

Хүнсний үйлдвэрлэлийн дагавар бүтээгдэхүүнээс богино долгионы үйлчлэлтэйгээр ялган авсан ксилоолигосахаридын пребиотик үйлдлийг тодорхойлсон дүн

Ч.Одгэрэл¹, Э.Пүрэвдулам¹, Г.Анужин², Т.Буянхүү¹, Б.Мөнхжаргал³, Ч.Баттогтох², Ж.Мөнхцэцэг¹

¹АШУУИС, Био-АС, Биохимийн тэнхим

²АШУУИС, Био-АС, Бичил амь судлал-Халдварын сэргийлэлтийн тэнхим

³МУИС, Шинжлэх Ухааны Сургууль, Химийн тэнхим

Цахим иуудан: munkhtsetseg.j@mnus.edu.mn, Утас: 99092287

Түлхүүр үг:

Ксилоолигосахарид
Пребиотик
Bifidobacterium spp
L. fermentum spp
бх ПГУ
Агарт 2 дахин
шингэрүүлэх арга

Товч утга:

Үндэслэл: Энэхүү судалгаа нь хүнсний үйлдвэрийн дайвар бүтээгдэхүүн болох ургамлын хальс, иш, шаар зэрэг нь 25-40% ксилан агуулсан лигноцеллюлозын материалын үнэ цэнэтэй эх үүсвэр болох боломжийг судалсан. Лигноцеллюлоз агуулсан хүнсний үйлдвэрлэлийн дагаварт боловсруулалт хийж биологийн үйлдэл өндөртэй нэмүү өртөг шингэсэн хүнсний нэмэгдэл гаргах боломжтой юм. Лигноцеллюлозын биомассаас ксилоолигосахаридуудыг (КОС) цэвэршүүлэн авснаар ногоон үйлдвэрлэлд хувь нэмэр оруулж, тогтвортой хөгжлийг дэмжих боломжтой. Пребиотик үйл ажиллагаагаараа хүлээн зөвшөөрөгдсөн КОС нь гэдэсний ашигтай нянгийн өсөлтийг дэмжиж, хүнсний шинжлэх ухаан, анагаах ухаан, технологийн салбарт ач холбогдолтой юм. **Зорилго:** Хүнсний үйлдвэрлэлийн дагавар бүтээгдэхүүнээс олигосахарид ялган авч, чанарын үнэлгээ хийх, түүний биологийн зарим үйлдлийг тодорхойлох. **Арга, аргачлал:** Энэхүү судалгаанд Алтан тариа ХХК болон АПУ ХК-ийн нийлүүлсэн улаан буудайн хальс болон шар айраг үйлдвэрлэлд зарцуулагдаад хаягдсан шаарнаас КОС-ыг ялгах, цэвэршүүлэхийн тулд богино долгионы урьдчилсан боловсруулалттай энзимийн гидролизийг ашигласан. Урьдчилан боловсруулалтын үе шат болгон 200°C-т 5 минутын турш богино долгиониор үйлчилж, дараа нь 55°C-т 24 цагийн турш арилжааны ксиланаза (*Thermomyces lanuginosus*, рекомбинант *Aspergillus oryzae*,

2500 ВХУ/г) ашиглан гидролизийг явуулсан. Үүссэн гидролизатыг идэвхжүүлсэн нүүрс болон этилийн спиртээр шүүж ксилоолигосахаридыг цэвэршүүлэв. Цэвэршүүлсэн олигосахаридын бүтэц, найрлагын шинжилгээнд FTIR, NMR спектроскопи, HPLC зэрэг аналитик аргуудыг ашигласан. In vitro туршилтууд нь КОС-аар баяжуулсан орчинг ашиглан *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus fermentum* (ATCC 9338), *Lactobacillus casei* (ATCC 344) зэрэг гэдэсний ашигтай бактерийн өсөлтийг дэмжих чадварыг үнэлэв. Мөн КОС-ын гэдэсний үзүүлэх биологийн нөлөөг тодорхойлохын тулд харх дээр in vivo судалгаа хийсэн. **Үр дүн:** КОС нь 100 г субстрат тутамд 0.25 г ксиланазыг ашиглан 10 гаруй цаг үргэлжилсэн энзимийн гидролизоор гарц өндөртэй байсан. Уг аргаар КОС улаан буудайн хальснаас 87.6% цэвэршилттэй 8.1 гр, шар айраг шаарнаас 89% цэвэршилттэй 7.2 гр цэвэршүүлэн гаргаж авсан. Бүтцийг тодорхойлох физик химийн шинжилгээнүүдээр олигосахарид нь ксилобиоз, ксилотриоз, ксилотетраоз агуулагдаж байгаа нь улаан буудайн хивэгнээс гаралтай ХОС (47.5%), шар айраг үйлдвэрлэгчдийн үр тарианы гаралтай ХОС (47.8%)-д ксилотетраоз давамгайлсан бүрэлдэхүүн хэсэг болох нь батлагдсан. Пребиотик идэвхийг үнэлэн үзэхэд улаан буудайн хальснаас цэвэршүүлэн авсан КОС нь in vitro судалгаагаар *Bifidobacterium spp*-ийн өсөлтийг ихээхэн дэмждэг, болон *L. fermentum* (ATCC 9338) зэрэг нь концентрацаас хамааралтай болохыг тогтоосон бол *L. casei* (ATCC 344)-д мэдэгдэхүйц нөлөө ажиглагдаагүй. In vivo судалгаагаар ХОС-ийн хэрэглээ *Bifidobacterium spp*-ийн болон *Akkermansia muciniphila spp*. Бактерийн төрөл зүйлийг нэмэгдүүлсэн ($p < 0.05$). Мөн КОС-ын хэрэглээ нь цусны сийвэн дэх холестерин, триглицерид, LDL-C-ийн түвшинг бууруулж, HDL-C-ийн түвшинг нэмэгдүүлэн, бодисын солилцооны үр нөлөөсөн. **Дүгнэлт:** Энэхүү судалгаагаар пребиотик идэвхжилтэй КОС-ыг богино долгионы урьдчилсан боловсруулалттай энзимийн гидролизоор хүнсний үйлдвэрийн дагавар бүтээгдэхүүнээс үр дүнтэй ялган, цэвэршүүлэх боломжийг тодорхойлсон. Судалгааны ач холбогдол нь хөдөө аж ахуйн болон үйлдвэрлэлийн хог хаягдлыг функциональ пребиотик үйлдвэрлэх, эмнэлзүйн практик хэрэглээнд нэвтрүүлэх, эрүүл мэнд, хоол тэжээлд үнэ цэнэтэй хэрэглээг санал болгоход ашиглах боломжийг онцолж байна.

Үндэслэл: Хүнс үйлдвэрлэлийн дайвар бүтээгдэхүүнүүд (ургамлын хальс, иш, шаар) нь ЛЦМ баялаг бөгөөд 25-40% ксилан агуулна. Эдгээрийг ашиглан аюулгүй аргаар КОС гаргаж авах нь биотехнологийн салбарт ЛЦМ-ын биомассын үнэ цэнийг өсгөж, ногоон үйлдвэрлэлийг дэмжин, тогтвортой хөгжлийг хангадаг. КОС нь гэдэсний ашигтай бактерийг дэмждэг пребиотик нэгдэл бөгөөд хүнс, анагаах ухаан, технологийн салбарт судалгааны чухал чиглэл болж байна. Хүнс үйлдвэрлэлийн хаягдлаас КОС цэвэршүүлж, чанарыг үнэлэн, био үйлдлийг тодорхойлох нь өргөн боломжтой төдийгүй зах зээлийн эрэлт хэрэгцээнд нийцсэн үр ашигтай био процессуудыг хөгжүүлж байна. КОС нь $\beta(1\rightarrow4)$ гликозидын холбоотой ксилозын нэгдэл юм.

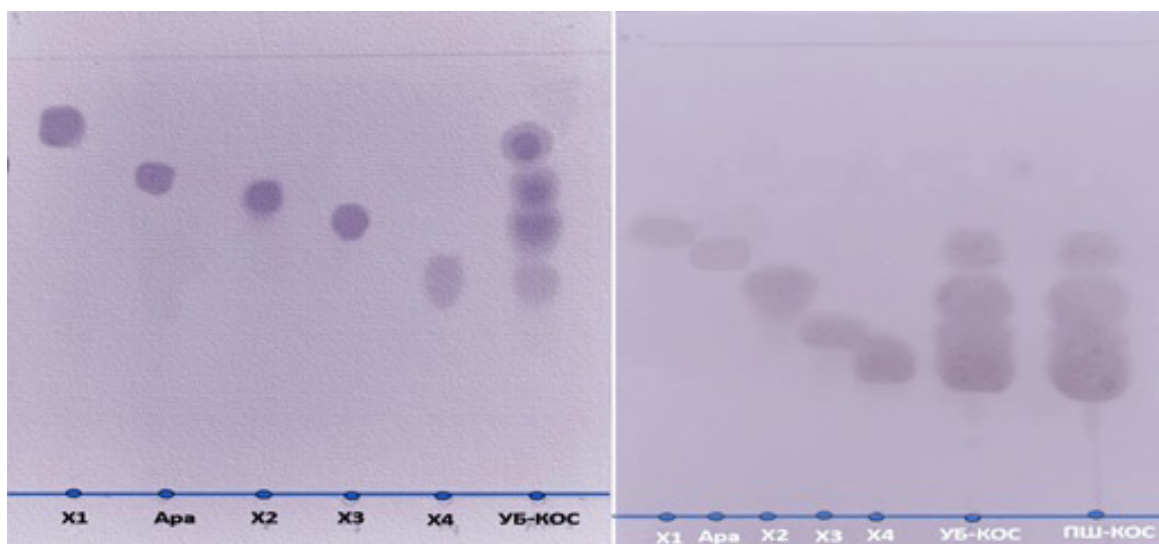
Зорилго: Хүнсний үйлдвэрлэлийн дагавар бүтээгдэхүүнээс олигосахарид ялган авч, чанарын үнэлгээ хийх, түүний биологийн зарим үйлдлийг тодорхойлох

Арга, аргачлал: Алтантариа ХХК-аас Улаан буудайн хальсны хаягдал болох “Хар тоос”, АПУ ХК-ийн шар айргийн хаягдал бүтээгдэхүүн болох шаарнаас богино долгиониор 200°C температурт 5 минут урьдчилсан үйлчлэлж, арилжааны ксиланаза (*Thermomyces Lanuginosus*, рекомбинант, *Aspergillus oryzae*, 2500 бактерийн ксиланаза нэгж/г) 55°C температурт 24 цаг энзимт гидролизын урвалыг явуулж, идэвхижүүлсэн нүүрсээр шүүж, этанолаар тундасжуулан КОС-ыг цэвэршүүлж авсан. Гарган авсан КОС-д агуулагдах олигосахаридын бүтэцд НҮХ, ӨМШХ-ийн шинжилгээгээр шинжилж тоон болон чанарын анализ хийсэн. Биологийн үр дүнг КОС-оор баяжуулсан тэжээлт орчинд *Bifidobacterium* эмнэлзүйгээс ялгасан *spp*, *L.fermentum* ATCC 9338, *L.casei* ATCC 344 омогийн өсөлт дэмжих үйлдлийг

агарт хоёр дахин шингэрүүлэх аргаар *in vitro* орчинд, КОС-р тэжээсэн хархны биологийн үйлдлийг *In vivo* туршилтаар тодорхойлсон.

Үр дүн: Энзимийн гидролизыг 100 г субстратад 0.25 г ксиланаза энзимээр тооцон 10 ба түүнээс дээш цагаар явуулах нь илүү үр дүнтэй. Гарган авсан КОС-ын цэвэршилт нь Улаан буудайн хальсны дээжинд 87.6%, гарц 8.1 г, шар айргийн дээжинд 89%, гарц нь 7.2 г байв. Цэвэршүүлэн авсан олигосахаридын найрлага нь ксилобиоз, ксилотриоз, ксилотетроз агуулагдаж байгааг НҮХ-ийн аргаар, ксилотетроз дахь функциональ бүлгүүд агуулагдаж байгааг НУТны спектроскопын аргаар, ксилобиоз, ксилотриоз, ксилотетроз найрлагатай байгааг тодорхойлов.

Физикийн гарган авсан КОС-ын бүрэлдэхүүнд агуулагдаж байгаа олигосахаридыг НҮХ-ын аргаар КОС-ыг илрүүлэхэд бутанол:цууны хүчил:ус (2:1:1) гэсэн уусгагчийн систем ашигласан. Илрүүлэгчээр анилин-дифениламын ашигласан. Стандартаар ксилоз, арабиноз, ксилобиоз, ксилотриоз, ксилотетрозын 1мг/мл стандарт уусмалыг ашиглав. НҮХ-ын (MERCK 105554 TLC Silica gel 60 F254 Polyester НҮХ-ийн цаас 20×20 см) ялтсыг 10×20 см харьцаатай бэлтгэж дээд болон доод захаас нь 1см зайтай гарааны болон барианы шугам татан ксилоз, арабиноз, ксилобиоз, ксилотриоз, ксилотетрозын уусмалын хоорондын зайг 1.5 см байхаар тэмдэглэж дээж тус бүрээс 4 мкл дусаасан. Судалгааны үр дүнг Зураг 1-д харуулав. УБХ-ны дээжээс цэвэршүүлэн авсан олигосахарид нь ксилоз, арабиноз, ксилобиоз, ксилотриоз, ксилотетраоз найрлагатай байв. ШАШ-наас цэвэршүүлэн авсан олигосахарид нь мөн адил ксилоз, арабиноз, ксилобиоз, ксилотриоз, ксилотетраоз бүтэцтэй тодорхойлогдов.



Зураг 1. КОС-ын мономер найрлагыг тодорхойлсон нимгэн үеийн хроматограмм.

А. УБХ-аас ялган авсан КОС, Б. ШАШ-аас ялган авсан КОС-ын найрлага. X1- Д-ксилоз, ара - арабиноз, X2 - ксилобиоз, X3 - ксилотриоз, X4 - ксилотетроз, УБ-КОС - улаан буудайн хальснаас цэвэршүүлсэн КОС, ШАШ-КОС - шар айргийн шаарнаас цэвэршүүлсэн КОС

Уусгагчийн системээ байршуулсан хроматографийн камерт ялтсаа хийж барианы шугам хүртэл гүйлгэв. Үүний дараа анилин-дифениламинаар шүршиж хатаав.

Нимгэн үеийн хроматограммыг ашиглан стандарт болон КОС-ын Rf утгыг тооцоолж хооронд нь харьцуулав. (Хүснэгт 1)

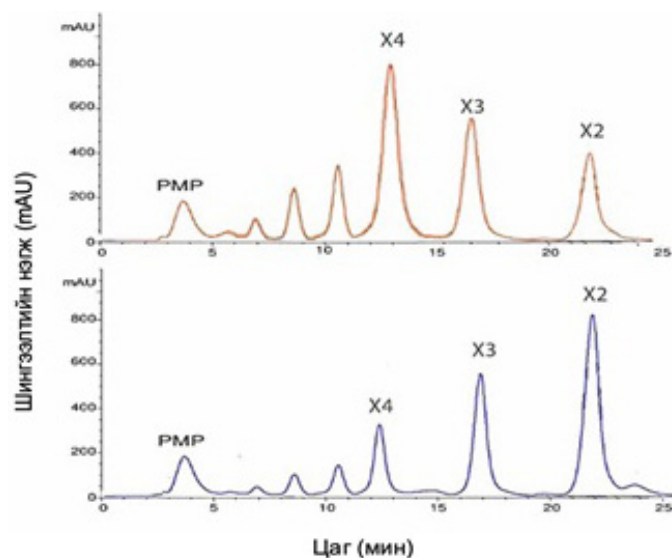
Хүснэгт 1. Стандарт бодис ба дээжид тодорхойлогдсон мономерын Rf утга

№	Моносахарид	Стандарт Rf	УБХ-аас ялгаж авсан олигосахарид Rf	ШАШ-аас ялгаж авсан олигосахарид Rf
1	Ксилобиоз	0.51±0.12	0.50±0.18	0.52±0.19
2	Ксилотриоз	0.41±0.13	0.42±0.14	0.43±0.15
3	Ксилотетроз	0.33±0.11	0.32±0.13	0.32±0.16

Уг дээжид ксилотетроз, ксилотриоз болон ксилобиоз агуулагдаж буй бөгөөд агууламжийн үзүүлэлт нь детекторын хүчин чадлаар хязгаарлагдаж байна. Ксилотетроз нь 13.2±0.5 минут, ксилотриоз

Нимгэн үеийн хроматограмм дээр тооцоолсон КОС-ын Rf утга нь стандартын Rf утгатай ойролцоо гарсан тул бидний гарган авсан УБХ болон ШАШ-ны дээжээс цэвэршүүлэн авсан КОС-д ксилобиоз, ксилотриоз, ксилотетроз гэсэн олигосахарид байгааг баталгаажуулав.

нь 17.5±0.5 минут, ксилобиоз нь 22.04±0.5 минут хугацаанд илэрч байгаа бөгөөд 5 удаагийн давтамжтай шинжилгээг хийж, үр дүнг зураг 2-т харуулав.



Зураг 2. Цэвэршүүлсэн дээжин дэх КОС-ын рефрактограмм.

А. УБХ-аас цэвэршүүлсэн КОС, Б. ШАШ-аас цэвэршүүлсэн КОС,
PMP- 1 фенил-3 метил-5 пиразолоне, X4-ксилотетроз, X3-ксилотриоз, X2- ксилобиоз,

Дээж цэвэршилт болон детекторын чадамжаас хамааран пикийн хэлбэр жигд бус байгаа болно. ӨМШХ-д шинжлэгдсэн 2 дээжээс цэвэршүүлэн авсан

КОС дээжид адилхан зургаан гол пик тодорхойлогдсон. Ксилотетроз 4 дахь пик нь, 5 дахь пик ксилотриоз, 6 дахь пик ксилобиозын стандарттай харьцуулан тогтоов.

Хүснэгт 2. Цэвэршүүлэн авсан КОС найрлага дахь олигосахаридын эзлэх хувь

Үзүүлэлт	Рефрактор хугацаа (минут)	УБХ-аас цэвэршүүлсэн КОС-д олигосахаридын эзлэх хувь	ШАШ-аас цэвэршүүлсэн КОС-д олигосахаридын эзлэх хувь
Ксилотетроз	13.279±0.5	47.84±0.5	21.54±0.5
Ксилотриоз	17.556±0.5	33.27±0.5	30.98±0.5
Ксилобиоз	22.040±0.5	18.89±0.5	47.48±0.5

Гэсэн хэдий ч 7.1 минут (пик 1), 9.2 минут (пик 2) ба 10.6 минут (пик 3) гурван үл мэдэгдэх пик байсан бөгөөд тэдгээрийн бүтцийг нарийвчлан судлах шаардлагатай.

ӨМШХ-ийн 25 минутаас хойш тодорхойлогдсон пикүүдийг дээжид агуулагдах моносахарид, органик бус хүчлийн пик гэж үзсэн

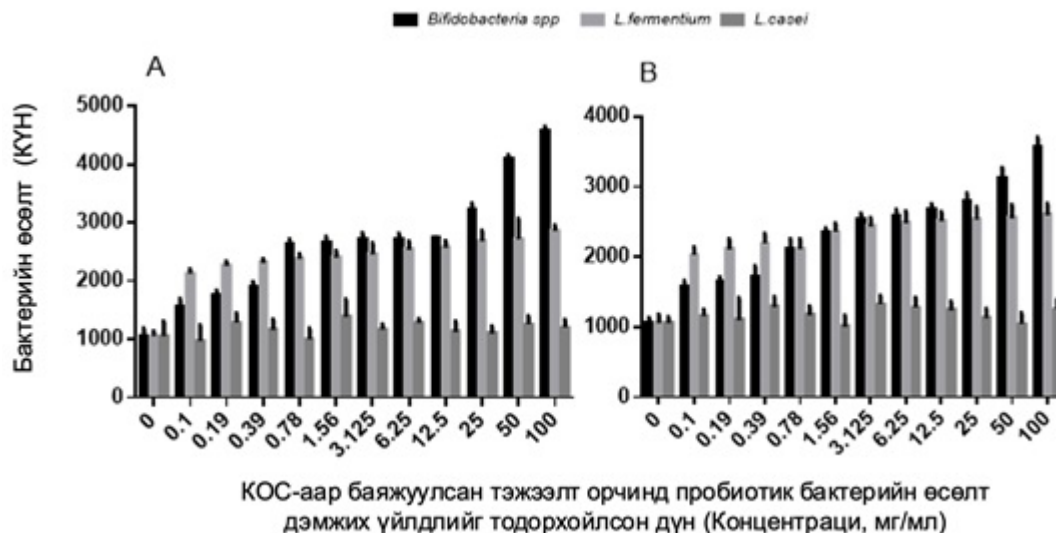
бөгөөд цэвэршүүлэн авсан КОС-ын найрлага дахь олигосахаридын эзлэх хувийг тодорхойлж хүснэгт 2-т үзүүлэв.

УБХ-аас цэвэршүүлэн авсан КОС-ын 18.89% нь ксилобиоз, 33.27% ксилотриоз, 47.84±0.5 ксилотетроз гэж тодорхойлогдов. ШАШ-аас цэвэршүүлэн авсан КОС-ын 21.54% ксилотетроз, 30.98% ксилотриоз,

47.48% ксилобиоз тус тус агуулагдаж байгааг тодорхойлов.

КОС-ыг тэжээлт орчинд нэмж агарт хольж царцааснаар *L.fermentum* ATCC9338, *L.casei* ATCC334 стандартын омог болон хүнээс ялгасан *Bifidobacterium* spp өсөлт дэмжих идэвх концентрацаас хамаарч хэрхэн өөрчлөгдөж байгааг дүгнэсэн үзүүлэлтийг зурагт 3-д үзүүлэв.

КОС-аар баяжуулсан тэжээлт орчинд *Bifidobacterium* spp-ийн омгийн өсгөвөрлөхөд орчин дахь КОС-ын концентрац нэмэгдэх тусам бактерийн колоний тоо нэмэгдэж мөн диаметрийн хувьд томорч байсан ($p < 0.001$). Хоёр тусдаа дээжээс цэвэршүүлсэн КОС-ын хувьд бактерийн өсөлтийг дэмжих үйлдэл ижил, хоорондын ялгаа статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдаагүй ($p = 0.452$).



Зураг 3. КОС-аар баяжуулсан тэжээлт орчинд *L.fermentum* ATCC9338, *L.casei* ATCC334 стандарт омог болон *Bifidobacterium* spp-ийн өсөлтийг дэмжих үйлдэл.

А. УБХ-аас цэвэршүүлсэн КОС, Б. ШАШ-аас цэвэршүүлсэн КОС. Хар багана - *Bifidobacterium* spp, Цайвар саарал багана-*L.fermentum* ATCC9338, саарал багана- *L.casei* ATCC334

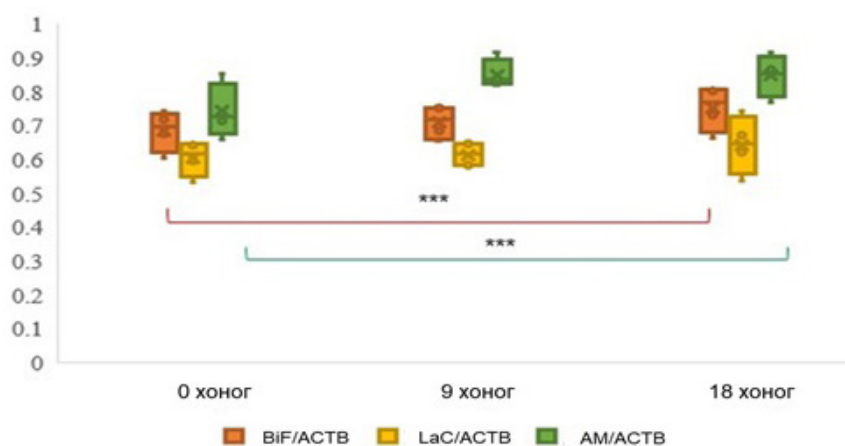
Туршилтыг 3 удаа давтаж гүйцэтгэсэн ба нийт колоний тоог Протокол-3 автомат колони тоологчоор тоолж колони үүсгэгч нэгжийн дунджийг гаргасан бөгөөд болон бифидобактерийг хяналтын өсгөвөрийн КОС баяжуулсан өсгөвөртэй харьцуулан үзэхэд 0.1 г/мл шингэрүүлэлт дээр 41.9 хувиар, 3.12 г/мл дээр 92.5 хувиар, 100г/мл концентрацтай байхад 123.7 хувиар тус тус өсөлтийг дэмжсэн байна.

Мөн туршилтад *L.fermentum* ATCC9338 омогийн өсөлтийг хяналтын омогтой харьцуулахад 0.1 г/мл шингэрүүлэлт дээр 28.2 хувиар, 3.12 г/мл шингэрүүлэлтэд 57.5 хувиар, 100 дахь г/мл концентрацтай байхад 82.3 хувиар тус тус өссөн байгаа нь КОС нь *L.fermentum* ATCC9338 өсөлтийг дэмжиж байгааг харуулж байна.

L.casei ATCC334 омгийн өсөлтийг хяналтын омогтой харьцуулахад 0.1 г/мл шингэрүүлэлт дээр 1.3 хувиар, 3.12 г/мл шингэрүүлэлтэд 5.6 хувиар буурсан бол 100 г/мл концентрац дээр 7.4 хувиар нэмэгдсэн.

УБХ-аас цэвэршүүлсэн КОС нь *Bifidobacterium* spp, *L.fermentum* ATCC 9338, стандарт омгийн өсөлтийг дэмжиж, түүний концентрацаас бактерийн колоний тоо, хэмжээ шууд хамаарч байна. *L.casei* ATCC 334 стандарт омгийн өсөлтийг дэмжих нөлөө байсангүй.

In vivo туршилтаар гэдэсний угаадаст УБХ-аас цэвэршүүлсэн КОС ($p=0.014$) болон ШАШ-аас цэвэршүүлсэн КОС ($p=0.048$), гэдэсний эд дэх *Bifidobacterium* spp., *Akkermansia muciniphila* spp., ($p=0.011$) зэрэг бактерийн өсөлтийг дэмжиж байв. КОС-ыг хүнсэнд хэрэглэх хугацаа нь *Bifidobacterium* spp., *Akkermansia muciniphila* spp. өсөлттэй хамааралтай байна ($p < 0.05$). ХААИС-ийн цөм лабораторийн виварит өсгөж, үржүүлсэн, тусгай, орц технологийн дагуу хооллож, арчилгааны нэг ижил нөхцөлд амьдарч байсан Wistar үүлдрийн 20 харханд КОС-ын биологийн үйлдлийг 18 хоногийн туршиж амаар уулгаж судалсан. АШУҮИС-ийн Судалгааны Ёс зүйн хяналтын хорооны хурлаар хэлэлцүүлэн судалгаа эхлүүлэх зөвшөөрлийг авсан (2017/3-02). Туршилтаас өмнө жингээр ижилсүүлэн санамсаргүй хуваасан амьтны үүрэнд 7 хоног амьдруулан дасгасан. Туршилтаас өмнө үүр тус бүрээс баасыг цуглуулан авсан. Мөн туршилтын 9 дэх хоногт болон туршилтын эцсийн буюу 18 дахь хоногт хархны үүрнээс цуглуулсан баасанд агуулагдах *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., болон *Akkermansia muciniphila* туршилтын үр дүн дэх бактерийн тоог жигдлэн АСВТ харьцуулж 16S рРНХ нуклеотидын дараалалд үндэслэн тоон ПГУ-ын үр дүнг Зураг 4-д харуулав.



Зураг 4. Туршилтын хархны баасанд *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., болон *Akkermansia muciniphila* тоо хэмжээ (хоногоор).

* **Тайлбар:** Туршилтын амьтны баасанд *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Akkermansia muciniphila* spp. харьцангуй тоо хэмжээг туршилтын 3 өөр хугацаанд тодорхойлсон. *Bifidobacterium* spp. (хар өнгө), *Lactobacillus* spp. (саарал), *A. muciniphila* (цагаар) зэргийг тоон ПГУ-аар тодорхойлсон. Бүлэг хоорондын статистикийн ялгааг *** $p < 0.001$ гэж тэмдэглэсэн.

Арилжааны болоод УБХ, ШАШ-аас богино долгионы урьдчилсан боловсруулалттай энзимт гидролизийн аргаар цэвэршүүлэн гарган авсан КОС-ыг уулгахад туршилт эхлэхийн өмнөхтэй харьцуулахад гэдэсний *Bifidobacterium* spp., 23.87-25.58 ($p=0.035$) болон *Akkermansia muciniphila* 26.89-28.27 ($p=0.042$) статистик ач холбогдол бүхий олширч байгаа нь ажиглагдав. *Lactobacillus* spp 23.64 - 22.43 байсан бөгөөд статистик ач холбогдолтой ялгаа ажиглагдсангүй. Баасан дахь бактерийн харьцангуй тоо КОС-аар тэжээсэн хугацаанаас шууд хамаарч нэмэгдэж байгаа зүй тогтол ажиглагдсан.

Гэдэсний угаадас: Хархны туршилтын 18 дахь хоногт егүүтгэн гэдэсний агууламжийг MilliQ усанд 1:1 харьцаатай хольж гомогенжуулсан. Хольцыг 11000 эрг/мин, 15 минут центрифугт эргүүлж супернатантаас пробиотик бактерийн ДНХ ялган бактерийн харьцангуй тоог гаргасан.

Гэдэсний эд: Гэдэсний агууламжийг цэвэрлэсний дараа бүдүүн гэдэсний мухар гэдэс орчмоос 2.5-4 см тайран авч фосфатын (pH 7.4) буферээр угааж 1 мл RNAlater бүхий сорьцийн саванд цуглуулан туршилт хийх хүртэл -80°C температурт хадгалан гэдэсний пробиотик бактерийн харьцангуй тоог тооцоолсон.

КОС-аар 18 хоног тэжээсэн 4 бүлгийн туршилтын хархны гэдэсний угаадас, эдэд *Bifidobac-*

terium spp., *Lactobacillus* spp., болон *Akkermansia muciniphila*-ийн харьцангуй тоог бактерийн тоог жигдлэн ACBT харьцуулж 16S rPHX нуклеотидын дараалалд үндэслэн тоон ПГУ-ын үр дүнг Хүснэгт 3-т үзүүлэв.

Цэвэршүүлэн авсан КОС дээжээр тэжээсэн хархны гэдэсний угаадас, эд дэх *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. болон *Akkermansia muciniphila* 4 бүлэгт харьцуулан судлахдаа бактерийн харьцангуй тооны дундаж утгын стандарт хазайлтыг тооцон бүлэг хоорондын ялгаатай байдлыг нэг чигийн вариацийн шинжилгээгээр (ANOVA) харьцуулж үзэхэд ялгаа ажиглагдаагүй ($p > 0.05$). Хяналтын бүлэгтэй туршилтын бүлгийг харьцуулан статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай тооцон үл хамааралт Т-тестээр үнэлэхэд үйлдвэрийн болон цэвэршүүлэн авсан КОС-д статистик ач холбогдол бүхий өсөлт ажиглагдсан. Гэдэсний угадаст хяналтын бүлгийн тоо хэмжээтэй харьцуулахад ШАШ-ны КОС-т 5.47, арилжааны КОС-т 8.3, УБХ-ны КОС-т 56.6 дахин өсөлттэй тодорхойлогдсон байна. Мөн гэдэсний угадаст *Akkermansia muciniphila* хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад арилжааны КОС-т 1.07, УБХ-ны КОС-т 1.68 ШАШ-ны КОС-т 2.82 дахин өсөлттэй тодорхойлогдсон. Бифидобактери гэдэсний угадаст 3 дээжид, гэдэсний эдэд үйлдвэрийн КОС, УБХ-аас цэвэршүүлсэн КОС-д статистик ач холбогдол бүхий өсөлт ажиглагдсан ($p < 0.05$).

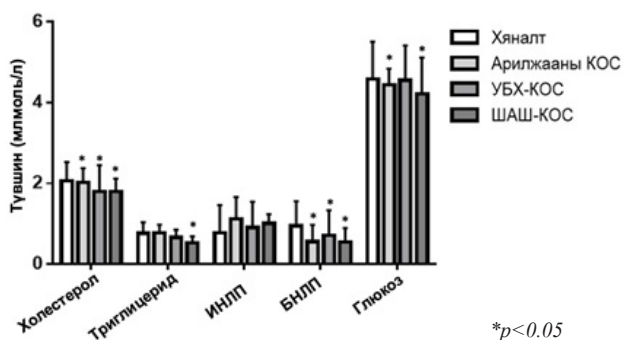
Хүснэгт 3. Гэдэсний угаадас, эд дэх бактерийн ялгаат байдал

Бактерийн төрөл	Шинжлэгдэхүүн	Хяналтын бүлэг	Туршилтын судалгааны бүлэг		
			Эерэг хяналт	УБ-КОС	ШАШ-КОС
<i>Bifidobacterium</i> spp	Гэдэсний угаадас	5.3E-05±4.0E-05	4.4E-04±2.5E-04	3.0E-03±1.6E-03	2.9E-04±2.5E-04
	Гэдэсний эд	2.2E-04±1.3E-04	3.7E-04±2.1E-04	3.2E-04±2.1E-03	2.2E-04±1.4E-04
<i>Lactobacillus</i> spp	Гэдэсний угаадас	9.7E-03±5.9E-03	4.5E-03±2.1E-03	3.1E-03±2.6E-03	9.5E-04±9.3E-04
	Гэдэсний эд	2.2E-02±1.3E-02	6.5E-03±3.7E-03	2.2E-04±1.4E-03	2.5E-03±6.1E-05
<i>Akkermansia muciniphila</i>	Гэдэсний угаадас	3.9E-06±2.4E-06	4.2E-06±3.1E-06	6.3E-06±5.4E-06	1.1E-05±1.0E-05
	Гэдэсний эд	1.8E-05±1.2E-05	3.8E-06±2.9E-06	6.3E-07±2.9E-06	1.3E-05±8.7E-06

Тайлбар: УБ-КОС улаан буудайн хальсны КОС, ШАШ-КОС шар айргийн шаарны КОС. Бүлэг хооронд статистик ($p < 0.05$) ач холбогдол бүхий ялгаатай гарсан үр дүнг тодруулав:

Туршилтын харханд өөх тосны зарим үзүүлэлтийг үнэлэн хяналтын бүлэгт холестерол 2.1 ± 0.5 ммоль/л, триглицерид 0.8 ± 0.3 ммоль/л, БНЛП 0.95 ± 0.6 ммоль/л, ИНЛП 0.78 ± 0.7 ммоль/л, глюкоз 4.6 ± 0.9 ммоль/л тодорхойлогдсон.

УБХ-аас цэвэршүүлсэн КОС нь холестерол 1.8 ± 0.7 ммоль/л, триглицерид 0.7 ± 0.2 ммоль/л, БНЛП 0.71 ± 0.6 ммоль/л, глюкоз 4.5 ± 0.8 ммоль/л түвшинг багасгаж байсан бол ИНЛП 0.9 ± 0.6 ммоль/л түвшинг ихэсгэж байв. ШАШ-аас цэвэршүүлсэн КОС нь холестерол 1.8 ± 0.3 ммоль/л, триглицерид 0.5 ± 0.2 ммоль/л, БНЛП 0.55 ± 0.3 ммоль/л, глюкоз 4.2 ± 0.9 ммоль/л түвшинг багасгаж байсан бол ИНЛП-ын 1.01 ± 0.2 ммоль/л түвшинг ихэсгэж байв. (Зураг 5)



Зураг 5. КОС-ын бодисын солилцоонд үзүүлэх нөлөө.

Хар саарал өнгөөр хяналтын бүлгийг, саарал өнгөөр арилжааны КОС-аар гэжээсэн, цайвар саарал өнгөөр УБ-КОС-ыг, цагаан өнгөөр ШАШ-КОС-ыг тус тус тэмдэглэсэн. Хяналтын бүлэгтэй туршилтын бүлгийг харьцуулан статистик ач холбогдол бүхий ялгаат байдлыг $*p < 0.05$ тооцсон.

Сорил туршилтын дүнд КОС нь хяналтын бүлгийн хархтай харьцуулахад цусны сийвэнгийн холестерол УБХ-аас цэвэршүүлсэн КОС 14 хувиар ШАШ-аас цэвэршүүлсэн КОС 12.3 хувиар, триглицеридыг ШАШ-аас ялгасан КОС 27.6 хувиар, БНЛП-ын түвшинг арилжааны КОС 41.2 хувь, УБХ-аас цэвэршүүлсэн КОС 25.05 хувь, ШАШ-аас цэвэршүүлсэн КОС 41.6 хувь статистик ач холбогдол бүхий бууруулж, ИНЛП-ын түвшинг ихэсгэж байв. ШАШ-аас цэвэршүүлсэн авсан КОС нь статистик ач холбогдол бүхий илүү нөлөөлж байна. КОС нь цусны сийвэнгийн холестерол, триглицерид, БНЛП-ын түвшинг бууруулах, ИНЛП хэмжээг ихэсгэх замаар бодисын солилцоонд нөлөөлж байна.

Хэлцэмж: Богино долгионоор урьдчилсан боловсруулалт хийх нь богино долгионоор ургамлын эсийн хананд энергийг шингээж, цахилгаан соронзон орны хэлбэлзлээр туйлт молекулын хөдөлгөөнөөр үүссэн дулааны энергиэр “халуун цэг” үүсгэж эсийн дотор дулааны энерги жигд тархаж усны чөлөөт молекулыг хөдөлгөөнд оруулан ЛЦМ-ын полимерийг задлах аргаар гомоцеллюлозыг задалж чөлөөлдөг. Мөн энэ аргын давуу тал нь аутогидролиз явагддаг тул хүчил, шүлтийн урьдчилсан боловсруулалтаас ялгаатай нь саармагжуулах уусмалнэмэх шаардлагагүй, үйлдвэрийн явц дахь химийн хаягдалгүй арга гэдгээрээ давуу талтай, ногоон технологи бөгөөд уламжлалт өндөр

температурын халаалттай харьцуулахад цаг хугацаа бага зарцуулах төдийгүй тусгай тоног төхөөрөмж шаардахгүйгээр КОС гарган авах боломжтой КОС-ын үйлдвэрлэлийн үр ашгийг дээшлүүлдэг шинэлэг технологи гэж үзэж байна. Богино долгионоор ЛЦМ массыг урьдчилан үйлчилснээр ургамлын эсийн хананы хамгаалалтын нийлмэл бүтцийг задалж, ксилан чөлөөлөгдөх боломжийг нэмэгдүүлж улмаар цаашид энзимт гидролизын урвал явах орчинг бүрдүүлэхэд шаардагдах хугацааг эрс багасгаж, КОС-ын гарцыг сайжруулдаг.¹⁻³

КОС-ыг цэвэршүүлэхийн тулд ксиланы энзимт гидролизд гол төлөв эндо-1,4-ксиланазагийн төрлийн энзимийг ашигладаг бөгөөд энэ энзимийн үйлчлэлээр ксилан полимер дэх гликозидын холбоо задарч янз бүрийн урттай КОС үүсгэдэг.⁴

Ксиланы гидролизоор гаргаж авсан функциональ олигосахарид болох КОС нь эрүүл мэндийн олон талын ач холбогдолтой байдаг. Bifidobacteria болон Lactobacillus зэрэг гэдэсний ашигтай бактерийн өсөлтийг өдөөдөг пребиотик нөлөө үзүүлдэг.⁵ Ксилоолигосахарид нь ихэвчлэн β -1,4 гликозидын холбоогоор холбогдсон 2-10 ксилозоос бүрдсэн, 1-2 арабинозын мономер агуулсан олигосахарид юм. КОС-ын физик шинж чанар нь хоол хүнс, эмийн үйлдвэрт тэдгээрийн функциональ хэрэглээг ойлгоход зайлшгүй шаардлагатай. КОС нь уусамтгай, зуурамтгай, молекулын жин бага, дулаанд тэсвэртэй шинж чанартай холимог юм. Бидний судалгаанд цэвэршүүлсэн олигосахарид нь ксилобиоз, ксилотриоз, ксилотетроз агуулагдаж байгааг НҮХ-ийн аргаар тодорхойлогдсон төдийгүй, β гликозидын холбоот нэгдэл байгаа нь ксилотетрозын стандарттай харьцуулсан функциональ бүлгүүдтэй адил байгааг НҮТ-ийн спектрийн аргаар тодорхойлсон.⁶

КОС-ын пребиотик шинж чанар, антиоксидант үйлдлийг судлан тогтоох зорилгоор in vitro судалгааны аргыг ашигладаг. Энэ судалгааны ажлаар УБХ болон ШАШ-аас богино долгионы урьдчилсан боловсруулалттай энзимийн гидролизоор гарган авсан КОС-ын Bifidobacterium болон Lactobacillus төрлийн өсөлтийг дэмжих үйлдлийг судлан тогтоох зорилгоор агарт 2 дахин шингэрүүлэх аргыг хэрэглэж туршсан. Судалгааны үр дүнд Bifidobacterium нь КОС-ын бага концентрацтай байсан ч өсөлт дэмжих үйлдэлтэй байсан бөгөөд агарт агуулагдах КОС-ын концентрацаас шууд хамааралтайгаар Bifidobacterium spp-ийн өсөлт тооны хувьд олширч, бактерийн колоний тоо олширч, диаметрийн хувьд томорч байсан. Бидний судалгаагаар КОС нь хамгийн бага концентрац 0.1г/мл байхад ч бифидобактерийн өсөлтийг дэмжиж байсан бөгөөд хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад 127%-иар нэмэгдэж байв. КОС нь Bifidobacterium-ийн өргөн хүрээний зүйлийн өсөлтийг дэмждэг болох нь тогтоогдсон. Харин КОС-ын Lactobacillus-ийн зөвхөн 69% нь ижил төстэй хариу үйлдэл үзүүлсэн болохыг судлаачид мөн дурдсан байна. Мөн L.fermentum-ийн идэвхжил нь шинжилгээнд хамрагдсан хоёр Lactobacillus омгийн 82.3% -иар нотлогдсон боловч КОС-ын хэрэглээ нь L.casei омгийн өсөлтийг дэмжээгүй тухай судалгааны бүтээлүүд байна.

Zhoupin Li нарын (2015) судалгаанд КОС нь эрүүл насанд хүрэгчдэд лактобациллийг нэмэгдүүлэхгүйгээр *in vivo* Bifidobacterium-ийн тоог нэмэгдүүлж байгааг тогтоосон. Энэ судалгаагаар Bifidobacterium-ийн 35 болон Lactobacillus-ийн 29 омгийн өсөлтөд КОС-ын нөлөөг *in vitro* нөхцөлд үнэлэв. КОС-ын өсөлт дэмжих үйлдлийг агарт 100-0.1 мг/мл концентрац хүртэл хоёр дахин шингэрүүлэх аргаар тодорхойлсон. Bifidobacterium омгийн 86%-ийн өсөлтийг 1.56 мг/мл КОС, 6.25 мг/мл КОС-д 100%-д хүргэсэн. Lactobacillus омгийн 38%-ийн өсөлтийг 1.56 мг/мл КОС, 62%-ийг 6.25 мг/мл КОС-д идэвхжүүлсэн. Lactobacillus-ийн 31% нь КОС-аар өсгөвөрлөгдөөгүй.⁷ Манай судалгааны үр дүнгээс харахад КОС нь бифидобактерийн өсөлтийг дэмжих үйлдэлтэй байна. Бидний судалгаанд ашигласан L.fermentum ATCC9338 омгийн өсөлтийг дэмжих үйлдэлтэй нь батлагдаж, харин L.casei ATCC334 омогт хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад ялгаагүй байсан нь лактобациллын зарим зүйлд КОС ферментацлагддаггүй гэдэг дээрх судлаачийн үр дүнтэй дүйж байна. КОС нь пребиотик бөгөөд ялангуяа гэдэсний бифидобактерийн төрөл зүйлийн өсөлтийг түлхүү дэмжих үйлдэлтэй гэсэн бусад судлаачдын үр дүнтэй бидний үр дүн дүйж байна.

Kathiresan нарын (2021) судалгаанд чихрийн нишингээс шүлтийн урьдчилсан боловсруулалттай энзимийн гидролизээр гаргаж авсан КОС-ын пребиотик идэвхийг *in vitro* орчинд зарим ашигтай бактерийн өсөлтийг дэмжих үйлдлийг судлан үзэхэд их пребиотик индексийг L.plantarum (1.92), L.fermentum (1.61)-д бөгөөд өндөр пребиотик онооны хувьд L.plantarum (1.9), L.fermentum (17)-д ажиглагдсан. Мөн КОС нь E.fecalis (13мм) болон Streptococcus pyogenes (11мм)-ийн эсрэг Enterococcus faecium-ийн бактерицид шинж чанартай байгааг судлан тогтоосон байна.⁸

Zhang нарын (2019) КОС-ыг *In vivo* орчинд судалж Sprague-Dawley үүлдрийн эр харханд 35 хоногийн турш 60 г/кг КОС агуулсан хүнсний нэмэлт тэжээлийг өгч судлахад бүдүүн гэдэсний бичил биетэнд Bifidobacterium-ийн агууламж мэдэгдэхүйц нэмэгдэж, Escherichia coli-ийн түвшин буурсан болохыг тогтоосон. Бифидобактери нь дархлааг сайжруулж, үрэвслийг бууруулах зэрэг эрүүл мэндийн төрөл бүрийн ашиг тустай тул бичил биетний бүрэлдэхүүн дэх энэ өөрчлөлт гэдэсний эрүүл орчин сайжирч байгааг харуулж байна.⁹

Yang Lyu нарын эрдэмтдийн 2020 онд хийсэн насанд хүрсэн мууранд хийсэн судалгаанд өндөр концентрацтай КОС 0.4%, целлюлоз 0.6%, бага концентрацтай КОС 0.04%, целлюлоз 0.96% болон КОС-гүй 1%-ийн целлюлозоор хооллон судалсан туршилтын судалгаанд КОС туршилтын аль аль бүлэгт нь Blautia, Clostridium XI, Collinsella, Bifidobacterium зэрэг бактерийн тоо нэмэгдэж, Megaspheara тоо буурсан байна. Бага концентрацтай КОС-оор хооллосон бүлэгт нь өтгөний pH болон стрептококк, лактобациллийн бактерийн тоог нэмэгдүүлж, цусан дахь глутарил карнитиний концентрацыг бууруулж, катенибактерийн тоог бууруулж байгаа нь тогтоогдсон.¹⁰

Anna Manberger нарын судлаачдын 2020 онд

хийсэн судалгаагаар КОС нь пробиотик Lactobacillus brevis омгууд болон Bifidobacterium-ийн олон төрөл зүйлд ферментацлагддаг пребиотик юм. Мөн Weissella cibaria 92 омогт ферментацлагдаж сүүний болон цууны хүчил үүсгэж энэ төрлийн пробиотик бактерийн өсөлтийг дэмжиж Weissella омгууд нь гэдэсний эмгэгтөрөгч бактерийн өсөлтийг дарангуйлж, дархлааг дэмжих замаар гэдэсний эрүүл орчныг хадгалахад тусалдаг болохыг судлан тогтоосон.¹¹ Харханд хийсэн манай судалгаагаар КОС-аар 18 хоног тэжээсэн бүлгийг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад статистик ач холбогдол бүхий биений жин буурсан, цусны сийвэн дэх нийт холестерол, триацилглицерол, БНЛП хэмжээ буурсан нь КОС бодисын солилцоонд эергээр нөлөөлөх боломжтой болохыг харуулсан юм. Энэ нь гэдэсний бактерийн зүйлийн бүрдэл өөрчилдөг, липидийн солилцоотой холбоотой генийн зохицуулалт, БХТХ-ийн үүсэлтийг нэмэгдүүлэх зэрэг олон механизмаар тайлбарлагдана. Бүдүүн гэдсэнд байршдаг пробиотик бактериар КОС нь ферментацлагдаж, ацетат (2C), пропионат (3C), бутират (4C) зэрэг БХТХ үүсгэж липидийн исэлдэлтийг сайжруулж, өөхний эдэд тосны хүчлийн хуримтлалыг бууруулж, улмаар ийлдсийн липидийн түвшинг бууруулах үйлдэл үзүүлнэ.

Chen нарын (2012) судалгаагаар БХТХ нь гэдэсний эрүүл орчныг дэмжихээс гадна системийн бодисын солилцоонд нөлөөлдөг болохыг тогтоосон. Жишээлбэл, бутират (4C) нь элгэн дэх холестеролын нийлэгжилтийг дарангуйлж, ялгаралтыг дэмжих замаар липидийн солилцоонд, инсулины мэдрэг байдлыг нэмэгдүүлж, үрэвслийг багасгах замаар глюкозын гомеостазыг зохицуулж, улмаар таргалалт, чихрийн шижин хэв шинж 2 зэрэг бодисын солилцооны эмгэгийн эрсдэлийг бууруулдаг болохыг тогтоосон судалгааны үр дүнтэй дүйж байна.¹²

Дүгнэлт: Богино долгионы урьдчилсан боловсруулалттай, энзит гидролизын аргаар ЛЦМ агуулсан үйлдвэрлэлийн хаягдал бүтээгдэхүүнээс пребиотик идэвхит Ксилоолигосахарид цэвэршүүлэн авах боломжтой юм.

Ном зүй:

1. Valladares-Diestra KK, de Souza Vandenbergh LP, Vieira S, et al. The Potential of Xylooligosaccharides as Prebiotics and Their Sustainable Production from Agro-Industrial by-Products. *Foods*. 2023;12(14):2681.
2. Manicardi T, Silva GBe, Longati AA, et al. Xylooligosaccharides: A Bibliometric Analysis and Current Advances of This Bioactive Food Chemical as a Potential Product in Biorefineries' Portfolios. *Foods*. 2023;12(16):3007. doi:10.3390/foods12163007
3. Corim Marim AV, Gabardo S. Xylooligosaccharides: prebiotic potential from agro-industrial residue, production strategies and prospects. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2021/10/01/ 2021;37:102190. doi:https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102190
4. Wang T-H, Lu S. Production of xylooligosaccharide from wheat bran by microwave assisted enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*. 2013/06/01/ 2013;138(2):1531-1535. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.124
5. Zheng H, Sun M, Meng LC, et al. Purification and Characterization of a Thermostable Xylanase From Paenibacillus Sp. NF1 and Its Application in Xylooligosaccharides Production. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2014;24(4):489-496.

- doi:10.4014/jmb.1312.12072
6. Bian J, Peng F, Peng X-P, Peng P, Xu F, Sun R-C. Structural features and antioxidant activity of xylooligosaccharides enzymatically produced from sugarcane bagasse. *Bioresource technology*. 2013;127:236-241.
 7. Li Z, Summanen PH, Komoriya T, Finegold SM. In vitro study of the prebiotic xylooligosaccharide (XOS) on the growth of *Bifidobacterium* spp and *Lactobacillus* spp. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2015;66(8):919-922.
 8. Kathiresan N, Gopal L, Karuppiyah V, Naveenethan R, Abraham DR, Thangavel K. Utilization of Agricultural Waste for the Production of Xylooligosaccharides Using Response Surface Methodology and Their In Vitro Prebiotic Efficacy. 2021;
 9. Zhang Y, Yang H, Yu X, et al. Synergistic Effect of Acetyl Xylan Esterase From *Talaromyces Leycetanus* JCM12802 and Xylanase From *Neocallimastix Patriciarum* Achieved by Introducing Carbohydrate-Binding Module-1. *Amb Express*. 2019;9(1)doi:10.1186/s13568-019-0740-6
 10. Lyu Y, Debevere S, Bourgeois H, et al. Dose-Dependent Effects of Dietary Xylooligosaccharides Supplementation on Microbiota, Fermentation and Metabolism in Healthy Adult Cats. *Molecules*. 2020;25(21):5030. doi:10.3390/molecules25215030
 11. Månberger A, Verbrugghe P, Guðmundsdóttir EE, et al. Taxonomic assessment and genomic characterisation of *Weissella cibaria* strain 92 able to metabolise oligosaccharides derived from dietary fibres. *Scientific reports*. 2020;10(1):5853.
 12. Chen HH, Chen Y-K, Chang HC, Lin SY. Immunomodulatory Effects of Xylooligosaccharides. *Food Science and Technology Research*. 2012;18(2):195-199. doi:10.3136/fstr.18.195

Assessment of Prebiotic Activity of Xylooligosaccharides Extracted from Food Industry By-Products via Microwave assisted enzymatic hydrolysis

Odgerel Ch¹, Purevdulam E¹, Anuujiin G², Buyankhuu T¹, Munkhjargal B³, Battogtokh Ch², Munkhtsetseg J¹

¹Department of Biochemistry, School of Bio-medicine, MNUMS

²Department of Microbiology and Infection Prevention Control, School of Bio-Medicine, MNUMS

³Department of Chemistry, School of Arts and Sciences, National University of Mongolia

E-mail: munkhtsetseg.j@mnum.edu.mn, Tel: +976-99092287

Background: This study explores the potential of food industry by-products, such as plant peels, stems, and slags, as valuable sources of lignocellulosic material (LCM), which contains 25-40% xylan. These underutilized resources, often discarded as waste, hold the promise of sustainable applications in biotechnology. By safely extracting xylooligosaccharides (XOS) from LCM biomass, the value of these materials can be significantly enhanced, contributing to green production and supporting sustainable development. XOS, recognized for its prebiotic activity, has been shown to promote the growth of beneficial gut bacteria, making it a vital research area in the fields of food science, medicine, and technology.

Aim: To extract and characterize oligosaccharides derived from by-products of the food industry, evaluate their physico-chemical properties, and investigate selected biological activities.

Materials and Methods: This study utilized microwave pretreatment and enzymatic hydrolysis to isolate and purify XOS from wheat bran and brewers' spent grains (BSG), provided by Altan Taria LLC and APU CoL, respectively. Microwave irradiation at 200°C for 5 minutes was employed as a pretreatment step, followed by hydrolysis using commercial xylanase (*Thermomyces lanuginosus*, recombinant *Aspergillus oryzae*, 2500 BXU/g) at 55°C for 24 hours. The resulting hydrolysate underwent filtration with activated carbon and ethanol precipitation to yield purified XOS. Analytical methods, including FTIR spectroscopy, TLC and HPLC, were used for structural and compositional analysis of the purified oligosaccharides. In vitro tests evaluated the ability of XOS to support the growth of beneficial gut bacteria, including *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus fermentum* (ATCC 9338), and *Lactobacillus casei* (ATCC 344), using XOS-enriched media. Additionally, in vivo studies were conducted on rats to determine the biological effects of XOS on gut microbiota.

Results: The results demonstrated that prolonged enzymatic hydrolysis for more than 10 hours, using 0.25 g of xylanase per 100 g of substrate, resulted in optimal yields. XOS purity was measured at 87.6% with an 8.1 g yield from wheat bran and 89% purity with a 7.2 g yield from brewers' spent grains. Structural analysis confirmed the presence of xylobiose, xylotriose, and xylotetraose, with xylotetraose being the most abundant component in WBP-XOS (47.5%), and xylobiose dominating BGS's derived XOS (47.8%). Biological effects revealed that wheat bran-derived XOS significantly supported the growth of *Bifidobacterium* spp. and *L. fermentum* (ATCC 9338) in a concentration-dependent manner, whereas no significant effect was observed on *L. casei* (ATCC 344). In vivo studies confirmed that XOS consumption increased populations of *Bifidobacterium* spp. and *Akkermansia muciniphila* spp. in gut microbiota ($p < 0.05$). Furthermore, XOS consumption reduced plasma cholesterol, triglycerides, and LDL-C levels while increasing HDL-C levels, demonstrating metabolic benefits.

Conclusion: This research establishes that XOS with prebiotic activity can be efficiently extracted and purified from food industry by-products using microwave-assisted enzymatic hydrolysis. This approach highlights the potential of utilizing agricultural and industrial waste for producing functional prebiotics, contributing to sustainable practices and offering valuable applications in health and nutrition.

Keywords: Xylooligosacchrides, prebiotic, *Bifidobacterium* spp, *L. fermentum* spp, Real time PSR, Agar dilution methods