

纤维素酶以及应用行业的研究进展

武林芝 (太原大学教育学院, 山西太原 030001)

摘要 纤维素酶是一种能够分解纤维素产生葡萄糖的一类酶。由于它在饲料行业、酒精酿造、纺织和食品行业等领域具有巨大的市场潜力,受到国内外业内人士的普遍看好,将成为继糖化酶、淀粉酶以及蛋白酶之后的第四大工业酶种,而在国内很有可能成为第一大酶种。该研究综述了纤维素酶的分类、结构、理化性质、作用机理、产纤维素酶的微生物种类、纤维素酶的发酵工艺、纤维素高效分解菌的选育及纤维素酶基因克隆的研究进展,并对未来的研究趋势及应用进行了展望。

关键词 纤维素酶;机理;微生物种类;发酵工艺;克隆

中图分类号 S188+.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)26-10570-05

Research Progress of Cellulose and Its Applications

WU Lin-zhi (School of Education, Taiyuan University, Taiyuan, Shanxi 030001)

Abstract Cellulose is a kind of enzyme with extensive application value which can break down cellulose into glucose. Due to its huge market potential in the feed industry, alcohol brewing, textile, food industry and other fields, industry insiders at home and abroad pay optimistic attitude to it. Cellulose will become the fourth largest industrial enzymes following glucoamylase, amylase and protease enzymes, and it is likely to become the first major enzyme in China. The classification, structure, physical and chemical properties, mechanism of cellulase, microbial species producing cellulase, fermentation process of cellulose, and the latest research status of breeding of efficient decomposing bacteria and gene cloning of cellulase were reviewed. In addition, future research trend and application were forecasted.

Key words Cellulase; Mechanism; Microbial species; Fermentation process; Cloning

纤维素类物质是自然界中分布最广泛、含量最丰富、生成量最高的有机化合物,也是自然界中数量最多的可再生性物质。植物细胞壁的主要成分为纤维素。纤维素在植物干重中占 1/3 ~ 1/2。据不完全统计,全球经光合作用生成的纤维素数量最高可达到 1.7×10^{12} t/年^[1]。在一定的条件之下,纤维素会被降解成为单糖,继而进一步被微生物发酵生成很多种有用的产品如乙醇、气体燃料(如氢气)、菌体蛋白等多种物质。对纤维素进行合理的利用以及转化,对于解决当前全球的多种重大问题如能源危机、环境污染、饲料资源紧张、粮食短缺等具有极其重要的现实意义。

纤维素酶是一类多组分酶系的总称。这一类酶能够把纤维素降解成为葡萄糖。它们之间相互协同作用,分解纤维素,最终生成葡萄糖^[2]。纤维素酶可以在自然界中合成,也是我国四大工业酶种工业合成的重要组分。自 1906 年人们在蜗牛消化道中发现纤维素酶以来,关于纤维素酶的研究逐渐引起国内外研究者的广泛兴趣和极大关注。近年来关于纤维素酶的基础研究获得了显著的进展,主要包括酶的组成部分和结构、发生降解的机理、基因的克隆和表达、酶的发酵和生产、应用等方面^[3-4]。

1 纤维素酶简介

纤维素酶(Cellulase)是一组酶的总称。这组酶可以水解 β -1,4-葡萄糖苷键,使得纤维素转变为纤维二糖和葡萄糖,纤维素酶属于一种复杂的复合物,被称为纤维素酶系。它们之间相互发生协同作用,分解纤维素生成寡糖和纤维二糖,最后水解成为葡萄糖^[5]。纤维素酶不是一种单一的酶,而是 3 种共同发挥协同作用的一组酶的总称。一个完整的

纤维素酶系根据其不同的催化功能,主要组分如下:

1.1 内切型葡聚糖苷酶(endo-1,4- β -D-glucanase, EG) 也称 Cx 酶、CMC 酶,其分子质量是 23 ~ 146 kD。来源于真菌的简称为 EG,来源于细菌的简称为 Len。这类酶的作用部位是纤维素分子内部的非结晶区。它以随机的方式作用于纤维素聚合物里的非结晶区,将长链纤维素分子切割并截短,从而生成大量的含有非还原性末端的小分子纤维素如纤维糊精、纤维二糖和纤维三糖等。

1.2 外切型葡萄糖苷酶(exo-1,4- β -D-glucanase, EC3. 2. 1. 91) 也称纤维二糖水解酶(cellobiohydrolase,简称 CBH)或微晶纤维素酶,也称 C1 酶。分子质量为 38 ~ 118 kD。来源于真菌的简称为 CBH,来自于细菌的简称为 Cex。该酶在天然纤维素发生降解的过程中发挥主导作用,可以作用在纤维素线状分子的末端,水解 1,4- β -D 糖苷键,并且切割糖苷键,产生可溶的纤维糊精以及纤维二糖。

1.3 纤维二糖酶(β -glucosidase, EC3. 2. 1. 21, 简称 BG) 也称 β -葡萄糖苷酶,其相对分子质量为 76 kD。它可以水解纤维二糖和短链的纤维寡糖,从而产生葡萄糖。具体作用方式如下:首先,内切酶切割纤维素链,使其暴露出末端,然后外切酶连续切割纤维二糖,而 β -葡萄糖苷酶则水解纤维二糖或纤维糊精,进而完成协同反应的全过程^[6]。

这 3 个组分的底物的专一性和比例都各不相同。在水解晶体纤维素时,任何单一的一种酶均不能独自完成水解的全过程,必须在 3 种酶的共同存在且协同作用下,纤维素最终才会被降解成为葡萄糖^[7]。很多研究表明,复合纤维素酶的应用效果显著优于单一的纤维素酶,因为不同纤维素酶的作用位点不同,相互之间不存在竞争的可能,而需要协同合作。复合纤维素酶可以使纤维素分解得更彻底。此外,天然纤维素材料具有不同的组成部分和结构,降解其需要的纤维素酶以及纤维素酶各个组分之间的最佳比例也不相同,目前

作者简介 武林芝(1980-),女,山西平遥人,讲师,硕士,从事纤维素酶的有效利用及作用机理方面的研究,E-mail:wulinzhi2013@163.com

收稿日期 2013-07-06

为止还不具备统一的标准。

2 纤维素酶的结构

由于种类和来源的不同,纤维素酶的结构差异较大,但是通常均具有 2 个独立的结构域和 1 个连接桥(一段高度糖基化的连接肽)^[8-9]。Tilbeugh 对纤维素酶的结构做了拆分研究,这 3 个结构是具有催化功能的催化域(Catalytic domain, CD),呈球形,其作用主要体现在该酶的催化活性和对特定水溶性底物的特异性上,其中的 α 螺旋和 β 折叠形成的特定“隧道”结构可以保证连续完成几个糖苷键的断裂作用,目前只有拟氏木霉的催化域的三维结构被了解得较清楚;具有结合纤维素功能的纤维素结合(吸附)域(Cellulose binding domain, CBD, 或称 Carbohydrate binding module, CBM)主要作用是吸附纤维素,发挥调节酶对可溶性及非可溶性底物的专属活力的功能,并且维持酶分子的构象稳定,使酶分子连接在纤维素上,目前已有 8 种不同的结合域被发现并被报道,但具体作用机理还不清楚^[10];连接桥(Linker)富含脯氨酸、羟氨酸或甘氨酸,由 6~59 个氨基酸构成,其功能可能是使催化结构域和纤维素结合结构域维持在恰当的距离,有利于在不同酶分子间构成比较稳定的聚集体,然而有些酶并没有显著的链接序列。

3 纤维素酶的理化性质

纤维素酶具有其他所有酶类共有的特征。它们的活性会因为受到温度、pH、激活剂、抑制剂、底物及产物浓度等因素的影响而变化^[11]。据来源、种类,纤维素酶的相对分子质量和空间构象等特点存在差异。此外,其最适温度和 pH 也不相同^[12]。

3.1 相对分子量 纤维素酶属于一种复杂的酶系,来源不同,其相对分子质量也不尽相同。葡萄糖内切型酶的相对分子量为 23~146 kDa,如真菌的 2 种异构酶,其中 EGI 分子量约 54 kDa,EGIII 分子量约 49.8 kDa,然而最小内切酶的分子量为 5.3 kDa。葡萄糖外切型酶的相对分子量为 38~118 kDa,如木霉的 CBH 有 2 种异构酶,其中 CBHI 分子量约 66 kDa,CBHII 分子量约 53 kDa, β -葡萄糖苷酶分子质量约 76 kDa。

3.2 最适温度 纤维素酶的活性、稳定性还与温度相关。纤维素酶不同,则最适温度也不同。在大多数情况下,纤维素酶的最适温度为 45~65 $^{\circ}\text{C}$,纤维素酶在温度过高的情况易失去活性。

3.3 最适 pH 纤维素酶受酸碱度的影响较大,pH 过小(过酸)或过大(过碱)都可导致酶蛋白变性而失活。只有在最适 pH 条件下,纤维素酶、底物以及辅酶处在解离状态,它们之间相互结合,且发生催化作用,其反应速度才可以最快。不同的纤维素酶的最适反应 pH 也不同。根据催化反应的最适 pH,纤维素酶可分为酸性纤维素酶(最适 pH 3~5)、中性纤维素酶(最适 pH 6~8)和碱性纤维素酶(最适 pH 8~11)。

3.4 激活剂或抑制剂 某些物质对纤维素酶发挥激活作用,而另一些物质起着抑制作用。有研究表明, Nd^{3+} 对纤维素酶的激活作用最显著,最适宜激活浓度范围为 1.0×10^{-9}

$\sim 1.0 \times 10^{-8}$ g/L。它可以使羧甲基纤维素钠酶活力提高 175.8%,使滤纸酶的活力提高 25.92%,纤维二糖酶活力达到 33.82%。

3.5 底物组成 有研究表明,纤维素酶活性会受到不同碳源的显著影响,以 5 种碳源对纤维素酶活性影响的效果排序为纤维素粉 > 微晶纤维素粉 > 蔗糖 > CMC > 葡萄糖,并且后者对纤维素酶活性有极强的抑制作用。

4 纤维素酶的来源

纤维素酶广泛存在于自然界各种生物体中。除了细菌、真菌、放线菌、植物及原生动物,无脊椎动物包括线虫、白蚁、贻贝、鲍鱼、甲虫、福寿螺等均可产生纤维素酶^[13-14]。在反刍动物的瘤胃中,含有共生的纤维分解菌和原生动物;采用微生物之外的生物生产纤维素酶缺乏大规模应用的现实意义,在实际生产中利用微生物生产纤维素酶是最方便和有效的方法^[15]。不同的微生物生成的纤维素酶的组分及催化性质都不同^[16]。由细菌产生的酶的活力较低,且大部分不能分泌到胞外。真菌产生的酶的能力较强,大部分都可以分泌到菌体外,且酶的组分较适当,各个酶之间的协同作用较强烈。在自然界中,比较典型的包括木霉属(*Trichoderma*)、曲霉属(*Aspergillus*)、青霉属(*Penicillium*)和枝顶抱堆属(*Acremonium*)的菌株,能够产生对纤维素作用较强的纤维素酶,其中木霉属是当前研究最广泛的纤维素酶产生菌^[17]。

5 纤维素酶作用机理

纤维素酶作用于纤维素并使其转化为葡萄糖的具体机制和详细过程目前尚未被完全阐明。然而,普遍被人们所接受的理论主要有 3 种。

5.1 C1-Cx 假说 该理论认为,首先 C1 酶作用在纤维素酶的结晶区,然后由外切酶和 β -葡萄糖苷酶联合作用产生二糖、葡萄糖。但是,关于 C1 酶的具体作用机理并不明确。

5.2 顺序作用假说 该假说认为,首先内切酶随机地作用在纤维素的葡萄糖苷键,使缺口打开,然后外切酶从新生链的末端切割下一个纤维二糖, β -葡萄糖苷酶再把纤维二糖水解为葡萄糖。遗憾的是,该假说在试验条件下没有得到证实。

5.3 协同作用模型 多数人普遍接受这个理论。该理论认为,首先内切葡萄糖酶进入纤维素的非结晶区,形成一个新的游离末端,然后外切纤维素酶从多糖链的非还原末端把纤维二糖单位切割下来,之后 β -葡萄糖苷酶将纤维二糖单位水解为葡萄糖。当这 3 种纤维素酶在对纤维素产生作用时,任何单一种类的酶都不能单独对晶体纤维素产生裂解作用。只有当 3 种纤维素酶都同时存在且协同作用下,才能完成水解的全部过程。需要说明的是,这种协同作用的降解顺序并不是绝对的,并且不同种类酶的功能也并非简单而确定。通常来讲,协同作用效应与酶解底物的结晶度呈正比例。当酶各个组分的混合比例与霉菌发酵滤液各个组成部分相近时,协同作用效应最明显。

6 纤维素酶基因的克隆及表达

到目前为止,40 多种细菌和若干种真菌中已可克隆纤维

素酶基因。在绝大多数情况下,采用克隆片段固有的启动子或位于载体上的其他启动子使得克隆的纤维素酶基因在大肠杆菌中表达^[18]。其他的情况也有,如在野油菜黄单胞菌中采用鸟枪法克隆内切纤维素酶基因,并将其表达于大肠杆菌中;在微紫青霉中把 *CBHI* 基因克隆出来,并将其表达于体外无细胞系统中;在瑞氏木霉 cDNA 文库中把内切葡糖纤维素酶基因克隆出来,并在酿酒酵母中得以表达。截至目前,已有超过 7 000 个纤维素酶基因的 DNA 序列和相关的氨基酸序列被学者报道并公布。人们也预测出 500 多个纤维素酶的 3D 结构。所有这些数据在公共数据库如 GenBank、EMBL 和 DDBJ 等中均已公布。与此同时,几乎所有被克隆出的纤维素酶基因均已经可以在大肠杆菌或其他宿主中得以表达。通过比较,发现纤维素酶尽管有相同的特征性结构,然而就整体来讲,不同的纤维素酶基因的 DNA 序列同源性非常低。真菌的纤维素酶基因中通常包含 2~3 个内含子,且保守度较低,长度在 40~80 bp 之间,更高等的真核纤维素酶基因的内含子片段更短小。对于真核纤维素酶基因的了解情况,目前主要从关于氏木霉 (*Trichoderma reesei*) 的分子生物学研究得来。

7 纤维素高效分解菌的选育

提高纤维素酶活力的关键因素在于优良菌种的选育,从自然界中直接筛选得到的野生型菌株产生纤维素酶的能力较低,因此研究者利用诱变选育的手段对筛选得到的菌株进行改造,进而得到产酶活力较高的突变菌株^[19]。诱变方式主要包括物理诱变法和化学诱变法。物理诱变法指用紫外线照射菌体,使其自身 DNA 遗传物质改变,从而产生一些新的性状。化学诱变法指用化学诱变试剂,如甲基磺酸乙酯 (EMS)、亚硝酸、亚硝基胍 (NTG)、氯化锂、硫酸二乙酯 (DES) 等。目前,多种诱变技术相互结合构成的复合诱变技术在纤维素酶菌种的诱变选育中已被广泛应用。

8 纤维素酶的生产

想要大规模工业生产纤维素酶,其有效的途径就是采用微生物发酵。其方法主要有固体发酵和液体发酵 2 种。

8.1 固体发酵法生产纤维素酶 固体发酵法 (Solid-State Fermentation, SSF) 是以秸秆粉、废纸、玉米秸秆粉为主要原料,经接种于微生物而发酵生产,投资小,工艺简单,产品价格低。目前,国内绝大多数纤维素酶的生产厂家都采用这种方法。但是,该方法具有根本的缺陷,其产生的纤维素酶极难提取、精制,易产生杂菌,且质量难以维持稳定等。

8.2 液体发酵法生产纤维素酶 液体发酵法 (Liquid Fermentation, LF) 以秸秆为主要原料,首先将秸秆粉碎,并做灭菌处理,然后将秸秆置于发酵罐内。此外,将产纤维素酶菌种加入并进行发酵,发酵时间为 5~8 d,温度维持在 50℃ 左右。反应结束后,通过压滤机压滤、超滤浓缩以及喷雾干燥后最终获得纤维素酶产品。液体发酵法存在一定的缺点,比如发酵动力消耗过大、设备要求较高端等,但采用液体发酵法的原料利用率较高,生产条件较易控制,不易污染杂菌,产氧量较高,所需要的劳动强度较小,产品质量较稳定,非常适

于大规模生产,是目前国际上生产纤维素酶的主要方式。

8.3 固定化技术 液体发酵法固然可以弥补固体发酵法的一部分缺点,然而其较长的培养周期、难以处理产生的废水等缺点制约了液体发酵法大规模生产纤维素酶。此外,纤维素酶价格较高,如果能将其固定化,进而重复利用,则生产成本会被极大地降低,而现今的生物床及固定化细胞等技术则将固体发酵法与液体发酵法 2 种技术进行融合,具有 2 种发酵方法的优点,更适宜于大规模生产。通过发酵法生产出纤维素酶,再经过盐析法、离心法、超滤法、层析法等,继而得到纯化的纤维素酶。固定化技术在近年正在进一步的发展中。

9 纤维素酶的应用

根据纤维素酶的作用,其应用范围可以分为 2 个部分:①使植物细胞壁内的纤维素得以去除,进而释放出细胞内的糖、其他酶或功能性蛋白质等,也可以提供诸如原生质体等新材料以供细胞工程使用;②降解纤维素,生成葡萄糖。目前,纤维素酶的应用主要在以下一些领域。

9.1 食品工业中的应用 纤维素酶在食品工业的应用范围很广。在淀粉加工中,纤维素酶对谷物作处理可以使淀粉的提炼时间变短,收率增加。在果品和蔬菜加工中应用纤维素酶进行恰当处理,可对植物组织形成软化和膨松作用,改善可消化性以及口感。在保鲜蔬菜加工中,采用纤维素酶可以加快脱水速度。将纤维素酶应用于果蔬榨汁、花粉饮料的生产中,可促进汁液的提取(提取率升高约 10%),使得汁液澄清,如纤维素酶在无囊橘子罐头生产中的应用可以促进橘子脱去囊衣。有学者研究了草莓汁生产中纤维素酶的应用,发现出汁率提高 9.2%,汁中糖分增加约 2%,并且压榨时间缩短 5 min。用纤维素酶恰当处理土豆、胡萝卜等,待其干燥后,再加水时的复原效果好,对蔬菜水果的贮存和运输非常有利。在速溶茶生产中使用纤维素酶能够缩短有效成分的抽提时间,提高速溶茶质量和提取率。用纤维素酶处理,可促进大豆脱皮,造成蛋白质和油脂的完全分离,从而提高水溶性蛋白质的得率,使得成本降低,产品质量提高。宋朝霞^[20]以脱脂豆粕为原料提取大豆低聚糖,分别采用微波和纤维素酶作预处理,发现微波处理后提取率有一定程度的下降,而纤维素酶处理后低聚糖的提取率发生显著的提高。在酱油的酿造过程中加入纤维素酶处理能够促使原料细胞释放蛋白质和碳水化合物,既可提高酱油的浓度,改善酱油的质量,又可以缩短生产周期,提高产率,各项主要指标提高约 3%。将纤维素酶应用于豆腐生产中,发现大豆浸渍时加入浓度 0.5%~5.0% 的纤维素酶,豆腐出品率可提高 4.00%~11.01%,且豆腐的色质和风味没有明显变化,原有生产工艺流程不需改变,提高了经济效益。

9.2 纺织工业中的应用 纤维素酶在纺织行业的应用属于较新兴的领域,主要用于减量、石磨水洗、生物抛光等方面。

9.2.1 减量处理。 减量处理的目的是为了改善织物的柔软性、弹性以及悬垂性。减量又分为化学减量和物理减量。化学减量的方法指采用纤维素酶催化并水解纤维素,生成葡萄糖,进而使织物减量,而物理减量的方法指非化学催化水解

(而是表面纤维剥离)形成的减量。研究发现,减量率维持在3%~5%,可以使织物保持柔软的手感,而织物的强力也保持在应有的范围内。

9.2.2 石磨水洗处理。石磨水洗指在洗衣机中,采用少许剥蚀剂、洗涤剂 and 一定量的浮石进行磨洗,由于浮石和服装之间存在摩擦作用而造成染料脱落,此外于局部棱角和缝接处产生磨白作用而造成立体感,进而形成独特的牛仔服风格。纤维素酶仅仅在牛仔服表面部分产生水解和剥蚀作用。当纤维素酶处理时,牛仔服在转鼓中不断地摩擦,表面纤维不断地脱落,吸附在纤维表面的靛蓝等染料也被一并去除,进而产生石磨水洗的效果。与传统的石磨水洗处理相比,纤维素酶水洗工艺的时间更短,对人体的危害和环境污染较小,处理后的织物质量、手感效果都好。

9.2.3 生物抛光处理。生物抛光的方法指采用纤维素酶除去织物(包括针织物、毛巾或者服装等)突出于表面的细微纤维,然后稍经机械加工,就能够达到织物表面光洁、持久的抗起毛起球和柔软度增加的效果。与传统的加工方法相比,生物抛光的效果更加明显,并且染色很鲜艳,维持色度和新度时间长。在实际生产工艺中,需要根据织物的种类和具体的仪器设备制定出适当的生产工艺流程。关于纤维素酶的用量和具体的处理时间,需要根据织物的厚薄程度和设备运行速度来制定^[21]。高树珍^[22]用酸性纤维素酶处理棉织物,在棉织物的强力没有受到严重损伤的情况下,清除了织物表面的毛羽,极大地改善了棉织物的服用性能。冯愈^[23]用纤维素酶处理苎麻后,再混合多羧酸防静电整理程序,发现苎麻织物的白度和柔软性得到了提高,且布面的光洁度和服用性能良好,仅仅是断裂强力保留率略有下降。周文常^[24]用纤维素酶对亚麻织物做生物抛光后发现,织物的手感、毛效得到改善,刺痒感也减轻,同时服用性能和附加值得到提高。

9.3 饲料行业中的应用 畜禽饲料中含有大量的纤维素。除了某些反刍动物可以分解纤维素,生成容易消化的葡萄糖外,大部分畜禽不能分解纤维素。纤维素酶在饲料工业主要用作饲料添加剂。具体作用如下:①破坏植物的细胞壁,进而使胞内养分得以释放;②补充畜禽内源酶的不足,进而激活动物体内内源酶的分泌;③将饲料中的抗营养因子减轻或者消除;④改善胃中微生态平衡。此外,还可在饲料中增加其他酶制剂如半纤维素酶、淀粉酶、果胶酶以及蛋白酶等。它们可以与纤维素酶协同作用,分解天然纤维素原料。大量研究表明,在饲料加入纤维素酶可以显著改善动物的饲喂效果。

周娟等^[25]研究发现,饲料中添加纤维素酶可以显著提高肉仔鸡的体重,试验组分别是对照的1.13和1.56倍;而与对照组相比,试验组料重比分别降低了10.79%和18.26%。吴桐忠^[26]在秸秆中加入纤维素酶,研究它对羔羊增重效果的影响,发现与对照组相比,试验组羔羊全期日增重分别提高35.27%、30.29%、31.47%和28.46%,且差异显著。王照忠等^[27]发现,纤维素复合酶加入饲料中能够明显提高奶牛的消化率。王平等^[28]研究表明,在日粮中添加纤维素复合

酶可显著促进育肥绵羊的生长,日增重提高43.98%,料重比降低30.55%。而在水产养殖行业上,研究表明将木聚糖酶添加到罗非鱼饲料中,罗非鱼的生长显著加快,饲料营养物质的利用率也明显提高,并且木聚糖酶的浓度只需0.1%就可以使罗非鱼呈现最佳生长状态。另外,高春生等^[29]将浓度0.1%的纤维素酶添加到草鱼饲料中,发现纤维素酶的加入可以显著提高饲料的营养物质消化率,并使饵料系数降低,饲料利用率提高。

9.4 造纸行业中的应用 在造纸行业,纤维素酶的应用范围主要体现在利用酶法废纸脱墨、利用酶法处理改善纸浆的性能和利用酶法处理改善纤维的成纸性能。做好脱墨化学处理是回收、利用废纸的关键步骤。废纸的重要来源主要是废书和刊物,其脱墨性能的优劣会对再生纤维的品质产生直接的影响。酶法脱墨比化学脱墨的效果更好,并且脱墨后提高了浆料的成浆物理性能如高白度和低残存墨粉等。此外,酶法脱墨的可漂性更好,费用也更低,化学药品的使用量更少,生成成本更低。更重要的是,酶法脱墨的社会效益巨大,大大减轻了造纸行业的环境污染。酶法脱墨可以通过控制一些变量对油墨粒子的大小分布和形状进行控制。这些变量包括酶的组成部分、用量、处理持续时间、pH和一些辅助剂的添加。因此,酶法脱墨对提高浮选脱墨的效果很好,进而可以非常有效地除去扁平的、大粒径的和刚硬的油墨。研究表明,当pH为5.5时,采用半纤维素酶和纤维素酶组合酶处理凸版印刷和彩色胶版印刷的新闻纸,发现组合酶处理的凸版印刷纸的增白度最大,且经图像分析仪检测发现,纤维素酶处理过纸浆的残余油墨面积最小。酶处理和浮选可以很容易地将彩色胶印纸上的水基油墨除去,纸浆的白度也比常规的脱墨浆高很多。此外,随着酶的用量和反应持续时间的增加,纸浆的白度也更高。酶处理改善纸浆的性能主要体现在使机械浆的磨浆能耗降低、使化学浆的打浆性能提高和使纸浆纤维性质得到改善。研究表明,在磨浆之前,采用纤维素酶、半纤维素酶预处理纸浆,可以改善磨浆效果^[30]。在一定的密度条件下,经纤维素酶处理过的硫酸盐浆可以使成纸的抗张指数和薄页纸的柔软性得到提高。酶法处理还可以改善纤维的柔韧性,对提高纤维表面和整体的柔性方面有益。此外,纤维素酶还广泛应用于中药成分的提取以及制酒工业、石油勘探、环境保护等领域。

10 展望

发现纤维素酶至今已有上百年的历史,且对该酶的研究与应用已取得较大的进展。然而,作为一类组成结构较复杂的酶来讲,在整个糖苷酶类中,它是唯一一种仍有很多问题需要解决的酶类。作为一种生物工程主要建设工业酶,纤维素酶的工业和市场潜力非常巨大。成功提取纤维素酶并加以应用将对多个领域问题的解决有着重要的意义。由于纤维素酶价格低廉且使用方便,人们对其广泛关注。随着生物学、微生物学、生物化学和分子生物学及其交叉学科的迅猛发展,如果能够对纤维素酶的各个组成部分的功能、生物活性、作用机制、产纤维素酶优良菌株的选育、基因克隆及表

达、生产工艺的优化、生产成本的降低等问题作深入研究,那么纤维素酶的应用领域会更加广泛。这即是今后纤维素酶研究的主要目标和方向。

参考文献

- [1] MIZRACHI E, MANSFIELD S D, MYBURG A A. Cellulose factories: advancing bioenergy production from forest trees [J]. *New Phytol*, 2012, 194 (1): 54-62.
- [2] CARPITA N C. Update on mechanisms of plant cell wall biosynthesis; how plants make cellulose and other (1->4)-beta-D-glycans [J]. *Plant Physiol*, 2011, 155 (1): 171-184.
- [3] PETERSEN N, GATENHOLM P. Bacterial cellulose-based materials and medical devices; current state and perspectives [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2011, 91 (5): 1277-1286.
- [4] GEN KLAAS M R, SCHONE H. Direct, high-yield conversions of cellulose into biofuel and platform chemicals-on the way to a sustainable biobased economy [J]. *Chem Sus Chem*, 2009, 2 (2): 127-128.
- [5] 顾方媛, 陈朝银, 石家骥, 等. 纤维素酶的研究进展与发展趋势 [J]. *微生物学杂志*, 2008, 28 (1): 83-86.
- [6] EVELEIGH DE, MANDELS M, ANDREOTTI R, et al. Measurement of saccharifying cellulase [J]. *Biotechnol Biofuels*, 2009, 2: 21.
- [7] SANCHEZ C. Lignocellulosic residues. biodegradation and bioconversion by fungi [J]. *Biotechnol Adv*, 2009, 27 (2): 185-194.
- [8] 张小梅, 李单单, 王禄山, 等. 纤维素酶家族及其催化结构域分子改造的新进展 [J]. *生物工程学报*, 2013, 29 (4): 422-433.
- [9] FRENCH A D. Combining computational chemistry and crystallography for a better understanding of the structure of cellulose [J]. *Adv Carbohydr Chem Biochem* 2012, 67: 19-93.
- [10] BECKHAM G T, BOMBLE Y J, BAYER E A, et al. Applications of computational science for understanding enzymatic deconstruction of cellulose [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2011, 22 (2): 231-238.
- [11] 颜霞, 柳晓东, 杨俊杰. 高温纤维素酶产生菌的筛选鉴定及其酶性质研究 [J]. *太阳能学报*, 2011, 32 (6): 787-791.
- [12] 张敬, 何伟宏, 唐蜀昆, 等. 云南干热环境可培养高温放线菌多样性及产纤维素酶活性评价 [J]. *微生物学通报*, 2013, 40 (6): 1109-1120.
- [13] RANSOM-JONES E, JONES D L, MCCARTHY A J, et al. The fibrobacters: an important phylum of cellulose-degrading bacteria [J]. *Microb Ecol*, 2012, 63 (2): 267-281.
- [14] GUERRIERO G, FUGELSTAD J, BULONE V. What do we really know about cellulose biosynthesis in higher plants? [J]. *J Integr Plant Biol*, 2010, 52 (2): 161-175.
- [15] RUSSELL J B, MUCK R E, WEIMER P J. Quantitative analysis of cellulose degradation and growth of cellulolytic bacteria in the rumen [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2009, 67 (2): 183-197.
- [16] ENDLER A, PERSSON S. Cellulose synthases and synthesis in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant*, 2011, 4 (2): 199-211.
- [17] WILSON D B. Microbial diversity of cellulose hydrolysis [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2011, 14 (3): 259-263.
- [18] 卢敏, 王帅豪, 狄元冉, 等. 纤维素酶基因克隆与表达 [J]. *动物营养学报*, 2012, 24 (6): 1013-1018.
- [19] 陶恒, 覃益民, 郑丽珍, 等. 产纤维素酶辅助蛋白菌种筛选及蛋白增效作用条件研究 [J]. *安徽农业科学*, 2012, 40 (10): 5737-5738.
- [20] 宋朝霞. 微波-纤维素酶预处理对大豆低聚糖提取的影响 [J]. *现代食品科技*, 2007, 23 (1): 33-35.
- [21] 吕景春, 杜丽萍. 纤维素酶在棉织物抛光工艺中的应用 [J]. *纺织科技进展*, 2008 (4): 40-42.
- [22] 高树珍. 酸性纤维素酶在棉织物表面抛光中的应用 [J]. *黑龙江纺织*, 2008 (3): 15-18.
- [23] 冯愈. 苕麻织物纤维素酶-混合多羧酸防皱整理 [J]. *印染*, 2008 (22): 26-28.
- [24] 周文常. 纤维素酶对亚麻织物的生物抛光整理 [J]. *纺织科技进展*, 2008 (3): 63-65.
- [25] 周娟, 杨焕民, 姜宁, 等. 纤维素酶对肉仔鸡生产性能和营养物质利用的影响 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2007 (3): 42-43.
- [26] 吴桐忠. 秸秆中添加纤维素酶对羔羊增重效果的影响 [J]. *新疆农垦科技*, 2008 (6): 35-36.
- [27] 王照忠, 尚有安. 纤维素复合酶对奶牛消化率影响的效果分析 [J]. *养殖与饲料*, 2008 (5): 61-62.
- [28] 王平, 李长存. 纤维素复合酶对育肥绵羊增重效果的影响 [J]. *现代农业科技*, 2008 (20): 238.
- [29] 高春生, 范光丽, 李建华, 等. 纤维素酶对草鱼生长性能和饲料消化率及体成分的影响 [J]. *中国农学通报*, 2006, 22 (10): 473-475.
- [30] 周学飞. 纸浆仿酶脱木素与漂白 [J]. *中国造纸学报*, 2007 (4): 102-107.
- [4] SAYRE K, ACEVEDO E, AUSTIN R. Carbon isotope discrimination and grain yield for three bread wheat germplasm groups grown at different levels of water stress [J]. *Field Crops Research*, 1995, 41: 45-54.
- [5] CONDON A G, RICHARDS R A. Broad sense heritability and genotype x environment interaction for carbon isotope discrimination in field grown wheat [J]. *Australian Journal of Agriculture Research*, 1992, 43: 921-934.
- [6] CONDON A G, FARQUAR G D, REBETZKE G J, et al. The application of carbon isotope discrimination in cereal improvement for water-limited environments [C] // *Drought Adaptation in Cereals*. Philadelphia: Haworth Press, 2006: 171-219.
- [7] CONDON A G, REYNOLDS M P, REBETZKE G J. Using stomatal aperture-related traits to select for high yield potential in bread wheat [J]. *Wheat Production in Stressed Environments*, 2007, 12: 617-642.
- [8] 逮芳芳, 李昌澎, 胡银岗. 小麦碳同位素分辨率与叶片气孔相关指标的关系 [J]. *麦类作物学报*, 2010, 30 (4): 660-664.
- [9] 董建力, 许兴, 李树华, 等. 早肋胁迫对不同春小麦叶绿素含量的影响及与抗旱性的关系 [J]. *华北农学报*, 2011, 26 (3): 120-123.
- [10] 李树华, 白海波, 吕学莲, 等. 春小麦碳同位素分辨率与冠层温度的相关性研究 [J]. *麦类作物学报*, 2013, 33 (2): 111-117.
- [11] LI P, CHEN J, WU P. Evaluation of grain yield and three physiological traits in 30 spring wheat genotypes across three irrigation regimes [J]. *Crop Science*, 2012, 52: 110-121.
- [12] 李树华, 许兴, 张艳铃, 等. 小麦不同器官碳同位素分辨率与产量的相关性研究 [J]. *中国农学通报*, 2010, 26 (23): 121-125.
- [13] CONDON A G, RICHARDS R A, FARQUAR G D. Carbon isotope discrimination is positively correlated with grain-yield and dry-matter production in field-grown wheat [J]. *Crop Science*, 1987, 27: 996-1001.
- [14] MERAH O, DELEENS E, MONNEVEUX P. Relationships between carbon isotope discrimination, dry matter production, and harvest index in durum wheat [J]. *Plant Physiology*, 2001, 158: 723-729.
- [15] MERAH O, DELEENS E, SOUYRIS I, et al. Relationships between lag leaf carbon isotope discrimination and several morphophysiological traits in durum wheat under Mediterranean conditions [J]. *Environmental & Experimental Botany*, 2001, 45: 63-71.
- [16] MERAH O, DELEENS E, SOUYRIS I, et al. Stability of carbon isotope discrimination and grain yield in durum wheat [J]. *Crop Science*, 2001, 41: 677-682.
- [17] MERAH O, DELEENS E, TEULAT B, et al. Productivity and carbon isotope discrimination in durum wheat organs under a Mediterranean climate [J]. *Plantbiology and Pathology*, 2001, 324: 51-57.
- [18] 张小妹. 水稻碳同位素分辨率与产量相关性及其 QTL 定位 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- [19] REBETZKE G J, CONDON A G, RICHARDS R A, et al. Selection for reduced carbon isotope discrimination increases aerial biomass and grain yield of rainfed bread wheat [J]. *Crop Science*, 2002, 42: 739-745.
- [20] 樊廷录, 宋尚有, 徐银萍, 等. 旱地冬小麦灌浆期冠层温度与产量和水分利用效率的关系 [J]. *生态学报*, 2007, 27 (11): 4491-4497.
- [21] 李升东, 王法宏, 司纪升, 等. 不同基因型冬小麦在两种栽培模式下蒸腾速率、光合速率和水分利用效率的比较研究 [J]. *麦类作物学报*, 2007, 27 (3): 514-517.
- [22] JONES H G, STOLL M, SANTOS T, et al. Use of infrared thermography for monitoring stomatal closure in the field; application to grapevine [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53: 2249-2260.
- [23] 赵红梅, 郭程瑾, 段巍巍, 等. 小麦品种抗旱性评价指标研究 [J]. *植物遗传资源学报*, 2007, 8 (1): 76-81.

(上接第 10569 页)