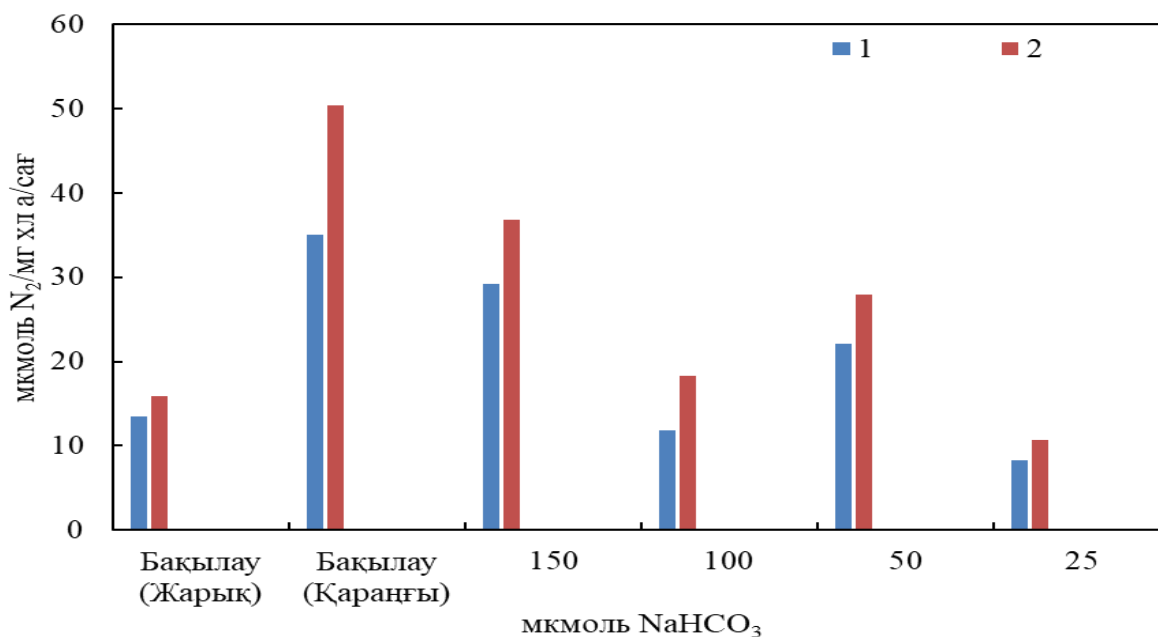


Сурет 22 – NaHCO_3 қосылыстың O_2 бөлінуіне әсерін зерттеу және H_2 бөліну мәнімен салыстыру. 1- H_2 ; 2-салыстырмалы жүйе.

Кесте 22 – NaHCO_3 қосылыстың N_2 бөлінуіне әсерін зерттеу және H_2 бөліну мәнімен салыстыру:

N_2						
Уақыт	Бақылау (Жарық)	Бақылау (Қараңғы)	150	100	50	25
1	13,50055	35,01014	29,26	11,76859	22,16383	8,220165
2	15,87558	50,35688	36,86377	18,30275	27,94583	10,73609

NaHCO₃ әсерін N₂ бөлінуіне зерттеу



Сурет 23 – NaHCO₃ қосылыстың N₂ бөлінуіне әсерін зерттеу және H₂ бөліну мәнімен салыстыру. 1-N₂; 2-салыстырмалы жүйе.

Зерттеу барысында BG-11 қоректік ортада өсірілген штамдардың өсу динамикасына аса назар аудардық, осы алдын ала зерттеулер нәтижелері жасушалардың 4-тен төмен рН деңгейінде өспейтінін көрсетті. Біз экспериментер жасауды тоқтатпай рН спектрлері бойынша жасушалық бейімделуді және өсуді одан әрі зерттедік, әсіресе қышқылдық және сілтілі жағдайларға өсу реакцияларын қарастыру арқылы тұжырымдар жасадық (Аб, В, С, D, E, F).

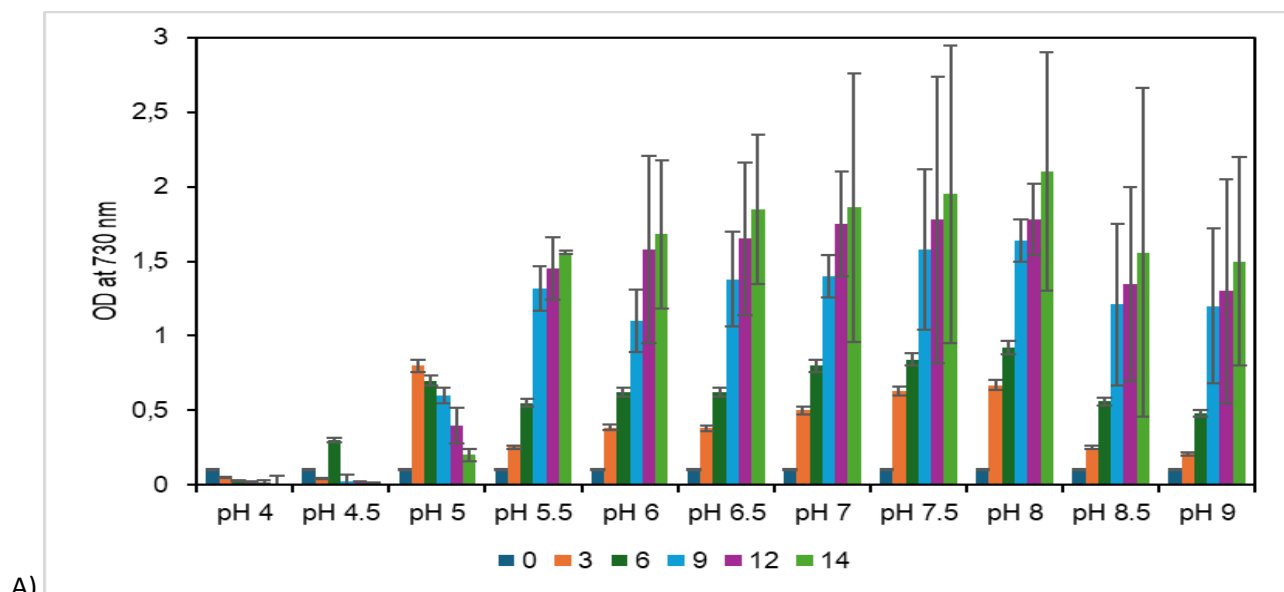
Әмбебап буферлеу жүйелері арқылы (20, А – сурет) әртүрлі рН деңгейлеріне реттелетін BG-11 ортасындағы PSU 1262 жасушаларының өсу үлгісі. Жасуша концентрациясы үшін әр үш күн сайын 730 нм – де өлшенген жасуша дақылдарының оптикалық тығыздығы өсуді бақылау үшін жазылып отырды және бұл жазылған нәтижелер PSU 1262 сілтілі ортаға бейімделу қабілетін көрсетеді, өсу қарқындылығынан бейтараптыққа жақындайтын және аздап сілтілікке дейін созылатын жағдайларда байқалады. Нәтиже бойынша, қышқыл орталар жасушалардың өсуіне кедергі келтіретіні анықталды. Бұл эксперимент арқылы жасушалардың бастапқы концентрациясы 0,1-дегі (730 нм) оптикалық тығыздықта стандартталған, бұл сыналған барлық рН деңгейлері бойынша бақыланатын салыстыруды жеңілдету. Осы тәжірибе арқылы PSU 1262 өсуіне қоректік ортаның рН қатты әсер ететіні анықталды. Әсіресе «рН 4» және «рН-4,5» өсу қарқыны төмендеп, жасуша өле бастайды. Ал, рН жоғарылаған сайын өсу қарқыны айтарлықтай жақсарып, «рН-7» мен «рН-8» аралығында сутек бөлуге көрсеткіші артады, бұл PSU 1262 сілтілік жағдайларды жақсы көретіндігін білдіреді. Ең жоғары өсу қарқыны жоғары рН

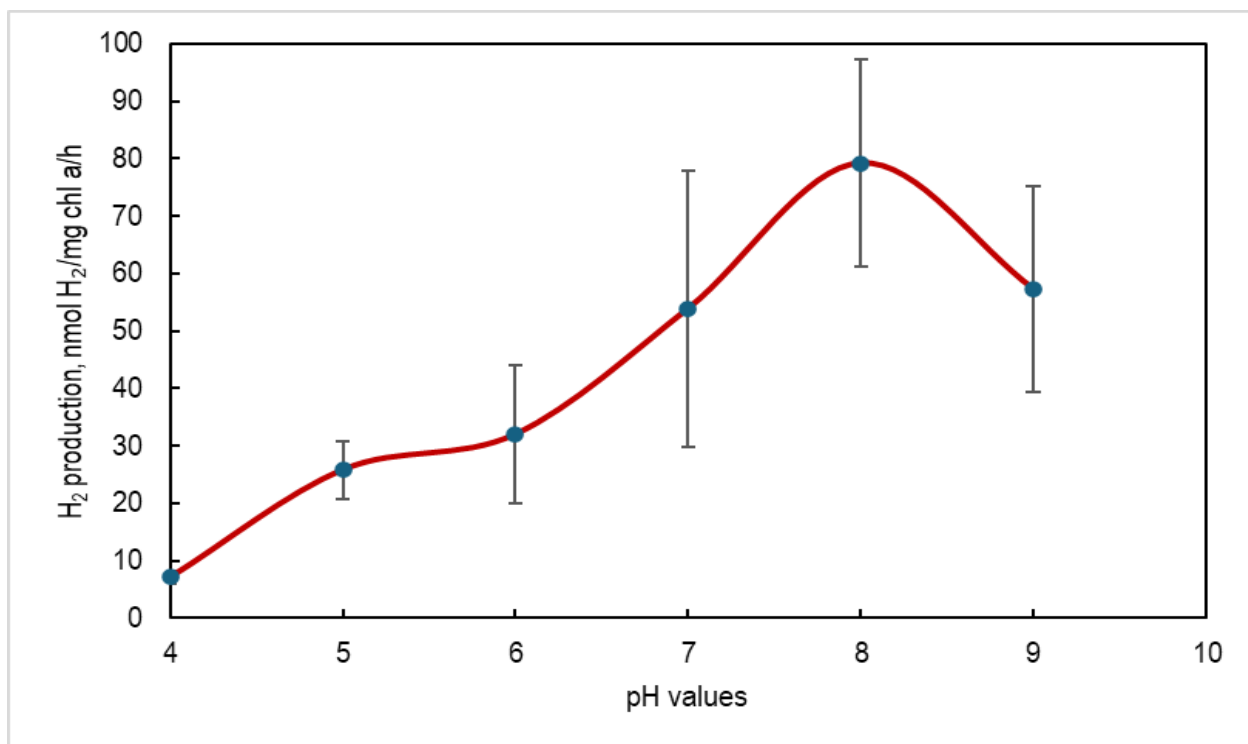
деңгейлері рН-8. Бұл қоршаған ортаның қышқылдығының аз екендігін және сілтілігі жоғары болған сайын жасушалардың пролиферациясының айтарлықтай жоғарлайтындылығын білдіретіндігін 9 – кесте бойынша байқаймыз.

Кесте 9 – рН деңгейлері:

	0	3	6	9	12
рН 4	0,1	0,05	0,032	0,025	0,02
рН 4.5	0,1	0,041	0,3	0,022	0,015
рН 5	0,1	0,8	0,7	0,6	0,4
рН 5.5	0,1	0,254	0,55	1,32	1,45
рН 6	0,1	0,386	0,62	1,1	1,58
рН 6.5	0,1	0,38	0,62	1,38	1,65
рН 7	0,1	0,5	0,8	1,4	1,75
рН 7.5	0,1	0,63	0,84	1,58	1,78
рН 8	0,1	0,67	0,92	1,64	1,78
рН 8.5	0,1	0,25	0,56	1,21	1,35
рН 9	0,1	0,21	0,48	1,2	1,3

Біздің PSU 1262 зерттеуіміз рН-ның сутегі өндірісіне әсерін зерттеуіміз биосутегі өндірісі үшін, қоршаған орта жағдайларын оңтайландыру үшін рН-ның әсері зор екенін түсіндірді (20, В – сурет), сутегін өндіру қарқыны рН шкаласымен қатар өсіп, рН-8 (79,2 нмоль $H_2/mg\ chl/cag$) шыңына жетеді. Бұл шың сутегі генерациясының оңтайлы жағдайын білдіреді, одан жоғары рН-9 төмендеуі өндіріс тиімділігінің рН-индукцияланған жоғарылауының шегін көрсетеді.





В)

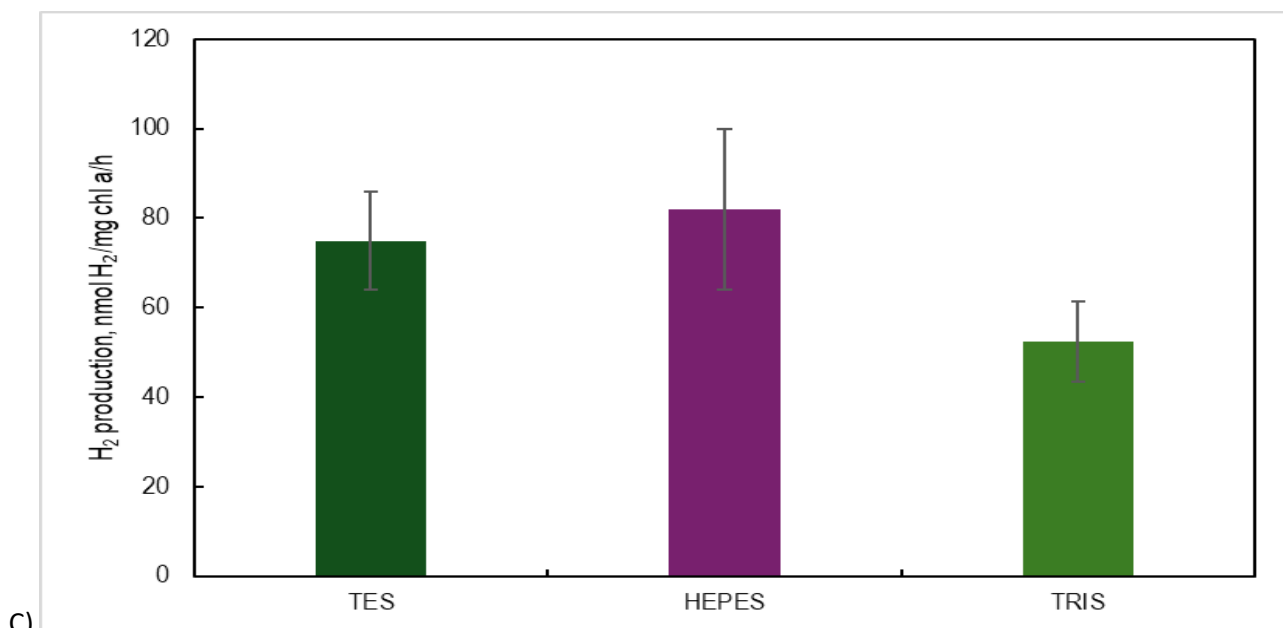
Сурет 20 – *Synechocystis sp.* PSU 1262 штамында биосутегінің жоғарылауы үшін қоршаған орта жағдайларын оңтайландыру және: А – әр түрлі рН-дағы өсу динамикасы; В – рН сутегі өндірісіне әсері.

Бұл сутегі өндірісіндегі рН-тәуелді тенденция PSU 1262-нің қоршаған орта жағдайларына физиологиялық және метаболикалық бейімділігін көрсетеді. Аздап сілтілі жағдайларда байқалатын оңтайлы өндіріс цианобактериялардағы ферменттердің динамикасын, әсіресе гидрогеназа сияқты сутегін өндіру жолына қатысатын ферменттердің үлесін көрсетеді. Жоғары рН деңгейлерінде өндірістің төмендеуі осы аталған ферменттердің өсу деңгейінің төмендеуіне немесе биосутегінің түзілу процесіне қолайсыз басқа метаболикалық қолайсыздықтарға байланысты болуы мүмкін.

Келесі кезекте буферлері оңтайландыру және оның өнімге тигізер әсері туралы айтсақ. Зерттеу жұмыстарымыз бойынша, 21 – С суретте рН-8 штамның сутегінің бөліну белсенділігін айтарлықтай арттырғанын байқатты. Яғни, рН-8-дегі HEPES буфері сутегі өндірісіне оң әсерін тигізеді. Ал, рН-4 және 9 мәндері сутегі өнімділігіне теріс әсер ететіні анықталды. Бұл TES, HEPES және TRIS буферлері үшін 50 мкмоль дәрежедегі концентрацияларын қолдана отырып, рН 8 сутегі шығымына әсерін қосымша зерттеулерге әкелді. Бұл зерттеуде оңтайлы рН-8 кезінде буферлік жүйелердің сутегі өндірісіне әсері мұқият талданды. Тексерілген буферлердің ішінде HEPES басқаларынан айтарлықтай асып түсті, 81,9 нмоль H₂/mg chl a/сағ өнім беріп, TES (74,9 нмоль H₂/mg chl a/сағ) және TRIS (52,4 нмоль H₂/мг) арқылы бақыланатын өндіру қарқынынан асып түсті. /сағ). Бұл дифференциалды әсер биосутегі өндіру процесінде буферлік құрамның шешуші рөлін атап көрсетеді. Сондай-ақ,

оңтайлы ферментативті белсенділік пен метаболикалық жағдайларға ықпал ететін рН деңгейлерінің тұрақтануы.

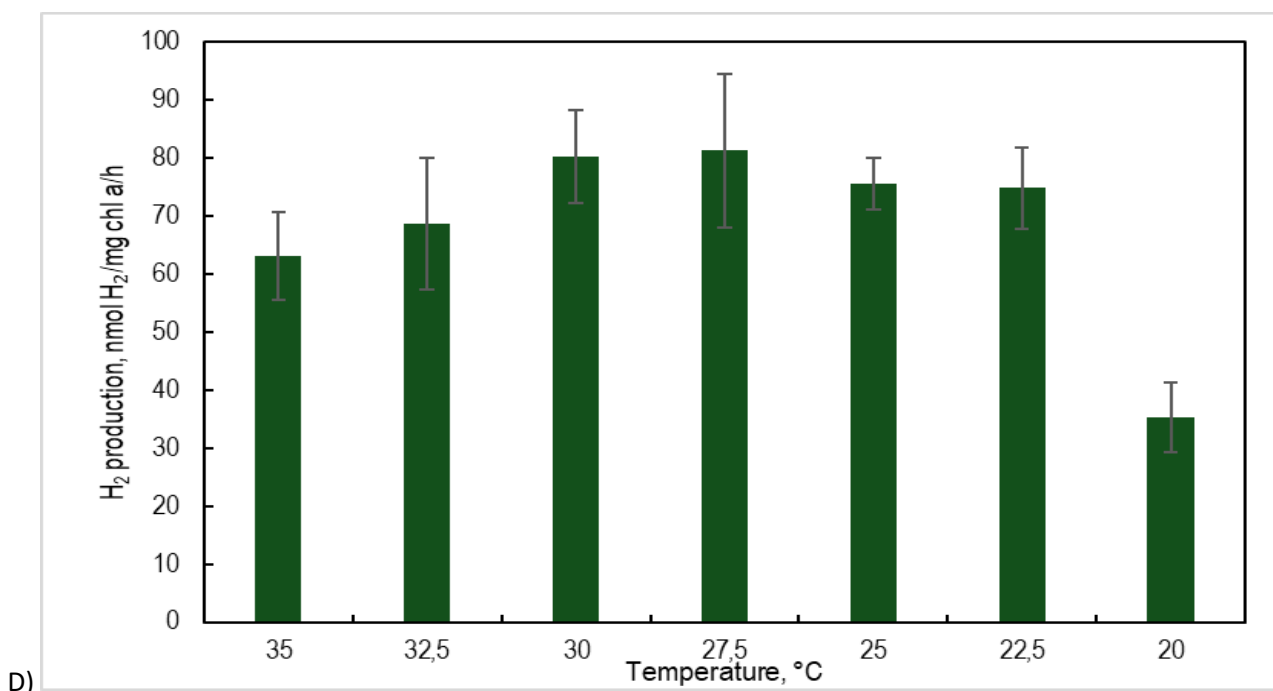
Қортындылай келе HEPES буферінің жоғары тиімділігі оның белгілі химиялық тұрақтылығына және жасушалық процестерге минималды кедергіге сәйкес келетінін көрсетеміз, осы арқылы жақсартылған сутегі өндірісін жүзеге асыратын жүйені қамтамасыз етеді және де көңіл аударарлығы TRIS көмегімен өнімділіктің байқалған төмендеуі және TES орташа өнімділігі барлық буферлердің сутегі генерациясына қатысатын биохимиялық жолдарды бірдей қолдамайтынын көрсетеді.



С) Сурет 21, С – *Synechocystis sp. PSU 1262* штамында биосутегінің жоғарылауы үшін қоршаған орта жағдайларын оңтайландыру және буферді оңтайландырудың әсері: оңтайлы рН мөлшерін арттыру.

Биосутек өндіру процестерін оңтайландырудың маңызды бөлігі ретінде қоршаған орта факторларын жақсартуды қарастырсақ болады [59]. Біздің кезекті зерттеуіміз өндірілесін сутегі энергиясын қолдануды оңтайландыру барысында белгілі цианобактерия штамы *PSU 1262*-ге жасалған тәжірбиелер арқылы температураның сутегі өндірісіне тікелей байланысты екенін білуге болады (22, D – сурет). *PSU 1262* штамын 20°C-тан 35°C-қа дейінгі температура диапазонында зертханалық термошекерде өсірдік. Бұл диапазон арқылы сутегі өндірісіне қатысты штамның термиялық төзімділігі мен артықшылықтарын мұқият зерттеу қолайлы болды. Өндірістің жылдамдығы нмоль H₂/mg chl a/сағ бойынша сандық түрде белгіленеді, бұл әртүрлі термиялық жағдайларда штамның биосутегінің шығуын тікелей өлшеуді оңтайландырады. Бұл нәтижелеріміз сутегі өндірісіндегі температураға тәуелді заңдылықтарды анықтайды. Штамның өсуі үшін 25°C температура оңтайлы болғанымен, сутегі өндірісі 27°C және 30°C аралығында да жүретінін көрсетті және ең жоғарғы

тиімділігі 27,5°C (81,3 нмоль H₂/mg chl a/сағ) кезінде байқалды. Бұл температура сутегі өндірісі үшін ең қолайлы температура ретінде анықталды.

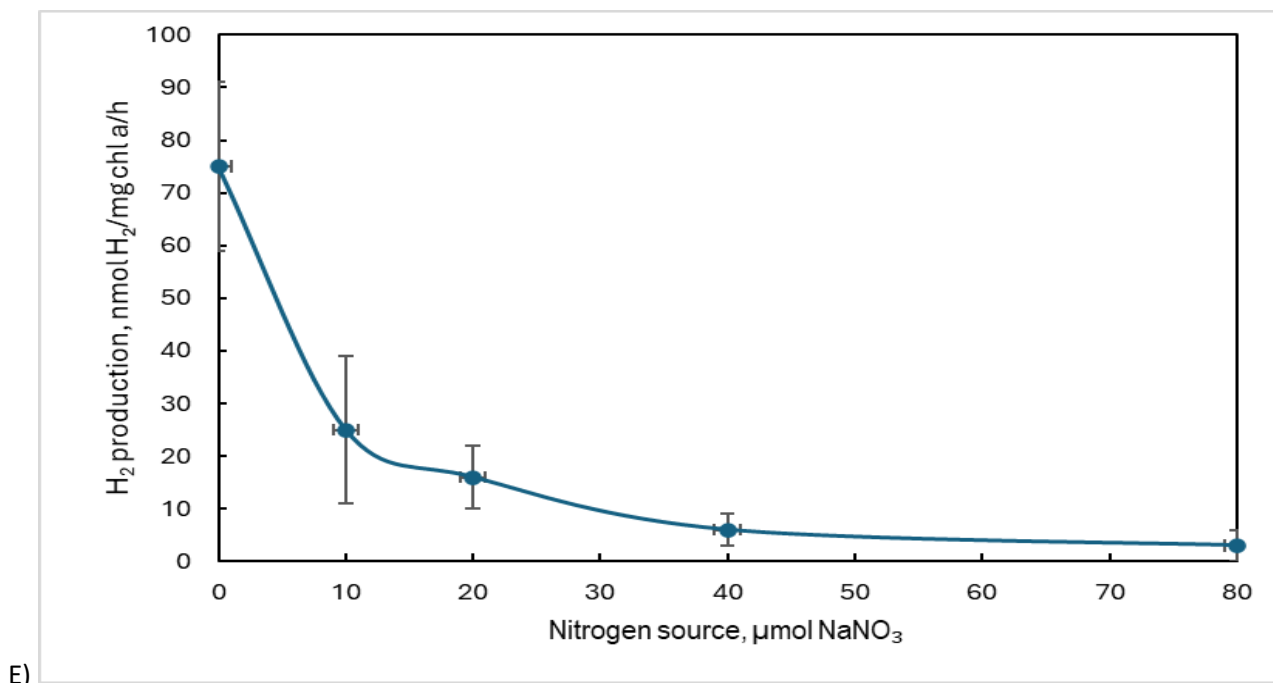


D) Сурет 22, D – *Synechocystis* sp. PSU 1262 штамында биосутегінің жоғарылауы үшін қоршаған орта жағдайларын оңтайландыру және H₂ шығысына температураның әсері;

Осы оңтайлы жүйелік сызықтың астындағы және үстіндегі температуралар PSU 1262 термиялық өзгерістерге сезімталдығын көрсететін сутегі шығысының төмендеуіне әкелді. Атап айтқанда, 20°C температурада сутегі өндірісі 35,3 нмоль H₂/mg chl a/сағ дейін айтарлықтай төмендеді, ал температураның 35°C жоғарылауы өндіріс жылдамдығын 63,2 нмоль H₂/mg chl/сағ дейін төмендетті. Бұл термиялық жауап қисығы сутегі өндірісінің тиімділігін арттыру үшін сәйкес температура жағдайларын сақтаудың маңызды екенін көрсетті.

Келесі кезекті бұл нәтижелер NaNO₃ сутегі өндірісіне айқын теріс әсерін анықтады. Бақылауда біз қондырғыға (0 мкмоль NaNO₃) сутегі өндіріс деңгейі 75 нмоль H₂/mg chl a/сағ деңгейінде өлшенгенді енгіздік. Алайда, NaNO₃ енгізілгеннен кейін сутегі өндірісінің айтарлықтай төмендеуі байқалды. Яғни, 10 мкмоль NaNO₃ концентрациясында сутегі өндірісі 25 нмоль H₂/mg chl/сағ дейін төмендеді. Бұл төмендеу тенденциясы NaNO₃ концентрациясының жоғарылауымен сақталып, 80 мкмоль NaNO₃ кезінде 3 нмоль H₂/mg chl/сағ минималды өндіру жылдамдығымен аяқталды (23, E – сурет). Жинақталған деректер PSU 1262 биосутек өндіру жолындағы натрий нитратының ингибиторлық рөлін айқын көрсетеді. Яғни, NaNO₃ аз мөлшерде болса да қосу, сутегі шығымын екі-үш есе азайтуға дейін әкеледі және оның концентрацияның артуы сутегі өнімділігінің төмендеуін одан әріге күшейтті. Бұл нәтижелер

нитрат иондарының болуы сутегі өндірісіне ықпал ететін метаболикалық процестерге кедергі келтіруі және электрон ағынының гидрогеназа ферменттерінен алыстатуы немесе H_2 генерациясына жауап беретін фотосинтетикалық механизмді басқа жолмен бұзуы мүмкін екенін көрсетеді [60].

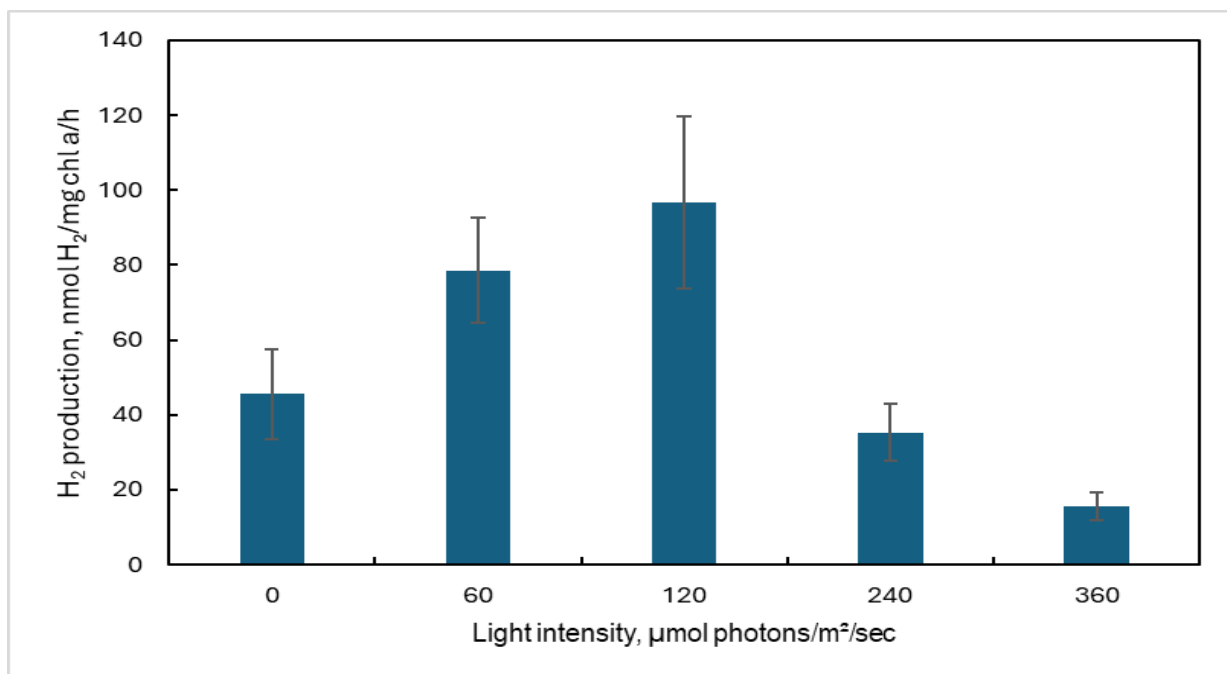


Е) Сурет 23, Е – *Synechocystis sp. PSU 1262* штамында биосутегінің жоғарылауы үшін қоршаған орта жағдайларын оңтайландыру және натрий нитратының әсері.

Жарық қарқындылығы мен жарықтың әсер ету ұзақтығының H_2 өндірісіне жасалған тәжірибеміз арқылы жарық интенсивтілігі мен сутегі өндірісінің тиімділігі арасындағы нақты байланысты анықтадық. Алғашқыда, толық қараңғылық бойынша сутегі өндірісі $45,6 \text{ нмоль } H_2/\text{mg chl a/сағ}$ деңгейінде болды. Жарықтандыруды енгізген сәтте $96,6 \text{ нмоль } H_2/\text{mg chl a/сағ}$ шығысымен $120 \text{ мкмоль фотон}/\text{м}^2/\text{сек}$ мөлшеріне дейін өндіру қарқынын айтарлықтай арттырды. Бұл оңтайлы жарық қарқындылығы фотосинтетикалық белсенділікті жеткілікті энергиямен қамтамасыз ету мен фототежегіштік әсерлерін болдырмау арасындағы тепе-теңдікті көрсетті. Бірақ, жоғары белсенділікте (240 және $360 \text{ мкмоль фотон}/\text{м}^2/\text{сек}$) шамадан тыс жарық әсері сутегінің өндімігіне теріс әсерін тигізетіндіктен, сутегі өндірісінің төмендеуі байқалды (24, F – сурет).

Алынған нәтижелер бойынша PSU 1262 жүйесінде биосутегі өндірісін моделдеуде жарық қарқындылығының шешуші рөл атқаратындығын көрсетті. Орташа жарық қарқындылығы гидрогеназа ферменттеріне қарай фотосинтетикалық электрон ағынын күшейту арқылы сутегі өндірісін ынталандырғанымен, шамадан тыс жарық фотоингибирлеу мен жасуша лизисін

қоса, стресстік реакцияларды тудыруы мүмкін екендігі анықталды. Осылайша, сутегінің шығымдық көрсеткішін азайтады. Сутегі өндірісі бойынша 120 мкмоль фотон/м²/сек деңгейінде байқалған ерекшеліктер жасуша өміршеңдігіне жағымсыз әсерлерді азайта отырып, биосутегі өндірісін барынша арттыруға әсерін тигізеді [61].



F)

Сурет 24, F – *Synechocystis sp.* PSU 1262 штамында биосутегінің жоғарылауы үшін қоршаған орта жағдайларын оңтайландыру және жарық қарқындылығының қатынасы.

ҚОРЫТЫНДЫ

«Цианобактерия штамдарының сутегі бөлуін оңтайландыру» тақырыбы бойынша дипломдық жобамызды сәтті түрде қортындылай өтсек. Бұл тақырыпты алғандағы біздің мақсатымыз және тақырыптың өзектілігі қоршаған ортамызды табиғи, зиянды әсері аз энергия көзімен қамтамасыз ету болатын. Осы мақсатта көптеген зерттеу жұмыстары жүргізілді және зерттеу жұмыстарының барысында пайдаланылған цианобактериялардың штамдары – *Synechocystis sp.*, *Synechococcus sp.* және *Anabaena sp.*, *Anabaena variabilis*, *Nostoc caldicola*, *Nostoc sp.*, *Synechocystis sp.* PCC 6803. Жоғары мөлшерде сутегін бөлушілері ретінде – *Anabaena sp.*, *Nostoc sp.*, *Cylindrospermum sp.* дақылдары көптеп зерттелініп, сутегін бөле алатындығы анықталды.

1. Цианобактериялардың биомассасын сутегін алу үшін дайындау әдістері мен бөлінген сутегін молекулалық деңгейде өлшеу әдістерін қарастыра отырып, цианобактериялардың әртүрлі штамдарынан, әртүрлі жағдайда сутегін өндіре алу көрсеткіштерін салыстырмалы түрде қарастырып, қосымшаларға енгіздік.

2. Бөлініп алынған әртүрлі цианобактерия штамдарының H_2 бөлу қарқындылығын қараңғы және жарық жағдайда зерттеу барысында, қараңғы ортада *Synechocystis sp.* PCC 6803 штамы 6 есеге, ал *Desertifilum sp.* IPPAS B-1220 штамының H_2 шығаруы қараңғыға қарағанда жарықта 20 есеге белсенді болатыны анықталды. Сонымен қатар, 10 мкмоль диурон қосылу арқылы *Desertifilum sp.* IPPAS B-1220 штамының сутегін бөлу деңгейін 1,5 есеге ұлғайтуға болатындығын анықтадық.

3. Гетероцисталы цианобактериялар штамдарының сутек бөлу қарқындылығын жарық және қараңғы жағдайда зерттедік. Зерттеу нәтижесі бойынша, жарықта *Anabaena variabilis* R-I-5 штамы белсенділік танытып, сутегі жинақталуының ең жоғары жылдамдығы 0,012 мкмоль H_2 /мг хл а/сағ көрсеткішін көрсетсе. Ал, *Nostoc caldicola* RI-3 цианобактерия штамының сутегін қараңғы ортада максималды бөле алуы 0,032 мкмоль H_2 /мг хл а/сағ құрады, бұл штам бойынша сутек өндіру қарқындылығы *Anabaena variabilis* RI-5 штаммымен салыстырғанда 2,5 есеге жоғары болатыны анықталды.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР

1. Woese C., Kandler O., Wheelis M.L. Towards a Natural System of Organisms: Proposals for the Domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. // Proc Natl Acad Sci USA. 2000. -Т. 87. – P. 4576–4579.
2. Euseby JP. "Cyanobacteria". List of Persistent Prokaryote Names in Nomenclature (LPSN). Retrieved January 22, 2022.
3. Oren A (September 2004). "Proposal on further integration of cyanobacteria under the bacteriological code". International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 54 (Pt 5): 1895–1902. doi: 10.1099/ijs.0.03008-0. PMID 15388760
4. Lindblad P. Cyanobacterial H₂ metabolism; Knowledge and potential/strategies for photobiotechnological production of H₂. Biotechnology Appl. 1999;
5. Schopf JW. The fossil record: searching for the roots of the cyanobacterial lineage. In: Whitton BA, Potts M, editors. Ecology of cyanobacteria. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 2000.
6. Yue M. Lambert H. Pahon E. Roche R. Jemei S. Hissel D. Hydrogen energy systems: a critical review of technologies, applications, trends and challenges. 2021 sustainable renewable energy sources; 146:111180. doi: 10.1016/j.rser.2021.111180.
7. Megía PJ Vizcaíno AJ JA Carrero A. Hydrogen production technologies: from fossil fuels to renewable sources. Energy fuels. 2021; 35 (20):16403–16415. doi: 10.1021/acs.energyfuels.1c02501.
8. Crockford PW, Bar On YM, Ward LM, Milo R, Halevy I (November 2023). "The Geological History of Early Productivity". Current Biology. doi:10.1016/j.cub.2023.09.040.
9. Shafie ME Kambara S. Hayakawa Y. A review of hydrogen production technologies. J. Power Energy Eng. 2019; 7 :107–154. doi: 10.4236/jpee.2019.71007.
10. B.A. Whitton, M. Potts (Eds.), The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space, Springer, Dordrecht, the Netherlands (2002), pp. 1-11
11. T.L. Hamilton, D.A. Bryant, J.L. Macalady. The role of biology in planetary evolution: cyanobacterial primary production in low-oxygen proterozoic oceans. Environ. Microbiol, 18 (2016), pp. 325-340
12. P.Flombaum, J. L. Gallegos, R. A. Gordillo, J. Rincón, L.L. Zabala, N. Jiao, D.M. Karl, W.K. Li, M.W. Lomas, D. Veneziano, C.S. Vera, J.A. Vrugt, A.C. Martiny. Present and future global distributions of the marine cyanobacteria Prochlorococcus and Synechococcus. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A, 110 (2013), pp. 9824-9829
13. G.S. Bullerjahn, A.F. Post. Physiology and molecular biology of aquatic cyanobacteria. Front. Microbiol, 5 (2014), p. 359
14. Shafie ME Kambara S. Hayakawa Y. A review of hydrogen production technologies. J. Power Energy Eng. 2019; 7 :107–154. doi: 10.4236/jpee.2019.71007.

15. Lopez Pinto FA, Troshina O, Lindblad P. A brief review of three decades of research on cyanobacterial hydrogen evolution. *International Journal of Hydrogen Energy*. 2002; 27 :1209–1215. doi: 10.1016/S0360-3199(02)00089-7.
16. Bullerjahn GS, Post AF (2014). "Physiology and molecular biology of aquatic cyanobacteria". *Frontiers in Microbiology*.5:359. PMC 4099938. PMID 25076944
17. Raven RA (5 July 2012). "Physiological Ecology: Carbon." Whitton BA (ed.). *II Ecology of cyanobacteria: their diversity in space and time*. Springer. b. 442
18. El-Enany A.E., Issa A.A. Cyanobacteria as a biosorbent of heavy metals in sewage water // *Envir Toxicol Pharmacol*. - 2000. - Vol. 8. - P. 95-101.
19. J. Appel, V. Hueren, M. Boehm, K. Gutekunst. Cyanobacterial in vivo solar hydrogen production using a photosystem I–hydrogenase (PsaD-HoxYH) fusion complex. *Nat. Energy*, 5(6), pp. 458–467 (2020)
20. Das D., Veziroglu TN. Hydrogen production by biological processes a survey of literature // *Int J Hydrogen Energy*. - 2001. - Vol. 26. - P. 13-28.
21. Voloshin R.A., Rodionova M.V., Zharmukhamedov S.K., Veziroglu T.N., Allakhverdiev S.I. Review. Biofuel production from plant and algal biomass // *Int J Hydrogen Energy*. - 2016. - Vol. 41. - P. 17257-17273.
22. Khetkorn W., Rastogi R., Incharoensakdi A., Lindblad P., Madamwar D., Pandey A., Larroche C. Microalgal hydrogen production // *Int. A review. Bioresource Technology*. - 2017. - Vol. 243. - P. 1-544.
23. Sadvakasova A.K., Kossalbayev B.D., Zayadan B.K., Bolatkhan K. Bioprocesses of hydrogen production by cyanobacteria cells and possible ways to increase their productivity // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. - 2020. - V. 133. - P. 110054.
24. Quintana N., Van der Kooy F., Van de Rhee M.D., Voshol G.P., Verpoorte R. Renewable energy from cyanobacteria: Energy production optimization by metabolic pathway engineering. *Appl. Microbiol. Biot.* 2011; 91:471– 490. doi: 10.1007/s00253-011-3394-0
25. Sadvakasova A.K., Kossalbayev B.D., Zayadan B.K., Bolatkhan K. Bioprocesses of hydrogen production by cyanobacteria cells and possible ways to increase their productivity // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. - 2020. - V. 133. - P. 110054.
26. Eroglu E., Melis A. Microalgal hydrogen production research // *Int. J. Hydrogen Energy*. - 2016. - Vol. 41. - P. 12772-12798.
27. Benemann J.R., Weare N.M. Nitrogen fixation by *Anabaena cylindrica*. III. Hydrogen-supported nitrogenase activity // *Arch. Mikrobiol.* - 1974. - Vol. 101. - P. 401-408.
28. Weare N.M., Benemann J. R. Nitrogen fixation by *Anabaena cylindrica*. II. Nitrogenase activity during induction and aging of batch cultures // *Arch. Mikrobiol.* - 1973. - Vol. 93. - P. 101-112.

29. Hansel A., Lindblad P. Towards optimization of cyanobacteria as biotechnologically relevant producers of molecular hydrogen // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* - 1998. - Vol 50. - P.- 153-160.
30. Akkerman I., Janssen M., Rocha J., Wijffels R.H. Photobiological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design // *Int. J. Hydrogen Energy.* - 2002. - Vol. 27. - P. 1195-1208
31. Carrieri D., Wawrousek K., Eckert C., Yu, I., maness, P.-J. The role of bidirectional hydrogenases in cyanobacteria // *Bioresour. Technol.* - 2011. - Vol.102. - P. 8368-8377.
32. Khetkorn W., Baebprasert W., Lindblad P., Incharoensakdi A. Redirecting the electron flow towards the nitrogenase and bidirectional Hox-hydrogenase by using specific inhibitors results in enhanced H₂ production in the cyanobacterium *Anabaena siamensis* TISTR 8012 // *Bioresource technology.* - 2012. - Vol. 118. - P. 265-271.
33. Carrieri D., Wawrousek K., Eckert C., Yu, I., maness, P.-J. The role of bidirectional hydrogenases in cyanobacteria // *Bioresour. Technol.* - 2011. - Vol.102. - P. 8368-8377.
34. Kim D.H., Kim, M.-S. Hydrogenases for biohydrogen production // *Bioresour. Technol.* - 2011. - P. 102.
35. Baebprasert W., Jantaro S., Khetkorn W., Lindblad P., Incharoensakdi A. Increased H₂ production in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 by redirecting the electron supply via genetic engineering of the nitrate assimilation pathway // *Metabol. Engineer.* - 2011. - Vol. 13. - P. 610-616.
36. Khetkorn W., Lindblad P., Incharoensakdi A. Enhanced biohydrogen production by the N₂-fixing cyanobacterium *Anabaena siamensis* strain TISTR 8012 // *Int. J. Hydrogen Energy.* - 2010. - Vol. 35. - P. 12767-12776. 106
37. Nyberg M., Heidorn T., Lindblad P. Hydrogen production by the engineered cyanobacterial strain *Nostoc* PCC 7120 Δ hupW examined in a flat panel photobioreactor system // *J. Biotechnol.* - 2015. - Vol. 215. - P. 35-43.
38. Datta M., Nikki G., Shah V. Cyanobacterial hydrogen production // *World J. Microbiol. Biotechnol.* - 2000. - Vol. - 16. - P. 8-9.
39. Stal L.J., Krumbein W.E. Oxygen protection of nitrogenase in the aerobically nitrogen fixing, non-heterocystous cyanobacterium *Oscillatoria* sp. // *Archives of Microbiology.* - 1985. - Vol. - 143. - P. 72-76.
40. Aoyama K., Uemura I., Miyake J., Asada Y. Fermentative metabolism to produce hydrogen gas and organic compounds in a cyanobacterium, *Spirulina platensis* // *J Ferment Bioeng.* - 1997. - Vol. 83. - P. 17-20.
41. Shah V., Gard N., Madamwar D. An integrated process of textile dye removal and hydrogen evolution using cyanobacterium, *Phormidium valderianum* // *World Journal of Microbiology & Biotechnology.* - 2001. - Vol. 17. - P. 499-500.
42. Shah V., Gard N., Madamwar D. Ultrastructure of the fresh water cyanobacterium *Anabaena variabilis* SPU 003 and its application for oxygen-free hydrogen production // *FEMS Microbiol. Lett.* - 2001. - Vol. 194. - P. 71-5.

43. Cheng J., Xia A., Song W., Su H., Zhou J., Cen K. Comparison between heterofermentation and autofermentation in hydrogen production from *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* wet biomass // *International Journal of Hydrogen Energy*. - 2012. - Vol. 37. - P. 6536-6544.
44. Antal TK., Lindblad P. Production of H₂ by sulphur-deprived cells of the unicellular cyanobacteria *Gloeocapsa alpicola* and *Synechocystis* sp. PCC 6803 during dark incubation with methane or at various extracellular pH // *Journal of Applied Microbiology*. - 2005. - Vol. - 98. - P. 114-120.
45. Thomas J., Timourian H., Ward R.L. Hydrogen production by *Anabaena cylindrica*: Effects of varying ammonium and ferric ions, pH, and light // *Applied and environmental microbiology*. - 1978. - Vol. 35. - P. 704-710.
46. Nicholas J., Skizim G.M., Ananyev A.K., Charles G.D. Metabolic Pathways for Photobiological Hydrogen Production by Nitrogenase- and Hydrogenasecontaining Unicellular Cyanobacteria *Cyanothece* // *The Journal of Biological Chemistr.* - 2011. - Vol. 287. - P. 2777-2786.
47. Kufryk G. Advances in Utilizing Cyanobacteria for Hydrogen Production // *Advances in Microbiology*. - 2013. - Vol. 3. - P. 60-68.
48. Ding-Ji S., David O. Hall. The *Azolla*-*Anabaena* Association: Historical Perspective // *Symbiosis and Energy Metabolism Botanical Review*. - 1988. - Vol. 54. - P. 353-386
49. Bothe H., Schmitz O., Yates M.G., Newton W.E. Nitrogen fixation and hydrogen metabolism in cyanobacteria // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* - 2010. - Vol. 74. - P. 529-551.
50. Tsygankov A., Serebryakova L.T., Rao K.K., Hall D.O. Acetylene reduction and hydrogen photoproduction by wild-type and mutant strains of *Anabaena* at different CO₂ and O₂ concentrations // *FEMS Microbiology Letters*. - 2006. - Vol. 167. - P. 13-17.
51. Tsygankov A.A., Serebryakova L.T., Rao K.K., Hall D.O. Acetylene reduction and hydrogen photoproduction by wild-type and mutant strains of *Anabaena* at different CO₂ and O₂ concentrations // *FEMS Microbiology Letters*. - 1998. - Vol. 167. - P. 13-17.
52. Dutta D., Debojyoti D., Chaudhuri S., Bhattacharya S. Hydrogen production by Cyanobacteria // *Microbial cell factories*. - 2005. - Vol. 4. - P. 36.
53. Sveshnikov D.A., Sveshnikova N.V., Rao K.K., Hall D.O. Hydrogen metabolism of mutant forms of *Anabaena variabilis* in continuous cultures and nutritional syress // *FE BS Microbiol.* - 1997. - Vol. 147. - P. 297-301.
54. Zolotareva Y.K., Shnyukova Y.I., Podorvanov V.V. Mikrovodorosli kak produtsenty vodoroda // *Al'gologiya*. - 2010. - Vol. 20. - P. 224-249.
55. Batyrova K., Hallenbeck P., Hydrogen Production by a *Chlamydomonas reinhardtii* Strain with Inducible Expression of Photosystem II // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017. – Vol. 18.
56. Kuzyakhmetov G.G., Dubovik I.E. Methods of studying soil algae: textbook. Ufa: Izd -e Bashkirsk. university, 2001. - 60 p.

57. Bauenova M.O. Bioremediation of polluted water ecosystems based on the association of microalgae and aquatic plants: 2019. 113Capone D.G., Burns J.A., Montoya J.P., Subramaniam A., Mahaffey A.C., Gunderson T., Michaels A.F., Carpenter, E.J. Nitrogen fixation by *Trichodesmium* spp.: an important source of new nitrogen to the tropical and subtropical North Atlantic Ocean // *Global Biogeochem Cycles*. - 2005. - Vol. 19. -P. GB2024.

58. Jaki B., Heilmann J., Sticher O. New antibacterial metabolites from the cyanobacterium *Nostoc commune* (EAWAG 122b) // *J Nat Prod*. - 2000. - Vol. 63. - P. 1283-1285.ə

59. L. Novoveská, S.L. Nielsen, O.T. Eroldoğan, B.Z. Haznedaroglu, B. Rinkevich, S. Fazi, et al. Overview and Challenges of Large-Scale Cultivation of Photosynthetic Microalgae and Cyanobacteria. *Mar. Drugs*, 21, 445 (2023) <https://doi.org/10.3390/md21080445>.

60. A.K. Mishra, M.S. Kaushik, D.N. Tiwari. Nitrogenase and Hydrogenase: Enzymes for Nitrogen Fixation and Hydrogen Production in Cyanobacteria. In: A.K. Mishra, D.N. Tiwari, A.N. Rai, editors. *Cyanobacteria*, Academic Press; 2019, pp. 173–191 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00008-8>.

61. D. Dutta, D. De, S. Chaudhuri, S.K. Bhattacharya. Hydrogen production by Cyanobacteria. *Microb. Cell Fact.*, 4, 36 (2005)

6B05101 – «Химиялық және Биохимиялық инженерия»
мамандығының студенті
Келден Динардың
дипломдық жобасына (жұмысына)

СЫН ПІКІР

Тақырыбы: **Цианобактерия штамдарының сүтегі бөлуін оңтайландыру**

ЖҰМЫСҚА ЕСКЕРТУ ЖАСАУ

Келден Динардың «Цианобактерия штамдарының сүтегі бөлуін оңтайландыру» тақырыбына жасаған дипломдық жобалары қажетті деңгейде орындалды. Тақырыпты талдау барысында цианобактериялардың әрбір штамдарына тоқтала отырып, оларды зерттеу мен перспективті түрде өсірудің әртүрлі зертханалық жағдайдағы мүмкіндіктерін жақсы ашып сипаттап, әрбір түрлерді бір-бірімен салыстырып көрсете білді және алынған штамдардан бөлінген сүтегінің деңгейлік перспективасын қортындылай алды.

Дипломдық жобаның мынандай кемшілігі бар: Грамматикалық кейбір қателіктер мен суреттер, кестелер бойынша толықтыру қажет. Әдебиетке шолу бойынша жаңа әдебиеттерді пайдалану ұсынылды.

ЖҰМЫС БАҒАСЫ

Жалпы алғанда, жоғарыдағы кемшілік дипломдық жобаның сапасын түсірмейді, ал Келден Динардың бұл тақырып бойынша жасаған еңбегін өте жақсы (95 %) деңгейде бағалауға болады.

Сын пікір беруші
PhD ғыл. оқытушы
Байенова М. Ө.
« 16 » 2024 ж.



**ҒЫЛЫМИ ЖЕТЕКШІНІҢ
ПІКІРІ**

Дипломдық жоба

Келден Динар 6B05101 – «Химиялық және Биохимиялық инженерия»
оқу бағдарламасы бойынша

Тақырыбы: Цианобактерия штамдарының сутегі бөлуін оңтайландыру

Қазіргі таңда адамзат баласы энергияға қатты тәуелді. Себебі, болашақта мұнай мен газ қоры таусылып, атмосфералық қысым деңгейі көтеріледі, осыған орай бензин мен газдың таусылуы, баламалы энергия деңгейінің төмендеуі бұл энергетикалық ресурстардың бағасының өсуіне алып келеді және осыған орай қазіргі таңда цианобактериялардың көптеген түрлерін микроорганизмдер негізінде биотехнологиялық жолдармен перспективті штамдарды қолдану арқылы биоэнергетика саласын дамыту жолдарын қарастырып жатыр. Осы тұста биосутегін өндіру жұмыстары перспективті бағыттардың бірі болып табылады. Бұл аталып отырған мәселедегі шешуші энергия көзі ретінде қарастырылып отырған цианобактериялардан көп мөлшерде сутегі энергиясын алу жұмыстары елімізде әлі де ауқымды жұмыс пен жабдықтық толықтыруларды қажет етеді.

Келден Динардың бітіру жұмысының негізгі мақсаты – баламалы энергия көзі бұл биосутекті өндіруші цианобактериялардың бірнеше штамдарын бөліп алды, сол штамдардың арасында перспективті және биосутегін көп мөлшерде бөлетін цианобактерия штамдарын анықтады, биосутегінің алыну жолдарын қарастырды.

Келден Динар дипломдық жұмысын орындау барысында перспективті штамдарды бөліп алып, өсірді.

Бітіру жұмыс талаптарға сай орындалып, алдына қойылған мақсаттарды толық шеше білген және қажетті көрнекті материалдармен толықтырылған. Сондықтан, Келден Динардың «Цианобактерия штамдарының сутегі бөлуін оңтайландыру» тақырыбы бойынша орындалған дипломдық жұмысын қорғауға лайықты деп санаймын.

Ғылыми жетекші

PhD, қауымдастырылған профессор

(қызметі, ғыл. дәрежесі, атағы)

Тастамбек Қ.Т.

(КОЛЫ)

« 08 » 06 2023 ж.



Метаданные

Название

Цианобактерия штамдарының сутегі бөлуін оңтайландыру

Автор

Келден Динар

Научный руководитель / Эксперт






Куаныш Тастамбек

Подразделение

ИГИНГД

Тревога

В этом разделе вы найдете информацию, касающуюся текстовых искажений. Эти искажения в тексте могут говорить о ВОЗМОЖНЫХ манипуляциях в тексте. Искажения в тексте могут носить преднамеренный характер, но чаще, характер технических ошибок при конвертации документа и его сохранении, поэтому мы рекомендуем вам подходить к анализу этого модуля со всей долей ответственности. В случае возникновения вопросов, просим обращаться в нашу службу поддержки.

Замена букв		2
Интервалы		0
Микропробелы		0
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)		30

Объем найденных подоби

КП-ия определяют, какой процент текста по отношению к общему объему текста был найден в различных источниках.. Обратите внимание! Высокие значения коэффициентов не означают плагиат. Отчет должен быть проанализирован экспертом.


25

Длина фразы для коэффициента подобия 2


17324

Количество слов


89866

Количество символов

Подобия по списку источников

Ниже представлен список источников. В этом списке представлены источники из различных баз данных. Цвет текста означает в каком источнике он был найден. Эти источники и значения Коэффициента Подобия не отражают прямого плагиата. Необходимо открыть каждый источник и проанализировать содержание и правильность оформления источника.

10 самых длинных фраз

Цвет текста

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ И АДРЕС ИСТОЧНИКА URL, НАЗВАНИЕ БАЗЫ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	Цвет текста
1	Ішек иммундық жүйесін реттеудегі микроРНҚ-дың рөлін in silico жағдайында сипаттау.docx 6/1/2023 Satbayev University (ИГИНГД)	30	0.17 %
2	Цианобактериялар арқылы сутек энергиясын өндіру 5/22/2023 Satbayev University (ИГИНГД)	21	0.12 %

