





Г.Қ. Қамшыбаева¹  Б.Д. Қосалбаев^{1,2*} ,
А.К. Садвакасова¹ , Б.К. Заядан¹ 

¹«Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті» КЕАҚ, Қазақстан, Алматы қ.

²«Қ.И. Сәтбаев атындағы ҚазҰТЗУ» КЕАҚ, Қазақстан, Алматы қ.

*e-mail: kossalbayev.bekzhan@gmail.com

АНАБАЕНА ЦИАНОБАКТЕРИЯЛЫҚ ТҮРЛЕРІНІҢ СҮТЕГІ ӨНДІРІСІНІҢ БОЛАШАҒЫ МЕН МӘСЕЛЕЛЕРІ

21 ғасырда дәстүрлі энергия көздерін бақылаусыз пайдалану Жер бетінің температурасын соңғы 1 ғасырда 2°C-ге жоғарылатты. Дәстүрлі энергия көздерінің теріс жақтары артуына байланысты микроорганизмдерден алынатын сутегі өндірісі тез арада қарқынды зерттеу нысанына айналды. Бірақ, олардың биомассаның төмен концентрациясына байланысты микроорганизмдерден алынатын сутектің (H₂) коммерциялық өндірісі әлі де жүзеге аспады. Осы тұрғыда, биотехнологияда активті түрде қолданылатын сутек продуценттері – цианобактерия штамдарын анықтап, сутек бөлу мүмкіндіктерін арттыру жұмыстарын жүзеге асыру маңызды болып отыр. Бұл шолу мақаласында *Anabaena* цианобактериясының сутегі өндірісіндегі маңыздылығы және олардың сутек бөлу механизмдері зерттелініп, H₂ бөлінісіне әсер ететін негізгі факторларға шолу жасалды. Соңғы уақыттардағы сутек бөлінісін жүзеге асыратын технологиялар қамтылып, химиялық және физикалық факторлардың әсері негізінде сутек мөлшерінің артуы турасындағы жұмыстар қамтылды. *Anabaena* штамдарының қазіргі таңдағы сутек молекулаларын катализдеу мүмкіндігі төмен болғандықтан, болашақтағы зерттеу жұмыстары тек гендік инженерия технологияларымен ғана жүзеге асатын болады. Генетикалық, техникалық және метаболиттік зерттеу жұмыстарын қатар жүргізу арқылы ғана қазіргі таңдағы биосутек индустриясында туындаған мәселелерді шешуге болады.

Түйін сөздер: цианобактериялар, *Anabaena* sp., H₂ өндірісі, биоэнергия.

G.K. Kamshybayeva¹, B.D. Kossalbayev^{1,2*}, A.K. Sadvakassova¹, B.K. Zayadan¹

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²Satpaev University, Kazakhstan, Almaty

*e-mail: kossalbayev.bekzhan@gmail.com

Outlooks and challenges of hydrogen production by cyanobacterial *Anabaena* species

Uncontrolled use of conventional energy sources in the 21st century has increased the temperature of the Earth's surface by 2°C in the last 1 century. Due to the increasing negative aspects of traditional energy sources, the production of hydrogen from microorganisms has quickly become an object of intense research. However, due to their low concentration of biomass, commercial production of hydrogen (H₂) from microorganisms has not yet been realized. In this context, it is important to identify strains of hydrogen producers – cyanobacteria, which are actively used in biotechnology, and to carry out work on increasing the possibilities of hydrogen separation. This review article examines the importance of the cyanobacterium *Anabaena* in hydrogen production and their hydrogen release mechanisms, and reviews the main factors affecting H₂ release. Recent technologies of hydrogen separation are included, as well as works on increasing the amount of hydrogen under the influence of chemical and physical factors. Due to the low ability of *Anabaena* strains to catalyze hydrogen molecules at present, future research will be limited to genetic engineering technologies. It is only possible to solve the problems arising in the current biohydrogen industry by conducting genetic, technical and metabolic research in parallel.

Key words: Cyanobacteria, *Anabaena* sp., H₂ production, Bioenergy.

Г.Қ. Қамшыбаева¹, Б.Д. Қосалбаев^{1,2*}, А.К. Садвакасова¹, Б.К. Заядан¹

¹НАО «Казакский национальный университет им. аль-Фараби», Казакстан, г. Алматы

²НАО «КазНИТУ имени К.И.Сатпаева», Казакстан, г. Алматы

*e-mail: kossalbayev.bekzhan@gmail.com

Перспективы и проблемы производства водорода цианобактериями *Anabaena*

Бесконтрольное использование традиционных источников энергии в XXI веке привело к повышению температуры поверхности Земли на 2°C за последнее столетие. В связи с возрастающими негативными аспектами традиционных источников энергии производство водорода из микроорганизмов быстро стало объектом интенсивных исследований. Однако из-за их низкой концентрации биомассы коммерческое производство водорода (H₂) из микроорганизмов еще не реализовано. В связи с этим важно выявить штаммы продуцентов водорода – цианобактерий, которые активно используются в биотехнологии, и провести работы по увеличению возможностей выделения водорода. В этой обзорной статье рассматривается важность цианобактерий *Anabaena* в производстве водорода и их механизмы выделения водорода, а также рассматриваются основные факторы, влияющие на выделение H₂. Авторами исследуются новейшие технологии выделения водорода, а также работы по увеличению количества водорода под воздействием химических и физических факторов. Из-за низкой способности штаммов *Anabaena* катализировать молекулы водорода в настоящее время проводимые исследования будут ограничены технологиями геной инженерии. Решить проблемы, возникающие в современной биоводородной промышленности, можно только путем параллельного проведения генетических, технических и метаболических исследований.

Ключевые слова: цианобактерии, *Anabaena* sp., Производство H₂, биоэнергетика.

Кіріспе

Кез келген тіршілікті қозғалтатын энергия болғандықтан, адамдар ежелден бері қосымша энергия көзін іздеу үстінде. Осы негізде дәстүрлі жолмен алынатын технологиялар қалыптасып, олардың бәрі мұнай және көмір көзіне тікелей қатысты болып келді. Ал, соңғы жылдардағы технологиялардың дамуы жел, су, күн және биомасса сарқылмайтын энергияларын пайдалануға жол асты. Қазіргі таңда әлемдік жалпы энергия тұтыну мөлшерінің 35%-ын мұнай, 25%-ын табиғи газ, 28%-ын көмір және 7%-ын су электр станциялары құраса, ал қалған 5%-ы атом энергиясы мен баламалы энергия көздеріне тиесілі болып келеді [1].

Жалпы, баламалы энергия көзі болып саналатын биотын 4 ұрпаққа бөлінеді: 1-ші және 2-ші ұрпақ биотындарының негізінде алынған биодизель және этанол өнімдері таза су және тыңайқыштар көздерін қолданады және кең егістік алқаптарын қажет етеді. Ал, үшінші буын биотыны тікелей фототрофты микроорганизмдер (микробалдырлар, фототрофты бактериялар және цианобактериялар) түрлерімен тікелей байланысты болып келеді [2].

Цианобактериялардың ішінде H₂ бөлу үшін ең көп зерттелген түрлерге *Synechocystis* және *Anabaena* модельді объектілері жатады. Бұл екі түр де толыққанды геномдық сек-

венирленген және биотының 4-ші ұрпағына қолдануға лайықты организмдер болып табылады. Себебі, 4-ші ұрпақтағы биотындар цианобактериялардың жаңа штаммдарын гендік инженерия арқылы модификациялау жұмыстарымен байланысты. *Anabaena* штаммдары H₂ молекулаларын бөлу үшін гидрогеноза (H₂аза) және нитрогеноза (N₂аза) ферменттерін биофотолит професін жүзеге асыру үшін қолданады. Клеткалық тұрғыда Күн энергиясы фотожүйе 2 (ФЖ2) комплексінде орналасқан антенна пигменттері арқылы сіңіріліп алынып, сызықтық-электрондық тасымалдау белоктары арқылы ФЖ1-ге барады, электрондардың саны артқан соң, ферродоксин (Фд) белогы арқылы клеткалық электрондар АҮФ молекулалары түрінде қорға жинақталады. Бұл электрондар қажет болғанда сутек ферменттерінің қызметін активтендіруге қолданылады. Сонымен қатар, клеткалардағы H₂ шығымы тікелей сыртқы орта факторларына тәуелді болып келеді (температура, рН және т.б.) [3].

Баламалы отын ретінде биосутек өндірісін оңтайландыру үшін *Anabaena* штаммдарының көмегімен көптеген зерттеулер жүргізілді, мысалы, оларды өсіруді жақсарту әдістері, физика-химиялық өсу параметрлерін тікелей және жанама биофотолит процестерінде өңдеу арқылы жүргізілген жұмыстар [4]. Цианобактериялардың қоршаған ортаға бейімделуі тез жүреді және

олардың қарқындылығы жоғары болып келді. Сонымен қатар, олардың өсуі үшін қолайлы жағдайлар болғанда, түрлер тығыздығын бірнеше сағат ішінде, тіпті жабық фотобиореакторларда да екі есе арттыра алады [5]. Бұл микроорганизмдердің биомасса алу жолдарын оңтайландыру сутегі өндірісіне тікелей әсер етеді, өйткені эффективті H_2 өндірісі үшін биомассаның өнімділігі биотехнологияда маңыздылық танытады [6-9].

Бұл организмдердің өсуін өзгертетін және биомассаның шығымы мен сутегі өндірісін арттыратын кейбір факторларға рН көрсеткіші, температура мөлшері, жарық қарқындылығы және органикалық көміртектің көзі жатады [10-12]. Цианобактерияларда глюкозаның қосылуы миксотрофиялық өсуге әкеледі, бұл биомассаның өнімділігі мен өсу қарқынының жоғарылауына ықпал етеді [13]. Сонымен қатар, штаммдарда клеткалық тұрғыдағы гидрогеназаның белсенділігін арттыруға болады [14] және органикалық көміртектің ыдырауы сутегі өндірісін белсендіре түседі [12]. Berberoglu және т.б. [15], Svshnikov және т.б. [16], Vyas and Kumar [17], Tsygankov және т.б. [18], Yeager және т.б. [12], Markov және т.б. [19] сынды зерттеушілер *A. variabilis*, *A. cylindrica* штамдырымен белсенді түрде сутек өндірісін жүзеге асырды. Осы зерттеулерге сәйкес, сутектің ең жақсы өндірісі анаэробты жағдайда, азоттың бөлінуімен, аргондық кеңістікте жарықтың қатысуымен алынды. Цианобактериялардың сутегі өндірісінің артықшылықтары бар, өйткені, олар тотықпаған ортада екі бағытты гидрогеназаны қолдана отырып, тікелей биофотоллиз жүргізе алады, сонымен қатар, нитрогеназдан жанама биофотоллиз процесін жүзеге асыра алады [20].

Бұл шолуда *Anabaena* штаммының H_2 бөлу параметрлері тақыланып, болашақта әр түрлі технологиялардың перспективалары кеңінен қозғалған. Сонымен, сутек алудың биопроцестері қамтылып, әр түрлері параметрлерінің қолданылу нұсқалары көрсетілген. Соңғы жылдары *Anabaena* штаммымен жарияланған зерттеу жұмыстарына шолу жасалынып, болашағы мол түрлеріне тереңірек сипаттама жасалды. *Anabaena* штаммының биомассасын өндірісте қолдану мүмкіндіктері қарастырылып, болашақтағы маңыздылығы сипатталды.

Биосутек өндірісі – экологиялық таза процесс

H_2 энергиясы – ең таза, қалпына келетін энергия көзі болып табылады. Ол әлемде кең таралған

және ұйтылығы жоқ, түссіз және жоғары жанғыш газ болып табылады. Ол энергетикалық тұрғыдан тиімділігі жоғары және басқа газдармен салыстырғанда эффективті болып табылады. Сутек энергиясының маңыздылығы – оның электрохимиялық жану процесстері болып табылады. H_2 энергиясының тағы бір оң жағы – ол жану барысында соңғы қалдық зат ретінде суды шығарады. Бұл процесс экономикалық тұрғыдан тиімді және атмосфераның ластануына жол бермейді. H_2 энергиясы өте эффективті болғанымен, оны табиғи ортадан бөліп алудың технологиясы қымбат болып табылады [21].

Қазірде H_2 энергиясы көбіне құрамында көмірсутектері бар қосылыстардан алынады: табиғи газ, көмір және химиялық металдар. Бұл қосылыстарды өңдеу көбіне термокаталикалық реформация және крекинг әдістері арқылы жүзеге асады. Бұл технологияларды қолдану оңай болғанымен, экономикалық тұрғыдан көптеген шығындарға алып келеді. Бұл қосындылардан H_2 өндірудің кемшілігі – субстраттың басқа да шикізат көзі болып қолданылуы болып табылады. Дәстүрлі жолдармен сутек өндіру шикізат көзіне бақталастықты арттырады және қоршаған ортаның ластануын жоғарылата түседі. Сондықтан, аталған мәселерді шешу мақсатында сутек энергиясын басқа да субстраттардан бөліп алу жұмыстары қарастырылады. Ол үшін қазіргі таңда электролиз, фотоэлектролиз және биосутекті өндіру үшін фотолизис технологиялары ойлап табылды. Солардың ішінде, болашағынан үміт күттіретін әдістердің бірі – күн энергиясына негізделген биоферментация болып келеді [22].

Био- H_2 энергиясы фотоферментация, қараңғы ферментация процесстері арқылы қарқынды түрде жүргізіледі. Соңғы 50 жылда фототрофты микроорганизмдердің мыңдаған түрімен тікелей және жанама биофотоллиз арқылы H_2 энергиясы көптеп бөлініп алынды. Соның ішінде бактериялар, цианобактериялар мен жасыл балдырлар ең басты зерттеу нысандарына айналды [23]. Басқа әдістермен салыстырғанда, цианобактериялардың активті штаммдарының (жабайы және модификацияланған) көмегімен H_2 өндірісі басқа әдістермен салыстарғанда ерекшеленеді. Биологиялық процестерге негізделген H_2 өндіру әдісі энергияны аз қажет етеді, олар күн сәулесі сияқты жаңартылатын көздерді пайдаланады және CO_2 көзін тек клеткалардың өсуіне ғана пайдаланады. Биофотоллиз процесі кезінде микроорганизм-

дер ауылшаруашылығы өсімдіктерімен бәсекеге түспейді және қоршаған ортаға зияын келтірмейді, керісінше, ауаны оттегі көзімен байытуға үлесін қосады.

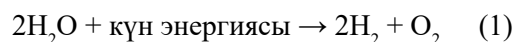
Сонымен қатар, цианобактериялар – көмірсу, липидтер, амин қышқылдары, биология қажетті дәрумендер, биоотындар және ақуыздар шығаруға қабілетті әлеуетті микроорганизмдер болып саналады. Айта кету керек, цианобактериялардың биомассасын косметикада, азық түлік өнеркәсіптерінде қарқынды түрде қолдануға болады. Цианобактериялардың ішінде *Anabaena* түрлерінің басым көпшілігінің клеткасының құрамы 30-40%-ы ақуыздардан тұрғандықтан олар ауыл шаруашылығы жануарларының азығы ретінде қолданылуы үстінде. Кейбір түрлерінің клетка биомассасының 5-10%-ы май қышқылдарынан тұрады, ол түрлер көбіне биодизель өндірісінде қолданылады. Сондықтан, Био-Н₂ өндірісін өміршең үрдіске айналдыру үшін, бұны жалғыз процесс ретінде ойлауды тоқтату керек, бірақ сол жасушалардан көбірек пайда алу үшін оны биологиялық тазартылған, интеграцияланған процесс ретінде дамытуды бастау маңызды болып табылады [24].

Микроорганизмдердің метаболизмінің жанама өнімі негізіндегі сутектің биохимиялық өндірісі – бұл қалпына келетін ресурстардан сутегі алудың жаңа технологиялық саласы болып табылады. Тірі ағзалардан Н₂ бөліп алу технологиясы жарты ғасырдан астам уақыт бойына зерттелгендігіне қарамастан, әлі күнге дейін толыққанды және мол өнім беретін технология қалыптаспады. Осы тұрғыда цианобактериялар жүргізетін биофотоллиз негізделген сутегі алу үдерісі соңғы 35 жыл ішінде белсенді зерттелді [25]. Осы уақыт ішінде микробалдырлар мен цианобактерияларда Н₂ түзілудің негізгі молекулалық механизмдері зерттеле түсті. Фотосинтездің электрондық-транспорттық тізбегі, соның ішінде, судың ыдырау механизмі мен сутегі түзілуінің катализаторлары сияқты екі элементтен тұратын су биофотоллиз жүйелері концептуалды түрде тікелей биофотоллиз және жанама биофотоллиз ретінде қарастырылады. Белгілі болғандай, тікелей биофотоллиз үдерісі фотосинтетикалық пигменттер сіңірген жарық энергиясын пайдаланып, клетка құрамындағы судың оттегі (О₂) мен сутегі протондарына (Н⁺) ыдырауына қолданылады. Ал, тікелей биофотоллизге негізделген фотосинтез үдерісімен жүзеге асатын ферредоксин мен гидрогеназаны активтендіреді. Клетка жанама биофотоллизде

көмірқышқыл газын түзу үшін судың бөлінуі және ферредоксиннің төмендеуі үдерістерін пайдаланады, ал нәтижесінде алынған көміртегі қосындысын бөлек реакция кезінде сутектің бөлінуін ынталандыру үшін қолданады [26].

Фототорофты микроорганизмдердегі тікелей биофотоллиз үдерісі күн сәулесін энергия көзі ретінде қолданып, судың ыдырауын тудырып, соның негізіндегі бөлініп шыққан электрондар және протондар арқылы сутегі молекулаларын катализдеу қызметін атқарады.

Фотосинтез үдерісінің нәтижесінде пайда болған электрондар сутек ферменттері – гидрогеназа және нитрогеназа белсенділігін тудырып, соның нәтижесінде газ түріндегі Н₂ ортаға бөлініп шығады [27]. Анаэробты жағдай туындағанда немесе артық энергия жинақталған кезде фотосинтетикалық микроорганизмдер Н⁺-ды Н₂-ке айналдыратын ферменттерді қолданып артық энергияны қоршаған ортаға бөліп шығарады. Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, судың бөліну реакциясы нәтижесінде пайда болатын электрондар мен протондар хлоропласттарда жинақталып, Н₂ түзуші ферменттер негізінде жоғары сапалы таза Н₂ (99,9% дейін) газына айналады [28-31].



Биосутек өндірісінің жүзеге асу механизмдері

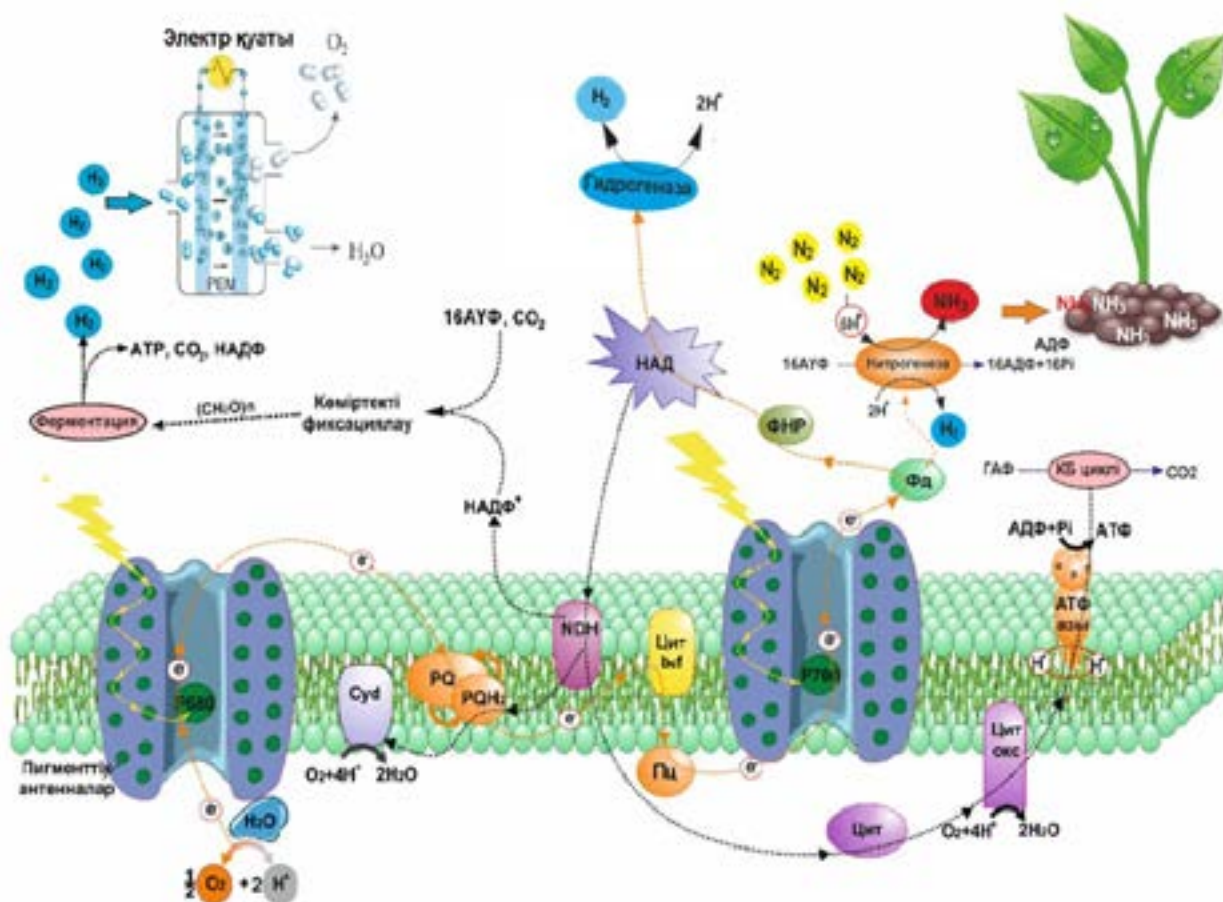
Цианобактерия *Anabaena* түрлерінің барлығында хлорофилл а және басқа да пигменттер бар, олар күн сәулесінің энергиясын алу үшін және өсімдік тәрізді оттегілік фотосинтез жүргізу үшін фотосинтетикалық жүйелерді (ФЖ2 және ФЖ1) пайдаланады. ФЖ2 (P680) пигменттері толқын ұзындығы 680 нм-ден қысқа фотондарды сіңіре отырып, суды протондарға (Н⁺), электронға (e⁻) және О₂-ге бөлуге қабілетті күшті тотықтырғышты ортаға бөліп шығарады. Фотосинтез нәтижесінде пайда болған энергия сызықтық электронды тасымалдаушылар мен цитохромдық кешен арқылы ФЖ1-ге беріледі. *Anabaena* штаммының барлығында ФЖ1 (P700) пигменттері толқын ұзындығы 700 нм-ден төмен фотондарды сіңіреді, бұл тотыққан ферредоксин (Фд) және/немесе никотинамид аденидинуклеотид фосфатын (НАДФ) төмендету үшін электрондардың энергия деңгейін жоғарылатады. Жасушалық мембранадан түзілген протон градиенті АУФ синтезі арқылы энергия өндірісін жүзеге асырады. Ал, гетероцисталы клеткаларда тек ФЖ1 болғандықтан,

бұл комплекс O_2 бөліп шығара алмайды, бұл сутек бөлуші ферменттердің жұмысының эффективтілігін тудырады. АТР және НАДФ көмегімен редуکتивті пентозофосфат жолы немесе жасушалардың өсуі үшін Калвин циклі арқылы азаяды. Үдерістерден артылып қалған энергия тотықсыздандырылған көмір жасушаларда көмірсулар (CH_2O) және липидтер түрінде сақталады [32].

Кей жағдайларда клеткалық ферредоксин белогі молекулалық сутектің ($2H^+ + 2Fd \rightarrow H_2 + 2Fd$) эволюциясы үшін протондарды төмендету мақсатында гидрогеназа немесе нитрогеназа ферменттерін қатар қолданады. Негізінен, *Anabaena* штамдарында сутек бөлуге жауапты фермент «қайтымды гидрогеназа» болып табылады, себебі ол реакцияны екі бағытта да катализдей алады ($H^+ \leftrightarrow H^2$). Осы тұрғыда *Anabaena* штаммымен көптеген жұмыстар келтірілген, мысалы, Venemann және Weage *Anabaena cylindrica* штаммы бірнеше сағат бой-

ына аргон атмосферасында сутегі мен оттегі газының пайда болғанын хабарлады [25]. Сонымен қатар, Kossalbayev және т.б. екі бірдей *Anabaena* штаммының «қайтымды» гидрогеназа ферменті арқылы сутек бөлуін зерттеді [33]. Сонымен қатар, гетероцисталы клеткаларда орналасқан нитрогеназа ферменті де сутек бөлуіне жауап береді. Сутегі эволюциясына қатысатын бұл фермент бір уақытта ауадағы бос азоттың (N_2) аммиакқа (NH_3) тотықсыздануына жауап береді [34]. Дегенмен, гидрогеназа мен нитрогеназа ферменттері оттегі мен азотқа өте сезімтал болып келеді. Фотосинтез нәтижесінде пайда болған оттегі (O_2) клетка қабырғасын тесіп өтіп, сутек ферменттерінің белсенділігін азайтады/тоқтатады [35,36].

Цианобактериялардың биофотолізі 35 жылдан астам уақыт бойына белсенді зерттелуде [25-37] және нәтижесінде бірнеше әдістер жасалынды, соның ішінде тікелей биофотоліз және жанама биофотоліз айтуға болады (Кесте 2) [38].



1-сурет – *Anabaena* түрлерінің сутек бөлу механизмі

Тікелей фотолиз процесіне негізделген H₂ өндірісі

Anabaena түрлерінде тікелей биофотолиз процесі Күн сәулесіне негізделген сутектің өндірісі үшін қолданылады. Жарық энергиясын ФЖ2, ФЖ1 пигменттері сіңіреді, бұл электрондардың ФЖ2 арқылы ферредоксінге PSI арқылы ауысқанда тотығудың энергия деңгейін жоғарылатады. Жарық энергиясының бір бөлігі сутегі газын сыртқы ортаға бөліп шығу үшін АҮФ молекулалары түрінде қорға жиналады [39].

Anabaena түрлерінің табиғатта кең таралған морфологиялық және физиологиялық ерекшеліктері оларды сутек энергиясының перспективті объектілері етеді [40]. Нитрогеназа және/немесе екі бағытты гидрогеназа ферменттері түрлердегі вегетативті және гетероцисталы клеткаларда да пайда болады [41-42]. Сондықтан, *Anabaena* штаммдары сутегі зерттеулеріндегі азотты бекітетін перспективті цианобактериялар болып табылады. Бұл түрлердің негізгі функциялары ауадағы азотты топырақ құрамына беру, ал сутегі эволюциясы бұл процесте тек жанама өнім болып саналады. Көптеген келтірілген зерттеу жұмыстарына сәйкес, молекулалық азот болмаған кезде көбірек сутегі түзілуі мүмкін (формула 2). Сутегі эволюциясының негізгі энергетикалық көзі гетероцистада немесе вегетативті клеткаларда пайда болған көмірсудан (CH₂O) алынады [43]. *Anabaena* түрлерінде сутек өндірісіне жоғары тұрғыда энергия қажет болғандықтан (сутекке 4 АҮФ), нитрогеназа ферменті негізіндегі H₂ энергиясының тиімділігі өте төмен (<1%) болып табылады [44].



Жанама фотолиз процесіне негізделген H₂ өндірісі

Цианобактериялардың барлық түрлерінде фотосинтез барысында пайда болған энергия эндогенді көмірсулар түрінде клетка ішінде сақталады [45]. Ал, қорға жинақталған қосылыстар жарық жоқ кезде крахмал немесе гликоген түрінде сутек энергиясына қолданылады. Жарықтың тікелей қатысуынсыз жүзеге асатын үдеріс жанама фотолизді құрайды. Алғашқылардың бірі болып Гаффон мен Рубин сутек бөлінісінің механизмдерін зерттеп, нитрогеназа және гидрогеназа ферменттерінің

энергетикалық түзілуі клетка ішіндегі сумен тығыз байланысты екенін ашты [46]. Сонымен, қатар, осы процестерге жасушаішілік көмірсулар да қатысатынын дәлелдеді. Қорда сақталған энергия ферментация негізінде көмірсулардың ашуы арқылы сыртқы ортаға шығарылып отырады. Ал артылып қалған энергия (тотықсыздандырушы күш) гидрогеназа ферментінің протондары ертінде сутек өндірісіне қатысады.



Жасыл микробалдырлармен салыстырғанда, бір клеткалы азот бекітетін цианобактериялар жанама биофотолиз арқылы сутегі өндіруге көбірек қызығушылық тудырды. *Anabaena variabilis* азот шектеулі жағдайларда жоғары гликогенді (50 % құрғақ масса) жинақтайды және қараңғы және азоттық атмосферада индукциядан кейін 0,11 ммоль/г құрғақ а/сағ қалыпты молекулалық сутекті дамытады. Бір моль сутегі үшін жасушалар электронды қабылдағыш ретінде 1,4 моль ацетатты, 0,65 моль этанолды, 0,4 моль форматын және 0,1 моль лактатты шығарады [47].

Бұл процестің кемшіліктері нитрогеназаның аденозинтүшфосфат (АҮФ) молекулаларына деген жоғары қажеттілігі. Сонымен қатар, бұл ауқымды процестерде үздіксіз жоғары жарық қарқындылығы қажет болып табылады [48-51].

1-кесте – Тура және жанама биофотолиз процестерімен алынған сутегі өндірісін салыстыру

№	Үдеріс	Артықшылықтары	Кемшіліктері
1	Тікелей биофотолиз	Күн энергиясын максималды тиімділікпен биоотынға айналдырады; Қарапайым технологияларды қолдану арқылы жүзеге асады; Метаболиздік әдістер арқылы жүзеге асады	Жарық жақсы өтетін фотобиореакторлар қажет; Сутегі/оттегі қосылыстарының ажырату қиындылығы бар; Гидрогеназа және нитрогеназа ферменттері оттегімен басылады
2	Жанама биофотолиз	Оттегі мен сутегі оқшауланып бөлінеді; Сутегі өндірісі арзан фотобиореакторларда жүзеге асады.	Әрбір кезеңде аздап энергия жоғалады

Биосутек өндірісінде қолданылатын негізгі ферменттер

Anabaena түрлерінде азот фиксациясына және сутек өндірісіне қатысатын 2 түрлі фермент бар – N_2 аза және H_2 аза. N_2 аза ферменті гетероцисталы, ал H_2 аза ферменті тек вегетативті клеткаларда кездеседі. Нитрогеназа бір уақытта ауадағы бос азотты бойына сіңіре отырып, стрессті жағдайда қорға жинақталған энергияны сыртқа сутек түрінде бөледі. Сәйкесінше, бұл ферменттің жұмысы өте көп энергияны қажет етеді. Ал, H_2 аза ферменті вегетативті клеткаларда орналасып, анаэробты жағдайда қарқындылық танытып, сутек молекулаларын катализдейді.

Биосутек өндірісінің нитрогеназа ферменті

Нитрогеназа – цианобактерия *Anabaena* түрлерінде азот фиксациясына жауап беретін, көп салалы, мультисубстратты күрделі фермент. Нитрогеназа көптеген субстраттарды (протондарды қосқанда) қалпына келтіру үшін магний аденозин үшфосфатын (MgATP) және электрондарды қолданады [23].

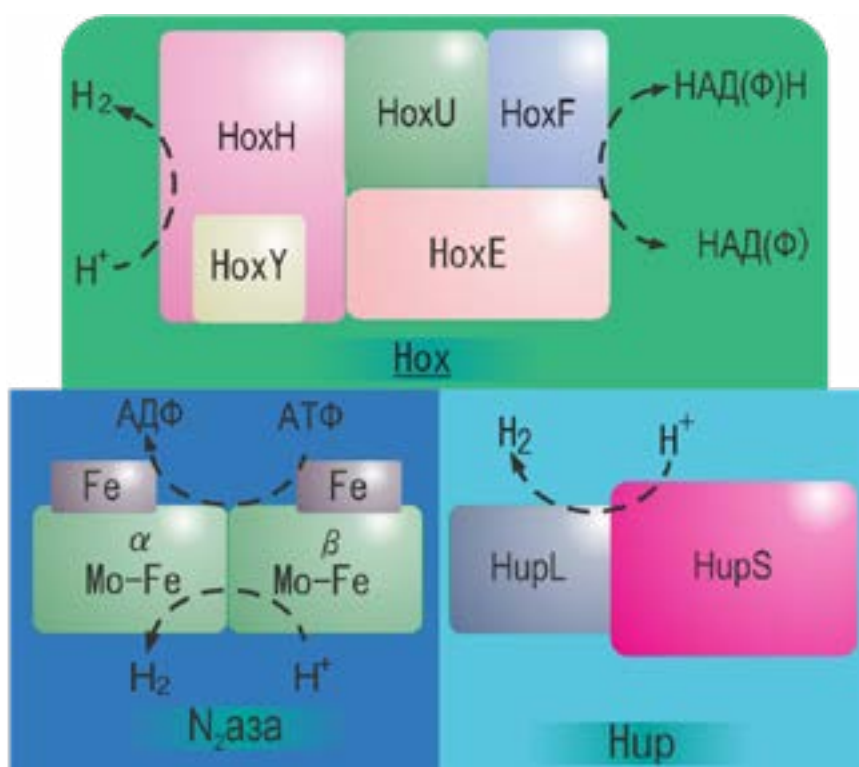
Нитрогеназа тұрақты азоттың бір молекуласына бір сутегі молекуласын шығарады,

ол үшін 8 электрон және 16 АҰФ молекуласын қажет етеді. Анаэробты жағдайдағы клетка энергияны барлық электрондарын босату үшін нитрогеназа арқылы сутекті бөліп шығарады, бұл оның сутекті цианобактериялармен шығарудағы маңызды рөлін анықтайды. Нитрогеназаның оттегінің әсеріне жоғары сезімталдығы кеңістікті бөлу (гетероцисталарда) және фотосинтез үдерістерін уақытша шығару сияқты бірқатар қорғаныс механизмдерімен бейтараптандырылған. Нитрогеназа құрылымы және оның сутек бөлудегі әртүрлі механизмдері туралы зерттеу жұмыстары соңғы жылдары қарқынды түрде зерттелді [52-54].

Anabaena түрлерінде ферменттің белсенді орталығындағы металлдың құрамына байланысты нитрогеназаның үш түрі бар:

1. Мо-нитрогеназа (Mo);
2. V-нитрогеназа (V);
3. Fe-нитрогеназа (Fe).

Осы түрлердің ішінде альтернативті нитрогеназа (Мо-нитрогеназа) ең көп зерттелген фермент болып табылады (3-сурет).



3-сурет – Сутегі алмасуына қатысатын цианобактериялық ферменттер [55].

Нитроге-на-за екі спецификалық ақуыз компонентінен тұрады: Мо-Fe протеині, субстратты қалпына келтіретін Р және Fe-МоСо кластерлері бар α , β кешендері және Мо-Fe ақуызына тән Fe-редуктаза ақуызы. Сонымен қатар, сутегі өндірісі ауада азот болмаған кезде нитрогеназа арқылы синтездейтін АДФ гидролизін қажет етеді, Нур-гидрогеназа құрамында сутегі тотығуына арналған никель-темір компоненті бар, Нох-гидрогеназа жүйесі никельден де тұрады.

Ал, Мо-нитрогеназа – бұл азот атомдарын ыдырататын, сәйкесінше, 220-240 кДа молекулалық массасы бар $\alpha_2\beta_2$ гетеротетрамерінен тұратын құрылым. Динитрогеназа редуктазы шамамен 60-70 кДа гомодимері болып табылады және сыртқы электронды донордан (ферредоксин немесе флаводоксин) электрондарды динитрогеназаға ауыстыру кезінде аралық тасымалдаушы рөлін атқарады. Мо-нитрогеназа гетероцисттерде де, вегетативті жасушаларда да синтезделеді [56]. Нитрогеназа синтезі клеткадағы АУФ деңгейінде метаболизммен реттеледі және тотықсыздандырғыштың эндогендік пулының мөлшеріне тәуелді ферменттің белсенділігімен басқарылады [22,57,58].

Мо-нитрогеназадан басқа, цианобактерияларда ванадий және темірден нитрогеназаның белсенді орталықтары анықталды [59].

Цианобактериялық V-нитрогеназа алғаш рет *A. variabilis* штамында анықталынып, толығымен сипатталды [60]. Цианобактерия клеткалары молибден жетіспеушілігі жағдайында және ортада ванадийдің қатысуымен ацетиленді этиленге дейін төмендетіп сутегін көп мөлшерде бөліп шығарды [61]. Сонымен қатар, ванадий нитрогеназасының құрылымдық гендері *A. variabilis*, *Nostoc punctiforme* штамдарында сипатталған [62]. V-нитрогеназаның V-Fe-ақуызының гетеродимері қосымша тағы 2 δ суббірліктен тұрады.

Fe-нитрогеназа деп аталатын оның белсенді орталығында Мо немесе V жоқ нитрогеназа түрі туралы ақпараттар өте аз. Ол негізінен азотобактер және күлгін бактериялардың кейбір түрлерінде кездеседі. Ал, цианобактериялардың ішінде тек *A. variabilis* клеткаларында белсенділік танытатыны анықталды. Fe-нитрогеназа арқылы клеткадағы сутегі бөлінуінің жылдамдығы молибден немесе ванадий нитрогеназаларына қарағанда шамалы төмен болып келуі мүмкін [62].

Биосутек өндірісінің гидрогеназа ферменті Anabaena түрлерінде сутегі бөлуге қатысатын ферменттердің екінші тобы – гидрогеназалар.

Бұл гетерогенді ферменттер тобы құрылымы, қасиеттері мен функциялары алуан түрлі болып келеді. Фермент қарапайым химиялық реакцияны, яғни, протондар мен электрондардан сутек түзілуін катализдейді.

Қазіргі уақытта белгілі болғандай, барлық гидрогеназалар белсенді орталықтың құрылымы бойынша үш класқа бөлінеді [63-65]:

1) NiFe-гидрогеназа (никель темірінің гидрогеназалары);

2) FeFe-гидрогеназа (темір гидрогеназалары);

3) Fe-гидрогеназа («Металл емес» гидрогеназалар).

Көптеген фотосинтетикалық микроорганизмдерде, оның ішінде цианобактериялардағы гидрогеназалар екі топқа жіктеледі: 1 – тотығу гидрогеназалары (Нур), нитрогеназдан алынған сутегінің тұтынылуын катализдейді, 2 – сіңіру қабілеті бар қайтымды гидрогеназалар (Нох) [65].

Екі бағытты Нох-гидрогеназа темір-никельді гидрогеназаларға жатады және НохЕ, НохF, НохU, НохY және НохН ақуыздары қамтитын кешеннен тұрады. НохYН кешенінде НохН құрамында сутектің тотығуын катализдейтін каталитикалық орталық бар (сурет 3). НохY құрамында Fe_4S_4 кластері бар, ол электрондардың каталитикалық орталыққа өтуін жеңілдетеді. Электрондарды НохН ағымындағы белсенді орталық – НохY кіші бөлімі және НохEFU темір-күкірт кластерлері арқылы шығарады [66]. Бұл H_2 аза НАД(Ф)-пен тікелей әрекеттеседі, оны сутегі болған кезде азайтады немесе пиридин нуклеотидтерінің төмендеуі арқылы сутекті сыртқа шығарады. Нох-гидрогеназа цианобактериялардың көпшілігінде, морфологиясы мен азотты фиксациялау қабілетіне қарамастан анықталды. Әдебиеттерде бір клеткалы цианобактериялар – *Synechocystis* және жіпшелі *Anabaena* клеткаларында анықталғаны туралы көптеген деректер кездеседі. *Anabaena variabilis*, *Anabaena* PCC 7120, *Synechococcus* PCC6301 және *Synechocystis* PCC 6803 штамдарындағы H_2 аза ферменттері толығымен сипатталған [21,66-69]. Бірақ бұл ферменттің оттегіге сезімтал екенін және оның жұмыс істеуі үшін микроаэробты немесе анаэробты жағдайлардың қажет екенін атап өту керек [70].

Сонымен қатар, НурSL H_2 аза екі бөлімнен тұрады – үлкен НурL субуниті және кіші НурS суббөліктері, сәйкесінше, шамамен 60 кДа және 30 кДа (сурет 3). Үлкен қосалқы бөлікте белсенді орталық бар және биметаллды NiFe орталығымен

қоршалған, ал кіші бөлімде электронды беруді қамтамасыз ететін темір-күкірт кластерлері бар. Азот түзуші цианобактериялардың клеткаларында кездесетін HupSL гендері азотсыз ортадағы клетка жағдайында да көрінеді және нитрогеназа белсенділігімен тығыз байланысты болып келеді [71,72]. Сондықтан, HupSL гидрогеназасы экзогендік және нитрогеназамен бөлінетін сутекті сіңіру үшін гетероцисттердің ішінде синтезделеді. Оның қатысуымен гетероцистальық цианобактериялар азотты фиксациялау жағдайында ауаға сутекті шығармайды. *Nostoc punctiforme* клеткаларында нитрогеназамен тығыз байланыста болатын H_2 а-за ферментіне жауапты ақуыздар бар екендігі көрсетілген. Гетероцисттердегі мұндай реакция нитрогеназаға улы болып келетін оттегінің қысымының деңгейін төмендетуге көмектеседі, сонымен қатар, нитрогеназаны электрондармен қамтамасыз етеді [73-76]. Мысалы, *Anabaena variabilis*-те HupSL азоттың сарқылуы жағдайында NtcA цианобактериялық азотты реттегішпен әсер ету арқылы транскрипцияланады. Кейбір жағдайларда, HupSL комплексінің жоғары индукциясы сутегі болған кезде айқын байқалады [77].

Сутек өнімділігіне әсер ететін химиялық факторлар

Фотосинтез ингибиторлары. Сутегі өндірісіндегі цианобактериялық клеткалардың өнімділігін арттырудың тағы бір тиімді тәсілі – электрондарды тасымалдау ингибиторларын қолдану. Қазіргі уақытта 15-тен астам әр түрлі ингибиторлар қолданылады, олардың ішінде кеңінен қолданылатын диурон DCMU, СССР, метил виологен (МВ), калий цианиді (KCN), хлорамфеникол, 2,5-дибромо-3-метил-6-изопропил-р-бензокинон (DBMIB), пентахлорфенол (PCP) және малонат ФЖ ингибиторлары болып табылады (кесте 3).

Сонымен қатар, DCMU (диурон) – кеңінен қолданылатын электрон тасымалдау жүйесінің ингибиторларының бірі болып табылады, оның молекулалық құрылымы біртіндеп қысқарған пластокинонның құрылымына ұқсас және бұл молекулалардың ФЖ2 реакция аймағындағы хинон байланыстыру орталығында белсенді байланыстырылуымен түсіндіріледі. Диуронды қолдану фотожүйе 1 белсенділігін тежеуге және молекулалық сутек өндіруге қолайлы анаэробты жағдай жасауға бағытталған. Осылайша, DCMU ингибиторы хинонның аналогы ретінде QB ФЖ2-мен байланысады да, QA-дан электрондардың ауысуын тежейді

(4-сурет). DCMU әсерінен цианобактериялық клеткалардағы сутегі өндірісінің артуы бірқатар ғалымдардың жұмыстарында көрсетілген [37, 77-79]. Соурнас және т.б. авторлар қараңғы, анаэробты жағдайда 75 ммоль DCMU қатысуымен *Synechocystis* sp. PCC 6803 клеткалары сутекті жоғарырақ өндіретінін хабарлады [80].

ФЖ ингибиторларының әсерінің негізгі нүктелері және цианобактериялардағы сутегі алмасуының белгілі бір жүйесінің жұмысын блоктау тәсілдері 7-суретте келтірілген. Зерттеу жұмыстары көрсеткендей, жоғарыдағы ингибиторларды қолдану цианобактерия клеткалары арқылы жүзеге асатын H_2 өндірісін ұлғайтады.

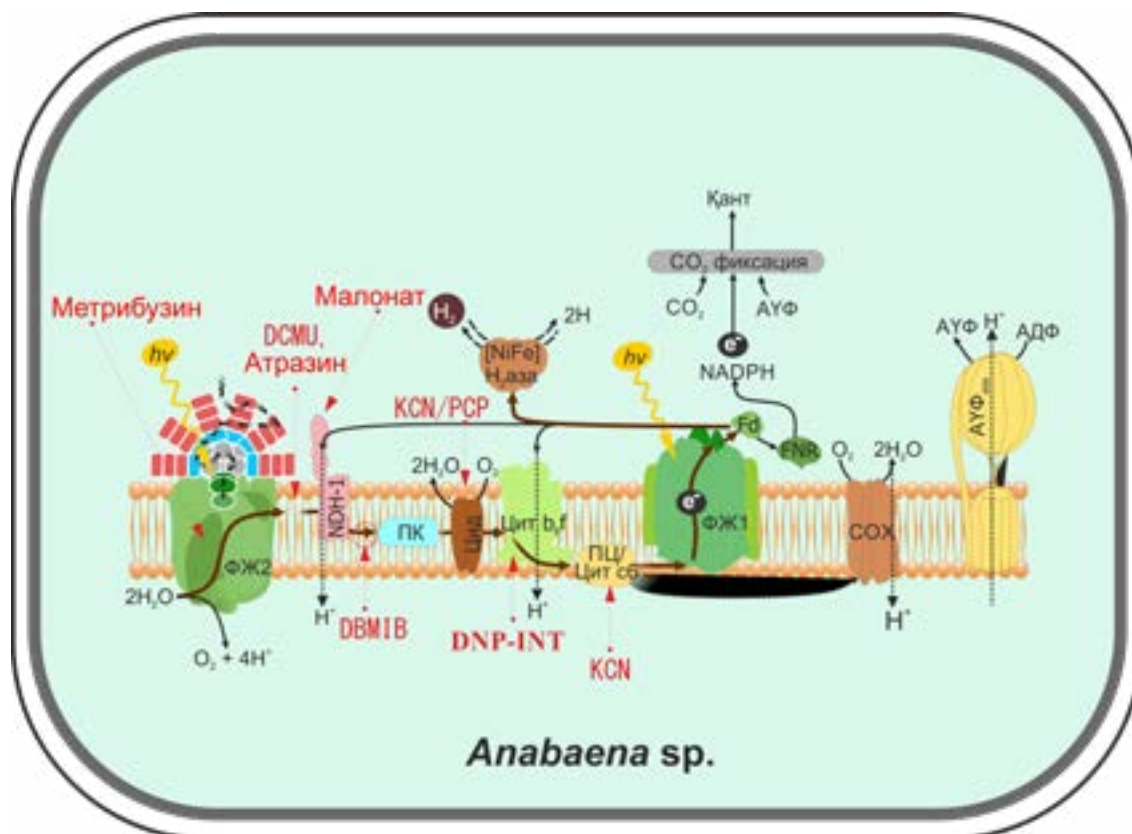
Цианобактерияларда фотожүйе 2-нің тағы бір танымал ингибиторы – карбонил цианид м-хлорофенил гидразоны (СССР) болып табылады. Бұл ингибитор DCMU сияқты, карбонилді цианид м-хлорофенил гидразин ФЖ2-нің фотохимиялық белсенділігін тежейді және O_2 өндірісінің төмендеуіне әкеледі. *Nostoc* sp. және *Lyngbya* sp. штамдарына СССР ингибиторымен әсер еткенде ФЖ2 фотохимиялық белсенділігі тежелетіндігі туралы хабарланды [81,82]. Сонымен қатар, *Oscillatoria chalybea* мен *Synechocystis* sp. PCC 6803 штамдарына СССР тежегішімен әсер еткенде H_2 өндірісінің жоғарылағаны туралы зерттеу нәтижелері бар. Сондай-ақ, СССР ингибиторының АТФ синтезін тежеуі туралы деректер көптеген ғалымдардың жұмыстарында келтірілген және *Anabaena variabilis* және *Anacystis nidulans* дақылдарының қараңғы ортадағы тыныс алу жылдамдығының жоғарылауына алып келді [81,82,84].

KCN және PCP сияқты ингибиторлар хинол оксидазаны блоктайды, бұл PQ пулының азаюын тудыруы. Сонымен қатар, KCN ингибиторы сутек бөлінуді блоктайды немесе DBMIB-ге сияқты Берг және Крогман [84] ұсынған жұмыста Cyt b_6/f комплексінен фотожүйе бірге дейін толығымен электрон транспортын блоктайды. Сонымен қатар, DBMIB нитраттың ассимиляциялық гендерінің реттелуіне ықпал ететіні көрсетілген [85] және нитраттың ассимиляциясының тежелуі өз кезегінде H_2 өндірісінің артуына алып келді [86].

Цианобактерия клеткалары арқылы сутек өндірісінің өнімділігін жоғарылатудың тиімді метаболиттік тәсілінің бірі – ортаға әр түрлі экзогенді электрон донорларын қосу болып табылады. Көміртектің көзі нитрогеназа ферментінің белсенділігіне әсер ететіні белгілі. Қарапайым органикалық қосылыстар болған кезде сутегі

өндірісі артады, өйткені, кофактор қосылыстары арқылы электронды тарту нитрогеназаның қызметін белсендіреді. Сонымен, әртүрлі

қанттардың қосылысы да сутегі өндірісін ынталандырды, ал маннозаны қосқанда салыстырмалы түрде ең жоғары көрсеткіш байқалды [87].



4 сурет – Цианобактерия фотосинтез ингибиторларының әсер ету механизмдері

Субстраттар. *Anabaena* цианобактериялары гетеротрофты метаболизм арқылы эндогенді де, экзогенді де субстрат көмегімен H_2 түзе алады [88]. Эндогендікке келетін болсақ, ең маңыздысы – крахмал, ол процестің жарық көзі бар кезеңінде түзіледі және одан әрі H_2 өндірісіне электрон беру үшін жұмсалады [89]. Барлық қол жетімді крахмал тұтынылғаннан кейін, жасушаны жарық пен қоректік заттардың көмегімен регенерациялау керек, ол ФЖ2-ні қайта жандандырады және биомассаның өсуінің жаңа циклін бастайды [90,91]. Сутегінің жиналуын N, S қоректік ортадан алып тастау және жарықтың жоғары қарқындылығы немесе CO_2 -нің жоғары концентрациясымен реттеуге болады. Гетеротрофты және миксотрофты тұрғыда өсетіндер үшін липидтер сияқты басқа эндогенді субстраттарды, тұздың жоғары концентрациялы ортасы және темірдің жоғары концентрациясы арқылы көбейтуге болады [91].

Таза органикалық субстраттарды қолданудың екі үлкен кемшілігі бар: гетеротрофты микроорганизмдермен тез ластануы және көзді алудың қымбат бағасы [92-94]. Соңғы зерттеулер органикалық қышқылға бай қараңғы ортада ферменттеу ағынының фотогетеротрофты деградациясын орындау үшін цианобактерияларды қолдану мүмкіндігін зерттейді, өйткені клеткалар өсімдікте және бактерияларда түзілетін органикалық қышқылдардан қоректенеді, O_2 ортасының төмен деңгейін сақтай алады [95]. Органикалық қалдықтарды пайдалану қол жетімділікті, бағаны, көмірсулар мен биологиялық ыдырауды ескере отырып айтылады, бұл ауыл шаруашылығы қалдықтарына қосымша құн беру және CO_2 шығарындыларын азайту сияқты артықшылықтарға ие [96]. Ақыр соңында, көміртегі жоғары өнеркәсіптік ағынды суларды қолдану туралы айтылады, олар-сүт өндіру, зәйтүн диірмені, наубайшы ашытқысы

мен сыра қайнату суларынан алынады, H_2 өндірісін арттыратын арзан ресурс көздері болып табылады.

Кобальт (Co), мыс (Cu), молибден (Mo), мырыш (Zn) және никель (Ni) сияқты микроэлементтер сутегі өндірісіне әсер етеді [97]. Бұл металдардың көпшілігі сутегі өндірісінің айқын жоғарылауын көрсетті және олардың нитрогеназа ферментіне қатысуына байланысты деп есептеледі. Мысалы, *Anabaena variabilis* SPU003 Co, Cu, Mn, Zn, Ni, Fe иондарына өте сезімтал және осы иондар үшін 10 мМ-ден төмен концентрацияда сутегі өндірісін байқалмады [98]. *Anabaena cylindrica* дақылы литріне 5,0 мг темір ионымен жақсы өседі, бір литрге 0,5 мг темір иондары бар дақылға қарағанда екі есе жылдам сутегі шығарады [98].

Көміртек көздері нитрогеназа белсенділігіне әсер ету арқылы сутегі өндірісіне де әсер ететіні белгілі [99]. Көміртектің әр түрлі көздерінің болуы электрон факторларының нитрогеназаға қосылу қабілетінің өзгеруіне әкеледі, осылайша сутегі өндірісіне әсер етеді [100]. Көміртегі көзі ретінде көбіне зерттеу жұмыстарында $NaHCO_3$ тұзы қолданылады. Kossalbayev және т.б. жұмыстарында 100 мкМ сода концентрациясы сутек бөлуіне оңтайлы болғаны жайында хабарлады [33]. Ал, Zayadan және т.б. жұмыстарында 50-100 мкМ сода концентрациясында азотфиксациялау штаммдар жоғары қарқынмен сутек бөлді [101].

Бірнеше бейорганикалық азотты қосылыстар сутектің өндірілу жылдамдығына көп жағынан әсер етеді. Нитрит, нитрат және аммиак *Anabaena variabilis* SPU003 және *Anabaena cylindrical* түрінде нитрогеназаны тежейтіні туралы хабарланды [77,99]. Әдетте экзогенді түрде қосылған барлық азот көздері нитрогеназа синтезін тежейді [100,103]. *Anabaena cylindrical* аммонийдің қосылуы (0,2 мМ NH_4^+) белгілі бір уақытта сутегі өндірісін басады, бірақ мерзімді түрде аз мөлшерде қосу (0,1 мМ аммоний хлориді) сутегі эволюциясын тежемейді. Алайда, азот көзінің әсері әрқашан жоғары әсер. Сутегі мен оттегінің өндірілу коэффициенті (4:1) толық азотсыз жағдайда аммоний иондарын қосқанда төмендейді [37].

Сутек өндірісіне әсер ететін физикалық факторлар

Жарық – цианобактериялардың өсуінде маңызды рөл атқаратын фактор болып табылады. Цианобактериялардың көпшілігі қызыл жарықты 680 нм-ге жақын сіндіретініне қарамастан, цианобактериялардың әр түріне

сутегінің өндірілуіне қажеттілік әр түрлі болады. Сутегі бөліну барысында жарық интенсивтілігі клеткалардағы сутек ферменттерінің қызметіне тікелей әсер етеді [104,105].

Vargas және т.б. *Anabaena* sp. UTEX 1448 штаммының сутек бөлуге оңтайлы жарық көрсеткіші 2220 люкс екендігін тіркесе [104], Nyberg және т.б. қолдан жасалған фотобиореакторда $\Delta hupW$ *Nostoc* PCC 7120 өсіріп, сутегі бөлінуіне ең оптимальді мөлшерді зерттеп, 315 мкмоль $m^2/сек$ жарық берілуінде жоғары H_2 бөлінетінін айтты. *Anabaena* sp. strain PCC 7120 *hupL* мутант штаммы 0,6% $2.9 W m^{-2}$ жарық интенсивтілігінде қарқынды өсіп, сутек жоғары бөлді [106]. Ал, Jeffries және т.б. зерттеуі бойынша *Anabaena cylindrical* штаммының сутек бөлуіне $32 W/m^2$ жарық қарқындылығы қолайлы болды [107].

Сонымен қатар, *Anabaena variabilis* ATCC 29413 жабайы штаммы мен оның PK84 мутанты сутек бөлу үшін зерттелініп, қараңғы ортаға қарағанда жарықта белсенді H_2 бөлетіні анықталды [108]. Осыған ұқсас жұмыстар Shah және т.б. жүргізді. Олар *Nostoc muscorum* штаммының нитрогеназа белсенділігі тікелей жарықтың интенсивтілігіне тәуелді екендігін хабарлады [109]. *Anabaena* штамдарының бірнеше түрлерінің жарыққа тәуелділігі зерттелінді, *Anabaena cylindrical* штамы сутегінің аргон атмосферасында 30 күн жарық шектеулі (жарық қарқындылығы $6,0 W/m^2$) және 18 күн жоғары жарықта (жарық қарқындылығы $32 W/m^2$) шығарады [110]. Сонымен қатар, жарықтың төмен интенсивтілігі кейбір цианобактерия түрлеріне оң әсер ететіндігі туралы ақпараттар бар. Мысалы, *Anabaena cylindrical* штаммының сутек бөлуіне азайтылған жарық мөлшері азот көзінің аз пайда болуына алып келеді. Соның нәтижесінде сутек ферменттерінің белсенділігі арттатынын зерттеді. Цианобактериялардың көпшілігінің нитрогеназалық сутегі өндірісіне жарықтың әсері жақсы зерттелген [110]. Hallenbeck және т.б. өз зерттеулерінде цианобактерия штамдарының сутек бөлуіне оңтайлы жарық $20-60 W/m^2$ арасы екендігін айтты [110].

Anabaena түрлері көптеген экожүйелер мен жағдайларда кездеседі; олар әдетте 4-7 рН диапазонында өседі [165,170], және кейбір түрлері теңіздің терең аймақтарында тіршілік етеді [170]. H_2 -ге қатысты рН маңызды параметр болып табылады, тіпті ортадағы кішігірім өзгерістер биомассаның өсуіне де, био- H_2 эволюциясымен байланысты метаболизм жолдарына да әсер етеді, ол H_2 өндіретін ферменттердің белсенділігін

бақылайды және эндогенді субстраттың ыдырауына кедергі жасайды [30,170,179].

Фотосинтез кезінде CO_2 мен судың реакциясынан кейін пайда болатын көмір қышқылының әсерінен бастапқы рН төмендейді, процесс жүріп жатқанда, клеткалар еріген CO_2 мен қосалқы өнімдер түзілгенде ортада рН жоғарылайды [111,112]. рН төмен мәндерінде H_2 гидрогеназа пируват Фд-оксидоредуктаза жолымен түзіледі, алайда [FeFe]-гидрогеназаның тежелуіне байланысты ацетат пен АТФ H_2 үстінде түзіледі. Vargas және т.б. 2018 *Anabaena* sp. UTEX 1448 штаммының сутек бөлуге оңтайлы рН көрсеткіші 8,2 екендігін хабарлады [104]. Ал, Jeffries және т.б. *Anabaena cylindrical* штаммының сутек сутек бөлуіне жарық және рН көрсеткіштерінің әсерін зерттеу жұмыстарын жүргізіп, ең оптимальді рН көрсеткіші 7.4-9.4 аралығында болғанын жазды [107].

Гетероциста түзуші цианобактерия түрлері қоршаған ортаның барлық эко-жүйелерінде табылған. Оған себеп олардың орта жағдайына бейімделгіштігі болып табылады. Мысалы, *Anabaena* sp., *Anabaena variabilis*, *Oscillatoria* Kutz, түрлері шөлді аймақтардағы өсімдіктердің сабақтарынан табылды [113] және осы табылған штаммдардағы сутек бөлу және клеткаларды өсіру температуралары бір-біріне жақын болды.

Цианобактерия *Anabaena* клеткаларының сутек бөлу үшін қолайлы температурасы 22-35°C болып табылады. Дегенмен, ол түрлердің тіршілік ету ортасындағы қоршаған орта жағдайына байланысты әр түрлі болып келеді. Мысалы *Nostoc (Anabaena)* штаммы 22°C температурада 32°C [114] температураға қарағанда жоғары H_2 бөле алады, осы жағдайда *Nostoc muscorum* SPU004 штаммының сутекті жоғары бөлу температурасы 40°C екені анықталды. Айта кету керек, *Anabaena variabilis* SPU 003 штаммының өсуіне және H_2 бөлуіне қолайлы температура 30°C құрады [115]. Vargas және т.б. *Anabaena* sp. UTEX 1448 штаммының сутек бөлуге оңтайлы өсу температурасы 24°C екендігін хабарласа [104], ал Nyberg және т.б. зерттеулерінде *Nostoc (Anabaena)* PCC 7120 штаммы 30°C температурада жоғары мөлшерде H_2 бөлді (4.85 мл $\text{H}_2/\text{сағ}$) [106].

Биосутек өндірісінің генетикалық бағыттары

Генетикалық манипуляциялау әдістері жақында *Anabaena* түрлерінде H_2 өндірісін жақсарту үшін қолданылды, ол (1) хлорофилл антенналарының азаюын, (2) фотосинтез мен тыныс алудың жоғары жылдамдығын, (3) аз-

робты фазада көмірсулардың жоғарылауын, (4) ФЖ2 инактивациясынан қорғайтын ксантофилл циклі пигменттерінің жоғары синтезімен тікелей байланысты болды. Пигментацияның айырмашылығы, жасушадағы антеннаның құрамы, әсерінен болатын жоғалтулар, шашырау, фотосинтетикалық белсенді сәулелену аймағынан тыс сәулелену, фотохимиялық емес реакциялар және сыртқы ортаның басқа факторлары сияқты жарық эффектілері күн мен H_2 конверсиясының тиімділігіне әсер етуі мүмкін. Хлорофилл аз мутантты микробалдырлар биореактордың терең қабатына көбірек жарық түсіру арқылы кең ауқымды коммерциялық қосымшаларды жақсарту үшін басқарылуы мүмкін. Гендік инженерия – бұл цианобактериялардың H_2 өндірісін жаңа деңгейге көтерудің қуатты құралы, дегенмен кең көлемді талдау кезінде дәйекті нәтиже алу үшін қосымша теориялық білім алу қажет болып табылады.

Anabaena sp. PCC 7120 геномының барлық тізбегі қазіргі таңда қол жетімді. Гетероцистаның геномдық экспрессиялық зерттеулері гетероцистаның дамуы кезінде жоғары және төмен реттелетін көптеген гендерімен тығыз байланысты болып келеді. Гетероцисталарды дифференциалауға және үлгілеуге бірнеше гендер қатысады және олардың кейбіреулерінің мутациясы гетероцисттердің жиілігін жоғарылататынын көрсетті [114]. Гетероцисттердің көп болуы H_2 түзілуінің жылдамдығы мен N_2 фиксациясын жоғарылатуы мүмкін, сондықтан гетероцисттердің H_2 өндірісіне әсерін зерттеу маңыздылық танытады.

Anabaena штаммдарының түрлерінің көпшілігінде Нур гендері, ал кейбірінде Нох гендері бар. Атап айтқанда, Нур белсенділігінің болуы осы организмдерге негізделген N_2 аза негізіндегі H_2 ауқымды өндірісін дамытуға үлкен кедергі болып саналады. Химиялық мутагенез немесе гендік инженерия арқылы алынған Нур жетіспеушілігі бар мутанттардың H_2 сіңіру белсенділігі болмады, демек фотобиологиялық H_2 өндіру белсенділігін көрсетті. N_2 аза сутектің бір бағытты эволюциясын катализдейтіндіктен, *Nostoc* sp. штаммының Нур мутантты жасушалары эволюцияланған жағдайында бірнеше күн ішінде H_2 концентрациясын виал ішінде 29%-ға дейін жинай алды [111].

Фотосинтетикалық организмдерде H_2 өндірісін жақсартудың балама әдісі – бұл H_2 тиімді өндіру қабілеті жоғарылаған мутанттарға жүйелі генетикалық сұрыптау жүргізу. Гендік инженерия цианобактерияларда H_2 өндірісін

ұлғайтудың маңыздылығын көрсетті. Сонымен қатар, *Anabaena* клеткаларын гендік манипуляциялау арқылы оттегіне төзімді немесе, кем дегенде, қайтымды түрде инактивтелген клеткалар қылуға болады. H_2 өндірісінің ең болашағы мол жүйесі қандай организмдер екенін анықтау қиын. Сондықтан, цианобактериялардағы O_2 сезімталдығын төмендету стратегиясын жасау маңызды. Мысалы, O_2 инактивациясына төзімді цианобактерия [FeFe]-гидрогеназаны құрастыруға немесе фотосинтетикалық цианобактериалды жасушаларға төзімділігі жоғарылаған [NiFe]-гидрогеназаны кодтайтын генді енгізуге болады.

Цианобактериялар мен басқа жасушалық дақылдарды қолдануға негізделген H_2 фотопродукция процестері салыстырмалы түрде төмен түрлендіру тиімділігін көрсетті. Сонымен қатар, H_2 жоғалуын азайту үшін антенна өлшемі кішірейтілген мутанттармен H_2 түзілуін жақсартуға болады және флуоресценция және H^+ мен электронды ұяларды H_2 шығаратын сәйкес ферменттерге тиімді қайта бағыттау.

Биосутек өндірісінде қолданылатын Anabaena белсенді штамдары

Көптеген цианобактерия штамдары сутекті қараңғы және жарық ортада бөлуге бейімделген, ол өз кезегінде түрлерде кездесетін гендердің белсенділігімен тікелей байланысты болып келеді. Сонымен қатар, *Anabaena* дақылы анаэробия және қараңғы жағдайда, $30^{\circ}C$ температурада қарқынды түрде сутек бөлді [1000]. *Anabaena cylindrica* IAMM-1 штамымен сутегі бөлінісі қараңғы ортадағы анаэробты жағдайда байқалды. Температура мен рН көрсеткіштерін оңтайландыру ферментативті реакцияларды реттеу арқылы метаболизмді бақылай отырып, цианобактериялардың сутегіні катализдеу қабілетін арттыруда маңызды рөл атқарады. Жарияланған мәліметтерге сәйкес, цианобактериялардың түрлерінде сутек бөлуге температуралық айырмашылықтары бар [114].

Сондай-ақ, сутек катализдеуші ферменттердің белсенділігіне қоректік орта құрамындағы көміртек көзі мен элементтердің де тигізетін әсері бар. Сонымен қатар, қарапайым органикалық қосылыстардың әсерінен сутегі өндірісі арта түсетіні белгілі, өйткені, кофактор қосылыстары арқылы электрондардың айналымын жылдамдату жұмыстары нитрогеназаның белсенділігін арттырады. Түрлі қанттардың қоректік ортаға қосылуы сутегі өндірісін ынталандыра алады, мысалы, маннозаны қолдану сутегі мөлшерін

сағатына бір мг құрғақ биомасса мөлшерінде 5,58 нмоль сутекке дейін арттырды.

Фототрофты микроорганизмдердің клеткалары арқылы әртүрлі микроэлементтердің әсеріне байланысты биосутекті өндіруде көптеген әдеби қайшылықтар бар. Дегенмен, Fe, Cu, Co, Mo, Zn және Ni сияқты әртүрлі микроэлементтердің қоректік ортаға қосылуына сутегі өндірісін едәуір арттыратыны белгілі болды. Алайда, Ni^{2+} аз концентрациясының H_2 өндірісіне *Anabaena* spp. СА және *Anabaena* spp. 1F штамдарының клеткаларына теріс әсер ететіндігі Zhang және т.б. зерттеу жұмыстарында байқалды [115].

Сонымен, цианобактериялардың клеткаларымен сутектің катализденуіне әсер ететін көптеген факторлар бар, оларды реттеу және өзгерту арқылы үлкен оң нәтижелерге қол жеткізуге болады. Осы тұрғыда, сутек бөліну көрсеткішін арттыруда цианобактерия штамдарының биомассасы маңызды рөлге ие болуы мүмкін. Себебі, клеткалардың қарқынды өсу жылдамдығы көп мөлшерде сутек алуға мүмкіндік береді. Соңғы 50 жыл бойына көптеген цианобактерия штамдарымен жүргізілген зерттеу жұмыстары осыған дәлел болады. Сутегі өндірісінің тиімділігі микроорганизмдердің метаболиттік потенциалына байланысты және бұл өз кезегінде цианобактериялардың активті сутек бөлетін штамдарын табу жұмыстарының маңызды екендігін көрсетеді. Бүгінгі таңда әртүрлі дақылдау жағдайында сутекті өндіретін 14-тен астам цианобактериялардың классы белгілі. 2-кестеде сутекті шығару қабілетімен ерекшеленген цианобактериялардың белсенді штамдары келтірілген.

Негізінен, азотты бекітпейтін цианобактериялардың фотожүйелерінде H_2 өндірісі нитрогеназа жүйесі барлармен салыстырғанда төменірек болып келеді. *Anabaena* сияқты гетероцисталы цианобактерияларда вегетативті жасушалардан пайда болған O_2 эволюциясы нитрогеназа жүйесін бұзбайды және жарық кезінде H_2 түзе алатын организмдер болып табылады. Жарықта *Anabaena* көмірқышқыл газын полисахаридке сақтайды және O_2 түзеді. Аксоникалық қараңғы жағдайларда нитрогеназа түзіледі, азот фиксациясы мен H_2 эволюциясы үшін электрондарды қамтамасыз ету үшін полисахаридті сақтау катаболизденеді. Көптеген цианобактериялардың H_2 түзетіні туралы хабарланғанымен, солардың ішінде ең кең зерттелгені *Anabaena* түрлері болып табылады.

2-кесте – Сутектік белсенді бөлетін цианобактерия штамдары

Штам атауы	Штам сипаттамасы	H ₂ мөлшері	Әдебиеттер
<i>Anabaena azollae</i>	Жабайы	38,5 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[47]
<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	Жабайы	45,16 ммоль H ₂ /мг хл а/сағ	[47]
<i>Anabaena variabilis</i> PK17R	Жабайы	6.32 нкмоль H ₂ /мг прот/сағ	[47]
<i>Anabaena variabilis</i> PK84	Жабайы	167,6 ммоль H ₂ /мг хл а/сағ	[47]
<i>Anabaenopsis circularis</i> IAM M-13	Жабайы	0,31 нмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[13]
<i>Anabaena variabilis</i> PK84	Жабайы	20 μmol/mgChl a/h	24
<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	Жабайы	34.5 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[71]
<i>Anabaena azotica</i> FACHB-118	Жабайы	24 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[71]
<i>Anabaena variabilis</i>	Жабайы	9 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[71]
<i>Anabaena variabilis</i>	Жабайы	40 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[71]
<i>Anabaena</i> sp. PCC 7120	<i>hupL/hoxL</i> -мутанты	53 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[13]
<i>Anabaena variabilis</i>	Иммобилизацияланған жасушалар	0.6 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[109]
<i>Anabaena variabilis</i> PK84	Гидрогеназа мутанты	260 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[24]
<i>Anabaena variabilis</i> PK84	Гидрогеназа жоқ	19 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[94]
<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	Жабайы	0.9 л H ₂ /кг биомасса/сағ	[15]
<i>Anabaena siamensis</i> TISTR 8012	<i>hupS</i>	30 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[45]
<i>Anabaena</i> PCC 7120	Δ <i>hupL</i>	60 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[10]
<i>Anabaena</i> sp. strain PCC 7120	Δ <i>hupL</i>	35 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[10]
<i>Anabaena</i> PCC 7120	Жабайы	50 нмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[72]
<i>Anabaena</i> AMC 414	Жабайы	60 нмоль H ₂ /мг хл а/сағ	
<i>Anabaena variabilis</i> PK84	Мутант	20 мл H ₂ /л/сағ	[94]
<i>Anabaena</i> sp. strain PCC 7120	Δ Hup	29 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[13]
<i>Anabaena variabilis</i> SPU 003	Жабайы	3.15 нмоль H ₂ /мг биомасса/сағ	[109]
<i>Nostoc punctiforme</i> strain NHM5	Δ hupL	14 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[65]
<i>Anabaena</i> sp. PCC 7120	Δ hupW	3.3 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[65]
<i>A. variabilis</i> ATCC 29413 AVM13	Δ hup	135 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[71]
<i>Anabaena</i> sp. PCC 7120	Δ Hup	63 мкмоль H ₂ /мг хл а/сағ	[77]
<i>Anabaena</i> PCC 7120	Δ hupW	6.2 мл H ₂ /л/сағ	[106]

<i>Anabaena</i> sp. (UTEX 1448)	Жабайы	(<i>Synechocystis</i> , <i>Synechococcus</i> және т.б.) гидрогеназа ферментінің белсенділігін бір аптадай тұрақты ұстай алады. Себебі, бұл қасиеттер екі сутектік ферменттің энергияны тұтыну ерекшеліктеріне тікелей байланысты жүзеге асады. Қазіргі таңда сутек өндіру мақсатында көптеген штамдардың генетикалық және	67.07 мкмоль H ₂ /л/сағ [104]
---------------------------------	--------	--	--

Нитрогеназа ферментіне негізделген гетероцисталы *Anabaena* штамдары бастапқы 2-3 тәулікте активті түрде молекулалық H₂-ні бөліп, тез арада клеткадағы қорға жиналған энергияны пайдаланады. Ал гетероцистасыз түрлер

метаболизмдік қасиеттері зерттелінді. Олардың ішінде белсенділігі жоғары кейбір түрлерін атап өтсек. Азот фиксациясына қатысатын цианобактериялардың *Anabaena* түрлері сутегі белсенділігіне қатысты жағы салыстырмалы тұрғыда жақсы зерттелген. Сонымен, *Anabaena cylindrica*, шектеулі жарық жағдайында, 30 тәулік ішінде, аргон атмосферасында сутегі мен оттегін қатар шығара алатыны тіркелді. *Anabaena* sp. көп мөлшерде сутек шығаруға қабілетті, ал *Anabaena cylindrica* азот жетіспеушілігі жағдайында сутектің ең жоғары мөлшерін өндірді (30 мл/л дақыл/сағ) және т.б. [71].

Осы уақытқа дейін жүргізілген зерттеулер *Anabaena* AVM13 (DhupSL) [71], *Nostoc punctiforme* NHM5 (DhupL) [65], *Anabaena* PCC 7120 (DhupL/DhoxH, DhupW) [65] штамдарының барлығы жабайы түрлерімен салыстырғанда айтарлықтай жоғары жылдамдықпен сутегі өндіру қабілетіне ие екендігін көрсетті (2-кесте).

Молекулалық оттегі гидрогеназа мен нитрогеназа ферменттерінің белсенділігін тежейтіні белгілі. Сондықтан, ФЖ2 комплексі арқылы жүзеге асатын H_2O тотығуының жанама өнімі ретінде түзілген оттегінің ортаға шығарылуына және жарыққа тәуелді сутегі өндірісі үшін жауап беретін гендерді зерттеудің маңызы зор. Осы тұрғыда, генетикалық зерттеулерден басқа сутегі өндірісіндегі цианобактериялардың өнімділігін жоғарылатудың метаболизмдік тәсілдерінің негізгі үдерістері ФЖ2 ингибирлеуге бағытталған, және ол оттегі жоқ орта құру және сол арқылы нитрогеназа белсенділігін арттыруға негізделген әдістер жүйесінен тұрады.

Осы тұрғыда, GX флокондарының ішінде цианобактерия клеткаларының сутек ферменттерінің белсенділігін тудыру мақсатында инертті газдарды енгізуден соң *Anabaena variabilis* цианобактерия штамы сутектің жоғары мөлшерін өндірді [24]. Аргонды қолдану нитрогеназа белсенділігінің жоғарылауына және цианобактериялардағы гетероцисталардың санының артуына алып келді. Себебі, ауадағы және қоректік ортадағы азоттың жетіспеушілігі клеткалардың стресстік жағдайын туғыза отырып, гетероцисталардың санын арттырады. Ал гетероцисталар ауадағы азотты сіңіру мақсатында нитрогеназа ферментін активтендіреді, ал нитрогеназа ферменті азотты сіңіру үдерісімен қатар, сутекті бөлу қызметін де қатар атқарады. *A. variabilis* PK 84 дақылы биомассаны жинау үшін өсіргенде 73% аргон, 25% N және 2% CO_2 ,

ал сутек алу процедурасында 93% аргон, 5% N және 2% CO_2 ара-қатынасындағы газдардың қоспасымен аэрацияланғанда 167,6 мкмоль/мг хл а/сағ мөлшеріндегі жоғары сутегі өндірісін көрсетті [65].

Биосутек өндірісінің болашағы

Anabaena штамдары негізінде сутек алу жұмыстарында тек зертханалық нәтижелер туралы хабарланды, бірақ зауыттық пилоттық деректер әдебиетте кездеспейді. Себебі, келесідей негізгі мәселер әлі шешімін таппаған: жарық ортасы, климат және жер кеңістігі, реакторлық құрылыс материалдары, дақылды араластыру механизмі.

Зертханалық масштабта био- H_2 өндірісі тез арада жақсарды және перспективалы нәтиже көрсетті, бірақ нақты қосымшаларды алу үшін дұрыс оңтайландыру және масштабтау үшін ғылыми білімдерді өндірістік қажеттіліктермен дұрыс байланыстыру қажет. Химиялық процестермен алынған H_2 -ге қарағанда, био- H_2 өндірісінде үлкен қиындықтары бар, мысалы: өсіру процесінде монокультураны сақтау, өнімділіктің төмендігі мен энергияның айналу тиімділігі, O_2 тежелуі, цианобактериялардың сыртқы факторларға сезімталдығы, тұрақты газ генерациясы, сәйкес фотореакторлық жүйенің дизайны (жарық, араластыру, температура, бақылау құрылғыларын, мөлшерін, H_2 -ті ұстау және жою, күрделі шығындарды ескере отырып), флокуляция, жинау техникасы, газ тазарту әдістері, сақтау, тасымалдау үшін барабар жүйелер, жеткізу, коммерцияландыру, процестерді басқару, шығындар мен сенімділік үшін нақты белгіленген өндіріс технологиясының болмауы.

Барлық авторлар жоғарыда аталған техникалық, әлеуметтік және саяси кедергілерді ескере отырып, соңғы өнімнің бағасы басқа коммерциялық жанармайға қарағанда, экономикалық тұрғыдан тиімсіз екендігін айтты. Сол себептен, арзан фотобиореакторларды жобалауға және фотосинтетиканы оңтайландыруға бағыттау қажет деп келіседі.

Қорытынды

Сутегі газы болашақтағы энергия тасымалдаушы ретінде қарастырылады, себебі ол жану кезінде «парниктік газ» CO_2 газын сыртқы ортаға бөліп шығармайды, электр энергиясына оңай айналады және таусылмайтын ресурс болып табылады. Сутегі биологиялық өндірісінің

кәдімгі сутегі өндіру процестерінен бірнеше артықшылығы бар. Бұл мөлдір жабық ортадағы қарапайым фотобиореакторды қолдануды талап етеді, ол төмен энергия талаптарына ие және бұл өте үнемді. Күн энергиясына негізделген суды бөлу арқылы сутектің электрохимиялық өндірісі жоғары энергия талаптары жауап береді. Биологиялық жүйелердің төмен конверсиялық тиімділігі төмен энергия шығындарымен және бастапқы инвестициялық шығындардың төмендеуімен өтелуі мүмкін. Цианобактериялық сутегінің өндірілуі мен кәдеге жаратылуына әр түрлі кедергілер болса да, әлеуетті шешімдер де жақын болашақта пайда болуы мүмкін. Цианобактерия түрлерінің ішінде *Anabaena* түрлері сутегі энергиясын бөліп шығару үшін маңызды түрлер болып табылады. Болашақта мардымды өндірісте қолдануға мүмкіндік беретін штаммдарды жасап шығару үшін міндетті түрде генетикалық манипуляциялау жұмыстарын жүргізу керек.

нобактерия түрлерінің ішінде *Anabaena* түрлері сутегі энергиясын бөліп шығару үшін маңызды түрлер болып табылады. Болашақта мардымды өндірісте қолдануға мүмкіндік беретін штаммдарды жасап шығару үшін міндетті түрде генетикалық манипуляциялау жұмыстарын жүргізу керек.

Қаржыландыру

Бұл мақала келесі жобалардан қаржыландырылды: AP13067574, AP14869048..

Мүдделер қақтығысы

Мүдделер қақтығысы жоқ..

Әдебиеттер

- 1 Spiller H., Ernst A., Kerfin W., Böger P. Increase and stabilization of photoproduction of hydrogen in *Nostoc muscorum* by photosynthetic electron transport inhibitors // Zeitschrift für Naturforschung. – 1978. – Vol. 33. – P. 541–47.
- 2 Burrows E., Chaplen F., Ely R. Effects of selected electron transport chain inhibitors on 24-h hydrogen production by *Synechocystis* sp. PCC 6803 // Bioresource technology. – 2010. – Vol. 102. – P. 3062–70.
- 3 Abdelwahab H.E.M. Hydrogen production in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 with engineered subunit of the bidirectional H₂-ase // Advances in Life Science and Technology. – 2014. – Vol. 18. – P. 7–19.
- 4 Sadvakasova A.K., Kossalbayev B.D., Zayadan B.K., Bolatkhan K., Alwasel S., Najafpour M.M., Tatsuya T., Allakhverdiev S.I. Bioprocesses of hydrogen production by cyanobacteria cells and possible ways to increase their productivity // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2020. – Vol. 133. – P. 110054. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110054>
- 5 Tiwari A., Pandey A. Cyanobacterial hydrogen production – a step towards clean environment // Int J Hydrogen Energy. – 2012. – Vol. 37. – P. 139–50.
- 6 Kaushik A., Anjana K. Biohydrogen production by *Lyngbya perelegans*: influence of physic-chemical environment // Biomass Bioenergy. – 2011. – Vol. 35. – P. 1041–5.
- 7 Razeghifard R. Algal biofuels // Photosynth Res. – 2013. – Vol. 117. – P. 207–19.
- 8 Tamburic B., Zemichael F.W., Maitland G.C., Hellgardt K. Parameters affecting the growth and hydrogen production of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* // Int J Hydrogen Energy. – 2011. – Vol. 36. – P. 7872–6.
- 9 Antal T.K., Krendeleva T.E., Tyystjärvi E. Multiple regulatory mechanisms in the chloroplast of green algae: relation to hydrogen production // Photosynth Res. – 2015. – Vol. 125, No 3. – P. 357–81.
- 10 Kosourov S., Tsygankov A., Seibert M., Ghirardi M.L. Sustained hydrogen photoproduction by *Chlamydomonas reinhardtii*: effects of culture parameters // Biotechnol Bioeng. – 2002. – Vol. 78, No 3. – P. 731–40.
- 11 Stebegg R. Heterotrophic Growth of the Cyanobacterium *Anabaena* (*Nostoc*) sp. strain PCC7120 and its Dependence on a Functional Cox1 Locus Encoding Cytochrome C Oxidase, Dissertation (Master in Genetics – Microbiology) Universität Wien, Wien, 2011, p. 130.
- 12 Yeager C.M., Milliken C.E., Bagwell C.E., Staples L., Berseth P.A., Sessions H.T. Evaluation of experimental conditions that influence hydrogen production among heterocystous cyanobacteria // Int J Hydrogen Energy. – 2011. – Vol. 36. – P. 7487–99.
- 13 Masukawa H., Nakamura K., Mochimaru M., Sakurai H. Photobiological hydrogen production and nitrogenase activity in some heterocystous cyanobacteria. In: Miyake J., Matsunaga T., San Pietro A., BioHydrogen II. – United Kingdom: Elsevier 2001. – P. 63–6.
- 14 Allahverdiyeva Y., Leino H., Saari L., Fewer D.P., Shunmugam S., Sivonen K., et al. Screening for biohydrogen production by cyanobacteria isolated from the Baltic Sea and Finnish lakes // Int J Hydrogen Energy. – 2010. – Vol. 35. – P. 1117–27.
- 15 Berberoglu H., Jay J., Pilon L. Effect of nutrient media on photobiological hydrogen production by *Anabaena variabilis* ATCC 29413 // Int J Hydrogen Energy. – 2008. – Vol. 33. – P. 1172–84.
- 16 Sveshnikov D.A., Sveshnikova N.V., Rao K.K., Hall D.O. Hydrogen metabolism of mutant forms of *Anabaena variabilis* in continuous cultures and under nutritional stress // FEBS Microbiol Lett. – 1997. – Vol. 147. – P. 297–301.
- 17 Vyas D., Kumar H.D. Nitrogen fixation and hydrogen uptake in four cyanobacteria // Int J Hydrogen Energy. – 1995. – Vol. 20, No 2. – P. 163–8.
- 18 Tsygankov A., Serebryakova L., Rao K., Hall D. Acetylene reduction and hydrogen photoproduction by wild-type and mutant strains of *Anabaena* at different CO₂ and O₂ concentrations // FEMS Microbiol Lett. – 1998. – Vol. 167. – P. 13–7.
- 19 Markov S.A., Protasov E.S., Bybin V.A., Eivazova E.R., Stom D.I. Using immobilized cyanobacteria and culture medium

- contaminated with ammonium for H₂ production in a hollow-fiber photobioreactor // *Int J Hydrogen Energy*. – 2015. – Vol. 40. – P. 4752–7.
- 20 Benemann J.R. Hydrogen production by microalgae // *J Appl Phycol*. – 2000. – Vol. 12. – P. 291–300.
- 21 Tamagnini P., Troshina O., Oxelfelt F., Salema R., Lindblad P. Hydrogenases in *Nostoc* sp. strain PCC 73102, a strain lacking a bidirectional enzyme // *Appl Environ Microbiol*. – 1997;63. – P. 1801–7.
- 22 Bergman B., Gallon J.R., Rai A.N., Stal L.J. N₂ fixation by non-heterocystous cyanobacteria // *FEMS Microbiol Rev*. – 1997. – Vol. 19. – P. 139–85.
- 23 Herrero A., Muro-Pastor A.M., Flores E. Nitrogen control in cyanobacteria // *J. Bacteriol* – 2001. – Vol. 183. – P. 411–25.
- 24 Borodin V.B., Tsygankov A., Rao K.K., Hall D.O. Hydrogen production by *Anabaena variabilis* PK84 under simulated outdoor conditions // *Biotechnol. Bioeng*. – 2000. – Vol. 69:479–85.
- 25 Benemann J.R., Weare N.M. Hydrogen evolution by nitrogen fixing *Anabaena cylindrica* cultures // *Science*. – 1974. – Vol. 184. – P. 174.
- 26 Kufryk G. Advances in utilizing cyanobacteria for hydrogen production // *Advances in Microbiology* – 2013. – Vol. 3. – P. 60–8.
- 27 Manis S., Banerjee R. Comparison of biohydrogen production processes // *Int. J. Hydrogen Energy*. – 2008. – Vol. 33. – P. 279–86.
- 28 Hankamer B., Lehr F., Rupprecht J., Musgnug J., Posten C., Kruse O. Photosynthetic biomass and H₂ production by bioengineering to green algae: from bioreactor scale-up // *Physiol Plantarum*. – 2007. – Vol. 131. – P. 10–21.
- 29 Zhang X.K., Haskell J.B., Tabita F.R., Van B.C. Aerobic hydrogen production by the heterocystous cyanobacteria *Anabaena* spp. strains CA and 1F // *J Bacteriol*. – 1983. – Vol. 156. – P. 1118–22.
- 30 Horiuchi J., Kikuchi S., Kobayashi M., Kanno T., Shimizu T. Modeling of pH response in continuous anaerobic acidogenesis by an artificial neural network // *Biochem Eng J*. – 2001. – Vol. 9. – P. 199–204.
- 31 Show K.-Y., Lee D.-J., Chang J.-S. Bioreactor and process design for biohydrogen production // *Bioresour Technol*. – 2011. – Vol. 102. – P. 8524–33. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.055>
- 32 Yu J., Takahashi H. Biophotolysis-Based Hydrogen Production by Cyanobacteria and Green Microalgae. In: A. Méndez-Vilas, Ed., *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology* // *Formatex*. – 2007. – Vol. 1. – P. 79–89.
- 33 Kossalbayev B.D., Tomo T., Zayadan B.K., Sadvakasova A.K., Bolatkhan K., Alwasel S., Allakhverdiev S.I. Determination of the potential of cyanobacterial strains for hydrogen production // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2020. – Vol. 45, No 4. – P. 2627–39. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.11.164>
- 34 Masirbaeva A.D., Baidyldaeva Z.A., Sadanov A.K., Baigonosova Z.A., Ultanbekova G.D. Study of nitrogen-fixing activity and competitive ability of nodule bacteria of the genus *Rhizobium* // *Biological and medical series*. – 2014. – Vol. 2. – P. 3252–62.
- 35 Uma L., Subramanian G. Effective use of cyanobacteria in effluent treatment. In proceedings of the national symposium on cyanobacterial N₂ fixation. New Delhi: IARI, 1990. 437–44.
- 36 Zhakeeva M.B., Bekenova U.S., Zhumadilova Z.S., Shorabaev E.Z., Sadanov A.K. Study of ecological and trophic groups of soil microorganisms under alfalfa and soybeans using biological products of the Rizovit-AKS series // *Success of modern natural science*. – 2015. – Vol. 2. – P. 144–7.
- 37 Weissman J.C., Benemann J.R. Hydrogen production by nitrogen-starved cultures of *Anabaena cylindrica* // *Appl Environ Microbiol*. – 1977. – Vol. 33. – P. 123–31.
- 38 Benemann J.R., Miyamoto K., Hallenbeck P.C. Bioengineering aspects of biophotolysis // *Enzyme Microbiol Technol*. – 1980. – Vol. 2. – P. 103.
- 39 Bolatkhan K., Kossalbayev B.D., Zayadan B.K., Tomo T., Veziroglu V.T., Allakhverdiev S.I. Hydrogen production from phototrophic microorganisms: Reality and perspectives // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2019. – Vol. 44, No 12. – P. 5799–811. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.01.092>
- 40 Sundararaman M., Subramanian G., Averal H.I., Akbharsha M.A. Evaluation of the bioactivity of marine cyanobacteria on some biochemical parameters of rat serum // *Phytotherapy Res*. – 1996. – Vol. 10. – P. 9–12.
- 41 Kaushik B.D., Venkataraman G.S. Effect of algal inoculation on the yield and vitamin C content of two varieties of tomato // *Plant Soil*. – 1979. – Vol. 52. – P. 135–7.
- 42 Choudhary K.K. Occurrence of nitrogen fixing cyanobacteria during different stages of paddy cultivation // *Bangladesh J Plant Taxon*. – 2011. – Vol. 18. – P. 73–6.
- 43 Choudhury A.T.M.A., Kennedy I.R. Prospects and potentials for systems of biological nitrogen fixation in sustainable rice production // *Biol Fertil Soils*. – 2004. – Vol. 39. – P. 219–27.
- 44 Dey H.S., Bastia A.K. Cyanobacterial flora from rice growing areas of Mayurbhanj // *Plant Sc Res*. – 2008. – Vol. 30. – P. 22–6.
- 45 Khetkorn W., Rastogi R.P., Incharoensakdi A., Lindblad P., Datta M., Pandey A., Larroche C. Microalgal hydrogen production – A review // *Bioresource Technology*. – 2017. – Vol. 243. – P. 1194–206.
- 46 Gaffron H., Rubin J. Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae // *J Gen Physiol*. – 1942. – Vol. 26, No 2. – P. 219–40.
- 47 Dutta D., Debojyoti D., Chaudhuri S, Bhattacharya S. Hydrogen production by cyanobacteria // *Microbial cell factories*. – 2005. – Vol. 4. – P. 36.
- 48 Melis A., Melnicki M.R. Integrated biological hydrogen production // *Int J Hydrogen Energy*. – 2006. – Vol. 31. – P. 1563–73.

- 49 Momirlan M., Veziroglu T.N. The properties of hydrogen as fuel tomorrow in sustainable energy system for a cleaner // *Int J Hydrogen Energy*. – 2005. – Vol. 30. – P. 681–8.
- 50 Mathews J, Wang G. Metabolic pathway engineering for enhanced biohydrogen production // *Int J Hydrogen Energy*. – 2009. – Vol. 34. – P. 7404–16.
- 51 Das D., Veziroglu T.N. Advances in biological hydrogen production processes // *Int J Hydrogen Energy*. – 2008. – Vol. 33. – P. 6046–57.
- 52 Fani R., Gallo R., Liò P. Molecular evolution of nitrogen fixation: The evolutionary history of the *nifD*, *nifK*, *nifE*, and *nifN* genes // *J Mol Evol*. – 2000. – Vol. 51. – P. 1–11.
- 53 Miller R.W., Eady R.R. Molybdenum and vanadium nitrogenases of *Azotobacter chroococcum*. Low temperature favours N₂ reduction by vanadium nitrogenase // *Biochem J*. – 1988. – Vol. 256. – P. 429–32.
- 54 Valladares A., Muro-Pastor A.M., Fillat M.F., Herrero A., Flores E. Constitutive and nitrogen-regulated promoters of the *pepH* gene encoding ferredoxin: NADP⁺ reductase in the heterocyst-forming cyanobacterium *Anabaena* sp. // *FEBS Lett*. – 1999. – Vol. 449. – P. 159–64.
- 55 Hallenbeck P.C. Hydrogen Production by Cyanobacteria. In book: *Microbial Technologies in Advanced Biofuels Production* Publisher: Springer US, 2011.P.15–28.
- 56 Alberto A.E.F., Henrique C.J., Marcelo V., Alvarenga V., Nunes-Adriano N., Wagner A. Cyanobacterial nitrogenases: Phylogenetic diversity, regulation and functional predictions // *Genetics and Molecular Biology*. – 2017. – Vol. 40. – P. 261–75.
- 57 Suzuki I., Horie N., Sugiyama T., Omata T. Identification and characterization of two nitrogen-regulated genes of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC7942 required for maximum efficiency of nitrogen assimilation // *J Bacteriol*. – 1995. – Vol. 177. – P. 290–6.
- 58 Bergman M., Perewoska I., Kirilovsky D. Redox control of *ntcA* gene expression in *Synechocystis* sp. PCC 6803 // *Plant Physiol*. – 2001. – Vol. 125. – P. 969–81.
- 59 Thiel T., Lyons E.M., Erker J.C. Characterization of genes for a second Mo-dependent nitrogenase in the cyanobacterium *Anabaena variabilis* // *J. Bacteriol*. – 1997. – Vol. 179. – P. 5222–5.
- 60 Kentemich T., Danneberg G., Hundeshagen B., Bothe H. Evidence for the occurrence of the alternative, vanadium-containing nitrogenase in the cyanobacterium *Anabaena variabilis* // *FEMS Microbiol Lett*. – 1988. – Vol. 51. – P. 19–24.
- 61 Gudrun B., Caroline S., Lucas S., Hermann B. The rice field cyanobacteria *Anabaena azotica* and *Anabaena* sp. CH1 express vanadium-dependent nitrogenase // *Archives of microbiology*. – 2006. – Vol. 186. – P. 367–76.
- 62 Thiel T. Isolation and characterization of the *vnfEN* genes of the cyanobacterium *Anabaena variabilis* // *J Bacteriol*. – 1996. – Vol. 178. – P. 4493–9.
- 63 Paulette V. Hydrogenases and H⁺ reduction in primary energy conservation // *Results and problems in cell differentiation*. – 2008. – Vol. 45. – P. 223–52.
- 64 Tamagnini P., Leitao E., Oliveira P., Ferreira D., Pinto F., Harris D.J., Heidorn T., Lindblad P. Cyanobacterial hydrogenases: diversity, regulation and applications // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2007. – Vol. 31. – P. 692–720.
- 65 Tamagnini P, Axelsson R, Lindberg P, Oxelfelt F, Wünschiers R, Lindblad P. Hydrogenases and hydrogen metabolism of cyanobacteria // *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*. – 2002. – Vol. 66. – P. 1–20.
- 66 Smith G.D., Ewart G.D., Tucker W. Hydrogen production by cyanobacteria // *Int J Hydrogen Energy*. – 1992. – Vol. 17. – P. 695–8.
- 67 Boison G., Schmitz O., Mikheeva L., Shestakov S., Bothe H. Cloning, molecular analysis and insertional mutagenesis of the bidirectional hydrogenase genes from the cyanobacterium *Anacystis nidulans* // *FEBS Lett*. – 1996. – Vol. 394. – P. 153–8.
- 68 Boison G., Bothe H., Schmitz O. Transcriptional analysis of hydrogenase genes in the cyanobacteria *Anacystis nidulans* and *Anabaena variabilis* monitored by RT-PCR // *Curr Microbiol*. – 2000. – Vol. 40. – P. 315–21.
- 69 Sheremetieva M.E., Troshina O.Y., Serebryakova L.T., Lindblad P. Identification of *hox* genes and analysis of their transcription in the unicellular cyanobacterium *Gloeocapsa alpicola* CALU 743 growing under nitrate-limiting conditions // *FEMS Microbiol Lett*. – 2002. – Vol. 214. – P. 229–33.
- 70 Houchins J.P. The physiology and biochemistry of hydrogen metabolism in cyanobacteria // *Biochim Biophys Acta*. – 1984. – Vol. 768. – P. 227–55.
- 71 Schmitz O., Boison G., Salzmann H., Bothe H., Schutz K., Wang S.H., Happe T. HoxE – a subunit specific for the pentameric bidirectional hydrogenase complex (HoxEFUYH) of cyanobacteria // *Biochim Biophys Acta*. – 2002. – Vol. 1554. – P. 66–74.
- 72 Oxelfelt F., Tamagnini P., Lindblad P. Hydrogen uptake in *Nostoc* sp. strain PCC 73102 cloning and characterization of a hupSL homologue // *Arch Microbiol*. – 1998. – Vol. 169. – P. 267–74.
- 73 Weyman P., Brenda P., Thiel T. Transcription of hupSL in *Anabaena variabilis* ATCC 29413 is regulated by NtcA and not by hydrogen // *Applied and environmental microbiology*. – 2008. – Vol. 74. – P. 2103–10.
- 74 Carrasco C.D., Buettner J.A., Golden J.W. Programmed DNA rearrangement of a cyanobacterial hupL gene in heterocysts // *Proc Natl Acad Sci*. – 1995. – Vol. 92. – P. 791–5.
- 75 Tsygankov A.A. Nitrogen-fixing cyanobacteria: producers of hydrogen // *Prikladnaia Biokhimiia I Mikrobiologiya*. – 2007. – Vol. 43, No 3. – P. 279–88.
- 76 Carrasco C.D., Garcia J.S., Golden J.W. Programmed DNA rearrangement of a hydrogenase gene during *Anabaena* heterocyst development // *BioHydrogen*. – 1998. – Vol. – P. 203–7.
- 77 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 // *Biochim. Biophys. Acta-Bioenergetics*. – 2007. – Vol. 1767. – P. 161–9.

- 78 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. – P. 647.
- 79 Komenda J. Photosystem 2 photoinactivation and repair in the *Scenedesmus* cells treated with herbicides DCMU and BNT and exposed to high irradiance // Photosynthetica. – 1998. – Vol. 35. – P. 477–80.
- 80 Cournac L., Guedeney G., Peltier G., Vignais P.M. Sustained photoevolution of molecular hydrogen in a mutant of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 deficient in the type I NADPH-dehydrogenase complex // J. Bacteriol. – 2004. – Vol. 186. – P. 1737–46.
- 81 Torimura M., Miki A., Wadano A., Kano K., Ikeda T. Electrochemical investigation of cyanobacteria *Synechococcus* sp. PCC7942-catalyzed photoreduction of exogenous quinones and photoelectrochemical oxidation of water // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2001. – Vol. 496. – P. 21–8.
- 82 Pisciotto J.M., Zou Y., Baskakov I.V. Light-dependent electrogenic activity of cyanobacteria // PLoS ONE. – 2010. – Vol. 5. – P. e10821.
- Imafuku H., Katoh T. Intracellular ATP level and light-induced inhibition of respiration in a blue-green alga, *Anabaena variabilis* // Plant & Cell Physiology. – 1976. – Vol. 17. – P. 515–24.
- 84 Berg S.P., Krogmann D.W. Mechanism of KCN inhibition of photosystem I // J. Biol. Chem. – 1975. – Vol. 250. – P. 8957–62.
- 85 Hihara Y., Sonoike K., Kanehisa M., Ikeuchi M. DNA microarray analysis of redox-responsive genes in the genome of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 // Journal of bacteriology. – 2003. – Vol. 185. – P. 1719–25.
- 86 Boris V., Trubitsin V.V., Ptushenko O.A., Koksharova M.D., Mamedov L.A., Vitukhnovskaya I.A., Grigorev A.Y., Semenov A.N., Tikhonov E.P.R. Study of electron transport in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803: Oxygen-dependent interrelations between photosynthetic and respiratory electron transport chains // Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics. – 2005. – Vol. 1708. – P. 238–49.
- 87 Carrieri D., Wawrousek K., Eckert C., Yu I., Maness P.-J. The role of bidirectional hydrogenases in cyanobacteria // Bioresour. Technol. – 2011. – Vol. 102. – P. 8368–77.
- 88 Alalayah W.M., Alhamed Y.A., Al-zahrani A., Edris G. Influence of culture parameters on biological hydrogen production using green algae *Chlorella vulgaris* // Rev Chim. – 2015. – Vol. 66. – P. 788–91.
- 89 Song W., Rashid N., Choi W., Lee K. Biohydrogen production by immobilized *Chlorella* sp. using cycles of oxygenic photosynthesis and anaerobiosis // Bioresour Technol. – 2011. – Vol. 102. – P. 8676–81. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.082>.
- 90 Melis A. Photosynthesis-to-fuels: from sunlight to hydrogen, isoprene, and botryococcene production // Energy Environ Sci. – 2012. – Vol. 5. – P. 5531–9. <https://doi.org/10.1039/C1EE02514G>.
- 91 Mizuno Y., Sato A., Watanabe K., Hirata A., Takeshita T., Ota S. Sequential accumulation of starch and lipid induced by sulfur deficiency in *Chlorella* and *Parachlorella* species // Bioresour Technol. – 2013. – Vol. 129. – P. 150–5. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.030>.
- 92 Axelsson R, Lindblad P. Transcriptional regulation of Nostoc hydrogenases: effects of oxygen, hydrogen, and nickel // Appl. Environ. Microbiol. – 2002. – Vol. 68. – P. 444–7.
- 93 Rashid N., Lee K., Han J.I., Gross M. Hydrogen production by immobilized *Chlorella vulgaris*: optimizing pH, carbon source and light // Bioproc Biosyst Eng. – 2013. – Vol. 36. – P. 867–72. <https://doi.org/10.1007/s00449-012-0819-9>.
- 94 Liu J.-Z., Ge Y.-M., Xia S.-Y., Sun J.-Y., Mu J. Photoautotrophic hydrogen production by *Chlorella pyrenoidosa* without sulfur-deprivation // Int J Hydrogen Energy. – 2016. – Vol. 41. – P. 8427–32. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.03.191>
- 95 Boboescu I.Z., Gherman V.D., Lakatos G., Pap B., Biro T., Maroti G. Surpassing the current limitations of biohydrogen production systems: the case for a novel hybrid approach // Bioresour Technol. – 2016. – Vol. 204. – P. 192–201. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.083>.
- 96 Lopez-Hidalgo A.M., Alvarado-Cuevas Z.D., De LeonRodriguez A. Biohydrogen production from mixtures of agro-industrial wastes: chemometric analysis, optimization and scaling up // Energy. – 2018. – Vol. 159. – P. 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2018.06.124>.
- 97 Ramchandran S., Mitsui A. Recycling of hydrogen photoproduction system using an immobilized marine blue green algae *Oscillatoria* sp. Miami BG7, solar energy and seawater [abstract] // VII International Biotechnology Symposium. 1984. pp. 183–4.
- 98 Moezelaar R., Bijvank S.M., Stal L.J. Fermentation and Sulfur Reduction in the Mat-Building Cyanobacterium *Microcoleus chthonoplastes* // Appl Environ Microbiol. – 1996. – Vol. 62, No 5. – P. 1752–8.
- 99 Datta M., Nikki G., Shah V. Cyanobacterial hydrogen production // World J Microbiol Biotechnol – 2000. – Vol. 16. – P. 8–9.
- 100 Aoyama K., Uemura I., Miyake J., Asada Y. Fermentative metabolism to produce hydrogen gas and organic compounds in a cyanobacterium, *Spirulina platensis* // J Ferment Bioeng. – 1997. – Vol. 83. – P. 17–20.
- 101 Zayadan B.K., Kossalbayev B.D., Tomo T., Allakhverdiev S.I., Sadvakasova A.K., Bolatkhan K., Kakimova A. Study of promising heterocystic cyanobacterial strains for biohydrogen production // series of biological and medical. – 2020. – Vol. 3, No 339. – P. 41–8.
- 102 Lambert G.R., Daday A., Smith G.D. Hydrogen evolution from immobilized cultures of the cyanobacterium *Anabaena cylindrica* B629 // FEBS Lett. – 1979. – Vol. 101, No 1. – P. 125–8.
- 103 Radway J.C., Yozua B.A., Benemann J.R., Chini Zitelli G., Malda J., Babcock R.W., Jr, Tredici M.R. Evaluation of a near-horizontal tubular photobioreactor system in Hawaii [abstracts] 8th International Conference on Applied Algology: Montecassini, Italy. 1999.
- 104 Vargas S.R., Santos P.V., Zaiat M., Calijuri M.C. Optimization of biomass and hydrogen production by *Anabaena* sp.

(UTEX 1448) in nitrogen-deprived cultures // Biomass and Bioenergy. – 2018. – Vol. 111. – P. 70–6.

105 Cassier-Chauvat C., Veaudor T., Chauvat F. Advances in the function and regulation of hydrogenase in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC6803 // Int. J. Mol. Sci. – 2014. – Vol. 15. – P. 19938–51.

106 Nyberg M., Heidorn T., Lindblad P. Hydrogen production by the engineered cyanobacterial strain *Nostoc* PCC 7120 Δ hupW examined in a flat panel photobioreactor system // Journal of Biotechnology. – 2015. – Vol. 215. – P. 35–43.

107 Jeffries T.W., Timourian T.H., Ward R.L. Hydrogen Production by *Anabaena cylindrica*: Effects of Varying Ammonium and Ferric Ions, pH, and Light // Applied and environmental microbiology. – 1978. – Vol. 1 – P. 704–10.

108 Tsygankov A.A., Borodin V.B., Rao K.K., Hall D.O. H₂ photoproduction by batch culture of *Anabaena variabilis* ATCC 29413 and its mutant PK84 in a photobioreactor // Biotechnol Bioeng. – 1999. – Vol. 64, No 6. – P. P. 709-15.

109 Shah V., Garg N., Madamwar D. Ultrastructure of the cyanobacterium *Nostoc muscorum* and exploitation of the culture for hydrogen production // Folia Microbiol (Praha). – 2003. – Vol. 48(1). – P. 65-70.

110 Hallenbeck P.C., Kochian L.V., Weissmann J.C., Benemann J.R. Solar energy conversion with Hydrogen producing cultures of the blue green alga, *Anabaena cylindrica* // Biotechnology and Bioengineering Symposium. – 1978. – Vol. 8. – P. 283–97.

111 Bakonyi P., Kumar G., Belafi-Bak o K., Kim S.-H., Koter S., Kujawski W., et al. A review of the innovative gas separation membrane bioreactor with mechanisms for integrated production and purification of biohydrogen // Bioresour Technol. – 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.020>.

112 Rashid N., Lee K., Han J.I., Gross M. Hydrogen production by immobilized *Chlorella vulgaris*: optimizing pH, carbon source and light // Bioproc Biosyst Eng. – 2013. – Vol. 36. – P. 867–72. <https://doi.org/10.1007/s00449-012-0819-9>.

113 Qiao H., Wang G. Effect of carbon source on growth and lipid accumulation in *Chlorella sorokiniana* GXNN01 // Chin J Oceanol Limnol. – 2009. – Vol. 27. – P. 762–8. <https://doi.org/10.1007/s00343-009-9216-x>

114 Ernst A., Kerfin W., Spiller H., Boger P. External factors influencing light-induced H₂ evolution by the blue-green algae, *Nostoc muscorum* // Zeitschrift fur Naturforschung. – 1979. – Vol. 34. – P. 820–5.