

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный
исследовательский технический университет имени К.И.Сатпаева»

Институт геологии и нефтегазового дела имени К.Турысова

Кафедра Химической и биохимической инженерии

Мұратхан Гауһар Мұратханқызы

Оценка антибактериальной активности экстрактов зеленых микроводорослей,
выделенных из соленого озера Балхаш

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Алматы 2025

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный
исследовательский технический университет имени К.И.Сатпаева»

Институт геологии и нефтегазового дела имени К.Турысова

Кафедра Химической и биохимической инженерии



ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ

Заведующий кафедрой «ХиБИ»

К.х.н., ассоц. профессор

Мангазбаева Р.А.

«12» июня 2025 г.

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Оценка антибактериальной активности экстрактов зеленых
микроводорослей, выделенных из соленого озера Балхаш»

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Выполнила

Мұратхан Г. М.

Рецензент

PhD, ассоц. профессор

Кафедры биотехнологии

КазНУ имени аль-Фараби

Сарсекеева Ф.К.

«12» июня 2025г.

Научный руководитель

PhD, преподаватель кафедры

Химической и биохимической

инженерии

Сандыбаева С.Қ.

«12» июня 2025г.

Алматы 2025 г.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный
Исследовательский технический университет имени К.И. Сатпаева»


Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

УТВЕРДЖАЮ

Заведующий кафедрой «ХиБИ»

К.х.н., ассоц. профессор

 Мангазбаева Р.А.

«12» июня 2025 г.

ЗАДАНИЕ

на выполнение дипломной работы

Обучающейся: Мұратхан Гауһар Мұратханқызы

Тема: «Оценка антибактериальной активности экстрактов зеленых
микроводорослей, выделенных из соленого озера Балхаш».

Утвержден приказом проректора по академической работе №26-П/Ө от «29»
января 2025г.

Срок сдачи законченной работы: «30» мая 2025 г.

Исходные данные к дипломной работе:

Краткое содержание дипломной работы:

а) Изучены микроводоросли и условия озера Балхаш;

б) Выделена культура *Phormidium ambiguum*, определены условия роста и
состав биомассы;

в) Оценена антибактериальная активность экстрактов *in vitro*.


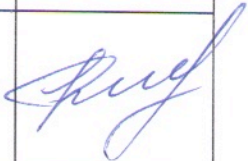

Рекомендуемая основная литература: из 66 наименований

ГРАФИК
подготовки дипломной работы

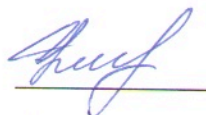
Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Литературный обзор	17.02.2025г.	Выполнено
Методика исследования	03.03.2025г.	Выполнено
Результаты исследования	28.04.2025г.	Выполнено
Закключение	28.04.2025г.	Выполнено

Подписи

Консультантов и норм контроллера на законченную дипломную работу с указанием относящихся к ним разделов работы

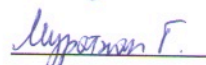
Наименование разделов	Консультанты, И.О.Ф. (уч. Степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Литературный обзор	PhD, преподаватель кафедры Химической и биохимической инженерии Сандыбаева С.Қ.	17.02.2025г.	
Материалы и методы проведения исследования	PhD, преподаватель кафедры Химической и биохимической инженерии Сандыбаева С.Қ.	03.03.2025г.	
Полученные экспериментальные данные	PhD, преподаватель кафедры Химической и биохимической инженерии Сандыбаева С.Қ.	28.04.2025г.	

Научный руководитель



Сандыбаева С. Қ.

Задание принял к исполнению обучающийся



Мұратхан Г. М.

Дата

« 12 » апр 2025 г.

АНДАТПА

Дипломдық жұмыстың тақырыбы: «Балқаш тұзды көлінен бөлінген жасыл микробалдырлардың сығындыларының бактерияға қарсы белсенділігін бағалау».

Жұмыс 55 беттен, 17 суреттен, 3 кестеден, 9 графиктен тұрады. Әдеби шолу 66 ғылыми дереккөзді талдау негізінде жасалды.

Мақсаты: Балқаш көлінен бөлінген жасыл микробалдырлар мен цианобактериялардың сығындыларының бактерияға қарсы белсенділігін зерттеу және оларды биологиялық белсенді заттардың көзі ретінде қолдану мүмкіндігін бағалау.

Зерттеу нысаны: Балқаш тұзды көлінде тіршілік ететін жасыл микробалдырлар.

Зерттеу пәні: *Phormidium ambiguum* цианобактериясы және оның метанол сығындылары, бактерияға қарсы белсенділік көрсететін қасиеттері.

Зерттеу барысында цианобактерияның таза мәдениеті бөлініп алынып, оның өсіру үшін оңтайлы жағдайлары анықталды, морфологиялық және биохимиялық сипаттамалары зерттелді, биологиялық белсенді қосылыстар экстракцияланып, олардың бактерияларға қарсы белсенділігі бағаланды.

Түйін сөздер: микробалдырлар, цианобактериялар, *Phormidium ambiguum*, бактерияға қарсы белсенділік, Балқаш көлі, сығындылар, биологиялық белсенді заттар, резистенттік, микробиология.

АННОТАЦИЯ

Тема дипломной работы: «Оценка антибактериальной активности экстрактов зеленых микроводорослей, выделенных из соленого озера Балхаш».

Работа включает 55 страниц, 17 рисунков, 3 таблицы, 9 графиков. Обзор литературы выполнен при изучении 66 источников научной литературы.

Цель: Изучение антибактериальной активности экстрактов зеленых микроводорослей и цианобактерий, выделенных из озера Балхаш, и оценка их потенциала для использования в качестве источника биологически активных веществ.

Объект исследования: зеленые микроводоросли, произрастающие в соленом озере Балхаш.

Предмет исследования: цианобактерия *Phormidium ambiguum* и её метанольные экстракты, проявляющие антибактериальную активность.

В процессе исследования была выделена чистая культура цианобактерии, определены оптимальные условия её культивирования, изучены морфологические и биохимические характеристики, выполнена экстракция биоактивных соединений и оценена их активность в отношении бактерий.

Ключевые слова: микроводоросли, цианобактерии, *Phormidium ambiguum*, антибактериальная активность, озеро Балхаш, экстракты, биологически активные вещества, резистентность, микробиология.

ANNOTATION

Thesis Topic: «Evaluation of Antibacterial Activity of Green Microalgae Extracts Isolated from the Salty Lake Balkhash».

The thesis consists of 55 pages, 17 figures, 3 tables, and 9 graphs. The literature review was conducted based on the analysis of 66 scientific sources.

Objective: To investigate the antibacterial activity of green microalgae and cyanobacterial extracts isolated from Lake Balkhash and to assess their potential as a source of biologically active compounds.

Research Object: Green microalgae growing in the saline environment of Lake Balkhash.

Research Subject: The cyanobacterium *Phormidium ambiguum* and its methanolic extracts exhibiting antibacterial activity.

During the study, a pure culture of cyanobacteria was isolated, optimal cultivation conditions were determined, morphological and biochemical properties were analyzed, biologically active compounds were extracted, and their activity against bacteria was evaluated.

Keywords: microalgae, cyanobacteria, *Phormidium ambiguum*, antibacterial activity, Lake Balkhash, extracts, biologically active substances, resistance, microbiology.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	10
1 Литературный обзор	12
1.1 Микроводоросли и цианобактерий как перспективные биотехнологические объекты	12
1.2 Биологический активные вещества микроводорослей и цианобактерии	13
1.3 Экологические особенности и биоразнообразие микроводорослей и цианобактерий озера Балхаш	16
1.4 Антибактериальная активность экстрактов на основе биомассы микроводорослей	19
1.5 Биотехнологическое применение микроводорослей и цианобактерии	24
2 Материалы и методы проведения исследования	27
2.1 Исследуемые объекты	27
2.2 Проведение сбора и таксономической идентификации представителей альгофлоры	27
2.3 Отбор фототрофных микроорганизмов из природных источников и получение их альгологически чистых культур	27
2.4 Алгоритм выделения микроводорослей и цианобактерий с обеспечением стерильности культур	29
2.5 Изучение морфологических свойств культур микроводорослей и цианобактерий	29
2.6 Оптимизация условий культивирования микроводорослей и цианобактерий с помощью применения искусственного интеллекта	30
2.7 Методика культивирования в лабораторных условиях	30
2.8 Методы определения скорости роста и сухой биомассы микроводорослей и цианобактерий	31
2.9 Определение сухой биомассы микроводорослей и цианобактерий	31
2.10 Определение общего содержания белка, липидов и пигментов в клетках микроводорослей и цианобактерий	32
2.11 Экстракция биоактивных веществ микроводорослей и цианобактерий	33
2.12 Оценка антибактериальной активности	34
3 Полученные экспериментальные данные	36
3.1 Выделение аксеничной культуры микроводорослей и цианобактерии выделенных из соленого озера Балхаш	36
3.2 Оценка культурально-морфологических характеристик полученной культуры микроводорослей и цианобактерии	36
3.3 Определение оптимальных условий для культивирования микроводорослей и цианобактерии	37
3.4 Оценка продуктивности и сбор сухой биомассы полученной культуры	43
3.5 Исследование наличия биологически активных веществ в клетках микроводорослей и цианобактерии	44

3.6 Оценка антибактериальной активности экстрактов микроводорослей и цианобактерии <i>in vitro</i>	45
Заключение	49
Список использованной литературы	51

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы разработки новых антибактериальных средств обусловлена ростом устойчивости патогенных микроорганизмов к существующим антибиотикам. Это явление стало одной из наиболее серьезных угроз для здравоохранения, требуя поиска альтернативных источников антимикробных веществ. В последние годы возрос интерес к природным биологически активным соединениям, выделяемым из водных организмов, включая микроводоросли и цианобактерии, благодаря их уникальным свойствам и экологической безопасности.

Микроскопические водоросли (*Chlorella*, *Scenedesmus*) и цианобактерии (*Oscillatoria*, *Anabaena*, *Formidium*) рассматриваются как ценные источники биологически активных соединений, проявляющих антимикробное действие. Данные организмы синтезируют разнообразные вторичные метаболиты, такие как пептиды, фенолы и липиды, демонстрирующие активность против бактерий, грибов и вирусов. Уникальность их биохимического состава обусловлена способностью адаптироваться к экстремальным факторам среды, включая колебания температуры и повышенную солёность, что делает их перспективными объектами научных исследований.

Озеро Балхаш – одно из крупнейших соленых озер Центральной Азии, которое характеризуется уникальными экологическими условиями и богатым биоразнообразием. Эти особенности делают его экосистему важным объектом для поиска новых природных соединений с потенциальной антимикробной активностью. Однако изучение микроорганизмов, выделенных из этого региона, все еще остается недостаточно разработанным направлением, что открывает широкие перспективы для научных исследований.

Цель исследования: оценить антибактериальные свойства экстрактов биологически активных веществ микроводорослей, выделенных из соленого озера Балхаш.

Для достижения цели необходимо решить следующие задачи:

- а) Выделение аксеничной культуры микродорослей из соленого озера Балхаш;
- б) Оценка культурально-морфологических характеристик полученной культуры микроводорослей;
- в) Определение оптимальных условий для культивирования микроводорослей и с использованием искусственного интеллекта;
- г) Оценка продуктивности и сбор сухой биомассы полученной культуры микроводорослей;
- д) Исследование наличия биологически активных веществ в клетках микроводорослей;
- е) Оценка антибактериальной активности экстрактов микроводорослей *in vitro* с использованием метода дисков с пропиткой и измерением зон ингибирования роста микроорганизмов.

Структура дипломной работы состоит из введения, трех глав, заключения, списка использованной литературы и приложений.

а) В первой главе представлен обзор литературных данных о биологически активных веществах микроводорослей, их антимикробной активности и экологических особенностях озера Балхаш;

б) Во второй главе описаны материалы и методы исследования, включая условия отбора проб, экстракции соединений и оценки антибактериальной активности;

в) В третьей главе изложены результаты экспериментальных исследований, включая морфологическую и биохимическую характеристику штаммов, химический состав экстрактов и их антибактериальную активность.

Научная новизна работы заключается в изучении биологической активности микроорганизмов из уникальной экосистемы озера Балхаш. Результаты исследования могут быть использованы для разработки новых биотехнологических подходов в области фармацевтики, медицины и пищевой промышленности.

Практическая значимость заключается в возможности применения полученных данных для создания экологически чистых антимикробных препаратов, что особенно актуально в условиях растущей резистентности бактерий к традиционным антибиотикам.

1 Литературный обзор

1.1 Микроводоросли и цианобактерий как перспективные биотехнологические объекты

Микроводоросли – это биотехнологически ценная группа фотосинтезирующих микроорганизмов, обладающая большим потенциалом для разработки новых продуктов и различных применений. Цианобактерии (*Cyanophyceae*) относятся к прокариотическим микроводорослям, в то время как зеленые водоросли (*Chlorophyta*) и диатомовые водоросли (*Bacillariophyta*) являются представителями эукариотических микроводорослей [1].

Микроводоросли представляют собой разнообразную группу организмов, обитающих в самых разных условиях и распространённых во всех известных экосистемах Земли – от морских и пресноводных до наземных [2]. Эти микроорганизмы играют важную роль в биогеохимических циклах, включая круговорот углерода, азота и кислорода, а также служат первичными продуцентами в водных экосистемах. По оценкам учёных, существует свыше 50 000 видов микроводорослей, однако на сегодняшний день изучено и описано лишь около 30 000 из них [3]. Оставшиеся виды продолжают активно исследоваться, поскольку среди них могут находиться штаммы с высокой биотехнологической ценностью – например, способные синтезировать редкие пигменты, жирные кислоты или биологически активные соединения.

Разнообразие микроводорослей чрезвычайно велико и представляет собой практически неисследованный природный ресурс. Согласно данным научной литературы, общее количество видов микроводорослей оценивается от 200 000 до нескольких миллионов, что значительно превышает число известных видов высших растений, которых насчитывается около 250 000 [4]. Их генетическое и фенотипическое разнообразие очевидно благодаря широкому распространению этих организмов по всей биосфере.

Зелёные микроводоросли преимущественно обитают в пресных и морских водах, в то время как другие виды приспособились к жизни в экстремальных условиях, таких как высокосолёные водоёмы – например, Большое солёное озеро в штате Юта (США) и Мёртвое море в Израиле. В водных экосистемах микроводоросли занимают разные экологические ниши: одни обитают в тонком поверхностном слое воды толщиной всего несколько сотен микрометров, другие – в приповерхностной зоне, а некоторые – на глубинах 200–300 метров, у границ фотической зоны, где ещё возможно фотосинтезирование.

Кроме водной среды, микроводоросли также широко распространены на суше. Они могут встречаться в почвах, богатых органическими веществами, на песках пустынь, камнях, снежных покровах, а также в более необычных местах, таких как мех ленивцев или белых медведей. Ряд видов способен выживать даже в экстремальных наземных условиях – на стенах зданий в городах [5], в биологических корках жарких пустынь [6], на антарктическом снегу [7], а также в атмосфере на высоте до 2000 метров [8].

Микроводоросли, как правило, имеют микроскопические размеры (обычно от 5 до 50 мкм) и простую морфологию, чаще всего одноклеточную. Вследствие этого большинство видов невозможно различить невооружённым глазом, они становятся заметными только при массовом размножении, формируя скопления, окрашенные в чёрный, зелёный, красный или коричневый цвет. Эти организмы могут существовать как в свободной форме, так и в симбиозе с другими живыми существами – например, входя в состав лишайников [9].

Цианобактерии являются обитателями пресноводных озёр, рек, водохранилищ, морских экосистем, а также освещённых поверхностей скальных пород и почв, встречающихся в различных регионах мира. Они демонстрируют высокую устойчивость к экстремальным изменениям солёности, температурным колебаниям, пересыханию и воздействию солнечной радиации, что обеспечивает им значительное экологическое преимущество в условиях неблагоприятной окружающей среды [10–12].

Способность цианобактерий выживать в экстремальных условиях представляет особый интерес как для фундаментальной экологии, так и для прикладных биотехнологий. Благодаря своей устойчивости, они способны заселять и стабилизировать нарушенные или малопригодные для жизни экосистемы, участвовать в формировании биологических почвенных структур и выступать в качестве продуцентов ценных метаболитов, включая пигменты, антиоксиданты и другие биологически активные соединения, потенциально востребованные в фармацевтике, медицине и агробиотехнологии.

1.2 Биологически активные вещества микроводорослей и цианобактерий

Микроводоросли, включая цианобактерии, относятся к ключевым группам микроорганизмов, способных синтезировать свыше 1300 биологически активных соединений (БАВ). Основная часть этих веществ накапливается непосредственно в клеточной биомассе, однако некоторые метаболиты выделяются в окружающую среду, образуя группу экзометаболитов. К первичным метаболитам микроводорослей относятся белки, липиды, витамины и пигменты, хотя часть из них может иметь признаки вторичного метаболизма. Вторичные метаболиты не только обеспечивают защиту клеток от неблагоприятных факторов (температурных колебаний, изменений освещённости, солёности и засухи), но и проявляют антимикробную активность, подавляя рост патогенных микроорганизмов [13].

Цианобактерии и микроводоросли, такие как *Oscillatoria*, *Anabaena* и *Chlorella*, представляют собой важные объекты исследования благодаря их уникальным метаболическим свойствам и потенциалу для биотехнологических применений. *Oscillatoria* и *Anabaena*, относящиеся к цианобактериям, известны своей способностью к фиксации азота, адаптации к экстремальным условиям и синтезу биологически активных соединений, включая пептиды и полисахариды с антибактериальными свойствами. *Chlorella*, как представитель зеленых

микроводорослей, выделяется высоким содержанием белков, липидов, витаминов и пигментов, которые также могут проявлять антибактериальную активность (рисунок 1.1).

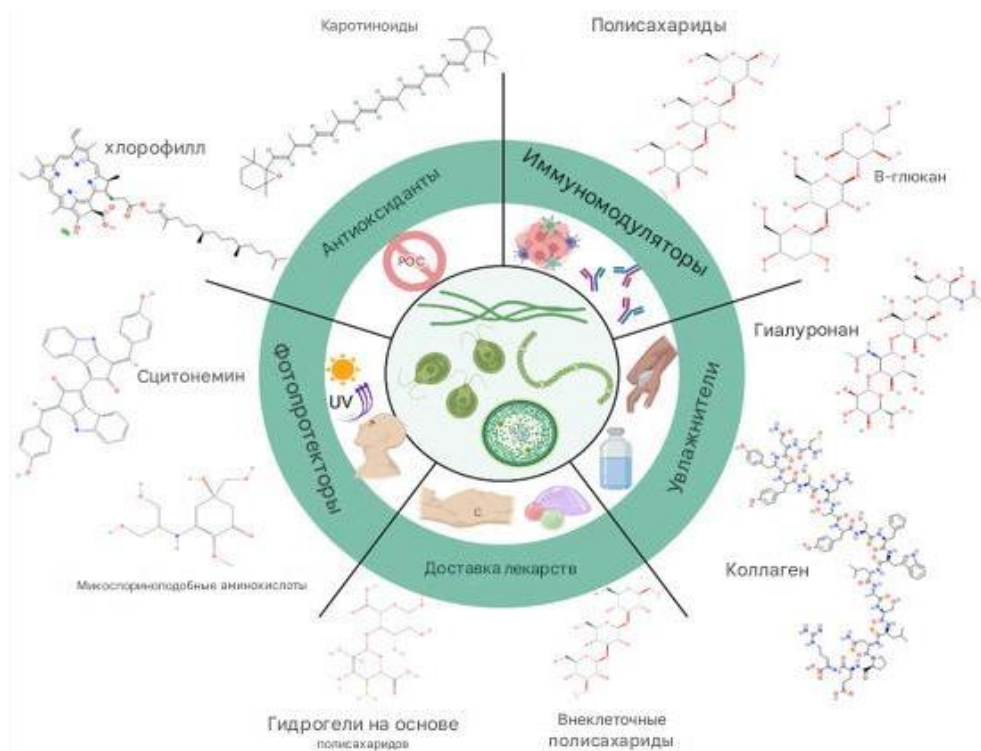


Рисунок 1.1 – Биологически активные вещества

Эти микроорганизмы обитают в разнообразных экосистемах, включая соленые водоемы, такие как озеро Балхаш, и обладают устойчивостью к экстремальным факторам окружающей среды. Их выбор для исследования обусловлен как экологической значимостью, так и высоким потенциалом их экстрактов для использования в создании природных антимикробных препаратов.

В отличие от гетеротрофных микроорганизмов, нуждающихся в готовых органических соединениях для роста, одноклеточные фотосинтетики способны продуцировать биомассу за счет преобразования световой энергии в процессе фотосинтеза, используя лишь неорганические вещества и минеральные элементы. Важным экологическим преимуществом технологий выращивания микроводорослей является их устойчивость: они не только поглощают углекислый газ с выделением кислорода, но и требуют значительно меньше водных ресурсов по сравнению с традиционным сельским хозяйством, а также могут культивироваться на малопригодных для земледелия территориях [14].

Особый интерес представляет применение микроводорослей в качестве природных антимикробных агентов, в частности в аквакультуре. Многочисленные исследования подтверждают, что выделенные из различных видов микроводорослей жирные кислоты, особенно с короткой цепью и

ненасыщенные, обладают выраженной антибактериальной активностью [15, 16]. Например, было установлено, что экстракты *Isochrysis galbana*, *Scenedesmus sp.* и *Chlorella sp.*, содержащие докозагексаеновую (ДГК), эйкозапентаеновую (ЭПК), линолевую и олеиновую кислоты, эффективно подавляют рост грамположительных бактерий [17].

Фотоавтотрофная природа микроводорослей дает им существенное преимущество перед другими организмами, поскольку они не требуют органических субстратов для получения энергии, что значительно удешевляет их крупномасштабное культивирование. Для их роста необходимы лишь солнечный свет, вода, диоксид углерода и основные минеральные питательные вещества. Кроме того, многие виды успешно развиваются в условиях повышенной солености (3–33% NaCl), что позволяет использовать для их выращивания соленые водоемы, не конкурируя за пресную воду и плодородные почвы с сельским хозяйством. Это делает микроводоросли особенно перспективными для промышленного получения различных биохимических соединений, включая полисахариды, липиды и жирные кислоты, которые находят широкое применение в химической и других отраслях промышленности [18].

Было выделено и охарактеризовано большое количество антибиотиков, многие из которых имеют новую структуру. Кроме того, было показано, что многие цианобактерии продуцируют противовирусные и противомикробные соединения. В частности, антимикробная активность метанольного экстракта *S. platensis* была объяснена наличием γ -линоленовой кислоты, присутствующей в этой водоросли в высокой концентрации [19]. Сообщалось, что некоторые жирные кислоты обладают определенной антимикробной активностью, в частности пальмитолеиновая и олеиновая кислоты. Была выдвинута гипотеза, что липиды убивают микроорганизмы, приводя к нарушению клеточной мембраны (мембран). Была отмечена невосприимчивость грамотрицательных бактерий к уничтожению липидами [20, 21], что, вероятно, связано с различиями во внешней мембране или клеточной стенке бактерий. Однако широкий спектр антимикробной активности наблюдался и у экстрактов микроводорослей. Сообщалось, что *Chlorella spp.*, *Scenedesmus spp.*, *Chlamydomonas spp.*, *Euglena viridis*, *F. ambigua* и *Microcystis aeruginosa* являются основными группами микроводорослей, продуцирующими антимикробные вещества [22]. Некоторые из биоактивных соединений могут найти применение в человеческой или ветеринарной медицине, а также в сельском хозяйстве. Другие могут найти применение в качестве исследовательских инструментов или структурных моделей для разработки новых лекарств. Микроводоросли особенно привлекательны как природные источники биоактивных молекул, поскольку эти водоросли способны производить эти соединения в культуре, что позволяет получать структурно сложные молекулы, которые трудно или невозможно получить химическим синтезом [23, 24]. Среди антимикробных (антибактериальных, противогрибковых, противопротозойных) веществ были обнаружены жирные кислоты, гликолипиды, фенольные вещества акриловой кислоты, циклические пептиды, N-гликозиды, сульфат-полисахариды, β -

дикетон, изонитрилсодержащие индолы, алкалоиды, такие как гаплоиндол, и различные токсины, такие как нодуларин, гониясутоксин, сакситоксин, окадаиновая кислота и сигуатоксин [25].

1.3 Экологические особенности и биоразнообразие микроводорослей и цианобактерий озера Балхаш

Озеро Балхаш является одним из крупнейших водоемов Центральной Азии и занимает особое место в экосистеме Казахстана. Оно расположено в юго-восточной части страны и простирается на более чем 600 км в длину. Балхаш является уникальным водоемом, поскольку его западная часть представляет собой пресную воду, а восточная – соленую. Это обусловлено особенностями водного баланса и неоднородностью притока рек, таких как Или, Каратал и Лепсы (рисунок 1.2).

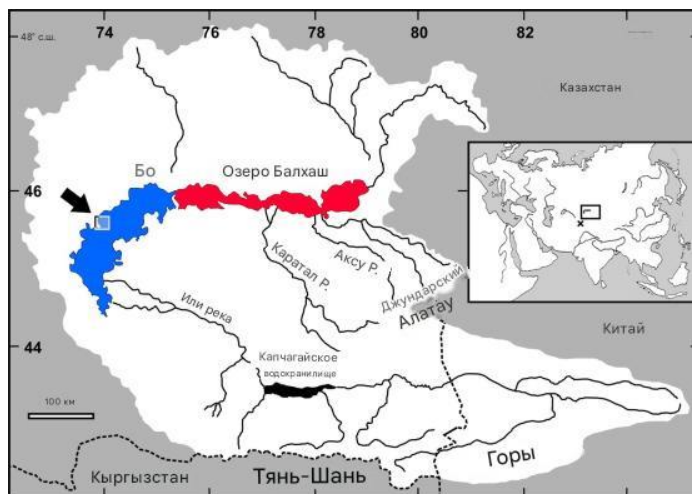


Рисунок 1.2 – Озеро Балхаш

Озеро Балхаш является оазисом в пустынной местности Сарыесик-Атырау и располагается в самой низкой части Балхаш-Алакольской впадины. Его водосборный бассейн охватывает обширную территорию площадью 413 000 км², из которых 153 000 км² активно участвуют в пополнении водных ресурсов озера. Солёность озёрной воды варьируется от 0,2 до 5,0 г/л [26].

Основной приток воды в озеро Балхаш наблюдается в период с мая по август, достигая максимального значения в июле. Замерзание водной поверхности происходит в интервале с ноября–декабря до марта–апреля. Ветры преимущественно дуют с восточного и северо-восточного направлений, формируя волны высотой до 3,0–3,5 м в восточной части озера и не превышающие 2,5 м в западной. Эти ветровые воздействия также способствуют формированию течений, ориентированных вдоль продольной оси озера [26].

Гидрохимический режим озера Балхаш формируется под влиянием комплекса климатических, геологических и антропогенных факторов, и

оказывает определяющее влияние на биоразнообразие водоёма, в том числе на состав и активность микроводорослей. Учитывая, что объектом настоящей работы является изучение антибактериальной активности экстрактов микроводорослей, выделенных из солёного озера Балхаш, анализ химического состава воды становится необходимым этапом для понимания условий их обитания, адаптации и синтеза биологически активных веществ.

Согласно исследованию 2013 года, наблюдается чётко выраженный градиент минерализации от западной к восточной части озера: от 0.65–1.42 г/л на западе до 4.80–5.76 г/л на востоке. Это сопровождается значительным изменением ионного состава – с уменьшением концентраций ионов кальция и гидрокарбонатов и увеличением содержания ионов натрия, магния, сульфатов и хлоридов в восточном направлении. Эти процессы обусловлены как интенсивным испарением, так и снижением стока реки Или, что нарушает водно-солевой баланс. Кроме того, происходит активное осаждение карбонатов кальция и магния, что влияет на доступность этих элементов в водной среде и, следовательно, на физиологию водных организмов, включая микроводоросли [27].

Другое исследование 2021 года дополняет эти данные, показывая, что вода в озере относится к типу Na-Cl с высокой минерализацией (в среднем 2917 мг/л), в то время как воды рек – преимущественно Ca-HCO₃. Основным источником ионов в воде озера является испарение, а также растворение солей из донных отложений. Высокие значения насыщения по кальциту, доломиту и арагониту указывают на перенасыщенность воды карбонатами, что ограничивает биоусвояемость кальция и может способствовать формированию уникальных адаптационных механизмов у микроводорослей, в том числе связанных с синтезом защитных и биоактивных соединений [28].

Именно такие экстремальные и изменчивые условия (высокая минерализация, значительное содержание Mg²⁺, Na⁺, SO₄²⁻, Cl⁻ и ограниченный доступ к Ca²⁺) создают специфические экологические ниши, в которых могут выживать только устойчивые штаммы микроводорослей. В ответ на стрессовые условия, водоросли нередко продуцируют вторичные метаболиты, включая пигменты, полисахариды и антибактериальные вещества. Таким образом, изучение химического состава воды озера Балхаш не только важно для экологической оценки состояния водоёма, но и служит ключом к пониманию природы адаптационных механизмов микроводорослей, выделенных из этого уникального солёного биотопа.

Водная флора озера Балхаш включает микрофиты (микроводоросли), обитающие в толще воды (планктонные формы) или в донных отложениях (бентосные формы), а также макрофиты, растущие в воде или рядом с ней. Фитопланктон и фитобентос представлены 350 видами и разновидностями, среди которых: около 200 видов диатомовых микроводорослей, преимущественно бентосных и практически полностью составляющих бентосные водоросли; около 65 видов зелёных водорослей; примерно 50 видов сине-зелёных водорослей; восемь видов динофлагеллят; четыре – золотистых водорослей; один – жёлто-

зелёных; шесть – эвгленовых; 18 видов зигнематофицеевых и несколько видов хараовых водорослей [29].

Результаты исследований, проводившихся в летний период 2004 года [29], свидетельствуют о высоком таксономическом разнообразии и экологической пластичности фитопланктона озера Балхаш. Всего зарегистрировано 92 вида микроводорослей, в том числе представители зеленофитовых – 29 видов; диатомовых *Bacillariophyta* – 27 видов; цианобактерий *Cyanobacteria* – 21 вид. В сообществе водоросли-протисты, в том числе эвгленовые *Euglenophyta*, динофитовые *Dinophyta*, хризофитовые *Chrysophyta* и харовые *Xanthophyta* виды, также характерные для альгоценозов озера.

Пространственное распределение этих групп в пределах водоёма отражает выраженный градиент экологических условий. В западной части озера, где наблюдается меньшая глубина и более пресная вода, доминируют зелёные водоросли, а общее видовое разнообразие достигает 74 видов. Восточная часть, характеризующаяся большей минерализацией и глубиной, представлена в основном диатомовыми водорослями и цианобактериями, и содержит 69 видов. Среди часто встречающихся таксонов в восточном Балхаше были отмечены такие цианобактерии, как *Snowella lacustris*, *Gomphosphaeria aponina* и *Gloeocapsa sp.*, тогда как в западной части преобладали зелёные водоросли, включая *Franceia sp.* и *Chlorella sp.*

Также были выявленные виды демонстрируют широкий спектр экологических предпочтений. Большинство из них — планктонные или планкто-бентосные формы, предпочитающие щелочную реакцию среды и устойчивые к умеренному органическому загрязнению. Биоиндикационные оценки свидетельствуют о том, что вода озера Балхаш в целом относится к III классу качества, то есть является умеренно загрязнённой. В восточной части озера отмечается более высокая трофность, что подтверждается наличием сапрофильных и эвтрофных видов, которые устойчивы к органически связанным формам азота. Эти особенности биоценоза соответствуют измеренным значениям химических параметров: более высокое содержание фосфатов, окисляемых органических веществ и тяжёлых металлов, таких как кадмий, свинец, никель и кобальт, было характерно именно для восточного Балхаша.

Особое значение в формировании пространственного распределения микроводорослей играют макрофиты и речной сток. Участки с наиболее высокой видовой насыщенностью фитопланктона располагались вблизи устьев рек, таких как Или, Каратал, Лепсы и Аксу, что связано с поступлением биогенных элементов, стимулирующих рост водорослей. В этих зонах наблюдалось значительное присутствие представителей *Bacillariophyta*, *Cyanobacteria* и *Chlorophyta*, особенно в сочетании с мягкими макрофитами. Одновременно с этим, в зоне западного Балхаша, куда впадает река Или, зафиксировано поступление тяжёлых металлов (цинк, медь), оказывающих токсическое воздействие на фитопланктон, что подтверждается снижением значений индекса состояния водной экосистемы (WESI) ниже единицы. Это указывает на

угнетение фотосинтетической активности микроводорослей под воздействием загрязняющих веществ, несмотря на благоприятное влияние биогенов.

Таким образом, пространственные различия в составе и экологических характеристиках фитопланктона озера Балхаш формируются под влиянием комплекса факторов, включая солёность, глубину, pH, содержание питательных веществ и тяжёлых металлов, а также степень развития водной растительности. Выявленные закономерности подчёркивают высокую адаптационную способность микроводорослей, особенно в условиях восточного Балхаша, где экстремальные параметры среды способствуют формированию специфических устойчивых видов, обладающих потенциалом к синтезу биологически активных веществ. Это делает их перспективными объектами для дальнейшего изучения, включая оценку их антибактериальной активности в условиях, представленных в настоящем исследовании.

1.4 Антибактериальная активность экстрактов на основе биомассы микроводорослей

1.4.1 Биологически активные вещества микроводорослей и цианобактерий. В последние десятилетия наблюдается растущий интерес к исследованию антибактериальной активности природных экстрактов, что связано с увеличением устойчивости патогенных микроорганизмов к синтетическим антибиотикам. В качестве перспективной альтернативы в лечении инфекционных заболеваний рассматриваются природные соединения, выделенные из растений, микроводорослей, грибов и бактерий.

Современные исследования подтверждают, что микроводоросли представляют собой уникальную природную платформу для получения разнообразных питательных веществ и биологически активных компонентов. В их состав входят высококачественные белки, сложные углеводы (полисахариды), липидные фракции, включая ценные полиненасыщенные жирные кислоты, а также витаминные комплексы, пигментные соединения, фикобилипротеины и ферментативные системы. Фармакологические исследования выявили многофункциональность этих соединений, которые проявляют способность нейтрализовывать свободные радикалы, ингибировать рост патогенов, подавлять вирусную активность, тормозить канцерогенез, стимулировать регенерационные процессы, нормализовывать артериальное давление, защищать нейроны и усиливать иммунный ответ [30].

1.4.2 Липиды. Микроводоросли обладают уникальной способностью к биосинтезу широкого спектра липидных соединений, среди которых особого внимания заслуживают триацилглицериды, фосфолипиды, гликолипиды и фитостерины. Эти соединения характеризуются преимущественным содержанием моно- и полиненасыщенных жирных кислот с длиной углеродной цепи от C16 до C18, хотя в их составе также присутствуют кислоты с более короткими (C12) и длинными (до C24) цепями. Содержание липидов в клетках микроводорослей может варьироваться в значительных пределах, достигая 20-

50% от общей массы сухого вещества, что свидетельствует об их важной роли в клеточном метаболизме. Биологическое значение этих соединений чрезвычайно многообразно: они выступают в качестве важнейшего энергетического резерва, являются структурной основой клеточных мембран, а также активно участвуют в регуляции различных метаболических процессов. Особенно стоит отметить их участие в системах внутриклеточной сигнализации, регуляции экспрессии генов, межклеточных взаимодействиях, процессах секреции и везикулярного транспорта [31].

Микроводоросли синтезируют широкий спектр липидных соединений, включая структурные (фосфолипиды, гликолипиды) и запасные формы, среди которых преобладают триацилглицеролы (ТАГ). Накопление ТАГ происходит преимущественно при стрессовых условиях, таких как дефицит азота или фосфора, когда избыток энергии направляется на образование липидов, выступающих в роли эффективного резерва восстановительных эквивалентов. Жирнокислотный профиль этих организмов отличается значительным разнообразием: от насыщенных (C14:0, C16:0, C18:0) до моно- и полиненасыщенных форм (C16:1, C18:1, C20:5, C22:6), причём последние, включая эйкозапентаеновую (ЭПА) и докозагексаеновую (ДГА) кислоты, представляют особую ценность благодаря уникальным биологическим свойствам, нехарактерным для растительных масел.

Это делает микроводоросли перспективным источником не только для биотопливной промышленности, но и для производства биологически активных добавок. Цианобактерии, несмотря на относительно низкое содержание липидов (10–12% от сухой массы), представляют интерес благодаря выраженной адаптивной реакции на изменения окружающей среды и активно изучаются в контексте направленной регуляции липидного обмена [32].

1.4.3 Пигменты. Микроводоросли и цианобактерии являются фотосинтезирующими микроорганизмами, способными синтезировать разнообразные пигменты, обеспечивающие поглощение световой энергии. Эти пигменты, как правило, классифицируются на три основные группы: хлорофиллы, каротиноиды и фикобилипротеины [33].

Хлорофиллы представляют собой жирорастворимые зелёные пигменты, принимающие непосредственное участие в светозависимых реакциях фотосинтеза [34].

Каротиноиды могут выполнять как первичную, так и вторичную функцию в клетке, при этом их состав варьирует в зависимости от видовой принадлежности организма и условий среды. К наиболее известным и коммерчески востребованным каротиноидам относятся астаксантин, лютеин и β -каротин [35]. Кроме того, каротиноиды микроводорослей обладают выраженными антиоксидантными свойствами, нейтрализуя свободные радикалы и предотвращая тем самым окислительное повреждение клеток и тканей, включая защиту пищевых продуктов от окислительной порчи [36].

Фикобилипротеины представляют собой уникальный класс водорастворимых пигментов, характерный исключительно для цианобактерий и

красных водорослей. Они могут выступать в качестве основных светопоглощающих компонентов в данных организмах, где наибольшее значение имеют такие фикобилипротеины, как фикоцианин и фикоэритрин [37].

Пигменты, получаемые из микроводорослей и цианобактерий, привлекают значительное внимание как перспективные компоненты для применения в пищевой, кормовой, фармацевтической, нутрицевтической и косметической отраслях. Это обусловлено их ярко выраженными окрашивающими и биологически активными свойствами, а также их природным происхождением и экологической безопасностью [35, 37].

1.4.4 Белки. Белки представляют собой основную составляющую биомассы микроводорослей. Их состав варьируется в зависимости от условий культивирования, при этом важнейшей задачей является извлечение этих биомолекул с сохранением их нативной структуры, которая обеспечивает их функциональные свойства [38].

Микроводоросли и цианобактерии способны накапливать до 70% белка от сухой массы, причем их белковый профиль варьируется в зависимости от вида и условий культивирования. Среди ключевых белков выделяются рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза (RuBisCO), характерная для *Chlorella vulgaris*, и билипротеины, такие как фикоцианин, присутствующий в *Arthrospira platensis* — эти соединения играют важную роль в фотосинтезе, накоплении питательных веществ и поддержании клеточной структуры [39]. Помимо биологической функции, белки микроводорослей обладают ценными технофункциональными свойствами, включая эмульгирующую, пенообразующую и гелеобразующую активность, что делает их перспективными ингредиентами для улучшения текстуры веганских и альтернативных мясных продуктов. Их растворимость, зависящая от pH, расширяет возможности применения в пищевых системах с кислой средой [40].

Кроме того, белковые пептиды, полученные из микроводорослей, демонстрируют выраженную антиоксидантную и антимикробную активность, а также проявляют антигипертензивные, антидиабетические, противоопухолевые и иммуномодулирующие свойства, подтверждающие их высокий биофармакологический потенциал [39], [40].

Однако их практическое использование осложняется прочной клеточной стенкой, затрудняющей экстракцию белков. Для разрушения клеток применяются механические и физические методы, такие как ультразвуковая и молотковая обработка, а также гомогенизация, эффективность которых варьирует в зависимости от вида микроводорослей и морфологии клеток [41]. Установлено, что биодоступность белков определяется не только методами лизиса, но и аминокислотным профилем, который у большинства штаммов оказывается сбалансированным (рисунок 1.3). Например, *Arthrospira platensis* обогащён лейцином, тогда как *Chlorella vulgaris* содержит высокие уровни лизина, что делает оба вида перспективными источниками полноценного растительного белка для функционального и диетического питания [42].

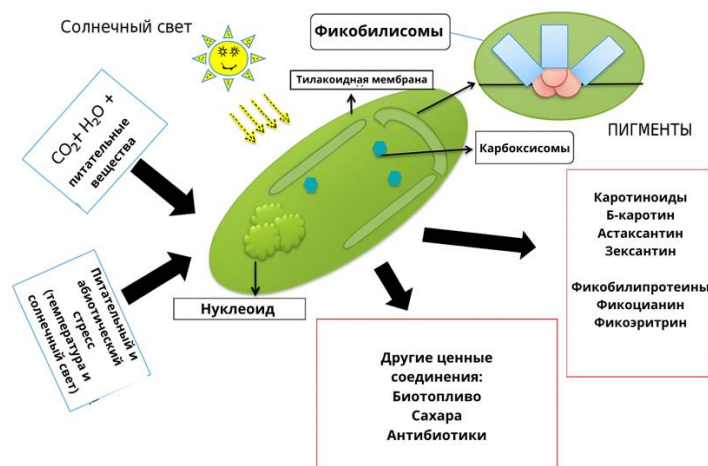


Рисунок 1.3 – Пигменты и другие биологический активные соединения

1.4.5 Антибактериальные свойства микроводорослей и цианобактерии. Необходимость поиска новых соединений с антимикробными свойствами обусловлена стремительным ростом устойчивости микроорганизмов к антибиотикам, вызванным их широким и продолжительным применением в клинической практике. В данном контексте микроводоросли представляют собой ценный источник природных антибиотических веществ, обладающих выраженной и широкоспекторной антибактериальной активностью [43].

Лечение инфекционных заболеваний, в особенности тех, которые вызываются устойчивыми патогенными микроорганизмами, представляет собой одну из наиболее острых проблем современной системы здравоохранения в глобальном масштабе. Устойчивость к антибиотикам была зафиксирована у ключевых бактериальных видов; некоторые из них, по всей вероятности, приобрели резистентность к большинству или даже ко всем существующим антимикробным препаратам, что обуславливает формирование так называемого «кризиса антибиотикорезистентности» [44].

Современная микробиология разделяет бактерии на грамположительные и грамотрицательные, основываясь на принципиальных отличиях в организации их клеточных стенок. Грамотрицательные микроорганизмы обладают сложной трехслойной структурой клеточной оболочки, состоящей из наружной мембраны с липополисахаридными комплексами, промежуточного пептидогликанового слоя и внутренней плазматической мембраны. В то же время грамположительные бактерии лишены наружной мембраны, что составляет их основное структурное отличие [40]. Эти морфологические различия существенно влияют на проницаемость клеточной стенки. Наружная мембрана грамотрицательных бактерий служит эффективным защитным барьером, препятствующим проникновению многих химических соединений, в том числе антибактериальных препаратов. Это объясняет их повышенную устойчивость к антимикробным средствам по сравнению с грамположительными микроорганизмами, клеточная стенка которых не обладает подобной защитной функцией [45].

Цитоплазматическая мембрана бактериальных клеток выполняет множество жизненно важных функций, включая поддержание осмотического баланса, процессы клеточного дыхания, транспорт метаболитов, синтез пептидогликана и липидный биосинтез.

Нормальное функционирование этих процессов возможно только при сохранении структурной целостности мембраны. Нарушение ее организации вызывает серьезные метаболические расстройства, которые могут затрагивать ключевые клеточные процессы и в конечном итоге приводить к гибели микроорганизма [46]. В таблице представлена сравнительная характеристика антибактериальной активности экстрактов и соединений, выделенных из микроводорослей и цианобактерий: *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Scenedesmus* и *Chlorella*. Для каждого организма указаны тип биомассы, целевые бактериальные штаммы, механизм действия, а также количественные показатели эффективности, такие как минимальная подавляющая концентрация (МПК) или диаметр зоны ингибирования (таблица 1.1).

Таблица 1.1 – Сравнительная характеристика антибактериальной активности экстрактов и соединений

Орган изм	Тип органи зма	Соединение/ экстракт	Целевые бактерии	Механизм действия	Эффективность	Ист очн ики
<i>Oscillatoria</i> <i>spp.</i>	Циано бактер ии	Пигменты и пептид (фикоцианин)	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	Ингибирование роста, разрушение мембран и угнетение метаболических процессов	Зона ингибирования 17–32 мм; высокая активность при низких концентрациях	[47, 48]
<i>Phormidium</i> <i>sp.</i>	Циано бактер ии	Вторичные метаболиты и жирные кислота	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia coli</i>	Генерация активных форм кислорода (АФК), повреждение клеточных стенок	МПК 62.5–125 мкг/мл (в зависимости от штамма)	[46]
<i>Scenedesmus</i> <i>sp.</i>	Зелены е водоро сли	Этаноловые экстракты	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	Разрушение клеточной стенки, ингибирование роста	Зона ингибирования 15–25 мм (100 мкг/мл)	[49]
<i>Chlorella</i> <i>sp.</i>	Зелены е водоро сли	α - линоленовая кислота, пигменты	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Нарушение проницаемости мембран и ингибирование биопленок	МПК 80–100 мкг/мл; подавление роста широкого спектра бактерий	[47, 50]

Как видно из таблицы, соединения, полученные из *Oscillatoria spp.*, проявляют выраженную антибактериальную активность за счёт фикоцианина и пептидов, вызывающих разрушение мембран бактериальных клеток и

подавление роста, зона ингибирования достигает 32 мм. У *Phormidium sp.* активность связана с выработкой вторичных метаболитов и жирных кислот, которые вызывают генерацию активных форм кислорода (АФК), повреждая бактериальные мембраны.

Экстракты из *Scenedesmus sp.* эффективно ингибируют рост грамположительных бактерий, таких как *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*, за счёт нарушения целостности клеточной стенки. У *Chlorella sp.* α-линоленовая кислота и пигменты обеспечивают широкий спектр действия, включая разрушение биоплёнок и нарушение проницаемости мембран даже у устойчивых штаммов, таких как *Pseudomonas aeruginosa*.

Таким образом, приведённые в таблице данные подтверждают перспективность микроводорослей и цианобактерий как источников новых антимикробных агентов природного происхождения.

1.5 Биотехнологическое применение микроводорослей и цианобактерий

Микроводоросли и цианобактерии в последние десятилетия стали важными объектами биотехнологических исследований благодаря их способности синтезировать широкий спектр биологически активных соединений и высокой скорости роста. Их использование в различных отраслях экономики объясняется богатым биохимическим составом, экологичностью получения продуктов и возможностью масштабного культивирования (рисунок 1.4).



Рисунок 1.4 – Применение микроводорослей и цианобактерий

Например, цианобактерия *Arthrospira platensis* используется как пищевая добавка из-за высокого содержания питательных веществ и хорошей усвояемости. Этот организм состоит более чем на 60 % из белков, является источником бета-каротина, тиамина и рибофлавина, а также является одним из наиболее богатых источников витамина B12. *Nostoc commune*, обладая высоким содержанием волокон и белков, может выполнять значимую физиологическую и питательную роль в рационе человека [51]. Морские азотфиксирующие цианобактерии также использовались в качестве корма для рыб в аквакультурах. При кормлении рыб тилапии морскими цианобактериями в закрытых и открытых системах наблюдался высокий темп их роста [52].

В фармацевтической промышленности цианобактерии и микроводоросли используются как источник биоактивных соединений с антимикробной, противогрибковой, антивирусной и противораковой активностью. Например, *Spirulina platensis* (цианобактерия) используется для получения спиролина – белка, который применяют в нутрицевтиках благодаря его высокой питательной ценности и антиоксидантным свойствам. Цианобактерии содержат биологически активные соединения, такие как фикоцианин и γ -линоленовая кислота, которые демонстрируют значительный терапевтический потенциал благодаря противовоспалительным и метаболическим свойствам, что делает их перспективными компонентами для разработки иммуномодуляторов и антиоксидантных препаратов, направленных на коррекцию окислительного стресса [53].

В сельском хозяйстве эти микроорганизмы играют ключевую роль в повышении плодородия почв за счет азотфиксации, что подтверждается эффективностью представителей родов *Anabaena* и *Nostoc* в улучшении агрохимических показателей грунта и стимуляции роста растений. Применение цианобактерий в качестве биоудобрений позволяет минимизировать зависимость от синтетических азотных удобрений, снижая антропогенную нагрузку на агроэкосистемы и способствуя переходу к ресурсосберегающему земледелию [54]. Роль активных ингредиентов, получаемых из микроводорослей, заключается в их способности способствовать профилактике пигментных пятен, восстановлению поврежденной кожи, борьбе с себореей и уменьшению воспалительных процессов. Экстракты микроводорослей также содержат биоактивные компоненты, которые ускоряют заживление тканей и способствуют поддержанию оптимального уровня влажности кожи [55].

Кроме того, учитывая, что β -1,3-глюкан, содержащийся в растениях и грибах, проявляет противовоспалительную активность [56], можно предположить, что аналогичное действие присуще и глюканам, содержащимся в микроводорослях. Это открывает перспективные направления для дальнейших исследований в косметической отрасли, особенно для разработки средств, предназначенных для ухода за чувствительной и склонной к воспалениям кожей. Виды микроводорослей, богатые β -глюканами, включают *Chlorella*, диатомовые водоросли *Skeletonema*, а также *Porphyridium* и *Nostoc flagelliforme* [57]. К тому же, кожа имеет сложную антиоксидантную систему, защищающую ее от

окислительного стресса, вызванного внутренними и внешними факторами. Однако этот защитный механизм может быть перегружен. Антиоксиданты местного применения эффективно защищают кожу от повреждений, вызванных свободными радикалами, образующимися при нормальном метаболизме или под воздействием ультрафиолетового излучения [58].

Микроводоросли представляют собой перспективный источник возобновляемого биотоплива, такого как биодизель, биогаз и биоводород. Их ключевое преимущество заключается в высокой экологической безопасности и устойчивости производства по сравнению с традиционными сельскохозяйственными культурами. В отличие от растений, требующих плодородных почв и значительных земельных ресурсов, микроводоросли способны культивироваться в разнообразных условиях, включая непригодные для земледелия территории. Это исключает необходимость вырубки лесов и разрушения природных экосистем, что существенно снижает антропогенную нагрузку на окружающую среду. Таким образом, биотопливо, полученное из микроводорослей, рассматривается как экологически чистая альтернатива традиционным энергоносителям, способствующая развитию устойчивой энергетики [59]. Цианобактерии, такие как *Synechocystis sp.* и *Anabaena variabilis*, используются для производства водорода, который является перспективным источником чистой энергии. *Synechocystis sp.* S-1, изолированный в Казахстане, продемонстрировал высокую активность по производству водорода (2,35 ммоль H_2 мг⁻¹ хлорофилла в час), в то время как *Anabaena variabilis* A-1 показал еще более высокие результаты (8,67 ммоль H_2 мг⁻¹ хлорофилла в час) при темных условиях. Это позволяет использовать эти штаммы в качестве эффективных источников водорода для устойчивых биотехнологий, направленных на снижение углеродных выбросов и развитие водородной экономики [60].

2 Материалы и методы проведения исследования

2.1 Исследуемые объекты

Объектом исследования является культура цианобактерия *Phormidium ambiguum*, выделенная из соленого озера Балхаш. Данная цианобактерия была выбрана для изучения в связи с её уникальными экологическими условиями обитания в соленых водоемах. Изучение направлено на оценку антибактериальной активности экстрактов цианобактерий, что позволит оценить её потенциал для использования в биотехнологических и медицинских приложениях.

2.2 Проведение сбора и таксономической идентификации представителей альгофлоры

Вода была отобрана на указанных участках с использованием стерильных пластиковых емкостей объемом 1 литр. Для удаления примесей жидкость пропускалась через фильтрующие мембраны с размером пор 0,45 мкм. После фильтрации пробы транспортировались в лабораторию, где сохранялись в холодильном оборудовании при +4°C до дальнейших исследований.

Биологические маты, конкременты и донные отложения отбирались методом случайной выборки с применением предварительно простерилизованных щипцов и шпателя, после чего их помещали в стеклянные герметичные контейнеры. Для изучения планктонных культур цианобактерий воду набирали в стерильные стеклянные флаконы и пробирки. Видовой состав микроводорослей и цианобактерий в пробах, взятых из различных водных экосистем, определялся с помощью существующих идентификационных ключей и с использованием микроскопа серии MicroOptix, с выводом изображения на монитор.

2.3 Отбор фототрофных микроорганизмов из природных источников и получение их альгологически чистых культур

Собранные образцы (вода, зеленоватые отложения, слизистые массы и другие материалы) помещали в стерильные пробирки или колбы, содержащие жидкую питательную среду.

Объем вносимой жидкости не должен был превышать 1/3–1/4 от общего размера емкости. Емкости с посевным материалом располагали на стеклянной поверхности под люминесцентными лампами либо на подоконнике с рассеянным естественным светом, исключая прямое воздействие солнца. Уровень освещенности поддерживался в диапазоне 6–10 тыс. люкс.

Для выращивания одноклеточных водорослей и цианобактерий применялись питательные среды Заррука и BG-11, в том числе модифицированный вариант BG-11, лишенный азотных соединений. В

экспериментах использовали альгологически и бактериологически чистые культуры для анализа активности водорослей (рисунок 2.1).

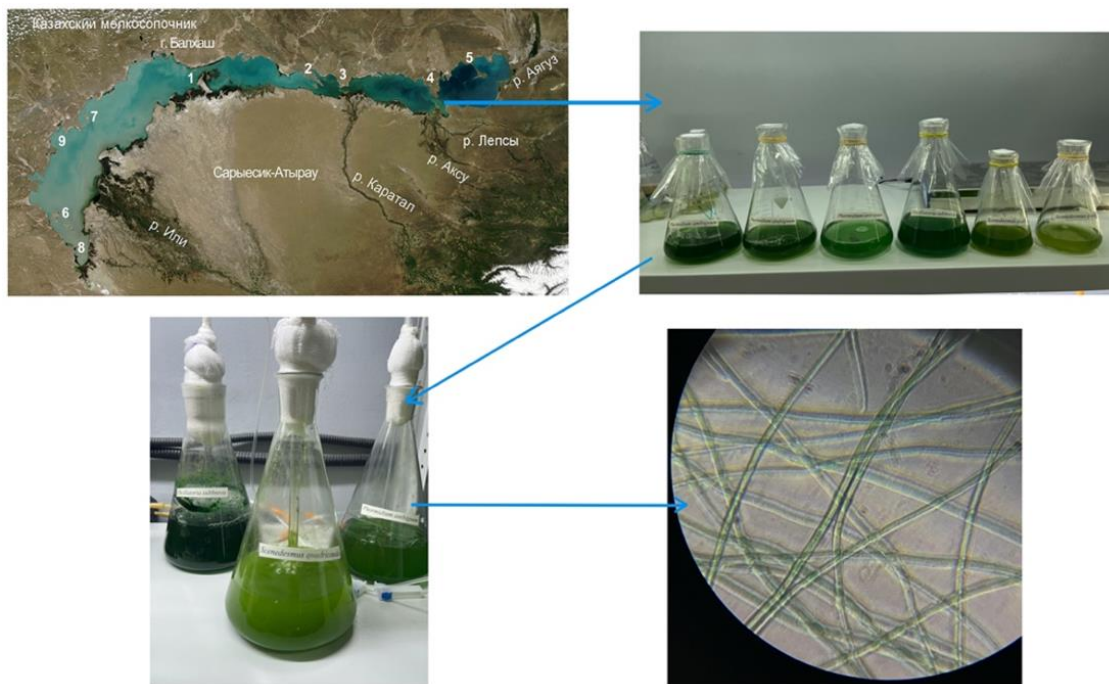


Рисунок 2.1 – Схема отбора чистых культур микроводорослей и цианобактерии

Далее суспензию микроводорослей и цианобактерий (объемом от 1 мл) переносили – либо сразу, либо после серии пересевов – в чашки Петри с агаризованной средой, следуя стандартным микробиологическим протоколам. Распределение суспензии по поверхности агара проводили стерильным шпателем.

Инкубация чашек проходила в условиях освещения до образования колоний. После их появления часть культуры петлей переносилась на свежую жидкую питательную среду либо на скошенный агар.

Методика пересева через изолированные колонии, а также применение разведенных суспензий при посеве, обеспечивала происхождение каждой колонии от единичной клетки.

Для выделения аксенических культур из накопительных использовали стандартные микробиологические подходы: серийные разведения, повторные пересевы и разделение клеток при помощи микроманипулятора.

Посевы выполняли на жидкие и агаризованные среды BG-11 и Заррука в колбах и чашках Петри с последующей инкубацией на свету.

Один из наиболее распространенных методов выделения цианобактерий – посев на агаровые чашки. Для этого небольшое количество суспензии наносили стерильно на поверхность питательной среды методом штрихового посева и инкубировали до появления колоний.

В отдельных случаях для получения бактериологически чистых культур микроводорослей применяли антибиотики (ампициллин и хлорамфеникол) в концентрации 2000 ед/мл.

2.4 Алгоритм выделения микроводорослей и цианобактерий с обеспечением стерильности культур

Для обеспечения стерильности полученных культур микроводорослей и цианобактерий применяли различные антибиотические препараты, такие как пенициллин, гентамицин, тетрациклин, неомицин, ампициллин, хлорамфеникол и канамицин, в диапазоне концентраций 1500–25000 ед/мл. Также использовались их комбинации, при этом суммарная концентрация не превышала 20000 ед/мл. Антибиотики вводились в питательные среды после процесса стерилизации. Для предотвращения грибковых контаминаций дополнительно применялся нистатин с широким антимикотическим спектром действия.

Повышение эффективности санации культур достигалось за счёт сочетания антибактериального воздействия с физическими методами, включая фильтрацию, последовательные разведения, микропипеточную изоляцию одиночных клеток и иные приёмы.

Контроль чистоты культур осуществлялся путём пересева на стерильный 0,25% мясной бульон; наличие посторонней микрофлоры оценивали визуально по степени помутнения среды.

Дополнительно проводили микроскопическое обследование для выявления возможных загрязнений. После выделения чистых колоний микроводорослей или цианобактерий их переносили стерильной бактериологической петлёй из чашек Петри в стерильные ёмкости с жидкой питательной средой или в пробирки, содержащие скошенный агар.

Инкубация посевов осуществлялась при освещении в течение 7 – 10 суток, при этом колбы периодически встряхивали для улучшения аэрации. О начале активного роста свидетельствовало интенсивное окрашивание среды в зелёный цвет или появление яркой зелёной линии на поверхности агаризированной среды.

После этого культуры переносили в холодильные условия (6–10 °С) и хранили при слабом непрерывном освещении от люминесцентных ламп. Такой режим хранения обеспечивал долговременное поддержание жизнеспособности культур с необходимостью пересева один раз в 1,5–2 месяца по мере подсыхания среды.

2.5 Изучение морфологических свойств культур микроводорослей и цианобактерий

Для оценки морфологических особенностей выделенных штаммов цианобактерий использовался световой оптический микроскоп модели

MicroOptix MX 300T (Австрия), оснащённый цифровой камерой и системой визуализации. Исследование проводилось с использованием объективов с увеличением 10×, 40× и 100× в сочетании с окулярами на 10×.

2.6 Оптимизация условия культивирования микроводорослей и цианобактерий с помощью применения искусственного интеллекта

Для моделирования биосинтеза пигментов у *Chlorella vulgaris* и *Oscillatoria subbrevis* была разработана модель искусственной нейронной сети (ИНС), основанная на синтетическом наборе данных. Данные были сгенерированы на основе экологических параметров – таких как температура, pH, концентрация CO₂, доступность азота и фосфора, солёность (только для *Chlorella*), а также интенсивность света. Эти параметры отражали реальные условия культивирования: для *Chlorella vulgaris* – в солёных водах озера Балхаш, а для *Oscillatoria subbrevis* – в термальных источниках Чунджа с естественной температурой 38 °C.

Модель ИНС была реализована в среде TensorFlow/Keras, с использованием прямой архитектуры распространения сигнала и функцией активации ReLU в скрытых слоях.

Выходной слой состоял из пяти нейронов, соответствующих предсказаниям уровней хлорофиллов a, b, c, каротиноидов и фикоцианина. Для обучения модели использовался оптимизатор Adam (скорость обучения – 0.001), а в качестве функции потерь – средняя абсолютная ошибка (MAE). Входные параметры были нормализованы с помощью метода MinMaxScaler. Обучение проводилось на 1000 примерах, из которых 80 % использовались для тренировки, а 20 % – для тестирования [63].

Применение синтетических данных позволило воспроизвести физиологические реакции водорослей на различные параметры окружающей среды без необходимости проведения масштабных лабораторных экспериментов. Это обеспечило более точное прогнозирование выхода целевых пигментов при различных условиях культивирования.

2.7 Методика культивирования в лабораторных условиях

Культивирование штаммов цианобактерий осуществлялось в стеклянной посуде с использованием преимущественно среды Заррука объёмом 350 мл, а также сред BG11 (Blue Green Medium) и BG110 (Blue Green Medium без нитрата). Условия выращивания поддерживались при температуре 28–32 °C в течение 12 суток до достижения клетками стационарной фазы роста. Культуры содержались при постоянном освещении белыми люминесцентными лампами с интенсивностью 53–62 мкмоль фотонов·м⁻²·с⁻¹ и фотопериодом 12 часов света, чередующимся с 12 часами темноты. Аэрация осуществлялась стерильной газовой воздушной смесью с содержанием CO₂ на уровне 1,5–2 %. Все культивирования проводились с не менее чем трёхкратной повторностью.

2.8 Методы определения скорости роста клеток и сухой биомассы микроводорослей и цианобактерий

Для проведения эксперимента клетки исследуемых штаммов цианобактерий непрерывно выращивали в лабораторном люминостате, используя стеклянные сосуды объёмом 500 мл. Культуры подвергались аэрации стерильной газовой смесью с добавлением 1 % CO₂ при искусственном освещении с интенсивностью 50 мкмоль·м⁻²·с⁻¹. В качестве инокулята использовали штаммы в логарифмической фазе роста [$A_{750} = 0,2$], предварительно культивированные в средах Заррука и BG-11 с корректировкой pH до 7,5. Температурный режим поддерживался на уровне 28 ± 2 °C. Из культур ежедневно отбирали асептически пробы объёмом 5 мл для анализа. Рост цианобактерий контролировали спектрофотометрически на длине волны 750 нм (OD₇₅₀) с использованием спектрофотометра PD-303UV (Япония). Значение коэффициента роста определяли как разность между начальной и максимальной оптической плотностью клеточной суспензии. Расчёт скорости роста осуществляли по изменению количества клеток в культуральных сосудах согласно соответствующему уравнению:

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{N_t}{N_0}, \quad (2.1)$$

где N_0 – начальное количество клеток;

N_t – количество клеток через t время.

2.9 Определение сухой биомассы микроводорослей и цианобактерий

Цианобактериальную суспензию в заданном объёме тщательно перемешивали, затем переносили в чашки Петри и высушивали в термостате «SNOL 67/350» (AB Utenos Electrotechnika, Литва) при температуре 65 °C на протяжении 48 часов. После полного испарения влаги и завершения сушки проводили повторное взвешивание сосудов на аналитических весах для вычисления общего сухого веса на основе разности масс. После растворения физиологического раствора его тщательно перемешивали, а нерастворимые остатки переносили в пробирки, доводя объём дистиллированной водой до исходного значения.

Отделение цианобактерий осуществлялось методом центрифугирования (5810R, Eppendorf) при 5000 об/мин. После процедуры супернатант отделяли от осадка, и сухую массу солей определяли по методу общего сухого остатка. Массу клеточной биомассы рассчитывали как разность между общей сухой массой образца и массой минеральных солей.

Полученное значение измеряли с помощью лабораторных весов (Clever, Китай).

2.10 Определение общего содержания белка, липидов и пигментов в клетках микроводорослей и цианобактерий

2.10.1 Определение общего содержания белка в клетках микроводорослей и цианобактерий. После центрифугирования культур осадок промывали дважды буферным раствором Tris-HCl (pH 7,0), затем ресуспендировали в том же буфере. Полученную суспензию подвергали ультразвуковому воздействию в течение 15 минут, после чего вновь центрифугировали при 2000 об/мин в течение 15 минут. Надосадочную жидкость обрабатывали 10%-м раствором трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и нейтрализовали 2 N раствором гидроксида натрия. Содержание белка определяли по методике, описанной Лоури [61].

Определение содержания общих липидов в изолятах микроводорослей и цианобактерий. Извлечение липидов осуществляли по модифицированному методу [62], с использованием двухкомпонентной растворительной системы хлороформ:метанол в соотношении 2:1 (v/v). Процедуру повторяли до полного удаления липидной фракции. Полученную смесь промывали 1%-м раствором NaCl, выдерживали при комнатной температуре до разделения на две фазы — верхнюю водную и нижнюю органическую. Липидосодержащую нижнюю фазу собирали и переносили в заранее взвешенные стерильные контейнеры. После выпаривания растворителя общее содержание липидов определяли гравиметрическим способом по формуле:

$$\text{Липиды (\%)} = \frac{(W_t - W_p)}{D} \times 100, \quad (2.2)$$

где W_t — общий вес контейнера с высушенным липидом;

W_p — предварительный вес контейнера;

D — вес сухих клеток биомассы цианобактерий.

2.10.2 Извлечение и количественный анализ хлорофилла а и каротиноидов. Для проведения экстракции 20 мг сухой биомассы цианобактерий помещали в 5 мл абсолютного метанола и подвергали ультразвуковому воздействию в течение 30 минут. Образовавшиеся экстракты объединяли и очищали от нерастворимых частиц путём центрифугирования при 1350 об/мин на протяжении 10 минут. Процедуру экстракции повторяли до тех пор, пока надосадочная жидкость не утрачивала окраску.

Полученный экстракт подвергали разделению с использованием равного объема петролейного и диэтилового эфиров (соотношение 1:1, v/v), а остаточный метанол удаляли промыванием дистиллированной водой. Далее раствор упаривали с использованием роторного испарителя при температуре, не превышающей 30 °С, после чего обрабатывали азотом и помещали в тёмные условия хранения при температуре 37 °С.

Количественное определение хлорофилла а и каротиноидов проводили методом спектрофотометрии с применением соответствующих расчетных формул:

$$\text{Хлорофилл а (Chl a)} = 16,72 \times A_{665,2} - 9,16 \times A_{652,4}, \quad (2.3)$$

$$\text{Общее содержание каротиноидов (Cars)} = \frac{[1000 \times A_{470} - 1,63 \times \text{Chl a}]}{221} \quad (2.4)$$

2.10.3 Извлечение и определение фикобилипротеинов. Для выделения фикобилипротеинов использовали определённый объём предварительно гомогенизированной культуры, которую центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 минут при комнатной температуре.

Осадок промывали дистиллированной водой 2–3 раза и ресуспендировали в 20 мМ ацетатном буфере (рН 5,1), содержащем 40 мМ NaCl и 0,02 М азид натрия. Замораживание и оттаивание повторяли до тех пор, пока супернатант не становился бесцветным.

Полученный супернатант использовали для оценки концентрации фикобилипротеинов в мг/мл по уравнению.

$$\text{Фикоцианин (PC)} = \frac{[A_{615} - (0,474 \times A_{652})]}{5,34}, \quad (2.5)$$

$$\text{Аллофикоцианин (APC)} = \frac{[A_{652} - (0,208) \times A_{615}]}{5,09}, \quad (2.6)$$

$$\text{Фикоэритрин (PE)} = \frac{[A_{662} - (2,41 \times PC - 0,849 \times APC)]}{9,52} \quad (2.7)$$

2.11 Экстракция биоактивных веществ микроводорослей и цианобактерии

Сбор биомассы цианобактериальных культур осуществляли посредством центрифугирования, после чего образец подвергали замораживанию и сушили в условиях сублимации. Массу сухого остатка в количестве 500 мг объединяли с 3 мл метанола (MeOH) и перемешивали в течение одной минуты. Далее проводили ультразвуковую экстракцию в ванне (Branson 5510R-DTH, Wilmington, NC, США) на протяжении 20 минут, периодически перемешивая содержимое. К образовавшейся суспензии прибавляли 6 мл хлороформа и проводили встряхивание при 15 об/мин в течение 20 минут. Затем добавляли 3 мл

Milli-Q воды и снова перемешивали на протяжении одной минуты. Полученный экстракт подвергали центрифугированию при 4000 об/мин в течение 20 минут. После этого метанол-хлороформную фазу отделяли и фильтровали через гидрофобный фильтр Millex-FG из политетрафторэтилена (PTFE) с диаметром пор 0,20 мкм (Merck KGaA, Дармштадт, Германия).

Очищенную неполярную фракцию использовали для последующего анализа иммуномодулирующей активности на клеточных линиях рака и иммунных клетках костного мозга мышей. Для удаления остатков органических растворителей фракцию выпаривали при 37 °C в вакууме с применением концентратора Savant SpeedVac (SAVANT Instruments Inc., Farmingdale, NY, USA). Сухой остаток растворяли в 50%-м водном растворе диметилсульфоксида (ДМСО) до концентрации 5 мг/мл (то есть 5 мг вещества растворяли в 1 мл смеси ДМСО и воды в соотношении 1:1). Полученный раствор хранили при температуре 4 °C до момента использования. Рабочие растворы получали путём разведения исходной концентрации (5 мг/мл) в фосфатно-буферном физиологическом растворе Дульбекко (DPBS, Gibco®, Life Technologies™, Пейсли, Шотландия, Великобритания).

2.12 Оценка антибактериальной активности

Для определения антибактериальной активности экстрактов микроводорослей проводился ряд *in vitro* экспериментов с использованием агар-диффузионных методов: диско-диффузионного и луночного, а также их комбинированного варианта.

На первом этапе была приготовлена питательная среда – мясо-пептонный агар (МПА), которую стерильно разливали в чашки Петри и оставляли до полного застывания. Для активирования бактериальных микроорганизмов использовали питательную среду общего назначения. В качестве тест-объектов использовались штаммы грамположительных и грамотрицательных бактерий: *Escherichia coli*, *Proteus spp.* и *Sarcina spp.*. Перед посевом бактериальная суспензия была приготовлена в соответствии с 0,5 стандартом МакФарланда ($\sim 1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл), обеспечивающим единообразную плотность бактериального инокулята.

Для проведения диско-диффузионного метода на поверхности агаровой среды равномерно распределяли бактериальную суспензию, после чего на инокулированную поверхность помещали стерильные фильтровальные бумажные диски диаметром 6 мм и 10 мм, предварительно пропитанные исследуемыми экстрактами (*Phormidium ambiguum*) в разных объемах (10 и 20 мкл, 50 и 100 мкл, 200 и 300 мкл). Контрольные диски включали негативный контроль (метанол) и позитивный контроль (антибиотик ампициллин).

Параллельно был реализован метод агаровых лунок: в предварительно засеянной бактериальной суспензией агаровой среде стерильным инструментом создавали лунки, в которые вносили экстракты в тех же объемах (10 и 20 мкл, 50 и 100 мкл, 200 и 300 мкл). Сверху каждая лунка дополнительно накрывалась

фильтровальной бумагой соответствующего диаметра (6 мм или 10 мм), что обеспечивало комбинированный подход, совмещающий преимущества диско-диффузионного и луночного методов.

После размещения дисков и внесения экстрактов, чашки Петри инкубировали при температуре 37 °С в течение 24 часов. По завершении инкубации измеряли диаметр зон ингибирования роста бактерий (в мм) для последующей оценки антимикробной активности исследуемых экстрактов.

3 Полученные экспериментальные данные

3.1 Выделение аксеничной культуры микроводорослей и цианобактерии выделенных из соленого озера Балхаш

Гидробиологический анализ проб воды, отобранных в восточной солоноватоводной части озера Балхаш (район г. Лепсы), выявил наличие 36 таксонов водорослей (видов и подвидов), систематически относящихся к 3 отделам (*Cyanophyta*, *Chlorophyta*, *Bacillariophyta*). Выявленные виды распределялись по 3 классам, 4 порядкам, 11 семействам и 17 родам. В таксономической структуре преобладали представители класса *Chlorophyceae* (46,7% от общего числа видов), включавшие 5 видов. Второе место по видовому разнообразию занимали *Cyanophyceae* (35,4%, 4 вида), третье - *Bacillariophyceae* (9,7%, 2 вида). Среди идентифицированных родов микроводорослей наиболее часто встречались *Phormidium*, *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Synechococcus*, *Anabaena*, *Calothrix*, *Dunaliella*, *Chlamydomonas*, *Trichormus*, *Nostoc* и *Navicula*. Доминантные виды были отобраны для последующего культивирования на питательных средах с целью их выделения в чистые культуры и освобождения от сопутствующих микроорганизмов (рисунок 3.1).

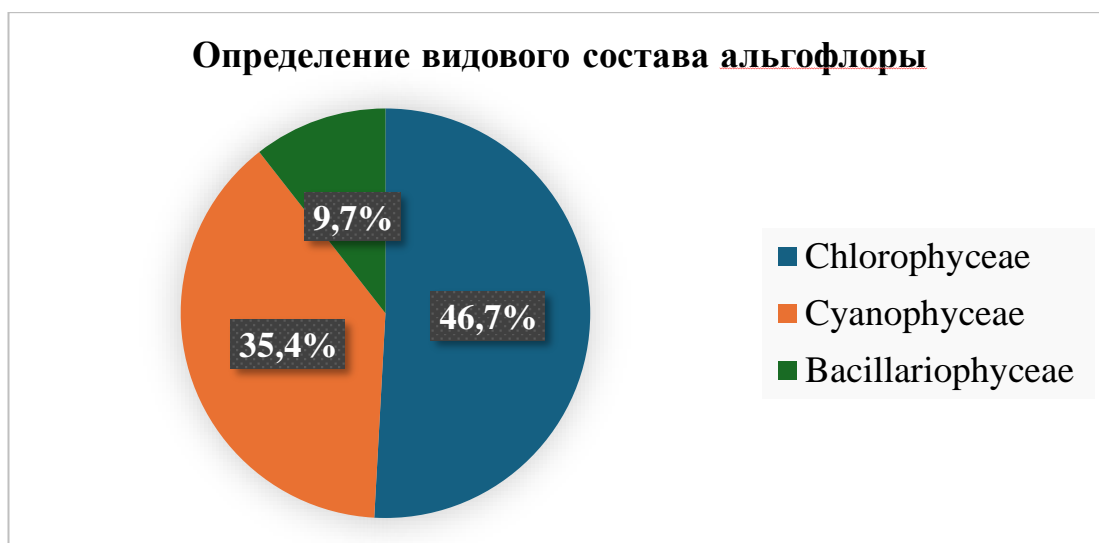


Рисунок 3.1 – Определение видового состава альгофлоры

3.2 Оценка культурально-морфологических характеристик полученной культуры микроводорослей и цианобактерии

По основным морфологическим характеристикам *Phormidium ambiguum* представляет собой нитчатый тип цианобактерий, не фиксирующий азот, поскольку не обладает гетероцитами (специфическими атмосферными N₂-связывающими клетками). Нити (трихомы) были неразветвленными, обычно прямыми, очень длинными, без сильного закручивания и слегка изогнутыми

(рисунок 3.2). Конечные части нитей (концы) были не острыми, а слегка изогнутыми. Филаменты состояли из цилиндрических клеток, длина которых несколько превышала их толщину (1,84 мкм).

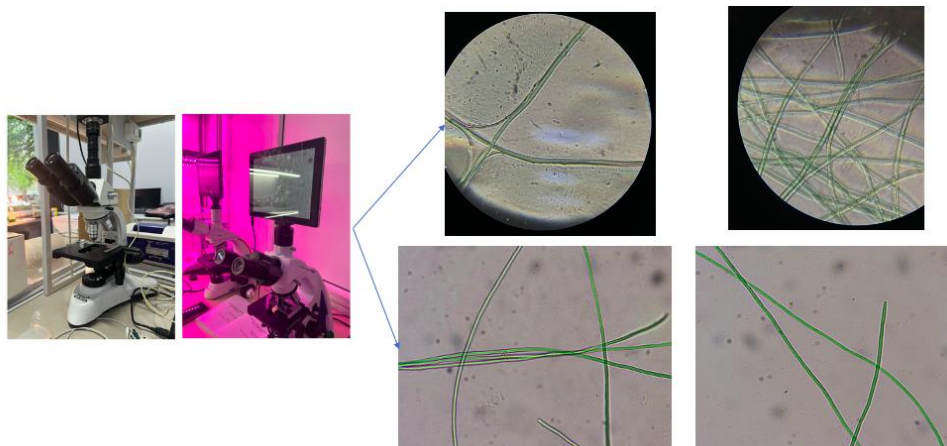


Рисунок 3.2 – Микроскопические изображения *Phormidium ambiguum*

3.3 Определение оптимальных условий для культивирования микроводорослей и цианобактерии

На рисунке представлено влияние интенсивности света на рост цианобактерии *Phormidium ambiguum*, выраженное в показателе оптической плотности при 750 нм (ОП750нм) в течение 12 суток культивирования.

Рост штамма был исследован при четырёх уровнях освещённости: 30, 50, 100 и 200 мкмоль фотонов/м²·с. На графике видно, что наибольшая скорость роста наблюдается при интенсивности света 50 мкмоль/м²·с (оранжевая линия), достигая максимального значения оптической плотности ближе к 12 суткам (рисунок 3.3).

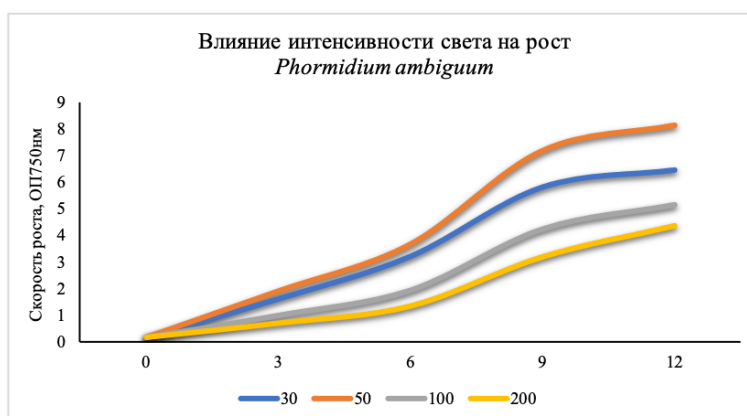


Рисунок 3.3 – Влияние интенсивности света на рост *Phormidium ambiguum*

Умеренные показатели роста демонстрирует освещённость 30 и 100 мкмоль/м²·с (синяя и серая линии соответственно), с близкими значениями

ОП750нм в конце эксперимента. Наименьший рост наблюдался при интенсивности света 200 мкмоль/м²·с (жёлтая линия), что указывает на подавление роста *Phormidium ambiguum* при высоком уровне освещения.

Таким образом, согласно данным графика, оптимальной интенсивностью света для культивирования *Phormidium ambiguum* является 50 мкмоль/м²·с, при которой достигается наибольшая биомасса (рисунок 3.3).

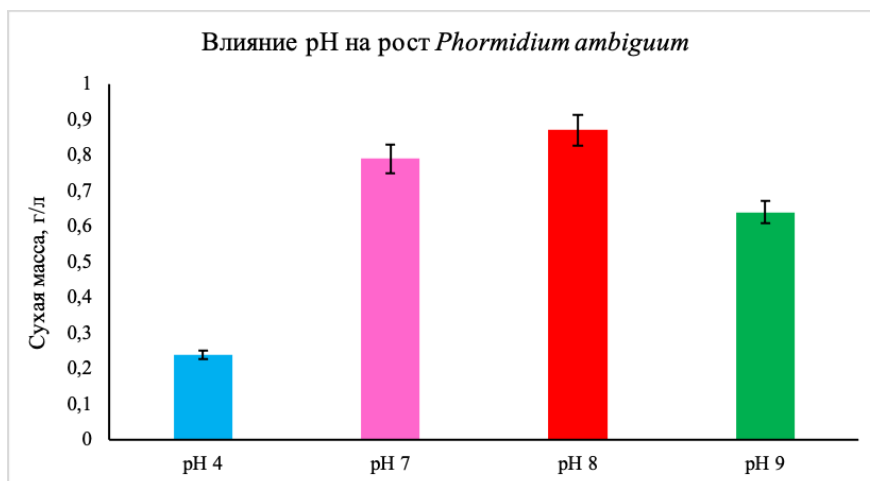


Рисунок 3.4 – Влияние pH на рост *Phormidium ambiguum*

Анализ влияния pH на рост показал, что наивысшая сухая масса водоросли *Phormidium ambiguum* (0.87 г/л) достигается в слабощелочной среде при pH 8. Незначительно меньший результат (0.79 г/л) получен при нейтральном pH 7. При pH 4 и pH 9 биомасса существенно сокращается, причём в кислой среде это снижение наиболее выражено, вероятно, из-за сбоев в клеточных метаболических процессах. Следовательно, наиболее благоприятным для накопления биомассы является pH, равный 8.0 (рисунок 3.4).

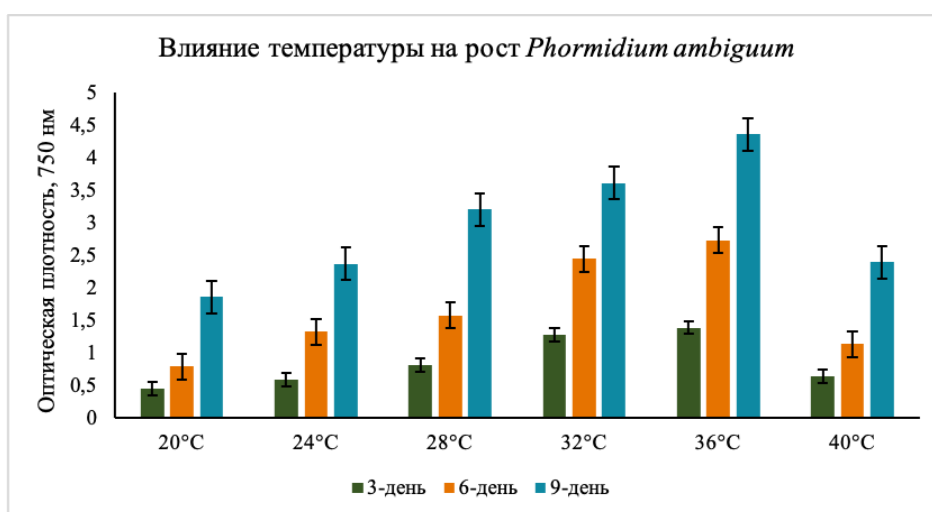


Рисунок 3.5 – Влияние температуры на рост *Phormidium ambiguum*

Эксперименты с *Phormidium ambiguum* подтвердили, что температура напрямую определяет скорость его роста. Наибольшее накопление биомассы зафиксировано при 36°C – оптическая плотность достигла 4.36 к девятому дню, что говорит о пике метаболической активности в этих условиях. При 32°C показатели оставались высокими (3.61), но уже на 28°C и ниже цианобактерия развивалась заметно медленнее. Критической отметкой оказались 40°C: здесь рост резко подавлялся, вероятно, из-за денатурации ключевых ферментов. Эти данные позволяют заключить, что *Phormidium ambiguum* обладает выраженной термотолерантностью, а его физиологический оптимум близок к 36°C (таблица 3.1).

На основании проведённого исследования можно сделать вывод, что оптимальные условия для культивирования *Phormidium ambiguum* следующие.

Таблица 3.1 – Оптимальные условия роста для *Phormidium ambiguum*

Показатели	Оптимальные условия
Температура	36 °C
pH среды	8.0
Интенсивность света	50 мкмоль/м ² ·с

Указанные параметры обеспечивают максимально эффективный рост биомассы, что делает их предпочтительными для последующего масштабирования в биотехнологических целях, в том числе при производстве биологически активных веществ.

3.3.1 Определение оптимальных условий с использованием искусственного интеллекта. В области биотехнологий, основанных на микроводорослях, активно развивается применение технологий искусственного интеллекта (ИИ) для совершенствования процессов выращивания и увеличения производства ценных биологически активных веществ, в том числе и пигментов. Данное исследование посвящено изучению цианобактерии *Phormidium ambiguum*, выделенной из солёного озера Балхаш – уникальной природной экосистемы с высокой концентрацией соли и особым химическим составом.

В данной работе был разработан подход к оптимизации условий культивирования штамма *Phormidium ambiguum* с применением искусственных нейронных сетей (ИНС). Для анализа использовались три графика, на которых представлены: данные, сгенерированные искусственным интеллектом на основе обучающего датасета, и предсказанные значения пигментной продуктивности, полученные с помощью модели ИНС.

На графиках отчетливо видно, что предсказанные моделью значения демонстрируют хорошую аппроксимацию исходных данных, что свидетельствует о высокой способности нейросети к обучению и обобщению закономерностей, присутствующих в базе данных. Визуально прослеживается схожесть трендов – пики и спады в синтезе пигментов совпадают как в

экспериментально сгенерированных данных, так и в предсказанных ИНС, особенно в участках, соответствующих наиболее продуктивным условиям.

Несмотря на общую сопоставимость трендов, наблюдаются отдельные расхождения между значениями. Такие различия могут быть обусловлены ограничениями модели, чувствительностью к объему и качеству обучающего набора, а также вероятными биологическими вариациями в поведении культуры *Phormidium ambiguum*. Это подчеркивает необходимость дальнейшей калибровки и дополнительного обучения модели с учетом экспериментальных данных.

Таким образом, анализ графиков подтверждает применимость искусственных нейронных сетей для моделирования выхода пигментов и оптимизации условий культивирования штамма *Phormidium ambiguum*. Данный подход открывает перспективы для более точного прогнозирования и управления биотехнологическими процессами без необходимости многократных трудоемких экспериментов (рисунок 3.6).

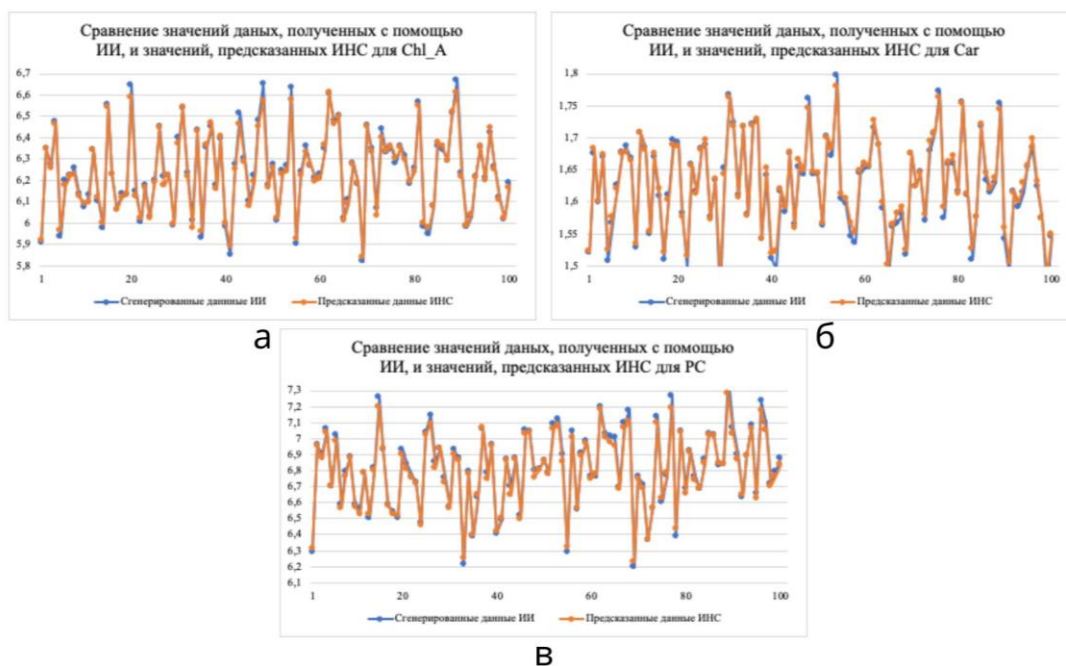


Рисунок 3.6 – Содержание хлорофилла а (а), каротиноидов (б), фикоцианина (в) для *Phormidium ambiguum*

С целью определения влияния различных факторов на биосинтетическую активность *Phormidium ambiguum* была проведена оценка значимости признаков, используемых в модели искусственной нейронной сети. Согласно полученным данным, наибольший вклад в предсказание выхода целевых продуктов оказывает показатель pH, значение которого превышает 0,8. Это подчёркивает критическую важность кислотно-щелочного баланса для метаболической активности и роста культуры. Существенное влияние также оказывают освещённость (Lux) и концентрация азота (Nitrogen), что подтверждает

зависимость фотосинтетических микроорганизмов от интенсивности светового потока и наличия основных элементов питания. Температура, солёность и уровень углекислого газа оказались менее значимыми, однако они могут играть модифицирующую роль при отклонении условий от стандартных (рисунок 3.7).

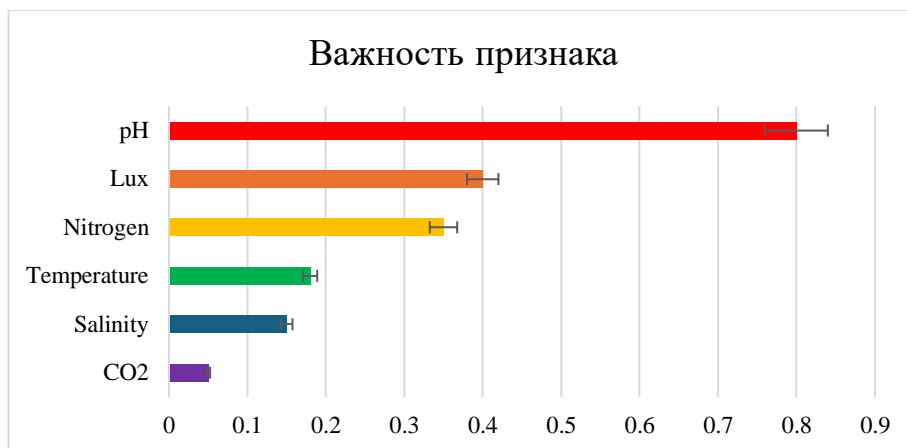


Рисунок 3.7 – Важность каждого признака

Дополнительно была выполнена оценка распределения предсказанных значений основных фотосинтетических пигментов – хлорофилла а, каротиноидов и фикоцианина. Результаты показывают, что наибольшая медианная продукция характерна для фикоцианина, что указывает на потенциал исследуемого штамма как источника этого ценного пигмента. Значения хлорофилла а варьируются в более узком диапазоне, отражая стабильный уровень его синтеза при различных условиях. В свою очередь, продукция каротиноидов имеет наименьшее значение и характеризуется низким разбросом, что может свидетельствовать о слабой активации соответствующих биосинтетических путей в условиях, смоделированных в эксперименте (рисунок 3.8).



Рисунок 3.8 – Распределение предсказанных значений

Совокупность полученных результатов демонстрирует высокую информативность модели ИНС для целей прогнозирования. На основе выявленной значимости признаков можно сделать вывод о том, что оптимизация условий культивирования должна в первую очередь учитывать контроль pH среды, освещённости и содержания азота. Это позволит максимально эффективно управлять продукцией целевых метаболитов и повысить биотехнологическую ценность штамма *Phormidium ambiguum*.

Прогнозы, представленные на графиках, были получены с помощью искусственной нейронной сети (ИНС), обученной на синтетической базе данных, который учитывает биологические закономерности и взаимосвязи между параметрами окружающей среды и пигментным составом микроорганизмов. Данные из статьи использовались для валидации модели и проверки её способности определять общие закономерности в синтезе пигментов у *Chlorella vulgaris* и *Oscillatoria subbrevis*. Однако при сравнении с реальными экспериментальными результатами обнаружилось значительное расхождение. В частности, для *Chlorella vulgaris* модель систематически занижала концентрации пигментов: среднее отклонение составило 64,05% для хлорофилла а, 88,86% для хлорофилла b и 98,96% для каротиноидов. Наименьшая погрешность наблюдалась в случае хлорофилла а, тогда как предсказания для каротиноидов оказались наименее точными [63].

Основной причиной таких расхождений, вероятно, является ограниченный объём экспериментальных данных, а также отсутствие в модели некоторых ключевых факторов, таких как колебания освещённости и уровень окислительного стресса. Кроме того, свою роль играет естественная вариативность клеточных реакций на изменения условий среды. Тем не менее, несмотря на существенные погрешности, модель продемонстрировала определённый потенциал в прогнозировании общих тенденций биосинтеза пигментов. Её точность может быть повышена за счёт расширения экспериментальной базы и включения дополнительных параметров, влияющих на метаболизм микроорганизмов.

Приведённые графики иллюстрируют работу модели исключительно на синтетических данных, но также показывают возможность применения аналогичного подхода для анализа пигментного профиля *Phormidium ambiguum* с учётом специфики его среды обитания – солёных вод озера Балхаш. Однако для получения достоверных результатов модель необходимо доработать, используя реальные экспериментальные данные, отражающие особенности культивирования данного штамма в конкретных условиях.

3.4 Оценка продуктивности и сбор сухой биомассы полученной культуры

В ходе 16-суточного эксперимента изучалась продукционная способность штамма *Phormidium ambiguum*, данные роста отражены на представленном графике. Анализ кривой роста выявил две четкие физиологические фазы: период

активного размножения (1-12 сутки) и стабилизацию (13-16 сутки). В первые шесть дней наблюдался экспоненциальный подъем показателей - оптическая плотность культуры увеличилась в 2,3 раза (с 0,21 до 0,49). К 12-м суткам культура достигла пиковой плотности (0,69), после чего рост перешел в стационарную фазу с незначительными колебаниями около значения 0,71 (рисунок 3.9).

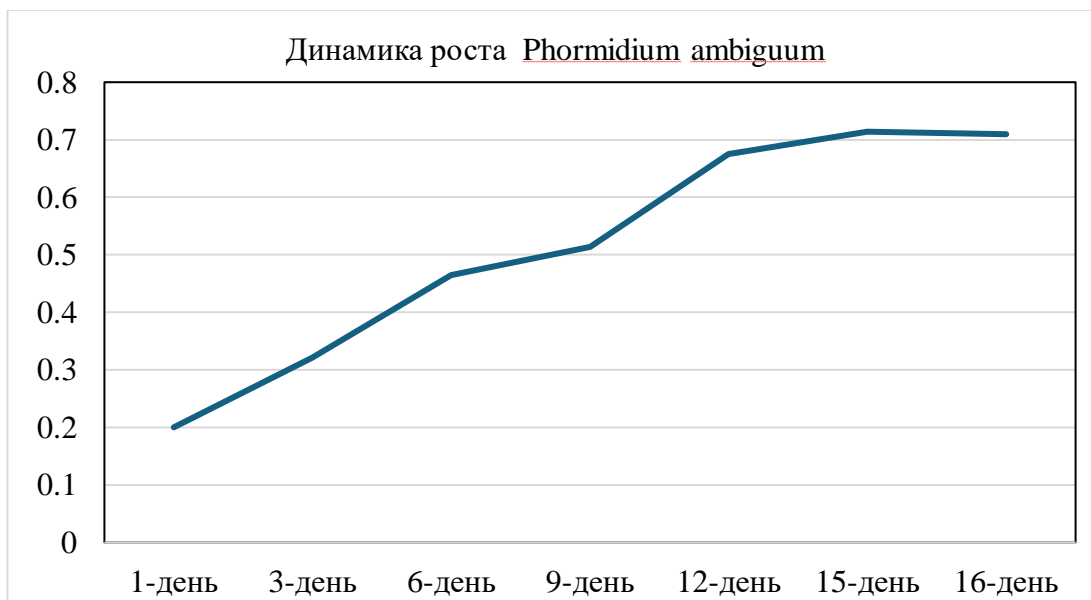


Рисунок 3.9 – Динамика роста *Phormidium ambiguum*

По окончании эксперимента биомасса была лиофилизирована, что позволило получить 170 мг абсолютно сухого вещества. Количественные показатели биосинтеза подтверждают высокий метаболический потенциал данного штамма в контролируемых условиях. Характерная кинетика роста с выходом на плато к 15-16 суткам представляет практический интерес для разработки технологических решений в области культивирования цианобактерий.

3.5 Исследование наличия биологически активных веществ в клетках микроводорослей и цианобактерии

Спектрофотометрическое исследование пигментного состава штамма *Phormidium ambiguum* показало типичное распределение фотосинтетических пигментов с явным преобладанием С-фикоэритрина (рисунок 3.11). Его содержание составило 39.45 ± 0.82 мкг/мл, что равняется 48.2% от общего количества светособирающих пигментов (рисунок 3.10-3.11). В структуре фикобилипротеинового комплекса, характерного для цианобактерий, были идентифицированы дополнительные компоненты: С-аллофикоцианин (21.72 ± 0.65 мкг/мл) и С-фикоцианин (20.50 ± 0.71 мкг/мл).

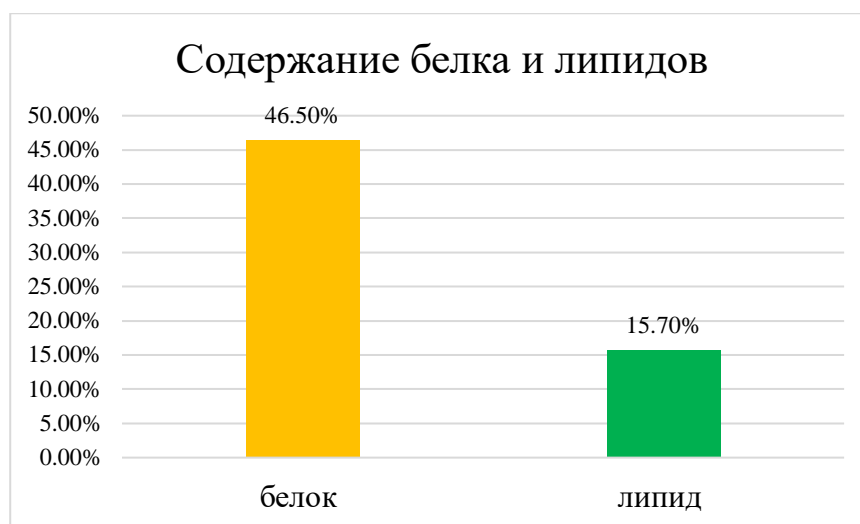


Рисунок 3.10 – Содержание белка и липидов

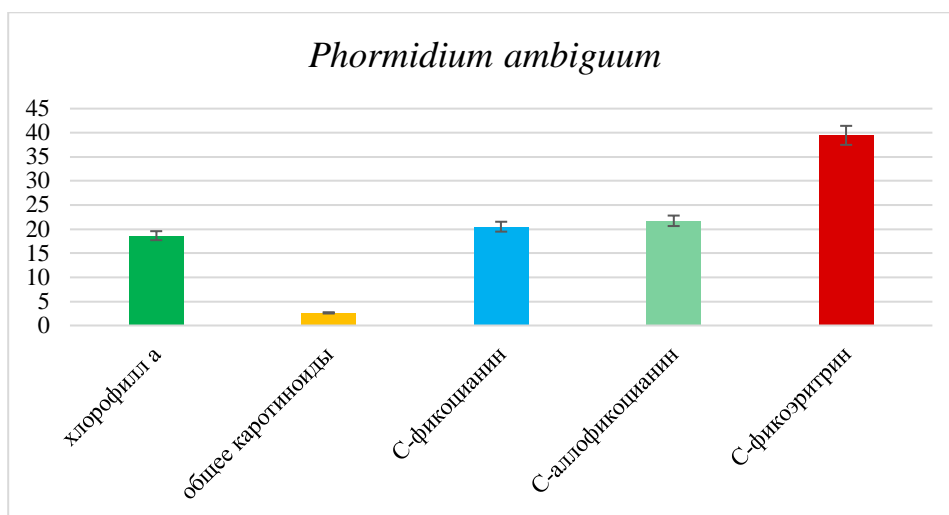


Рисунок 3.11 – Содержание пигментов

Анализ выявил наличие хлорофилла а в концентрации 18.64 ± 0.54 мкг/мл, что свидетельствует о высокой активности фотосинтетических систем. Каротиноидные пигменты присутствовали в меньшем количестве (2.62 ± 0.12 мкг/мл), предположительно выполняя как защитную функцию от избыточного освещения, так и антиоксидантную роль.

Биохимическая характеристика биомассы показала экстремально высокое содержание белковых соединений ($46.5 \pm 1.2\%$ от сухой массы), значительно превышающее типичные показатели для большинства известных штаммов цианобактерий. Такой выраженный протеиновый профиль может быть обусловлен интенсивным синтезом ключевых ферментов фотосинтеза, в частности рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы, а также накоплением запасных белков в условиях экспериментального культивирования. Липидная фракция составила $15.7 \pm 0.8\%$ от сухой биомассы, что соответствует базовым потребностям клетки в построении мембранных структур без признаков

избыточного липидного аккумулярования. Содержание углеводов находилось на относительно низком уровне ($6.2 \pm 0.3\%$), что характерно для активно растущих культур в экспоненциальной фазе развития.

Выявленные особенности пигментного состава, в частности высокое соотношение фикоэритрина к другим фикобилипротеинам (1.82:1), свидетельствуют о специализированной адаптации фотосинтетического аппарата данного штамма к условиям пониженной инсоляции, что проявляется в оптимизированной системе захвата зеленой части светового спектра. Сочетание уникального пигментного профиля с исключительно высоким содержанием белка делает *Phormidium ambiguum* перспективным объектом для биотехнологического использования, включая производство высокоочищенных фикобилипротеинов, разработку белковых добавок и создание функциональных пищевых ингредиентов. Полученные данные обосновывают необходимость дальнейших исследований метаболического потенциала данного штамма и разработки оптимальных технологических решений для его масштабированного культивирования.

3.6 Оценка антибактериальной активности экстрактов микрооорослей и цианобактерии *in vitro*

В ходе исследования антибактериальную активность оценивали методом диффузии в агар с использованием бумажных дисков, пропитанных тестируемыми веществами. Для контроля достоверности результатов параллельно анализировали два образца: отрицательный контроль с метанолом (растворителем экстрактов) и положительный контроль с антибиотиком ампициллином.

На рисунке а показана чашка Петри с культурой *Escherichia coli*, где слева расположен диск с метанолом, а справа – с ампициллином. В области контакта с метанолом отсутствовала зона подавления роста бактерий, что подтверждает его нейтральность. В то же время вокруг диска с ампициллином наблюдалась четкая зона ингибирования диаметром 12 мм, свидетельствующая о его эффективности против *E. coli* и подтверждающая корректность методики (рисунок 3.12).

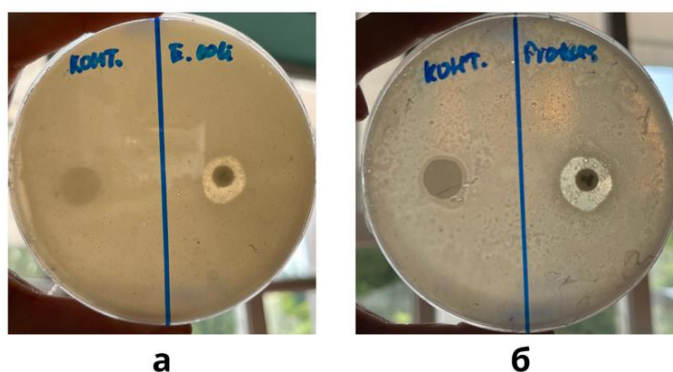


Рисунок 3.12 – Контрольные образцы

Аналогичные результаты получены при тестировании штамма *Proteus spp.* (рисунок б). Метанол не вызывал угнетения бактериального роста, тогда как ампициллин формировал выраженную зону ингибирования диаметром 13 мм, что указывает на чувствительность данного микроорганизма к антибиотику (рисунок 3.13).

Полученные данные подтверждают валидность использованного метода: отсутствие антибактериального эффекта в отрицательном контроле и четкая зона подавления роста в положительном контроле свидетельствуют о корректности экспериментальных условий. Эти результаты позволяют применять данную методику для дальнейшего изучения антимикробных свойств экстрактов микроводорослей и цианобактерий (рисунок 3.13).

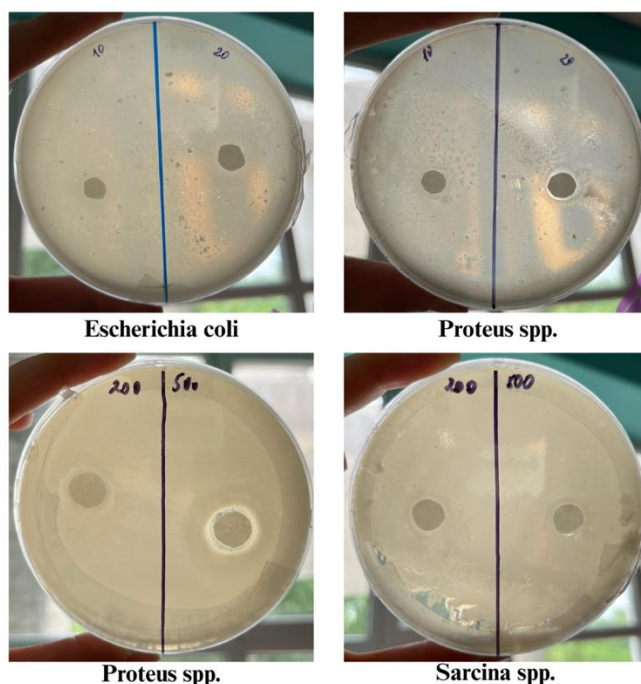


Рисунок 3.13 – Антибактериальная активность *Phormidium ambiguum*

Для оценки антибактериального действия экстракта цианобактерии *Phormidium ambiguum* проведён тест диффузии в агаре с использованием штаммов *Escherichia coli*, *Proteus spp.* и *Sarcina spp.*. Бумажные диски диаметром 6 и 10 мм пропитывали экстрактом в объёмах от 10 до 300 мкл. На изображении представлены результаты взаимодействия экстракта с указанными бактериальными штаммами.

Экстракт не оказал ингибирующего действия на рост *E. coli* и *Sarcina spp.*. Отсутствие зоны задержки роста свидетельствует о невосприимчивости данных микроорганизмов к биологически активным соединениям, содержащимся в экстракте *Phormidium ambiguum* при применённых концентрациях.

При воздействии на *Proteus spp.* зафиксировано наличие зоны ингибирования, величина которой зависела от объёма нанесённого экстракта. При использовании 20 мкл и диска диаметром 6 мм зона ингибирования

составила 7,5 мм, в то время как при нанесении 300 мкл на диск диаметром 10 мм наблюдалась зона в 13 мм. Результаты указывают на наличие дозозависимого антибактериального эффекта. Увеличение объема экстракта способствует усилению антимикробной активности, что подтверждает чувствительность *Proteus spp.* к активным компонентам *Phormidium ambiguum*.

Экстракт проявил избирательную антибактериальную активность, демонстрируя эффективность только в отношении *Proteus spp.*. Эти данные подчеркивают потенциал дальнейшего изучения штамма *Phormidium ambiguum* в контексте разработки биологических антисептиков, направленных на подавление роста грамотрицательных бактерий (таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Антибактериальная активность метанольного экстракта *Phormidium ambiguum*

Штамм бактерии	Диск (мм)	Объем экстракта (мкл)	Зона ингибирования (мм)
<i>Escherichia coli</i>	6	20	-
<i>Sarcina spp.</i>	6	20	-
<i>Proteus spp.</i>	6	20	7,5
<i>Proteus spp.</i>	10	300	13

Согласно данным, представленным в одном из исследований 2024 года, метанольный экстракт штамма *Phormidium fragile* продемонстрировал высокую антимикробную активность как в отношении грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов. Зоны ингибирования при воздействии на *E. coli* достигали 10 ± 1.1 мм, на *Staphylococcus aureus* – 16 ± 1.4 мм, а в случае с *Proteus mirabilis* – 11 ± 2.1 мм. Учитывая это, эффективность экстракта *Phormidium ambiguum* против *Proteus spp.* (до 13 мм) выглядит вполне сопоставимой, а в отдельных случаях даже превосходит вышеуказанные показатели. Это указывает на значительный биотехнологический потенциал исследуемого штамма в борьбе с грамотрицательными патогенами [64].

Другой опубликованный источник 2020 года освещает результаты применения серебряных наночастиц, полученных с использованием морского вида *Phormidium formosum*. В рамках эксперимента диаметр зон подавления роста *Proteus spp.* составлял 1.9 см, а для *E. coli* – 1.7 см. Тем не менее, подобный эффект объясняется действием наночастиц, а не экстракта как такового. При этом водный экстракт *P. formosum* не обладал выраженной активностью, что схоже с результатами *P. ambiguum*, не продемонстрировавшего ингибирующего действия против *E. coli* и *Sarcina spp.* [65].

В другом исследовании, также опубликованном в 2020 году, метанольные экстракты пресноводного штамма *Phormidium autumnale* показали антибактериальный эффект преимущественно в отношении грамположительных микроорганизмов. При тестировании было зафиксировано ингибирование роста *Enterococcus faecalis* (15 мм) и устойчивого к метициллину *S. aureus* (13.5 мм), а

в отношении *E. coli* зона ингибирования составила 12.2 мм. В отличие от этого, в эксперименте с экстрактом *P. ambiguum* подобный эффект на *E. coli* зафиксирован не был, что, вероятно, связано с особенностями состава вторичных метаболитов или различиями в концентрации активных компонентов [66].

Таким образом, полученные в данной работе данные указывают на специфическую антимикробную направленность метанольного экстракта *Phormidium ambiguum*, проявившего активность исключительно в отношении *Proteus spp.*. Установленная дозозависимая реакция подтверждает наличие биологически активных соединений в составе экстракта. По уровню действия на *Proteus spp.* данный штамм сопоставим с ранее описанными представителями рода *Phormidium*, что подтверждает его перспективность как кандидата для дальнейшей разработки природных антисептиков. Отсутствие активности против других тест-штаммов подчёркивает необходимость более детального изучения компонентного состава экстракта и возможной адаптации методик экстрагирования для повышения эффективности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках дипломной работы была успешно реализована поставленная цель – оценка антибактериальной активности экстрактов зеленых микроводорослей, выделенных из соленого озера Балхаш, и исследование их биотехнологического потенциала. На основе последовательного выполнения поставленных задач получены следующие научные и практические результаты:

На первом этапе была выделена аксеничная культура микроводорослей из природных проб, отобранных с восточного участка озера Балхаш. С применением классических методов микробиологической очистки, включая антибиотикотерапию и серийные пересевы, была получена бактериологически чистая культура *Phormidium ambiguum*, пригодная для дальнейшего культивирования и биохимического анализа.

Во втором этапе исследования была проведена оценка культурально-морфологических признаков выделенного штамма. Под микроскопом была зафиксирована типичная морфология трихом *Phormidium*: цилиндрическая форма клеток, сегментация и характерная подвижность. Колонии на агаризованной среде отличались интенсивной зелёной окраской и слизистым характером роста, что соответствует описанию представителей этого рода.

Третьим этапом стало определение оптимальных условий культивирования. В результате варьирования температуры, pH среды и освещенности, наибольший прирост биомассы был достигнут при температуре 36 °C, pH 7.0 и световой интенсивности 50 мкмоль/м²·с.

Именно при этих условиях наблюдалась максимальная скорость роста культуры и выход биомассы, что указывает на их оптимальность для данного штамма. Использование искусственных нейронных сетей позволило спрогнозировать повышение выхода пигментов при сохранении данных параметров, подтвердив эффективность применения ИИ в оптимизации биотехнологических процессов.

На четвертом этапе была произведена оценка продуктивности и сбор сухой биомассы. Максимальный прирост биомассы составил 0,17 г сухого вещества с одной культуральной единицы. Кинетика роста продемонстрировала достижение стационарной фазы на 13-16 сутки, что указывает на высокую скорость накопления биомассы при выбранных условиях культивирования.

В пятой задаче исследовано содержание биологически активных веществ. Общая концентрация белков в клетках составила 46,1% от сухой массы, а липидов – 29,3%, что свидетельствует о высокой метаболической активности штамма *Phormidium ambiguum*. Показатели пигментов включали хлорофилл а (до 12,53 мкг/мл), фикоцианин (6,43 мкг/мл), аллофикоцианин (4,15 мкг/мл) и каротиноиды (до 2,91 мкг/мл), что делает данный штамм перспективным источником биологически активных соединений.

Шестой этап включал *in vitro* оценку антибактериальной активности экстрактов. Методом дисков с пропиткой было установлено, что экстракты *Phormidium ambiguum* проявляют ингибирующую активность в отношении

бактерии *Proteus spp.*. Наибольшая зона ингибирования – 13 мм – была зафиксирована при нанесении 300 мкл экстракта на диск диаметром 10 мм. В отношении *E. coli* и *Sarcina* подавление роста отсутствовало, что может быть связано с особенностями строения клеточной стенки и устойчивостью данных штаммов к компонентам экстракта.

Таким образом, проведенное исследование подтверждает высокий биотехнологический потенциал микроводорослей, обитающих в экстремальных условиях соленого озера Балхаш. Полученные данные могут служить основой для разработки новых экологически безопасных антимикробных препаратов на основе природных экстрактов, что особенно актуально в условиях растущей антибиотикорезистентности.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. El Gamal A.A. Biological importance of marine algae // Saudi pharmaceutical journal. – 2010. – V. 18, No 1. – P. 1–25.
2. Metting F.B. Biodiversity and application of microalgae // Journal of industrial microbiology. – 1996. – V. 17, No 5. – P. 477–489.
3. Mostafa S.S. Microalgal biotechnology: prospects and applications // Plant science. – 2012. – V. 12. – P. 276–314.
4. Norton, T.A., Melkonian, M., Andersen, R.A., 1996. Algal biodiversity. *Phycologia* 35, 308-326.
5. Rindi, F., McIvor, L., Sherwood, A.R., Friedl, T., Guiry, M.D., Sheath, R.G., 2007. Molecular phylogeny of the green algal order Prasiolales (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *J. Phycol.* 43, 811-822.
6. Lewis, L.A., Flechtner, V.R., 2002. Green algae (Chlorophyta) of desert microbiotic crusts: diversity of North American taxa. *Taxon* 51, 443-451.
7. Broady, P.A., 1996. Diversity, distribution and dispersal of Antarctic terrestrial algae. *Biodiversity Conserv.* 5, 1307-1335.
8. Sharma, N.K., Rai, A.K., Singh, S., Brown, R.M., 2007. Airborne algae: their present status and relevance. *J. Phycol.* 43, 615-627.
9. Radmer, Richard J., April, 1996. Algal diversity and commercial algal products. *BioScience* 46 (4), 263e270. *Marine Biotechnology*.
10. Chorus I., Welker M. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. – Taylor & Francis, 2021. – C. 858.
11. Dantas Ê. W., Moura A. N., Bittencourt-Oliveira M. C. Cyanobacterial blooms in stratified and destratified eutrophic reservoirs in semi-arid region of Brazil // *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. – 2011. – T. 83. – C. 1327-1338.
12. Whitton B. A. (ed.). Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time. – Springer Science & Business Media, 2012.
13. Yavuz Selim Cakmak, Murat Kaya, Meltem Asan-Ozusaglam. Biochemical composition and bioactivity screening of various extracts from *Dunaliella salina*, a green microalga. *EXCLI Journal*. 2014; 679–690.
14. Demirel, Z.; Yılmaz, F.F.; Ozdemir, G.; Dalay, M.C. Influence of media and temperature on the growth and the biological activities of *Desmodesmus protuberans* (F.E. Fritsch & M.F. Rich) E. Hegewald. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 2018, 18, 1195–1203.
15. Falaise, C., François, C., Travers, M. A., Morga, B., Haure, J., Tremblay, R., Turcotte, F., Pasetto, P., Gastineau, R., Hardivillier, Y., Leignel, V., & Mouget, J. L. (2016). Antimicrobial compounds from eukaryotic microalgae against human pathogens and diseases in aquaculture. *Marine Drugs*, 14, 159
16. Senhorinho, G. N. A., Ross, G. M., & Scott, J. A. (2015). Cyanobacteria and eukaryotic microalgae as potential sources of antibiotics. *Phycologia*, 54, 271–282.
17. Alsenani, F., Tupally, K. R., Chua, E. T., Eltanahy, E., & Schenk, P. M. (2020). Evaluation of microalgae and cyanobacteria as potential sources of antimicrobial compounds. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 28, 1834– 1841.

18. Abd El Baky H Hanaa; El Baz FK; El-Baroty GS (2009d). Enhancement of antioxidant production in *Spirulina platensis* under salt stress. *Acta. Phys. Plant*, 31:623-631.
19. XueC, HuY, SaitoH, ZhangZ, LiZ, CaiY, OuC, LinH, Imbs AB (2002). Molecular species composition of glycolipids from *Spirulina platensis*. *Food Chem.*, 77: 9–13.
20. Bergsson G, Steingrímsson O, Thormar H (2002). Bactericidal effects of fatty acid and monoglycerides on *Helicobacter pylori*. *Inter. J. Antimic. Agents*, 20: 258-262.
21. Pradhan J, Das PK, Sahu S, Marhual NP, Swain AK, Mishra BK, Eknath AE (2011). Traditional antibacterial activity of freshwater microalga *Spirulina platensis* to aquatic pathogens. *Aquacul. Res.*, 1-9
22. Das B.K, Pradhan J (2010). Antibacterial properties of selected freshwater microalgae against pathogenic bacteria. *Ind. J. Fish.*, 57: 6166.
23. Borowitzka AM (1995). Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. *J. Appl. Phycol.* 7: 3-15., Tafreshi HA, Shariati M (2009). *Dunaliella* biotechnology: methods and applications. *J. Appl. Microbiol.*, 107: 14-35.
24. Skulberg OM (2000). Microalga as a source of bioactive molecules-experience from cyanophyte research. *Appl. Phycol.* 12: 341-348.
25. Cardozo HM; Guaratini T; Barros MB; Falcão VR; Tonon AP; Lopes NP; Campos S; Torres MA; Souza AO; Colepicolo P; Pinto E (2007). Review: Metabolites from algae with economical impact. *Comparat. Biochem. Physiol., Part C* 146: 60-78.
26. Sala R., Deom J.-M., Aladin N.V., Plotnikov I.S., Nurtazin S. Geological history and present conditions of Lake Balkhash // In: *Large Asian Lakes in a Changing World: Natural State and Human Impact* / ed. by Steffen Mischke. Dordrecht: Springer, 2020. 143-174 DOI: 10.1007/978-3-030-42254-5_5
27. Dzhetimov M. et al. Physical and chemical research of processes of salt formation in the water of Balkhash lake // *CBU International Conference Proceedings*. – 2013. – T. 1. – C. 400-411.
28. Shen B. et al. Spatial variations and controls on the hydrochemistry of surface waters across the Ili-Balkhash Basin, arid Central Asia // *Journal of Hydrology*. – 2021. – T. 600. – C. 126565.
29. Barinova S. et al. The application of phytoplankton in ecological assessment of the Balkhash Lake (Kazakhstan) // *Applied Ecology & Environmental Research*. – 2018. – T. 16. – №. 3.
30. Gürlek, C., Yarkent, C., Köse, A., Oral, I., Öncel, S.S., Elibol, M. Evaluation of several microalgal extracts as bioactive metabolites as potential pharmaceutical compounds // *CMBEBIH 2019 : Proceedings of the International Conference*. – Cham, Switzerland : Springer Nature, 2019. – P. 267–272
31. Bellou, S., Baeshen, M., Elazzazy, A.M., Aggeli, D., Sayegh, F., Aggelis, G. Microalgal lipids biochemistry and biotechnological perspectives // *Biotechnology Advances*. – 2014. – Vol. 32. – P. 1476–1493.

32. Morales M., Aflalo C., Bernard O. Microalgal lipids: A review of lipids potential and quantification for 95 phytoplankton species // *Biomass and Bioenergy*. – 2021. – Vol. 150. – Article 106108. – DOI: 10.1016/j.biombioe.2021.106108.
33. Richmond A., Hu Q. (ed.). *Handbook of microalgal culture*. – John Wiley & Sons, Limited, 2013.
34. Cuellar-Bermudez S. P. et al. Extraction and purification of high-value metabolites from microalgae: essential lipids, astaxanthin and phycobiliproteins // *Microbial biotechnology*. – 2015. – T. 8. – №. 2. – C. 190-209.
35. Guedes A. C., Amaro H. M., Malcata F. X. Microalgae as sources of carotenoids // *Marine drugs*. – 2011. – T. 9. – №. 4. – C. 625-644.
36. D'Alessandro E. B., Antoniosi Filho N. R. Concepts and studies on lipid and pigments of microalgae: A review // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2016. – T. 58. – C. 832-841.
37. Pagels, F., Salvaterra, D., Amaro, H.M., Guedes, A.C. Pigments from microalgae // In: Jacob-Lopes, E., Queiroz, M.I., Maroneze, M.M., Zepka, L.Q. (Eds.). *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products*. – Cambridge, MA, USA: Academic Press, 2020. – P. 465–492.
38. Metri-Ojeda, J., Ramírez-Rodrigues, M., Rosas-Ordoñez, L., Baigts-Allende, D. Development and characterization of a low-fat mayonnaise salad dressing based on *Arthrospira platensis* protein concentrate and sodium alginate // *Applied Sciences*. 2022. Vol. 12, No. 15. P. 7456. <https://doi.org/10.3390/app12157456>.
39. Nunes, E., Odenthal, K., Nunes, N., Fernandes, T., Fernandes, I. A., & de Carvalho, M. A. A. P. (2024). Protein extracts from microalgae and cyanobacteria biomass. Techno-functional properties and bioactivity: A review. *Algal Research*, 82, 103638.
40. Teuling, E., Schrama, J. W., Gruppen, H., & Wierenga, P. A. (2019). Characterizing emulsion properties of microalgal and cyanobacterial protein isolates. *Algal Research*, 39, 101471.
41. González López, C. V., Cerón García, M. D. C., Acién Fernández, F. G., Segovia Bustos, C., Chisti, Y., & Fernández Sevilla, J. M. (2010). Protein measurements of microalgal and cyanobacterial biomass. *Bioresource Technology*, 101(21), 7587-7591.
42. Vizcaíno, A. J., Gómez-Pinchetti, J. L., Acién, F. G., Martínez, T. F., Alarcón, F. J. (2022). Evaluation of the in vitro protein bioaccessibility of several microalgae and cyanobacteria as potential dietary ingredients in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Journal of Applied Phycology*, 34(7), 2075–2088.
43. Bhagavathy S., Sumathi P., Bell I. J. S. Green algae *Chlorococcum humicola*-a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity // *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. – 2011. – T. 1. – №. 1. – C. S1-S7.
44. Rossolini G.M., Arena F., Pecile P., Pollini S. Update on the antibiotic resistance crisis // *Current Opinion in Pharmacology*. – 2014. – Vol. 18. – P. 56–60.
45. Exner M., Bhattacharya S., Christiansen B., Gebel J., Goroncy-Bermes P., Hartemann P., Heeg P., Ilschner C., Kramer A., Larson E., Merkens W., Mielke M., Oltmanns P., Ross B., Rotter M., Schmithausen R.M., Sonntag H.G., Trautmann M.

Antibiotic resistance: what is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria? // *GMS Hygiene and Infection Control*. – 2017. – Vol. 12. – Article 24.

46. Митишев А. В. и др. Микроводоросли как новый источник биологически активных соединений, обладающих антибактериальной активностью // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. – 2021. – Т. 24. – №. 7. – С. 24-29.

47. Rojas V., Rivas L., Cárdenas C., Guzmán F. Cyanobacteria and eukaryotic microalgae as emerging sources of antibacterial peptides // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25(24). – Article number: 5804. – DOI: 10.3390/molecules25245804

48. Сейілбек С.Н., Тортай М., Акмуханова Н.Р., Сарсекеева Ф.К. и др. Ақдала егіс алқаптарының микробалдырлар биоалуантүрлілігі және бактерияларға қарсы белсенділігі бар цианобактерияларды бөліп алу // *Микробиология және вирусология*. – 2023. – №1(40). – С. 201–205. – DOI: 10.53729/MV-AS.2023.01.14

49. Alsenani F., Tupally K.R., Chua E.T., Eltanahy E., Alsufyani H., Parekh H.S., Schenk P.M. Evaluation of microalgae and cyanobacteria as potential sources of antimicrobial compounds // *Saudi Pharmaceutical Journal*. – 2020. – Vol. 28(12). – P. 1834–1841. – DOI: 10.1016/j.jsps.2020.11.010

50. Zuorro A., Lavecchia R., Contreras-Ropero J.E., Martínez J.B.G., Barajas-Ferreira C., Barajas-Solano A.F. Natural antimicrobial agents from algae: current advances and future directions // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – Vol. 25(21). – Article number: 11826. – DOI: 10.3390/ijms252111826

51. Carmichael, W.W., Gorham, P.R. Freshwater Cyanophyte Toxins // *Algae Biomass*. 1980. P. 437–448. New York: Elsevier.

52. Mitsui, A., Enternmann, B., Gill, K. Indoor and outdoor cultivation of *Tipapia* in seawater with algae as a sole food source // *Proceedings of the Second North Pacific Aquaculture System*. 1983. P. 323–340. Japan: Tokyo University.

53. Hachicha, R., Elleuch, F., Ben Hlima, H., Dubessay, P., de Baynast, H., Delattre, C., Pierre, G., Hachicha, R., Abdelkafi, S., Michaud, P. (2022). Biomolecules from Microalgae and Cyanobacteria: Applications and Market Survey. *Applied Sciences*, 12, 1924.

54. Abed, R.M.M., Dobretsov, S., Sudesh, K. (2009). Applications of cyanobacteria in biotechnology. *Journal of Applied Microbiology*, 106(1), 1-12.

55. Kim, S.K., Ravichandran, Y.D., Khan, S.B., Kim, Y.T. Prospective of the cosmeceuticals derived from marine organisms // *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2008. Vol. 13. P. 511–523. [CrossRef].

56. Bin, S., Wang, Z.P., Liu, X.Y., Yu, J.X., Lan, J.J., Wang, J.M., Ma, L.F., Chen, Z.Y. Breeding of a *Chlorella* strain with high yield of polysaccharide and its effect on growth and immunoregulation of *Litopenaeus vannamei* // *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*. 2013. Vol. 27. P. 168–172.

57. Hamed, I. The Evolution and Versatility of Microalgal Biotechnology: A Review // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2016. Vol. 15. P. 1104–1123. [CrossRef].

58. Mourelle, M.L., Gómez, C.P., Legido, J.L. The Potential Use of Marine Microalgae and Cyanobacteria in Cosmetics and Thalassotherapy // *Cosmetics*. 2017. Vol. 4, No. 4. P. 46.
59. López-Hernández, J.-F., Tan Kean-Meng, Asencio-Alcudia, G.-G., et al. (2022). Sustainable Microalgae and Cyanobacteria Biotechnology. *Applied Sciences*, 12, 6887.
60. Kossalbayev, B.D., Kakimova, A.B., Zayadan, B.K., et al. (2022). Biohydrogen production by novel cyanobacterial strains isolated from rice paddies in Kazakhstan. *International Journal of Hydrogen Energy*, 47, 16440–16453.
61. Waterborg J. H., Matthews H. R. The Lowry method for protein quantitation//Basic protein and peptide protocols. - 1994. - C. 1-4.
62. Bligh E. G., Dyer W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification //Canadian journal of biochemistry and physiology. - 1959. - T. 37. - №. 8. - C. 911-917.
63. Sandybayeva S., Muratkhan G., Aizharykova N., Ondabayeva B. AI-driven in silico optimization of algal cultivation for enhanced pigment biosynthesis // Рукопись еще не опубликована. – 2025. – [Принято к публикации].
64. Assessment of Antibacterial Activity of a Cyanobacterium *Phormidium fragile* (Meneghini) Gomont [Текст] // *Clinical Trials and Case Studies*. – 2024. – Т. 3, № 6. – С. 1–5. – DOI: 10.31579/2835-835X/090. – URL: <https://clinicsearchonline.org/open-access/assessment-of-antibacterial-activity-of-a-cyanobacterium-phormidium-fragile-meneghini-gomont.pdf>
65. Elkomy, R. G. Antimicrobial screening of silver nanoparticles synthesized by marine cyanobacterium *Phormidium formosum* [Текст] / R. G. Elkomy // *Iranian Journal of Microbiology*. – 2020. – Т. 12, № 3. – С. 242–248. – URL: https://ijm.tums.ac.ir/article_41007.html
66. Evaluation of phytotherapeutic activities and phytochemical content of *Phormidium autumnale* Gomont from natural freshwater sources [Текст] / D. Yalcin, H. T. Katircioglu, T. Özer, M. P. Shamchi, I. A. Erkaya // *Environmental Monitoring and Assessment*. – 2020. – Т. 192. – Ст. 244. – DOI: 10.1007/s10661-020-8207-4.

ОТЗЫВ РУКОВОДИТЕЛЯ
на дипломную работу Мұратхан Гауһар Мұратханқызы

специальность 6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия»

Тема: «Оценка антибактериальной активности экстрактов зелёных микроводорослей, выделенных из солёного озера Балхаш».

Дипломная работа посвящена актуальной теме, связанной с разработкой новых природных антибактериальных агентов на фоне глобальной проблемы устойчивости патогенных микроорганизмов к традиционным антибиотикам. В качестве объекта исследования автор выбрал зелёные микроводоросли, обитающие в экстремальных условиях солёного озера Балхаш — уникального водоёма Центральной Азии, обладающего значительным биотехнологическим потенциалом.

В работе поставлена и достигнута цель — оценка антибактериальных свойств метанольных экстрактов микроводорослей, выделенных из природных проб. В соответствии с поставленными задачами автором выделена аксеничная культура, проведена культурально-морфологическая характеристика штамма, определены оптимальные условия культивирования с использованием элементов искусственного интеллекта, осуществлён сбор сухой биомассы, выполнена экстракция биологически активных веществ и проведена оценка их антимикробной активности *in vitro* методом дисков с пропиткой.

Работа включает в себя следующие структурные части:


1. Теоретический обзор, охватывающий сведения о биоактивных соединениях микроводорослей и их антимикробной активности, а также экологических условиях озера Балхаш.
2. Раздел материалов и методов, в котором подробно описаны условия отбора проб, культивирования, экстракции и тестирования.
3. Экспериментальную часть, в которой представлены результаты по идентификации штамма, химическому составу и биологической активности экстрактов.

Научная новизна исследования заключается в изучении штаммов микроводорослей из ранее недостаточно изученной экосистемы озера Балхаш, а также в практическом подтверждении их антимикробного потенциала. Полученные данные могут быть использованы в дальнейшем при разработке новых антисептических или фармакологических средств природного происхождения.

Дипломная работа выполнена на хорошем научно-методическом уровне, грамотно оформлена, включает актуальные литературные источники, демонстрирует высокий уровень самостоятельности и владения лабораторными методами.

Дипломная работа Мұратхан Гауһар может быть рекомендована к защите с присвоением ей академической степени бакалавра естественных наук по специальности 6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия».

Научный руководитель:
PhD, преподаватель кафедры
Химической и биохимической инженерии
Сандыбаева С.К.



РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу студенту 4 курса НАО «Казахский национальный исследовательский технический университет имени К.И.Сатпаева» специальности 6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия»

Мұратхан Гауһар Мұратханқызы

на тему: «Оценка антибактериальной активности экстрактов зелёных микроводорослей, выделенных из солёного озера Балхаш»

Дипломная работа посвящена научно-практически значимой теме – изучению антибактериальных свойств экстрактов микроводорослей, произрастающих в уникальной экосистеме солёного озера Балхаш. В условиях глобального роста устойчивости патогенных микроорганизмов к антибиотикам данное направление исследований приобретает особую актуальность и открывает перспективы поиска новых, экологически безопасных источников биологически активных веществ.

В ходе выполнения работы автором выделена чистая культура цианобактерии *Phormidium ambiguum*, проведено её морфологическое и биохимическое исследование, определены оптимальные условия культивирования с использованием современных подходов, включая элементы искусственного интеллекта. Отдельного внимания заслуживает экстракция активных комплексов и дальнейшая оценка их антибактериальной активности методом диффузии в агаре, что позволило определить наличие ингибирующего действия на рост бактериальных штаммов. Таким образом, автор продемонстрировал способность к проведению комплексного биотехнологического анализа на всех этапах — от выделения природного штамма до лабораторной оценки фармакологического потенциала.

Содержательно работа отличается чёткой структурой, логической последовательностью изложения, научной обоснованностью и корректным использованием литературных источников. Автор глубоко освоил теоретические аспекты темы, грамотно использовал экспериментальные методы и обоснованно интерпретировал полученные результаты. Работа иллюстрирована таблицами, схемами и фотографиями, что способствует лучшему восприятию материала.

Научная новизна дипломной работы заключается в исследовании антибактериального потенциала природных штаммов микроводорослей, выделенных из малоизученного региона — озера Балхаш. Практическая значимость заключается в возможности дальнейшего применения результатов исследования для разработки инновационных антимикробных препаратов природного происхождения, что особенно важно в контексте растущей антибиотикорезистентности.

Заключение:

Дипломная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне, полностью соответствует требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам бакалавра, и заслуживает оценки «отлично», а её автор — присуждения академической степени бакалавра по направлению «Химическая и биохимическая инженерия».

Рецензент:
PhD, асоц.профессор
кафедры биотехнологии
КазНУ имени аль-Фараби



Ф.К. Сарсекеева



Отчет подобия

Метаданные

Название организации

Satbayev University

Название

Оценка антибактериальной активности экстрактов зеленых микроводорослей, выделенных из соленого озера Балхаш

Автор

Научный руководитель / Эксперт

Мұратхан Гауһар МұратханқызыСандугаш Сандыбаева

Подразделение

ИГИНГД

Объем найденных подобиий

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.



КП1

25

Длина фразы для коэффициента подобия 2



КП2

10099

Количество слов



КЦ

84204

Количество символов

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		4
Интервалы		0
Микропробелы		29
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)		2

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)
1	http://www.greatfin.ru/gref-373.html	16 0.16 %
2	https://stud.kz/referat/show/110528	8 0.08 %

из базы данных RefBooks (0.00 %)



ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	----------	---

из домашней базы данных (0.00 %)



ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	----------	---

из программы обмена базами данных (0.00 %)



ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	----------	---

из интернета (0.24 %)



ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
1	http://www.greatfin.ru/gref-373.html	16 (1) 0.16 %
2	https://stud.kz/referat/show/110528	8 (1) 0.08 %

Список принятых фрагментов (нет принятых фрагментов)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	СОДЕРЖАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	------------	---