小麦面筋蛋白酶解物对酵母增殖的影响

奚宽鹏，钱海峰*，张 晖，王 立，齐希光
（江南大学 食品学院，江苏 无锡 214122）

摘要：为研究小麦面筋蛋白酶解物对酵母增殖的影响，将酶解物添加到麦芽糖浆中，通过水解度、相对分子质量、游离氨基酸组成和酵母渗透压耐受性，探索小麦面筋蛋白酶解物对酵母增殖的影响及作用机制。结果表明：小麦面筋蛋白酶解物可作为酵母生长增殖的有效氮源；酶解物DH 8.7%时酵母增殖效果最佳；酵母能有效利用的肽段主要集中在3 kDa以下；较小相对分子质量肽段的游离氨基酸组成及其对酵母渗透压耐受性的提高均有利于酵母增殖。

关键字：小麦面筋蛋白质；酶解物；酵母；增殖；相对分子质量
中图分类号：TS 201.3　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2016)06—0597—07

Effects of Wheat Gluten Hydrolysates on the Proliferation of Yeast

XI Kuanpeng，*QIAN Haifeng**，*ZHANG Hui*，*WANG Li*，*QI Xiguang*
（School of Food Sicence and Technology，Jiangnan University，Wuxi 214122，China）

Abstract：To study the effects of wheat gluten hydrolysates on the proliferation of yeast，we added the hydrolysates into maltose syrup and explored the effects and mechanism by measuring the degree of hydrolysis，molecular size，free amino acid composition and osmotic tolerance of yeast. Results showed that wheat gluten hydrolysates could provide nitrogen for the growth and proliferation of yeast；the yeast reached the best proliferation when DH was 8.7%；the most effectively used peptides were below 3ku；the free amino acid composition of small molecular weight peptides and the increased osmotic tolerance were both beneficial to the proliferation of yeast.

Keywords：wheat gluten，hydrolysates，yeast，proliferation，molecular size

小麦面筋蛋白质（谷朊粉）是小麦淀粉加工的主要副产物，其蛋白质质量分数高达75%~ 85%，主要由醇溶蛋白质与麦谷蛋白质组成，且氨基酸组成较齐全，是营养丰富、物美价廉的纯天然植物性蛋白源。然而，小麦面筋蛋白肽链中含有较多的疏水性氨基酸和不带电荷的氨基酸，分子内疏水作用区域较大，导致其溶解性低，限制了其在实际生产中的应用[1]。目前采用酶解法水解小麦面筋蛋白质扩大其应用的研究已有报道，谷中华等[2]采用中性蛋白酶水解小麦面筋蛋白质，所得酶解物可显著提高小鼠的消化和免疫功能，促进小鼠生长。张亚飞等[3]利用碱性蛋白酶酶解小麦面筋蛋白质，酶解物经树脂分离纯化后得到的4种肽，可以刺激小鼠脾细胞生长增殖。

氮是酵母细胞生长和代谢必不可少的元素，酵母生长增殖伴随着氮源的吸收利用。然而，并不是

收稿日期：2014-12-07
基金项目：国家863计划项目(2013AA102203-07)。
* **通信作者**：钱海峰(1973—)，男，江苏江阴人，工学博士，副教授，主要从事生物活性物质研究。E-mail：qianhaifeng@jiangnan.edu.cn

所有的含氮物质都能被酵母用于细胞代谢途径,能被酵母利用的含氮物质称为可同化氮或游离氨基氮(FAN)[4]。目前,关于蛋白酶解物与微生物生长代谢关系的研究已有报道。陈美珍等[5]研究表明,大豆蛋白酶解物能为微生物生长代谢提供氮源,促进微生物生长。赵冬梅等[6]发现,大豆肽能促进酵母菌的增殖,且小分子肽比大分子肽促进作用更明显。然而,有关小麦面筋蛋白酶解物对酵母增殖影响的研究较少。本文作者研究了小麦面筋蛋白酶解物水解度、相对分子质量和游离氨基酸组成对酵母增殖的影响及作用机制,以期探索小麦蛋白酶解物作为酵母生长增殖的外加氮源的可行性。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

小麦面筋蛋白质(质量分数 77.42%),南通联海维景生物有限公司产品; 中性蛋白酶(Neutrase, 24.6×10^4 U/mL),北京诺维信有限公司提供;麦芽糖浆,河南锐森生物科技股份有限公司产品;啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*),江南大学工业微生物资源和信息中心提供;其它所用试剂 均为分析纯。

HITACHI 高速冷冻离心机, 日本日立公司制造;Free Zone2.5 型冷冻干燥机,美国 Laboconcor 公司制造;IKAMAG 加热磁力搅拌器, 广州仪科实验技术有限公司制造;YXQ-LS-SⅡ型全自动立式电热压力蒸汽灭菌器,上海博讯实业有限公司医疗设备厂制造;Delta 320 型酸度计,梅特勒-托利多(上海)仪器有限公司制造;Pellicon-2 型超滤系统,PALL 公司制造;HL-2S 恒流泵, 上海沪西分析仪器厂制造;WFZ UV-2100 型紫外可见分光光度计, 尤尼柯 (上海) 仪器有限公司制造;KDN-08 型消化炉,KDN-2C 定氮仪,上海昕瑞仪器仪表有限公司制造;SK200 型生物显微镜,麦克奥迪实业集团有限公司制造。

1.2 实验方法

1.2.1 小麦蛋白质酶解方法 小麦蛋白质按 10∶100 (g/mL)分散于水中,0.1 mol/L NaOH 溶液调 pH 至 6.5 后,加入中性蛋白酶(2 460 U/g),50 ℃下分别酶解 1、3、5 h 和 7 h。煮沸 10 min 灭酶,酶解液离心(6 000 r/min,4 ℃)15 min。收集上清液,冷冻干燥, 得到不同水解度的小麦蛋白酶解物, 编号为 WGH1、WGH3、WGH5 和 WGH7。

1.2.2 培养基的配制及理化指标的测定

1)培养基的配制:用去离子水将麦芽糖浆稀释至 12°P。对照组以 12°P 麦芽糖浆为基础培养基(MS),实验组根据需要分别在 MS 中添加一定量的小麦蛋白酶解物和胰蛋白胨, 制备培养基 WGH 和 BP,121 ℃灭菌 20 min。

2)培养基理化指标测定:按照 QB/T2687-2005 方法。

1.2.3 酵母种子扩培及生长曲线的测定

1)酵母种子扩培:在无菌条件下,用接种环从试管斜面上挑取一环酵母,接种于 10 mL 种子培养基(葡糖糖 2 g/dL,胰蛋白胨 2 g/dL,酵母浸膏 1 g/dL),摇床培养 24 h(25 ℃,160 r/min);然后转入 200 mL 种子培养基中,摇床培养 48 h(20 ℃,140 r/min);最后转入 1 L 种子培养基中,15 ℃静置培养 72 h,离心(8 000 r/min,10 min,4 ℃)取酵母泥。

2)酵母培养基生长曲线的测定:取酵母泥接种到不同培养基上,接种量约为 1.2×10^8 个/mL。摇床培养 24 h(28 ℃,160 r/min)。采用血球计数板计数[7],分别记录其生长曲线。

1.2.4 蛋白质水解度(DH)的测定 蛋白质的水解度是指蛋白质总肽链断裂的程度。采用茚三酮比色法测定上清液的 α-氨基氮[8],凯氏定氮法测定上清液的总氮含量[8]

1.2.5 多肽相对分子质量分布的测定 采用 HPLC 法,利用 Waters600 型高效液相色谱仪(配 2487 型紫外检测器和 M32 型工作站) 与 TSKgel-2000 SWXL 300 mm×7.8 mm 色谱柱进行测定。设置流动相为 *V*(乙腈):*V*(水):*V*(三氟乙酸)=45:55:0.05,控制体积流量 0.5 mL/min、柱温 30 ℃、检测波长 220 nm。

1.2.6 超滤分离小麦面筋蛋白酶解物 将 WGH5 酶解液过超滤膜,分别选用截留分子量为 10、5、3 kDa 的超滤膜逐级分离, 分别收集所得 4 个组分 WGH5-Ⅰ(MW>10 ku)、WGH5-Ⅱ(MW=5~10 ku)、WGH5-Ⅲ(MW=3~5 ku)和 WGH5-Ⅳ(MW<3 ku),并将各组分冷冻干燥后培养酵母。

1.2.7 肽段游离氨基酸测定 采用 OPA、FMOC 柱前衍生化高效液相色谱法。取 400 mg 酶解物用 pH 7.2 缓冲液稀释到 5 mL,超声 10 min 后,加入 1 mL 10 g/dL 三氯乙酸沉淀 2 h,用双层滤纸过滤,8 000 r/min 离心10 min,取上清液测定游离氨基酸含量。色谱柱 ODS HYPERSIL (250 mm×4.6 mm,5 μm),柱

温 40 ℃,体积流量 1.0 mL/min,紫外检测波长338 nm,梯度洗脱。

1.2.8 酵母渗透压耐受性的测定 配制培养基:2 g/dL 蛋白胨、1 g/dL 酵母膏溶液,实验组添加 0.5 g/dL 的不同相对分子质量小麦蛋白酶解物肽段,对照组不添加。加 2 g/dL 琼脂后分别添加不同量的葡萄糖,制备葡萄糖质量浓度从 25~55 g/dL 的 7 个平板培养基。将酵母点种于平板上,26~28 ℃恒温培养一周,观察并记录其是否生长。

1.2.9 数据分析 每个数据均为 3 次测定的平均值,采用 ORIGIN 8.6 和 SPSS17.0 统计分析软件进行数据分析。

2 结果与讨论

2.1 培养基理化分析和小麦面筋蛋白酶解物对酵母增殖的影响

表 1 为 3 种培养基的理化指标。由表 1 可以看出,MS 中糖类物质含量丰富,可为酵母的增殖提供充足的碳源,但是含氮物质较少,尤其是 FAN 含量仅 4.7 mg/L。相比于 MS、WGH 和 BP 中总糖含量均无明显差别,但总氮和 FAN 含量都有显著的增加,其中 FAN 质量浓度分别达到 122.5 mg/L 和 157.6 mg/L。表明小麦面筋蛋白酶解物中主要成分是含氮物质,且含有较多的 FAN。

表 1 不同培养基的理化指标

Table 1 Physical and chemical indicators of Different Media

培养基	总糖/(mg/L)	FAN 质量浓度/(mg/L)	总氮/(mg/L)	灰分质量浓度/(mg/L)	pH 值
MS	13750±45	4.7±0.8	121.2±3.6	14.27±3.1	6.45±0.05
WGH	14030±79	122.5±5.4	1375.5±4.8	153.4±4.5	6.36±0.05
BP	13760±61	157.6±6.1	1413.6±3.5	372.3±10.8	6.32±0.03

注:MS 为麦芽糖浆基础培养基,WGH 为添加小麦面筋蛋白酶解物的培养基,BP 为添加胰蛋白胨培养基。

3 种培养基中酵母增殖情况见图 1。

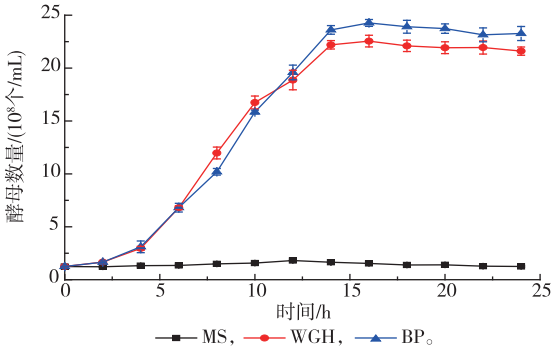


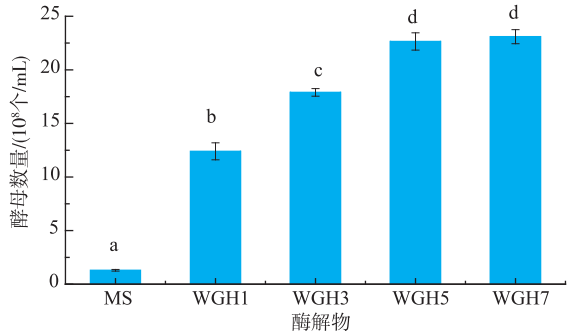
图 1 小麦面筋蛋白酶解物对酵母增殖的影响

Fig. 1 Effects of wheat protein hydrolysates on the proliferation of yeast

可以看出,在 MS 中,酵母增殖缓慢,酵母总量没有明显的增加;而在 WGH 和 BP 中酵母表现出典型 S 型生长方式,达到稳定期后,两种培养基中的酵母数量较 MS 均有明显提高,且 BP 的酵母最终增殖数量比 WGH 高 10%左右。结合表 1 结论,由于麦芽糖浆中含氮量低,不能为酵母增殖提供充足的氮源,阻碍了酵母的生长增殖;添加小麦面筋蛋白酶解物或胰蛋白胨后,酵母都能正常生长增殖。且由于小麦面筋蛋白酶解物来源丰富,制备简单,适合工业生产大规模使用,因此将小麦面筋蛋白酶解物作为酵母增殖的外加氮源具有很好的可行性。

2.2 不同水解度(DH)小麦蛋白酶解物对酵母增殖的影响

取水解度不同的酶解物(WGH1、WGH3、WGH5 和 WGH7),按相同的蛋白质添加量加入麦芽糖浆培养基中,以未添加 WGH 的麦芽糖浆培养基(MS)作为对照组,测定不同培养基达到稳定期(14 h)时酵母的增殖量,结果见图 2。可知,添加酶解物的培养基较 MS 酵母增殖量明显提高,且总体表现出随 DH 增大而增加的趋势。



注:不同小写字母之间表示有显著性差异(p<0.05)。

图 2 不同水解度小麦蛋白酶解物对酵母增殖的影响

Fig. 2 Effects of wheat protein hydrolysates with different DH on yeast proliferation

WGH7 中酵母增殖量最大,较 WGH1、WGH3

和 WGH5 分别提高 86.3%、29.1%和 1.9%。DH3.2 增大到 DH 8.7,酵母的增殖量显著增加(p<0.05);由 DH 8.7 增大到 DH 9.1,酵母增殖量增加不显著(p>0.05)。蛋白质水解度表征蛋白质总肽链断裂的程度,DH 决定酶解物中肽段的相对分子质量大小。有研究报道,肽段的生理活性与相对分子质量密切相关。不同 DH 小麦面筋蛋白酶解物中肽段的相对分子质量分布见表 2。

表 2 不同水解度的小麦蛋白酶解物中肽段的相对分子质量分布

Table 2 Molecular weight distribution of wheat gluten hydrolysates with different DH

酶解物编号	DH/%	不同酶解物肽段的相对分子质量分布				
		>10 k	5~10 k	3~5 k	3~1 k	<1 k
WGH1	3.2	38.5±5.4	26.4±4.3	17.9±2.6	6.8±2.4	105±1.0
WGH3	6.5	27.2±4.1	22.7±1.9	14.5±3.1	12.4±2.5	23.3±1.9
WGH5	8.7	16.4±1.7	20.9±4.7	10.8±3.7	18.4±4.1	33.5±2.4
WGH7	9.1	14.5±1.8	19.8±5.3	9.9±3.5	19.8±5.2	36.1±2.1

由表 2 可知,随着水解度的增大,酶解物中较大相对分子质量的肽(>3 kDa)含量逐渐减少,而较小相对分子质量的肽含量逐渐增多。这是由于酶解时间的延长,酶解物中较大的肽段被继续水解,形成小分子的肽。当 DH 为 8.7%时,小于 3 kDa 的较小相对分子质量肽占到 70.82%。结合图 2 中酵母增殖结果可知,培养基中小分子的肽含量较高时有利于酵母的增殖。这是由于酵母在增殖过程中更容易吸收小分子肽段,起到补充氮源的作用。Zhang 等[9]比较了不同相对分子质量酪蛋白肽对乳酸菌生长发酵的影响,结果表明相对分子质量小于 3 kDa 的酪蛋白肽更能有效促进乳酸菌生长。万春艳等[10]发现,不同相对分子质量肽段的大豆肽对酵母生长的影响不同,其中具有促进活性的肽段主要集中在 3 kDa 以下。本研究结果与其一致。DH 为 8.7%时,酵母增殖最佳,可能与较小相对分子质量肽段含量较高有关。

2.3 酶解物相对分子质量对酵母增殖的影响

将过超滤膜所得 4 个不同相对分子质量的组分按相同的蛋白质含量添加到麦芽糖浆中,以 WGH5 培养基为对照组,研究酶解物相对分子质量分布对酵母增殖的影响,结果如图 3 所示。可以看出,在蛋白质含量相同情况下,不同相对分子质量肽段对酵母增殖影响显著性不同,到达稳定期后酵母最终增殖量顺序为 WGH5-Ⅳ>WGH5-Ⅲ>WGH5-Ⅱ>WGH5-Ⅰ。与 WGH5 相比,WGH5-Ⅰ和 WGH5-Ⅱ酵母增殖速率和最终量均有所降低,两者延滞期变长,对数生长期变短,到达稳定期时酵母增殖总量较 WGH5 分别降低约 27.3%和 8.9%。表明酵母对相对分子质量大于 5 kDa 的肽段较难吸收,利用率低。在稳定期,培养 24 h 的酵母数量较 14 h 有小幅增长,分别提高约 5.7%和 6.2%。这是由于酵母细胞在生长过程中会向胞外分泌一部分蛋白酶,将未被利用的大分子肽段酶解成较小的肽段,被酵母吸收利用[11]。WGH5-Ⅲ和 WGH5-Ⅳ的加入能提高酵母增殖速率和最终增殖量,表明相对分子质量较小的肽段作为氮源,利用率较高。WGH5-Ⅲ和 WGH5-Ⅳ中酵母较早进入对数生长期和稳定期,到达稳定期后,两者酵母总量分别提高约 13.1%和 25.7%。这是因为酵母是依赖于多肽渗透酶介导,将多肽转运过质膜从而对多肽吸收利用。而多肽渗透酶的转运作用与多肽的分子大小及结构密切相关[12]。由以上结果可以认为,小分子的肽段作为氮源,在酵母生长增殖过程中更易于被酵母所吸收,其中相对分子质量小于 3 kDa 的肽段对酵母增殖影响最显著,这与 2.2 结果一致。

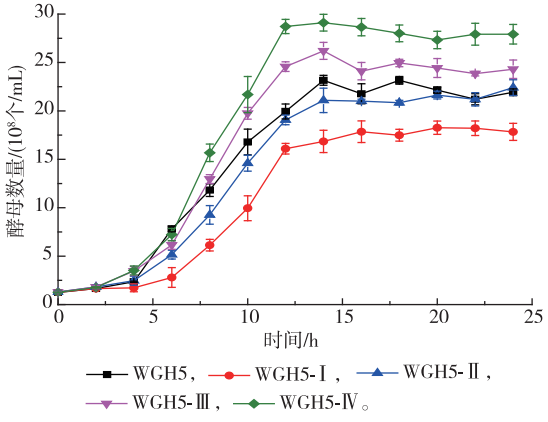


图 3 不同相对分子质量肽段对酵母增殖的影响

Fig. 3 Effect of different molecular weight peptides on the proliferation of yeast

2.4 不同相对分子质量肽段中氨基酸含量差异

为了探索不同相对分子质量肽段影响酵母增殖影响的机制,对4种不同相对分子质量肽段的游离氨基酸含量进行测定和分析,结果见表3。

表3 不同相对分子质量肽段游离氨基酸含量差异

Table 3 Free amino acids composition of different molecular weight peptides

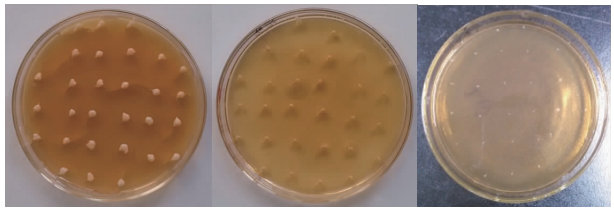
氨基酸名称	质量分数/%			
	WGH5-Ⅰ	WGH5-Ⅱ	WGH5-Ⅲ	WGH5-Ⅳ
天冬酰胺	0.021 2	0.029 7	0.030 9	0.056 9
谷氨酸	0.040 7	0.050 5	0.047 7	0.123 6
苏氨酸	0.005 5	0.045 0	0.054 8	0.155 4
丝氨酸	0.000 5	0.007 1	0.089 0	0.022 2
精氨酸	0.096 1	0.146 2	0.273 8	0.473 6
赖氨酸	0.026 1	0.184 5	0.192 5	0.305 2
异亮氨酸	0.047 3	0.098 6	0.110 5	0.158 5
缬氨酸	0.037 6	0.044 9	0.049 3	0.129 4
蛋氨酸	0.063 7	0.114 5	0.138 2	0.247 0
亮氨酸	0.186 0	0.337 6	0.409 0	1.092 3
组氨酸	0.015 4	0.033 9	0.045 2	0.084 7
苯丙氨酸	0.151 0	0.150 9	0.151 0	0.429 1
甘氨酸	0.018 8	0.029 8	0.018 8	0.100 9
丙氨酸	0.047 8	0.066 0	0.079 8	0.208 7
酪氨酸	0.038 5	0.074 0	0.094 6	0.272 2
半胱氨酸	0.049 8	0.082 8	0.106 6	0.005 5
脯氨酸	0.023 4	0.077 6	0.075 9	0.225 5
总量	0.869 4	1.573 6	1.967 6	4.090 7

注:表中数据为100 g样品干基中各氨基酸的质量。

由表3可知,不同相对分子质量肽段中游离氨基酸含量有显著差异。其中,WGH5-Ⅳ中游离氨基酸总量最高,达到4.090 7%,分别是WGH5-Ⅰ、WGH5-Ⅱ和WGH5-Ⅲ总量的4.7倍、2.6倍和2.1倍。结合图3的结果,可以认为较小相对分子质量肽段对酵母增殖的促进作用是由于其游离氨基酸含量较高引起的。这可能是因为在酵母生长繁殖过程中,外源性氨基酸被细胞吸收后,先进行脱氨反应,为细胞提供氮源,剩余的氨基酸碳骨架参与细胞中其它氨基酸和蛋白质的生物合成[13]。陈黎斌等[14]研究了酪蛋白酶解液对面包酵母和啤酒酵母增殖发酵的影响,结果表明游离氨基酸的含量高时,能促进酵母增殖,改善发酵性能。另外,酵母对氨基酸的吸收是通过细胞膜上的一系列氨基酸转运系统完成的。除具有特异性的氨基酸转运系统外,还有一个广谱氨基酸转运系统GAP,GAP系统能催化所有氨基酸的转运,但对氨基酸转运有一定的顺序[15]。Woodward等[16]发现,酵母能优先吸收谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、天冬氨酸、亮氨酸、苏氨酸、蛋氨酸、缬氨酸,对其他氨基酸吸收缓慢;从表3可以看出,各游离氨基酸量均随着肽段相对分子质量的降低而增加,其中谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、亮氨酸含量增加显著,为酵母快速增殖奠定基础。此外,氨基酸对酵母生长也具有一定的调节作用。其中精氨酸可以刺激酵母的生长[17],亮氨酸能够增强酵母细胞对小分子肽的感应能力,促进小分子肽的吸收[18]。因此可以认为,较小相对分子质量肽对酵母菌生长增殖的作用是通过提高游离氨基酸总量、增加特定氨基酸含量及调节酵母生长实现的。

2.5 酶解物相对分子质量对酵母渗透压耐受性的影响

酵母细胞的细胞膜相当于一个半透膜,具有渗透性,培养基中高浓度的糖、盐等可溶性物质会造成较高的渗透压力,直接影响酵母生长。因此,酵母细胞的渗透压耐受性对酵母的生长增殖有很大影响。万春艳等[10]的研究发现,培养基中添加大豆肽,可有效改善酵母菌渗透压耐受性,促进酵母增殖。研究中对不同相对分子质量肽段对酵母渗透压耐受性的影响进行分析。典型的酵母生长抑制情况见图4,不同相对分子质量肽段对酵母渗透压耐受性的影响见表4。



(a)未受抑制 (b)部分抑制 (c)完全抑制

图4 典型的酵母菌生长抑制情况

Fig. 4 Typical yeast growth inhibition

酵母生长未受抑制时(图4(a)),生长较快,菌落大而厚,表面光滑、湿润;酵母被部分抑制时(图4(b)),生长较慢,菌落较小;酵母生长完全被抑制时(图4(c)),生长基本停止,菌落不明显。由表4可知,小麦面筋蛋白酶解物可改善酵母渗透压耐受

表 4　不同相对分子质量肽段对酵母渗透压耐受性的影响

Table 4　Effect of different molecular weight peptides on the osmotic pressure resistant capacity of yeast

酶解物	测定次序	葡萄糖质量分数						
		25%	30%	35%	40%	45%	50%	55%
对照组	1	++	++	+	−	−	−	−
	2	++	+	+	−	−	−	−
	3	++	+	+	−	−	−	−
WGH5-Ⅰ	1	++	+	+	+	−	−	−
	2	++	+	−	−	−	−	−
	3	++	+	+	−	−	−	−
WGH5-Ⅱ	1	++	++	++	+	+	−	−
	2	++	++	+	+	−	−	−
	3	++	++	+	−	−	−	−
WGH5-Ⅲ	1	++	++	+	+	−	−	−
	2	++	++	++	+	−	−	−
	3	++	++	++	+	+	−	−
WGH5-Ⅳ	1	++	++	++	++	+	+	−
	2	++	++	++	+	−	−	−
	3	++	++	+	+	+	−	−

注:“++”为未受抑制(a),“+”为部分抑制(b),“-”为完全抑制(c)。

性,促进酵母细胞生长,且不同相对分子质量肽段增强酵母渗透压耐受性的效果不同。其中,WGH5-Ⅳ中酵母渗透压耐受性最好,说明相对分子质量越小的肽段对酵母渗透压耐受性的改善效果越好。

对于酵母渗透压耐受性机理早有讨论,但相关机理尚未研究清楚。有报道表明,酵母耐高渗与丙酮酸激酶、苹果酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶等有关系[19],而较小相对分子质量肽段的加入能为酵母的生长增殖提供高效氮源,提高丙酮酸激酶、6-磷酸果糖激酶、已糖激酶活性[20],从而影响糖酵解磷酸戊糖过程。

3 结　语

小麦面筋蛋白酶解物可作为有效外加氮源被酵母生长代谢所利用;小麦蛋白酶解物对酵母增殖的促进作用先随 DH 的增加而增强,而后趋于平缓,在 DH 8.7%时效果最佳;不同相对分子质量肽段的小麦蛋白酶解物对酵母增殖影响不同,较小相对分子质量肽对酵母增殖作用最好;酵母能有效利用的肽段主要集中在 3 kDa 以下,其对酵母增殖促进作用是通过提高游离氨基酸总量、增加特定氨基酸含量、调节酵母生长,以及提高酵母渗透压耐受性实现的。

参考文献:

[1] Day L,Augustin M A,Batey I,et al. Wheat-gluten uses and industry needs [J]. **Food Science and Technology**,2006,17(2):82-90.

[2] 谷中华,朱旭,杨凌霄,等. 小麦面筋蛋白酶解制备合适分子量小肽的研究[J]. 食品工业科技,2013,34(24):105-109.
GU Zhonghua,ZHU Xu,YANG Lingxiao,et al. Stuy on the suitable small MW of peptides hydrolyzed from wheat gluten catalysed by protease[J]. **Science and Technology of Food Industry**,2013,34(24):105-109.(in Chinese)

[3] 张亚飞,乐国伟,施用晖,等. 小麦蛋白 Alcalase 水解物免疫活性肽的研究[J]. 食品与机械,2006,22(3):44-46,93.
ZHANG Yafei,LE Guowei,SHI Yonghui,et al. The study on immunopeptides of wheat through hydrolyzing wheat iaolated proteins by alcalase[J]. **Food and Machinery**,2006,22(3):44-46,93.(in Chinese)

[4] 管敦义. 啤酒工业手册[M]. 修订版. 北京:中国轻工业出版社,2007.

[5] 陈美珍,廖灶辉,陈英歌,等. 大豆蛋白酶解物抗氧化及促进微生物生长研究[J]. 汕头大学学报(自然科学版),2007,22(3):43-48.

CHEN Meizhen,LIAO Zhaohui,CHEN Yingge,et al. Study on hydrolyzate of soy protein antioxidanting and promoting the growth of microbial[J]. **Journal of Shantou University(Natural Science Edition)**,2007,22(3):43-48.(in Chinese)

[6] 赵冬梅,李小东,佟玉春,等. 大豆肽对细菌及酵母生长的影响[J]. 黑龙江科技信息,2004,24(9):135-135.
ZHAO Dongmei,LI Xiaodong,TONG Yuchun,et al. Effects of soybean peptide on bacteria and yeast growth [J]. **Heilongjiang Science and Technology Information**,2004,24(9):135-135.(in Chinese)

[7] 邵江樵. 酵母菌的计数方法和应用[J]. 新高考:物理化学生物,2011(3):56-58.
SHAO Jiangqiao. Counting methods and applications of yeast [J]. **New Entrance Examination:Physical Chemical and Biological**,2011(3):56-58.(in Chinese)

[8] 赵新淮,冯志彪. 蛋白质水解物水解度的测定[J]. 食品科学,1994(11):65-67.
ZHAO Xinhuai,FENG Zhibiao. Determination of the degree of hydrolysis of the protein hydrolyzate [J]. **Food Science**,1994(11):65-67.(in Chinese)

[9] ZHANG Q,REN J,ZHAO M,et al. Isolation and characterization of three novel peptides from casein hydrolysates that stimulate the growth of mixed cultures of Streptococcus thermophilus and Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2011,59:7045-7053.

[10] 万春艳. 大豆活性肽对酵母增殖代谢及啤酒发酵的影响研究[D]. 广州:华南理工大学,2012.

[11] Lekkas C,Stewart G G,Hill A E,et al. Elucidation of the role of nitrogenous wort components in yeast fermentation [J]. **Journal of the Institute of Brewing**,2007,113:3-8.

[12] Magasanik B,Kaiser C A. Nitrogen regulation in Saccharomyces cerevisiae[J]. **Gene**,2002,290:1-18.

[13] Pierce J S. Horace brown memorial lecture the role of nitrogen in brewing [J]. **Journal of the Institute of Brewing**,1987,93:378-381.

[14] 陈黎斌,潘宗杰. 糖降解抑制对酵母生长和发酵中氮组分的影响[J]. 啤酒科技,2004(6):66-68.
CHEN Libin,PAN Zongjie. Effects of inhibiting of sugar degradation on yeast growth and fermentation nnitrogen components [J]. **Beer Science and Technology**,2004(6):66-68.(in Chinese)

[15] Cré pin L,Nidelet T,Sanchez I,et al. Sequential use of nitrogen compounds by Saccharomyces cerevisiae during wine fermentation:a model based on kinetic and regulation characteristics of nitrogen permeases [J]. **Applied and Environmental Microbiology**,2012,78:8102-8111.

[16] Woodward J R,Cirillo V P. Amino acid transport and metabolism in nitrogen-starved cells of Saccharomyces cerevisiae [J]. **Journal of Bacteriology**,1977,130:714-723.

[17] Patterson C A,Ingledew W M. Utilization of peptides by a lager brewing yeast [J]. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**,1999,57:1-8.

[18] Ingledew W M,Patterson C A. Effect of nitrogen source and concentration on the uptake of peptides by a lager yeast in continuous culture[J]. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**,1999,57:9-17.

[19] Thomas K C,Hynes S H,Ingledew W M. Effect of nitrogen limitaton on synthesis of enzymes in Saccharomyces cerevisiae during fermentation of high concentration of carbohydrates[J]. **Biotechnology Letters**,1996,18:1165-1168.

[20] 雷宏杰. 高浓麦汁氮源组成对酵母氨基酸同化及发酵调控影响的研究[D]. 广州:华南理工大学,2014.