

# 纤维素酶及其在畜牧业中的研究与应用进展

夏友国<sup>1,2</sup>, 黄勤楼<sup>2\*</sup>, 杨信<sup>1,2</sup>, 钟珍梅<sup>2</sup>, 黄秀声<sup>2</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院, 福建 福州 350002;

2. 福建省农业科学院农业生态研究所 福建省山地草业工程技术研究中心, 福建 福州 350013)

**[摘要]** 纤维素是自然界中存在最为广泛的一类碳水化合物,也是地球上最为丰富的可再生资源。利用纤维素酶将其转化为人类急需的粮食、能源,对于解决食物短缺、能源危机和环境污染具有重大的现实意义。论文对纤维素酶的分子结构、作用机理及应用现状进行了综述。

**[关键词]** 纤维素酶;分子结构;作用机理;应用现状

**[中图分类号]** S811.5

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-5228(2010)03-0005-05

纤维素是植物细胞壁的主要成分,占植物干重的35%~50%<sup>[1]</sup>。我国每年生产农作物 $6 \times 10^8$  t左右<sup>[2]</sup>,但由于植物纤维的高聚合度及其分子结构的高度结晶,纤维素的利用受到约束。同时,纤维素的存在也影响了动物对蛋白质和淀粉等一些营养物质的吸收。尽管饲料工业对其进行了粉碎处理,但仍然不能破坏植物细胞壁的结构。在动物饲料中添加纤维素酶,可破坏植物细胞壁,释放营养物质,改善饲料的营养价值,因而能够提高动物的消化率,节省精饲料成本,提高经济效益。然而纤维素酶的有效降解率还比较低,必须加大对纤维素酶的研究,而纤维素酶制剂作为饲料添加剂已成为动物营养学中的研究热点。

## 1 纤维素酶的组成及分子结构

### 1.1 纤维素酶的组成

纤维素酶是将纤维素水解成纤维二糖和葡萄糖的一组复杂酶系的总称,又称纤维素酶系,一般将其分为三类:(1)内切葡聚糖酶:来自真菌的简称EG,来自细菌的简称Cen或C1酶,该类酶作用于纤维素内部的非结晶区,能随机地在纤维素分子内部降解-1,4糖苷键,使长链纤维素分子分解成大量含非还原性末端的小分子纤维素,如纤维二糖、纤维三

糖等。(2)外切葡聚糖酶或纤维二糖酶:来自真菌的简称CBH,来自细菌简称Cex或Cx酶。这类酶作用于线状分子末端,水解1,4-D糖苷键,每次切下1个纤维二糖分子。(3)-葡萄糖苷酶:简称BG酶。该类酶能将纤维二糖和寡糖水解释成单个的葡萄糖分子。但是,在分解晶体纤维素时,任何一种酶都不能单独完成水解过程,只有三种酶共同存在并协同作用才能将晶体纤维素水解为葡萄糖。

### 1.2 纤维素酶分子结构

Tilbeugh对纤维素酶进行拆分研究发现,降解纤维素的酶是由催化结构域(CD)、纤维素结合结构域(CBD)和连接桥(linker)三部分组成。(1)催化结构域(CD):呈球形,主要体现纤维素酶的催化活性和对特定水溶性底物的特异性,目前仅了解拟氏木霉的催化域的三维结构。(2)纤维素结合结构域(CBD):执行调节酶对可溶性和非可溶性底物的专一活力的作用,对酶的催化活力是非必需的。目前,已报道有8种不同的结合域,但作用机理还不清楚。(3)连接桥(linker):富含脯氨酸、羟氨酸或甘氨酸,长度从6~59个氨基酸不等,其作用可能是保持催化结构域与纤维素结合结构域之间的距离或有助于不同酶分子之间形成较为稳定的聚集体。但有些酶不含显著的链接序列。

[收稿日期] 2009-11-17,修回日期:2009-12-09

[基金项目] 福建省发改委项目;福建省科技厅重点项目(2009S0103,2009R10036-3);福建省财政专项(STIF-Y01)

[作者简介] 夏友国(1980-),男,山东潍坊人,硕士研究生,主要从事反刍动物营养研究。E-mail:yifei2005101@126.com

\* [通讯作者] 黄勤楼(1964-),男,福建闽清人,博士,研究员,主要从事畜牧和循环经济研究。E-mail:hql202@126.com

## 2 产纤维素酶的微生物

自然界中能够分泌纤维素酶的微生物包括细菌、真菌、放线菌和一些原生动动物等。细菌纤维酶的产量较低,其中酶活力较强的菌种有纤维黏菌属、纤维杆菌属等;真菌类有木霉、曲霉、根霉和青霉等;放线菌有链霉菌属、高温放线菌属等。目前研究及用于饲料的纤维素酶主要来自真菌,特别是里氏木霉、绿色木霉、康氏木霉等较为典型,是目前公认的较好的

纤维素酶生产菌。

## 3 纤维素酶的作用机理

### 3.1 纤维素酶的降解机理

纤维素酶使纤维素转化成为葡萄糖的详细过程仍不清楚。普遍认为是纤维素酶各组分协同作用的结果。主要包括以下几种观点:

3.1.1  $C_1$ - $C_x$  假说 1950年,Reese提出了  $C_1$ - $C_x$  假说,其基本水解模式如图 1 所示。

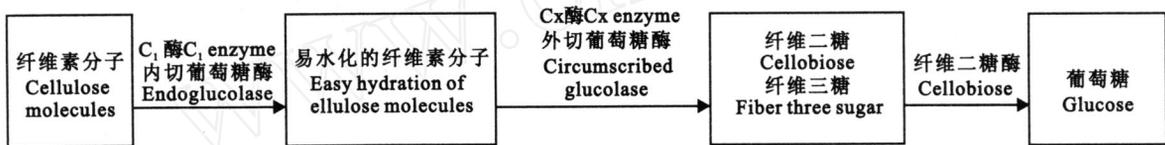


图 1  $C_1$ - $C_x$  假说模式图

Fig. 1 The mode chart of  $C_1$ - $C_x$  hypothesis

$C_1$  酶首先作用于结晶纤维素使其变成无定形纤维素,再被  $C_x$  酶进一步水解成可溶性葡萄糖寡聚物, $C_1$  酶是  $C_x$  的先决条件,最后由  $\beta$ -葡萄糖苷酶将纤维二糖和三糖水解释成葡萄糖。但对于  $C_1$  酶的作用机理尚不清楚。

3.1.2 顺序作用假说 该假说认为首先是外切型

葡聚糖酶(CBH I 和 CBH II)水解不溶性纤维素,生成可溶性的纤维糊精和纤维二糖,然后由内切型葡聚糖酶(EG I 和 EG II)作用于纤维糊精,生成纤维二糖,再由  $\beta$  酶将纤维二糖分解成二个葡萄糖,但此假说在试验中未被证实。如图 2 所示。

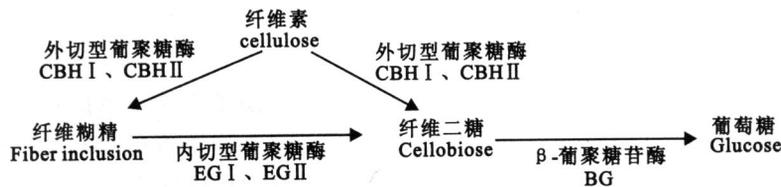


图 2 顺序作用假说模式图

Fig. 2 The mode chart of effecting in order hypothesis

3.1.3 协同作用模型 目前,协同作用模型降解机制被广泛接受。如图 3 所示。

在协同作用降解过程中, $C_x$  酶首先作用于纤维素的非结晶区,形成  $C_1$  酶需要的新的非还原游离末端,然后  $C_1$  酶从多糖链的非还原端切下纤维二糖单位,最后由  $\beta$ -葡萄糖苷酶水解纤维二糖单位形成葡萄糖。上述三类纤维素酶在分解纤维素时,任何单独一种都不能裂解晶体纤维素,只有三种酶共同存在并协同作用时才能完成水解过程。一般来说,外切酶作用于不溶性纤维素的表面,使形成晶体结构的纤维素分子链裂开,长链分子末端部分发生游离,从而使纤维素易于水化;内切酶则作用于经外切酶活化的纤维素,分解其  $\beta$ -1,4-糖苷键,产生纤维二糖、三糖等短链低聚糖; $\beta$ -葡萄糖苷酶再将纤维二

糖、纤维三糖等分解为葡萄糖。应当指出,该协同降解作用的顺序不是绝对的,而且各酶的功能也不是这样简单固定的。

### 3.2 纤维素酶的营养机理

3.2.1 提高动物对营养物质的消化吸收 植物细胞壁主要由纤维素、半纤维素和果胶组成的稳定而坚固的保护层。阻止了动物对胞内营养物质的消化吸收。纤维素酶可在半纤维素酶、果胶酶等协同作用下破坏细胞壁,使细胞内容物释放出来,再有蛋白酶和淀粉酶等进一步降解,提高吸收率,同时也增加了非淀粉多糖的消化进而改善了高纤维饲料的利用率。

3.2.2 改善动物肠道菌群平衡 单胃动物猪、鸡等由于体内内源性纤维素酶不足或缺乏,因而对纤维

素的消化利用率低。对于草食动物,虽然体内有一定量分解纤维素的微生物存在,但产生的纤维素酶的种类和数量有限,加上饲料在消化道中停留时间短,使粗纤维的消化受到限制。添加纤维素酶可补充内源酶的不足,提高动物对粗纤维的利用率。同时还可以改善消化道酶系组成、酶量及活性。纤维素酶能够显著减少肠道大肠杆菌的数量,增加有益乳酸杆菌的数量。

3.2.3 缓解或消除饲料抗营养因子的影响 抗营养因子的存在,影响了动物对饲料的消化吸收,降低了饲

料利用率。果胶、半纤维素、-葡聚糖和戊聚糖可部分溶解在水中,产生粘性,增加动物胃肠道内容物粘度,对内源酶是一种物理屏障,导致饲料中养分吸收率降低。而添加纤维素酶可降低粘度,增加内源性酶的扩散和与营养物质的接触面积,促进饲料的消化吸收。

3.2.4 维持小肠绒毛形态完整 纤维素酶能维持小肠绒毛形态完整性,促进小肠对营养物质吸收以及细胞壁结合的矿物质的吸收。同时,也为有益微生物的生长繁殖提供了养分,促进了消化道内的菌群平衡,提高动物对饲料的消化吸收。

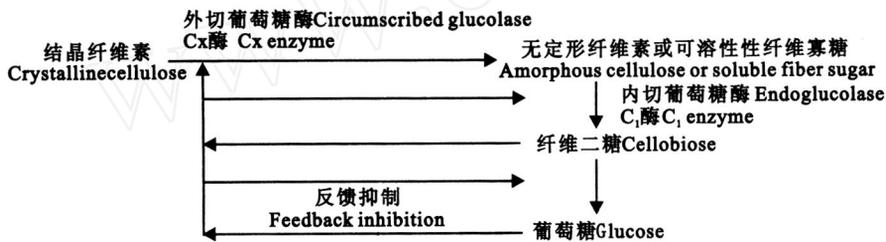


图 3 纤维素酶对纤维素的协同降解模型

Fig. 3 The mode chart of synergistic degradation of cellulose by cellulase enzyme

## 4 纤维素酶在畜牧业中的应用

### 4.1 纤维素酶的应用方式

目前,国内外利用纤维素酶的方法有体外酶解法和体内酶解法两种。体外酶解法是把纤维素酶和秸秆饲料拌匀,在一定温度、湿度和 pH 下堆积或发酵一段时间,晾干后直接饲喂动物,该方法效果好,但费工费时,如方法得当,可大力推广。体内酶解法是把纤维素酶以添加剂的形式直接加到饲料中,混匀饲喂动物,该方法简单,应用较为广泛,但受饲料加工和动物内环境的影响较大。在实际生产中常将纤维素酶、果胶酶、-葡萄糖苷酶等组成的复合酶添加到饲料中饲喂。

### 4.2 纤维素酶在牧草青贮中的应用

青贮饲料是指以新鲜的青绿饲料作物、牧草等为原料,利用厌氧微生物的发酵作用制成的能长期保存原料营养特性的饲料<sup>[3]</sup>。在青贮过程中添加适当的添加剂,不仅可补充青贮原料中营养成分的不足,迅速降低青贮饲料的 pH 值,而且还能形成乳酸菌增殖的适宜环境,抑制其他有害菌类的生长,加快乳酸发酵速度,提高青贮饲料利用率和动物生产性能。

陈娥英等<sup>[4]</sup>使用象草进行青贮,在象草中添加绿汁发酵液和纤维素酶。结果表明,单独添加绿汁发酵液和添加绿汁发酵液与纤维素酶的复合物,均可降低青贮的 pH 和氨态氮,提高了干物质回收率

和粗蛋白含量,有利于提高青贮品质。庄益芬等<sup>[5]</sup>在全穗期的猫尾草中添加乳酸菌(LAB)、纤维素酶(CEL)、乳酸菌+纤维素酶(MIX)、蚁酸(FA)进行青贮,结果表明,添加 LAB 提高了全穗期青贮料的干物质,添加 CEL 和 MIX 降低了青贮料的细胞壁成分含量。Sheperd 等<sup>[6]</sup>在青贮紫花苜蓿时添加酶和乳酸菌,结果表明,中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的含量显著降低,同时也显著降低了 pH 值,而且在发酵完成后,由于酶解作用仍在进行,因而糖含量仍在继续增加。由此可见,青贮过程中添加纤维素酶制剂,能够改善乳酸发酵,提高青贮饲料的品质。Tengerdy 等<sup>[7]</sup>在紫花苜蓿和狗牙根中添加纤维素酶制剂进行青贮,结果表明添加纤维素酶能够显著降低青贮料的 pH 值,增加乳酸和还原性糖的含量。

国内目前纤维素酶制剂在青贮饲料中的应用还不多,原因之一是商业纤维素酶制剂尚处于研究开发阶段,且生产能本较高。随着畜牧业的快速发展,不断完善青贮技术,提高青贮饲料的品质成为当今急需研究的课题。尽管纤维素酶制剂在青贮中的应用还存在稳定性等问题,但随着国内外酶工程和酶技术的发展,以及青贮饲料中应用酶制剂研究的深入,纤维素酶制剂亦将在我国青贮生产中得到越来越广泛的应用。

### 4.3 纤维素酶在动物生产中的应用

体内酶解法是将纤维素酶以添加剂的形式加入

饲料中拌匀后饲喂动物,借助动物消化道的内环境而发挥作用。除反刍动物借助瘤胃微生物可利用一部分外,其它动物如猪、鸡等单胃动物则很少能利用纤维素。近年来,国内外真菌纤维素酶の利用已成为提高畜禽生产性能和饲料利用率的重要措施之一。

4.3.1 在反刍动物中的应用 在奶牛养殖中,纤维素酶能增强奶牛食欲,增加粗饲料的采食量,提高饲料的消化率、利用率,提高产奶量和乳脂率,同时,还能降低奶牛消化道的发病率。在肉牛养殖中,纤维素酶可提高肉牛日增重,降低了料增重比,缩短了育肥周期,增加经济效益。刘建昌等<sup>[8]</sup>在奶牛的精饲料中添加复合酶,每头奶牛平均日产奶量,试验组比对照组提高14.89%,差异较显著。马双青和王永刚<sup>[9]</sup>在奶牛精料中添加复合酶进行试验,结果表明在奶牛日粮中添加占精料1%的复合纤维素酶制剂,可显著提高产奶量;乳脂率略有提高,但无明显差异;头均日增加产奶量1.26 kg,每头牛日增收2.64元。李晓东等<sup>[10]</sup>利用复合酶制剂对羔羊进行试验,结果表明在低能日粮基础上添加酶制剂并没有提高羔羊对于干物质、粗纤维的消化率及磷的吸收率,但能显著调高脂肪的消化率和钙的吸收率。

4.3.2 在养鸡业中的应用 在鸡饲料中加入纤维素酶,可提高饲料表观消化率、蛋白质利用率、能量利用率和代谢能值,也可提高肉鸡的增重和饲料利用率。许梓荣等<sup>[11]</sup>在含30%麸皮的肉鸡日粮中添加复合酶,日增重提高9.79%,饲料转化率提高4.76%;陈晓春和陈代文<sup>[12]</sup>利用肉鸡做试验,在低能组日粮中添加0.2%和0.3%的纤维素酶,结果显示低能组能量利用率和蛋白利用率较比对照组分别提高5.6%、5.1%和4.4%、3.8%,表观消化率和代谢能也有所提高。徐奇友<sup>[13]</sup>在蛋鸡日粮中添加0.1%、0.15%、0.5%纤维素酶进行试验,结果表明,产蛋率分别提高0.53%、1.25%、2.88%,酶水平为0.15%和0.5%处理组破蛋率降低34.49%、16.19%,蛋壳强度分别提高14.71%和8.41%;秦江帆和徐奇友<sup>[14]</sup>在肉仔鸡高麸日粮基础上添加0.05%、0.1%纤维素酶进行试验,结果表明各个日粮间的试验鸡在3~6周时日增重差异不显著;7~8周时低酶水平和高酶水平相比差异极显著,日增重与酶添加水平呈正相关。

4.3.3 在养猪业中的应用 在猪饲料中添加纤维素酶,可提高饲料转化率,改善肠道环境,减少消化道疾病,促进仔猪生长,提高消化率和饲料利用率。申瑞玲等<sup>[15]</sup>用生长育肥猪进行试验,在基础日粮中

添加0.05%、0.1%、0.15%水平的复合纤维素酶,结果表明屠宰率比对照组分别提高了3.74%、5.69%、2.10%;料重比分别下降了11.5%、13.9%、13.7%;日增重分别提高9.1%、17.9%、2.6%。徐春生等<sup>[16]</sup>在仔猪日粮中添加0.1%和0.2%的复合酶制剂进行试验,结果表明,添加0.1%组与对照差异不显著,添加0.2%组日增重、饲料转化率分别提高19.19%和26.92%,差异极显著。日粮干物质、蛋白质、粗纤维、和粗脂肪的消化率分别提高了10.05%、6.04%、20.50%和6.34%,差异显著。王敏奇等<sup>[17]</sup>在早灿稻饲料中添加0.2%复合酶制剂,对生长猪进行饲养试验,结果显示:添加复合酶制剂组日增重提高了8.78%,料重比降低了9.42%,饲料中粗蛋白、粗脂肪和粗纤维的表观消化率分别提高了12.73%、8.84%和16.97%。而李宝玉等<sup>[18]</sup>等在以玉米-豆粕为基础日粮中添加纤维素酶对生长猪的生产性能没有改善作用。

#### 4.4 在中兽药中的应用

在临床所用的中兽药中,植物药所占比例在90%以上,由于植物药的细胞壁是由纤维素构成,纤维素不溶于水,在提取制备过程中往往被废弃掉,既浪费又污染。因此可以利用纤维素酶降解纤维素,破坏植物细胞壁,提高中药成分的提取率。而纤维素酶也是被专家公认的治疗家畜为肠道疾病的一种新型药剂。李晓勤和张景军<sup>[19]</sup>对78例牛前胃弛缓用纤维素酶进行治疗,结果原发性前胃弛缓共58例,治愈53例,好转5例。与其他疗法相比已显示出病势缓解快、全身症状迅速消失的特点。

## 5 纤维素酶在应用中存在的问题

纤维素酶作为一种高效、安全的生物催化剂,在改善饲料的营养价值、提高畜禽饲料的消化率和利用率等方面具有广阔的应用前景。纤维素酶的应用虽取得了一定的成果,但在目前推广应用中还存在如下问题:(1)对纤维素酶的作用机理的研究还很少,如纤维素酶与基础日粮及其它酶类的互作关系,纤维素酶对不同发育阶段的动物消化酶系的变化及内源酶活力的影响,对动物生理及内分泌的影响,如何根据畜禽内源酶状况补充各种纤维素复合酶制剂等问题尚需进一步研究;(2)产纤维素酶的菌株产量低,成本偏高,严重制约了纤维素酶的工业化生产,如何培育高产菌株,特别是基因工程、分子酶工程纤维素酶克隆等方面仍需进一步深入研究;(3)纤维素酶是一种微生物催化剂,受温度、pH值、激活剂和抑

制剂等多种因素的影响,很容易失活,对其稳定化处理和耐受性的研究还不多,如何延长纤维素酶在体内存留时间以充分发挥其酶解效力还需进一步研究;(4)纤维素酶对不同饲料的最佳添加量、添加时间和方式还不十分清楚;(5)纤维素酶的检测方法很多,但真正适合饲料中检测纤维素酶的方法却不多。建立一种检测饲用纤维素酶活性的标准方法,是饲料工业发展的迫切需求;(6)纤维素酶是一种微生物制剂,受温度、pH值、激活剂和抑制剂等多种因素的影响,很容易失活,对其稳定化处理和耐受性的研究还不多,如何延长纤维素酶在体内存留时间以充分发挥其酶解效力还需进一步研究。

综上所述,在畜牧业生产中,纤维素酶将会发挥越来越重要的作用。加速纤维素酶的生产 and 推广应用,对于促进纤维素资源的利用、解决饲料资源问题,迅速发展畜牧业,保证饲料工业的可持续发展以及保护环境将起到积极的作用。

#### 参考文献:

- [1] 邹仪明. 植物纤维素化学[M]. 2版. 北京:中国轻工业出版社, 1995, 152-154.
- [2] 倪维斗,李政,靳晖. 对用生物质原料生产燃料用乙醇之我见[J]. 中国工程科学, 2001, 3(5): 44-49.
- [3] 杨雪霞,陈洪章. 添加纤维素酶的青贮研究进展[J]. 生物技术通报, 2001, (1): 37-41.
- [4] 陈娥英,庄益芬,张文昌. 不同添加剂对象草青贮发酵品质的影响[J]. 中国农学通报, 2007, 23(7): 61-63.
- [5] 庄益芬,安宅一夫,张文昌. 添加剂、收割期对猫尾草青贮细胞壁成分和体外干物质消化率的影响[J]. 江西农业大学学报, 2006, 28(3): 436-439.
- [6] Sheperd A C, Maslanka M, Quinn D, et al. Additives containing bacteria and enzymes for alfalfa silage [J]. J Dairy Sci, 1995, 78: 3 565-3 572.
- [7] Tengerdy R P, Weinberg Z G, Szakacs G, et al. Ensilage alfalfa with additives of lactic acid bacteria and enzymes [J]. J Sci Food Asrlc, 1991, 55: 215-228.
- [8] 刘建昌,林洁荣,苏水金,等. 添加纤维素酶制剂对奶牛产奶性能的影响. 中国畜牧杂志, 2001, (3): 31-32.
- [9] 马双青,王永刚. 复合纤维素酶对奶牛产奶量及乳脂率的影响[J]. 黑龙江畜牧兽, 2008(4): 37-38.
- [10] 李晓东,罗海玲,徐永锋,等. 添加纤维素复合酶制剂对羔羊日粮营养物质消化的影响[J]. 中国草动物, 2007, 27(4): 28-29.
- [11] 许梓荣,钱利纯,孙建义,等. 高麸饲料中添加-葡聚糖酶、木聚糖酶和纤维素酶对肉鸡生长和消化的影响[J]. 浙江农业学报, 1999, 11(2): 80-84.
- [12] 陈晓春,陈代文. 纤维素酶对肉鸡生产性能和营养物质消化利用率的影响[J]. 饲料研究, 2005, (11): 7-9.
- [13] 徐奇友. 纤维素酶在蛋鸡日粮中的应用研究[J]. 饲料工业, 1998(1): 12-13.
- [14] 秦江帆,徐奇友. 纤维素酶对肉用仔鸡生产性能的影响[J]. 饲料博览, 1996(2): 12-14.
- [15] 申瑞玲,张建杰,张改清. 苜蓿草粉日粮中添加复合纤维素酶对生长育肥猪生产性能的研究[J]. 动物科学与动物医学, 2002, 19(7): 52-55.
- [16] 徐春生,孙国君,将新环,等. 复合酶制剂对仔猪生产性能和日粮养分消化率的影响[J]. 石河子大学学报, 2004, 22(1): 60-62.
- [17] 王敏奇,许梓荣,孙建义. 早籼稻饲料中添加酶制剂对猪生长和消化的影响[J]. 中国水稻学, 2003, 17(2): 179-183.
- [18] 李宝玉,姜建阳,马永喜,等. 纤维素酶在生长猪日粮中的应用[J]. 中国饲料, 2000(3): 16-17.
- [19] 李晓勤,张景军. 应用纤维素酶治疗牛前胃迟缓[J]. 兽医临床, 2005, (11): 54-55.

## The Research and Application Progress of Cellulase in Animal Husbandry

XIA You-guo<sup>1,2</sup>, HUANG Qin-lou<sup>2\*</sup>, YANG Xin<sup>1,2</sup>, ZHONG Zhen-mei<sup>2</sup>, HUANG Xiu-sheng<sup>2</sup>

(1. College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 35000, China;

2. Agriculture Ecology Institute, Fujian Academy of Agricultural Science,

Fujian Engineering and Technology Research Center for Hilly Prataculture, Fuzhou, Fujian 350013, China)

**Abstract:** Cellulose is a kind of carbohydrates which is the most widely existent in nature, it also is the most abundant renewable resource on earth. It is of great practical significance to solve the food shortage, energy crisis and environmental pollution by translating cellulose into food and energy which is urgently needed for human. This article summarizes the molecular structure, mechanism of cellulose and application status.

**Key words:** cellulose; molecular structure; mechanism; application status