

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ МИНИСТРІГІ

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

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

Бейсенбек Айгерім Қанатқызы

Ыстық су көздерінен сутегін өндіретін цианобактерия штаммдарын іздеу және іріктеу
және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру

МАГИСТРЛІК ДИССЕРТАЦИЯ

7М05105 – «Биотехнология»

Алматы 2026

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ МИНИСТРІГІ

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

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

ӘОЖ 665.622.43.046.6-52 (043)

Қолжазба құқығында

Бейсенбек Айгерім Қанатқызы

Академиялық магистір дәрежесін алу үшін
МАГИСТІРЛІК ДИССЕРТАЦИЯ

Диссертация атауы

Ыстық су көздерінен сутегін өндіретін цианобактерия
штамдарын іздеу және іріктеу және олардың өсіру
жағдайларын оңтайландыру

Дайындау бағыты

7M05105–Биотехнология

Ғылыми

жетекші қауымд. проф.,

Доктор PhD

 А.Б. Какимова
«14» қаңтар 2026 ж.

Рецензент

б.ғ.к., қауымд. проф.,

әл-Фараби атындағы ҚазҰУ Биотехнология

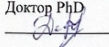
кафедрасының проф. м.а.

 Н.Р. Акмуханова
«14» қаңтар 2026 ж.

Норма бақылаушы

ХжБИ кафедра аға оқытушысы,

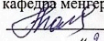
Доктор PhD

 Н.С. Демеубаева
–

«22» қаңтар 2026 ж

ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ

Химиялық және биохимиялық инженерия
кафедра меңгерушісі х.ғ.к., қауымд. проф.

 Р.А. Мангазбаева
«23» қаңтар 2026 ж

Алматы 2026

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ МИНИСТРІГІ

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

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

7M05105–Биотехнология

БЕКІТЕМІН

Кафедра меңгерушісі
Химиялық және биохимиялық
инженерия

х.ғ.к., қауымд. проф.

 Р.А. Мангазбаева
«23» қаңтар 2026 ж

ТАПСЫРМА

магистрлік диссертацияны орындауға

Магистрант Бейсенбек Айгерім Канатқызы

Тақырыбы Ыстық су көздерінен сутегін өндіретін цианобактерия штаммдарын іздеу және іріктеу және олардың өсіру жағдайларын оптимизациялау

Университет Ректорының 2024 жылғы «28» наурыз №133–П/Ө бұйрығымен бекітілген
Аяқталған диссертацияны тапсыру мерзімі «23» қаңтар 2026 ж.

Магистрлік диссертацияның бастапқы деректері: ыстық су көздерінен алынған сынамалар;
микробиологиялық және биохимиялық зерттеу әдістері кезінде алынған мәліметтер.

Магистрлік диссертацияда әзірлеуге жататын мәселелер тізімі:

- Алматы облысындағы ыстық су көздерінен көк-жасыл балдырлардың штамдарын
изоляциялау және морфологиялық, физиологиялық қасиеттерін зерттеу;
- Цианобактерия изоляттарына жарық, температура және pH әсерін анықтау;
- Жарық және қараңғы жағдайда сутегінің бөлінуін зерттеу.

Ұсынылатын негізгі әдебиеттер:

- Bolatkhon K., Kossalbayev B. D., Zayadan B. K. et al. Hydrogen production from phototrophic microorganisms: Reality and perspectives // International Journal of Hydrogen Energy. – 2019. – Vol. 44, No. 12. – P. 5799–5811.
- Sadvakasova A. K., Kossalbayev B. D., Zayadan B. K. et al. Bioprocesses of hydrogen production by cyanobacteria cells and possible ways to increase their productivity // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2020. – Vol. 133. – Art. 110054. – DOI: 10.1016/j.rser.2020.110054.
- Abdalla A. M., Hossain S., Nisfindy O. B., Azad A. T., Dawood M., Azad A. K. Hydrogen Production, Storage, Transportation and Key Challenges with Applications: A Review // Energy Conversion and Management. – 2018. – Vol. 165. – P. 602–627. – doi: 10.1016/j.enconman.2018.03.088.

Магистрлік диссертацияны дайындау
КЕСТЕСІ

Бөлімдердің атауы, қарастырылатын мәселелер тізімі	Ғылыми жетекшіге ұсыну мерзімдері	Ескерту
Әдебиетке шолу	01.11.2024	Орындалды
Зерттеу нысандары мен әдістері	02.04.2025	Орындалды
Зерттеу нәтижелері. Қорытынды	01.11.2025	Орындалды

Аяқталған магистрлік диссертация үшін, оған қатысты бөлімдердегі диссертациялар кеңесшілері мен норма бақылаушының қойған қолдары

Бөлімдердің атауы	Консультанттар, аты-жөні (ғылыми дәрежесі, атағы)	Қол қойылған күні	Қолы
Магистрлік диссертация	қауымд.проф., Доктор PhD А.Б. Какимова	«16» қаңтар 2026 ж	
Норма бақылау	ХжБИ кафедра аға оқытушысы, Доктор PhD Н.С. Демеубаева	«22» қаңтар 2026 ж	

Ғылыми жетекші қауымд. проф., Доктор PhD



А.Б.Какимова

Білім алушы тапсырманы орындауға алды



А.Қ. Бейсенбек

Күні

«22» қаңтар 2026 ж

АНДАТПА

Магистрлік зерттеу жұмысы цианобактериялардың термофильді штамдарының ыстық көздерден окшауланған биосутегін өндіру қабілетін зерттеуге арналған. Жаңа жоғары белсенді штамдардың окшаулануы мен сипаттамасы цианобактериялардағы сутегі өндірісінің механизмдері туралы ғылыми білімнің кеңеюіне ықпал етеді.

Жұмыстың мақсаты. Ыстық көздерден тиімді биожетімділікті өндіретін цианобактерияларды окшаулау және іріктеу. Зерттеудің ғылыми жаңалығы Алматы облысының ыстық көздерінен биосутек өніміне қабілеті бар термофильді цианобактериялардың аксеникалық дақылдарын алудың маңыздылығын эксперименттік көрсетуден тұрады. Жарық және қараңғы жағдайлардың, температураның және ортаның рН-ның окшауланған изолляттардың сутегі өндіретін белсенділігіне әсерін кешенді бағалау жүргізілді.

Зерттеу термофильді цианобактерияларды жаңартылатын және экологиялық таза энергия көздерін, атап айтқанда биосутекті алу үшін перспективалы биологиялық нысандар ретінде пайдаланудың маңыздылығын көрсетеді. Алынған нәтижелер баламалы энергия көзін алудың биотехнологиялық процестерінде термофильді цианобактерияларды пайдалану перспективаларын негіздеу және жаңартылатын биоэнергияны өндірудің экологиялық таза технологияларын әзірлеу және оңтайландыру үшін қажет.

Ыстық су көздерінен цианобактериялардың таза дақылдары бөлініп, олардың ішінен қараңғыда белсенді және жарықта сутегін қарқынды өндіретін штаммдары анықталды.

Бұл диссертация ғылыми әдебиеттердің кең шолуларымен және микробиологиялық және биотехнологиялық зерттеу әдістерін қолдануға негізделген эксперименттік зерттеулермен қамтамасыз етілген теориялық зерттеулерді де қамтиды. Олардың нәтижелері биомассаның жоғары шығымдылығы және биожетімділікті өндіру қабілеті бар цианобактериялардың перспективалы штамдарын анықтаудағы микробиологиялық және биотехнологиялық әдістердің маңызды рөлін көрсететін мәтінде берілген кестелер мен суреттерде келтірілген, биотехнологиялық қосымшаларда және экологиялық таза биоэнергия көздерін құру үшін қызығушылық тудырады.

АННОТАЦИЯ

Магистерская исследовательская работа посвящена изучению способности термофильных штаммов цианобактерий производить биоводород, выделенных из горячих источников. Выделение и характеристика новых высокоактивных штаммов способствует расширению научных знаний о механизмах продукции водорода у цианобактерий.

Цель работы. Выделение и отбор цианобактерий, производящих эффективный биодоступ из горячих источников. Научная новизна исследования заключается в экспериментальной демонстрации важности получения из горячих источников Алматинской области аксенических культур термофильных цианобактерий, обладающих способностью к продукции биоводорода. Была проведена комплексная оценка влияния световых и темновых условий, температуры и pH среды на водородпродуцирующую активность выделенных изолятов.

Исследование подчеркивает важность использования термофильных цианобактерий как перспективных биологических объектов для получения возобновляемых и экологически безопасных источников энергии, в частности биоводорода. Полученные результаты необходимы для обоснования перспектив использования термофильных цианобактерий в биотехнологических процессах получения альтернативного источника энергии, а также для разработки и оптимизации экологически чистых технологий производства возобновляемой биоэнергии.

Из горячих источников были выделены аксенические культуры цианобактерий, среди которых идентифицированы штаммы, проявляющие высокую активность в темноте и интенсивно продуцирующие водород в условиях освещения.

Эта диссертация включает как теоретические исследования, подкрепленные обширными обзорами научной литературы, так и экспериментальными исследованиями, основанных на применении микробиологических и биотехнологических методов исследования. Результаты которых представлены в оформленных в тексте таблиц и рисунков, подчеркивающих важнейшую роль микробиологических и биотехнологических методов в выявлении перспективных штаммов цианобактерий с высоким выходом биомассы и способностью к производству биодоступа, представляющие интерес в биотехнологических приложениях и для создания экологически чистых источников биоэнергии.

ANNOTATION

This master's research project is devoted to studying the ability of thermophilic strains of cyanobacteria isolated from hot springs to produce biohydrogen. The isolation and characterization of new highly active strains contributes to the expansion of scientific knowledge about the mechanisms of hydrogen production in cyanobacteria.

The aim of the work is to isolate and select cyanobacteria that produce effective bioavailability from hot springs. The scientific novelty of the research lies in the experimental demonstration of the importance of obtaining axenic cultures of thermophilic cyanobacteria capable of producing biohydrogen from hot springs in the Almaty region. A comprehensive assessment was carried out of the influence of light and dark conditions, temperature, and pH of the environment on the hydrogen-producing activity of the isolated strains.

The study emphasizes the importance of using thermophilic cyanobacteria as promising biological objects for obtaining renewable and environmentally safe energy sources, in particular biohydrogen. The results obtained are necessary to justify the prospects for using thermophilic cyanobacteria in biotechnological processes for obtaining alternative energy sources, as well as for developing and optimizing environmentally friendly technologies for producing renewable bioenergy.

Axenic cultures of cyanobacteria were isolated from hot springs, and strains exhibiting high dark activity and intensive hydrogen production under light conditions were identified.

This dissertation includes both theoretical research, supported by extensive reviews of scientific literature, and experimental research based on the application of microbiological and biotechnological research methods. The results are presented in tables and figures in the text, highlighting the crucial role of microbiological and biotechnological methods in identifying promising cyanobacterial strains with high biomass yield and the ability to produce bioaccessibility, which are of interest in biotechnological applications and for the creation of environmentally friendly sources of bioenergy.

МАЗМҰНЫ

	Кіріспе	
1	Әдебиетке шолу	12
1.1	Цианобактериялардың маңызы	12
1.2	Биосутегі түзілуінің механизмдері	14
1.2.1	Тікелей және жанама фотолиз	17
1.2.2	Фотоферментация және қараңғы ферментация	21
1.2.3	Биосутегі түзілуіне қатысатын маңызды ферменттер	23
1.3	Цианобактериялардың биосутегі өндірісіндегі биотехнологиялық әлеуетті штамдары	26
2	Зерттеу нысандары мен әдістері	30
2.1	Зерттеу нысандары	30
2.2	Цианобактериялардың түрлік құрылымы мен құрамын анықтау	30
2.3	Табиғи көздерден фототрофты микрооағзаларды іріктеп алып олардың альгологиялық таза дақылдарын алу	30
2.4	Цианобактериялардың бактериологиялық таза түрлерін бөліп алу әдісінің маңызы	31
2.5	Цианобактерияларды зертханалық орта жағдайларында өсіру	32
2.6	Дақылдардың өсу жылдамдығын анықтау	33
2.7	Цианобактериялық дақылдардың морфологиялық қасиеттеріне зерттеу жүргізу	33
2.8	Цианобактериялардан сутегін алу әдістері	34
2.9	Сутегі алу үшін цианобактериялық биомассаны дайындау әдісі	34
2.10	Молекулалық сутекті өлшеу әдісі	34
2.11	Сутегі өндірісін онтайландыру	35
2.12	Статистикалық өңдеу	35
3	Зерттеу нәтижелері мен оларды талқылау	36
3.1	Әртүрлі экожүйелерден перспективалы цианобактерия дақылдарын іздеу және анықтау	36
3.2	Цианобактериялардың аксендік дақылдарын бөліп алу жолы	37
3.3	Бөлінген цианобактериялар дақылдарының культуралық-морфологиялық және физиологиялық қасиеттері	39
3.4	Алынған цианобактерия дақылдарын культивирлеу жағдайларын анықтау	41
3.4.1	Бөлінген цианобактериялардың жасуша өсуіне ортаның қышқылдық рН әсері	42
3.4.2	Бөлінген цианобактериялар культураларындағы өсу жылдамдығының коэффициентіне жарық қарқындылығының әсері	43
3.4.3	Бөлінген цианобактериялар культураларындағы өсу жылдамдығына температурасының әсері	44

- 3.5 Бөлінген аксеникалық цианобактериялар культураларын 45
өнімділік бойынша скринингтен өткізу
- 3.6 Бөлінген культуралар мен коллекциялық цианобактерия 47
штаммының сутек бөлу қабілетін скринингтен өткізу
Қорытынды
Белгілеулер және қысқартулар
Анықтамалар
Пайдаланылған әдебиеттер тізімі

КІРІСПЕ

Жұмыстың өзектілігі: Альтернативті энергия көздеріне деген қызығушылықтың артуын парниктік газдар шығарындыларын азайту қажеттілігімен және қазба отындарының шектеулі қорымен түсіндіруге болады. Бұл жағдайда биосутек әсіресе таза, құнды және әлеуетті жаңартылатын энергия көзі ретінде перспективасы өте жоғары. Цианобактериялар күн энергиясын пайдаланудың қабілетіне және өсу жағдайларына қарапайым талаптарына байланысты биосутегінің тиімді өндірушілері ретінде ерекшеленеді.

Алайда, биосутегі өндірісінің тиімділігі микробиологиялық штамдардың генетикалық мүмкіндіктерімен және оларды өсіру үшін қажетті оңтайлы жағдайлармен тығыз байланысты. Демек, табиғи экстремалды экожүйелердегі жоғары өнімді штамдарды анықтау, оларды таза дақылдар түрінде оқшаулау және жасуша белсенділігін арттыру үшін температура, жарық және рН сияқты айнымалыларды мақсатты оңтайландыру сутегі энергетикасы технологияларын дамыту үшін іргелі және практикалық маңызын айқындайды.

Биосутекті өндіруге қабілетті цианобактериялардың жаңа перспективалы штамдарын анықтау және оқшаулау жасушалық деңгейде өнімді баламалы энергия көздерінің бірі қалай пайда болатынын тереңірек түсінуге мүмкіндік береді. Мұндай микроорганизмдерді зерттеу олардың метаболикалық және ферментативті жүйелерінің жұмысын, сондай-ақ сутегі түзілу процесін реттейтін механизмдерді жақсы түсінуге көмектеседі.

Жұмыстың мақсаты: Ыстық көздерден тиімді биосутегі өндіретін цианобактерияларды оқшаулау және іріктеу.

Жұмыстың ғылыми жаңалығы: Кейбір цианобактериялардың аксеникалық дақылдары ыстық көзден оқшауланып, алынып, ең жоғары қараңғы белсенділікті көрсететін, жарық жағдайында сутекті тиімді өндіретін штамдар анықталды.

Міндеттері:

1. Алматы облысындағы ыстық су көздерінен көк-жасыл балдырлардың штамдарын изоляциялау және морфологиялық, физиологиялық қасиеттерін зерттеу;

2. Цианобактерия изоляттарына жарық, температура және рН әсерін анықтау;

3. Жарық және қараңғы жағдайда сутегінің бөлінуін зерттеу.

Жұмыстың ғылыми және практикалық маңызы. Биотехнологиялық қолданбаларда және экологиялық таза биоэнергия көздерін құру үшін қызығушылық тудыратын жоғары биомасса шығымы және биосутегі өндіру қабілеті бар цианобактериялардың перспективалы штамдары анықталды.

Жүргізілген зерттеу жұмысы ыстық көздерден оқшауланған цианобактериялардың термофильді штамдарын зерттеуге мақсатталған. Термофильді микроорганизмдер мен олардың мезофильді аналогтарының

негізгі айырмашылығы – олардың ферменттік жүйелерінің жоғары температурада да функционалдау қабілеті. Бұл бірегей сипаттама жоғары температурада биотехнологиялық процестерге қолайлы ортаны құруға ықпал етеді, осылайша биореактордағы стерильділікті сақтауды жақсартады және сутегі өндірісінің жылдамдығын тездетеді.

Диссертациялық жұмыстың құрылымы мен көлемі. Диссертациялық жұмыс 60 компьютерлік бетте дайындалған, үш бөлімнен тұрады – кіріспе, негізгі бөлім және әдебиеттер тізімі. Жұмыста 90 әдеби дереккөзді қолданатын теориялық зерттеулер көрсетілген, эксперименттік зерттеулер 3 кестеде және 17 суретте түсіндірілген.

1. Әдебиетке шолу

1.1 Цианобактериялардың маңызы

Цианобактериялар немесе көк-жасыл балдырлар – 3 миллиард жылдан астам бұрын пайда болған прокариоттардың өкілі. Аталған организмдер әлемнің сан түрлі экожүйелеріде кездеседі, өйткені олар экстремалды климат пен табиғат жағдайларына өте төзімшіл. Атап айтқанда, геотермальді өңірлерде, тұздылығы аса жоғары және температурасы өте төмен аймақтарда тіршілік етуге бейімделген прокариоттар. Басқаша айтқанда, асқын жағдайларға толеранттылығы жоғары [1]. Цианобактериялардың эндосимбиозының нәтижесінде, деректерге сүйенсек, көпжасушалы балдырлар мен эукариотты өсімдіктердің хлоропласттарының ізашары болған [2].

Цианобактериялар, басқа прокариоттар сияқты, минералдар мен маңызды метаболиттердің тасымалдануын жеңілдететін жасуша мембранасына ие. Пептидогликан жасуша қабырғасы күшті механикалық тосқауыл ретінде қызмет ететін көк-жасыл балдырлардың өте маңызды ерекшелігі болып табылады. Бұл жасуша қабырғасы көбінесе бірегей прокариоттық құрылым немесе тән мозаика ретінде сипатталады, өйткені ол грам-теріс және грам-позитивті бактериялардың қасиеттерін біріктіреді, сонымен бірге грам-теріс архитектураны сақтайды.

Соңғы зерттеулерге сүйенсек, қазіргі таңда цианобактериялардың, ғалымдардың зерттеулері бойынша, сегіз мыңнан астам түрге жетті деп есептеледі. Алайда, Guiry M.D. et al. мақаласына сүйенсек, көк жасыл балдырлардың 5185 түрлері зерттеліп, ашылған. Олардың классификациясы келесі: *Gloeobacterales*, *Nostocales*, *Oscillatoriales*, *Chroococcales*, *Pleurocapsales*, *Spirulinales* және *Synechococcales* [3].

Цианобактериялардың жасуша құрылысы ерекше. Басқа грам теріс бактериялармен салыстырғанда, пептидогликан деп аталатын клетка қабықшасы жіңішкеуе болып келеді. Көк жасыл балдырлардың ішінде де пептидогликан қалыңдығы бойынша ерекшеліктері кездеседі. Мысалы *Synechococcus* туысына жататын *Oscillatoria princeps* пептидогликан қалыңдығы 700 нм құраса, *Phormidium uncinatum* 15 to 35 nm құрайды [4]. Сонымен қатар, цианобактериялардың пептидогликандағы өзара байланыс дәрежесі (56 пайыздан 63 пайызға дейін) грам-теріс бактериялардың көпшілігінде кездесетін әдеттегі 20 пайыздан 33 пайызға дейін және грам-позитивті бактерияларда тіркелген 76 пайызға жақын [5,6]. Грам-позитивті организмдерден айырмашылығы, цианобактериялардың жасуша қабырғаларында тейхой қышқылы жоқ, бірақ олардың пептидогликаны грам-позитивті бактериялар мен тығыз байланысты прохлорофиттерге ұқсас ерекшелік арнайы полисахаридтермен кешен құрайды (1-кесте).

Кесте 1 – Цианобактериялардың кейбір туыстарының сипаттамалары
[5-7]

Цианобактерия туысы	Түрі	Таралуы	Экологиялық рөлі
<i>Chroococcales</i>	<i>Microcystis</i> , <i>Synechococcus</i>	Тұщы су көлдері, су қоймалары, эвтрофиялық тоғандар	Планктикалық, беткі гүлденуді қалыптастырады; микроцистиндердің негізгі өндірушілері
<i>Nostocales</i>	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Nodularia</i>	Тұщы су, тұщы су, күріш алқаптары	Азотты бекіту; гетероцисталар мен акинеттер түзуге қабілетті
<i>Oscillatoriales</i>	<i>Planktothrix</i> , <i>Oscillatoria</i>	Көлдер, өзендер, ыстық бұлақтар	Жіп тәрізді, аз жарыққа төзімді; микроцистин және анатоксин өндірушілері
<i>Stigonematales</i>	<i>Fischerella</i> , <i>Stigonema</i>	Ылғалды топырақтар, тұщы су биопленкалары, ағаш қабығы	Күрделі жіп тәрізді құрылымдар; эпифитті және топырақта тіршілік ететін рөлдер
<i>Synechococcales</i>	<i>Synechococcus</i> , <i>Prochlorococcus</i>	Теңіз және тұщы су пелагиялық аймақтары	Пикопланктон; жаһандық бастапқы өнімділіктің негізгі факторлары
<i>Chroococcidiopsidales</i>	<i>Chroococcidiopsis</i>	Шөлді топырақтар, тау жыныстарының беткейлері, өте құрғақ мекендеу орындары	Экстремофильді; құрғауға, ультракүлгін сәулелерге және жоғары тұздылыққа шыдамды

Цианобактериялар суда да, құрлықта да көптеген экожүйелердегі тіршіліктің негізі болып табылады, өйткені олар көміртегі мен азот айналымы сияқты маңызды жаһандық циклдарға қатысады және олардың негізгі продуценттері болып табылады. *Anabaena* және *Nostoc* сияқты азотты фиксациялауға қабілетті кейбір штамдар табиғи тыңайтқыш ретінде қызмет етеді. Олар атмосфералық азотты басқа тірі организмдер үшін қол жетімді формаларға айналдырады, бұл қоректік заттарға зар аймақтардың өнімділігін арттыру үшін өте маңызды. Дүниежүзілік мұхитта *Prochlorococcus* және

Synechococcus сияқты көк-жасыл балдырлар ғаламшардағы фотосинтездің едәуір бөлігін қамтамасыз ететін теңіздегі азық-түлік торларының негізін құрайды. Құрлықта цианобактериялар, соның ішінде *Nostoc*, топырақтың құнарлылығын жақсартады және басқа организмдермен симбиозға түседі (мысалы, қыналардағы саңырауқұлақтармен), тіпті қатал жағдайларда да тіршілік етуге мүмкіндік береді [7].

Алайда, олардың тез өсу қабілеті су объектілеріне тым көп қоректік заттар (фосфор мен азот) түскен кезде қауіпке айналады. Мұндай жағдайларда цианобактериялар, мысалы, *Microcystis* және *Anabaena*, адам денсаулығына, жануарларға және су биоэртүрлілігіне қауіпті токсиндерді, атап айтқанда цианотоксиндерді бөліп шығару арқылы зиянды су гүлденуін (HABs) тудыруы мүмкін. Осылайша, бұл организмдер экологияның «екі жақты кілті» болып табылады: олар планетарлық процестерді сақтау үшін өте маңызды, бірақ экологиялық тепе-теңдік бұзылған жағдайда олар үлкен қауіптердің көзі бола алады. Кестеде цианобактериялардың кейбір түрлерінің экологиялық маңызы көрсетілген [8-10]г.

Цианобактериялардың қоршаған орта тұрақтылығына, агрокультура мен экожүйеге тигізетін пайдасы зор. Singh et al. жариялаған мақаласында авторлар оттегі фотосинтезін, қолайсыз жағдайларда өркендеу қабілетін және атмосфералық азотты (N_2) бекіту қабілетін қоса алғанда, ерекше қасиеттеріне байланысты цианобактериялар азық-түлік қауіпсіздігі мен күрделі экологиялық мәселелерді шешудің сенімді стратегиясын ұсынатынын атап көрсетеді. Ауыл шаруашылығында олар күшті биологиялық тыңайтқыштар ретінде қызмет етеді, топырақтың физикалық-химиялық қасиеттерін жақсартады, мысалы, суды бойында сақтау қабілеті және минералды қоректік заттардың болуы, осылайша дақылдардың өнімділігін арттырады. Сонымен қатар, цианобактериялар топырақтың аэрациясы мен құрылымдық тұтастығын жақсарту арқылы тұзды және деградацияланған жерлерді қалпына келтіруде маңызды рөл атқарады және фитопатогендерге қарсы биологиялық бақылау ретінде қолданылады. Экология және экология ғылымдары саласында цианобактериялар биоэнергетикада шешуші рөл атқарады: олар биоотын көзі болып табылады (биодизель, биосутек, биометан) және олардың экономикалық тұрақты өндірісі үшін генетикалық модификация мүмкіндігі бар [11].

Дегенмен, зерттеудің коммерциялық өміршендігі арасындағы алшақтықты жою озық деформациялық инженерияны, культура әдістеріндегі жүйелік деңгейдегі жетістіктерді және биопроцестті әзірлеуге инвестицияларды әлі де болса қажет етеді.

1.2 Биосутегі түзілуінің механизмдері

Сутегі – болат, тыңайтқыш өндіру секілді көптеген салада өте көп қолданылатын химиялық шикізат көзі. Сутегінің негізгі артықшылығы оның

экологиялық таза энергия тасымалдаушысы болғанында. Алайда сутегі қазіргі уақытта қазба отындарынан өндірілетін болғандықтан, экологиялық тұрақтылығында үлкен сұрақ туғызады. Сондықтан да, бұл қажетті шикізатты өндіру үшін түрлі әдістер жетілдірілуде. Олардың ішінде биосутегі жоғары қарқын мен әлеуетке ие [12-14].

Биосутегі – биомасса көздерінен бөлініп алынған сутегінің формасы. Көбінесе биохимиялық және термохимиялық процестер арқылы алынады.

Қараңғы және фотоферментация сияқты биологиялық процестер жұмсақ жағдайда жұмыс істейді және әртүрлі қалдық ағындарын өңдей алады. Дегенмен, олардың кең қолданылуы сутегінің қарапайым өнімділігімен және микробиологиялық ингибиторлардан туындайтын мәселелермен шектеледі. Қоспалар арқылы микробиологиялық қауымдастықтарды тұрақты ұстау және биореакторларды ұстаудың гидравликалық кезеңін оңтайландыру да айтарлықтай кедергілерді тудырады. Кіріс пен нарықтық тартымдылықты арттыруға біріктірілген ферментация жүйелерін енгізу және ілесіп өнімдердің экономикалық құндылығын арттыру арқылы қол жеткізуге болады [13].

Судың электролизін арттырудың заманауи стратегиясы биомассадан алынған қосылыстарды электрохимиялық түрлендіруді, сонымен бірге сатуға жарамды жанама өнімдерді алуды қамтиды. Дегенмен, жүргізілген зерттеулер күрделі шикізат түрлеріне емес, тазартылған биомасса туындыларына бағытталған, бұл олардың коммерциялық қолданылуын азайтады. Кейінгі зерттеулерде шикізаттың күрделілігіне, электрокатализаторлар технологиясын жетілдіруге және жүйенің ауқымын кеңейтуге басымдық беруі қажет.

Технологиялық жетілуді бағалау термохимиялық әдістердің биологиялық және электрохимиялық технологиялардан озып, коммерциялық тұрғыдан ең озық екенін көрсетеді. Осы тәсілдердің әрқайсысы әр түрлі ғылыми нишалар арасындағы үздіксіз инновациялар мен ынтымақтастықты қажет ететін нақты қолдану салаларында перспективалы болып табылады [14-16].

Биосутегіні биологиялық әдіспен өндірудің бірнеше кезеңдері белгілі. Ең алғашқы шикізат көздері ретінде түрлі тұқымдардың майлары мен жүгері болған. Аталған шикізаттар арзан әрі қолжетімділігі үшін кеңінен таралған. Алайда арнайы тыңайтқыштар мен тым жоғары су ресурстарын қажет ететіндіктен, биосутегі алудың жаңа әдістері қарастырыла бастады.

Екінші кезең тағамдық емес өсімдік материалдарынан алынған биосутегі болып саналады. Басқаша айтқанда, лигноцеллюлозалық ресурстардан бөлініп алынды. Олардың артықшылығы тағамдық ресурстармен бәсекелестікке түспеуі әрі кең таралуында. Одан бөлек, кейбір шикізат көздері қоршаған ортаның қолайсыз жағдайларына өті төзімді болып келеді. Мысалы, жолжелкен құрғақшылыққа шыдамды болған соң, оны өсіру көп қиындықты тудырмайды. Дегенмен сүрекке деген сұраныстың жоғары болғандығынан, биосутегіні өндіру ағаштардың шабылуына алып келіп, тағы да көп су ресурстарын қажет етеді [17].

Биосутегіні алудың үшінші кезеңінде балдырлар үлкен рөл атқарды. Балдырлар сулы аймақтарда өсетін болғандықтан, олар басқа өсімдіктердің өсуіне кедергі келтірмейді, яғни бәсекелестік тудырмайды. Оған қоса, екінші кезеңдегі пайдаланылған өсімдіктермен салыстырғанда тыңайтқыштар мен пестицидтерді қолдану қажеттілігі жоқ [18].

Үшінші кезеңнің кемшіліктері де айтарлықтай. Алдымен, балдырларды өсіру жағдайларының жоғары құны экономикалық тараптан қиыншылықтарды тудырады. Өйткені оларды өсіру және көбейту әдеттегі өсімдіктермен салыстырғанда әлдеқайда күрделі. Одан бөлек, су ресурстарының эвтрофикациясы да белгілі бір негативті жағдайлармен байланысты.

Балдырлар сулы аймақтарда өсіп-өнетіндіктен, олардың құрамында майдың құрғақ салмаққа қатынасы төмен. Яғни басқа өсімдіктерден салыстырғанда олардың булы реформинг процесіне қолданылу жиілігі аз. Сондықтан да, қазіргі таңда биосутегіні алудың төртінші кезеңі кең тарауда [19].

Биосутегіні өндірудің соңғы кезеңі биотехнологиялармен байланысты. Өйткені қазіргі таңда ғалымдар микробалдырларды модификациялау арқылы биомассаны мол алуды көздеп отыр. Бұл – үшінші кезеңдегі шектеулерді бұзудың таптырмас амалы. Басқаша айтқанда, майдың құрғақ массаға қатынасын көбейту мүмкіншілігі пайда болды. Ағын суларды тазарту және егістік аймақтарда бәсекелестіктің болмауы секілді артықшылықтарынан бөлек бұл инновацияның өзіндік кемшіліктері де анықталды. Олардың ішінде гендік модификацияланған микробалдырлардың құнының жоғары болуы және генді өзгерту процесінің күрделілігі, және биозтикалық мәселелер де жатады. Бір жағынан модификациялау процесі жоғары температуралар мен жоғары қысымды қажет етпейді, сондықтан ғаламдық парниктік эффекттің одан әрі көбеюіне алып келмейді [20].

Жалпы, биосутегіні алудың үш түрлі әдістері белгілі. Олардың қатарында жоғарыда қарастырылған биологиялық әдіс және термохимиялық әрі электрохимиялық әдістер. Аталғандардың ішінде термохимиялық әдіс – жақсы жетілген бірден бір әдіс болып саналады. Өйткені бұл химиялық реакцияларды бастау үшін жылуды пайдаланады және қазба отындарын өңдеудің заманауи өнеркәсіптік әдістерімен тығыз байланысты екені анық. Ал, электрохимиялық әдістер сутегіден басқа балама өнімдер алу арқылы су электролизінің экономикалық тиімділігін арттыруға бағытталған [21-24].

Цианобактериялар бірегей фотоавтотрофты метаболизмінің арқасында биоотынды, соның ішінде биоутекті тұрақты өндіруге арналған өте перспективалы шикізат көзі болып табылады. Оттегі фотосинтезіне қабілетті жалғыз прокариоттар ретінде олар органикалық қосылыстарды синтездеу үшін тек күн сәулесін және минералдарды пайдаланады. Бұл оларға көмірқышқыл газын атмосферадан глюкоза мен липидтерге айналдыруға мүмкіндік береді, олар биоотын өндіруге қажетті ізашарлар ретінде қызмет етеді. Демек, цианобактериялар биоэкономика мақсаттарына сәйкес келетін

теріс немесе бейтарап көміртегі балансы бар тұрақты өндіріс жүйелерін құрудың негізі ретінде қарастырылады. Атап айтқанда, сутегі өндірісі саласында "мұхиттан сутекті алу" тұжырымдамасы бар, онда олардың фотосинтез процесі биодизель мен биэтанолмен бірге биодизель өндіруге механикаландырылуы мүмкін. Генетикалық модификациядағы жетістіктердің арқасында зертханалық жағдайда сутегі өндірісінде жоғары тиімділікті көрсететін цианобактериялардың генетикалық түрлендірілген (ГМ) штамдары сәтті алынды. CRISPR-Cas жүйелері сияқты құралдар олардың метаболикалық тиімділігін арттыру және тұрақты өндіріс жүйелерінде өнім шығымдылығын арттыру мақсатында *Synechocystis* және *Anabaena* сияқты штамдарына нақты өзгерістер енгізуге мүмкіндік береді. Осы зертханалық жетістіктерге қарамастан, цианобактерияларға негізделген биосутекті өнеркәсіптік өндіріске көшу бірқатар маңызды кедергілерді тудырады. Масштабталудың негізгі мәселелеріне төмен өнімділік, тығыз дақылдарға жарықтың ену қиындықтары және фотобиореактор жүйелерінің жоғары құны жатады. Сонымен қатар, цианобактерияға негізделген биоотын өндірісінің көптеген жүйелері үшін энергетикалық тиімділігі (EROI) қазіргі уақытта коммерциялық өміршеңдік үшін тым төмен. Техникалық және экономикалық қиындықтардан басқа, сутегі мен басқа да өнімдерді өндіру үшін генетикалық түрлендірілген цианобактерияларды пайдалану қоршаған ортаға бақылаусыз енуіне және микробиологиялық қауымдастықтарға күтпеген әсеріне байланысты экологиялық және этикалық аландаушылық туғызады. Бұл қатаң локализация процедураларын енгізуді және биоқауіпсіздікті бағалауды талап етеді. Осылайша, био-сутекті коммерцияландыру өсіру әдістеріндегі штамдар мен жетістіктерді онтайландыру арқылы технологиялық, экономикалық және реттеуші кедергілерді жеңуді талап етеді [25-27].

1.2.1 Тікелей және жанама фототиз

Биосутегі микроорганизмдер мен күн энергиясы арқылы судан, органикалық қалдықтардан және биомассадан өндіру мүмкіндігінің арқасында дәстүрлі қазба отындарына перспективалы экологиялық қауіпсіз балама болғанымен, микроорганизмдер арқылы қол жеткізілген сутектің шығымы жеткіліксіз болып қалады, бұл үлкен кедергі болып табылады [28].

Жақында жарияланған Chan et al. шолуы бойынша, биосутегі өндірісі төрт негізгі бағытқа бөлінеді: тікелей биофототиз, жанама биофототиз, фотоферментация және қараңғы анаэробты ферментация. Жасыл балдырлар жүргізетін тікелей биофототиз суды ыдырату және биосутегіні алу үшін фотосинтезді пайдаланады. Дегенмен, бұл процестегі маңызды мәселе гидрогеназа ферментінің оттегіге, судың ыдырауының жанама өніміне айқын сезімталдығы болып табылады. Бұл биосутегі өндірісінің тұрақтылығын төмендетеді және процестің төмен тиімділігіне әкеледі (1,5 пайыздан төмен). 10-15 пайыз шығымдылыққа жететін жанама биофототиз вегетативті

жасушалар көмірқышқыл газын бекітуге және оттегін түзуге қатысатын цианобактериялардың мысалында көрсетілгендей процестерді кеңістіктік немесе уақытша бөлу арқылы оттегіге сезімталдық мәселесін жеңілдетеді. Ал құрамында нитрогеназа бар мамандандырылған гетероцисталар сутегі синтезіне жауап береді. Бұл жол жоғары тиімді болып саналады, өйткені органикалық қосылыстар сутегі бөлінеді және көмірқышқыл газы, сутектің максималды шығымдылығына 80 пайызға дейін жетеді [29].

Қараңғы анаэробты ферментация практикалық қолдану үшін, әсіресе органикалық қалдықтарды қайта өңдеу саласында ең перспективалы болып табылады. Бұл анаэробты әдіс глюкоза сияқты органикалық заттарды сутегі мен органикалық қышқылдарға айналдыру үшін *Clostridium* түрлері сияқты фотосинтетикалық емес микроорганизмдерді пайдаланады. Маңыздысы, ол жарықсыз жүретін процесс, бұл микроорганизмдердің тұрақты өнімділігі мен жылдам өсуіне мүмкіндік береді. Бұл процесс 60 пайыздан 80 пайызға дейінгі түрлендіру коэффициенттерімен ерекшеленеді және екі маңызды ферменттерге негізделген: сутегінің қайтымды түзілуіне ықпал ететін гидрогеназа және азотты қайтымсыз ыдырататын нитрогеназа, сутегі жанама өнім ретінде түзеді. Ферменттердің екі тобы да, әсіресе [Fe-Fe] гидрогеназа, көбінесе оттегіге өте сезімтал. Биологиялық сутегі өндірісінің тиімділігін арттыру үшін негізгі салада үздіксіз зерттеулер мен әзірлемелерді қажет етеді: ферменттер инженериясы, мысалы, оттегіге төзімді гидрогеназаларды құру; субстратты пайдалануды ұлғайту және бәсекелес жолдарды блоктау үшін метаболикалық жолдарды өзгертуді қамтитын метаболикалық инженерия; және H_2 тиімді жинау үшін биореактор дизайны мен ферментация параметрлерін оптимизациялауға бағытталған технологиялық инженерия секілді бағыттар [30, 31].

Тікелей биофотоллиз – бұл микробалдырлар суды ыдырату үшін фотосинтезді пайдаланатын сутекті алудың бір әдісі. Осылайша сутекті синтездеуге қажетті протондар мен электрондар қамтамасыз етіледі. Бұл әдіс биологиялық сутегі өндірісінің төрт негізгі түрінің бірі болып табылады. Тікелей биофотоллиз жағдайында электрондар II фотожүйе (PS II) және I фотожүйе (PS I) арқылы судан тасымалданады, содан соң ферредоксин (Fd) электронды тасымалдаушысы арқылы сутегі түзуге жауапты фермент гидрогеназамен байланысады. PS II фотондарды сіңіреді және су молекулаларының тікелей ыдырауына ықпал ететін күшті тотықтырғыштар түзеді. Су ыдыраған кезде оттегі бөлінеді, сонымен бірге көмірқышқыл газының ассимиляциясы және протондардың сутегіге дейін тотықсыздануы жүреді.

Тікелей фотоллиздің жалпы химиялық айналымы келесі теңдеумен қысқаша сипатталады: $2H_2O + \text{күн сәулесі} \rightarrow 2H_2 + O_2$. Бұл тәсілге үлкен кедергі – суды бөлу арқылы сутекті бір мезгілде өндіру және оттегінің бір мезгілде бөлінуі. H_2 түзілуін катализдейтін гидрогеназа ферменті оттегіге өте сезімталдықты көрсетеді және оның каталитикалық белсенділігі аэробты

жағдайда басылады, бұл H_2 тұрақты өндірісіне кедергі келтіреді. Нәтижесінде сутегі шығымы жиі төмендейді және тұрақсыз болады [32-34].

Бұл мәселені шешу үшін реактордан оттегінің пайда болуымен бір уақытта оны жою бойынша эксперименттік зертханалық зерттеулер жүргізілді; дегенмен, бұл әдіс өнеркәсіптік масштабта өндіріс үшін мүмкін емес болып шықты. Күн энергиясын сутегіге айналдыратын тікелей биофототолізді түрлендіру тиімділігі төмен болып қалады, дегенмен ол өндірілген оттегін тиімді жою арқылы жоғарлауы мүмкін.

Сутегіні бөліп шығаратын микроорганизмдерге ферментативті бактериялар, фотосинтетикалық бактериялар, цианобактериялар (әдетте көк - жасыл балдырлар деп аталады) және жасыл микробалдырлар жатады. *Scenedesmus obliquus* және *Chlamydomonas reinhardtii* сияқты жасыл балдырлар тікелей биофототоліз үшін ең көп зерттелген штамдар болғанымен, бұл процесте цианобактериялар да маңызды рөл атқарады. Көптеген түрлердің балдырлары (цианобактериялар), соның ішінде *Anabaena cylindrica*, *synechococcus elongatus*, *synechocystis* spp. және *Nostoc muscorum* биосутегіні түзуде едәуір рөл атқарады [35, 36].

Цианобактериялар мен балдырларда сутегі биосинтезіне (H_2) қатысатын негізгі ферменттер гидрогеназа және нитрогеназа болып табылады. Тек цианобактериялар түзетін нитрогеназа ферментінің H_2 өндірісіне қосқан үлесі көптеген зерттеулерде көрініс тапқан: азоттың шектеулі жағдайында ол сутегі түзу үшін протондардың тотықсыздануына ықпал етеді. Дегенмен, нитрогеназа арқылы жүзеге асырылатын сутегі өндіру процесі әрбір H_2 молекуласын синтездеу үшін төрт АТФ молекуласының шығынын талап ететін айтарлықтай энергия тұтынумен сипатталады және метаболикалық энергияны екі есе дерлік қажет ететін гидрогеназаға қарағанда айтарлықтай аз тиімді [37].

Цианобактериялар тікелей биофототолізге қатыса алатынына қарамастан, олар жанама биофототолізде қолданылатын микроорганизмдердің басым категориясы болып табылатынын айқындаған жөн, онда гетероцисталар деп аталатын мамандандырылған жасушалық құрылымдар H_2 продукциялау және оттегін түзу үшін қолданылады.

Тікелей биофототолізге байланысты негізгі мәселе гидрогеназа ферментінің молекулалық оттегіге сезімталдығының жоғарылауы болып табылады [38].

Бұл мәселені шешу үшін оттегі пайда болған кезде оны жою үшін зертханалық тәжірибелер жүргізілді, бірақ бұл әдіс ауқымды өндіріс үшін практикалық емес болып шықты. Ферменттердің тежелуінен басқа, тікелей биофототоліздің тиімділігі оңтайлы емес болып қалады: күн энергиясын сутегіге айналдыру кезінде ол 1,5 пайыздан аз [39].

Жанама биофототоліз био-сутекті (био- H_2) өндірудің төрт негізгі әдісінің бірі болып табылады және оттегі мен сутекті өндіру қадамдарын кеңістікте немесе уақыт бойынша бөлетін процесі қамтиды, осылайша ферменттердің тікелей биофототолізге тән оттегіге сезімталдық мәселесін айналып өтеді. Бұл

процесс екі бөлек фазада жүреді. Тікелей биофототолызден айырмашылығы, жанама биофототолыз сутекті тікелей бермейді, бірақ бастапқы кезеңде аралық электронды тасымалдаушы ретінде көмірқышқыл газын пайдаланады [40].

Бірінші кезеңде балдырлар сияқты автотрофты организмдер ашық су қоймасында өсіріледі, онда олар көмірқышқыл газын (CO_2) және атмосферадан суды сіңіреді, Күн радиациясын пайдаланып, жасуша ішінде көмірсулар сияқты полимерлі сақтау материалдарын түзеді және фотосинтез процесінде оттегін (O_2) шығарады. Бірінші кезеңнің жалпы реакциясы: $12\text{H}_2\text{O} + 6\text{CO}_2 + \text{күн} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$. Екінші кезеңде жинақталған полимерлі субстраттар сутекті өндіру үшін қолданылады. Бұл қадамды анаэробты немесе фотосинтетикалық ферментация арқылы жасауға болады.

Мысалы, гидрогеназа ферментте қараңғы және анаэробты жағдайда индукцияланады, мұнда H_2 өндіру үшін тек жасыл балдырлар қолданылады. Процестің екінші кезеңінің жалпы реакциясы, атап айтқанда көмірсулардың ферментацияы келесідей: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{H}_2\text{O} + \text{күн} \rightarrow 12\text{H}_2 + 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$. Жанама биофототолыз кезінде күн энергиясын сутекке айналдыру тиімділігі шамамен 10-15 пайызды құрайды [41-43].

Жанама биофототолыз негізінен осы процесті жүзеге асыру үшін арнайы жасуша бөліну процесін пайдаланатын азотты бекітетін цианобактерияларға бағытталған. Цианобактерияларда жасушалардың екі түрі бар: көмірқышқыл газы бекітіліп, оттегі өндірілетін вегетативті жасушалар және гетероцисталар, олар азотты бекіту үшін немесе азотты ортада сутекті өндіру үшін қолданылатын күшті жасуша қабырғасы бар мамандандырылған жасушалар. Гетероцисталардағы сутектің бөлінуі II фотосистемамен корреляцияланатын оттегі өндіру процесінен бөлек болғандықтан, бұл процесс тікелей биофототолызде сутектің бөлінуін тежейтін оттегі сезімталдығынан зардап шекпейді. Сутегі бөлінетін гетероцисталарда нитрогеназа көмірқышқыл газын бекіту кезінде пайда болатын органикалық қосылыстардан бөлінетін электрондар арқылы протондарды H_2 газына дейін төмендетеді. Алайда, бұл әдіс энергияның едәуір мөлшерін тұтынады, өйткені бір сутегі молекуласын өндіру үшін төрт АТФ молекуласы қажет, бұл басқа сутегі шығаратын ферменттермен салыстырғанда тиімсіз қатынас [44, 45].

Сонымен, тікелей биофототолыз II фотожүйедегі суды ыдырату арқылы сутекті түзеді, бірақ бұл жерде проблемалар туындау мүмкін, өйткені өндірілген оттегі сутегі өндірісінде шешуші рөл атқаратын гидрогеназа ферментінің жұмысына кедергі келтіреді. Бұл үлкен кедергі және оны өту үшін сутегі өндірісін уақытша тоқтату үшін күкірт жүйесінен айыру сияқты әдістер жиі қолданылады. Жанама биофототолыз, керісінше, екі бөліктен тұрады, онда сутегі өндірісі мен сутегі газының өзі уақыт бойынша бөлінеді. Бұл ферменттің блокталуына жол бермейді және сутекті тазартуды жеңілдетеді. Бұл процеске қажетті электрондар мен протондар әдетте жасуша ішіндегі заттардың ыдырауынан алынады. Тікелей және жанама биофототолыз жарық пен биологиялық процестер арқылы сутекті өндіру үшін үлкен маңызға ие

болғанымен, олардың коммерциялық мақсатта пайдаланылуына басты кедергі олардың көп мөлшерде сутегі шығармауы болып табылады [46].

1.2.2 Фотоферментация және қараңғы ферментация

Негізінде, фотоферментация биосутекті түзудің төрт негізгі әдісінің бірі болып табылады. Бұл фотосинтезге қабілетті бактериялар органикалық заттарды сіңіріп, оларды сутегіге айналдыратын процесс. Мұның бәрі оттегісіз жүзеге асады, бірақ жарықты қажет етеді. Сутекті өндірудің бұл әдісі өте тиімді, өйткені жарық органикалық заттарды мономерлерге ыдыратуға көмектеседі. Бұл процесс келесідей жүреді: көмірқышқыл газы ферредоксинмен (Fd) және азотфиксазалар арқылы органикалық заттарды H_2 -ге айналдырады [47, 48].

Күлгін бактериялар фотоферментацияның негізгі продуценттері болып табылады. *Rhodospirillum rubrum* немесе *Rhodopseudomonas capsulata* сияқты бұл бактериялар *Rhodospirillaceae* тұқымдасына жатады. Олар жарықты сіңіру және фотосинтез жүргізу үшін бактериохлорофиллді (BChl) пайдаланады. Қоршаған ортада азот немесе аммиак болмаған кезде негізгі фермент, нитрогеназа протондарды (H^+) алып, оларды сутекке (H_2) айналдырады. Ол органикалық материалдардан алатын электрондар мен протондарды пайдаланады. Нитрогеназа жүйесі энергияны электронды тасымалдаушы болып табылатын Fd-ден, сондай-ақ АТФ-дан алады. Осылайша, нитрогеназа азот көзін пайдаланбай сутегіні түзеді.

Қараңғы анаэробты ферментация биосутекті өндірудің төрт негізгі биологиялық жолының бірі болып табылады. Бұл процесті фотосинтетикалық емес микроорганизмдер (ферментативті бактериялар) жүзеге асырады, олар анаэробты жағдайда және жарық болмаған кезде органикалық субстраттарды ашытып, H_2 және органикалық қышқылдарды түзеді. Биогаз өндіруге бағытталған анаэробты ферментациядан айырмашылығы, қара ферментация тек сутектің пайда болуына бағытталған [49].

Қараңғы ферментация арқылы H_2 өндіруге қабілетті микроорганизмдердің ішінде ең кең таралған *Clostridium butyricum*, *C. pasteurianum*, *C. aceticum*, *C. kluyveri*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* және *Caldicellulosiruptor bescii*. Бұл бактериялар субстраттарды жоюдың кең спектріне ие, соның ішінде крахмал, ксилан және сахароза сияқты күрделі көмірсулар. *Clostridium* spp. сияқты облигатты анаэробтардағы сутегі өндіру механизмі, Эмбден-Мейергоф-Парнас жолы арқылы жүреді, онда көмірсулар органикалық қышқылдарға (ацетат, бутират) айналады. Бұл жағдайда H_2 ферредоксинмен тотығу нәтижесінде пайда болады. Теориялық тұрғыдан, қараңғы ферментация кезінде бір глюкоза молекуласынан 4 моль сутегі мен 2 моль сірке қышқылын алуға болады. Бұл теориялық максимумның шамамен 33 пайызды құрайды. Фотоферментациямен салыстырғанда салыстырмалы түрде төмен теориялық өнімділікке қарамастан, қараңғы ферментация сутегі

өндірісінің жоғары жылдамдығына, тәулік уақытына карамастан үздіксіз өсіру мүмкіндігіне (өйткені жарық қажет емес) және ферментативті бактериялардың жасушаларының тез өсуіне байланысты коммерциялық тұрғыдан ең тиімді болып саналады. Бұл кең ауқымды қондырғыларды басқаруға жарамды. Бұл процесте конверсияның тиімділігі жоғары болады. Қараңғы ферментация сонымен қатар органикалық қалдықтарды тазарту үшін практикалық қолданудың үлкен әлеуетін көрсетеді [50-51].

Сонымен, көк-жасыл балдырларға немесе цианобактерияларға келетін болсақ, зерттеулер олардың қараңғы анаэробты ферментацияның негізгі қатысушылары емес екенін көрсетеді. Бұл кішкентай организмдер фотосинтезімен танымал, яғни олар жарыққа тәуелді және жарық сутегін алу үшін суды тікелей немесе жанама түрде ыдырататын процестермен байланысты. Олар сутегі өндірісіне осылай қатысады:

Тікелей биофотоллиз: *Anabaena cylindrica* және *Synechocystis* сияқты кейбір цианобактериялар іс жүзінде сутекті түзе алады.

Жанама биофотоллиз: гетероцисталар деп аталатын арнайы жасушалары сутегі өндірісін оттегінің түзілуінен бөлетін қалың «қабырғалары» бар, сондықтан оттегі кедергі жасамайды. Олар сутекті осылай өндіру үшін нитрогеназа деп аталатын ферментті пайдаланады. Негізінде, цианобактериялар жарықты қажет ететін процестерде шешуші рөл атқарады, ал қараңғыда пайда болатын ферментация толығымен фотосинтезді қолданбайтын анаэробты бактерияларға байланысты (2-кесте).

Қараңғы ферментациядан көбірек сутегі алу үшін ғалымдар метаболизмді модификациялау үшін жұмыс істеуде. Бұл лактат жолы сияқты ресурстар үшін бәсекелесетін жолдарды жоюды және гидрогеназа және нитрогеназа сияқты сутегі шығаратын ферменттердің гендерін өзгертуді қамтиды. Ферменттер инженериясындағы үлкен мәселе – оттегіні өндей алатын Fe-Fe гидрогеназаларын құру, өйткені қараңғы ферментацияда қолданылатын негізгі фермент – Fe-Fe гидрогеназа – өте оңай зақымдалады [52, 53].

Кесте 2 – Биосутегі өндіру типтерінің сипаттамалары [49, 51]

Биосутегі өндірісінің типтері	Тиімділігі	Артықшылықтар ы/ Кемшіліктері	Экономикалық тиімділігі
Тікелей биофотоллиз	- Күн сәулесінен сутегіге дейін (<1,5%) - 3% -10% өндірілген оттегіні алып тастау арқылы қол жеткізіледі	- Сутегі өндірісінің төмен тиімділігі - Гидрогеназа ферменттерінің оттегіге жоғары сезімталдығы	- Жоғары құны - Тиімділікті арттыру және шығындарды азайту үшін жаңа технологияларды талап ету

Жанама биофотоліз	- Күн сәулесінен сутегіге дейін (10%-15%)		
Фотоферментация	- Жарықты түрлендірудің максималды тиімділігі: 9,3% - Сутектің максималды өндірісі: 80%%	- Өнімнің сапасы мен тиімділігін сақтау үшін процестерді оңтайландыру - Масштабтау - Экономикалық тиімділік	- Қалдықтарды кәдеге жарату тиімділігі мен әлеуетінің арқасында экономикалық өміршендік қамтамасыз етіледі - Субстрат шығындарын оңтайландыруға негізделген
Қараңғы ферментация	- Конверсия тиімділігі: 60%-80%		

Кестеде көрсетілгендей, биосутегі өндірісінің типтерінің әрайсысынын өзіндік артықшылықтары мен кемшіліктері бар. Болашақта саланы одан әрі дамыту үшін генетикалық стратегияларға (гидрогеназаның оттегіге сезімталдығын төмендету үшін), биомассаны алдын ала өңдеудің тиімді комбинацияларын әзірлеуге, өнімділікті арттыру үшін нанобөлшектерді пайдалануға, сондай-ақ зерттеулер арқылы процестерді масштабтауға назар аудару қажет.

1.2.3 Биосутегі түзілуіне қатысатын маңызды ферменттер

Гидрогеназалар – бұл әртүрлі микроорганизмдердің күрделі жасушалық жүйесінің ажырамас компоненттері болып табылатын өте күрделі және мамандандырылған ферменттер. Бұл бірегей биокатализаторлар сутегі қатысатын ең маңызды қайтымды химиялық түрлендіруге ықпал ете алады. Атап айтқанда, олар молекулалық сутекті тотықтырудың, энергияны немесе электрондарды бөлудің және керісінше бос сутегі газын тиімді генерациялау арқылы протондарды тотықсыздандырудың қос қабілетіне ие. Табиғатта бұл ферменттер микроорганизмдерге артық тотықсыздандырғыштарды тиімді басқаруға және жоюға мүмкіндік беру арқылы жасушалық гомеостазды сақтауда маңызды рөл атқарады. Бұл процесс сутегі өндіру арқылы қол жеткізіледі, оны "жасушалық қалдықтардың" бір түрі немесе метаболизм процестерінің жанама өнімі ретінде қарастыруға болады [54].

Соңғы уақыттағы зерттеу жұмыстары осы маңызды ферменттердің жаңа түрлері мен функцияларын көрсетеді. Цианобактериялар тобының гидрогеназалардың екі негізгі категориясы анықталды, олардың әрқайсысының өзіндік ерекшеліктері бар.

Гидрогеназалардың бір түрі - екі бағытты Хокс гидрогеназасы [NiFe]:

Бұл ферменттің маңызды физиологиялық үлесі оның "электронды клапан" функциясы болып табылады. Бұл маңызды рөл жасуша ішіндегі электрондар ағынын дәл реттеуге мүмкіндік береді.

Фотосинтез немесе ферментация энергетикалық процестері кезінде жиналуы мүмкін артық электрондарды тиімді бейтараптау үшін қажет. Осы электрондардың шығуын қамтамасыз ете отырып, Хокс гидрогеназасы жасушаны осындай шамадан тыс жүктеме нәтижесінде пайда болатын ықтимал зақымданудан тиімді қорғайды.

Бұл фермент тотығу-тотықсыздану потенциалы деп те аталатын жасушаның тотығу-тотықсыздану тепе-теңдігін сақтауда маңызды рөл атқарады. Ол қоршаған ортаның күрт өзгеруімен де тұрақтылықты қамтамасыз етеді. Мысалы қараңғылық кезеңінен жарық жағдайларына кенеттен ауысу секілді жағдайлар.

Жаңа зерттеулер жасуша ішіндегі осы жол үшін табиғи электронды донорларға жаңа жарық түсірді. Қазіргі зерттеулер электрондардың негізгі көздері бұрын негізгі донор болып саналған NAD(P)H емес, ферредоксин немесе флаводоксин екенін көрсетеді [55-57].

Гидрогеназалардың екінші тобы – сіңіру немесе жұтып алу гидрогеназасы. Гидрогеназалардың бұл ерекше түрі тек азотты бекітуге қатысатын цианобактерияларда болады. Оның дифференцияладанған қызметі сутекті сіңіру үшін онтайландырылған [58].

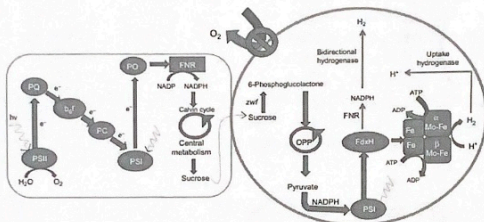
Бұл ферментті сіңіретін сутегі – атмосфералық азотты организмге жарамды түрге түрлендіруге жауапты фермент – нитрогеназа белсенділігі арқылы түзілетін жанама өнім.

Сіңіру гидрогеназасы үш маңызды функцияны орындайды. Біріншіден, ол энергияны көп қажет ететін азотты бекіту процесі кезінде жұмсалатын АТФ-ты қайта алу және пайдалану арқылы энергияны қалпына келтіруге ықпал етеді, осылайша метаболизмнің жалпы тиімділігін арттырады. Екіншіден, ол азотты бекіту реакциясына оттегісіз ортаны сақтауда маңызды рөл атқарады, өйткені оттегі азотты бекіту белсенділігіне қарсы ықпал тигізу мүмкін. Үшіншіден, ол сутектің шамадан тыс жиналуынан туындауы мүмкін азотты бекітудің тежелуін белсенді түрде болдырмайды [59-61].

Гидрогеназалардың әсері биосутегі өндірісінің қарқынды дамып келе жатқан саласына өзіндік үлесін қосуда. Цианобактериялар биоотынның, атап айтқанда биосутегінің тұрақты синтезіне арналған күрделі "жасуша фабрикаларын" дамытуға перспективасы жоғары болып саналады. Бұл олардың күн энергиясын тікелей пайдалану және суды сутегін өндіру үшін субстрат ретінде пайдалану қабілетіне байланысты. Заманауи ғылыми зерттеулер осы биосутекті өндіру процесінің тиімділігін арттыруға бағытталған. Негізгі стратегия цианобактерияларды табиғи [NiFe] гидрогеназаларын каталитикалық белсенді және тиімді туыс емес [FeFe] гидрогеназаларына ауыстыру мақсатында генетикалық модификациялау болып табылады. Олар айтарлықтай жоғары айналым жылдамдығын көрсететіні белгілі, яғни олар субстраттарды әлдеқайда жылдам өңдей алады.

Онтайлы өнімділікке қол жеткізу және осы модификацияланған биосутекті өндіру жүйелерін кеңінен қолдану үшін осы процеске қатысатын күрделі метаболикалық жолдарды жан-жақты түсіну қажет [62, 63].

Цианобактерияларда атмосфералық азотты (N_2) бекітуден басқа, азот фиксаздары экономикалық маңызы бар жанама өнім ретінде H_2 түзе алады. Бекіту процесінде N_2 азот фиксазалары (Mo-Fe азот фиксазалары) электронды ағынның 25%-ы протондарды сутегіге дейін төмендетуге бағыттайды. Алайда, альтернативті нитрогеназаларда (ванадий нитрогеназасы және құрамында тек темір бар нитрогеназа) H_2 өндіруге бағытталған жалпы электронды ағын әлдеқайда төмен, сондықтан балама нитрогеназалар сутегі өндіруге қолайлы үміткер емес. Гетероцисталы цианобактерияларда сутегі табиғи түрде азотты белсенді бекіту кезінде нитрогеназа арқылы өндіріледі, бірақ бөлінетін сутектің көп бөлігі гидрогеназа арқылы ұсталады және қайта өңделеді (1.1-сурет).



Сурет 1.1 – Цианобактериялардағы сутегі өндірісінің химиялық көрінісі

Нитрогеназалар – бактериялар мен архейлердің көптеген түрлерінде кездесетін металлоферменттердің күрделі тобы. Олар ғалармшарымыздағы азот циклінде негізгі рөл атқарады. Олардың негізгі биологиялық қызметі атмосфералық азотты аммиакқа айналдыру болып табылады. Алайда, бұл каталитикалық процесс екінші реттік өнім ретінде сутекті түзеді [64].

Биосутекті цианобактериялар арқылы өндіру саласында нитрогеназалар бірнеше процестерде орталық рөл атқарады.

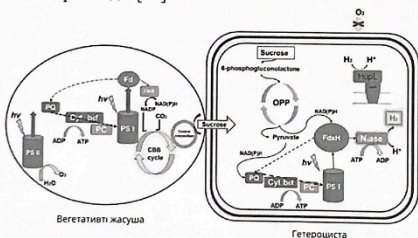
Нитрогеназалар биосутегіні өндіру процесіндегі реакцияларда бір бағытқа бағыттайтын катализатор ретінде әрекет етеді, яғни өнімді кері реагентке айналдыру мүмкін емес.

Цианобактериялар су молекулаларын ыдырату үшін күн энергиясын пайдаланады, бұл процесс фотолиз деп аталады. Азот фиксаторлары бұл судың бөліну құбылысының екі түрлі жолының ажырамас бөлігі болып табылады. Тікелей биофотолизге күн энергиясы мен суды сутегіге тікелей түрлендіруге қабілетті азот фиксаторларын синтездейтін

цианобактериялардың жоғарыда көрсетілген белгілі бір штамдары кіреді. Жанама биофотоллиз оттегі мен сутегі өндірісінің фазаларын ажыратады. Біріншіден, цианобактериялар энергияны фотосинтетикалық түрде крахмал немесе гликоген түрінде сақтайды. Содан кейін бұл жинақталған қосылыстар оттегі тапшылығы жағдайында метаболизденіп, сутегі түзеді [65, 66].

Нитрогеназаларды қолданудағы маңызды мәселе-олардың оттегіге өте сезімталдығы.

Гетероцисталар – бұл *Anabaena* тұқымдасы сияқты көптеген цианобактериялардың жіптеріндегі жалпы жасуша популяциясының шамамен 5-10 пайыз құрайтын жеке, сараланған жасушалар. Олардың негізгі қызметі – нитрогеназаның оңтайлы жұмыс істеуі үшін қажетті төмен оттекті немесе микроаэробты ортаны құру және сақтау. Азотты бекітетін фермент оттегіге өте сезімтал екенін ескере отырып, гетероцисталар фотосинтез кезінде қоршаған вегетативті жасушалар сөзсіз шығаратын ферментті оттегіден оқшаулау үшін қорғаныс қалқаны ретінде жұмыс істейді. Бұл физикалық сегрегация цианобактерияларға оттегі фотосинтезі мен азотты бекітудің қатар өмір сүруін қамтамасыз ететін механизмді жүзеге асыруға мүмкіндік береді [67, 68]. Біржасушалы және гетероциста түзбейтін жіп тәрізді цианобактериялар фотосинтезді күндіз жүргізіп, ал нитрогеназа белсенділігін түнгі уақытта күшейту арқылы осы екі үдерісті уақытша ажыратады (1.2-сурет). Ал гетероциста түзетін түрлер фотосинтез бен азот фиксациясын бір мезгілде жүзеге асыра алады [69].



Сурет 1.2 – Гетероциста түзетін цианобактерияларда оттекті фотосинтез бен азот фиксациясының кеңістіктік бөлінуі

1.3 Цианобактериялардың биосутегі өндірісіндегі биотехнологиялық әлеуетті штамдары

Оттегі фотосинтетикалық микроорганизмдер ретінде танылған цианобактериялар күн сәулесін және оны химиялық энергияға айналдыру үшін суды ыдырату процесін қолдана отырып, био-сутекті өндіруге

айтарлықтай әлеуетке ие. Бұл оларды баламалы жанартылатындардың үлгілі көздеріне айналдырады. Осы организмдердің био-сутегі өндірісі көбінесе биофототиз деп аталатын механизм арқылы жүреді. Биосутекті өндіруге ерекше қызығушылық тудыратын цианобактериялардың штамдары тікелей және жанама биофототиз әдістемелері негізінде жіктеледі [70].

Тікелей биофототизде қолданылатын штамдарға *Anabaena variabilis* және *Cyanothece* sp. жатады. *Anabaena variabilis* тікелей биофототизге қатысу арқылы бұл штамм судан және күн сәулесінен H_2 түзеді. Бұл штамммен байланысты негізгі шектеу-өндірілген H_2 гидрогеназа ферментімен қолданылады. *Cyanothece* sp. тікелей биофототизге де қатысады. Оның артықшылықтарына қоршаған ортадағы CO_2 концентрациясының төмендеуі жатады. Дегенмен, шектеу оттегінің болуына байланысты H_2 өндірісін тежеу болып табылады.

Тұтастай алғанда, тікелей биофототиз II фотосистемадағы судың ыдырау процесінде өндірілген электрондарды пайдаланады және бастапқы реагенттердің болуына байланысты тұрақты тәсіл болып табылады [71, 72].

Жанама биофототизде қолданылатын штамдарға *Synechocystis* PCC 6803, *Anabaena* sp. және *Plectonema boryanum* PCC7120 жатады (3-кесте).

Synechocystis PCC 6803 және *Anabaena* sp. PCC7120 жанама биофототиз процесінде қолданылады. Бұл штамдардың артықшылығы-олардың азотты бекіту қабілеті. Жанама биофототиз оттегі мен сутектің бөлінуіне жауап беретін реакцияларды бөлу арқылы оттегіге сезімталдық мәселесін шешеді.

Plectonema boryanum – бұл гетероцистасыз цианобактерия биологиялық фототиз арқылы биосутегін өндіруге бағаланған алғашқы микробалдыр болып табылады. Оттегісіз жағдайларда пайда болатын жанама биофототиз жағдайында эндогендік субстраттардың катаболизмі нәтижесінде бөлінетін электрондар фотохимиялық емес тотықсыздану үшін пайдаланылады, бұл электронды тасымалдау тізбегінің жұмысын тоқтатады. Содан кейін бұл электрондар $[Fe-Fe]$ гидрогеназаларына бағытталады, нәтижесінде био-сутегі пайда болады [73].

Bozilyeva et al. 2025 жылғы зерттеудің мақсаты цианобактериялардың, атап айтқанда, *Dolichospermum* sp. азотты бекітетін штаммына назар аударатырып, метаболикалық және генетикалық тәсілдер арқылы сутегі өндірісінің тиімділігін арттыру болды. IPPAS B-1213. Негізгі міндет биодизель өндірісінің жанама өнімі болып табылатын экзогендік глицериннің сутегі өндірісінің өнімділігі мен ұзақтығын арттыруға әсерін зерттеу болды.

Зерттеудің нәтижелері келесідей, *Dolichospermum* sp. IPPAS B-1213 зерттелген басқа штамдармен салыстырғанда сутегі өндірісінің айтарлықтай үлкен әлеуетін көрсетті. Глицеринді қосу сутектің бөліну жылдамдығының да, ұзақтығының да айтарлықтай өсуіне әкеліп соқтырды, бұл бұрын хабарланған көрсеткіштерден асып түсті. *Dolichospermum* sp/ үшін сутегі өндірісінің ең жоғары жылдамдығы. ол $132,3 \text{ мкмоль } H_2/\text{мг Chl A/сағ-қа}$ жетті, бұл дәстүрлі фотосинтез ингибиторларымен алынған жылдамдықтан отыз есе жоғары. Глицериннің идеалды концентрациясы *Dolichospermum* sp. үшін 46 күн ішінде

сутектің тұрақты бөлінуін қамтамасыз ететіні анықталды. *Dolichospermum* sp. IPPAS B-1213 үшін газ фазасында 67 пайызға дейін H_2 ұсталды.

Осылайша, зерттеу *Dolichospermum* sp. қабілетін растады. Тұрақты сутегі өндірісі үшін сенімді платформа ретінде қызмет ету және глицеринді қолдану арқылы мақсатты метаболикалық инженерияның маңыздылығын атап өтті [74].

Процестің тиімділігін тежейтін негізгі мәселелерге негізгі ферменттердің оттегіге сезімталдығы, электрондардың гидрогеназаларға тиімсіз тасымалдануы және Кальвин циклі сияқты бәсекелес жолдардың тотықсыздану эквиваленттері (электрондар мен АТФ) үшін бәсекелестік жатады. Сонымен қатар, өнімділікке негізгі гендердің экспрессиясын шектейтін реттеуші кері байланыс механизмдері және фотоингибирлеуді тудыратын жарықты тиімсіз пайдалану әсер етеді. Осы мәселелерді шешу үшін ғылыми көздер генетикалық және метаболикалық инженерияға негізделген стратегиялардың кешенді жиынтығын ұсынады: бұған көміртегі ағынын қайта бағыттау үшін RuBisCO сияқты бәсекелес ферменттердің нокауты немесе даунрегуляциясы, сондай-ақ ферредоксин сияқты электрондарды тасымалдауға қатысатын жергілікті немесе гетерологиялық гидрогеназа гендерінің және серіктес ақуыздардың шамадан тыс экспрессиясы кіреді [75, 76].

Кесте 3 – Цианобактериялардың кейбір штамдарының биосутегі өндірудегі артықшылықтары мен кемшіліктері [76]

Цианобактериялар штамдары	Негізгі сипаттамалар	H_2 өндіру әдістері	Артықшылықтары	Кемшіліктері
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	H_2 өндіруге арналған модельдік организм	Тікелей жол (FSII) және жанама жол (көмірсулардың катаболизмі)	Өсіру және өндеу оңай	Оттегіге сезімтал; күкірт тапшылығын қажет етеді
<i>Chlorella vulgaris</i>	Көмірсулардың H_2 өндірудің жоғары қабілеті	Көмірсулардың катаболизмі, жарықта да, қараңғыда да өндіріс	Жоғары биомасса және сутегі өндірісі.	Құрамында қант бар орта қажет. Ластану қаупінің жоғарылауы
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Калий тапшылығы кезінде H_2 өндірісінің артуы	ФСII-ге тәуелсіз жол	Оттегі тапшылығында жоғары өнімділік	Белгілі бір айыру шарттарын сақтауды талап етеді

Метаболизмді дәл өңдеу үшін CRISPR/Cas9 сияқты күшті синтетикалық биология құралдары және сутегімен байланысты гендердің экспрессиясын дәл реттеу үшін синтетикалық тізбектер мен промоторларды оңтайландыру қолданылады. Гетерологиялық, оттегіге төзімді гидрогеназаларды енгізу немесе флавогемоглобиндер сияқты оттегін сіңіретін жүйелерді шамадан тыс экспрессиялау арқылы оттегіге төзімділікті арттыруға ерекше назар аударылады. Процесс және инженерия деңгейінде кеңістіктік және уақыттық бөлу стратегияларын қолдану ұсынылады (мысалы, гетероцисталарда немесе инженерлік микрокомпьютерлерде). Жарық өткізгіштігін жақсарту үшін қысқартылған жарық жинайтын антенналары бар штамдарды қолдану және максималды өнімділік пен тұрақтылықты қамтамасыз ету үшін иммобилизацияланған немесе үздіксіз жүйелермен өсіру жағдайларын оңтайландыру [77-79].

Қорытындылай келе, жаңартылатын энергия көзі ретінде био-сутекті өндірудің жаңа жолдарын табу үшін молекулалық биологияны, синтетикалық биологияны, жүйелік биологияны және биоинформатиканы біріктіретін интегративті, пәнаралық тәсілдің таза, масштабталатын өндіруге қабілетті сенімді және жоғары тиімді цианобактериялық әлеуетін дамыту қажеттілігін көрсетеді.

2. Зерттеу нысандары мен әдістері

2.1 Зерттеу нысандары

Зерттеу нысандары ретінде Алматы облысы Шонжы елді мекеніндегі «Мақ» ыстық бұлағының базасы, «Рахымжан» шипажайы, Арасан №49 ыстық минералды бұлағынан бөлініп алынған су үлгілері, сондай-ақ жаңа бөлініп алынған коллекциялық микробалдыр штаммдары таңдалды.

2.2 Цианобактериялардың түрлік құрылымы мен құрамын анықтау

Су экожүйелерінен алынған сынамалардағы цианобактериялардың түрлік құрамын анықтау Сиренко әдістемесі бойынша келесі анықтамалықтарды қолдану арқылы жүргізілді: Орта Азияның көк-жасыл балдырларының анықтамалығы, 1-2 том; КСРО-ның тұщы су балдырларының анықтамалығы, 1-14 том, 1951; Орта Азияның көк-жасыл балдырларының анықтамалығы, 1-3 том, 1987; Орта Азияның протококкты балдырларының анықтамалығы, 1-2 том, 1988; Орта Азияның көк-жасыл балдырларының анықтамалығы, 1987; КСРО-ның тұщы су балдырларының анықтамалығы, 1951; Орта Азияның протококкты балдырларының анықтамалығы, 1976; Украин КСР-нің хлорококкты балдырларының қысқаша анықтамалығы, Киев, 1990 [80-83].

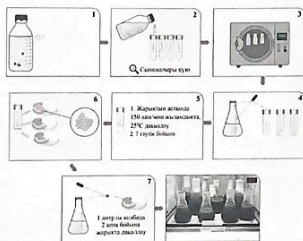
2.3 Табиғи көздерден фототрофты микрооағзаларды іріктеп алып олардың альгологиялық таза дақылдарын алу

Жинақтаушы дақылды дайындау үшін жиналған материалды (бірнеше текше сантиметр су, жасыл қақ, шырыш және т.б.) 2-суреттегі әдістің нұсқаулығына сәйкес, стерильді сұйық қоректік ортасы бар колбаларға немесе пробиркаларға егіп отырғызылды. Егілген материал бар ыдыстарды жарықтандыру үшін шыны үстіне қойылған люминесцентті шамдары бар раманың үстіне немесе терезе жақтауына (табиғи жарық,) орналастырды. Колбалардағы жарықтану деңгейі шамамен 6–10 мың люксқа сәйкес келуі керек [83].

Альгологиялық таза дақылды жинақтаушы дақылдан окшаулау үшін әдеттегі микробиологиялық әдіс – штрих әдісімен қайта егу әдісі қолданылды. Барлық цианобактериялардың альгологиялық таза дақылдары Заррука және BG-11 қоректік орталарында алынды. Автоклавта залалсыздандырылған, ішінде 15 мл-лік қоректік ортасы бар пробиркаларға микропипетка көмегімен ламинарлық бокстың астында, от жалынының қасында цианобактериялардың жинақы дақылы қосылды. Дайындалған үш пробиркаға арасына 1 апта салынып үлгілер ауыстырылды. Бұл қайта егу жұмыстары арқылы цианобактериялардың альгологиялық таза түрін бөліп алуға қол жеткіздік.

Себебі, әрбір 1 апта сайын микроскоптың астында тек қажетті клеткалар ғана алынып отырды. 3 колбаға қайтадан 150 айн/мин жылдамдықта 25° С температурада 7 тәулік бойына дақылданды.

Осыдан соң, суреттегі 6-ы этапта көрсетілгендей дақылданған түрдің аз мөлшері, яғни 1 мл суспензия 15 мл-лік жаңа қоректік ортаға Петри табақшаларына стерильді түрде көшірілді. Зерттелінетін өскен дақылдың колонияларынан трихомалар жиналуы микробиологиялық ілмектің көмегімен алынып, қоректік ортасы бар жаңа Петри табақшасындағы агар бетіне штрих әдісі арқылы қайта дақылданды немесе сұйық ортаға егіледі, кейін қалыпты жағдайда климатостатқа көшірілді. Келесі қайта дақылдау жұмыстары штрих әдісімен егуден өскен жеке колониялардан алынып жүргізілді. Бірнеше рет қайта егу кезінде және Петри табақшасына егу үшін пайдаланған кезде суспензиялар жеткілікті болады және бөлек клеткадан колония өсіп шығады. Альгологиялық таза дақылдар мұқият түрде микроскопиялық бақылаумен оқшаулап алынады [83].



Сурет 2 – Цианобактериялардың альгологиялық таза дақылдарын алу нұсқаулығы

2.4 Цианобактериялардың бактериологиялық таза түрлерін бөліп алу әдісінің маңызы

Цианобактериялардың бөлініп алынған дақылдарын тазарту үшін әртүрлі концентрацияларда (1500 бірл./мл-ден 25000 бірл./мл-ге дейін) антибиотиктер (пенициллин, гентамицин, тетрациклин, неомицин, ампициллин, хлорамфеникол, канамицин), сондай-ақ олардың қосындысы (жалпы концентрациясы 20000 бірл./мл) қолданылды. Есептелген антибиотик концентрациялары қоректік ортаға стерилизациядан кейін қосылады. Барлық нұсқаларда зеңге қарсы антибиотик ретінде кең ауқымды фунгицидтік антибиотигі — нистатин таңдалып алынды.

Ортаның лайлану деңгейіне қарай культураның тазалығы анықталды. Сондай-ақ, бірге жүретін микроорганизмдерді анықтау мақсатында микроскопиялық бақылау жүргізілді.

Цианобактериялардың жеке колониялары пайда болғаннан кейін оларды стерильді ілмекпен (калыпты микробиологиялық егу әдісіне ұқсас) Петри табақшаларынан стерильді сұйық орта құйылған колбаға немесе қиғаш агар салынған пробиркаға көшірді. Себілген колба мен пробиркаларды 1 – 1,5 апта бойы жарықта ұстап, жасушалар санының артуына қолайлы жағдай жасалды. Колбадағы культура ара-тұра шайқалып отырды.

Цианобактериялар жақсы дамыған соң (сұйық ортаның жасыл түске енуі немесе агардағы жасыл жолақ арқылы анықталады), колбалар мен пробиркалар 6–10°C температурадағы тоңазытқышқа әлсіз тұрақты жарық (люминесцентті шамнан) астына орналастырылды. Мұндай жағдайда культура ұзақ уақыт сақтала алады және тек агар-агар кебе бастағанда (шамамен әр 1,5–2 ай сайын) қайта егуді қажет етеді [84].

2.5 Цианобактерияларды зертханалық орта жағдайларында өсіру

Цианобактериялардың қай түрге жататындығын анықтау үшін тұщы су цианобактерияларына арналған анықтамалықтар пайдаланылды. Цианобактериялардың жинақталған дақылдарын алу үшін сынамадан 5 мл аликвота алынып, екі есе сұйылтылған сұйық қоректік орта (BG-11) құйылған 100 мл көлемдегі ыдысқа салынды. Сонымен қатар, тығыз агармен қатырылған BG-11 ортасының бетіне Петри табақшаларында сынамаларды себу жүргізілді. Культивирлеу процесі 18–22°C температурада және 45 мкмоль фотон/м²/сек тұрақты жарықта қатар жүргізілді.

Тәжірибе басталар алдында цианобактериялар дақылы Кох әдісімен, яғни сұйық ортадан (онда дақыл сақталған) жаңадан дайындалған сол құрамдағы қоректік орта құйылған Петри табақшасына көшірілді. Культивирлеудің алтыншы күні бір бөлінген колония (цианобактериялар жағдайында) жаңа дайындалған қоректік орта құйылған колбаға ауыстырылып, жарықта 5 тәулік бойы өсірілді. 5 тәуліктен кейін бұл дақыл әрі қарай зерттеу жұмыстарына қолданылды [83-84].

Цианобактерия штамдары стандартты құрамдағы сұйық және агарлы BG-11 және Заррука қоректік орталарында өсірілді. Қолданылған орталардың құрамы төмендегідей:

Қоректік орталардың құрамы: BG-11 қоректік ортасы: NaNO_3 – 1,50 г/л; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ – 0,04 (0,051) г/л; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,075 г/л; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,05 г/л; Na_2CO_3 – 0,02 г/л; Лимон қышқылы – 0,006 г/л; ЭДТА• Na_2 – 0,001 г/л; $\text{Fe}^{3+}/\text{NH}_4^+$ -цитрат (қоңыр, 16–19% Fe) – 0,006 г/л; микроэлементтер ерітіндісі – 1,0 мл/л; 0,5 М HEPES ерітіндісі, pH 7,5 – 40 мл/л; дистильденген су – 1 литрге дейін.

Заррука қоректік ортасы: NaHCO_3 – 16,8 г/л; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ – 1,0 г/л; NaNO_3 – 2,5 г/л; K_2SO_4 – 1,0 г/л; NaCl – 1,0 г/л; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2 г/л; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,04 г/л; $\text{Fe} + \text{EDTA}$ – 1,0 мл/л; Микроэлементтер ерітіндісі 1 – 1,0 мл/л; Микроэлементтер ерітіндісі 2 – 1,0 мл/л; Агар-агар – 12,0 г/л; Дистильденген су – 1 литрге дейін.

Цианобактериялар 250–1000 мл көлемдегі конус тәрізді колбаларда өсірілді. Жарық көзі ретінде 2000, 4000 және 6000 люкс қарқындылығымен күндізгі жарық шамдары қолданылды. Өсіру температурасы 18–36°C аралығында болды.

2.6 Дақылдардың өсу жылдамдығын анықтау

Эксперимент жүргізу үшін зерттелетін цианобактерия жасушаларын зертханалық люминостапта, 250 мл көлемдегі шыны көпіршікті ыдыстарда үзіліссіз өсірді. Өсіру температурасы 27°C болды, жасанды жарықтандыру жарық қарқындылығы 300 мкмоль $\text{м}^2 \text{с}^{-1}$ шамасында жүргізілді. Сонымен қатар, ортаға 1 пайыз CO_2 -мен байытылған стерильді газ-ауа қоспасы беріліп отырды (Владимирова, 1962: 21). Аэрация BOYU air-pump S-4000B (Қытай) атты ауа компрессоры арқылы қамтамасыз етілді. CO_2 концентрациясын реттеу үшін RMA-0,063 ротамер (Ресей) Г қолданылды. Барлық тәжірибелік штаммдар BG-11 ортасында өсірілді [84].

Цианобактерия жасушаларындағы хлорофиллдың тұрақты флуоресценциясы (F_0) AquaRep AP 100 (Чехия) флуориметрі арқылы өлшенді. Цианобактерия дақылдарының өсуі PD-303UV (Жапония) спектрофотометрі арқылы, жасуша суспензиясының оптикалық тығыздығының $\lambda = 750 \text{ нм}$ (OD_{750}) толқын ұзындығындағы өзгерісіне қарай бақыланды [85].

Цианобактерия дақылдарының өсу жылдамдығы эксперименттік ыдыстардағы жасушалар санының артуы бойынша келесі формула арқылы есептелді:

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

мұндағы k – дақылдардың өсу жылдамдығы;

N_0 – бастапқы жасуша саны;

N_t – белгілі бір уақыт өткеннен кейінгі жасуша саны;

t – уақыт аралығы.

2.7 Цианобактериялық дақылдардың морфологиялық қасиеттеріне зерттеу жүргізу

Бөлініп алынған цианобактерия дақылдарының морфологиялық сипаттамалары ICO Infinitivie - MicroOptix MX 300 T (Австрия) оптикасы бар

микроскоп камерасы арқылы зерттелді. Зерттеу барысында 10х, 40х, 100х үлкейткіш объективтер және 10х үлкейтетін окулярлар қолданылды.

Зерттеу барысында жарық қарқындылығы Quantum Q 40555 LI- 250A (LIC5R Biosciences, Lincoln, NE, USA) жарық өлшегіші арқылы ыдыстың 5 жерінен өлшелінді және ортақ көрсеткіші алынып, мкмоль фотон/м²/сек өлшем бірлігінде көрсетілді.

2.8 Цианобактериялардан сутегін алу әдістері

Цианобактерияларды өсіру кезінде дақылдар 70мл сұйық BG-11 қоректік ортасында өсірілді және ауа сорғы арқылы үздіксіз желдетілді. Цианобактериялардан сутек алу үшін өсіру жұмыстарында жарық (қарқындылығы: 45 ммоль фотон/м²/сек) пробирканың үш жағынан біркелкі жіберілді. Биомасса жеткілікті жинақталғаннан кейін, сутегі өндіруді (экстракцияны) бастауға дайындық үшін дақыл 100мл көлеміндегі герметикалық колбаларға көшірілді.

2.9 Сутегі алу үшін цианобактериялық биомассаны дайындау әдісі

Цианобактериялар дақылдары 40 мл түтіктерде өсірілді. Содан кейін 5 минут ішінде 5000 айн/мин центрифугаланды. Жоғарғы сұйықтықты ағызғаннан кейін жасуша дақылдарына 100 мл BG₀-11 қоректік орта қосылды және 3 минут бойы араластырылды. Осыдан кейін дақылдар 24 сағат бойы жарықта өсірілді (интенсивтілігі: 45 ммоль фотон/м²/сек) және центрифугадан (5810R, Eppendorf, USA) 5 мин 5000 айн/мин. Қоректік ортаға культура үстіңгі затын құйғаннан кейін 30 мл BG₀-11 қосылды. Жасуша биомассасы HS-10VA микро араластырғышпен 150 айн/мин (AS ONE International, Inc. АҚШ) шайқалды. Қараңғыда құты фольгамен жабылып, Biosan OS-20 (Латвия) 25°C температурада өсірілді [86].

2.10 Молекулярлық сутекті өлшеу әдісі

Жиналған молекулалық газ H₂ өндірісінің нұсқауларына сәйкес өлшенді GH (2000, Chromates, Ресей). Инжектор мен колонна 80°C, ал детектор 120°C температурада жұмыс істеді. GH шприцінің көмегімен (Hamilton Company, Рено, АҚШ) 0,15 мл газ GH құтысынан алынып, GH ішіне енгізілді. Тәжірибелер кезінде температура 25,0±0,5°C, ал бастапқы рН 7,4 болды. Мольде бөлінетін сутегі мөлшерін есептеу үшін стандартты калибрленген сутегі қисығы қолданылды. Бірнеше тәжірибеден кейін мВ және мл арасындағы сызықтық байланыс 0,9825 орташа ауытқумен есептелді. Конверсияланған сутегі нәтижелері мкмольге айналдырылды және хлорофилл

концентрациясына (мг) бөлінді. Содан кейін бұл шаманың сутегі бөліну сағатына бөлінген құты ішіндегі бас кеңістігіне (15 мл) көбейтілді және соңғы сутегі өндірісі ммоль H_2 /мг хл/сағ ретінде көрсетілді. Тасымалдаушы газ ретінде аргон пайдаланылды.

2.11 Сутегі өндірісін оңтайландыру

BG-11 көмегімен 10-нан 200 мМ-ге дейінгі әртүрлі $NaHCO_3$ концентрацияларында H_2 ферменттік өндірісіне қол жеткізілді. Ерітіндіге $NaHCO_3$ тұзын қосу арқылы 10, 25, 50, 100 және 200 мМ $NaHCO_3$ концентрациясы алынды. H_2 ферменттік ерітіндісінің рН (5, 7, 9) қышқыл мен негізді (HCl және NaOH) қосу арқылы реттелді. HEPES-тің H_2 өндірісіне әсері 10 мМ-ден 200 мМ-ге дейінгі (10, 25, 50, 100, 200 мМ) тұз концентрацияларымен анықталды.

2.12 Статистикалық өңдеу

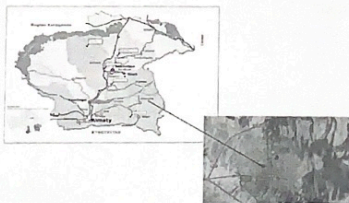
Зерттеу барысында барлық тәжірибелер 3-5 қайталауда жүргізілді (кестелер мен суреттерде әрқайсысы 4-6 жазбадан). 0,05 маңыздылық деңгейі үшін қажетті қайталау саны деректердің таралу дәрежесін пайдалана отырып анықталды. Мәліметтерді өңдеу Excel бағдарламасын қолданып, статистиканың вариациялық әдістері «ANOVA» статистикалық жүйесі арқылы жүзеге асырылды. Бұл талдау нәтижесінде негізгі көрсеткіштер үшін салыстырмалы стандартты қателік 2-5 пайызды құрады, ал қосалқы компоненттер үшін 10 пайыздан аз болды. Зерттеудегі айырмашылықтар $P < 0,05$ деңгейінде маңызды деп танылып, барлық деректер орташа мәнде стандартты ауытқу түрінде берілді.

3 Зерттеу нәтижелері мен оларды талқылау

3.1 Әртүрлі экожүйелерден перспективалы цианобактерия дақылдарын іздеу және анықтау

Алматы облысы геотермальды ыстық бұлақтармен қамтамасыз етілген жанартаулардың жоғары деңгейімен ерекшеленеді. Бұл аймақта судың температурасы 30°C-тан 98°C-қа дейін болатын 140-қа жуық ыстық бұлақ бар. Бұл өңірде, Кетмен таулары мен Іле өзені аңғарының аралығында орналасқан Шонжы ауылының бұлақтары – радон суы бар. Ол аз минералданған ірі артезиандық термалды бұлақтардың бірі (3.1-сурет). Географиялық орналасуы бойынша Жаркент қаласының термофилді цианобактериялары алғашқы әрі ең мұқият зерттелген организмдер қатарына жатады. Шонжының термалды минералды бастаулары температурасы бойынша жылы (20-37°C), ыстық (37-50°C) және өте ыстық (50-100°C) болып бөлінеді [87].

Бұл зерттеу жұмысының мақсаты — қоршаған ортаның әртүрлі стресс жағдайларында белсенді өсіп, сутегі өндіру қабілетіне ие жаңа цианобактерия штаммдарын бөліп алу. Осы мақсатқа сәйкес, Алматы өңірінің әртүрлі экожүйелерінен су, топырақ және өсімдік үлгілері жиналды. Сонымен қатар, зерттеу Шонжы мекенінің термалды бастауларынан табылған термофильді цианобактериялардың алуан түрлілігін, олардың морфологиялық және культуралық қасиеттерін анықтауға және өнеркәсіптік биотехнологияда қолдануға жарамды белсенді дақылдарды іріктеуге бағытталған. Биоалуантүрлілігі жоғары цианобактерияларды анықтау мақсатында ыстық су көздерінің флорасына зерттеу жұмыстары жүргізілді. Нәтижелер фототрофты микроорганизмдердің көп мөлшерде таралғанын көруге болады. Шонжы бұлақтарындағы судың температурасы +45 пен +55 °C аралығында, рН ~7,0 – 7,5 шамасында анықталды.



Сурет 3.1 – Сынама алу орындарының географиялық орналасуы (Шонжы, 43°00'10.0" солтүстік ендік, 79°59'30.0" шығыс бойлық)

Зерттеу жүргізілген аумақтардың басым бөлігінде негізінен жасыл балдырлар (*Chlorophyta*) доминантты болғанымен, көкшіл-жасыл балдырлар (цианобактериялар) тұрақты және өзгермелі топтармен жиі кездесті.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде, фототрофты микроорганизмдердің фототрофты цианобактериялар арасында ең көп тарағандары *Oscillatoria* түрлері, *Synechocystis* және *Anabaena* туыстары екен (3.2-сурет).



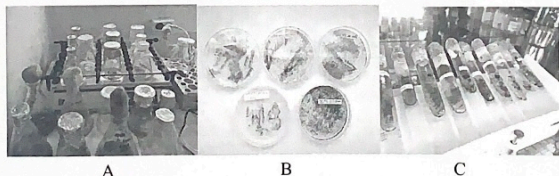
Сурет 3.2 – Шонжы термалды су көздерінен алынған цианобактериялардың морфологиясы

3.2 Цианобактериялардың аксендік дақылдарын бөліп алу жолы

Келесі кезеңде Шонжы ауданының ыстық су бұлағынан алынған су сынамаларынан цианобактериялардың таза дақылдарын бөліп алып зерттеу жүргізілді.

Бұл кезеңнің мақсаты — жоғары өсу жылдамдығымен сипатталатын, әрі биосутегін өндіруге арналған фотобиореакторларда өсіруге жарамды жаңа цианобактерия штаммдарын табу және іріктеу.

Цианобактериялардың бактериологиялық жағынан таза дақылдарын алу — бұл күрделі және көп сатылы үдеріс, әрі зерттелетін ағзалардың спецификалық ерекшеліктерін анық көрсететін ауыр жұмыстардың бірі (3.3-сурет).



Сурет 3.3 – Цианобактериялардың таза дақылын бөліп алу кезеңдері

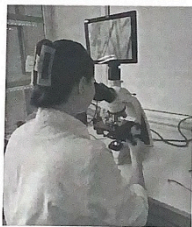
Бактериологиялық талдау нәтижелері бойынша барлық дақылдарда қоса жүретін микрофлора байқалды. Альгологиялық жағынан таза цианобактерия дақылдарын алу үшін жинақталған дақылдардан микробиологиялық әдістер қолданылды.

Цианобактерияларды бөліп алу мақсатында BG-11 және Заррук орталарында — сұйық және агарланған түрде, колбаларда және Петри табақшаларында егу жүргізілді. Бұл табақшалар жарыққа орналастырылды. Минералдық (органикалық емес) орталарда, жарық жағдайында негізінен цианобактериялар мен микробалдырлар өмір сүруін жалғастырады. Өскен цианобактерия колонияларынан қайтадан сұйық ортаға немесе кигаш агарға қайта себу жүргізілді.

Қолданылған орталар цианобактериялар үшін селективті болғандықтан, оларды микробалдырлардан бөлу ерекше қиындық тудырмады.

Жеке таза дақылдар микробиологиядағы "штрих әдісімен" бөлініп алынды. Бұл үшін микробиологиялық ілмекпен аз мөлшерде үлгі алынып, коректік ортаның бетіне жағылды. Бастапқыда ілмек ізінде көп мөлшерде клеткалар болды, бірақ ілмек қозғалған сайын жеке дара клеткалар ғана қалды. Себуден кейін Петри табақшалары колониялар өсе бастағанға дейін инкубацияланды.

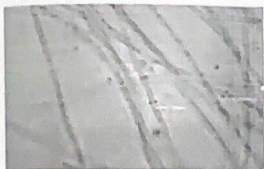
Кейбір изоляттар үшін 2000 бірл/мл концентрацияда ампициллин мен хлорамфеникол антибиотиктері қолданылып, сол арқылы цианобактериялардың бактериясыз таза штаммдарын алуға мүмкіндік туды. Осылайша, 10 жинақтаушы культураның ішінен бірнеше мәрте қайта себу және антибиотиктерді қолдану арқылы зертханалық жағдайда тұрақты өсуге қабілетті 4 аксендік цианобактерия культурасы алынды. Бұл культуралар микроскоп арқылы қаралып, стандартты микробиологиялық әдістермен зерттелді (3.4-сурет).



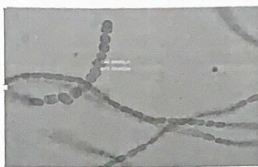
Сурет 3.4 – Цианобактериялардың таза дақылын микробиологиялық әдістермен зерттеу

3.3 Бөлінген цианобактериялар дақылдарының культуралық-морфологиялық және физиологиялық қасиеттері

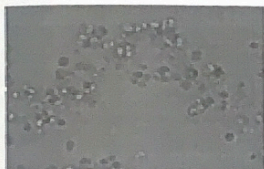
Дақылдарды кодтау олардың бөлініп алынған жеріне және іріктелген сынамаың нөміріне сәйкес жүргізілді. Осылайша, Шонжы аумағындағы ыстық бұлағының су сынамаларынан альгологиялық және бактериологиялық таза *Synechococcus* sp.-CHN *Nostoc* sp.-CHN, *Oscillatoria* sp.-CHN және *Anabaena variabilis*-CHN дақылдары бөлініп алынды (3.5-сурет).



Synechococcus sp.-CHN



Nostoc sp.-CHN



Oscillatoria sp.-CHN



Anabaena variabilis -CHN

Сурет 3.5 – «Мақ» базасының маңында, «Рахымжан» санаторийінде және №49 Арасан ыстық бұлағынан бөлініп алынған цианобактерия дақылдарының жасушаларының морфологиясы

Synechococcus sp.-CHN: Көлемі 0,6-дан 6 мкм-ге дейінгі жасушалар. Олар бетінде проекциялары болуы мүмкін жоғары құрылымды жасуша қабырғалары бар грам-теріс жасушалар. Жасушалар қозғалғыш, қозғалысы кірпікшелерді қамтымайтын жаңа, сипатталмаған фототактикалық емес жүзу тәсілі арқылы жүзеге асады. Әдетте ол біркелкі орналасқан концентрлі сақиналар түзе отырып, 2-3 тилакоидты мембраналық қабаттарды қамтиды. Ал оның карбоксисомалары мен полифосфатты денелері цитоплазманың орталық аймақтарында орналасқан. Ол Заррука коректік ортасында өседі. Шонжы ауылындағы № 49 Арасан ыстық минералды бұлағынан бөлініп алынған.

Nostoc sp.-CHN: Жіп тәрізді цианобактериялар. Ұштары тарылмаған және бөліну орындарында айқын тармақталған, трихомдары бар (ұзындығы 6-8 мкм, ені 3-5 мкм) тік, көк-жасыл түсті сфералық вегетативті жасушалардан тұрады. Көп жағдайда гетероцисталар интеркалярлы, жалғыз, ашық қоңыр түсті болады. Сопақша, өлшемдері вегетативті жасушалардан ерекшеленеді, түйіршікті және гормогониялық жолмен көбейеді. Дақыл белгілері: Заррука және BG-11 орталарында 23-25°C температурада жақсы өседі, өсудің қолайлы рН көрсеткіші – 6,5-7. Сонымен қатар, ол түтікше түбіндегі қабықша түрінде қатты және сұйық қоректік ортада өсуге бейімделген. Ескі дақылдарда немесе құрамында азоты төмен ортада гетероциста мен акинетаның дамуы жүреді. Жүйелік орны бойынша дақыл цианобактериялар тобына, *Hormogeneae* класына, *Nostocales* қатарына, *Nostoc* туысына, *Nostoc* түріне жатады. Ұйғыр елді мекені, Шонжы ауылындағы «Мақ» ыстық бұлағының базасынан бөлініп алынған.

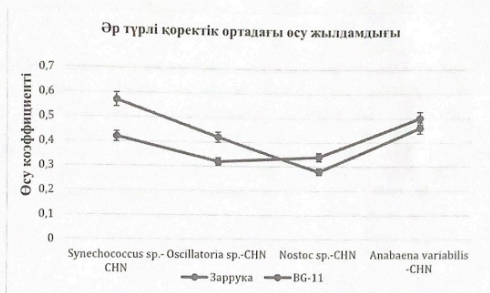
Oscillatoria sp.-CHN: Трихомдары көк-жасыл түсті, тік, көлденен перделерінде буылтықтанбаған, ұштарына қарай жіңішкермеген, ұзындығы енінен үлкен. Жасушалары ұзындығы 8-20 мкм-ге жетеді, бір-біріне жабысқан тік вегетативті жасушалардан тұрады. Сонымен қатар, азот жетіспеген жағдайда гетероцисталардың орнына жасушаның соңында трихомдар пайда болуы мүмкін. Трихомдардағы жасушалар көбінесе цилиндр тәрізді, изодиометрлік, өлшемі 1,3-1,7 мкм. Трихом жасушалары мөлдір, гомогенді және түйіршікті болады. Дақыл сипаттамасы: қатал жағдайларда нашар өседі, көк-жасыл колониялар түзеді. Олар 23-28°C температурада қарқынды өседі, жарықта BG-11, Заррука қоректік орталарында бастапқы рН-7,2 көрсеткішінде өсіріледі. Таксономиялық байланысы бойынша олар *Hormogeneae* класының, *Oscillatoriales* қатарының, *Oscillatoriaceae* тұқымдасының, *Oscillatoria* туысының цианобактерияларына жатады. Заррука қоректік ортасында Шонжы ауылындағы «Рахымжан» ыстық минералды бұлағынан бөлініп алынған болатын.

Anabaena variabilis-CHN: Шырышты қабығы бар жіп тәрізді цианобактериялар. Трихомалар салыстырмалы түрде параллельді, гомоцитті, дара, түзу, бір қатарлы және қою көк-жасыл. Белсенді трихома қозғалысы байқалмайды, бірақ трихоманың ұштары дірілдейді. Ұяшықтың ені 2,6-5 мкм, яғни ұзындығынан 2-3 есе қысқа. Культура тек екіге және бір жазықтықта жасушаның бөлінуімен ғана көбейеді. Дақылдық сипаттамасы: Сұйық ортада жасуша биомассасының суспензиясы көк-жасыл түске ие, оңай тасымалданады және тез аморфты массаға айналады. Культура қоршаған орта жағдайлары мен жыл мезгілдеріне тәуелсіз дамиды және өсу кезінде өзінің аксеникалық қасиеттерін сақтайды. Заррук және BG-11 қоректік орталарында жақсы өседі. BG-11 өсірудің оңтайлы шарттары 23-25°C инкубациялық температура және рН 6,5-7 болды. Жүйелік жағдайы бойынша олар цианобактериялар тобына, *Hormogeneae* класына, *Nostocales* отрядына, *Nostocaceae* тұқымдасына, *Anabaena* тұқымдасына жататын болып шықты. Шонжы ауылындағы «Мақ» ыстық бұлағының базасынан бөлініп алынған.

3.4 Алынған цианобактерия дақылдарын культивирлеу жағдайларын анықтау

Зертханалық жағдайларда барлық дақылдар сегіз тәулік бойы екі түрлі қоректік ортада (BG 11, Заррука) культивирленді.

Жүргізілген тәжірибе нәтижесінде *Nostoc* sp.-CHN және *Anabaena variabilis* - CHN тәжірибелік дақылдарының өсуі BG 11 қоректік ортасында культивациялау кезінде байқалды. Олардың Заррука қоректік орталарында дақылдардың өсу деңгейі салыстырмалы төмен болды. Ал *Synechococcus* sp.-CHN және *Oscillatoria* sp.-CHN дақылдары үшін қолайлы қоректік орта Заррука ортасы болып шықты. Осыған байланысты біз барлық бөлініп алынған цианобактерияларды одан әрі инкубациялау үшін сәйкесінше BG 11 және Заррука қоректік орталарын таңдадық (3.6-сурет).



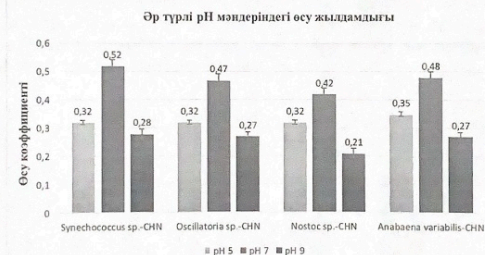
Сурет 3.6 – Әртүрлі қоректік орталарда цианобактерия штаммдарының өсу жылдамдығы

Қоректік ортаның құрамынан басқа, цианобактериялардың тұрақтылығына, химиялық реакция жылдамдығына және өсу динамикасына ортаның рН-ы, температура, жарық қарқындылығы, оттегі мен көмірқышқыл газының концентрациясы сияқты маңызды факторлар әсер етеді. Сондықтан бұл жағдайларды қатаң бақылау қажет. Ең қысқа генерация уақыты қамтамасыз етілетін жағдайлар оңтайлы. Кез келген тірі организм үшін оңтайлы температураның, ортаның рН-ының және жарықтанудың өз көрсеткіштері бар. Осыған байланысты біз жоғарыда аталған факторлардың зерттелетін дақылдардың өсу динамикасына әсеріне зерттеу жүргіздік.

3.4.1 Бөлінген цианобактериялардың жасуша өсуіне ортаның қышқылдық рН әсері

Сутегі иондарының (H^+) концентрациясына тәуелді және рН бірліктерімен өлшенетін қоршаған ортаның белсенді реакциясы әртүрлі көріністердегі организмдердің тіршілік әрекетінің ең негізгі көрсеткіштерінің бірі болып келеді. Ол қышқылдық орта цианобактериялардың өсуі мен дамуында маңызды рөл атқарады. Цианобактерияларды өсіру кезінде жоғары нәтижеге жету үшін рН олардың өсуіне оңтайлы болуы керек. Әртүрлі таксондар қышқылдықтың өзгеруіне әртүрлі төзімділікке ие. Әрбір түрдің өсетін минималды, максималды және оңтайлы рН мәні бар. Көптеген цианобактериялар бейтарап немесе сәл сілтілі ортада дамиды. Оңтайлы рН 7,0-7,5. Қоршаған ортаның қышқылдығы қоректік ортаның құрамдас бөліктерінің тұрақтылығына, олардың қолжетімділігіне, атап айтқанда өсу факторлары мен витаминдердің сіңімділігіне әсер етеді [88].

Орташа рН 5,0, 7,0 және 9,0 мәндерінің окшауланған цианобактериялардың өсу жылдамдығына әсері зерттелді. 680 нм (OP_{680}), кезіндегі бастапқы оптикалық тығыздық барлық нұсқаларда 0,02 болды, ал жасушалар саны барлық эксперименттік нұсқада $0,5 \times 10^6$ кл/мл болды. Тәжірибе үшін қажетті рН мәндері 10 пайыз натрий карбонаты мен натрий гидрокарбонаты ерітінділерінің есептелген арақатынастары арқылы белгіленді. Ол рН өлшегіш көмегімен бақыланды. Бұл эксперименттерде алынған нәтижелер 3.7-сурет көрсетілген.



Сурет 3.7 – Цианобактериялық дақылдарды ортаның әртүрлі рН мәндерінде өсіру кезінде олардың өсу коэффициенттері

Әртүрлі рН мәндері бар қоректік орталарда тәжірибелік цианобактериялық дақылдардың өсуін тіркеу барлық зерттелетін дақылдар үшін оңтайлы рН мәні 7,0 екенін көрсетті. Осы рН деңгейінде барлық

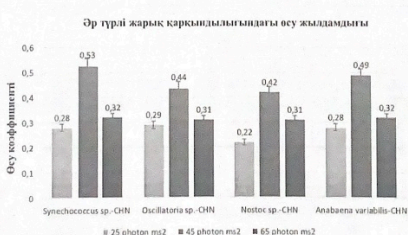
тексерілген цианобактериялық жасушалар рН 5,0 және 9,0 өсумен салыстырғанда ең белсенді өсу дәрежесін көрсетті.

3.4.2 Бөлінген цианобактериялар культураларындағы өсу жылдамдығының коэффициентіне жарық қарқындылығының әсері

Фототрофты микроағзалардың өсуіне жарықтың әсері олардың өсу жылдамдығын бақылайтын маңызды факторлардың бірі болып табылады. Яғни, сутегі өндірісі белгілі бір дәрежеде жарықтың әсерімен және қоректік ортаның азот құрамымен байланысты дегенді білдіреді.

Цианобактерияларды өсірудің заманауи әдістері қаншалықты әртүрлі болса да, олардың барлығы жасушаларды жеткілікті жарықпен, көмірқышқыл газымен және басқа қоректік заттармен қамтамасыз етуге негізделген. Цианобактерияларға әсер ететін жарықтың қарқындылығы олардың өсу жылдамдығын, фотосинтетикалық белсенділігін және маңызды жасушалық биополимерлердің жинақталуын бақылайтын маңызды факторлардың бірі болып табылады [89].

Окшауланған цианобактериялар үш түрлі жарықтандыру жағдайында өсірілді: 25 ммоль фотон/м²/сек, 45 ммоль фотон/м²/сек және 65 ммоль фотон/м²/сек. Өсіру эксперименті кезінде алған мәліметтерімізге сәйкес, жарық интенсивтілігін 25 фотон/м²/сек-тен 65 ммоль фотон/м²/сек дейін өзгерткенде цианобактериялар дақылының суспензиясының тығыздығының өзгеруі байқалды. Тәжірибенің басында жасушалардың бастапқы саны барлық эксперименттік нұсқада $0,5 \times 10^6$ кл/мл болды. 25 ммоль фотон/м²/сек, 45 ммоль фотон/м²/сек және 65 ммоль фотон/м²/сек жарықтандыру жағдайында өсіру кезінде окшауланған цианобактериялар дақылдарының өсу жылдамдығының коэффициенттері 3.8-суретте көрсетілген.



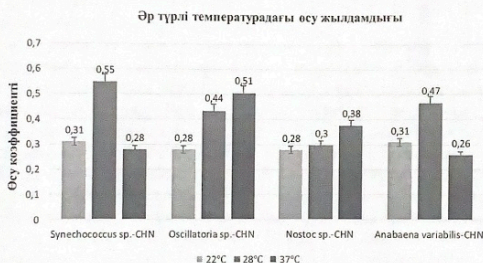
Сурет 3.8 – Әртүрлі жарық интенсивтілігінде окшауланған цианобактериялар дақылдарын өсіру кезіндегі өсу коэффициенті

Тәжірибе нәтижесінде барлық оқшауланған цианобактерия ақылдары үшін өсу коэффициентінің максималды мәндері 45 ммоль фотон/м²/сек жарықтандыру кезінде қарқынды өсімдер анықталды. Өсу коэффициенті 0,22-ден 0,53-ке дейін артуы байқалды.

3.4.3 Бөлінген цианобактериялар культураларындағы өсу жылдамдығына температурасының әсері

Nostoc sp.-CHN, *Oscillatoria* sp.-CHN, *Synechococcus* sp.-CHN және *Anabaena variabilis*-CHN оқшауланған дақылдары BG 11 және Заррука орталарында рН -7,0 мәнінде 10 күн бойы 22°C, 28°C, 37°C температурада өсірілді. Барлық нұсқалардағы дақылдардың бастапқы оптикалық тығыздығы 0,02 ОП бірлігін құрады (3.9-сурет).

Oscillatoria sp.-CHN дақылы өсірудің бірінші күнінен бастап 37°C температурада және рН 7,0 кезінде қарқынды өсуді көрсетті. Қалған микробалдыр дақылдары үшін оңтайлы температура 28°C болды.



Сурет 3.9 – Әр түрлі температурада оқшауланған цианобактериялар дақылдарын өсірудің өсу жылдамдығының коэффициенттері

Осылайша, зерттеу нәтижесінде бізде келесі өсірудің оңтайлы шарттары анықталды:

- *Nostoc* sp.-CHN және *Oscillatoria* sp.-CHN дақылдары үшін - қоректік орта BG -11 мен Заррука, рН – 7,0, жарықтандыру 45 ммоль фотон/м²/сек, температура 37°C қолайлы болды.

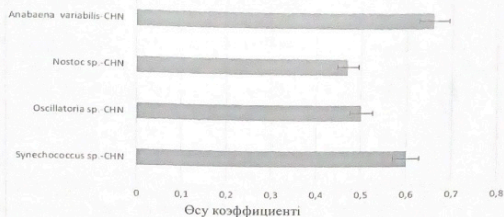
- *Anabaena variabilis* -CHN дақылдары үшін - қоректік орта BG-11 және рН – 7,0, жарықтандыру 45 ммоль фотон/м²/сек, температура 28°C.

- *Nostoc* sp.-CHN және *Oscillatoria* sp.-CHN дақылдары үшін қолайлы жоғары температуралар осы дақылдардың ыстық су көздерінен оқшауланғанына байланысты болуы мүмкін.

3.5 Бөлінген аксеникалық цианобактериялар культураларын өнімділік бойынша скринингтен өткізу

Жоғары өсу қарқыны, генетикалық манипуляцияның салыстырмалы қарапайымдылығы және геномның кішігірім өлшемдері цианобактерияларды фотосинтетикалық жасушалардағы әртүрлі физиологиялық процестер мен метаболикалық жолдарды зерттеу үшін қолайлы модельдік нысандарға айналдырады. Осылайша, цианобактериялар іргелі және практикалық зерттеулер үшін үлкен қызығушылық тудырады. Қазіргі уақытта цианобактериялар әртүрлі метаболиттеріне байланысты көптеген зерттеушілер мен кәсіпкерлердің назарын аударуда, олардың кейбіреулері отын өнеркәсібінде қолданылуы мүмкін. Сондықтан биоэнергетикада цианобактерияларды пайдалану үшін продуценттік штаммдарды скринингтік тексеру қажет. Биотехнология саласында қолдану үшін түрлердің өміршеңдігі ең алдымен олардың өнімділігімен анықталады.

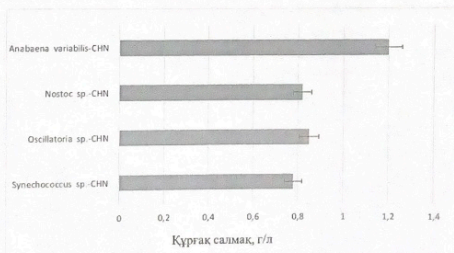
Фототрофты микроорганизмдердің ең маңызды өнімділік көрсеткіштеріне өсу жылдамдығы, фотосинтетикалық белсенділік және құрғақ биомасса шығымы жатады. Сондықтан жиналған және оқшауланған цианобактерия штаммдарының өнімділік скринингі жүргізілді. Зерттеу объектілері ретінде: *Synechococcus* sp.-CHN, *Nostoc* sp.-CHN, *Oscillatoria* sp.-CHN, *Anabaena variabilis*-CHN және оқшауланған штаммдары алынды. Тәжірибелік цианобактериялық культуралардың скринингі өсу қарқынын, флуоресценцияны және құрғақ массаны анықтауды қамтитын өнімділікті салыстырмалы талдау нәтижелері бойынша жүргізілді. Барлық жағдайларда бастапқы оптикалық тығыздық 0,02 болды. Тәжірибелік штаммдардың жасушаларының оптикалық тығыздығындағы өзгерістер күнделікті өлшенді. *Synechococcus* sp.-CHN және *Anabaena variabilis* -CHN штаммдарында өсірудің бірінші күнінен бастап белсенді өсу анықталды. Нәтижелерді өсірілген штаммдардың жасуша суспензиясының түсі мен тығыздығы арқылы бағалауға болады (3.10-сурет).



Сурет 3.10 – Оқшауланған цианобактерия штамдарының өсу коэффициенті

Anabaena variabilis -CHN штаммының максималды жасуша тығыздығы сәйкесінше 0,66 болды. *Synechococcus* sp.-CHN және *Oscillatoria* sp.-CHN штамдары үшін бұл мән сәйкесінше 0,60 және 0,50 болды. Бұл салыстырмалы түрде төмен өсу қарқынын көрсетеді.

Осыған байланысты біз тәжірибелік цианобактерия штамдарының биомассасын анықтадық. 8 күн өсіруден кейін барлық тексерілген штамдардың жасушаларында құрғақ массаның жинақталуы анықталды. Ол үшін қою культура суспензиясы центрифугада концентрленіп, 60°C температурада 3 күн кептірілді. Тәжірибеде алынған нәтижелер 3.11-суретте көрсетілген.



Сурет 3.11 – Оқшауланған цианобактерия штамдарын жасуша өсірудің 8-ші күніндегі биомассаның жинақталуы

Құрғақ биомасса жинақталуының орташа мәндері *Anabaena variabilis*-CHN дақылы үшін 1,2 г/л, *Oscillatoria* sp.-CHN культурасы үшін 0,85 г/л

болды. 14-суретте көрсетілгендей, *Anabaena variabilis*-CHN салыстырмалы түрде жоғары биомасса жинақталуы анықталды.

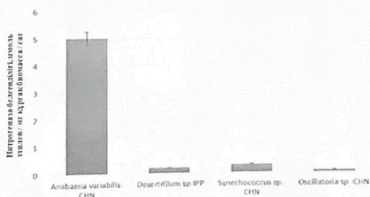
Anabaena variabilis-CHN және *Oscillatoria* sp.-CHN цианобактерияларының өсу қарқыны мен биомасса шығымдылығы жоғары екені анықталды. Бұл олардың жоғары өнімділігін анықтайды. Жүргізілген скрининг биотехнология саласындағы биосутегін өндіру әлеуеті бар дақылдарды анықтауға мүмкіндік берді.

3.6 Бөлінген культуралар мен коллекциялық цианобактерия штаммының сутек бөлу қабілетін скринингтен өткізу

Еліміздің әл-Фараби атындағы ҚазҰУ биотехнология кафедрасында 3 жүйелі секциядан 49 түрді қамтитын фототрофты микроорганизмдер топтамасы бар. Бұл жинақта сутегі өндіру қабілеті зерттеуге қолайлы цианобактериялы штаммдар бар. Олар *Desertifilum* sp. IPPAS B-1220 сутегі өндірісін сынау үшін таңдалған.

Цианобактериялардың коллекциялық культурасының биомассасы тиісті коректік ортадағы колбаларда, 28°C температурада және 4000 люкс жасанды жарықтандыруда өсірілді.

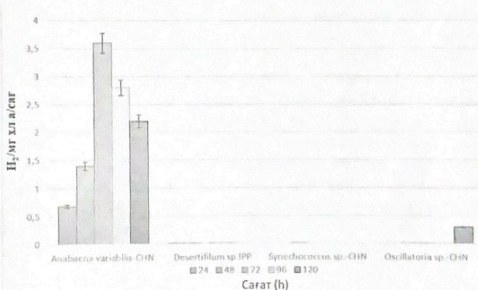
Алынған нәтижелер ацетилен әдісімен зерттелетін штаммдардың нитрогеназалық белсенділігін анықтау арқылы расталды. Үш нитрогеназаның белсенділігі анаэробты жағдайда жарықта 24 сағат өсіруден кейін ГХ қолданатын үш штаммда анықталды. Этилен түзілуімен өлшенетін нитрогеназа белсенділігін спецификалық H_2 -мен салыстыру. Нәтижелері бойынша зерттелген оқшауланған штаммдардың ішінде *Desertifilum* sp. IPPAS B-1220 этилен өндіру (нитрогеназа) үшін айтарлықтай төмен нәтиже көрсетті. Ал *Anabaena variabilis*-CHN штамы 5 мкмоль этилен/мг құрғақ салмақ/сағ құрады. Осылайша, *Anabaena variabilis*-CHN түрі этилен өндірудің салыстырмалы жоғары деңгейін көрсетті (3.12-сурет).



Сурет 3.12 – Штаммдардың нитрогеназа белсенділігін өлшеу үшін ацетиленнің тотықсыздану жылдамдығы

Келесі кезеңде сутегі өндіру белсенділігі жоғары цианобактериялардың штаммдарын таңдау үшін сутегінің бөлінуі қараңғыда және жарық жағдайда оқшауланған өнімділігі жоғары штаммдармен зерттелді. Құрамында гетероцисталары бар цианобактерияларды пайдалану және азотты бекітетін дақылдардағыдай нитрогеназа және гидрогеназа ферменттерін пайдаланып, сутегін шығару үшін қолдану перспективалы екені белгілі. Нитрогеназа ферменті ең алдымен азоттың байланысқан формаларының жетіспеушілігі жағдайында түзілетін гетероцисталар деп аталатын арнайы жасушаларда локализацияланады. Бұл жағдайда оттегі тек вегетативті жасушаларда өндіріледі. Қалың мембрананың болуы оттегіні өте баяу өткізеді, бұл нитрогеназаны оның тежегіш әсерінен кеністіктік қорғауды қамтамасыз етеді. Сонымен қатар, олар белсенді тыныс алумен (оттегіні сіңірумен) ерекшеленеді, осының нәтижесінде гетероцистті цианобактериялар ауадағы молекулалық оттегінің қатысуында сутегін бөле алатын жалғыз организмдер.

Алынған нәтижелер бойынша барлық зерттелген культураларда сутегінің қараңғыда бөлінуі байқалды. Ең жоғары сутегі өнімділігін *Anabaena variabilis*-CHN штаммы көрсетті, оның жасушалары қараңғыда газсыздандырылғаннан кейін 24 сағаттан кейін сутегін шығара бастады. Бұл кездегі сутегі өндірісі $0,54 \text{ Н}_2/\text{мг хл}/\text{сағ.}$ құрады. Бұл дақылда сутегінің максималды жинақталуы 72 сағат инкубациядан кейін байқалды. Мәні $3,62 \text{ мкмоль Н}_2/\text{мг хл а}/\text{сағ}$ жетті, бірақ тәжірибенің келесі сағаттарында сутегі өндірісінің баяулауы мен төмендеуі байқалды (3.13-сурет).



Сурет 3.13 – Қараңғыда цианобактериялардың әртүрлі штаммдарының H_2 өндірісінің жылдамдығын салыстыру

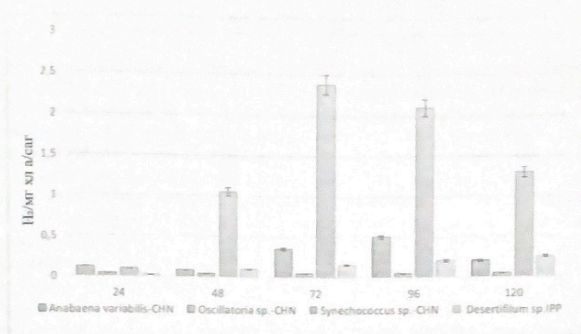
Қалған штаммдар салыстырмалы түрде қараңғыда сутегі өндіру белсенділігінің төмендігін көрсетті. Б Сондай-ақ, *Oscillatoria* sp.-CHN арқылы

H_2 жинақталуы 24 сағаттан кейін жасушалары 0,005 мкмоль H_2 /мг хл/сағ құрады, ал 120 сағаттан кейін H_2 максималды өндірісі 0,3 мкмоль H_2 /мг хл/сағ құрады. Зерттелетін цианобактериялық штаммдардың ішінде *Desertifilum* sp. IPAS B-1220 штаммы қараңғыда сутегін өндіру үшін айтарлықтай төмен нәтиже көрсетті. Бұл штамм арқылы сутегінің аздап бөлінуі 120 сағат инкубациядан кейін байқалды; осы уақытқа дейін бұл көрсеткіш 0,01 мкмоль H_2 /мг л/сағ құрады, одан кейін бұл көрсеткіштің одан әрі төмендеуі байқалды, ал 144 сағаттан кейін сутегінің түзілуі мүлде байқалмады (16-сурет).

Зерттеудің келесі кезеңі жарықтандырылған жағдайда зерттелген цианобактерия штаммдарының сутегінің жинақталуын бақылау болды. Жарық энергиясы сутегінің бөлінуі үшін маңызды екені белгілі және тікелей биофотоллиз үшін электронды донор ретінде әрекет етеді. Цианобактериялардың тилакоидтық мембраналарындағы фотохимиялық реакциялар кезінде күн сәулесінің энергиясы есебінен белгілі бір жағдайларда молекулалық сутегі бөлінеді. Қалыпты жағдайда микроскопиялық цианобактериялар сутегін түзбейді. PSI белсенділігі сутегі фотодетекциясы үшін міндетті шарт болып табылмайды, дегенмен судың фотодеградациясы кезінде тилакоидты электронды тасымалдау тізбегіне түсетін электрондарды гидрогеназа қабылдауы мүмкін. Бұл қысқа уақыт ішінде цианобактерия жасушаларында оттегінің де, сутегінің де түзілуіне әкеледі [47].

Бұл тәжірибеде зерттелген цианобактериялар дақылдары алдыңғы тәжірибеге ұқсас өсірілді; сутегі өнімділігін зерттеу кезінде жасушаның инкубация шарттары бірдей болды. Тек жарық болған кезде ғана ерекшеленеді. Әрбір культура үшін суспензияның бастапқы оптикалық тығыздығы 720 нм кезінде 1,5 болды. Цианобактериялар штаммдары арқылы сутегінің бөлінуі оларды аргон атмосферасында 30 мкмоль/м²/с жарықтандыру кезінде 120 сағат бойы инкубациялау кезінде байқалды [90].

Жарықтағы ең белсенді сутегі өндірушісі - *Synechococcus* түрі болып шықты. *Synechococcus* sp.-CHN арқылы сутегі өндірісі кезінде, оның жасушалары анаэробты жағдайлар орнағаннан кейін алғашқы 24 сағат ішінде байқалады. Белсенді сутегі эволюциясы 3 күн бойы жалғасты, әрі қарай төмендей бастады. Сутегінің жинақталуының ең жоғары жылдамдығы 72 сағатта байқалып, 2,38 мкмоль H_2 /мг хл а /сағ жетті. 24 сағаттан кейін жарықтандыру жағдайында сутегі өндірісі 0,2 мкмоль H_2 /мг л/сағ құрады, ал 96 сағаттан кейін ең жоғары H_2 өндірісі 0,7 мкмоль H_2 /мг л/сағ болды, содан кейін бірте-бірте төмендеп сутегі аздап түзілді (3.14-сурет).



Сурет 3.14 – Өртүрлі цианобактериялық дақылдармен жарықтандыру кезінде H_2 өндіру жылдамдығын салыстыру

ҚОРЫТЫНДЫ

Жүргізілген зерттеу жұмысы Алматы облысы Шонжы елді мекенінің жылу көздерінде кездесетін цианобактерияларға экстремалды жағдайларда өсуге және сутектің биологиялық өндірісіне әлеуетті штаммдарды анықтау мақсатында жүргізілді. Қоршаған ортаның негізгі факторларының (температура, рН және жарық) әсерін зерттеу онтайлы өсіру жағдайларын анықтауға және ең өнімді дақылдарды анықтауға мүмкіндік берді. Сутегі өндіру қабілетінің скринингі *Anabaena variabilis*-CHN гетероцистальды штаммының қараңғы фазада сутегі өндіретін белсенділігі жоғары екенін көрсетті, бұл оны сутектің биологиялық өндірісін одан әрі зерттеу үшін ең перспективалы нысан етеді. Осылайша, жұмыс нәтижелері Қазақстандағы биотехнология мен жаңартылатын энергия үшін белсенді штаммдардың көзі ретінде жылу көздерінің цианобактерияларын пайдаланудың маңызын айқындайды. Зерттеу жұмысының барысында келесі қорытындылар жасалды:

1. Цианобактерияларды бөліп алу және сәйкестендіру негізінде ыстық су көзінен 10 изолят алынып, оның ішінен 4 аксеникті таза дақыл бөлінді. Морфологиялық және физиологиялық белгілеріне қарай олар *Nostoc* sp.-CHN, *Oscillatoria* sp.-CHN, *Synechococcus* sp.-CHN, және *Anabaena variabilis*-CHN штаммдары ретінде сәйкестендірілді. Аталған культуралар микроскоп арқылы қаралып, стандартты микробиологиялық әдістермен зерттелді.

2. Сыртқы орта факторларының (температура, рН, жарық) цианобактериялардың физиологиясына әсері зерттелді. Нәтижесінде *Anabaena variabilis*-CHN (1,2 г/л), *Oscillatoria* sp.-CHN (0,85 г/л) және *Synechococcus* sp.-CHN (0,78 г/л) штаммдары өсу жылдамдығы мен биомасса шығымы бойынша ең жоғары көрсеткіштерді иеленіп, жоғары өнімді дақылдар ретінде іріктелді.

3. Сутегі өндіру қабілетін скринингтеу қараңғы фазада гетероцисталы *Anabaena variabilis*-CHN штамы ең жоғары белсенділік көрсетті. Оның қараңғыдағы сутегі шығару қарқындылығы 3,62 мкмоль H_2 /мг хл а/сағ құрады. Жарықта сутегін бөлу бойынша *Synechococcus* sp.-CHN штамы 2,38 мкмоль H_2 /мг хл а/сағ белсенді көрсеткішке ие болды.

БЕЛГІЛЕУЛЕР ЖӘНЕ ҚЫСҚАРТУЛАР

EROI	– энергетикалық рентабельділік
CRISPR/Cas9	– бактериялық иммундық жүйені қолдана отырып, зертханалық жағдайда да, тірі организмдерде де ДНҚ-ны дәл және мақсатты түрде өңдеуге мүмкіндік беретін" генетикалық қайшы".
ETC	– электронды тасымалдау тізбегі
pH	– сутегі иондарының концентрациясын көрсететін сулы ерітіндінің қышқылдық немесе сілтілік өлшемі
АТФ	– аденозинүшфосфат
Ni-Fe	– Хокс гидрогеназасы
NADPH	– никотинамидадениндинуклеотидфосфат
Fd	– ферредоксин
PS	– фотожүйе
BChl	– бактериохлорофилл
HABs	– зиянды су көгеруі
ГХ	– газды хроматография

АНЫҚТАМАЛАР

Цианобактерия	— экстремалды климат пен табиғат жағдайларына өте төзімшіл грамтеріс бактериялар өкілі.
Биосутегі	— биомасса көздерінен бөлініп алынған сутегінің формасы.
Фотоферментация	— фотосинтезге қабілетті бактериялар органикалық заттарды сіңіріп, оларды сутегіге айналдыратын процесс.
Аксеникалық дақыл	— микроорганизмдердің тек бір түрден тұратын популяциясы.
Фототрофты микроорганизм	— энергия алу үшін жарық энергиясын пайдаланатын бактериялар, микробалдырлар, цианобактериялар.
Ротаметр	— уақыт бірлігінде газдың немесе сұйықтықтың көлемдік шығынын анықтауға арналған аспап.
Нитрогеназа	— атмосфералық азотты бекіту процесін жүзеге асыратын фермент.
Гидрогеназа	— сутектің тотығу-тотықсыздану реакцияларын катализдейтін фермент.
Биофототиз	— фотосинтетикалық микроорганизмдердің көмегімен жарықтың әсерінен судың сутегі мен оттегіге ыдырау процесі.
Фотосинтез	— бұл жарық энергиясын химиялық энергияға айналдыру процесі, онда өсімдіктер мен кейбір басқа организмдер глюкоза жасау және оттегін шығару үшін көмірқышқыл газы мен суды пайдаланады.
Штамм	— белгілі бір түрден оқшауланған микроорганизмнің таза культураны.
Термофильді микроорганизм	— жоғары температурада тіршілік етуге бейім микроорганизм.
Изолят	— микроорганизмдердің әртүрлі түрлерінің генетикалық оқшауланған популяциясы.
Пептидогликан	— бактериялардың жасуша қабырғасының негізгі компоненті.
Ферредоксин	— құрамында темір-күкірт кластерлері бар белок.

ПАЙДАЛАНЫЛГАН ӘДБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Mehdizadeh Allaf M., Peerhossaini H. Cyanobacteria: Model Microorganisms and Beyond // *Microorganisms*. – 2022. – Vol. 10, No. 4. – P. 696. – DOI: 10.3390/microorganisms10040696.
- 2 Shestakov S. V., Karbysheva E. A. The origin and evolution of cyanobacteria // *Biology Bulletin Reviews*. – 2017. – Vol. 7. – P. 259–272. – DOI: 10.1134/S2079086417040090.
- 3 Lang-Yona N., Kunert A. T., Vogel L. et al. Fresh water, marine and terrestrial cyanobacteria display distinct allergen characteristics // *Science of the Total Environment*. – 2018. – Vol. 612. – P. 767–774. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.069.
- 4 Vidal L., Ballot A., Azevedo S. M. F. O. et al. Introduction to cyanobacteria // *Toxic Cyanobacteria in Water* / ed. by I. Chorus, M. Welker. – 2nd ed. – Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2021. – P. 163–211.
- 5 Dvořák P., Casamatta D. A., Hašler P. et al. Diversity of the cyanobacteria // *Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes* / ed. by P. Hallenbeck. – Cham, Switzerland: Springer, 2017. – P. 3–46.
- 6 Jasser I., Callieri C. Picocyanobacteria: The smallest cell-size cyanobacteria // *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis* / ed. by J. Meriluoto, L. Spoof, G. A. Codd. – Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd., 2017. – P. 19–27.
- 7 Durall C., Lindblad P. Mechanisms of carbon fixation and engineering for increased carbon fixation in cyanobacteria // *Algal Research*. – 2015. – Vol. 11. – P. 263–270. – DOI: 10.1016/j.algal.2015.07.002.
- 8 Moore K. A., Altus S., Tay J. W. et al. Mechanical regulation of photosynthesis in cyanobacteria // *Nature Microbiology*. – 2020. – Vol. 5. – P. 757–767. – DOI: 10.1038/s41564-020-0684-2.
- 9 Méjean A., Mazmouz R., Essadik I., Ploux O. Anatoxin-a and analogs: Occurrence, biosynthesis and detection // *Toxicon*. – 2018. – Vol. 149. – P. 107. – DOI: 10.1016/j.toxicon.2018.02.040.
- 10 Filatova D., Jones M. R., Haley J. A. et al. Cyanobacteria and their secondary metabolites in three freshwater reservoirs in the United Kingdom // *Environmental Sciences Europe*. – 2021. – Vol. 33. – P. 29. – DOI: 10.1186/s12302-021-00472-4.
- 11 Alalwan H. A., Alminshid A. H., Aljaafari H. A. Promising evolution of biofuel generations. Subject review // *Renewable Energy Focus*. – 2019. – Vol. 28. – P. 127–139. – DOI: 10.1016/j.ref.2018.12.006.
- 12 Yip H. L., Srna A., Yuen A. C. Y. et al. A review of hydrogen direct injection for internal combustion engines: towards carbon-free combustion // *Applied Sciences*. – 2019. – Vol. 9. – P. 4842. – DOI: 10.3390/app9224842.
- 13 Openshaw D., Bagnato G. Recent progress in bio-hydrogen production for sustainable energy and chemical production // *Renewable and Sustainable Energy*

Reviews. – 2026. – Vol. 226, Part B. – Art. 116307. – DOI: 10.1016/j.rser.2025.116307.

14 González Martínez M., Elsaddik M., Nzihou A. Monitoring, analysis, and quantification of hydrogen from biomass and biowaste: a review // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2023. – Vol. 48. – P. 22113–22131.

15 Sadvakasova A. K., Kossalbayev B. D., Zayadan B. K. et al. Bioprocesses of hydrogen production by cyanobacteria cells and possible ways to increase their productivity // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2020. – Vol. 133. – Art. 110054. – DOI: 10.1016/j.rser.2020.110054.

16 Cao L., Yu I. K. M., Xiong X. et al. Biorenewable hydrogen production through biomass gasification: a review and future prospects // *Environmental Research*. – 2020. – Vol. 186. – Art. 109547. – DOI: 10.1016/j.envres.2020.109547.

17 Rodionova M. V., Poudyal R. S., Tiwari I. et al. Biofuel production: challenges and opportunities // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2017. – Vol. 42. – P. 8450–8461.

18 Subramaniam Y., Masron T. A., Azman N. H. N. Biofuels, environmental sustainability, and food security: a review of 51 countries // *Energy Research & Social Science*. – 2020. – Vol. 68. – Art. 101549.

19 Ullah S., Noor R. S., Gang T. Analysis of biofuel (briquette) production from forest biomass: a socioeconomic incentive towards deforestation // *Biomass Conversion and Biorefinery*. – 2023. – Vol. 13. – P. 1–15.

20 Alalwan H. A., Alminshid A. H., Aljaafari H. A. S. Promising evolution of biofuel generations. Subject review // *Renewable Energy Focus*. – 2019. – Vol. 28. – P. 127–139.

21 Laurens L. M. L., Chen-Glasser M., McMillan J. D. A perspective on renewable bioenergy from photosynthetic algae as feedstock for biofuels and bioproducts // *Algal Research*. – 2017. – Vol. 24. – P. 261–264.

22 Chowdhury H., Loganathan B. Third-generation biofuels from microalgae: a review // *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. – 2019. – Vol. 20. – P. 39–44.

23 Bolatkhan K., Kossalbayev B. D., Zayadan B. K. et al. Hydrogen production from phototrophic microorganisms: Reality and perspectives // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2019. – Vol. 44, No. 12. – P. 5799–5811.

24 Shah S. H., Raja I. A., Rizwan M. et al. Potential of microalgal biodiesel production and its sustainability perspectives in Pakistan // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2018. – Vol. 81. – P. 76–92.

25 Li S., Li F., Zhu X. et al. Biohydrogen production from microalgae for environmental sustainability // *Chemosphere*. – 2022. – Vol. 291. – Art. 132717.

26 Shokravi H., Heidarezaei M., Shokravi Z. et al. Fourth generation biofuel from genetically modified algal biomass for bioeconomic development // *Journal of Biotechnology*. – 2022. – Vol. 360. – P. 23–36.

27 Xuan J., He L., Wen W. et al. Hydrogenase and nitrogenase: key catalysts in biohydrogen production // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28. – P. 1392.

- 28 Godbole V., Pal M. K., Gautam P. A Critical Perspective on the Scope of Interdisciplinary Approaches Used in Fourth-Generation Biofuel Production // *Algal Research*. – 2021. – Vol. 58. – Art. 102436.
- 29 Cha M., Chung D., Westpheling J. Deletion of a Gene Cluster for [Ni–Fe] Hydrogenase Maturation in the anaerobic Hyperthermophilic Bacterium *Caldicellulosiruptor bescii* Identifies Its Role in Hydrogen Metabolism // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2016. – Vol. 100, No. 4. – P. 1823–1831.
- 30 Borowski P. F., Karlikowska B. Clean Hydrogen Is a Challenge for Enterprises in the Era of Low-Emission and Zero-Emission Economy // *Energies*. – 2023. – Vol. 16, No. 3. – P. 1171.
- 31 Okolie J. A., Patra B. R., Mukherjee A., Nanda S., Dalai A. K., Kozinski J. A. Futuristic applications of hydrogen in energy, biorefining, aerospace, pharmaceuticals and metallurgy // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2021. – Vol. 46. – P. 8885–8905.
- 32 Lu H., Zhang G., Zheng Z., Meng F., Du T., He S. Bio-conversion of photosynthetic bacteria from non-toxic wastewater to realize wastewater treatment and bioresource recovery: a review // *Bioresource Technology*. – 2019. – Vol. 278. – P. 383–399.
- 33 Arimbrathodi S. P., Javed M. A., Hamouda M. A., Aly Hassan A., Ahmed M. E. BioH₂ production using microalgae: highlights on recent advancements from a bibliometric analysis // *Water*. – 2023. – Vol. 15, No. 1. – Art. 185.
- 34 Jensen L. S., Kaul C., Juncker N. B., Thomsen M. H., Chaturvedi T. Biohydrogen production in microbial electrolysis cells utilizing organic residue feedstock: a review // *Energies*. – 2022. – Vol. 15. – Art. 8396.
- 35 Gholkar P., Shastri Y., Tanksale A. Renewable hydrogen and methane production from microalgae: a techno-economic and life cycle assessment study // *Journal of Cleaner Production*. – 2021. – Vol. 279. – Art. 123726.
- 36 Raheem A., Ji G., Memon A., Sivasangar S., Wang W., Zhao M., Taufiq-Yap Y. H. Catalytic Gasification of Algal Biomass for Hydrogen-Rich Gas Production: Parametric Optimization via Central Composite Design // *Energy Conversion and Management*. – 2018. – Vol. 158. – P. 235–245.
- 37 Ahmed S. F., Mofijur M., Nahrin M., Chowdhury S. N., Nuzhat S., Alherek M., Rafa N., Ong H. C., Nghiem L. D., Mahlia T. M. I. Biohydrogen Production from Wastewater-Based Microalgae: Progresses and Challenges // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2021. – Vol. 47. – P. 37321–37342.
- 38 Alalayah W. M., Al-Zahrani A., Edris G., Demirbas A. Kinetics of Biological Hydrogen Production from Green Microalgae *Chlorella vulgaris* using Glucose as Initial Substrate // *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*. – 2017. – Vol. 39. – P. 1210–1215.
- 39 Chen Y. Global Potential of Algae-Based Photobiological Hydrogen Production // *Energy & Environmental Science*. – 2022. – Vol. 15. – P. 2843–2857.
- 40 Li S., Li F., Zhu X., Liao Q., Chang J.-S., Ho S.-H. Biohydrogen Production from Microalgae for Environmental Sustainability // *Chemosphere*. – 2022. – Vol. 291. – Art. 132717.

41 Sridhar A., Ponnuchamy M., Senthil Kumar P., Kapoor A., Xiao L. Progress in the Production of Hydrogen Energy from Food Waste: A Bibliometric Analysis // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2022. – Vol. 47. – P. 26326–26354.

42 Goswami R. K., Mehariya S., Obulisamy P. K., Verma P. Advanced Microalgae-Based Renewable Biohydrogen Production Systems: A Review // *Bioresource Technology*. – 2021. – Vol. 320. – Art. 124301.

43 Batyrova K., Hallenbeck P. Hydrogen production by a *Chlamydomonas reinhardtii* strain with inducible expression of photosystem II // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017. – Vol. 18. – No. 67. – P. 647.

44 Lv J., Xie J., Mohamed A. G. A. et al. Solar Utilization Beyond Photosynthesis // *Nature Reviews Chemistry*. – 2023. – Vol. 7, No. 2. – P. 91–105.

45 González Fernández L. A., Castillo Ramos V., Sánchez Polo M., Medellín Castillo N. A. Fundamentals in Applications of Algae Biomass: A Review // *Journal of Environmental Management*. – 2023. – Vol. 338. – Art. 117830.

46 Zhang J., Xue D., Wang C., Fang D., Cao L., Gong C. Genetic Engineering for Biohydrogen Production From Microalgae // *iScience*. – 2023. – Vol. 26, No. 8. – Art. 107255.

47 Cha M., Park M.-S., Kim S.-J. Biological Routes for Biohydrogen Production: A Clean and Carbon-Free Fuel // *Biotechnology Journal*. – 2025. – Vol. 20, No. 7. – Art. e70074. – doi: 10.1002/biot.70074

48 Arif M., Hasan M. A., Cheung S. C. P. Fuel Cell Comparison to Conventional Power Generation Technologies // in *Hydrogen Utilization in Fuel Cells*, 1st ed. – CRC Press, 2024.

49 Akram F., Fatima T., Ibrar R., Ul Haq I. Biohydrogen: Production, Promising Progressions and Challenges of a Green Carbon-Free Energy // *Sustainable Energy Technologies and Assessments*. – 2024. – Vol. 69. – Art. 103893.

50 Sung Y. J., Yu B. S., Yang H. E., Kim D. H., Lee J. Y., Sim S. J. Microalgae-Derived Hydrogen Production Towards Low Carbon Emissions via Large-Scale Outdoor Systems // *Bioresource Technology*. – 2022. – Vol. 364. – Art. 128134.

51 Didaran F., Kordrostami M., Ghasemi-Soloklui A. et al. The Mechanisms of Photoinhibition and Repair in Plants Under High Light Conditions and Interplay With Abiotic Stressors // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2024. – Vol. 259. – Art. 113004.

52 Lin C., Cao P., Xu X., Ye B. Algal-Bacterial Symbiosis System Treating High-Load Printing and Dyeing Wastewater in Continuous-Flow Reactors Under Natural Light // *Water Environment Research*. – 2019. – Vol. 11, No. 3. – P. 469.

53 Keskin T., Hallenbeck P. C. Hydrogen Production From Sugar Industry Wastes Using Single-Stage Photofermentation // *Bioresource Technology*. – 2012. – Vol. 112. – P. 131–136.

54 Khanna N., Lindblad P. Cyanobacterial Hydrogenases and Hydrogen Metabolism Revisited: Recent Progress and Future Prospects // *International Journal*

of Molecular Sciences. – 2015. – Vol. 16. – P. 10537–10561. – doi: 10.3390/ijms160510537

55 Adamska-Venkatesh A., Simmons T. R., Siebel J. F., Artero V., Fontecave M., Reijerse E., Lubitz W. Artificially matured [FeFe] hydrogenase from *Chlamydomonas reinhardtii*: A HYSCORE and ENDOR study of a non-natural H-cluster // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2015. – Vol. 17. – P. 5421–5430.

56 Puggioni V., Tempel S., Latifi A. Distribution of Hydrogenases in Cyanobacteria: A Phylum-Wide Genomic Survey // *Frontiers in Genetics*. – 2016. – Vol. 7.

57 Bhattacharyya S., Chandrababunaidu M. M., Sen D., Panda A., Ghorai A., Bhan S. Draft genome sequence of exopolysaccharide-producing cyanobacterium *Aphanocapsa montana* BDHKU 210001 // *Genome Announcements*. – 2015. – Vol. 3. – Art. e00057–15. – doi: 10.1128/genomeA.00057-15

58 Bothe H., Schmitz O., Yates M. G., Newton W. E. Nitrogen fixation and hydrogen metabolism in cyanobacteria // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2010. – Vol. 74. – P. 529–551. – doi: 10.1128/MMBR.00033-10

59 Chandrababunaidu M. M., Diya S., Tripathy S. Draft genome sequence of filamentous marine cyanobacterium *Lyngbya confervoides* strain BDU141951 // *Genome Announcements*. – 2015. – Vol. 3. – Art. e00066–15. – doi: 10.1128/genomeA.00066-15

60 Karstens K., Wahlefeld S., Horch M., Grunzel M., Lauterbach L., Lendzian F. et al. Impact of the iron-sulfur cluster proximal to the active site on the catalytic function of an O₂-tolerant NAD⁺-reducing [NiFe]-hydrogenase // *Biochemistry*. – 2015. – Vol. 54. – P. 389–403. – doi: 10.1021/bi501347u

61 Khanna N., Lindblad P. Cyanobacterial hydrogenases and hydrogen metabolism revisited: recent progress and future prospects // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 16. – P. 10537–10561. – doi: 10.3390/ijms160510537

62 Peters J. W., Schut G. J., Boyd E. S., Mulder D. W., Shepard E. M., Broderick J. B. et al. [FeFe]- and [NiFe]-hydrogenase diversity, mechanism, and maturation // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. – 2015. – Vol. 1853. – P. 1350–1369. – doi: 10.1016/j.bbamcr.2014.11.021

63 Xuan J., He L., Wen W., Feng Y. Hydrogenase and Nitrogenase: Key Catalysts in Biohydrogen Production // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28. – Art. 1392. – doi: 10.3390/molecules28031392

64 Hosseini S. E., Wahid M. A. Hydrogen production from renewable and sustainable energy resources: Promising green energy carrier for clean development // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2016. – Vol. 57. – P. 850–866.

65 Trchounian A. Mechanisms for hydrogen production by different bacteria during mixed-acid and photo-fermentation and perspectives of hydrogen production biotechnology // *Critical Reviews in Biotechnology*. – 2015. – Vol. 35. – P. 103–113.

66 Ayachandran V., Basak N., De Philippis R., Adessi A. Novel strategies towards efficient molecular biohydrogen production by dark fermentative

mechanism: Present progress and future perspective // *Bioprocess and Biosystems Engineering*. – 2022. – Vol. 45. – P. 1595–1624.

67 Jasiewicz A. J., Lee C. C., Ribbe M. W., Hu Y. Reactivity, mechanism, and assembly of the alternative nitrogenases // *Chemical Reviews*. – 2020. – Vol. 120. – P. 5107–5157.

68 Cao L. L., Borner M. C., Bergmann J., Caldararu O., Ryde U. Geometry and electronic structure of the P-cluster in nitrogenase studied by combined quantum mechanical and molecular mechanical calculations and quantum refinement // *Inorganic Chemistry*. – 2019. – Vol. 58. – P. 9672–9690.

69 Wulff P., Thomas C., Sargent F., Armstrong F. A. How the oxygen tolerance of a [NiFe]-hydrogenase depends on quaternary structure // *Journal of Biological Inorganic Chemistry*. – 2016. – Vol. 21. – P. 121–134.

70 Abdalla A. M., Hossain S., Nisfindy O. B., Azad A. T., Dawood M., Azad A. K. Hydrogen Production, Storage, Transportation and Key Challenges with Applications: A Review // *Energy Conversion and Management*. – 2018. – Vol. 165. – P. 602–627. – doi: 10.1016/j.enconman.2018.03.088

71 Baeyens J., Zhang H., Nie J., Appels L., Dewil R., Ansart R., et al. Reviewing the Potential of Bio-Hydrogen Production by Fermentation // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2020. – Vol. 131. – Art. 110023. – doi: 10.1016/j.rser.2020.110023

72 Dawood F., Anda M., Shafiullah G. M. Hydrogen Production for Energy: An Overview // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2020. – Vol. 45. – P. 3847–3869. – doi: 10.1016/j.ijhydene.2019.12.059

73 El-Dalatony M. M., Zheng Y., Ji M.-K., Li X., Salama E.-S. Metabolic Pathways for Microalgal Biohydrogen Production: Current Progress and Future Perspectives // *Bioresource Technology*. – 2020. – Vol. 318. – Art. 124253. – doi: 10.1016/j.biortech.2020.124253

74 Foong S. Y., Chan Y. H., Cheah W. Y., Kamaludin N. H., Tengku Ibrahim T. N. B., Sonne C., et al. Progress in Waste Valorization Using Advanced Pyrolysis Techniques for Hydrogen and Gaseous Fuel Production // *Bioresource Technology*. – 2020. – Vol. 320. – Art. 124299. – doi: 10.1016/j.biortech.2020.124299

75 Gholkar P., Shastri Y., Tanksale A. Renewable Hydrogen and Methane Production from Microalgae: A Techno-Economic and Life Cycle Assessment Study // *Journal of Cleaner Production*. – 2021. – Vol. 279. – Art. 123726. – doi: 10.1016/j.jclepro.2020.123726

76 Adam P. H., Bussche Ch., Engelshove S., Thiemann T. Hydrogen infrastructure – the pillar of energy transition // The practical conversion of long-distance gas networks to hydrogen operation. – 2020. – P. 32. – Whitepaper.

77 Pacheco J. R., Villardi H. G. D., Cavalcante R. M., Young A. F. Biodiesel production through non-conventional supercritical routes: process simulation and technical evaluation // *Energy Conversion and Management*. – 2022. – Vol. 251. – Art. 114998. – doi: 10.1016/j.enconman.2021.114998

78 Salleh S. F., Kamaruddin A., Uzir M. H., Karim K. A., Mohamed A. R. Investigation of the links between heterocyst and biohydrogen production by

diazotrophic cyanobacterium *A. variabilis* ATCC 29413 // Archives of Microbiology. – 2016. – Vol. 198. – P. 101–113. – doi: 10.1007/s00203-015-1164-6

79 Stebegg R., Schmetterer G., Rompel A. Heterotrophy among cyanobacteria // ACS Omega. – 2023. – Vol. 8. – P. 33098–33114. – doi: 10.1021/acsomega.3c02205

80 Музафаров А. М., Эргашев А. Э., Халилова С. Х. Определитель синезеленых водорослей Средней Азии. – Ташкент: Фан, 1987. – Т. 1. – С. 3–405

81 Эргашев А. Э. Определитель протококковых водорослей Средней Азии. – Ташкент: Фан, 1979. – Кн. 1. – 344 с.

82 Голлербах М. М., Косинская Е. К., Полянский В. И. Определитель пресноводных водорослей СССР: Дiatомовые водоросли. – М.: Наука, 1951. – № 4. – 644 с.

83 Кузяхметов Г. Г., Дубовик И. Е. Методы изучения почвенных водорослей: учебное пособие. – Уфа: Башкирский ун-т, 2001. – 60 с.

84 Gutthann F., Egert M., Marques A., Appel J. Inhibition of respiration and nitrate assimilation enhances photohydrogen evolution under low oxygen concentrations in *Synechocystis* sp. PCC 6803 // Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics. – 2007. – Vol. 1767. – P. 161–169.

85 Batyrova K., Hallenbeck P. Hydrogen production by a *Chlamydomonas reinhardtii* strain with inducible expression of photosystem II // International Journal of Molecular Sciences. – 2017. – Vol. 18. – No 67. – 647 p.

86 Capone D. G., Burns J. A., Montoya J. P., Subramaniam A., Mahaffey A. C., Gunderson T., Michaels A. F., Carpenter E. J. Nitrogen fixation by *Trichodesmium* spp.: an important source of new nitrogen to the tropical and subtropical North Atlantic Ocean // Global Biogeochemical Cycles. – 2005. – Vol. 19. – Art. GB2024.

87 Sandybayeva S. K., Bolat Khan K., Kakimova A. B., Toktybay A. K., Akhmetova G. A., Salauat D., Amangeldin M. S., Zayadan B. K. Isolation and study of morphological and cultural properties of cyanobacterial community from hot springs in Almaty region // Вестник КазНУ. Серия экологическая. – 2023. – № 2 (75). – С. 98–108. – DOI: 10.26577/EJE.2023.v75.i2.010

88 Hihara Y., Sonoike K., Kanehisa M., Ikeuchi M. DNA microarray analysis of redox-responsive genes in the genome of the cyanobacterium strain *Synechocystis* sp. PCC 6803 // Journal of Bacteriology. – 2003. – Vol. 185. – P. 1719–1725.

89 Tian X., Liao Q., Zhu X., Wang Y., Zhang P., Li J., et al. Characteristics of a biofilm photobioreactor as applied to photo-hydrogen production // Bioresource Technology. – 2010. – Vol. 101. – P. 977–983.

90 Sun Y., He J., Yang G., Sun G., Sage V. A review of the enhancement of bio-hydrogen generation by chemicals addition // Catalysts. – 2019. – Vol. 9. – P. 353.

СЫН-ПІКІР

ДИССЕРТАЦИЯЛЫҚ ЖҰМЫС

Бейсенбек Айгерім Қанатқызы

7M05105 – «Биотехнология»

Тақырыбы: «Ыстық су көздерінен сутегін өндіретін цианобактерия штамдарын іздеу және іріктеу және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру»

Орындалды:

- а) графикалық бөлмі 3 кесте, 17 суреттен;
- б) түсініктеме қағаз 60 парақтан тұрады.

ДИССЕРТАЦИЯЛЫҚ ЖҰМЫС БОЙЫНША ЕСКЕРТУЛЕР

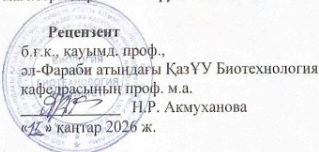
Бейсенбек Айгерім Қанатқызы ұсынған жұмыс қазіргі биотехнологияның басым бағыттарының бірі – баламалы энергия көздерін алу мәселесіне арналған. Табиғи экстремалды экожүйелерден жоғары өнімді штамдарды анықтау және олардың метаболиттік жүйелерін зерттеу сутегі энергетикасын дамыту үшін стратегиялық маңызға ие.

Ұсынылған зерттеу жұмысы айқын ғылыми сипатқа ие. Тәжірибелік бөлімде автор Алматы облысының термиялық бұлақтарынан цианобактериялардың жаңа 10 изолятын бөліп алып, оның ішінен 4 таза дақылды (*Nostoc* sp., *Oscillatoria* sp., *Synechococcus* sp., *Anabaena variabilis*) сәйкестендіру бойынша ауқымды жұмыс жасаған. Материалда авторлық желі анық байқалады: магистрант тек ғылыми мәліметтерді талдап қана қоймай, сыртқы факторлардың (жарық, pH, температура) микроорганизмдердің биомассасына әсерін тәжірибе жүзінде дәлелдеген.

Зерттеудің басты нәтижесі ретінде *Anabaena variabilis*-CHN және *Synechococcus* sp.-CHN штамдарының сутегін бөлудегі жоғары белсенділігін (сәйкесінше 3,62 және 2,38 ммоль Н₂/мг хл а/сағ) атап өтуге болады. Бұл мәліметтер жұмыстың ғылыми жаңалығы мен практикалық құндылығын толық растайды. Диссертация жақсы құрылымдалған, тұжырымдар қисынды, қолданылған әдістер заманауи талаптарға сай.

Жұмысты бағалау

Магистрлік диссертация қорғауға ұсынылады. Бейсенбек Айгерім Қанатқызының «Ыстық су көздерінен сутегін өндіретін цианобактерия штамдарын іздеу және іріктеу және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру» тақырыбына орындалған жұмысын «үздік» бағалап, жұмысты сәтті қорғау нәтижесінде авторға техникалық ғылымдар магистры дәрежесін беруге лайықты деп есептеймін.



**ҒЫЛЫМИ ЖЕТЕКШІНІҢ
ПІКІРІ**

ДИССЕРТАЦИЯЛЫҚ ЖҰМЫС

Бейсенбек Айгерім Қанатқызы

7M05105 – «Биотехнология»

Тақырыбы: «Ыстық су көздерінен сутегін өндіретін цианобактерия штамдарын іздеу және іріктеу және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру»

Магистрлік жұмыста термофильді цианобактериялардың жаңартылатын және экологиялық таза энергия көзі – биосутекті алудағы әлеуеті мен маңыздылығы қарастырылған. Жаңа жоғары белсенді штамдарды окшаулау және олардың қасиеттерін сипаттау арқылы цианобактериялардағы сутегі өндірісінің механизмдері туралы ғылыми білімді тереңдету мәселелері талқыланды.

Зерттеу барысында Алматы облысының ыстық көздерінен термофильді цианобактериялардың таза (аксеникалық) дақылдары окшауланып алынды. Тәжірибелік жұмыстар қатаң асептикалық жағдайда жүргізіліп, окшауланған изоляттардың сутегі өндіру белсенділігіне жарық және қараңғы жағдайлардың, температураның және орта рН-ның әсеріне кешенді бағалау жүргізілді. Алынған мәліметтер негізінде сутегін қарқынды бөлетін ең перспективалы штамдар іріктелді.

Тәжірибелік зерттеу жұмысының нәтижелерінен оң көрсеткіштер алынды. Окшауланған термофильді дақылдардың қараңғыда да, жарықта да биосутекті тиімді өндіру қабілеті эксперименттік түрде дәлелденді. Диссертациялық жұмысты орындау кезінде заманауи микробиологиялық және биотехнологиялық әдістер, сондай-ақ арнайы зертханалық жабдықтар қолданылды.

Жұмыс нәтижелері кестелер мен суреттер түрінде жүйеленіп, баламалы энергия көздерін алудың биотехнологиялық процестерін оңтайландыру үшін ғылыми негіздеме болды.

Бейсенбек Айгерім Қанатқызының магистрлік диссертациясын «өте жоғары» деп бағалаймын және оған 7M05105 – «Биотехнология» білім беру бағдарламасы бойынша техникалық ғылымдар магистрі дәрежесін беруді ұсынамын.





Отчет подобия

Метаданные

Название организации Satbayev University		Подразделение ИГНГД		
Название Ыстық су көздерінен сутегін өндіретін цианобактерия штаммдарын іздеу және іріктеу және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру				
Автор Бейсенбек Айгерім Қанатқызы		Научный руководитель / Эксперт Гульзат Айткалиева		
Количество слов 19350	Количество символов 102869	Дата отчета 1/14/2026	Дата редактирования —	Идентификатор документа 333104517

Объем найденных подобию

КП-и 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

19350

Количество слов



КЦ

102869

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		22
Интервалы		0
Микропробелы		0
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)		0

Источники

Нижне 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

100%

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ И АДРЕС ИСТОЧНИКА URL (НАЗВАНИЕ БАЗЫ)	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
1	https://ela.kpi.ua/bitstreams/65b610d0-a791-4bbb-a238-b6be91582588/download	13 0.07 %
2	https://official.satbayev.university/download/document/21016/2021_%D0%9C%D0%90%D0%93_%D0%9C%D0%80%D2%9B%D1%81%D2%81%D1%82%20%D0%94_.pdf	12 0.06 %
3	https://vdocuments.site/2-c-6-h-6-16-o-2-12-co-2-6-h-2-o.html	10 0.05 %

4	https://documents.site/2-c-6-h-6-15-o-2-12-co-2-6-h-2-o.html	7 0.04 %
5	https://ele.kpi.ua/bitstream/65b610d0-a791-4bbb-a238-b6be91582588/download	6 0.03 %

База данных RefBooks (0.00 %)



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

Домашняя база данных (0.00 %)



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

Программа обмена базами данных (0.00 %)



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

Интернет (0.25 %)



ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
1	https://ele.kpi.ua/bitstream/65b610d0-a791-4bbb-a238-b6be91582588/download	19 (2) 0.10 %
2	https://documents.site/2-c-6-h-6-15-o-2-12-co-2-6-h-2-o.html	17 (2) 0.09 %
3	https://official.safbayev.university/download/document/21016/2021_%D0%9C%D0%80%D0%93_%D0%9C%D0%B0%D2%8B%D1%81%D2%81%D1%82%20%D0%94_.pdf	12 (1) 0.06 %

Исключенные фрагменты

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