

# 白腐真菌产木聚糖酶降解半纤维素及改善肠道微生态平衡作用

李天歌<sup>1</sup>, 岳晓禹<sup>2,3,\*</sup>, 李自刚<sup>2</sup>, 蔡青和<sup>3</sup>

(1.四川农业大学食品学院, 四川 雅安 625014; 2.河南牧业经济学院质检系, 河南 郑州 450011;

3.中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘要:**以白腐真菌菌株*Pleurotus ostreatus* SYJ-042为研究对象, 对该菌株产木聚糖酶进行果皮和动物饲用效果研究。果皮效用实验结果表明: 酶液对果皮粉中半纤维素的降解随反应时间的延长降解率增加, 反应5h的降解率就达到了62.44%。动物实验结果表明: 实验组大鼠的采食量比对照组要高, 差异极显著( $P < 0.01$ ), 日增重比对照组要高, 差异极显著( $P < 0.01$ ); 实验组大鼠对饲料中半纤维素降解率数值与对照组相比没有差异显著; 与对照组相比, 实验组大鼠空肠部位的总菌数有显著差异( $P < 0.01$ ), 盲肠部位的总菌数没有显著差异, 结肠中总菌数要显著低于对照组( $P < 0.01$ )。因此, 木聚糖酶有利于果皮的脱皮, 能促进大鼠的生长, 改善肠道微生态平衡。

**关键词:** 白腐真菌; 木聚糖酶; 应用

Xylanase from *Pleurotus ostreatus* SYJ-042 Degrades Hemicellulose and Ameliorates Intestinal Microecological Balance

LI Tian-ge<sup>1</sup>, YUE Xiao-yu<sup>2,3,\*</sup>, LI Zi-gang<sup>2</sup>, CAI Qing-he<sup>3</sup>

(1. College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;

2. Department of Quality Detection and Management, Henan College of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450011, China;

3. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** Xylanase has a promising potential of applications in the feed industry as well as the food and pulp industry. These applications of xylanase from *Pleurotus ostreatus* SYJ-042 were investigated. The results showed that the degradation of hemicellulose in pear pericarp was gradually increased with reaction time. The degradation rate at 5 h reached 62.44%. Animal experiments showed that the experimental group fed on xylanase-containing wheat diet had a higher food intake than the control group and the difference was significant. The daily weight gain was also higher than that of the control group and a significant difference was observed ( $P < 0.01$ ). However, the dietary hemicellulose degradation rate in the experimental group compared with the control group did not differ significantly. Administration of xylanase-containing diet also decreased the total bacterial count in the jejunum and colon ( $P < 0.01$ ) without resulting in a significant difference for the cecum ( $P < 0.01$ ). In conclusion, the xylanase was beneficial to remove the pericarp, promote the growth of rats, and maintain intestinal microecological balance.

**Key words:** white-rot fungi; xylanase; application

中图分类号: Q814.9

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)17-0313-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201317066

木聚糖酶是能够水解木聚糖的一个复合酶系的总称<sup>[1]</sup>, 其广泛应用于食品、饲料、酿造工业、纺织和造纸, 是一种重要的工业用酶<sup>[2]</sup>。国内外已有很多研究人员对链霉菌<sup>[3]</sup>、酵母<sup>[4]</sup>、木霉<sup>[5]</sup>、黑曲霉<sup>[6]</sup>、镰孢菌<sup>[7]</sup>等真菌及芽孢杆菌<sup>[8]</sup>等微生物产木聚糖酶的生产及应用研究<sup>[9-12]</sup>进行了研究, 但很少有以白腐真菌作为木聚糖酶

来源菌进行研究的。白腐真菌有很高的营养价值, 且安全性高<sup>[13]</sup>, 所产许多代谢物是食品、制药的重要来源<sup>[14]</sup>。本实验在前期研究的基础上<sup>[15]</sup>, 经发酵得到的含有木聚糖酶的发酵液, 低温离心后收集上清液, 进行超滤浓缩后得到木聚糖酶的粗制品。选用大鼠和果皮作为实验对象, 添加不同木聚糖酶活性的发酵液,

收稿日期: 2012-06-26

基金项目: 2011年河南省重点科技发展计划项目(112102110034); 2011年度河南省教育厅自然科学研究计划项目(2011A550014; 12A550007); 河南牧业经济学院博士科研启动资金项目(5040190)

作者简介: 李天歌(1992—), 女, 本科生, 研究方向为食品安全。E-mail: 93963435@163.com

\*通信作者: 岳晓禹(1974—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品微生物。E-mail: yuerain@163.com

对白腐真菌(*Pleurotus ostreatus* 042)产木聚糖酶的应用特性进行探讨。

1 材料与方法

1.1 实验动物、材料与试剂

SD大鼠均为约110g, 5周龄左右, 由河南省农业科学院提供。

*Pleurotus ostreatus* SYJ-042为本实验室筛选并保存; 梨购自农贸市场的新鲜水果。

商品酶来源于罗氏公司; 木聚糖 美国Sigma公司; 发酵培养基: 碳源为5%的麸皮和玉米芯(1:1, *m/m*), 氮源为0.5%的蛋白胨, 接种量为每50mL发酵液接4块菌丝块, pH5.4, 121℃湿热灭菌20min。

1.2 仪器与设备

SLQ-6粗纤维测定仪 上海纤检仪器有限公司; JCR4-I恒温摇床培养箱 东西仪(北京)科技有限公司; SHP350生化培养箱、101A-3E 电热鼓风干燥箱 上海实验仪器厂; ERLAB超净工作台Flowcap700 上海人和科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 果皮实验

检验得到的酶液对果皮中的半纤维素的降解能力。

新鲜梨去皮, 把梨皮于40℃条件下烘干后粉碎。称取1g, 设3个重复, 分别加入7mL浓缩酶液(218U)和3mL蒸馏水, 分别反应3、5h。测出加酶反应后的中性洗涤纤维值(NDF/%)和酸性洗涤纤维值(ADF/%), 两者之差即是加酶反应后剩余的半纤维素量。NDF和ADF采用范式(Van Soest)洗涤剂法进行分析测定<sup>[16]</sup>。

对照用7mL蒸馏水代替浓缩酶液, 其他实验操作同上。得出不加酶液前的梨皮粉中半纤维素的含量。加酶反应前后的半纤维素含量之差即是酶液降解半纤维素的量。

$$\text{半纤维素降解率/\%} = \frac{\text{加酶反应前半纤维素含量} - \text{加酶反应后半纤维素含量}}{\text{加酶反应前半纤维素含量}} \times 100$$

1.3.2 动物实验

1.3.2.1 实验设计

采用单因素试验设计, 见表1。分别设对照组, 处理2为自制木聚糖酶组(4000U/kg), 处理1为罗氏木聚糖酶组(4000U/kg), 每个处理设6个重复, 每个重复2只大鼠, 共36只。

表1 动物实验设计

Table 1 Experimental design for animal studies

组别	木聚糖酶添加量/(U/kg)	纤维素酶添加量/(U/kg)
对照组	0	4000
处理1	4000	4000
处理2	4000	4000

注: 考虑到细胞壁的降解需要纤维素酶的参与, 每组饲料中添加有4000U/kg的纤维素酶。

1.3.2.2 实验大鼠日粮

参考我国实验大鼠营养需要标准配制见表2。

表2 日粮组成及营养成分分析

Table 2 Composition and nutritional analysis of rat diet

原料组成	含量/%	营养成分	指标
小麦	63.00	消化能/(MJ/kg)	12.55
豆粕	20.50	粗蛋白含量/%	21.00
鱼粉	3.00	粗脂肪含量/%	2.95
麸皮	8.00	粗纤维CF含量/%	3.50
石粉	1.60	Ca含量/%	1.01
磷酸氢钙	0.65	P含量/%	0.68
植物油	1.00	Lys含量/%	1.35
豆氨酸	0.50	Met含量/%	0.81
赖氨酸	0.45		
食盐	0.30		
预混料	1.00		
三氧化二铬	0.30		

1.3.2.3 实验动物及饲养管理

挑选36只体质量一致(110g)的5周龄左右的SD实验大鼠, 雌雄比例各占一半。将大鼠按照体质量和性别随机分入3个处理, 每个处理设6个重复, 每重复2只大鼠, 放入1个鼠笼中。实验房内气温控制在(21±1)℃, 光照方式为12h/12h。实验分预试期7d, 正式期14d。每天给大鼠供应2次(8:30, 16:00)饲料。饲料放入装有防抛撒装置的不锈钢料槽内。大鼠自由饮水。

1.3.2.4 实验操作

分别在正式期的1、7d和14d称大鼠体质量(7:30~8:30空腹)。

每天称量一定量的饲料, 每周统计各重复的采食量。

肠道总菌数的测定: 在正式期最后1d, 大鼠在饲喂10h后用断头法将其处死。然后迅速打开腹腔, 严格无菌操作采集空肠、盲肠、结肠的内容物, 取内容物0.1mL, 用无菌生理水稀释100倍, 取20μL于血琼脂培养基平板, 35℃培养24~48h, 计数菌落以CFU/g表示。

消化实验: 在实验的第10天开始, 按重复单位收集大鼠排粪, 每重复单位收集8d后, 混匀, 同时采集饲料样品, 烘干, 制成干样样品备用, 按参考文献[16]测定饲料和粪中的半纤维素的含量, 由此看初步检查酶对饲料的分解情况。

1.4 数据处理与分析

所得数据均为3次的平均值, 用SAS 9.0进行方差分析, 并用Duncan's进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 果皮实验结果

由表3可知, 酶液对果皮粉中的半纤维素有较明显的降解作用, 并且随反应时间的延长, 降解率增加。反应

5h的降解率就超过了50%，达到62.44%。说明该酶对梨皮中的半纤维素有降解作用，在饮料加工、果汁生产等领域具有广阔的应用价值。

表3 果皮中半纤维素降解率

Table 3 Degradation rate of hemicellulose in pear pericarp

项目	NDF含量/%	ADF含量/%	半纤维素含量/%	半纤维素的降解率/%
梨皮粉中原有量	36.11	27.91	8.20	
加入酶液反应3h后	33.04	28.76	4.28	47.80
加入酶液反应5h后	32.84	29.76	3.08	62.44

## 2.2 动物实验结果

### 2.2.1 对采食量的影响

表4 添加木聚糖酶对实验大鼠采食量的影响

Table 4 Effect of xylanase on rat feed intake

项目	采食量/(g/d)			P
	对照组	处理1	处理2	
第1周	32.52 <sup>B</sup>	32.75 <sup>B</sup>	48.32 <sup>A</sup>	0.0001
第2周	37.62 <sup>B</sup>	36.93 <sup>B</sup>	43.15 <sup>A</sup>	0.2578
2周值	35.05 <sup>B</sup>	34.82 <sup>B</sup>	45.75 <sup>A</sup>	0.0029

注：大写字母不同表示差异极显著( $P<0.01$ )；“2周值”指1~14d之间的生产性能数据。下同。

由表4可知，在以小麦为基础的日粮中，添加自制的木聚糖酶后，处理2实验大鼠的采食量比对照组和添加罗氏公司的木聚糖酶组(处理1)要高，差异极显著( $P<0.01$ )。

### 2.2.2 对日增重的影响

表5 添加木聚糖酶对实验大鼠日增重的影响

Table 5 Effect of xylanase on rat daily weight gain

项目	日增量/(g/d)			P
	对照组	处理1	处理2	
第1周	4.08 <sup>B</sup>	4.04 <sup>B</sup>	5.27 <sup>A</sup>	0.5707
第2周	5.81 <sup>B</sup>	5.47 <sup>B</sup>	6.26 <sup>A</sup>	0.8496
2周值	4.95 <sup>B</sup>	4.42 <sup>B</sup>	5.43 <sup>A</sup>	0.7531

由表5可知，在以小麦为基础的日粮中，添加自制的木聚糖酶后，处理2的日增重比对照组和处理1要高，差异极显著( $P<0.01$ )。对照组与处理1组大鼠的日增重差异不显著( $P>0.05$ )。

### 2.2.3 对半纤维素降解率的影响

表6 添加木聚糖酶对半纤维素降解率的影响

Table 6 Effect of xylanase on hemicellulose digestibility in rats

项目	对照组	处理1	处理2	P
NDF/%	64.80	65.23	64.98	0.9245
ADF/%	25.22	24.80	20.70	0.3837
半纤维素降解率/%	78.30	80.18	79.26	0.4025

由表6可知，添加自制木聚糖酶(处理2)和罗氏公司木聚糖酶(处理1)的实验大鼠对饲料中NDF、ADF和半纤维素降解率数值与对照组没有显著差异( $P>0.05$ )。

### 2.2.4 肠道总菌数

由表7可知，空肠中，添加自制木聚糖酶(处理2)与对

照组相比，空肠部位的总菌数要低( $P<0.10$ )，与添加罗氏公司的木聚糖酶组(处理1)没有差异。盲肠中，添加自制木聚糖酶与对照组相比，盲肠部位的总菌数没有显著差异，而要比添加其他公司的木聚糖酶组要低。结肠中，添加木聚糖酶组的结肠中总菌数要显著低于比对照组( $P<0.01$ )，添加木聚糖酶的两组没有显著差异( $P>0.05$ )。

表7 添加木聚糖酶对实验大鼠肠道总菌数的影响

Table 7 Effect of xylanase on total bacterial count in rat intestines

项目	肠道总菌数(Ig(CFU/g))			P
	对照组	处理1	处理2	
空肠	7.49 <sup>A</sup>	6.73 <sup>AB</sup>	6.36 <sup>B</sup>	0.0983
盲肠	7.76 <sup>A</sup>	8.24 <sup>B</sup>	6.77 <sup>A</sup>	0.0194
结肠	11.42 <sup>A</sup>	6.92 <sup>B</sup>	6.82 <sup>B</sup>	0.0001

在动物实验中，在采食量、日增重和肠道细菌总数方面接近预期效果，分别使采食量和日增重增加，使肠道细菌总数降低。这除了和酶的作用有关外，可能与酶液中含有的一些食用菌产生的一些营养物质也有关，可能与酶液中含有的一些食用菌产生的一些具有生物活性功能的营养物质也有关。

## 3 结论

木聚糖酶的研究是一个热点，但是白腐真菌产木聚糖酶的研究很少，本实验研究了其用作饲用酶的应用情况。酶液对果皮粉中的半纤维素有较明显的降解作用，并且随反应时间的延长，降解率增加。反应5h的降解率达到了62.44%，说明该酶对梨皮中的半纤维素有降解作用。在以小麦为基础的日粮中，添加自制的木聚糖酶后，实验大鼠的采食量比对照组和添加罗氏公司的木聚糖酶组要高，差异极显著；日增重比对照组和添加罗氏公司的木聚糖酶组要高，差异极显著，说明提高了实验大鼠的采食量和日增重。添加木聚糖酶(自制和罗氏公司)组的实验大鼠对饲料中半纤维素降解率数值与对照组没有显著差异。添加自制木聚糖酶与对照组相比，空肠部位的总菌数要低，有显著差异；盲肠部位的总菌数没有显著差异；结肠中总菌数要显著低于对照组，差异显著。说明在实验大鼠基础日粮中添加研制的木聚糖酶显著降低了其后肠道(尤其是空肠和结肠)的细菌总数。

## 参考文献：

- [1] BEG Q K, KAPOOR M, MAHAJAN L. Microbial xylanases and their industrial applications: a review[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2001, 56: 326-338.
- [2] POLIZELI M L T M, RIZZATTI A C S, MONTI R, et al. Xylanases from fungi: properties and industrial applications[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2005, 67(5): 577-591.
- [3] 朱运平, 李秀婷, 宋焕禄, 等. 萎伯氏链霉菌 *S. rochei* L10904产木聚

- 糖酶对馒头品质的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(3): 174-178.
- [4] 李富伟, 汪勇, 汤海鸥. 重组毕赤酵母工程菌产木聚糖酶酶学性质的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2009, 45(3): 43-45.
- [5] 曹香林, 王俊丽, 聂国兴. 康宁木霉产木聚糖酶的稳定性研究[J]. 中国饲料, 2009(16): 41-44.
- [6] 王晓晓, 冯明光. 利用生防真菌孢子粉生产中的废米生产饲用 $\beta$ -葡聚糖酶和木聚糖酶的黑曲霉固相发酵条件优化[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2009, 35(1): 39-44.
- [7] 王权帅, 康文丽, 生吉萍, 等. 不同发酵条件对 *Fusarium solani* ZH0101 产木聚糖酶的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(13): 188-192.
- [8] 包怡红, 李雪龙. 木聚糖酶产生菌: 类芽孢杆菌的筛选及其酶学性质研究[J]. 中国食品学报, 2008, 8(2): 36-41.
- [9] DOBREV G T, PISHTIYSKI I G, STANCHEV V S, et al. Optimization of nutrient medium containing agricultural wastes for xylanase production by *Aspergillus niger* B03 using optimal composite experimental design[J]. Bioresour Technol, 2007, 98(14): 2671-2678.
- [10] FREIXOA M R, KARMALIA A, FRAZAOC C, et al. Production of laccase and xylanase from *Coriolus versicolor* grown on tomato pomace and their chromatographic behaviour on immobilized metal chelates[J]. Process Biochem, 2008, 43(11): 1265-1274.
- [11] BATTANA B, SHARMA J, DHIMANA S S, et al. Enhanced production of cellulase-free thermostable xylanase by *Bacillus pumilus* ASH and its potential application in paper industry[J]. Enzyme Microb Technol, 2007, 41(6/7): 733-739.
- [12] JACOB A N, ASHA P C, PREMA P. Purification and partial characterization of polygalacturonase from *Streptomyces lydicus*[J]. Bioresour Technol, 2008, 99(14): 6697-6701.
- [13] CHANG S T, BUSWELL J A, MILES P G. Genetics and breeding of edible mushrooms[M]. Philadelphia: Gordon & Breach, 1992. 297-324..
- [14] 岳晓禹, 贺小营, 牛天贵, 等. 木聚糖酶的研究进展[J]. 酿酒科技, 2007(4): 113-115.
- [15] 岳晓禹, 张恒业, 刘艳娟, 等. 白腐真菌产木聚糖酶发酵条件的优化及酶学性质研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(4): 197-200.
- [16] van SOEST P J, ROBERTSON J B, LEWIS B A. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition[J]. Journal of Dairy Science, 1991, 74(10): 3583-3597.