

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы

Абай Жандос Сайлаубекұлы

Астаксантин өндірісі үшін *Haematococcus pluvialis* биомассасын алу

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы

Алматы 2019

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы



ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ

Биотехнология кафедрасы
менгерушісі, PhD, профессор
З.К. Түйебахова

«Мамыр» 2019 ж.

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

Тақырыбы: «Астаксантин өндірісі үшін *Haematococcus pluvialis* биомассасын алу»

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы бойынша

Орындаған

Абай Ж.С.

Ғылыми жетекші

жар. ғыл. магистрі,

«Диев» Ботбаев Д.М.

«06» мамыр 2019 ж.

Алматы 2019

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы

5B070100 – «Биотехнология»



БЕКІТЕМІН

Биотехнология кафедрасы

Менің тапсырма, PhD, профессор
З.К. Туйебахова

«26» Маусым 2019 ж.

Дипломдық жұмыс орындауға ТАПСЫРМА

Білім алушы Абай Жандос Сайлаубекұлы

Тақырыбы Астаксантин өндірісі үшін *Haematococcus pluvialis* биомассасын алу
Университет ректорының 2018 жылғы «16» қазан №1163-б бұйрығымен
бекітілген

Аяқталған жұмысты тапсыру мерзімі 22.04.2019 жылы

Дипломдық жұмыстың бастапқы берілістері Диплом алды өнеркәсіптік
практикадан алынған материалдар

Дипломдық жобада қарастырылатын мәселелер тізімі:

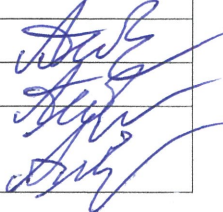
а) *Haematococcus pluvialis* штаммының зертханалық жағдайлардағы өсу
динамикасын зерттеу;

ә) *Haematococcus pluvialis* штаммының культивирлеу жағдайларын
оңтайландыру;

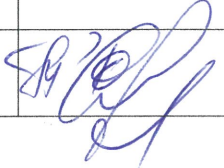
б) Алынған зерттеу нәтижелерінің практикалық мәнін бағалау;

Ұсынылатын негізгі әдебиет: 25 атау

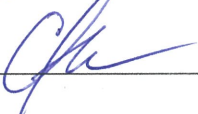
Дипломдық жұмысты дайындау
КЕСТЕСІ

Бөлімдер атауы, қарастырылатын мәселелер тізімі	Ғылыми жетекші мен кеңесшілерге көрсету мерзімдері	Ескерту
Әдебиетке аналитикалық шолу	қаңтар	
Материалдар мен әдістер	ақпан	
Зерттеу қорытындылары: лабораториялық жұмыстар	наурыз	

Дипломдық жұмыс бөлімдерінің кеңесшілері мен
норма бақылаушының аяқталған жұмысқа қойған
қолтаңбалары

Бөлімдер атауы	Кеңесшілер, аты, әкесінің аты, тегі (ғылыми дәрежесі, атағы)	Қол қойылған күні	Қолы
Норма бақылау	Ғылыми магистрі Тұрғымбаева Қ.Қ.	06.05.2019	

Ғылыми жетекші _____  Д.М. Ботбаев

Тапсырманы орындауға алған білім алушы _____  А.Ж. Абай

Күні «06» мамыр 2019 ж.

АҢДАТПА

«Астаксантин өндірісі үшін *Haematococcus pluvialis* биомассасын алу» атты дипломдық жұмыс қағаз түрінде 23 беттен тұрады. Жұмыс кіріспеден, 3 бөлімнен, қорытындыдан, 9 суреттен және 4 кестеден, 25 ғылыми мақалалар мен оқу құралдары көрсетілген тізімінен тұрады.

Мақсаты. Астаксантин өндірісі үшін *Haematococcus pluvialis* дақылдаудың оңтайлы жағдайларын анықтау болып табылады.

Бұл жұмыста астаксантиннің табиғатта таралуы және қолданылуы туралы шолу жасалады. Микробалдырдардан астаксантинді алу жолдары көрсетілген. Оңтайлы культивирлеу жағдайларын анықтау үшін түрлі параметрлер қолданылды.

Нәтижесінде нақты *Haematococcus pluvialis* культурасын өсіруге арналған оптималды температура мен жарықтандыру анықталды.

Түйін сөздер: *Haematococcus pluvialis*, микробалдырлар, астаксантин, дақылдау

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа «Получение биомассы *Haematococcus pluvialis* для производства астаксантина» на бумажном носителе состоит из 23 страниц. Работа состоит из введения, 3 разделов, заключения, 9 рисунков и 4 таблиц, списка с указанием 25 научных статей и учебных пособий.

Цель. Определение оптимальных условий культивирования *Haematococcus pluvialis* для производства астаксантина.

Эта работа делает обзор о применении и распространении астаксантина в природе. Показаны способы получения астаксантина из микроводорослей. Для определения оптимальных условий культивирования использовались различные параметры.

В результате была выявлена оптимальная освещенность и температура для выращивания конкретной культуры *H.pluvialis*.

Ключевые слова: *Haematococcus pluvialis*, микроводоросли, астаксантин, культура

ANNOTATION

The diploma work "Obtaining biomass *Haematococcus pluvialis* for the production of astaxanthin" on paper consists of 23 pages. The work consists of an introduction, 3 sections, conclusion, 9 figures and 4 tables, a list of 25 scientific articles and textbooks.

Purpose. Determination of optimal conditions of *Haematococcus pluvialis* cultures for astaxanthin production.

This work provides an overview of the distribution and application of astaxanthin in nature. Methods for obtaining astaxanthin from microalgae are shown. Different values were used to determine optimal cultivation conditions.

The result was revealed the electrical light and temperature result, for the cultivation of specific culture *Haematococcus pluvialis*.

Key words: *Haematococcus pluvialis*, microalgae, astaxanthin, culture

МАЗМҰНЫ

	Кіріспе	9
1	Әдебиетке шолу	10
1.1	Астаксантинның құрылысы мен қасиеті	10
1.2	Астаксантинның қолданысы	10
1.3	Астаксантинды алу жолдары	11
1.4	Микробалдырлардан астаксантинды алу кезеңдері	12
1.4.1	<i>Haematococcus pluvialis</i> микробалдыры – астаксантинның табиғи продуценті	13
2	Материалдар мен әдістер	16
2.1	Қолданылатын <i>H.pluvialis</i> штаммы	16
2.2	Дақылдауға арналған қоректік орта	17
2.3	<i>H.pluvialis</i> дақылдау жағдайларын оңтайландыру	18
3	Зерттеу нәтижелері	19
3.1	<i>Haematococcus pluvialis</i> штаммының зертханалық жағдайда өсу динамикасы	19
3.1.1	Бастапқы тәжірибе параметрлері	19
3.1.2	Екінші тәжірибе параметрлері	21
3.1.3	Үшінші тәжірибенің параметрлері	23
	Қорытынды	27
	Қысқартылған сөздер тізімі	28
	Пайдаланылған әдебиеттер тізімі	29

КІРІСПЕ

Өзектілігі. Қазіргі кезде биотехнологиялық нысан ретінде микробалдырлар өндірісте қолданылуда. Олардан көбінесе терапиялық ақуыздар, биожанармай және биологиялық белсенді заттар (ББЗ) алынады. Сонымен қатар, түрлі бір жасушалы балдырлардан пигменттер алу технологиясы қалыптасқан.

Қазіргі таңдағы ең маңызды пигменттердің бірі болып атаксантин саналады. Ол табиғи антиоксидант. Атаксантин – құрамында оттегісі бар каратиноидтар тобына жататын қызыл пигмент. Ол көптеген косметикалық заттардың және биологиялық ббелсенді қоспалардың маңызды құрам бөлігі болып табылады. *Haematococcus pluvialis* микробалдыры табиғи атаксантин пигментінің негізгі продуценті болып табылады. Бұл қарапайым балдырлардың жасушаларында атаксантин бояуының жиналуы ағзаға қолайсыз, яғни стресстік жағдайдың әсер етуінен туындайтыны белгілі. Нәтижесінде *Haematococcus pluvialis* жасушалары гематоциста қалпына көшеді. Бұндай айнарудың физиологиялық мәні – балдырдың стресстік жағдайларға бейімделуі болып табылады.

Зерттеу мақсаты: Атаксантин өндірісі үшін *Haematococcus pluvialis* дақылдаудың оңтайлы жағдайларын анықтау болып табылады.

Зерттеу мақсатына сәйкес келесі міндеттер қойылды:

1 *Haematococcus pluvialis* штамының зертханалық жағдайлардағы өсу динамикасын зерттеу ;

2 *Haematococcus pluvialis* штамының культивирлеу жағдайларын оңтайландыру;

3 Алынған зерттеу нәтижелерінің практикалық мәнін бағалау;

айналым жүйесіне және жалпы метаболизмге оң әсер етеді. Бұлшық етердің қалыпты қызметіне және ер адамдардың фертильділігіне әсер етеді [9]. Астаксантинның жағымды әсері *in vitro* диагностикалық және диагностикаалды зерттеулерде дәлелденген [6]. Тәжірибелерде пигмент күнделікті 1 мг-нан 120-ға дейін қолданылған. Ал артық дозаның (120 мг/тәулігіне) еш зияны байқылмаған [10]. Астаксантинды қолданудың клиникалық дәлелденген әсерлеріне келесідей белгілерді жатқызуға болады: әжімдердің тартылуы, жас ұзарған сайын пайда болатын пигментацияның азаюы, терінің мүйізді қабаттарында қажетті ылғал мөлшерін сақтау, терінің коллаген талшықтарының қалпына келуін тездету [8].

1.3 Астаксантинды алу жолдары

Астаксантиды алу жолдарын екі негізгі топқа бөлуге болады: табиғи астаксантин және химиялық синтез арқылы алынатын астаксантин.

Астаксантинның химиялық синтезі 2 кезеңде өтеді: біріншісі – изофронның β -ионноның модификациялау және оның Виттинг реакциясы бойынша C_{10} -диальдегидпен конденсациялау арқылы алынады. Виттинг реакциясы астаксантинмен қатар басқа да каратиноидтар синтезінде қолданылады [11].

Табиғи астаксантинды көп жағдайда, *X.dendrorhous* және *H.pluvialis* микроорганизмдерінен алады. Ашытқыларды дақылдау кезінде қоректік субстрат ретінде жүзім немесе люцерн шырыны, кокос сүті немесе меласса қолданылады және оларды жабық ферментерларда дақылдайды. Оңтайлы өсуді қалыпта ұстап тұру үшін, ортаның рН көрсеткішін, қант мөлшерін, температураны және үздіксіз аэрацияны қамтамасыз ету қажет [12]. Астаксантиды *H.pluvialis* жасушаларымен өндіру кезінде жоғары интенсивті жарықтандыру қолданылады, себебі ол пигменттің синтезін индукциялайды, ал ашытқыларды продуцент ретінде қарастырсақ, жарық пигмент синтезін ингибирлейді [12]. Микробалдырларды өндірісте дақылдау кезінде астаксантин тұзілуі мен биомасса жиналуы екі уақыттық кезеңде жүреді, ал ашытқыларда ол бір уақытта жүреді, тек айырмашылығы өнімділігі төмен болады [12]. Дегенмен, ашытқылардан өндірілетін астаксантин жануар ағзасымен тез қорытылады. Гетеротрофты ашытқыларды культивирлеу қатаң стерильдік жағдайларды талап етеді және үздіксіз қажетті кокос сүтінің мөлшерін табу да қиын болып табылады [12].

Ашытқылардың төмен продуценттік қабілетін мутанттық штаммдар жасау арқылы шешуге болады. Бірақ, келесі ұрпақтарында пигментті қарқынды түзу қабілеті бар тұрақты мутанттық штаммдарды алу қиын [13]. Қазіргі кезде *H.pluvialis* микробалдыры продуцент ретінде негізгі болып табылады. Бұл балдырлардың штаммдары бірнеше кемшілікке ие: контаминацияға төмен тұрақтылық, төмен өсу жылдамдығы және жануар ағзасымен баяу қорытылатын қалың жасушалық қабырғаның болуы. Сондықтан астаксантинның жаңа продуцент–штаммдарын іздеу әлі де актуалды болып табылады [14].

Микроорганизмдермен қатар, кейбір зерттеу нәтижелерінде жануарларда продуцент ретінде қарастырылған. Көп жағдайда шаянтәріздестердің қоректену кезінде, олардың атаксантині балықтар мен құстардың түсінің қалыптасуына жауапты [15]. *Halocynthia auratum* асцидиясынан құрамында атаксантині бар табиғи экстракт алынады. Микроорганизмдерге қарағанда жануарларды атаксантин продуценті ретінде қоланудың кемшілігі – пигменттің аз концентрациясы және жасушалардың баяу өсуі. Осынымен омыртқасыздарды өндірісте қолдану тиімсіз болып табылады [16].

1.4 Микробалдырлардан атаксантинды алу кезеңдері

Микробалдырлардан атаксантин алу келесідей негізгі кезеңдерден тұрады: дақылдау, биомасса жинау және пигменттің экстракциясы [17].

Ірі масштабты микробалдырларды дақылдау экстенсивті, яғни жасанды су қоймаларда немесе фотобиореакторларда өсіріледі. Жасанды су қоймалары үлкен ауданға сәйкес масштабталады, ал фотобиореакторларда шағын ауданда, түрлі пішін мен мөлшердегі биореакторлар қолданылады. Фотобиореакторларды қолдану дақылдың өнімділігін тұра болжауға және ортаның тазалығын қамтамасыз етуге жағдай жасайды [18].

H. pluvialis дақылдау кезінде фотоавтотрофты немесе миксотрофты қоректенеді. Фотоавтотрофты қоректену кезінде көміртегі көзі ретінде неорганикалық көміртегі көзі қолданылады, сондықтан енгізгі шарт ол жарық болып абылады. Жарықтандыру үшін табиғи немесе жасанды жарықты қолдануға болады. Жасанды жарықты LED-жарықтандыру арқылы қол жеткізуге болады. Қытай ғалымдары фотобиореакторларды қызыл және көк иллюминаторлармен қамтыған [2]. Бұл жағдайда фотобиореактордың беткі ауданының оның көлеміне қажетті арақатынасын сақтау маңызды рөл атқарады. Жарықтандыру үшін табиғи және жасанды жарық қолдануға болады. Екінші жағдайда өсірудің негізгі шығындары электр энергиясының шығыстарына байланысты болады. Дегенмен, бірқатар бағалаулар бойынша, өнеркәсіптік өсіру үшін жасанды жарықтандыру неғұрлым жақсырақ, өйткені бұл жағдайда жарықтың қарқындылығын реттеу мүмкіндігі бар, дақылдың өнімділігі анағұрлым болжанады және өсіру жүргізілетін ауа райы жағдайлары мен климаттық аймақтың өзгеруіне байланысты емес. Оңтайлы жарықтандыруды іздеуде ФБР геометриялық сипаттамаларын есепке алу, мәдениет тығыздығы және жарықтың спектрлік құрамы маңызды рөл атқарады [19]. Көміртегінің органикалық көздерінің (мысалы, ацетаттың) жоғары құрамы бар орталарда өсіру кезінде жарықтандыру принципті аз. Дақылдың автотрофты және гетеротрофты өсуге қабілетін бір мезгілде пайдаланған кезде өсіру миксотрофты болады. Кейбір жағдайларда ол ең қолайлы. Алайда, органикалық қоректік заттардың ортаға қосылуы контаминация қаупін арттыратынын ескеру маңызды [19].

2011 жылы Қытайда *H.pluvialis* дақылын тікбұрышты арналарда өсіру құнына зерттеу жүргізілді. Бұл жүйе суспензия қалақты дөңгелектермен араласатын ашық су қоймаларын білдіреді. Сақиналы тоғандардың негізгі шектеулері контаминацияның жоғары тәуекелімен байланысты. Бұл мәселе жоғары тығыздықты дақылдар егумен шешілуі мүмкін, бұл ретте дақылды ФБР-да өсіреді, содан кейін оны тоғанға ауыстырады. Мұндай жүйені құру 1 468 500 долларды құрайды, ал оның жылдық қызметі – 499 705 долларды құрайды. Бұл Cyanotech, Algatechnologies, Mera Pharmaceuticals фирмаларында сияқты фотобиореакторларды ғана пайдалана отырып өндіруге қарағанда шамамен 20 есе арзан. Мұндай тәсіл теориялық тұрғыдан *H.pluvialis* биомассасын (СВ 2,5% атаксантин) немесе өзіндік құны килограмм үшін 14 доллар және тиісінше килограмм үшін 555 доллар болатын тазартылған атаксантинді алуға мүмкіндік береді. Соңғы өнімнің өзіндік құны килограмм үшін 18 доллар және килограмм үшін 718 доллар — 10 жыл, килограмм үшін 22 доллар және килограмм үшін 882 Доллар — 5 жыл. Осылайша, табиғи атаксантин өндірісінің бұл жүйесі синтетикалық пигменттен төмен өзіндік құнын қамтамасыз етеді. Қытай ғалымдарының пилоттық сынақтарында сақиналық тоғандар жүйесін пайдалану кезінде жеткілікті төмен өзіндік құн қолайлы климаттық жағдайларға байланысты балдырларды жарықтандыруға шығындардың болмауымен, өндірісте қажетті бірқатар елеулі шығындарды елемеймен (штаттан тыс жағдайлардан сақтандыру сияқты), Қытайдағы жұмыс күші мен жердің төмен құнымен түсіндіріледі [20].

1.4.1 *Haematococcus pluvialis* микробалдыры – атаксантиннің табиғи продуценті

Haematococcus pluvialis микробалдырларының алғашқы сипаттамасы 1844 жылы Флотоумен берілді. Келесі жылдары оның анықтамасы толықтырылып, түзетілді. Ағылшын тіліндегі алғашқы толық сипаттама 1899 жылы Хэйзенмен жазылды, ол алғаш рет балдырдың екі сатысы бар екенін көрсетті: "қызыл"-қозғалмайтын жасушамен ұсынылған және жылжымалы екі жақты "жасыл". Бұл сатылар бір-бірін ауыстырады. Жылжымалы жасушалар жасыл түсті вегетативті жасушалар жасай отырып, жгутиктерді жоғалтады [21].

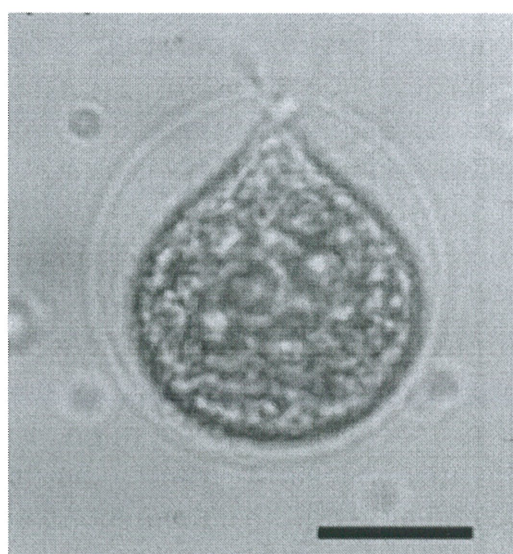
Бастапқыда *Haematococcus pluvialis* өкілдерінің көп бөлігі *Sphaerella* туысына жатқызылды. Содан кейін туыс өкілдерінің бір бөлігін бұрын сипатталған Флотоу атымен, сол түріне жатқызу туралы шешім қабылданды. Сондықтан *Sphaerella* туысынан микро балдырлардың екі түрі жеке бөлінді: *Haematococcus pluvialis* және *Chlamydomonas nivalis* (кейін *Chloromonas nivalis*). *Chlorophyta* (жасыл балдырлар) бөліміндегі *Chlorophyceae* класына жатады. Олар *Viridiplantae* (жасыл өсімдіктер) деп аталатын эукариотикалық организмдердің бір үлкен тобына жатады [21]. *Rhodophyta* (қызыл балдырлар) және *Cyanophora* (глаукоцистофит балдырлары) бірге, бұл топ цианобактериялары бар бастапқы симбиоз нәтижесінде алынған пластидтер бар

ағзаларды қамтитын *Plantae* супергруппасына кіреді. *Chlorophyceae* класы жасыл балдырларды біріктіреді, атап айтқанда ультрақұрылымның ерекшеліктері бойынша (12/6 немесе 1/7 типі бойынша жгутиктердің базальды денелерінің бағдары). *H. pluvialis* класының ішінде *Volvocales* тәртібіне жатады, олардың кейбіреулері колонияны құруға қабілетті бір клеткалы жылжымалы екі тутикалы Нысандар. Сондай-ақ, монадты жасушалар пальмеллоидке айналуы мүмкін. Балдырлардың тәртіпке тиістілігі рибосомалдық кластер гендерінің секвенирленуінің деректерімен расталады. *H. pluvialis Chlorogonia* құрамына кіреді, оның өкілдері үшін 1/7 жгутиктердің базальды денелерінің бағдарлануы тән [22].

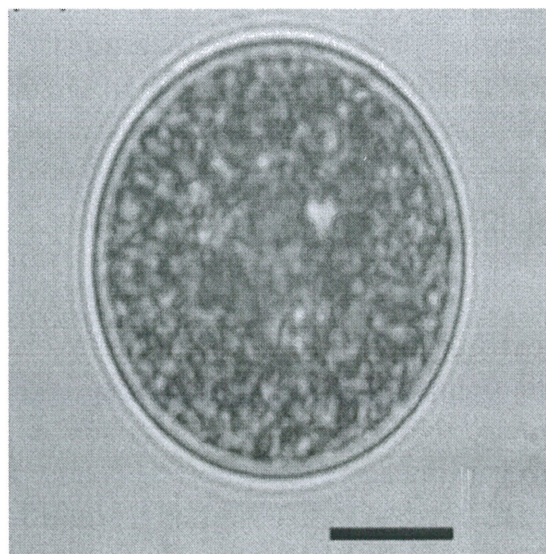
H. pluvialis қосалқы зат ретінде қорға крахмал жинайды, ол сондай-ақ *Chlorophyta* туыстарна тән. Азотты ашығу немесе жарқын жарық сияқты стресстік жағдайларда, жасушаларда ЛГ қалыптастыратын триацил-глицериндердің (ТАГ) қарқынды жиналуы орын алады. ТАГ жиналуы көптеген микробалдырлардың стресстік жағдайларға типтік реакциясы болып табылады. Оның негізгі рөлі, шамасы, электрон-тасымалдау тізбегінің пластид қарқынды жұмысы кезінде немесе экзогенді байланысты азоттың тапшылығына байланысты азотты қосылыстар синтезі мүмкін болмаған кезде алынған қалпына келтіру эквиваленттерінің артық мөлшерін кәдеге жаратудан тұрады [23].

Алғаш рет *Haematococcus pluvialis* өмірлік циклы XIX ғасырда зерттелген. Онда жасушалардың төрт түрі бар: макрозоидтар (немесе зооспоралар), микрозоидтар (гаметалар), пальмеллоидты вегетативті жасушалар және гематоцистер (2 Сурет).

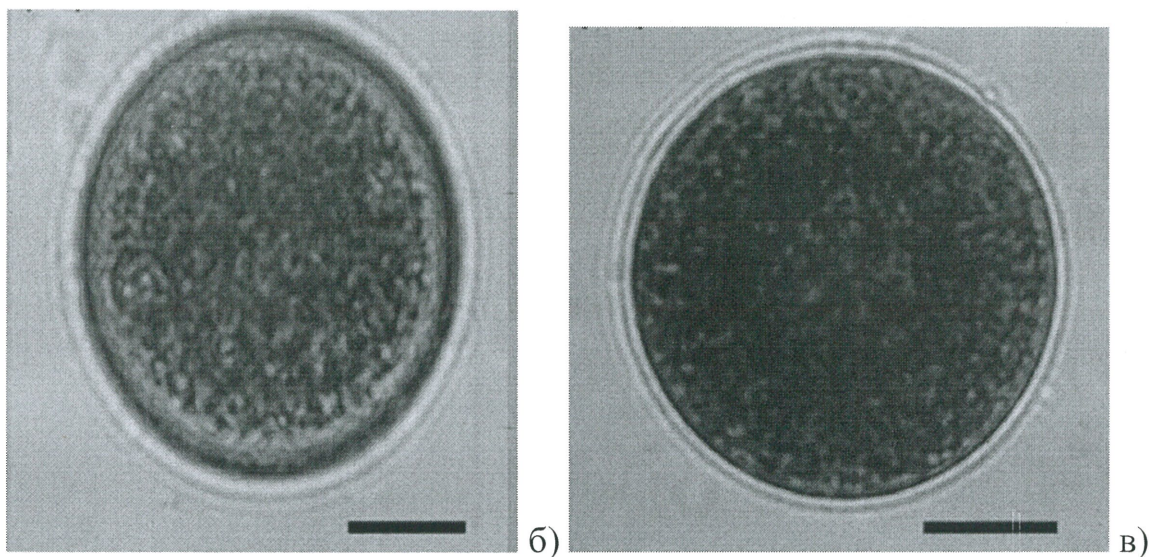
Зооспоралар – екі жгутиктермен және тостағанша тәрізді хроматоформен сфералық, эллипсоид немесе алмұрт тәрізді вегетативтік жасушалар, олар екіден сегізге дейін еншілес жасушалар құруы мүмкін. Пальмеллоидтік жасушалар, сондай-ақ, төрт жасушадан он алты жасушаға дейін болатын апланоспорангийлердің пайда болуымен бөлуге қабілетті (2 Сурет) [24].



а)



ә)



2 Сурет – *Haematococcus pluvialis* тіршілік циклі
(жарық микроскопымен алынған сурет):

а) зооспора - жасыл жылжымалы вегетативті жасуша; ә) жасыл вегетативті палмеллоид жасуша; б) жасушаның апланоспорангийге өту кезінде атаксантин жиналуы; в) атаксантин жиналған апланоспорангий. Масштабты бірлік: 10 мкм

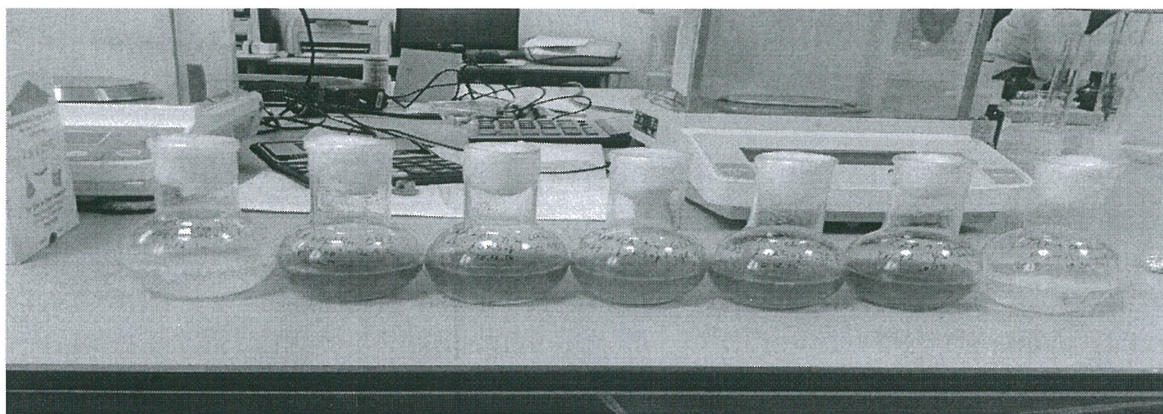
Қалыпты жағдайда *Haematococcus pluvialis* микробалдырлары *Chlorophyta* туысына тән типтік пигменттік құрамы бар. Жасушалар пластидтерінде а және b хлорофиллдері және каротиноидтар және басқалары бар. Стресс кезінде микробалдырдың пигменттік құрамы елеулі өзгерістерге ұшырайды. Бұл ретте хлорофиллдердің тез тозуы және жасушаның пигменттері сомасының 95-99% - ына жететін атаксантиннің жиналуы орын алады. Фотосинтез пигменттеріне қарағанда, атаксантин май қышқыларымен эфир түрінде липидті глобулаларда (ЛГ) цитозольде орналасқан. Атаксантиннің жиналуы *Haematococcus pluvialis* жасушаларын фотозақымдану алдында тұрақты етеді [25].

2 Материалдар мен әдістер

2.1 Қолданылатын *Haematococcus pluvialis* штаммы

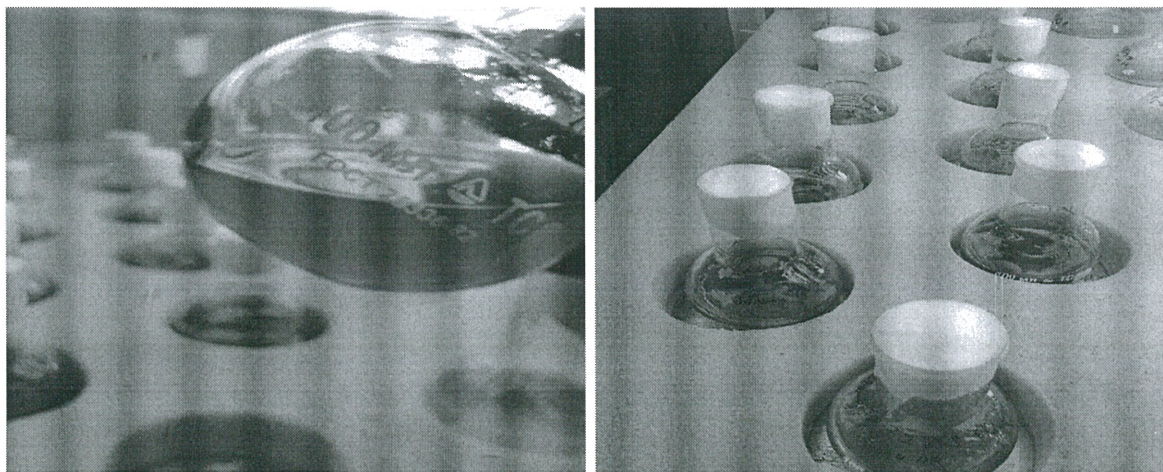
Зерттеу жұмысында қолданылған *Haematococcus pluvialis* дақылы М.А.Айтхожин атындағы Молекулярлық биология және биохимия институтында сақталған, Ефремова Ю.М. микробалдырларының жеке топтамасынан алынған.

50 мл сұйық *Haematococcus pluvialis* дақылдары мөлшері 100 мл колбаларда бөлме температурасында, төмен жарықтандыру жағдайында өсірілді (3 Сурет).



3 Сурет – 100 мл колбаларға құйылған сұйық *Haematococcus pluvialis* дақылдары

ТАР қоректі ортасына қосымша 1.2 мг/мл тиамин гидрохлориды (В1) және 0.01 мг/мл цианогобаламин қосылды. 100 мл колбалар тербелмелі сөрелерге қойылды (4 Сурет). Жасушалардың өсуі үшін әр 4 күн сайын жаңа қоректік ортаға отырғызылып отырды.



4 Сурет – *Haematococcus pluvialis* дақылдары

2.2 Дақылдауға арналған қоректік орта

Haematococcus pluvialis дақылын өсіру кезінде микробалдырларды дақылдауға арналған стандартты қоректік орта – Tris - Acetate Phosphate (TAP) ортасы қолданылды. Оның құрамы 1-кестеде көрсетілген.

1 Кесте – TAP қоректік ортасының құрамы (1 литр қоректік орта дайындауға арналған шамалар)

Дистилденген H ₂ O	975 мл
Tris	2.42 г
Бейерник 4x тұздары	25 мл
1М (K)PO ₄ pH=7	1 мл
Микроэлементтер ерітіндісі	1 мл
Сірке қышқылы	1 мл pH=7-ге дейін

Бейерник 4x тұздары ерітіндісін дайындау үшін 1 литр ddH₂O-да еріту қажет:

- 16 г NH₄Cl
- 2 г CaCl₂
- 4 г MgSO₄

Микроэлементтер ерітіндісін жасау үшін:

1) 550 мл ddH₂O-да төменде көрсетілген тұздарды ерітіп, 100⁰С қыздыру қажет:

- 11.4 г H₃BO₄
- 22 г ZnSO₄ · 7H₂O
- 5.06 г MnCl₂ · 4H₂O
- 4.99 г FeSO₄ · 7H₂O
- 1.61 г CoCl₂ · 6H₂O
- 1.57 г CuSO₄ · 4H₂O
- 1.1 г (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O

2) 250 мл ddH₂O-да 50 г ЭДТА натрий тұзын қыздыра отырып, ертіу қажет. Үстіне жоғарыда көрсетілген құраммен жасалған ертінідіні құямыз. 80-90⁰С дейін суытып, pH 6.5-6.8 келтіреміз. Ол үшін 20% КОН ерітіндісін қолданамыз.

3) Көлемін 1 литрге жеткізіп, бөлме температурасында ертінідінінің түсі қою жасылдан ашық күлгін түске өзгергенше 2 апта бойы инкубациялаймыз.

4) 3 қабат фильтр қағазымен ерітінді түссізденгенше фильтрлеу қажет.

Дайын болған TAP ортасы термотұрақты қақпақпен жабылатын бөтелкелерге құйылды. Жұмыс барысында қолданылған бөтелкелер мөлшері: 250 мл, 500 мл, 1000 мл болды. Қоректік орта жасау кезінде өлшемді стақандар қолданылады. Бірақ, ол стақандардың мөлшері болжалды түрде болады. Сондықтан стақандарда дайындалған қоректік ортаны үлкен көлемді мөлшерлі мензуркаларға құйып, көлемін келтіріп аламыз. Қажетті көлемге келген соң, бөтелкелерге құямыз. Оларды автоклавта 20 минут бойы 121⁰С-та стерилдейміз.

2.3 *H.pluvialis* дақылдау жағдайларын оңтайландыру

Зертханалық жағдайларда культураны бірнеше түрлі өсу жағдайында өсірді. Ол жарық және температура сияқты параметрлердің кең ауқымынан басталды, содан кейін нақты *H.pluvialis* штаммы үшін оңтайлы өсу шарттарын алу мақсатында өзгермелі параметрлердің ауқымын тарылтылды. Сонымен қатар, культураның өсуіне CO₂ мен ацетаттың әсері де бақыланды. Әрбір келесі өту алдыңғы өту нәтижелеріне негізделген. Өсудің егжей-тегжейлі параметрлері 2-кестеде көрсетілген. Культурасы бар колбалар іске қосылған барлық дақылдардың шайқау жылдамдығы 120 айн/мин режимінде болды. Жасушалардың тығыздығы 750 Нм толқын ұзындығына оптикалық тығыздықпен (ОТ) анықталды.

2 Кесте – *H.pluvialis* дақылдау параметрлері

Бастапқы тәжірибе	Температура, С°	Жарықтандыру, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	CO ₂	C ₂ H ₃ O ₂
Бақылау	22	20	-	+
Бақылау, температураның артуы	20 – 26	20	-	+
Екінші ауысу				
Қараңғыда	22	0	-	+
Төмен жарықтандырудың артуы	22	20 – 200	-	+
Жоғары жарықтандырудың артуы	22	100 – 1000	-	+
Төмен температураның артуы	15 – 30	20	-	+
Жоғары температураның артуы	25 – 40	20	-	+
Үшінші ауысу				
Температураның артуы	27.5 – 32.5	400	-	+
Жарықтың артуы	30	300 – 500	-	+
Бақылау 2	30	400	-	+
Бақылау 2, миксотрофты	30	400	+	+
Бақылау 2, фототрофты	30	400	+	-
Қараңғыда 2	30	400	-	-
Төртінші ауысу				
Температураның артуы	27.5 – 32.5	200	-	+
Жарықтың артуы	30	200 – 400	-	+
Бақылау 3	30	200	-	+
Бақылау 3, миксотрофты	30	200	+	+
Бақылау 3, фототрофты	30	200	+	-
Бақылау 3 (-)	30	200	-	-

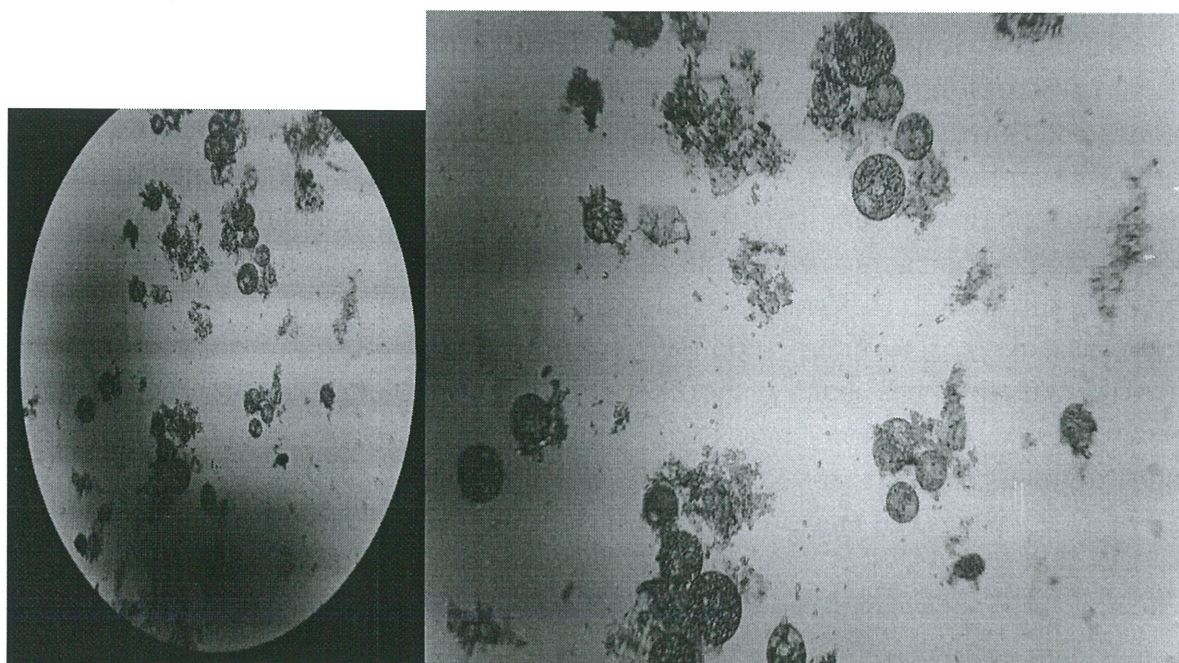
3 Зерттеу нәтижелері

3.1 *H. pluvialis* штаммының зертханалық жағдайда өсу динамикасы

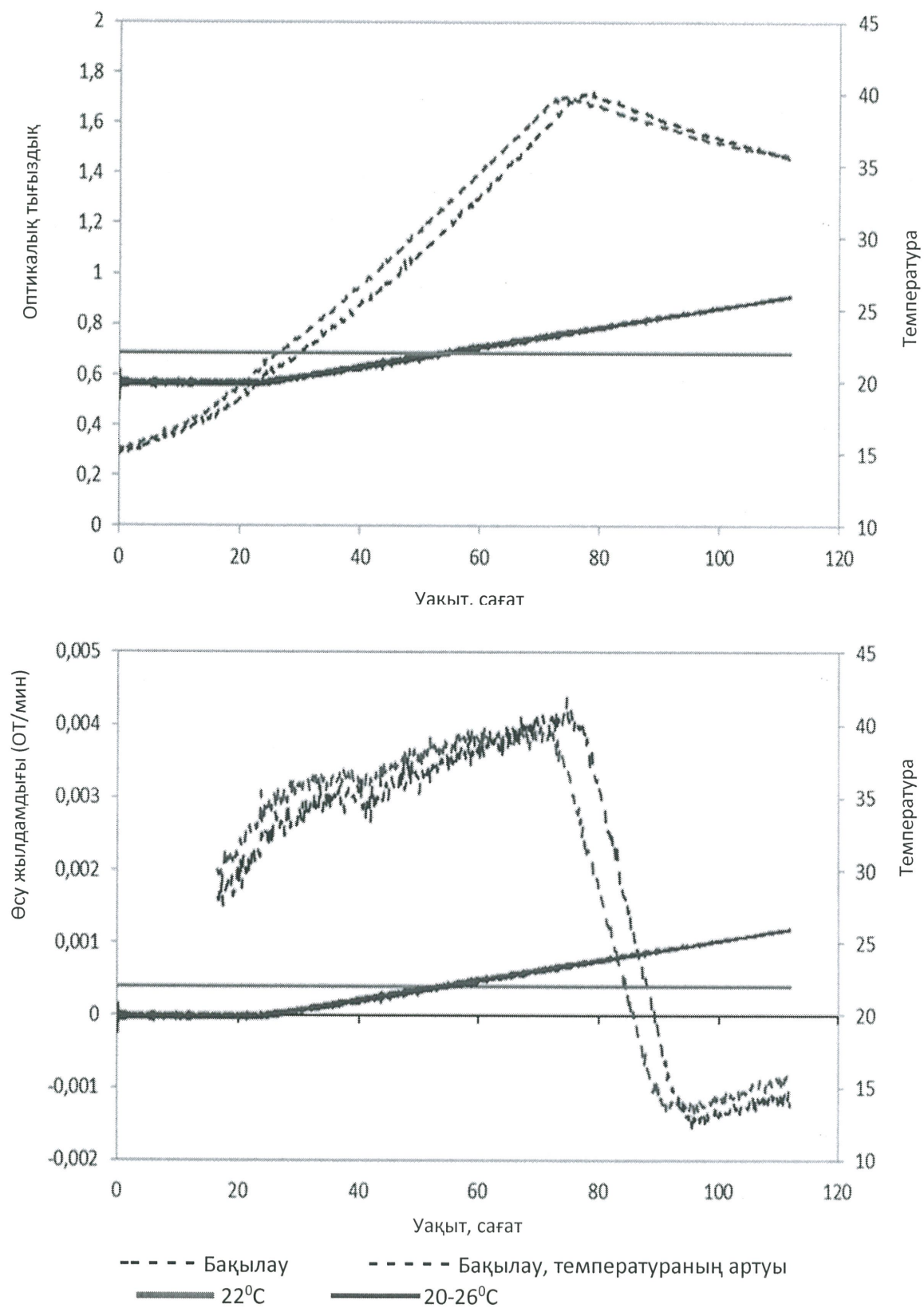
H. pluvialis дақылын өсірудің оңтайлы жағдайларын анықтау үшін бірнеше түрлі өсу жағдайында өсіру әрекеттері жасалды.

3.1.1 Бастапқы тәжірибе параметрлері

H. pluvialis культурасы екі түрлі температуралық режимдерде өсірілді: 22°C тұрақты температурада және 20-дан 26°C дейінгі температурада (2 Кесте). Жарықтандыру екі дақылдар үшін 20 мкмоль м⁻²с⁻¹ деңгейінде орнатылды. Екі дақылдың өсу арасында айтарлықтай айырмашылық болған жоқ. Жасушалар өміршендігін сақтап қалды. Жасушалар жасыл түсті күйінде қалды (5 Сурет). Себебі, стресске ұшыраған жоқ. Астаксантин синтезі басталмады, сондықтан жасушалар қызыл түске боялмады. Сондай-ақ ең жоғары өсу қарқыны екі дақылдардың арасында бірдей болды (бастапқы бақылау -0.0040 және бақылау, температураның артуы -0.0044). Тұрақты температурада өсірілген жасушалар максималды өсу мен өсу жылдамдығына, температурасы арттырылып отырған жасушалардан бұрын жетті. Оны өсіру басында жоғары температурамен түсіндіруге болады (22°C қарсы 20°C). Дегенмен, өзгермелі температурада өсірілген культура ең жақсы жалпы сипаттамаға ие болды (6 Сурет).



5 Сурет – Бастапқы тәжірибеден алынған *Haematococcus pluvialis* жасушалары (жарық микроскобы арқылы алынған сурет, 20x үлкейту)



6 Сурет – Тұрақты және өзгермелі температурада *Haematococcus pluvialis* культурасының өсу сызбасы

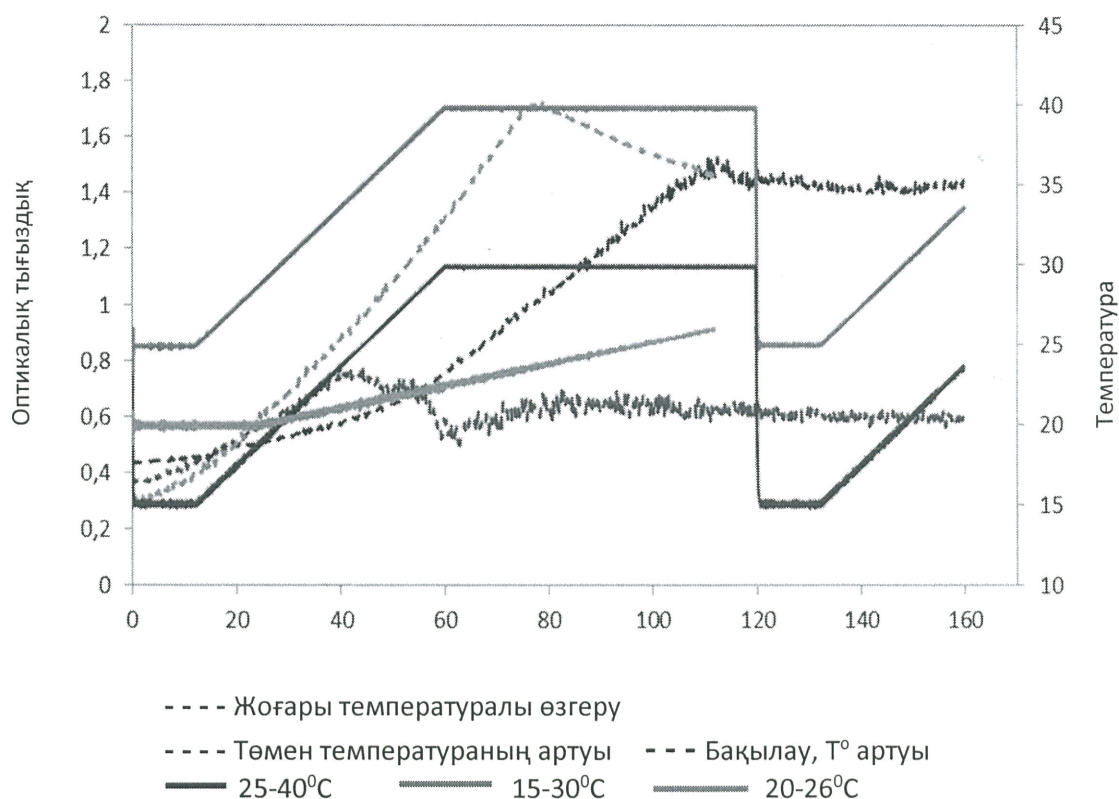
3.1.2 Екінші тәжірибе параметрлері

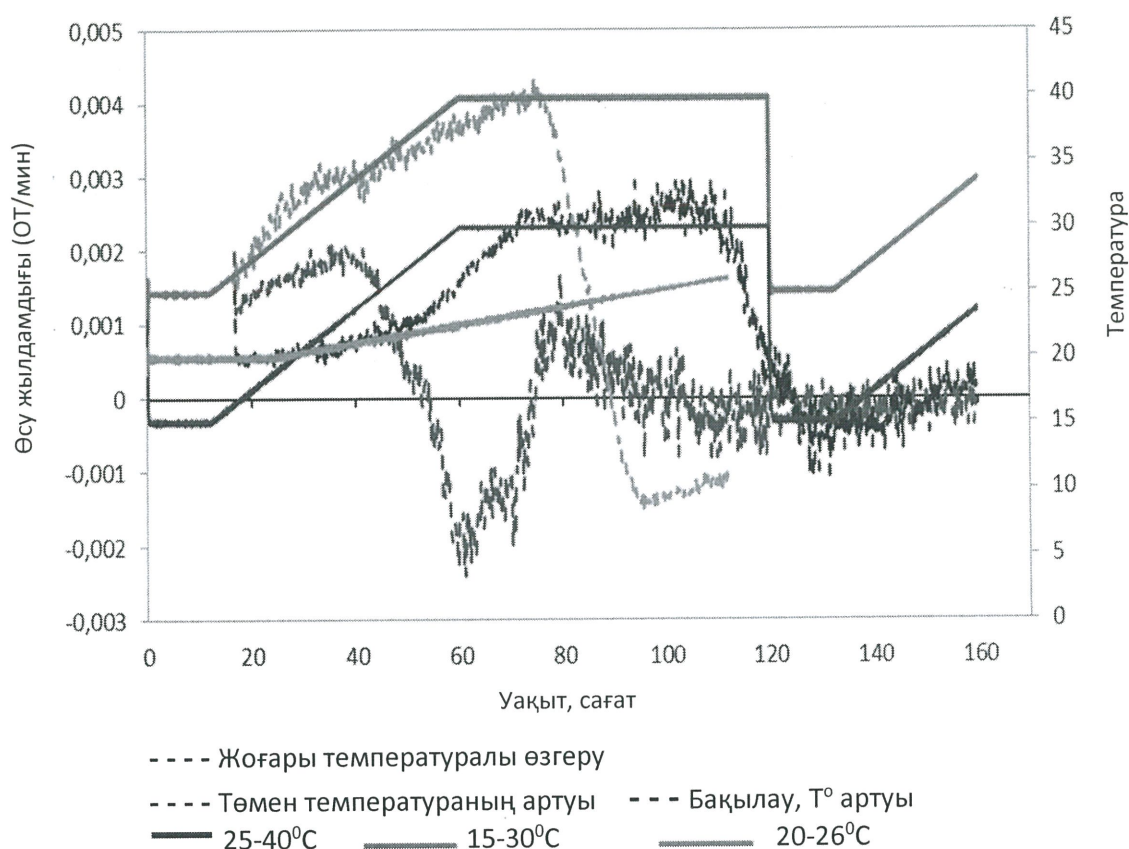
Бастапқы тәжірибе нәтижелерінен жаңа параметрлер құрылды. Температураның артуымен қоса, жарықтың да артуы қарастырылды. Арттырылған температурада (20-26°C) өскен жасушалардың тығыздығына ($OD_{750} = 1,72$) ие болды. Сондықтан кең температура диапазоңдары бар профильдер жасалды. Жарықтандыру екі дақыл үшін $20 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ деңгейінде қалды, бірақ температураның артуы 15-30°C және 25-40°C болып құрылды (7 Сурет).

25-40°C аралығында өсірілген жасушалар 44 сағатта өзінің максималды оптикалық тығыздығына жетті ($OT=0,77$), бұл кезде температура 35°C болды.

Максималды өсу жылдамдығы (0.002) 35-ші сағатта мүмкін болды, бұл кезде температура 32°C болды. Осы сағаттардан кейін *H.pluvialis* өсуі баяулады және культура қызыл болды. Лоренц пен Сканестің пікірінше, *H.pluvialis* жасушасының 32°C-тан жоғары температурада гематоциста түзілетін және атаксантиннің көп мөлшері өндірілетін тыныштық жағдайында болады деп болжауға болады.

Жоғары температураларда өсірілетін жасушаларға қарағанда, 15-25°C температурада өсірілетін культура өзінің ең жоғары жасушаларының тығыздығына $OD_{750} = 1,53$ жетті. Осы сәттен кейін культура стационарлы фазада болады. Ең жоғары өсу қарқыны 0,003 шамамен 90-110 сағатқа жетті. Культура жасыл, ал жасушалар өсіру кезеңінен кейін өміршең болды. Осылайша, оңтайлы өсу температурасы 25°C және 32°C температуралары арасында болуы мүмкін.





7 Сурет – Бастапқы тәжірибе мен екінші ауысудың салытырмалы сызбасы

Түрлі өзгермелі температуралары бар профильдерге қосымша, түрлі жарықтандыру жағдайлары бар профильдер құрылды. $100-1000 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ қарқынды жарықтандыруда өсірілген *H. pluvialis* культурасы өзінің ең жоғары тығыздығы $OT_{750}=2.3$ соңғы сағатта (155-160), жарық қарқындылығы $1000 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ максимумға жеткенде қол жеткізді. Бір қызығы, жасушалардың тығыздығы төмендемеді, бірақ жарық пандус орнату қайта іске қосылғаннан кейін ұлғайды. Дегенмен, өсу қарқыны 0,003-тен 40-шы сағатқа дейін өсті, ол кезде жарық $600 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ -ге жетті. Осы уақыттан кейін өсу қарқыны күрт төмендеген жоқ, бірақ олар $600 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ жарығында 40 сағат уақыт нүктесінің айналасында 0,003-тен жоғары болмады. Өсу қарқыны мен жасушалардың тығыздығының "ауытқуы", тиісінше, әртүрлі көміртегі көздері әртүрлі уақытта қолданылады, өйткені, өсудің миксотрофты түріне байланысты болуы мүмкін. Жоғары температураларда *H. pluvialis* культуралары қызыл болды. Өкінішке орай, дақылдың пигментті өзгертуді бастаған уақыт анықталынбады. Жоғары температураларда *H. pluvialis* культурасына қарағанда, жасушалардың тығыздығы ұлғаюды тоқтатты, себебі жасушалар тыныштық сатысына өтіп, атаксантин шығара бастады, содан кейін жасуша жарығының жоғары жағдайында атаксантин шығара бастады, себебі дақыл қызыл болды, бірақ жасушалардың тығыздығы ұлғая берді.

H. pluvialis шығару номиналды 20-200 мкмоль м⁻²с⁻¹ ұлғайтады OT750 = 2.16 дақылға ұқсас, жарық қарқындылығы 200 мкмоль м⁻²с⁻¹ максимумға жеткенде соңғы сағаттарда (155-160) жарықты жоғарылатады және 20 мкмоль м⁻²с⁻¹ қайта іске қосады. Өсу жылдамдығы 70 сағаттық өсіру айналасында 0,005 максимумға жетті, ол кезде жарық 200 мкмоль м⁻²с⁻¹ максимумына жетті. Осы уақыттан кейін өсу қарқыны күрт төмендеді, бірақ өсірудің 110 сағатынан кейін кенеттен өсті. Жоғары жарықтандыру кезінде өсірілген мәдениетке қарағанда, мәдениет қызыл пигменттерге ие болған жоқ. Осылайша, атаксантин түзілген жоқ.

Жоғары және төмен жарық беру кезінде өсірілетін культураларға қосымша бір *H. pluvialis* культурасы гетеротрофтық жағдайларда өсірілді - жарық көзі болған жоқ. Ең жоғары сіңіру қабілеті 1,3 жеткеніне қарамастан, *H. pluvialis* гетеротрофты өсе алды. *H. pluvialis* гетеротрофты өсуі бұрыннан белгілі.

Жалпы алғанда, *H. pluvialis* тиімді өсе алады және 200 мкмоль м⁻²с⁻¹ жарықтандыру кезінде өміршең (жасыл) болып қала алады деген қорытынды жасауға болады. 600 мкмоль м⁻²с⁻¹ және қызыл соңғы культураның ең жоғары өсу қарқынына сүйене отырып, *H. pluvialis* мәдениеті 600 мкмоль м⁻²с⁻¹ төмен жарық қарқындылығы кезінде атап өтілді. Осылайша, оңтайлы жарық (мкмоль м⁻²с⁻¹) *H. pluvialis* өсуі үшін жағдай 200-ден 600 мкмоль м⁻²с⁻¹ құрайды.

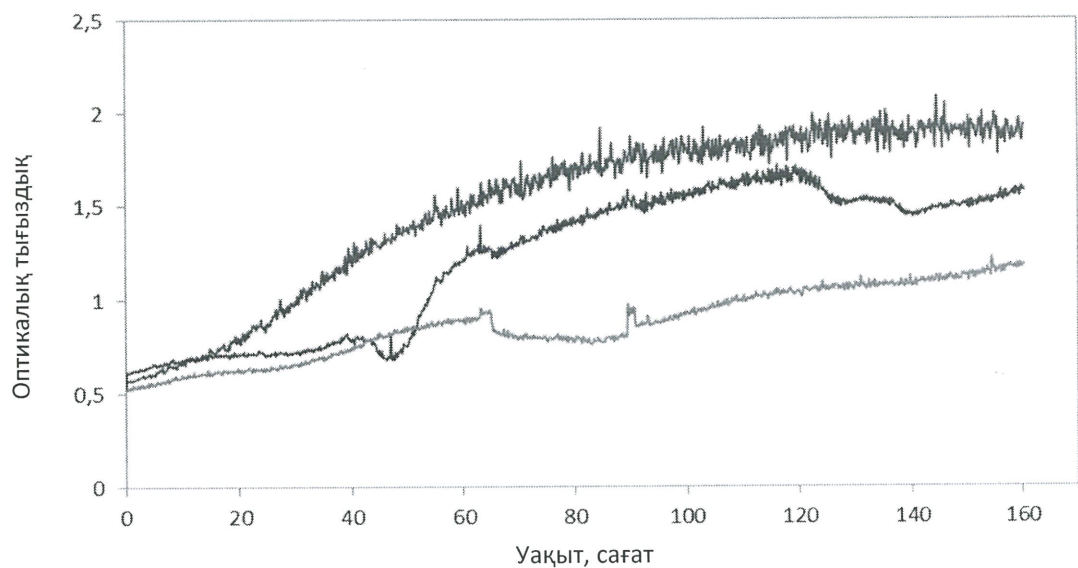
3.1.3 Үшінші тәжірибенің параметрлері

H. pluvialis культурасын екінше тәжірибе бойынша өсіруден алынған деректерге сүйенсек, *H. pluvialis* үшін оңтайлы өсу температурасы 25 және 32°C аралығында болуы мүмкін және 200 және 600 мкмоль м⁻²с⁻¹. Осылайша, балдырлар 27,5-тен 32,5°C-қа дейін температурада өсірілді және PAR 300-500 шамымен жарықтандырылды. Сондай-ақ, бақылау температурасы ретінде 22°C орнына 30°C температурасы таңдалды және 20 мкмоль м⁻²с⁻¹ орнына оңтайлы жарық 400 мкмоль м⁻²с⁻¹ таңдалды. Әр түрлі температура мен жарықпен ерекшеленетін профильдерге қоса, *H. pluvialis* миксотрофикалық түрде (жарық + ацетат + CO₂) және фототрофты (ацетатсыз + CO₂) егілді.

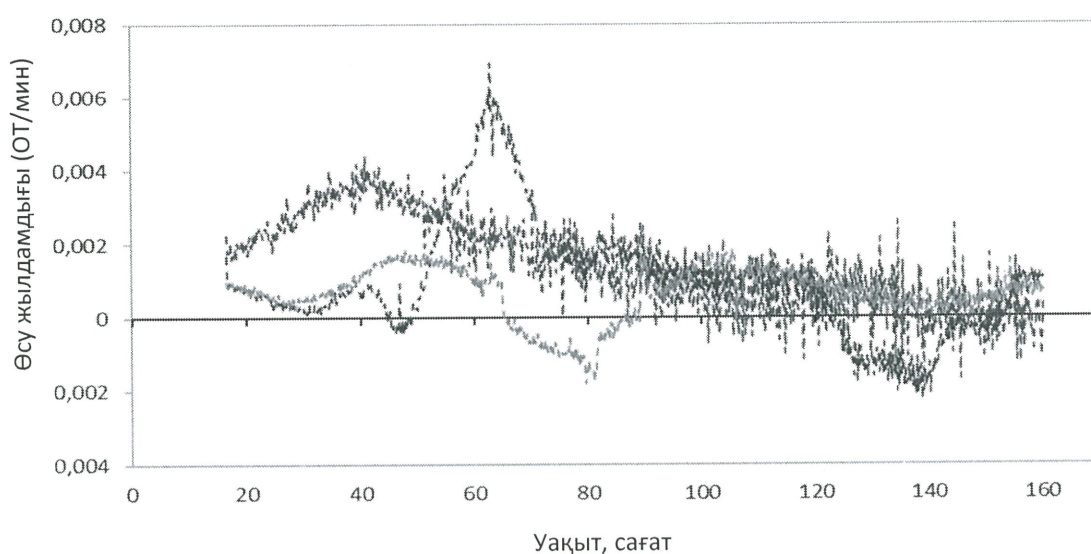
400 мкмоль м⁻²с⁻¹ кезінде 27,5-32,5°C сызықтық өзгеру температурасымен өсірілетін *H. pluvialis* абсорбциясы туралы деректер негізінде бүгінгі күнге температуралық секірулер кезінде *H. pluvialis* ең табысты культуралардан және жаңа жиынтықтағы дақыл оптимальді. Дәлірек айтқанда, өсірудің соңғы сағаттарында (120 және одан да көп) өлшенген 2,2-ден ең жоғары болды. Дақыл қара-қызыл түсті болды, бұл жасушалар атаксантинді цистациялады және шығарады. 0,005 өсудің ең жоғары жылдамдығы температура 30,6°C жеткен кезде өсірудің 43-сағатында жетті. Өсу қарқыны 40 сағаттан кейін төмендегеніне қарамастан, цисталар бар культуралардың оптикалық тығыздығы әлі де ұлғайған. Осылайша, атаксантин өндірісіне қатысты стрестік реакцияға қарамастан, мәдениет өсе берді деп болжауға болады. Тұрақсыз және

ойластырылған өлшеу сызығы жасушалар агрегаттарды қалыптастырған фактімен түсіндірілуі мүмкін, сондықтан өлшеулер өзгереді.

H. pluvialis культурасы осы жаңа параметрлерде 30°C оңтайлы және ФАР 400 мкмоль м⁻²с⁻¹ -ге дейін өсірілді. Сонымен қоса, миксотрофты қоректену үшін жасушаалрды СО₂ 5 бар мөлшерінде (көк сызықтар) және фототрофты қоректену үшін ортаға 5 барда (жасыл сызықтар) СО₂. Дегенмен, *H. pluvialis* миксотрофикалық және фототрофикалық өсетін болса да, культуралар 30°C оңтайлы және ФАР 400 мкмоль м⁻²с⁻¹ (қызыл сызықтар) оңтайлы кезінде жоғарыда аталған культурадан асып түсті.



— Бақылау 2 ---- Бақылау 2 миксотрофты — Бақылау 2 фототрофты



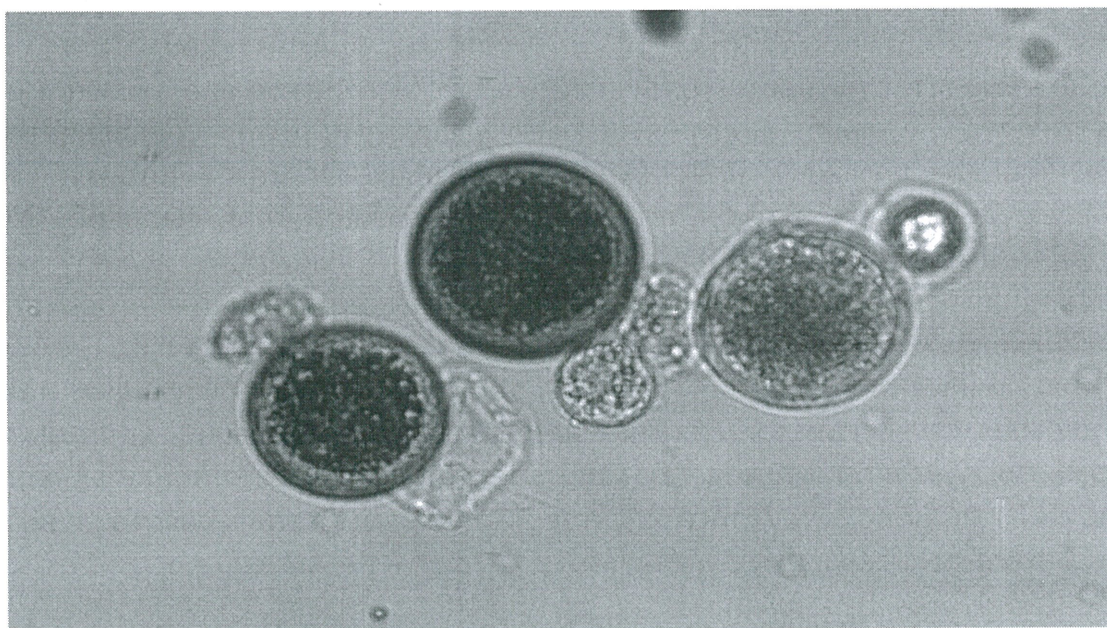
---- Бақылау 2 ---- Бақылау 2 миксотрофты - - - Бақылау 2 фототрофты

8 Сурет – *Haematococcus pluvialis* культурасының миксотрофты және фототрофты қоректену және жаңа көрсеткіштер (30°C және 400 мкмоль м⁻²с⁻¹) бойынша өсірудің салыстырмалы сызбасы

Жалпы алғанда, ФАР 400 мкмоль м⁻² с⁻¹ оптималды болу үшін тым жоғары, себебі, культура жасушалары гематоциста түзіліп, жасушаларда атаксантин түзілуі басталды. Дегенмен, *H.pluvialis* культурасы 27,5-32,5°C және ФАР 400 мкмоль м⁻²с⁻¹ көрсеткіштерінде өсіру кезінде жоғары өсу көрсетті. Культураны миксотрофты және фототрофты өсіру кезінде оң нәтижелер байқалмады.

Алдыңғы нәтижелерге қарап, жарықтандырудың оптималды мөлшері 200 мкмоль м⁻²с⁻¹ болу мүмкін деп шешілді. Мүмкін, *H.pluvialis* культурасының өсуінің нәтижесінде оптикалық тығыздықтың артуынан, культураға жоғарырақ жарық таралады. Себебі, оптикалық тығыздық артқан сайын, культураға жарық жетпеу мүмкіндігі артады және бұл мәселені көп жарықты қолдану арқылы шешуге болады деп болжалды. Сондықтан, *H.pluvialis* кудьурасын сол температуралық режимде 27,5-32,5°C, бірақ ФАР 200 мкмоль м⁻²с⁻¹ және сызықтық артатын жарықтандыруда 200-400 мкмоль м⁻²с⁻¹ культивирледі.

27,5-32,5°C және 200 мкмоль м⁻²с⁻¹ культивирлеу көрсеткіштерінде өсірілген культура, 400 мкмоль м⁻²с⁻¹ көрсеткішінде өсірілген культурамен салыстырғанда қажетті оптикалық тығыздыққа жетпеді. 400 мкмоль м⁻²с⁻¹ жағдайында өсірілген культура көрсеткіштері жоғары болған. Дегенмен, екі культура да стресс жағдайында болып, атаксантин түзуін бастады (8 Сурет).



9 Сурет – Өзгермелі температуралық өсіру кезіндегі *H.pluvilis* культурасы (жарық микроскобымен алынған сурет, 10х үлкейту)

H. pluvialis мәдениеті өзгермелі температуралық профильге қарағанда, өзгермелі жарықтандыру профилінде 2,25-ке тең жоғары жұту қабілетіне ие болды. Сонымен қатар, бұл жарықтандырудың басқа жағдайларындағы *H.pluvilis* дақылдарымен салыстырғанда (күрт) тік өсу қисығы болды. Осы өсіру кезеңінен кейін микроскоппен бақыланып, атаксантинді өндіретін қызыл

жасушалардан басқа, жасыл өміршең жасушалар болғанын байқалады (8 Сурет). Бұл бақылау кейбір жасушалар жасыл және вегетативті, ал кейбір жасушалар атаксантинді өндіретін үздіксіз өсіру мүмкіндігі болуы мүмкін деп болжайды, өйткені маңызды болып табылады.

Егер *H. pluvialis* культурасын үздіксіз культивирлеуге болса, атаксантин түзіліп жатса, онда оны бір уақытта жинап алуға да болады. Бұл атаксантиннің коммерциялық өндірісінің жаңа жолын ашар еді. Ал қазір атаксантин өндірісі үшін жоғары концентрацияға жеткен *H. pluvialis* культурасын жоғары жарық қарқындылығы, қоректік заттардың жетіспеушілігі және жоғары тұздылық сияқты стресстік факторлармен индукцияланады.

ҚОРЫТЫНДЫ

1. Зертханалық жағдайларда культураны бірнеше түрлі өсу жағдайында өсірді. Ол жарық және температура сияқты параметрлердің кең ауқымынан басталды, содан кейін нақты *H.pluvialis* штаммы үшін оңтайлы өсу шарттарын алу мақсатында өзгермелі параметрлердің ауқымын тарылтылды. Сонымен қатар, культураның өсуіне CO₂ мен ацетаттың әсері де бақыланды. Әрбір келесі өту алдыңғы өту нәтижелеріне негізделген. Өсудің егжей-тегжейлі параметрлері 2-кестеде көрсетілген. Культурасы бар колбалар іске қосылған барлық дақылдардың шайқау жылдамдығы 120 айн/мин режимінде болды. Жасушалардың тығыздығы 750 Нм толқын ұзындығына оптикалық тығыздықпен (ОТ) анықталды.

2. Балдырларды өсіруді оңтайландыру бойынша эксперименттерде *H.pluvialis* культурасында кейбір жасушалар цисталар қалыптастырып, атаксантинді өндіргеннен кейін де өсуді жалғастыра алатынын байқалды. Бұл бақылау *H.pluvialis* культурасы үздіксіз және осылайша, атаксантинді үздіксіз жинау мүмкіндігі болуы мүмкін деп болжайды. Алайда, неғұрлым тиімді өсуі және үздіксіз өсіру үшін оңтайлы өсу жағдайларын алу үшін қосымша жұмыс істеу қажет. Бұл жұмыс нәтижесінде *H.pluvialis* культурасы 30°C және 200-400 мкмоль м² с⁻¹ өсіп келе жатқан жарықта неғұрлым табысты болды.

Қысқартылған сөздер тізімі

ЛГ – Липидті глобулалар

МҚ – Май қышқылы

ОТ – Оптикалық тығыздық

ТАГ – Триацилглицерол

ТАР – Трис-ацетат-фосфат қоректік ортасы

ФАР – Фотосинтетикалық активті (белсенді) радиация

ФБР – Фотобиореактор

μМ – микромоль немесе мкм

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Antonio Molinoa, Juri Rimauroa, Patrizia Casellaa, Antonietta Cerbonea,b, Vincenzo Laroccac, Simeone Chianeseb, Despina Karatzab, Sanjeet Mehariyaa,b, Angelo Ferrarod, Evangelos Hristoforoud, Dino Musmarrab. Extraction of astaxanthin from microalga *Haematococcus pluvialis* in red phase by using generally recognized as safe solvents and accelerated extraction, *Journal of Biotechnology*, 2018
- 2 Yiu Hang Ho, Ho Man Leung, Shuk Ying Yuen, Kei Shing, Tak Sing Li, Lap Ming Yuen, Yee Keung Wong. Maximization of Astaxanthin Production from Green Microalga *Haematococcus pluvialis* Using Internally-Illuminated Photobioreactor, 2018
- 3 Aaron M. Collins, Howland D. T. Jones, Danxiang Han, Qiang Hu, Thomas E. Beechem, Jerilyn A. Timlin. Carotenoid Distribution in Living Cells of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae), 2011
- 4 S.Pooja. Algae used as Medicine and Food-A Short Review, 2014
- 5 Li, Z., Dong, X., Liu, H., Chen, X., Shi, H., Fan, Y., Hou, D., Zhang, X. Astaxanthin protects ARPE-19 cells from oxidative stress via upregulation of Nrf2-regulated phase II enzymes through activation of PI3K/Akt // *Molecular Vision*, 2013
- 6 Ryu, S. K., King, T. J., Fujioka, K., Pattison, J., Pashkow, F. J., Tsimikas, S. Effect of an oral astaxanthin prodrug (CDX-085) on lipoprotein levels and progression of atherosclerosis in LDLR^{-/-} and ApoE^{-/-} mice // *Atherosclerosis*, 2012
- 7 Speranza L., Pesce M., Patruno A., Franceschelli S., de Lutiis M.A., Grilli A., Felaco M. Astaxanthin treatment reduced oxidative induced pro-inflammatory cytokines secretion in U937: SHP-1 as a novel biological Target, 2012
- 8 Tominaga, K., Hongo, N., Karato, M., Yamashita, E. Cosmetic benefits of astaxanthin on humans subjects, 2012
- 9 Lombardo, F., Sansone, A., Romanelli, F., Paoli, D., Gandini, L., Lenzi, A. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility: an overview. *Asian Journal of Andrology*, 2011.
- 10 Preuss, H. G., Echard, B., Yamashita, E., Perricone, N. V. High dose astaxanthin lowers blood pressure and increases insulin sensitivity in rats: are these effects interdependent // *International Journal of Medical Sciences*, 2011
- 11 Widmer, E., Zell, R., Broger, E. A., Cramer, Y., Wagner, H. P., Dinkel, J., Schlageter, M., Lukáč, T. O. Technische verfahren zur synthese von carotinoiden und verwandten verbindungen aus 6-oxo-isophoron. II. Ein neues konzept für die synthese von (3RS, 3' RS)-astaxanthin, 1981
- 12 Domínguez-Bocanegra, A. R., Ponce-Noyola, T., Torres-Muñoz, J. A. Astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* and *Haematococcus pluvialis*: a comparative study // *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007
- 13 Johnson, E. A., An, G. H. Astaxanthin from microbial sources // *Critical Reviews in Biotechnology*, 2008
- 14 Rosana M. Galvão, Tarlen S. Santana, Cristiano H. O. Fontes, Emerson A. Sales. Modeling of Biomass Production of *Haematococcus pluvialis*, 2013

- 15 Del Campo, J. A., Rodriguez, H., Moreno, J., Vargas, M. A., Rivas, J., Guerrero, M. G. Accumulation of astaxanthin and lutein in *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyta) // *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004
- 16 Моторя, Е. С., Пивненко, Т. Н., Гажа, А. К., Иванушко, Л. А., Воронцов, В. Н., Санина, Н. М. Исследование иммуномодулирующей и мембранотропной активности каротиноидов из туники асцидии *Halocynthia aurantium* // *Тихоокеанский медицинский журнал*, 2009.
- 17 Brennan, L., Owende, P. Biofuels from microalgae — a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2010
- 18 Минюк, Г. С., Дробецкая, И. В., Чубчикова, И. Н., Данцюк, Н. В., Челебиева, Э. С. Скрининг зелёных микроводорослей как потенциальных источников природных кетокаротиноидов. Актуальность, стратегия и тактика исследований, 2010
- 19 Цоглин, Л. Н., Пронина, Н. А. Биотехнология микроводорослей. — Москва: Научный мир, 2012
- 20 Li, J., Zhu D., Niu J., Shen S., Wang G. An economic assessment of astaxanthin production by large scale cultivation of *Haematococcus pluvialis* // *Biotechnology Advances*, 2011
- 21 Gu, W., Li, H., Zhao, P., Yu, R., Pan, G., Gao, S., Xie, X., Huang, A., He, L., Wang, G. Quantitative proteomic analysis of thylakoid from two microalgae (*Haematococcus pluvialis* and *Dunaliella salina*) reveals two different high light-responsive strategies, 2014
- 22 Gu, W., Xie, X., Gao, S., Zhou, W., Pan, G., Wang, G. Comparison of different cells of *Haematococcus pluvialis* reveals an extensive acclimation mechanism during its aging process: from a perspective of photosynthesis, 2013
- 23 Burki, F. The eukaryotic tree of life from a global phylogenomic perspective // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2014
- 24 Buchheim, M. A., Sutherland, D. M., Buchheim, J. A., Wolf, M. The blood alga: phylogeny of *Haematococcus* (Chlorophyceae) inferred from ribosomal RNA gene sequence data // *European Journal of Phycology*, 2013
- 25 Xi, T., Kim, D. G., Roh, S. W., Choi, J. S., and Choi, Y. E. Enhancement of astaxanthin production using *Haematococcus pluvialis*. *Applied microbiology and biotechnology*, 2016

Краткий отчет



Университет:	Satbayev University
Название:	Астаксантин өндірісі үшін Haematococcus pluvialis биомассасын алу
Автор:	Абай Жандос Сайлаубекұлы
Координатор:	Даурен Ботбаев
Дата отчета:	2019-04-22 05:40:45
Коэффициент подоби́я № 1: ?	9,9%
Коэффициент подоби́я № 2: ?	3,3%
Длина фразы для коэффициента подоби́я № 2: ?	25
Количество слов:	3 571
Число знаков:	27 501
Адреса пропущенные при проверке:	
Количество завершенных проверок: ?	5



К вашему сведению, некоторые слова в этом документе содержат буквы из других алфавитов. Возможно - это попытка скрыть позаимствованный текст. Документ был проверен путем замещения этих букв латинским эквивалентом. Пожалуйста, уделите особое внимание этим частям отчета. Они выделены соответственно.

Количество выделенных слов 10