

文章编号: 1006-267X(1999)02-0006-06

非淀粉多糖酶制剂的研究与应用进展

刘 强 , 冯学琴

(中国农业科学院畜牧所, 北京 100094)

摘要: 本文对非淀粉多糖酶制剂开发和应用所涉及到的理论和实践问题进行了评述。

关键词: 非淀粉多糖酶制剂 ; 开发 ; 应用

中图分类号: S 816.7

文献标识码: A

近 20 年来, 北欧和北美一些国家对谷物饲料中非淀粉多糖 (NSP) 及其抗营养作用进行了大量研究, 并利用外源多糖酶, 使家禽日粮大量使用大麦和小麦等谷物成为可能, 因此, 饲用酶制剂的开发和利用受到了国内外畜牧工作者的普遍重视。Wenk (1992)、Inbarr (1993) 和 Chesson (1987, 1992) 就酶制剂的研制程序和作用机理进行了多次报道, 蒋宗勇 (1992) 等也曾对酶制剂的作用机理和应用状况进行过较为系统的介绍。本文拟就非淀粉多糖酶制剂使用中存在的一些问题, 作简要评述。

1 新型酶制剂的主攻方向

早期的饲用酶制剂主要是为补充幼龄、断奶或处于应激状态下的畜禽体内消化酶分泌量不足而生产的, 一般含有动物能够分泌的 α -淀粉酶、蛋白酶和脂肪酶等多种酶。近年研究发现, 除断奶仔猪 (4~16kg) 以外, 新生仔猪和鸡雏均能分泌足够的消化酶, 无需在饲料中补充外源酶。实际应用效果也说明, 这种酶制剂对断奶仔猪有较明显的助消化、促生长效果, 但对新生仔猪和雏鸡的效果极不稳定。此外, 还有所谓有降解饲料中纤维素的酶制剂, 其中一般只有纤维素分解酶, 但迄今为止, 纤维素分解酶的产量和有效活性都很低, 尚不能在生产中大量应用。

80 年代以来, White 等 (1981) 在研究大麦、燕麦和 Choct 等 (1992) 在研究小麦时发现, 大麦和燕麦中的 β -葡聚糖 (β -glucan), 黑麦、小麦和小黑麦中的阿拉伯木聚糖 (arabinoxylan) 是这些谷物营养价值低或变化大的主要原因, 添加外源性 β -葡聚糖酶或戊聚糖酶, 可以提高这些谷物的营养价值, 改善畜禽的生产性能。近年来, 许多国外厂商借助现代生物技术方法, 加工或筛选出多种能分泌特异性糖苷酶的菌株, 这些菌株的产酶量均很高, 经一定的加工配伍, 即形成所谓的非淀粉多糖 (NSP) 酶。

新型酶制剂最突出的特点是以降解 NSP 的酶为主体, 兼有纤维素酶、淀粉酶、蛋白酶和植酸酶。虽然也是复合型的, 但其目的已不再是补充畜禽内源酶的不足, 而是以最大限度地消除 NSP 的抗营养作用, 充分释放饲料中可利用养分, 降低动物饲养对环境的污染为目的。这也是十多年来发达国家为充分挖掘饲料资源, 降低养殖业对环境污染所采取的措施之一。

2 非淀粉多糖的概念

收稿日期: 1997-11-20

NSP 是植物组织中除淀粉外所有碳水化合物的总称,包括人们熟知的纤维素、半纤维素和果胶类物质等,由多种单糖和糖醛酸经糖苷键连接而成,大多数为有分支的链状结构,常与蛋白质和无机离子等结合在一起,是细胞壁的主要成分,不能被单胃动物自身分泌的消化酶水解。 - 葡聚糖和阿拉伯木聚糖等可溶性半纤维素和果胶是当前研究的热点,这些多糖主要分布在谷物籽实的胚乳细胞壁中,动物采食后在消化道可以部分溶解,与蛋白质和淀粉共同形成粘性胶体,有很强的持水力。

3 饲料中非淀粉多糖的多样性

各种谷物的 NSP 含量及其多糖构成有明显区别。如玉米的 NSP 主要是纤维素,大麦和燕麦中主要是纤维素、 - (1 - > 3), (1 - > 4) - 葡聚糖,而黑麦和小麦则以阿拉伯木聚糖为主,其中部分 - 葡聚糖和阿拉伯木聚糖存在于种皮和糊粉层细胞壁中,但主要位于胚乳细胞壁内。Kundsen (1995) 报道,小麦种皮中纤维素和阿拉伯木聚糖分别占其 NSP 总量的 32 % 和 66 %; 糊粉层中阿拉伯木聚糖和 - 葡聚糖分别占其总 NSP 的 65 % 和 31 %; 而胚乳细胞中 88 % 的 NSP 是阿拉伯木聚糖,其中有 1/3 是可溶的。果胶是豆科饲料中的主要可溶性 NSP,禾本科植物中含量较少。

同种谷物中的 NSP 结构和含量也随品种、产地的自然地理条件的变化而变化。Antoniou 等 (1981) 和 Annison 等 (1987) 对澳大利亚小麦品种的调查表明,约 25 % 的小麦品种的表现代谢能值(鸡)低于 13 MJ/kg DM,后来的研究表明,这主要是由于其中可溶性 NSP 含量不同引起的。Flore (1994) 对小黑麦、Marquardt 等 (1988) 对大麦的研究也证实存在类似情况。Kundsen 等 (1995) 报道,不同品种小麦中阿拉伯木聚糖的阿拉伯糖/木糖比例可在 0.45 ~ 0.86 之间变化。Choct 等 (1995) 研究表明,用相同方法从大米糠和小麦中制备的 NSP 提取物(主要是阿拉伯木聚糖),由于阿拉伯糖/木糖比例分别为 1.23 和 0.58,其营养作用完全不同。

除饲料间 NSP 含量和种类有差异外,NSP 链内的单糖和糖苷键也有多种变化。构成 NSP 的单糖主要有葡萄糖、木糖、阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖、鼠李糖和糖醛酸等,每个单糖都有 5 ~ 6 个成键位置,两个相连碳原子又有 - , - 两种构型。所以多糖的结构要比相同数量的氨基酸复杂得多。

4 非淀粉多糖的抗营养机理

现在普遍认为,NSP 可能通过多种方式影响饲料的营养价值和动物对饲料的消化利用。其中最直观的原因是可溶性 NSP 使食糜粘度升高,影响胃肠道运动对食糜的混合效率,从而影响消化酶与底物接触和消化产物向小肠上皮绒毛渗透,进一步影响了动物对饲料的消化和养分吸收。NSP 还可能与消化酶或消化酶活性必需的其它成分(如胆汁酸或无机离子等)结合而影响消化酶的活性。另外由于 NSP 是细胞壁的主要成分,不能被消化酶水解,大分子消化酶也不能通过细胞壁进入细胞内,因而对细胞内容物形成了一种包被结构。Mulder 等 (1991) 的研究也认为细胞内养分的消化率与细胞壁结构的完整性有密切关系,所以,NSP 的包被作用是干扰有些谷物细胞内其它养分消化吸收的主要原因之一。

表 1 几种常见饲料中 NSP 的含量和组成

Table 1. NSP content and composition in some common feedstuffs (g/kg DM)

饲料 Feedstuff	总 NSP Total NSP	阿拉伯糖 Arabinose	葡萄糖 Glucose	半乳糖 Galactose	甘露糖 Mannose	木糖 Xylose	糖醛酸 Uronic acids	可溶 NSP Soluble NSP	不溶 NSP Insoluble NSP
玉米 Corn	90	18	30	5	14	25	-	13	77
小麦 Wheat	114	33	28	3	-	48	2	24	94
小麦麸 Wheat bran	416	98	110	7	1	188	12	32	384
黑麦 Rye	132	35	35	3	3	54	2	46	86
燕麦 Oat	71	9	45	2	1	12	2	40	30
燕麦麸 Oat bran	137	17	94	2	-	21	3	84	53
大麦 Barley	167	28	82	2	2	51	2	45	122
大米 Rice	22	4	8	1	-	5	1	20	2
大豆 Soybean	156	20	42	43	10 + (4)	11	26	-	-
豌豆 Pea	148	41	61	8	-	14	22	41	107

资料来源:Englyst H N et al. 1989. Ani. Feed Sci. Tech.,23:27~42; - 表示未检出。

5 酶制剂的作用特点

众所周知,酶是具有高度专一性的生物催化剂,NSP 酶也不例外。如上所述,NSP 的化学结构非常复杂,一种酶只能特异地降解一种糖苷键,即使是作用于同一种糖苷键的酶,其作用方式也有内切和外切之分,而彻底降解某种多糖需要多种酶的共同作用。如常用的 α -葡聚糖酶只能专一地降解葡聚糖链内的 α -(1 \rightarrow 3)糖苷键。阿拉伯木聚糖酶主要作用其主链,专一降解由木糖连接而成的 α -(1 \rightarrow 4)糖苷键。阿拉伯木聚糖酶也只能降解由甘露糖连接而成的 α -(1 \rightarrow 4)糖苷键。而要将结晶纤维素完全降解为葡萄糖需要内切葡聚糖酶(EC. 3. 2. 1. 4)、外切葡聚糖纤维二糖水解酶(EC. 3. 2. 1. 91)和纤维二糖酶(EC. 3. 2. 1. 21)三种酶的协调配合。Bedford 和 Classen 多次研究表明,NSP 的粘度与其分子量有很大关系,大麦日粮中添加酶制剂后,分子量大于 500000Da 的葡聚糖组分减少,食糜粘度降低,饲料的淀粉消化率随之上升。笔者的研究表明,经阿拉伯木聚糖酶降解的小麦 NSP 提取物丧失了抑制淀粉酶活性的能力。所以,酶制剂中的酶不可能,也没必要将 NSP 降解成单糖,而只要将大分子 NSP 降解成分子量较小的多糖链,即可起到消除谷物饲料中 NSP 的抗营养作用。添加酶制剂的效果并不是来自于降解 NSP 产生的能量,而是通过将大分子 NSP 降解成分子量较小的多糖片段,降低食糜的粘度,提高常规养分的利用率;和通过打破细胞壁的完整结构,释放其中细胞内容物而获得的。因为若添加 NSP 酶的降解产物为单糖,按目前常见酶制剂的标明活性计算,每小时仅能从木聚糖、 α -葡聚糖和纤维素中分别释放 1~2g 木糖、8~9g 和不到 1g 的葡萄糖,由此提供的能量非常有限,何况动物对葡萄糖以外的其它单糖的利用率普遍较低。可见,近来许多介绍饲用酶制剂的文章,将 NSP 酶制剂提高饲料能值的原因归结为将 NSP 降解成了单糖的观点是不切合实际的,至少目前还不现实。

6 非淀粉多糖酶制剂的研制要点

NSP 制剂的研制一般要经过以下几个过程:

6.1 研究各种饲料中 NSP 的含量、种类和结构特异性。这需要对当地的饲料资源进行调研,并且利用甲基化和乙酰化等多糖分析的专门技术。从前面的讨论可以看出,这部分是后续工作的前提,对整个研究工作有极其重要的意义。

6.2 寻找降解各种 NSP 所需的酶和产生这些酶的细菌。常用的阿拉伯木聚糖酶为 (EC. 3. 2. 1. 8), - 葡聚糖酶为 (EC. 3. 2. 7. 6), 内切葡聚糖酶为 (EC. 3. 2. 1. 4)。常用菌株有鲜绿木霉 (*Trichoderma viride*)、红色木霉 (*Trichoderma longibrachiatum* 或 *T. reesei*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 和索状青霉 (*Penicillium funiculosum*) 等。

6.3 高产菌株的筛选和改造。常规的方法有底物诱导和物理诱变育种等,目前普遍通过基因克隆、转移和分子杂交等生物技术提高产率。国外经改造的菌株(如黑曲霉)酶的产率有的高达每升发酵液 5~20g 酶蛋白,经改造的 - 葡聚糖酶可以耐 80 以上的高温,且最适 pH 值在 4~6 之间,满足了营养学和饲料工业的要求。

6.4 实验室内小规模发酵,摸索最佳的发酵底物、温度、分离提纯条件和稳定化技术等。

6.5 体外和生物降解试验。用实验室生产的产品进行各种体外降解效果和稳定性试验,并模拟生产条件用生物试验判断酶制剂的可行性,若结果不理想得从第二步开始再次循环研究。

6.6 设计适合的工艺流程。一般包括种子菌的一级扩大培养和二级扩大培养、发酵底物灭菌、发酵、分离、活性检验、稀释稳定和分装几大工序。

6.7 工业化生产。

7 应用中关注的几个问题

7.1 耐热性 国内外对当前几种主要酶制剂产品的研究表明,进口酶制剂在 80~85 下处理 15 分,酶活性的回收率一般在 40%~60%之间,所以在粉料中、低温制粒或制粒后喷涂的效果较好。并且这种酶制剂在饲料中的稳定性也较好,据有关资料表明,加酶饲料在室温下存放 3 个月其活性回收率均在 80%以上。

7.2 胃肠道稳定性 Baas 和 Thacker (1996) 比较了当前 10 种主要的 NSP 酶制剂在 pH 为 2.5~6.5 之间的稳定性和经酸处理后酶活性的恢复程度,结果表明,pH 在 4.5~6.5 之间酶活性最大,pH 低于 2.5 或高于 6.5 酶活性均迅速降低。在 pH=2.5 的条件下处理 4 小时后再将 pH 恢复到 5.5,酶活性可恢复到添加量的 40%~60%,采食后十二指肠食糜中酶活性的回收率逐渐下降,但即使到采食后 4 小时,回收率还有 30%左右,可见这种酶制剂的主要作用部位在鸡的喙囊、肌胃和十二指肠,猪的胃贲门区和小肠前段。Bedford (1991) 报道的回收率更高,接近 100%,这可能与采样时间有关,但也间接说明了上述观点。

7.3 酶活性的测定 对酶制剂中各种酶活性进行定量具有重要意义。首先,它是酶制剂和饲料产品质量监测控制的依据。酶制剂不同于其它饲料添加剂,是生物活性物质,其活性随饲料的加工保存时间与条件及饲料中其它成分的变化而变化,因此,应对各个生产环节添加酶的实际效价进行检测,以保证产品质量。其次,准确的测定方法也是根据饲料中 NSP 含量和组成合理调整添加酶的种类与剂量的依据。另外,统一的酶活性测定方法还有利于研究结果和不同来源的同类产品间的比较。但是目前生产厂家和研究者所采用的分析方法不统一,结果可比性差。

建立适用于测定酶制剂产品中各种酶活性的统一方法,或确定各种方法间的可比性关系

的难度不是很大。目前的问题是建立适用于测定饲料中酶活性的方法。这主要是因为饲料中酶制剂的添加量较低,一般在 0.1~0.5g/kg 之间,并且大多是几种酶的混合物,而且测定前需要用一定量的溶剂将酶提取出来,即又要进一步稀释,使得最终测定液中的酶浓度很低,一般测定方法的灵敏度不能满足需要。另外,测得酶活性的方法一般都是从底物浓度降低和产物浓度增加的角度出发进行定量的,而无论是通过底物减少还是产物增加测定,由于饲料提取物中的底物或底物类似物、还原性糖和游离氨基酸等与待测酶降解产物类似的成分,都会影响测定方法的可行性和准确性。目前主要从以下几个方面研究: 用人工合成底物代替饲料中的天然底物。对待测样品中目的酶进行提取和浓缩。酶联反应法。琼脂平板扩散技术。但各有不足之处。

7.5 使用效果 从近年关于 NSP 酶使用效果的报道可以总结出,添加酶制剂后,肉仔鸡的增重效果一般提高 7%~9%,饲料转化效率提高 5%~7%,日粮中主要营养物质的消化率都得到了改善,一般可提高饲料有效能值 5%~7%,提高蛋白质消化率 10%。另一个明显的特点是降低了畜禽腹泻的发病率,粪便中的有机物浓度降低,含水率降低,日粮中麦类及其副产品的用量大大提高。综合以上各方面,添加 NSP 酶所能取得的经济效果和社会效果是显而易见的。

7.6 注意事项 在目前条件下,饲用酶制剂的使用必须遵守以下原则: 外源酶的添加必须不影响动物自身消化道酶系统的分泌和活性发挥,它可通过选择分子结构和底物特异性不同的酶(如植物中提取的酶或微生物酶)来避免。添加酶必须可以耐受饲料加工过程和体内消化道环境的不利作用,后者包括消化道酸碱环境、动物自身消化酶以及消化道微生物对其破坏作用。生产中使用的酶制剂一般都是复合酶制剂,主要成分有植酸酶和非淀粉多糖酶,其中后者有由 - 葡聚糖酶、戊聚糖酶、纤维素酶和果胶酶等组成,这些酶的复合体中各种酶活性之间的比例一定要与饲料中 NSP 各多糖的组成相一致,以获得最大的作用效果。

8 结语

NSP 酶制剂是以多种糖苷酶为主体的一种新型生物制品。它不但可以消除饲料中 NSP 的抗营养作用,通过配伍植酸酶和蛋白酶,还可提高饲料中蛋白质、磷和锌等物质成分的利用率,从而提高畜禽的生产性能,降低养殖业对环境的污染,是很有开发前景的饲料添加剂。

参考文献

- Almirall M, Esteve - Garcia. 1995. In vitro stability of a - glucanase preparation from trichoderma longibrachiatum and its effect in a barley based diet fed to broiler chickens. *Ani. Feed Sci. and Tech.*, 54: 149~158
- Bass T C, Thacker P A. 1996. Impact of gastric pH on dietary enzyme activity and survivability in swine fed - glucanase supplemented diets. *Can. J. Ani. Sci.*, 76: 245~252
- Bach Kundsén K E *et al.* 1995. The Nutritive value of decorticated mill fraction of wheat. 1. Chemical composition of raw and enzyme treated fraction and balance experiments with rats. *Ani. Feed Sci. and Tech.*, 52: 205~225
- Chassen H L, M R Bedford. 1992. The use of enzymes to improve the nutritive value of poultry feeds. *Rec.*

Adv. in Ani. Nutri., 95 ~ 116

Henry R J. 1985. A comparison of the non - starch carbohydrates in cereal grains. *J Sci. Food Agri.*, 36: 1243 ~ 1253

Inbarr J ,M Schmitz ,F Ahrens. 1993. Effect of adding fiber and starch degrading enzymes to a barley/wheat based diet on performance and nutrient digestibility in different segments of the small intestine of early weaning pigs. *Ani. Feed Sci. and Tech.*, 44: 113 ~ 127

Johnson R ,P Wiliams ,R Compbell. 1993. Use of enzymes in pig production., " Enzyme in Animal Nutri - tion". Proc. of the 1st symposium ,Kartause Ittingen ,Switzerland. Oct., 13 ~ 16 Sponsored by Alltech and Hoffmann La Roche., 49 ~ 60

Officer D I. 1995. Effect of multi - enzyme supplementation on the growth performance of piglets during the pre and post - weanings periods. *Ani. Feed Sci. and Tech.*, 56: 55 ~ 56

Wenk C. 1992. Enzymes in the nutrition of monogastric farm animals., Proc. 8th Symp. on Biotechnology in Feed Industry , 205 ~ 218

DEVELOPMENT AND APPLICATION OF NSP ENZYME PREPARATION FOR ANIMAL FEEDING

LIU Qiang , FENG Xue - qin

(Institute of Animal Sciences , CAAS , Beijing 100094 , China)

ABSTRACT

This paper reviewed some theoretical and practical problems involved in development and application of NSP enzyme preparation for animal feeding.

Key words : NSP enzyme preparation ; development ; application