ӘОЖ 577.15: [579.6] **Зерттеу мақаласы**

Бидай сабанынан құрамында ксилоолигосахаридтер (КОС) бар гидролизатты ферментативтік жолмен алу және оның лактобациллалардың өсуіне әсерін бағалау

Шамсиева Ю., Якупов Б., Тимощук С., Абдишов Д., Кирибаева А.

«Ұлттық биотехнолоия орталығы» ЖШС, Астана, Қазақстан

Корреспондент автор: Кирибаева А.: kiribayeva@biocenter.kz
Бірлескен авторлар: (1: ЮШ) shpinyova@biocenter.kz; (2: БЯ) bakhtiyarakupov@gmail.com
(3: СТ) savva_750@mail.ru; (4: ДА) dauletabdishov@gmail.com

Қабылданған күні: 13.08.2026 **Қабылданды:** 28.09.2026 **Жарияланды:** 09.10.2026

Авторлық құқық: Шамсиева Ю. т.б. Бұл мақала ашық қолжетімділікте жарияланып, Creative Commons Attribution 4.0 халықаралық лицензиясының шарттарына сәйкес таратылады (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Түйін

Алғышарттар мен мақсат. Бидай сабаны қолжетімді, жаңартылатын лигноцеллюлозалық шикізат болып табылады және функционалды көмірсу компоненттері ретінде қызығушылық тудыратын ксилоолигосахаридтерді (КОС) өндіру үшін пайдаланылуы мүмкін. Жұмыстың мақсаты рекомбинантты *Bacillus sonorensis* ксиланазасын пайдалана отырып, құрамында КОС бар бидай сабаны гидролизатын алу және оның *Lactobacillus* штамдарының өсуіне әсерін бағалау болды.

Материалдар мен әдістер. 18,5% аммиак ерітіндісімен алдын ала өңделген бидай сабаны рекомбинантты *B. sonorensis* ксиланазасы арқылы ферментативтік гидролизден өткізілді. Гидролиздің динамикасы ферменттің субстратқа шаққандағы 50, 100 және 200 б/г мөлшерлемесінде 24 сағат бойы зерттелді. Тотықсыздандырғыш қанттардың мөлшері DNS әдісімен анықталды, ал гидролиз өнімдерінің сапалық құрамы жұқа қабатты хроматография әдісімен бағаланды. 0,5% және 1% гидролизаттың *Lactobacillus fermentum* ATCC 14931, Lactobacillus plantarum ATCC 14917 және *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 штамдарының өсуіне әсері тірі жасушалар саны және қоректік орта pH мәнінің өзгеруі бойынша бағаланды.

Нәтижелер. Тотықсыздандырғыш қанттардың ең жоғары жинақталуы ксиланазаның 200 б/г мөлшерлемесінде және 24 сағаттық гидролиз ұзақтығында байқалды. Жұқа қабатты хроматография әдісімен гидролизат құрамында негізінен ксилобиоза (X2) және ксилотриоза (X3) түрінде ұсынылған ксилоолигосахаридтер анықталды. *L. fermentum* штамында тіршілікке қабілетті жасушалар санының ең айқын артуы байқалды: 1% гидролизат қосылған кезде тіршілікке қабілетті жасушалар саны глюкозасыз ортадағы $(1,07 \pm 0,95) \times 10^5$ КТБ/мл көрсеткішімен салыстырғанда $(1,38 \pm 0,54) \times 10^7$ КТБ/мл жетті. *L. plantarum* штамында да тірі жасушалар санының артқаны байқалды, ал *L. rhamnosus* штамында бұл әсер салыстырмалы түрде әлсіз болды. Гидролизат концентрациясын 0,5%-дан 1%-ға дейін арттыру қоректік ортаның pH мәнінің төмендеуімен қатар жүрді.

Қорытынды. Алынған КОС құрамды бидай сабаны гидролизаты зерттелген *Lactobacillus* штамдарына оң әсер етті, бұл әсердің айқындылығы штамм мен гидролизат концентрациясына байланысты болды.

Кілт сөздер: бидай сабаны; ксилоолигосахаридтер; ксиланаза; гидролиз; лактобациллалар; пребиотиктер.

Кіріспе

Ксилоолигосахаридтер (бұдан әрі КОС) – ксилан гидролизі арқылы алынған ксилозаның қысқа тізбекті олигомерлері. Айқын пребиотикалық қасиеттеріне байланысты КОС әртүрлі салаларда қолдану үшін перспективалы функционалды компоненттер ретінде қарастырылады [1, 2, 3]. Ас қорыту ферменттеріне төзімділігіне байланысты КОС асқазан-ішек жолдарының

жоғарғы бөліктерінде іс жүзінде ыдырамайды және тоқ ішекке жетеді, онда оларды ішек микроорганизмдері пайдалана алады. Зерттеулер КОС ішек микробиотасының құрамына әсер етуі және пайдалы бактериялардың, атап айтқанда *Lactobacillus* және *Bifidobacterium* туыстарының өкілдерінің өсуін ынталандыруы мүмкін екенін растады [1, 2]. Сонымен қатар, олардың әсер ету тиімділігі КОС полимерленуінің құрылымы мен дәрежесіне, олардың концентрациясына және микроорганизмдердің осы қосылыстарды ашыту қабілетіне байланысты өзгеруі мүмкін [1, 2, 3].

Перспективалы бағыттардың бірі – жаңартылатын лигноцеллюлозалық шикізаттан және ауыл шаруашылығы өндірісінің әртүрлі қосалқы өнімдерінен КОС өндіру [3,4,5,6]. Ауыл шаруашылығы өндірісінің өсімдік қалдықтары гемицеллюлозаның қол жетімді көзі болып табылады және оны функционалды олигосахаридтер үшін пайдалануға болады. Атап айтқанда, бидай сабаны ксиланға бай гемицеллюлозаның қолжетімді көзі болып табылады. Мұндай шикізаттан КОС алу оны биотехнологиялық өңдеудің бір бағыты.

Ксиланазалардың әсерінен құрамында ксилан бар шикізаттың ферментативті гидролизі КОС алудың бір әдісі болып табылады. Химиялық гидролизден айырмашылығы, ферментативті процесс жұмсақ жағдайларда жүреді және полимерленуі дәрежесі әртүрлі олигосахаридтерді алуға мүмкіндік береді [3, 4, 7]. *A. Rodríguez-Sanz* және т.б. зерттеуінде бидай сабанын эндоксиланазаларды қолдану арқылы ферментативті гидролиздеу мүмкіндігі көрсетілген. Зерттеуде, процесс жағдайларының гемицеллюлозаның бөлінуіне және алынған өнімдердің құрамына әсері анықталды [8]. Ауыл шаруашылығында биомассаның басқа түрлерін пайдаланған кезде, шикізатты ферментативті гидролизбен бірге алдын ала өңдеу КОС тиімді өндірісіне ықпал ететіні де көрсетілген [9, 10].

КОС өндіру әдістерін әзірлеу кезінде маңызды қадам – алынған өнімдердің функционалдық қасиеттерін зерттеу. Лигноцеллюлоза шикізатының ферментативті гидролизаттарының құрамы шикізат түріне, алдын ала өңдеу әдісіне, қолданылатын ферменттерге және гидролиз жағдайларына байланысты өзгеруі мүмкін [1, 3]. Сондықтан, КОС құрамындағы өнімдердің құрамын анықтау және олардың пайдалы микроорганизмдерінің өсуін қолдау қабілетін зерттеу маңызды, бұл бізге оларды одан әрі пайдалануын бағалауға мүмкіндік береді.

Осылайша, құрамында КОС бар ауыл шаруашылығы шикізатының гидролизаттары функционалды олигосахаридтердің әлеуетті көзі болып табылады. Дегенмен, КОС-тің пробиотикалық микроорганизмдерге әсерін эксперименталды түрде зерттеу қажет, себебі КОС-ті қолдану мүмкіндігі бактериялардың түрі мен штамына байланысты.

Зерттеудің мақсаты бидай сабанынан *B. sonorensis* рекомбинантты ксиланазаны пайдалана отырып, КОС құрамды гидролизат алу және оның *L. fermentum* ATCC 14931, *L. plantarum* ATCC 14917 және *L. rhamnosus* ATCC 53103 штамдарының өсуіне әсерін бағалау болды.

Материалдар мен әдістер

Бидай сабанынан КОС құрамды гидролизат алу

Шикізат ретінде «А.И. Бараев атындағы Астық шаруашылығының ғылыми-өндірістік орталығы» (Ақмола облысы, Қазақстан) ұсынған бидай сабаны пайдаланылды. Ферменттік гидролиз алдында бидай сабаны 18,5% аммиак ерітіндісімен өңделді. Бұл лигнин мөлшерін азайтып, ферменттердің гемицеллюлозаға қол жеткізуін жақсартты [12].

Ферментативтік гидролиз *B. sonorensis* рекомбинантты ксиланазасын пайдалана отырып, 100 мМ натрий-фосфатты буферде (pH 7,0), субстрат пен буфердің 1:10 (масс./көлем) қатынасында жүргізілді [13]. Гидролиз жағдайларын оңтайландыру мақсатында ферменттің субстратқа шаққандағы 50, 100 және 200 б/г мөлшерлері зерттелді. Реакциялық қоспалар 40 °C температурада инкубацияланды, ал гидролиз өнімдерінің жинақталу динамикасы 3, 6, 9, 12 және 24 сағаттан кейін бағаланды. Кейінгі пребиотикалық белсенділікті бағалау тәжірибелерінде пайдаланылған гидролизатты алу үшін ферменттің субстратқа шаққандағы 200 б/г мөлшері және 24 сағаттық гидролиз ұзақтығы таңдалды.

Гидролиз аяқталғаннан кейін реакциялық қоспа 10 000 айн/мин жылдамдықта 10 мин бойы центрифуга арқылы бөлінді. Алынған супернатант 0,45 мкм мембрана арқылы сүзілді, лиофилизацияланды және –20 °C температурада сақталды. Тәжірибелер жүргізер алдында лиофилизацияланған гидролизат стерилді дистилденген суда қажетті концентрацияға дейін ерітіліп, 0,22 мкм мембрана арқылы сүзу жолымен стерилденді.

Ферментативті гидролиз өнімдерінің сапалық құрамы жұқа қабатты хроматография (ЖҚХ) әдісімен бағаланды. Стандарттар ретінде ксилоза (X1), ксилобиоза (X2), ксилотриоза (X3), ксилотетроза (X4) және ксилопентоза (X5) пайдаланылды [14]. Тотықсыздандырғыш қанттардың жалпы мөлшері DNS әдісімен анықталып, ксилоза эквиваленттерімен өрнектелді [15].

Зерттеуде пайдаланылған барлық реактивтер аналитикалық тазалық дәрежесіне ие болып, коммерциялық өндірушіден сатып алынды. Ксилоолигосахаридтердің коммерциялық стандарттары – ксилобиоза (X2), ксилотриоза (X3), ксилотетраоза (X4) және ксилопентаоза (X5) – Megazyme (Ирландия) компаниясынан сатып алынып, гидролиз өнімдерін анықтау үшін пайдаланылды.

Микроорганизмдер және өсіру жағдайлары

Пребиотикалық белсенділікті бағалау үшін *L. plantarum* ATCC 14917, *L. fermentum* ATCC 14931 және *L. rhamnosus* ATCC 53103 штамдары пайдаланылды. *Lactobacillus* штамдары MRS агарлы ортасына (HiMedia, Үндістан) екі рет қайта себу арқылы белсендіріліп, кейін 37 °C температурада 18–24 сағат бойы сұйық MRS ортасында өсірілді. Тәжірибелерді жүргізу үшін жаңадан дайындалған тәуліктік дақылдар пайдаланылды.

КОС құрамды гидролизаттың пребиотикалық белсенділігін бағалау

Бидай сабанының ферментативтік гидролизатының пребиотикалық белсенділігі зерттелетін *Lactobacillus* штамдарының өсуіне және қышқыл түзу белсенділігіне әсері бойынша бағаланды [16].

Лиофилизацияланған гидролизат стерилді дистилденген суда ерітіліп, глюкозасыз MRS ортасына соңғы концентрациясы 0,5% және 1% (масс./көлем) болатындай мөлшерде қосылды. Теріс бақылау ретінде глюкозасыз MRS ортасы, ал оң бақылау ретінде глюкозасыз MRS ортасына соңғы концентрациясы тиісінше 0,5% және 1% (масс./көлем) болатын глюкоза қосылған орталар пайдаланылды. Инокулюмді енгізер алдында қоректік ортаның барлық нұсқаларының бастапқы pH мәні 6,8 ± 0,2 жеткізілді.

Стерилді пробиркаларға 9,9 мл тиісті қоректік орта және 0,1 мл тәуліктік *Lactobacillus* культурасы енгізіліп, инокуляттың соңғы мөлшері 1% (көлем/көлем) құрады.Инкубация 37 °C температурада 48 сағат бойы жүргізілді.

Зерттелетін штамдардың қышқыл түзу белсенділігін бағалау үшін культуралық сұйықтықтың pH мәні цифрлық pH-метр көмегімен анықталды.

48 сағаттық өсіруден кейін культуралық суспензиялардың стерилді физиологиялық ерітіндідегі он еселік сериялық сұйылтуы жүргізілді. Тиісті сұйылтулар MRS агарлы ортасына себіліп, 37 °C температурада 24–48 сағат бойы инкубацияланды. Тіршілікке қабілетті жасушалардың саны есептеліп, КТБ/мл түрінде көрсетілді. Барлық анықтаулар үш тәуелсіз биологиялық қайталанымда жүргізілді.

Статистикалық талдау

Тәжірибелер үш тәуелсіз қайталанымда жүргізілді. Нәтижелер орташа мән ± стандартты ауытқу (Mean ± SD) түрінде ұсынылды. Ферментативтік гидролиз жағдайларын оңтайландыру кезінде алынған деректерді өңдеу және тиісті графиктерді құру R 4.5.1 нұсқалы бағдарламалық ортасында (R Core Team, 2025), RStudio 2026.07.1-147 нұсқасының интерфейсінде (Posit Software, PBC, 2026) жүргізілді.

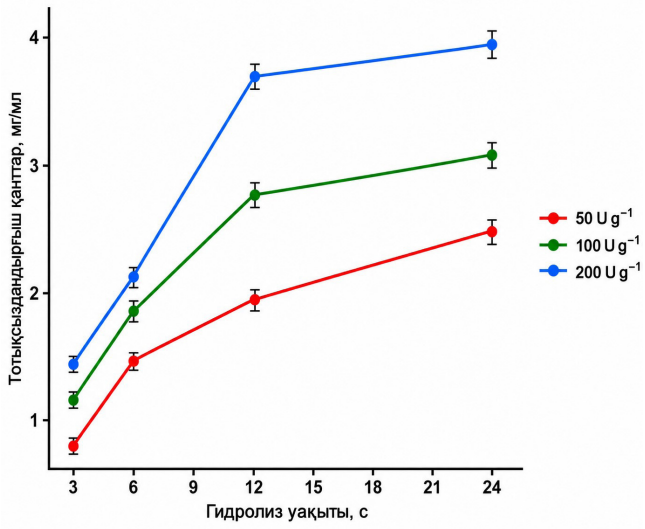
Нәтижелер

Ксиланаза мөлшері мен гидролиз уақытының тотықсыздандырғыш қанттардың жинақталуына әсері

Бірінші кезеңде алдын ала өңделген бидай сабанының рекомбинантты *B. sonorensis* ксиланазасымен ферментативтік гидролизінің динамикасы ферменттің субстратқа шаққандағы 50, 100 және 200 б/г мөлшерлерінде зерттелді. Зерттелген барлық нұсқаларда гидролиз уақыты ұзарған сайын тотықсыздандырғыш қанттардың мөлшерінің артқаны байқалды (1-сурет).

Тотықсыздандырғыш қанттардың ең қарқынды жинақталуы гидролиздің алғашқы 12 сағатында байқалды. Фермент мөлшері 200 б/г болған жағдайында олардың мөлшері 3 сағаттан кейін шамамен 1,4 мг/мл, 12 сағаттан кейін 3,7 мг/мл дейін өсті және 24 сағаттан кейін 3,9 мг/мл жетті. 50 және 100 б/г фермент мөлшерінде 24 сағаттан кейін тотықсыздандырғыш қанттардың көрсеткіші сәйкесінше шамамен 2,5 және 3,1 мг/мл болды. Осылайша, тотықсыздандырғыш

қанттардың ең жоғарғы жинақталуы 200 б/г ксиланазаны 24 сағат бойы қолданған кезде байқалды. Бұл шарттар пребиотикалық белсенділікті бағалау тәжірибелеріне арналған гидролизатты алу үшін таңдалды.

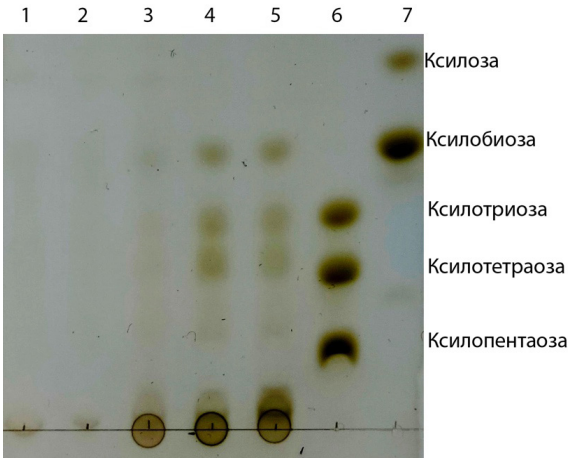


1-сурет. Әртүрлі мөлшердегі рекомбинантты *B. sonorensis* ксиланазасын пайдалана отырып, бидай сабанын ферментативтік гидролиздеу кезінде тотықсыздандырғыш қанттардың жинақталу динамикасы. Деректер орташа мән ± SD түрінде берілген (n = 3)

Бидай сабанынан алынған КОС құрамды гидролизаттың сипаттамасы

Гидролиз өнімдерінің сапалық құрамы жұқа қабатты хроматография әдісімен бағаланды. Хроматограммада гидролиздің 24 сағат бойы жүру барысында гидролиз өнімдерінің біртіндеп жинақталғаны байқалды (2-сурет). Гидролиз өнімдерінің хроматограммадағы орналасуын X2–X5 стандарттарымен салыстыру нәтижесінде ксилоолигосахаридтердің түзілгені анықталды, олардың ішінде ксилобиоза (X2) және ксилотриоза (X3) неғұрлым айқын байқалды. Өнімдердің ең жоғары жинақталуы гидролиздің кейінгі кезеңдерінде байқалды, бұл DNS әдісімен анықталған редуцирленетін қанттар мөлшерінің артуымен сәйкес келеді.

Лиофилизациядан кейін дайындалған гидролизат ерітіндісіндегі тотықсыздандырғыш қанттардың жалпы мөлшері DNS әдісімен анықталып ксилозаға шаққандағы эквивалент мөлшерінде 49,9 мг/мл құрады. Алынған КОС құрамды гидролизат зерттелетін Lactobacillus штамдарының өсуіне әсерін бағалау бойынша жүргізілген тәжірибелерде пайдаланылды.



2-сурет. Рекомбинантты *B. sonorensis* ксиланазасы арқылы бидай сабанын ферментативтік гидролиздеу өнімдерінің жұқа қабатты хроматографиясы, 1-5 жолақтар – сәйкесінше 3, 6, 9, 12 және 24 сағаттық гидролизден кейінгі гидролизаттар; 6-7 жолақтар ксилоолигосахаридтер стандарттары (X2-X5)

0,5% КОС құрамды бидай сабаны гидролизатының Lactobacillus spp. өсуіне әсері

КОС құрамды бидай сабаны гидролизатының зерттелетін штамдардың өсуіне әсері 48 сағат бойы өсіргеннен кейінгі тіршілікке қабілетті жасушалар саны бойынша бағаланды. Инокулюмді енгізер алдында қоректік ортаның барлық нұсқаларының бастапқы pH мәні 6,8 ± 0,2 жеткізілді.

0,5% КОС құрамды бидай сабаны гидролизатын қосу зерттелетін лактобациллалардың өсуіне штамға тәуелді әсер көрсетті (1-кесте). Ең айқын әсер *L. fermentum* штамында байқалды тіршілікке қабілетті жасушалар саны глюкозасыз ортадағы 1,07 × 105 КТБ/мл гидролизат болған жағдайда 3 × 106 КТБ/мл дейін артты. Ал 0,5% глюкозасы бар ортада жасушалар саны 1,1 × 107 КТБ/мл жетті.

L. plantarum үшін 0,5% гидролизат қосу да тіршілікке қабілетті жасушалар санының артуымен қатар жүрді теріс бақылаудағы 3,5 × 107 КТБ/мл көрсеткішінен 7 × 107 КТБ/мл дейін артты. Осы штамм үшін ең жоғары мән 0,5 % глюкоза қолданылған жағдайда байқалып, 1,3 × 108 КТБ/мл құрады.

Екі басқа штаммен салыстырғанда, *L. rhamnosus* үшін 0,5 % гидролизаттың тіршілікке қабілетті жасушалар санына ынталандырушы әсері байқалмады. Гидролизат болған жағдайда КТБ/мл мәні 1,2 × 108 КТБ/мл теріс бақылаудағы мәнмен (1,37 × 108 КТБ/мл) және глюкоза қосылған ортадағы мәнмен 1,5 × 108 КТБ/мл салыстырмалы болды.

48 сағат өсіргеннен кейін КОС құрамды гидролизат қосылған барлық нұсқаларда бастапқы 6,8 мәнімен салыстырғанда pH төмендегені байқалды. *L. fermentum, L. plantarum* және *L. rhamnosus* үшін pH мәндері сәйкесінше 6,16, 6,05 және 6,27 құрады. 0,5% глюкозасы бар ортада pH төмендеуі анағұрлым айқын болды: *L. fermentum* үшін 5,33, *L. plantarum* үшін 4,88 және *L. rhamnosus* үшін 4,86 дейін төмендеді.

1-кесте. 0,5% КОС құрамды бидай сабаны гидролизатының *Lactobacillus* spp. өсуіне әсері

Штамм	MRS глюкозасыз (КТБ/мл)	MRS + 0,5% КОС-гидролизат (КТБ/мл)	MRS + 0,5% глюкоза (КТБ/мл)	pH pH (0,5 % КОС – гидролизат)	pH (0,5 % глюкоза)
L. fermentum	(1,07 ± 0,95) ×105	(3 ± 0,46) ×106	(1,1 ± 0,53) ×107	6,16 ± 0,02	5,33 ± 0,01
L. plantarum	(3,50 ± 1,31) ×107	(7 ± 0,05) ×107	(1,3 ± 0,2) ×108	6,05 ± 0,05	4,88 ± 0,02
L. rhamnosus	(1,37 ± 0,32) ×108	(1,2 ± 0,5) ×108	(1,5 ± 0,2) ×108	6,27 ± 0,01	4,86 ± 0,01

1% КОС құрамды бидай сабаны гидролизатының Lactobacillus spp*. өсуіне әсері*

1% КОС құрамды бидай сабаны гидролизатын қосу глюкозасыз ортамен салыстырғанда *L. fermentum* және *L. plantarum* штамдарының тіршілікке қабілетті жасушалар санының артуымен қатар жүрді (2-кесте). Ең айқын әсер *L. Fermentum* штамында байқалды: тіршілікке қабілетті жасушалар саны глюкозасыз ортадағы 1,07 × 105 КТБ/мл 1% гидролизат болған жағдайда 1,38 × 107 КТБ/мл дейін артты. 1% глюкоза болған жағдайда тіршілікке қабілетті жасушалар саны 2,3 × 107 КТБ/мл құрады.

L. plantarum үшін 1% КОС құрамды гидролизат қосылған кезде тіршілікке қабілетті жасушалар саны 1,43 × 108 КТБ/мл дейін жетіп, глюкозасыз ортадағы 3,5 × 107 КТБ/мл-көрсеткішімен салыстырғанда жоғары болды 1% глюкоза қолданылған жағдайда тіршілікке қабілетті жасушалар саны одан да жоғары болып, 5,07 × 108 КТБ/мл құрады.

L. rhamnosus үшін 1% гидролизат болған жағдайда тіршілікке қабілетті жасушалар саны 1,67 × 108 КТБ/мл құрады, ал глюкозасыз ортада 1,37 × 108 КТБ/мл болды 1% глюкозасы бар вариантта бұл көрсеткіш 2,2 × 108 КТБ/мл жетті. Осылайша, КОС құрамды гидролизаттың аталған штамға әсері *L. fermentum* және *L. plantarum* штамдарымен салыстырғанда төменірек болды.

48 сағат өсіргеннен кейін 1% КОС құрамды гидролизат болған жағдайда ортаның pH мәні бастапқы 6,8 мәнінен *L. fermentum* үшін 6,01 *L. plantarum* үшін 5,95 және *L. rhamnosus* үшін 6,07 дейін төмендеді. 1% глюкозасы бар ортада pH төмендеуі айтарлықтай жоғары болды соңғы мәндер сәйкесінше 4,82, 4,26 және 4,28 құрады.

2-кесте. 1% КОС құрамды бидай сабаны гидролизатының *Lactobacillus* spp. өсуіне әсері

Штамм	MRS глюкозасыз (КТБ/мл)	MRS + 0,5% КОС-гидролизат (КТБ/мл)	MRS + 0,5% глюкоза (КТБ/мл)	pH pH (0,5 % КОС – гидролизат)	pH (0,5 % глюкоза)
L. fermentum	(1,07 ± 0,95) ×105	(3 ± 0,46) ×106	(1,1 ± 0,53) ×107	6,16 ± 0,02	5,33 ± 0,01
L. plantarum	(3,50 ± 1,31) ×107	(7 ± 0,05) ×107	(1,3 ± 0,2) ×108	6,05 ± 0,05	4,88 ± 0,02
L. rhamnosus	(1,37 ± 0,32) ×108	(1,2 ± 0,5) ×108	(1,5 ± 0,2) ×108	6,27 ± 0,01	4,86 ± 0,01

КОС құрамды гидролизаттың зерттелетін *Lactobacillus* штамдарының өсуіне әсері оның концентрациясы мен микроорганизм штамына байланысты ерекшеленді. Гидролизат концентрациясының 0,5%-дан 1,0%-ға дейін артуы *L. fermentum* тіршілікке қабілетті жасушалар санының 3 × 106 – 1,38 × 107 КТБ/мл дейін және *L. plantarum* үшін 7 × 107 – 1,43 × 108 КТБ/мл дейін артуымен қатар жүрді *L. rhamnosus* үшін тіршілікке қабілетті жасушалар санының гидролизат концентрациясына айқын тәуелділігі байқалмады. Гидролизат концентрациясының 0,5%-дан 1%-ға дейін жоғарылауымен қатар барлық үш штаммда да культуралық ортаның pH мәнінің төмендеуі байқалды.

Талқылау

Рекомбинантты *B. sonorensis* ксиланазасы арқылы алдын ала өңделген бидай сабанын ферментативтік гидролиздеу нәтижесінде КОС құрамды гидролизат алынды. Гидролиз өнімдерін ЖҚХ әдісімен талдау оның құрамында ксилобиоза (X2) және ксилотриоза (X3) бар екенін көрсетті, бұл төмен молекулалы КОС-тың түзілгенін растайды [17, 18].

Бидай сабаны гидролизатының *Lactobacillus* өсуіне әсері зерттелетін штамға байланысты болды. Ең айқын әсер *L. fermentum* ATCC 14931 және *L. plantarum* ATCC 14917 штамдарында байқалды, ал *L. rhamnosus* ATCC 53103 үшін гидролизаттың өсуге әсері төменірек болды. *Chinbat* және т.б. [19] ұқсас нәтижелер алған, олар КОС *L. fermentum* өсуін қолдайтынын ал олардың концентрациясының жоғарылауы тіршілікке қабілетті жасушалар санының артуымен қатар жүретінін көрсетті.

КОС құрамды гидролизатты қосу *L. plantarum* ATCC 14917 өсуіне де ықпал етті, бұл ретте неғұрлым айқын әсер 1,0% концентрациясында байқалды. *L. plantarum* штамының КОС қатысуында өсу қабілеті басқа авторлармен де көрсетілген. *Илиев* және т.б. [20] КОС-тің сүт қышқылды бактериялармен пайдаланылуы штамға және олигосахаридтердің полимерлену дәрежесіне байланысты екенін анықтады. *Andressa* және т.б. [21] жүгері собықтарын ферментативтік гидролиздеу арқылы алынған КОС-тің *L. plantarum* штамы тарапынан тиімді пайдаланылғанын анықтады, бұл өсімдік текті КОС-тің пробиотикалық микроорганизмдердің өсуін қолдай алатынын көрсетеді.

L. rhamnosus ATCC 53103 үшін гидролизаттың әсері төменірек болды және *L.fermentum* мен *L. plantarum* штамдарындағыдай оның концентрациясына тәуелділік байқалмады. Сүт қышқылды бактериялардың КОС-ті пайдалану қабілетіндегі айырмашылықтар олардың тасымалдау және ферменттік жүйелерінің ерекшеліктерімен байланысты болуы мүмкін. Атап айтқанда, *Илиев* және т.б. [20] полимерлену дәрежесі әртүрлі КОС-ті пайдалануында айырмашылықтар бар екенін көрсетіп, олардың жасушаішілік ыдырауына β-ксилозидазаның қатысатынын атап өтті.

КОС құрамды гидролизат болған жағдайда культуралық ортаның pH мәнінің төмендеуі де байқалды. Гидролизат концентрациясын 0,5%-дан 1%-ға дейін арттырғанда зерттелген үш штамның барлығында pH мәні төмендеді, алайда бұл төмендеу глюкозаның сәйкес концентрациясы бар ортаға қарағанда азырақ болды. Бұл қарапайым және олигомерлі көмірсуларды пайдалану және олардың ашу өнімдерінің түзілуіндегі айырмашылықтармен байланысты болуы мүмкін.

Қорытынды

Бидай сабанын рекомбинантты *B. sonorensis* ксиланазасын қолдана отырып ферментативті гидролиздеу нәтижесінде КОС бар гидролизат алынды, ол ксилобиоза (X2) және ксилотриозаның (X3) болуымен сипатталды. Алынған гидролизат зерттелген *Lactobacillus* штамдарының өсуіне ықпал етті, әсер ету дәрежесі штамм мен гидролизат концентрациясына байланысты болды. Тіршілікке қабілетті жасушалар санының ең айқын өсуі *L. fermentum* ATCC 14931 және *L. plantarum* ATCC 14917 штамдарында байқалды, ал гидролизаттың әсері *L. rhamnosus* ATCC 53103 үшін төмен болды. Алынған нәтижелер КОС бидай сабаны гидролизатынан алынатын пребиотикалық өнім ретінде одан әрі зерттеу үшін перспективалы өнім екенін көрсетеді.

Авторлардың қосқан үлесі

ЮШ, БЯ, СТ, ДА, АК: зерттеу бойынша әдебиеттерге шолу жүргізді, эксперименттік деректерді алуға, жинауға және өңдеуге, зертханалық зерттеулер жүргізуге, алынған нәтижелерді

талдауға және қорытындылауға, сондай-ақ қолжазбаны дайындауға және рәсімдеуге қатысты. АК: зерттеуге жалпы басшылық жасады, қолжазбаның соңғы нұсқасын дайындады және редакциялады. Барлық авторлар қолжазбаның соңғы нұсқасын оқып, жариялауға мақұлдады.

Қаржыландыру туралы ақпарат

Зерттеу Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің гранттық қаржыландыру аясында AP23487935 «Лигноцеллюлозды шикізаттың ферментативті гидролизі арқылы ксилоолигосахаридтерді зерттеу және алу, оларды қоректік заттар ретінде пайдалану» жобасы бойынша орындалды.

Әдебиеттер тізімі

1 Nogueira-Prieto, N.M., Ansín-Vallejo, C., Becerra-Fernández, M., González-Siso, M.I. (2025). A review of the capacity of xylooligosaccharides to modulate gut microbiota and promote health. *Food Funct.*, 16, 4654–4672. DOI:10.1039/D5FO00169B.

2 Kumar, V., Bahuguna, A., Kumar, S., Kim, M. (2025). Xylooligosaccharides mediated gut microbiome modulation: prebiotics to postbiotics. *Crit Rev Biotechnol.,* 45(5), 1098–1116. DOI:10.1080/07388551.2025.2460852.

3 Kumari, K., Nagar, S., Goyal, S., Maan, S., Chugh, V., Kumar, V., Kharor, N. (2024). Xylooligosaccharide production from lignocellulosic biomass and their health benefits as prebiotics. *Biochem Res Int.,* 2024, 6179375. DOI: 10.1155/2024/6179375.

4 Kumar, R., Næss, G., Sørensen, M. (2024). Xylooligosaccharides from lignocellulosic biomass and their applications as nutraceuticals: a review on their production, purification, and characterization. *J Sci Food Agric.,* 104(13), 7765–7775. DOI: 10.1002/jsfa.13523.

5 Valladares-Diestra, K.K., de Souza Vandenberge, L.P., Vieira, S., Goyzueta-Mamani, L.D., de Mattos, P.B.G., Manzoki, M.C., Soccol, V.T., Soccol, C.R. (2023). The potential of xylooligosaccharide as prebiotics and their sustainable production from agro-industrial by-products. *Foods*, 12(14), 2681. DOI:10.3390/foods12142681.

6 Dong, C.-D., Tsai, M.-L., Nargotra, P., Kour, B., Chen, C-W., Sun, P, -P., Sharma, V. (2023). Bioprocess development for the production of xylooligosaccharide prebiotics from agro-industrial lignocellulosic waste. *Heliyen*, 9(7), e18316. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e18316.

7 Paschoa, J.L.F., Ávila, P.F., Ramalho, E.X., Silva, M.F., Bueno, D., Goldbeck, R. (2024). Production and purification of xylooligosaccharides from surgarcane bagasse and antioxidant potential assessment for functional ingredient application in the food industry. *Industrial Crops and Products*, 208, 117844. DOI: 10.1016/j.indcrop.2023.117844.

8 Rodríguez-Sanz, A., Fuciños, C., Míguez, M., Rúa, M.L., Torrado, A.M. (2024). Direct enzymatic hydrolysis of solid wheat straw with endo-xylanases: Effect of the temperature on the hemicellulose release and the product modulation. *Int. J Biol. Macromol.*, 270, 132211. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.132211.

9 Mensah, R.Q., Show, P.-L., Mussato, S.I., Sriariyanun, M., Rattanaporn, K. (2024). Two-step physico-biological production of xylooligosaccharides from sugarcane leaves. *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, 55, 102962. DOI: 10.1016/j.bcab.2023.102962.

10 Capetti, C.C. de M., Pelligrini, V.O.A., Espirito Santo, M.C., Cortez, A.A., Falvo, M., Curvelo, A.A. da S. et al. (2023). Enzymatic production os xylooligosaccharides from corn cobs: assessment of two different pretreatment strategies. *CarbohydrPolym.*, 299, 120174. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.120174.

11 Wang, X., Tao, Y., Yang, Q., Cheng, Y., Lu, J., Wang, H. (2023). Ammonia and sodium sulfite synergistically pretreat reed to enhance enzymatic saccharification. *Bioresour. Technol.*, 380, 129070. DOI: 10.1016/j.biortech.2023.129070.

12 Zhang, H., Xu, X., Shi, Z., Zhu, L., Shi, S., Wang, X., Liu, X., Han, L. (2025). Lignocellulose deconstruction and mechanistic insights into wheat straw using extrusion-ammoniation synergistic pretreatment. *Ind Crops and Prod.*, 228, 120820. DOI: 10.1016/j.indcrop.2025.120820.

13 Kiribayeva, A., Mukanov, B., Silayev, D., Akishev, Z., Ramankulov, Y., Khassenov, B. (2022) Cloning, expression, and characterization of a recombinant xylanase from Bacillus sonorensis T6. *PLoS ONE*, 17, e0265647. DOI: 10.1371/journal.pone.0265647.

14 Ratnadewi, A.A.I., Rahma, M.T., Nurhayati, N., Santoso, A.B., Senjarini, K., Labes, A., Reza, M. (2022). Production os xylooligosaccharide from cassava pulp's waste by endo- β-1,4-D-xylanase and characterization of its prebiotic effect by fermentation of Lactobacillus acidophilus. *Fermentation*, 8, 488. DOI:10.3390/fermentation8100488.

15 Zarina, R., Mezule, L. (2024). Enzymatic hydrolysis of waste streams originating from wastewater treatment plants. Biotechnol. *Biofuels Bioprod.*, 17(1), 104. DOI:10.1186/s13068-024-02553-x.

16 Kumari, K., Nagar, S., Goyal, S., Maan, S., Sindhu, M., Singh, R., Kumar, V. (2023). Production, characterization and prebiotic potential of xylooligosaccharides produced from wheat bran using Enterobacter hormaechei KS1 xylanase. *Indian J Microbiol*., 63(3), 352–360. DOI:10.1007/s12088-023-01097-2.

17 Hamid, A., Zafar, A., Latif, S., Peng, L., Wang, Y., Liaqat, I., Afzal, M.S., ul-Haq, I., Aftab, M.N. (2023). Enzymatic hydrolysis of low temperature alkali pretreated wheat straw using immobilized β-xylanase nanoparticles. *RSC Advances,* 13, 1434–1445. DOI:10.1039/D2RA07231A.

18 Yin, Y.-R., Li, X.-W., Long, C.-H., Li, L., Hang, Y.-Y., Rao, M.-D., Yan, X., Liu, Q.-L., Sang, P., Li, W.-J., Yang, L.-Q. (2023). Characterization of GH10 extremely thermophilic xylanase from the metagenome of hot spring for prebiotic production. *Sci Rep.*, 13, 16053. DOI:10.1038/s41598-023-42920-6.

19 Chinbat, O., Erdenetsog, P., Tuvshintur, B., Gantumur, A., Burenjargal, M., Chimeddorj, B., Janval, M. (2024). In vitro and in vivo investigation of the biological action of xylooligosaccharides derived from industrial waste. *Food Sci Nutr.,* 12(10), 7877–7884. DOI:10.1002/fsn3.4391.

20 Iliev, I., Vasileva, T., Bivolarski, V., Momchiklova, A., Ivanova, I. (2020). Metabolic profiling of xylooligosaccharides by lactobacilli. *Polymers,* 12(10), 2387. DOI:10.3390/polym12102387.

21 Andressa, I., Nascimento, G.K.S. do, Santos, T.M. dos, Teotônio, D.O., Pacheco, A.F.C., Paiva, P.H.C., Costa Sobrinho, P.S., Rocha, L.O.F., Leite Júnior, B.R.C., Benassi, V.M., Schmiele, M. (2025). Production of xylo-oligosaccharides from corn cobs using a xylanase-rich cocktail produced by Fusarium sp. E.A1.3.1 in free and algimate-immobilized forms, and in vitro fermentation with Lacticaseibacillus rhamnosus Lyofast LRB and Lactiplantibacillus plantarum LMG P-21021L. *Biocatal Agric Biotechnol.,* 69, 103781. DOI: 10.1016/j.bcab.2025.103781.

Ферментативное получение гидролизата пшеничной соломы, содержащего ксилоолигосахариды (КОС), и оценка его влияния на рост лактобацилл

Шамсиева Ю., Якупов Б., Тимощук С., Абдишов Д., Кирибаева А.

ТОО «Национальный центр биотехнологии», Астана, Казахстан

Аннотация

Предпосылки и цель. Пшеничная солома является доступным возобновляемым лигноцеллюлозным сырьем и может использоваться для получения ксилоолигосахаридов (КОС), представляющих интерес в качестве функциональных углеводных компонентов. Целью работы являлось получение КОС-содержащего гидролизата пшеничной соломы с использованием рекомбинантной ксиланазы *Bacillus sonorensis* и оценка его влияния на рост штаммов *Lactobacillus.*

Материалы и методы. Пшеничную солому, предварительно обработанную 18,5%-ым водным раствором аммиака, подвергали ферментативному гидролизу рекомбинантной ксиланазой B. sonorensis. Ферментативный гидролиз проводили при дозировках фермента 50, 100 и 200 ед/г субстрата в течение 24 ч. Содержание восстанавливающих сахаров определяли методом DNS, качественный состав продуктов гидролиза оценивали методом тонкослойной хроматографии. Влияние 0,5 и 1% гидролизата на *Lactobacillus fermentum* ATCC 14931, *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 и *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 оценивали по количеству жизнеспособных клеток и изменению pH культуральной среды.

Результаты. Наибольшее накопление восстанавливающих сахаров наблюдалось при дозировке ксиланазы 200 ед/г и продолжительности гидролиза 24 ч. Методом тонкослойной хроматографии в составе гидролизата выявлены ксилоолигосахариды, представленные преимущественно ксилобиозой (X2) и ксилотриозой (X3). Наиболее выраженное увеличение количества жизнеспособных клеток наблюдалось у *L. fermentum*: при внесении 1% гидролизата

количество жизнеспособных клеток достигало (1,38 ± 0,54) × 107 КОЕ/мл по сравнению с (1,07 ± 0,95) × 105 КОЕ/мл в среде без глюкозы. Для *L. plantarum* так же было отмечено увеличение количества жизнеспособных клеток, тогда как для *L. rhamnosus* эффект был менее выраженным. Повышение концентрации гидролизата с 0,5 до 1% сопровождалось снижением pH культуральной среды.

Заключение. Полученный КОС-содержащий гидролизат пшеничной соломы поддерживал рост исследованных штаммов *Lactobacillus*, при этом выраженность эффекта зависела от штамма и концентрации гидролизата.

Ключевые слова: пшеничная солома; ксилоолигосахариды; ксиланаза; гидролиз; лактобациллы; пребиотики.

Enzymatic production of an xylooligosaccharides (XOS)-containing wheat straw hydrolysate and evaluation of its effect on lactobacilli growth

Yuliya Shamsiyeva, Bakhtiyar Yakupov, Savva Timochshuk, Daulet Abdishov, Assel Kiribayeva

'National Center for Biotechnology' LLP, Astana, Kazakhstan

Abstract

Background and Aim. Wheat straw is an abundant and renewable lignocellulosic feedstock that can be used for the production of xylooligosaccharides (XOS), which are of interest as functional carbohydrate ingredients. The aim of this study was to obtain an XOS-containing wheat straw hydrolysate using recombinant *Bacillus sonorensis* xylanase and to evaluate its effect on the growth of *Lactobacillus* strains.

Materials and Methods. Wheat straw was pretreated with 18.5% aqueous ammonia solution and hydrolyzed using recombinant *B. sonorensis* xylanase. Hydrolysis was investigated at enzyme loading of 50, 100, and 200 U/g substrate over 24 h. Reducing sugar content was determined using DNS method, and the qualitative composition of the hydrolysis products was assessed by thin-layer chromatography. The effects of 0.5 and 1% hydrolysate on *Lactobacillus fermentum* ATCC 14931, *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917, and *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 were evaluated based on viable cell counts and changes in culture medium pH.

Results. The highest reducing sugar concentration was observed at a xylanase loading of 200 U/g after 24 h of hydrolysis. Thin-layer chromatography revealed xylooligosaccharides in the hydrolysate, predominantly xylobiose (X2) and xylotriose (3). The greatest increase in viable cell count was observed for *L. fermentum*: with 1.0% hydrolysate, the viable cell count reached (1.38 ± 0.54) × 10 CFU/mL, compared with (1.07 ± 0.95) × 105 CFU/mL in glucose-free medium. An increase in viable cell count was also observed *L. plantarum*, whereas the effect was less pronounced for *L. rhamnosus*. Increasing the hydrolysate concentration from 0.5 to 1% was accompanied by a decrease in culture medium pH.

Conclusion. The obtained XOS-containing wheat straw hydrolysate supported the growth of the tested *Lactobacillus* strains, with the magnitude of the effect depending on the strain and hydrolysate concentration.

Keywords: hydrolysis; lactobacilli; prebiotics; wheat straw; xylooligosaccharides; xylanase.