

Научная статья

УДК 579.66

DOI: 10.17586/2310-1164-2025-18-4-36-44

Использование гидролизата пшеничных отрубей для продуцирования ксантановой камеди

Г.Ф. Курбанов^{1,2}, А.О. Причепа¹, Е.Ю. Иванова^{1,2}, В.Э. Путилов^{1,2}, Н.Ю. Шарова^{1,2*}

¹ВНИИ пищевых добавок – филиал ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова, РАН
Россия, Санкт-Петербург, *n.sharova@fncps.ru

²Университет ИТМО, Россия, Санкт-Петербург

Аннотация. Изучали возможность использования гидролизата пшеничных отрубей (ПО) в качестве альтернативного и экономически выгодного источника углерода для микробного биосинтеза ксантановой камеди. Объектом исследования выбрана бактерия *Xanthomonas campestris* штамм В-6720. Культивирование проводили на питательных средах, источником углерода в которых служил ферментативный гидролизат ПО. Гидролиз осуществляли при 50°C и pH 4,5 в течение 24 ч с использованием пула ферментов: целлюлазы, амилазы, глюкоамилазы и протеазы. Выход камеди определяли гравиметрическим методом после осаждения из культуральной жидкости изопропиловым спиртом. Содержание редуцирующих сахаров определяли эбулиостатическим методом. Статистическую значимость различий оценивали с помощью критерия Манна–Уитни ($p < 0,05$). Гидролиз ПО проводили в присутствии практически идентичного набора ферментов по двум схемам (с разницей в наличии ксиланазы в одной группе и в отсутствии ксиланазы в другой), а также учитывали контрольные образцы без ферментов. Полученные гидролизаты использовали в качестве основы питательных сред для культивирования продуцента в течение 72 ч в условиях шейкер-инкубатора. После ферментации ксантановую камедь выделяли, сушили и взвешивали. Содержание редуцирующих сахаров в гидролизатах составило 20–22 г/дм³, что незначительно превышало показатель в контроле (15 г/дм³). Добавление ксиланазы не привело к статистически значимому увеличению выхода сахаров. Наибольший выход ксантановой камеди достигнут на среде с гидролизатом без ксиланазы и составил 8,2 г/л. В контрольном варианте выход был ниже – 6,5 г/л, а при использовании ксиланазы – наименьший (5,8 г/л). Снижение выхода камеди в варианте с ксиланазой связывали с ингибирующим действием побочных продуктов гидролиза лигноцеллюлозного комплекса. Дополнительно подтверждена амилолитическая активность штамма, что объясняет возможность ферментации крахмала, содержащегося в отрубях. Таким образом, гидролизат пшеничных отрубей без применения ксиланазы показал себя как эффективная среда для биосинтеза ксантановой камеди с выходом, сопоставимым с использованием стандартных субстратов со сниженной стоимостью питательной среды.

Ключевые слова: пищевые биотехнологии; пшеничные отруби; гидролиз вторичного сырья; ксантановая камедь; *Xanthomonas campestris*

Original article

Using wheat bran hydrolysate medium for xanthan gum production

Gabdulla F. Kurbanov^{1,2}, Artem O. Pritchepa¹, Ekaterina Yu. Ivanova^{1,2}, Vladislav E. Putilov^{1,2}, Natalya Yu. Sharova^{1,2*}

¹All-Russian Scientific Research Institute of Food Additives –

Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS,

St. Petersburg, Russia, *n.sharova@fncps.ru

²ITMO University, St. Petersburg, Russia

Abstract. Research objective – to evaluate the potential of using wheat bran hydrolysate (WB) as an alternative and cost-effective carbon source for the microbial biosynthesis of xanthan gum. The study focused on the bacterium *Xanthomonas campestris* strain V-6720. Cultivation was carried out in nutrient media where the carbon source was enzymatic wheat bran hydrolysate. Hydrolysis was performed at 50°C and pH 4.5 for 24 hours using an enzyme cocktail comprising cellulase, amylase, glucoamylase, and protease. The gum yield was determined gravimetrically after precipitation from the culture broth with isopropyl alcohol. The reducing sugar content was measured using an ebulliostatic method. Statistical significance of differences was assessed using the Mann–Whitney U test ($p < 0.05$). WB hydrolysis was carried out with an almost identical enzyme set according to two schemes (differing by the presence of xylanase in one group and its absence in the other), with control samples without enzymes also included. The resulting hydrolysates were used as the base for nutrient media to cultivate the producer strain for 72 hours in a shaker incubator. After fermentation, the xanthan gum was isolated, dried, and weighed. The reducing sugar content in the hydrolysates was 20–22 g/dm³, which was slightly higher than in the control (15 g/dm³). The addition of xylanase did not lead to a statistically significant increase in sugar yield. The highest xanthan gum yield of 8.2 g/L was achieved using the medium with hydrolysate produced without xylanase.

The yield was lower in the control medium (6.5 g/L) and the lowest (5.8 g/L) when xylanase was used. The decrease in gum yield in the xylanase treatment is attributed to the inhibitory effect of by-products from the hydrolysis of the lignocellulosic complex. The amylolytic activity of the strain was additionally confirmed, explaining its ability to ferment the starch present in the bran. Thus, wheat bran hydrolysate produced without xylanase proved to be an effective medium for the biosynthesis of xanthan gum, yielding a quantity comparable to standard substrates while reducing the cost of the nutrient medium.

Keywords: food biotechnology; wheat bran; hydrolysis of secondary raw materials; xanthan gum; *Xanthomonas campestris*

Введение

Ксантановая камедь является наиболее широко используемой пищевой добавкой, известной под кодом Е415 [1, 2], которая применяется в качестве стабилизатора, загустителя и эмульгатора в различных продуктах, улучшая их текстуру и обеспечивая однородность. Этот экзополисахарид представляет собой в основном линейную β -(1,4)-d-глюкозу, соединенную с терминальной β -d-маннозой и d-глюкуроновой кислотой через β -(1,4) связь, а также с d-маннозой через α -(1,2) связь. К группе маннозы могут присоединяться ацетатные и пируватные группы в нестехиометрических количествах, в зависимости от штамма бактерий и условий ферментации [2]. Ксантановая камедь хорошо растворяется в холодной и горячей воде, обладает отличными эмульгирующими, стабилизирующими свойствами, а также высокой устойчивостью к изменениям pH, температурным колебаниям и воздействию кислот [1].

Микробный биосинтез является единственным способом получения ксантановой камеди – высокомолекулярного экзополисахарида с широким спектром применения в пищевой, нефтяной, косметической и фармацевтической отраслях. Основным и наиболее изученным продуцентом ксантановой камеди является бактерия *Xanthomonas campestris*, обладающая способностью эффективно синтезировать полисахарид, ферментируя субстраты, содержащие в своем составе различные углеводы – глюкозу, сахарозу или крахмал. Соответственно, использование такого вторичного сырья как побочные продукты сельского хозяйства, органические отходы или сырье из переработанных продуктов, представляет собой более привлекательную альтернативу и создает предпосылки для развития направлений цикличности основных производств [1].

Применение гидролизатов в качестве исходного сырья для производства ксантановой камеди может значительно снизить затраты, так как вторичное сырье дешевле таких очищенных углеводов, как глюкоза или крахмал. Это также способствует более эффективному использованию побочных продуктов пищевых производств, что делает процесс биосинтеза более экономически выгодным [3–5].

Для биосинтеза ксантановой камеди предпочтительными источниками углерода являются глюкоза, сахароза, мальтоза и крахмал, поскольку они обеспечивают высокую эффективность процесса и выход продукта, в отличие от инозитола и сорбитола [6]. Помимо этого, важным фактором для эффективного синтеза ксантановой камеди является количество и форма доступного азота [7]. Альтернативой таким традиционным углеводным источникам, как глюкоза или сахароза для синтеза ксантановой камеди может стать гидролизат пшеничных отрубей – доступный и дешевый источник углерода. Они в основном состоят из некрахмальных полисахаридов – целлюлозы, гемицеллюлозы, β -глюканов, арабиноксиланы и лигнина. Кроме того, ПО содержат важные микроэлементы и витамины, способствующие их питательной ценности и биотехнологическим процессам [8]. С помощью различных микроорганизмов из них можно получить ферменты, каротиноиды, витамины, органические кислоты и этанол [9]. Такие процессы позволяют не только эффективно использовать отходы переработки зерна, но и создавать продукты, которые могут быть использованы в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности, а также в энергетической отрасли.

Для биосинтеза ксантановой камеди приоритетным источником углеводов является глюкоза. Пшеничные отруби становятся отличным сырьем для ее получения благодаря своему богатому составу, включающему целлюлозу, β -глюкан и остатки крахмала [4]. Целлюлоза, являясь полисахаридом, может быть эффективно гидролизована до моносахаридов с использованием соответствующих ферментов. Остатки крахмала, которые не были полностью деструктированы в процессе переработки зерна, так же предоставляют ценное сырье для извлечения углеводов, из которых в результате ферментации можно получить глюкозу. Помимо этого, пшеничные отруби характеризуются

высококачественным аминокислотным составом, который включает все необходимые для организма-продуцента аминокислоты [10].

В качестве стратегии для гидролиза составили необходимый пул ферментов. В первую очередь, целлюлаза, которая воздействует на клеточную стенку пшеничных отрубей и способствует получению глюкозы из целлюлозы. Ксиланаза, действующая на лигноцеллюлозные комплексы, содержащиеся в клеточных стенках пшеничных отрубей. Для гидролиза крахмала применяются два фермента – амилаза и глюкоамилаза. Амилаза расщепляет крахмал на олигосахариды и мальтозу, разрывая альфа-1,4-гликозидные связи между молекулами глюкозы. Затем глюкоамилаза продолжает процесс, расщепляя олигосахариды до глюкозы, разрушая как альфа-1,4, так и альфа-1,6-гликозидные связи. Такой поэтапный гидролиз позволяет эффективно извлекать глюкозу из крахмала. К некрахмалистым углеводам, помимо целлюлозы и гемицеллюлозы, относят β -глюканы, состоящие из последовательно связанных (1→3), (1→4)- β -d остатков глюкозы. Хоть их количество в пшеничных отрубях и незначительно, оно составляет около 6% [11]. Глюканы, содержащиеся в ПО, обладают способностью растворяться в воде и способствуют увеличению вязкости питательной среды [12]. Избыточное повышение вязкости существенно затрудняет процессы массообмена, что в свою очередь снижает эффективность переноса веществ между фазами. Это приводит к замедлению скорости синтеза и роста микроорганизмов, поскольку ограничивается их доступ к необходимым питательным веществам и кислороду. И последним ферментом является протеаза, которая используется для расщепления белков до аминокислот и пептидов и повышает доступность источника азота для продуцента. Таким образом, проблемой является высокая стоимость традиционных питательных сред, ограничивающая экономическую эффективность биосинтеза ксантановой камеди.

Цель данного исследования – оценить потенциал использования ферментативного гидролизата пшеничных отрубей в качестве альтернативного и экономически выгодного источника углерода для получения ксантановой камеди штаммом *Xanthomonas campestris* B-6720.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования является процесс биосинтеза ксантановой камеди штаммом *Xanthomonas campestris* B-6720 на питательной среде на основе гидролизата пшеничных отрубей.

Штамм *Xanthomonas campestris* B-6720 (упоминается чаще по номерам других коллекций как ATCC13951 или NRRL B-1459) получили из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (НИЦ «Курчатовский институт», Россия).

Хранение культуры проводилось на агаризованной питательной среде YDC (Yeast extract-dextrose-CaCO₃) состава (г/л): дрожжевой экстракт – 10; CaCO₃ – 20; агар – 15; глюкоза – 20. Культивирование проводили при температуре 28 ± 2°C в течение 48 ч.

Подготовка инокулята. Выращивание микроорганизмов и последующий засев в подготовленные среды осуществлялся путем пересева в специализированную жидкую среду для биосинтеза камеди, указанную в паспорте штамма. Состав специализированной жидкой среды (г/л): глюкоза – 20; дрожжевой экстракт – 3; K₂HPO₄ – 2; K₂HPO₄ – 2; MgSO₄·7H₂O. Культивирование осуществляли при температуре 28 ± 2°C в течение 3 суток в шейкере-инкубаторе Inforce Multitron HT (Швейцария) при постоянном перемешивании 180 об/мин.

Обработка вторичного сырья. Для получения питательных сред пшеничные отруби подвергали ферментативному гидролизу. Базовый субстрат для гидролиза включал в себя 10 г просеянных пшеничных отрубей и 100 мл дистиллированной воды. Образцы, гидролизованные ферментными препаратами, представлены в трех группах:

группа А – с содержанием целлюлазы, альфа-амилазы, глюкоамилазы, протеазы;

группа В – с содержанием целлюлазы, альфа-амилазы, глюкоамилазы, протеазы и ксиланазы;

группа С – контрольная, без содержания ферментных препаратов.

Количество ферментов, использованное для гидролиза каждой из групп, представлено в таблице.

Таблица. Содержание ферментных препаратов в группах образцов
Table. Content of enzyme preparations in sample groups

Ферментный препарат	Ферментативная активность, ед/мл	Количество ферментного препарата, мкл	
		группа А	группа В
целлюлаза	4000	10	10
АмилоЛюкс АТС (термостабильная альфа-амилаза) жидкость	2000	10	10
ГлюкоЛюкс А (глюкоамилаза жидкая)	13000	10	10
протеаза кислая жидккая	900	10	10
ксиланаза	10000	—	10

Учитывая все рабочие диапазоны ферментов, гидролиз проводили при температуре $50 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 24 ч, pH – 4,5 при постоянном перемешивании – 180 об/мин с использованием шейкера-инкубатора Inforce Multitron HT (Швейцария) без добавления протеазы; 1 ч после добавления протеазы. После проведения гидролиза осуществляли отбор проб по 5 мл для проведения анализа на содержание сахаров с помощью эбулиостатического титрования. В полученные гидролизаты добавляли дополнительные неуглеводные компоненты состава (г/л): дрожжевой экстракт – 3; KH_2PO_4 – 2; K_2HPO_4 – 2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, далее полученные среды автоклавировались при 115°C в течение 25 мин. Холодильное хранение осуществлялось в камере при температуре $5 \pm 2^\circ\text{C}$.

Производство камеди. Засев инокулята производили в объеме, равном 5% от объема среды. Культивирование осуществляли при температуре $28 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 72 ч при постоянном перемешивании в шейкере-инкубаторе Inforce Multitron HT (Швейцария) 180 об/мин.

Выделение камеди. Нагревали культуральную жидкость до кипения, далее осаждали клетки при 13000 грт в течение 30 мин с использованием лабораторной центрифуги Eppendorf 5404R (Германия). Полученную надосадочную жидкость сливали и добавляли в нее 98% этиловый спирт до достижения его объемной доли не менее 73% от общего объема [13]. Далее отделяли полученную ксантановую камедь.

Сушка камеди. С целью удаления остатков этанола сушку образцов свежевыделенной камеди проводили в сушильном шкафу марки Daihan Labtech LDO-E (Южная Корея). Режим сушки: температура $28 \pm 2^\circ\text{C}$, продолжительность – 48 ч. Влажность образцов по окончании процесса составила 10,4% [14]. Взвешивание осуществляли на аналитических весах марки AND GR-200 (Япония).

Определение амилолитической активности чашечным методом. Для проведения теста готовили крахмальный агар состава (г/л): крахмал водорастворимый – 10; агар – 15. Далее осуществляли микробиологический посев исследуемой культуры *Xanthomonas campestris* на крахмальный агар. Проводили культивирование при температуре $28 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 72 ч. Заливали чашку раствором Люголя и регистрировали области амилолитической активности в месте отсутствия синего окрашивания.

Статистическая обработка. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Поскольку распределение в одной из групп отличалось от нормального, для попарного сравнения групп использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми для всех сравнений принимали значения при $p < 0,05$.

Концентрацию редуцирующих сахаров в пробах после ферментативного гидролиза определяли методом эбулиостатического титрования по Фелингу. Количественное содержание рассчитывали на основе титра, установленного по стандартному раствору глюкозы [15].

Результаты и обсуждения

В результате гидролитической обработки сырья получены новые данные по содержанию редуцирующих сахаров в гидролизате пшеничных отрубей до культивирования, определен выход ксантановой камеди после ферментации питательной среды и установлено содержание остаточных редуцирующих сахаров после культивирования. Содержание редуцирующих сахаров представлено в виде диаграммы на рисунке 1.

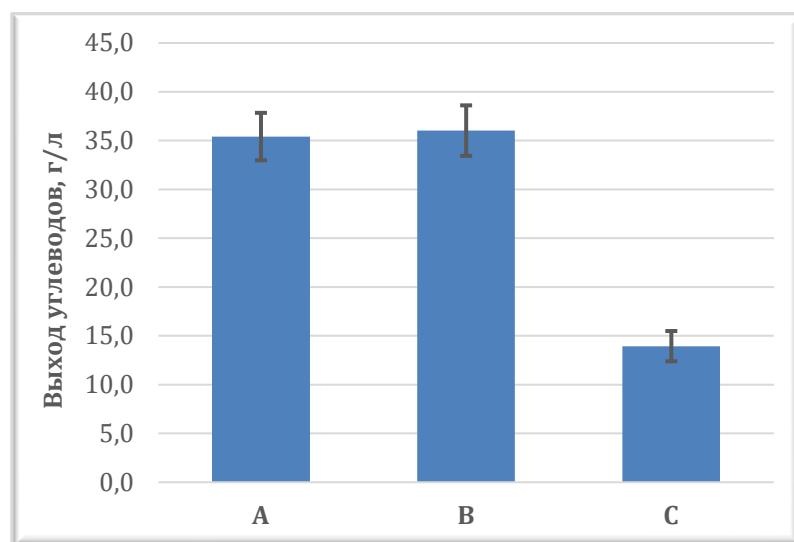


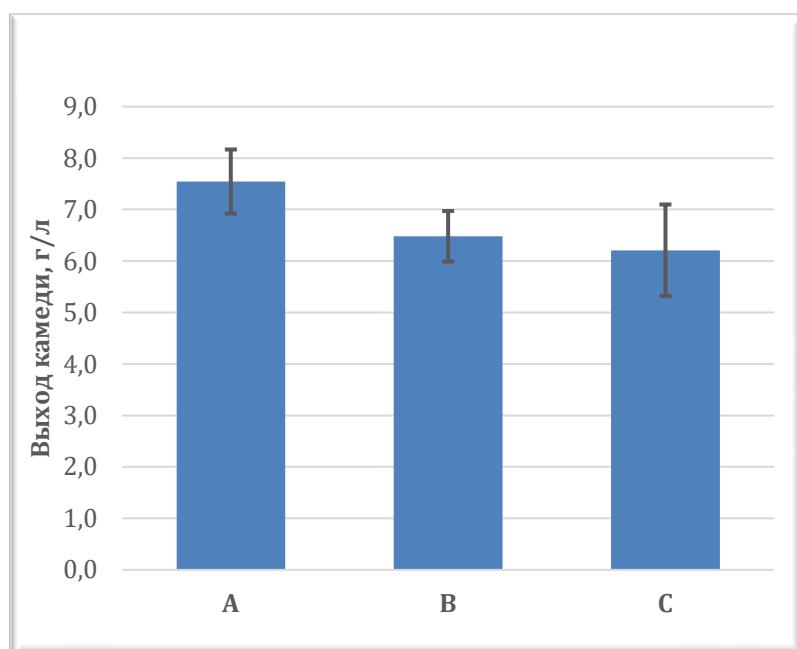
Рисунок 1 – Изменение содержания редуцирующих сахаров в гидролизатах ПО в зависимости от состава ферментативных препаратов

Figure 1. Changes in the content of reducing sugars in wheat bran hydrolysates depending on the composition of enzyme preparations

Из анализа результатов, представленных на рисунке 1 видно, что выход углеводов в группе А (35, 41 г/л) и в группе В (36,03 г/л) не представляет значительной разницы, однако, в сравнении с контрольной группой С (13,94 г/л) продемонстрировано увеличение выхода углеводов в 2,5 раза в обоих случаях. Видно, что применение ксиланазы в процессе ферментативного гидролиза сырья не привело к статистически значимому увеличению выхода редуцирующих сахаров. Низкий вклад ксиланазы в общий выход сахаров может объясняться тем, что образующаяся из гемицеллюлоз ксилоза частично деградировала в условиях процесса до таких неучтенных побочных продуктов, как фурфурол, или же доля самого ксиланового компонента в исходном сырье была невысока. Однако наиболее вероятной причиной низкого выхода ксантановой камеди при гидролизе может являться наличие белковых ингибиторов ксиланаз, присутствующих в составе пшеничных отрубей [16]. Эти ингибиторы способны связываться с ферментом и снижать его активность, тем самым существенно ограничивая эффективность процесса гидролиза. Вероятно, для повышения эффективности гидролиза гемицеллюлозы необходимо инактивировать ингибиторы, имеющие белковое происхождение [17]. Кроме этого, отмечается что ингибиторы ксиланаз синтезируются как внеклеточные метаболиты, чтобы защититься от патогенов грибкового происхождения [18]. Скорее всего, на эффективность гидролиза влияет происхождение ксиланазы, полученной за счет культивирования микроскопического гриба *Trichoderma*.

Пшеничные отруби являются внешним слоем пшеничного зерна, осуществляющим защиту эндосперма и зародыша от физического воздействия внешней среды, но они также содержат в своем составе химические соединения, которые служат защитной системой от микроорганизмов, насекомых и факторов окружающей среды. Одним из основных белковых компонентов пшеничных отрубей является лигнин, обладающий способностью ингибировать гидролиз. Он имеет сложную и непостоянную молекулярную массу, образованную тремя ковалентно связанными субъединицами: гвяцил, сирингил и р-гидроксифенил [11]. При термической обработке лигнина происходит выщелачивание таких соединений, как ванилиновая кислота, протокатеховая кислота, гвякол и ванилин, которые в высоких концентрациях так же способны ингибировать ксиланазы из *Trichoderma harzianum*. Наряду с этим известно, что гвякол (2-метоксиленол) и кофейная кислота (3,4-дигидроксикоричная кислота) способны ингибировать активность ксиланазы, содержащейся в сырых экстрактах из *Aspergillus japonicus* [19]. Механизм ингибирования активности ксиланаз лигнинами и их производными реализуется двумя вариантами: во-первых, путем образования растворимого, но неактивного комплекса фермент–ингибитор при низких концентрациях фенола; во-вторых, путем снижения растворимости ферментных белков за счет образования нерастворимого комплекса белок–фенол при высоких

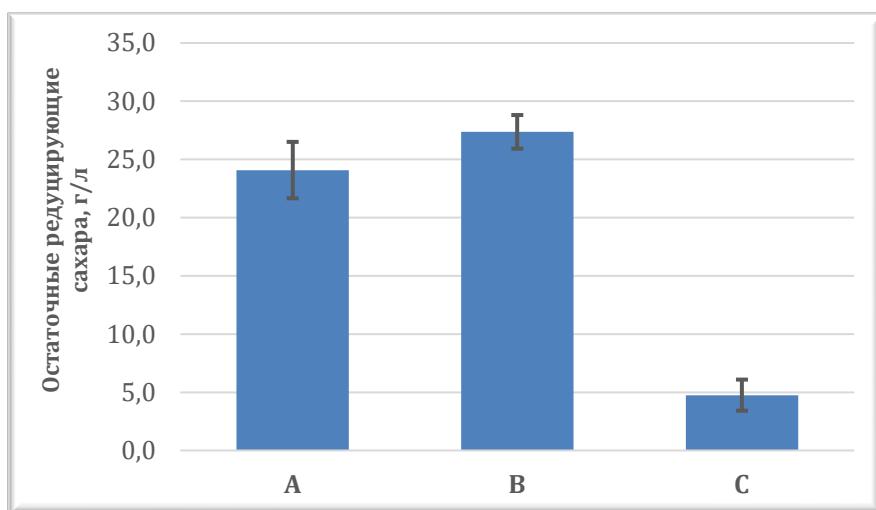
концентрациях фенола. Предварительная обработка ПО с деградацией лигнина может привести к инактивации ингибиторов [19]. Существует несколько методов, основанных на физической (измельчение), термической (мягкий пиролиз в кислотной среде), физико-химической и химической обработке. Однако, методы предобработки зависят от сырья, а некорректно установленные условия, напротив, могут привести к увеличению концентраций фенольных соединений, что в итоге приведет к снижению растворимости ферментных белков путем образования нерастворимого комплекса белок–фенол [19].



*Рисунок 2 – Выход ксантановой камеди после ферментации питательной среды на основе гидролизата ПО
Figure 2. Xanthan gum yield after fermentation of the nutrient medium based on wheat bran hydrolysate*

На рисунке 2 представлен график выхода ксантановой камеди в присутствии ксиланазы, в отсутствии ксиланазы и в контрольной группе. Анализ результатов исследования, представленных диаграммами, позволяет говорить, что применение ферментных препаратов приводит к увеличению выхода ксантановой камеди в сравнении с контрольной группой С (6,21 г/л), что наглядно показано для группы А (7,54 г/л). Также продемонстрировано, что применение ксиланазы в количестве 100 ед. акт. в случае группы В (6,48 г/л) приводит к снижению выхода ксантановой камеди по отношению к группе А (7,54 г/л) и незначительной статистической разнице по отношению к контрольной группе С (6,21 г/л). Снижение выхода ксантановой камеди в присутствии 100 ед. акт. при гидролизе может быть связано с наличием побочных продуктов в виде лигнина и продуктов его обработки. Для контрольной группы С воспроизводились все условия, что и для групп А и В, в том числе кислотность среды ($\text{pH} = 4,5$), что позволяет предположить о произошедшем частичном кислотном гидролизе с высвобождением моносахаридов, обеспечивая возможность ферментирования остаточного крахмала. Данная гипотеза подтверждается результатами, представленными на рисунке 1, где для контрольной группы С продемонстрировано наличие редуцирующих сахаров около 15 г/дм³.

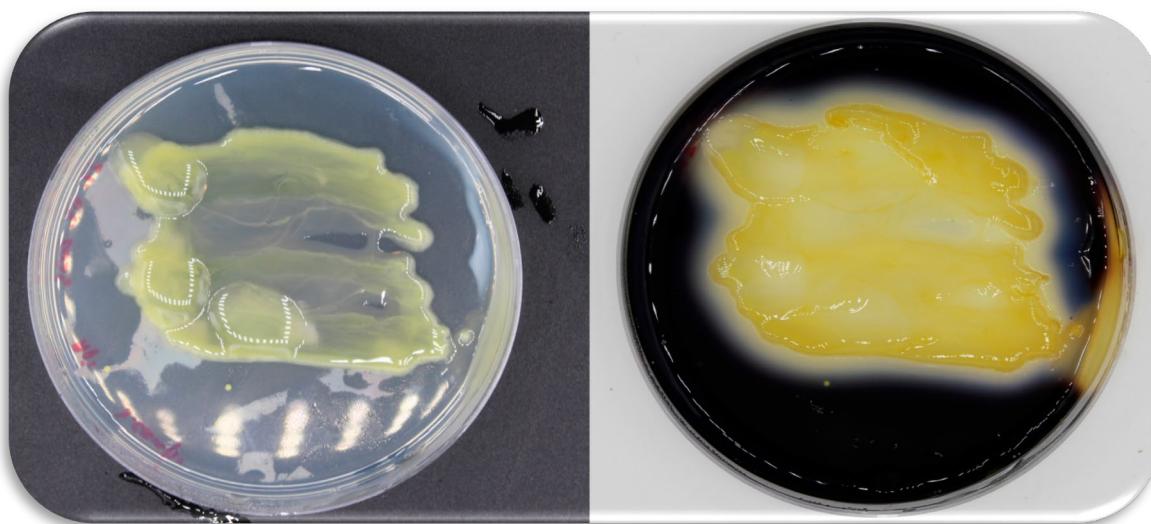
Стоит отметить, что литературные данные свидетельствуют о необходимости ограничивать количество углеводов при биосинтезе ксантановой камеди: по мнению некоторых авторов [20], 1–5% глюкозы в среде обеспечивают максимальный уровень синтеза. При более высоких скоростях роста, которые желательны для большей продуктивности, значительная доля источника углерода используется для накопления биомассы, а не полисахарида. Кроме того, некоторые микроорганизмы, производящие полисахариды, нестабильны при непрерывном культивировании и могут быть вытеснены вариантами, производящими мало полисахаридов [21]. Данные подтверждаются содержанием остаточных сахаров, зафиксированных к концу процесса культивирования (рисунок 3).



*Рисунок 3 – Содержание остаточных редуцирующих сахаров после культивирования *Xanthomonas campestris* на среде с гидролизатом ПО*

*Figure 3. Content of residual reducing sugars after cultivation of *Xanthomonas campestris* on a wheat bran hydrolysate medium*

После осаждения биомассы проводили определение общего содержания редуцирующих сахаров в культуральной жидкости. Исходя из анализа содержания остаточных редуцирующих сахаров, изображенных в виде диаграммы на рисунке 3, видно, что в контрольной группе С (4,75 г/л) в условиях без предварительного гидролиза сахара присутствовали преимущественно за счет экстракции свободных сахаров, а также частичного самопроизвольного гидролиза сырья при pH 4,5. Существенных различий между группами А (24,09 г/л) и Б (27,37 г/л) не выявлено – как по общему выходу углеводов, так и по конечным показателям ферментации. Таким образом, высокое содержание редуцирующих сахаров, скорее снижало потенциальный выход ксантановой камеди относительно контрольной группы С. Вероятно, дальнейший рост и синтез метаболитов ограничивались не доступностью углеводов, а иными факторами, например содержанием фосфора, необходимого для синтеза фосфолипидов и, соответственно, построения клеточных мембран.



*Рисунок 4 – Фотография чашек Петри с культурой *Xanthomonas campestris* на среде с крахмалом до (слева) и после (справа) добавления раствора Люголя*

*Figure 4. Petri dishes with a *Xanthomonas campestris* culture on a starch-containing medium before (left) and after (right) adding Lugol's solution*

Как упоминалось ранее, *Xanthomonas campestris* является фитопатогеном, вызывающим черную гниль у растений. В свою очередь, синтез ксантана необходим для изолирования бактерии от среды, содержащей метаболиты растений. Второй фактор вирулентности фитопатогена – синтез экзоферментов,

способствующий заражению растений. Приобретение мутаций в генах, регулирующих синтез экзополисахаридов, приводит к образования непатогенных мутантов [22]. Известно, что пшеничные отруби содержат 14–18% крахмала [23]. При достижении температуры клейстеризации (>50°C), что соответствует условиям, применяемым в проведенном гидролизе [24], крахмал переходит в растворимую форму. Следовательно, можно предположить, что растворенный крахмал служил источником углеводов, участвующих в биосинтезе камеди. Подтверждение предположения представлено в виде снимков (рисунок 4), на которых изображены поверхность растворимые бактериальные культуры на крахмальном агаре: слева – чашка Петри на среде с крахмалом, справа – эта же чашка Петри, после добавления раствора Люголя.

Пространственный ареал вокруг бактериальных клеток, зарегистрированный на агаровой среде, подтверждает наличие амилолитической активности данного изолята. Наличие такой зоны гидролиза свидетельствует о способности *Xanthomonas campestris* гидролизовать доступный крахмал в окрестности клеток. В результате, данное свойство подтверждает возможность использования крахмала в качестве субстрата для биосинтеза ксантановой камеди.

Заключение

Проведенные исследования показали возможность выхода ксантановой камеди в культуральной среде на уровне более, чем 8 г/л, что соответствует данным для сред, состоящих из глюкозы. Этот результат свидетельствует о потенциальной возможности использования гидролизата пшеничных отрубей в качестве альтернативного источника углеводов для синтеза ксантана. Установлена нецелесообразность применения ксиланазы для гидролиза пшеничных отрубей в целях биосинтеза ксантана. Выявлено, что ферментативный гидролиз пшеничных отрубей по предложенной методологии позволяет достичь выхода доступных углеводов 35,4 г/л.

Кроме того, показано, что для *Xanthomonas campestris* высокая концентрация углеводов способна оказывать ингибирующее воздействие на синтез ксантана. Это подчеркивает необходимость дальнейших исследований, направленных на определение таких концентраций питательных веществ, которые обеспечат максимальный выход продукта и предотвратят подавление биосинтетических процессов. Дополнительно было выдвинуто предположение, что для увеличения эффективности гидролиза ПО необходима предварительная обработка перед процессом ферментативного гидролиза. В частности, предобработка способствует улучшению доступности полисахаридов, а также повышению эффективности гидролиза ксилана.

Исследования будут продолжены в направлении совершенствования предварительной обработки пшеничных отрубей к ферментации, повышения эффективности биотехнологического процесса и продуктивности биосинтеза ксантана штаммом *Xanthomonas campestris*.

Литература/References

1. Chaturvedi S., Kulshrestha S., Bhardwaj K., Jangir R. A review on properties and applications of xanthan gum. In: Vaishnav A., Choudhary D.K. (Eds.) *Microbial Polymers*. Springer Singapore, 2021. pp. 87–107. DOI: 10.1007/978-981-16-0045-6_4
2. Abbaszadeh A., Lad M., Janin M., Morris G.A., Macnaughtan W., Sworn G., Foster T.J. A novel approach to the determination of the pyruvate and acetate distribution in xanthan. *Food Hydrocolloids*. 2015, V. 44, pp. 162–171. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.08.014
3. Li P., Li T., Zeng Y., Li X., Jiang X., Wang Y., Xie T., Zhang Y. Biosynthesis of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* LRELP-1 using kitchen waste as the sole substrate. *Carbohydr Polym*. 2016, V. 151, pp. 684–691. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.06.017
4. Ozdal M., Kurbanoglu E.B. Valorisation of chicken feathers for xanthan gum production using *Xanthomonas campestris* MO-03. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2018, V. 16, no. 2, pp. 259–263. DOI: 10.1016/j.jgeb.2018.07.005
5. Soleymanpour Z., Nikzad M., Talebnia F., Niknezhad V. Xanthan gum production from acid hydrolyzed broomcorn stem as a sole carbon source by *Xanthomonas campestris*. *3 Biotech*. 2018, V. 8, article 296. DOI: 10.1007/s13205-018-1322-z
6. Habibi H., Khosravi-Darani K. Effective variables on production and structure of xanthan gum and its food applications: A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2017, V. 10, pp. 130–140. DOI: 10.1016/j.bcab.2017.02.013
7. Garcia-Ochoa F., Santos V.E., Alcon A. Chemical structured kinetic model for xanthan production. *Enzyme and Microbial Technology*. 2004, V. 35, Is. 4, pp. 284–292. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2003.11.024
8. Li Ch., Stump M., Wu W., Li Y. Exploring the chemical composition, antioxidant potential, and bread quality effects of the nutritional powerhouse: Wheat bran – A mini-review. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2023, V. 14, article 100898. DOI: 10.1016/j.jafr.2023.100898

9. Kurbanov G.F., Prichepa A.O., Nepomnyashchy A.P., Ivanova E.Y., Sharova N.Y. Biotechnology applications of wheat bran. Review. *Food Systems*. 2025, V. 8, no. 2, pp. 204–212. DOI: 10.21323/2618-9771-2025-8-2-204-212
10. Arte E., Huang X., Nordlund E., Katina K. Biochemical characterization and technofunctional properties of bioprocessed wheat bran protein isolates. *Food Chem.* 2019, V. 289, pp. 103–111. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.03.020
11. Sztupecki W., Rhazi L., Depoint F., Aussenaac T. Functional and nutritional characteristics of natural or modified wheat bran non-starch polysaccharides: A literature review. *Foods*. 2023, V. 12, Is. 14, article 2693. DOI: 10.3390/foods12142693
12. Li W., Cui S.W., Kakuda Y. Extraction, fractionation, structural and physical characterization of wheat β-d-glucans. *Carbohydrate Polymers*. 2006, V. 63, Is. 3, pp. 408–416. DOI: 10.1016/j.carbpol.2005.09.025
13. Flahive III J.J., Foufopoulos A., Etzel M.R. Alcohol Precipitation of xanthan gum from pure solutions and fermentation broths. *Separation Science and Technology*. 1994, V. 29, Is. 13, pp. 1673–1687. DOI: 10.1080/01496399408002164
14. Faria S., Lúcia C., Lemos A., Gonzalo M., Maria M., Pessoa F., Cardoso V.L. Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth. *Carbohydrate Polymers*. 2011, V. 86, Is. 2, pp. 469–476. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.04.063
15. Низовкин В.К., Емельянова И.З. Эбулиостатический метод определения редуцирующих сахаров // Журнал прикладной химии. 1959. Т. 32. № 11. С. 2516–2521.
Nizovkin V.K., Emelyanova I.Z. Ebulliostatic method for the determination of reducing sugars. *Russian Journal of Applied Chemistry*. 1959, V. 32, no. 11, pp. 2516–2521. (In Russian)
16. Goesaert H., Elliott G., Kroon P.A., Gebruers K., Courtin C.M., Robben J., Delcour J.A., Juge N. Occurrence of proteinaceous endoxylanase inhibitors in cereals. *Biochim Biophys Acta – Proteins and Proteomics*. 2004, V. 1696, Is. 2, pp. 193–202. DOI: 10.1016/j.bbapap.2003.08.015
17. Croes E., Gebruers K., Luyten N., Delcour J.A., Courtin C.M. Immunoblot quantification of three classes of proteinaceous xylanase inhibitors in different wheat (*Triticum aestivum*) cultivars and milling fractions. *J Agric Food Chem.* 2009, V. 57, Is. 3, pp. 1029–1035. DOI: 10.1021/jf802638n
18. Fierens E., Gebruers K., Courtin C.M., Delcour J.A. Xylanase inhibitors bind to nonstarch polysaccharides. *J Agric Food Chem.* 2008, V. 56, Is. 2, pp. 564–570. DOI: 10.1021/jf0724724
19. Dimitrios B. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*. 2006, V. 17, Is. 9, pp. 505–512. DOI: 10.1016/j.tifs.2006.04.004
20. Mohsin A., Zhang K., Hu J., Salim-ur-Rehman, Tariq M., Zaman W.Q., Khan I.M., Zhuang Y., Guo M. Optimized biosynthesis of xanthan via effective valorization of orange peels using response surface methodology: A kinetic model approach. *Carbohydrate Polymers*. 2018, V. 181, pp. 793–800. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.11.076
21. Ratledge C., Kristiansen B. (Eds.) *Basic Biotechnology*. New York, Cambridge University Press, 2006. 666 p.
22. Tang J.-L., Liu Y.-N., Barber C.E., Dow J.M., Wootton J.C., Daniels M.J. Genetic and molecular analysis of a cluster of *rpf* genes involved in positive regulation of synthesis of extracellular enzymes and polysaccharide in *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris*. *Molec Gen Genet.* 1991, V. 226, no. 3, pp. 409–417. DOI: 10.1007/BF00260653
23. Deroover L., Tie Y., Verspreet J., Courtin C.M., Verbeke K. Modifying wheat bran to improve its health benefits. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2020, V. 60, no. 7, pp. 1104–1122. DOI: 10.1080/10408398.2018.1558394
24. Shevkani K., Singh N., Bajaj R., Kaur A. Wheat starch production, structure, functionality and applications—a review. *International Journal of Food Science & Technology*. 2017, V. 52, Is. 1, pp. 38–58. DOI: 10.1111/ijfs.13266

Информация об авторах

Габдулла Фаритович Курбанов – аспирант факультета биотехнологий, лаборант-исследователь

Артем Олегович Причепа – лаборант-исследователь

Екатерина Юрьевна Иванова – лаборант-исследователь

Владислав Эдуардович Путилов – лаборант-исследователь

Наталья Юрьевна Шарова – д-р техн. наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе

Information about the authors

Gabdulla F. Kurbanov, Postgraduate Student, Faculty of Biotechnology, Research Assistant

Artem O. Prichepa, Research Assistant

Ekaterina Yu. Ivanova, Research Assistant

Vladislav E. Putilov, Research Assistant

Natalya Yu. Sharova, D. Sci. (Eng.), Professor of the RAS, Deputy Director for Research

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests

Статья поступила в редакцию 21.10.2025

Одобрена после рецензирования 23.11.2025

Принята к публикации 28.11.2025

The article was submitted 21.10.2025

Approved after reviewing 23.11.2025

Accepted for publication 28.11.2025