doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2016.06.009 **文章编号**:2095-6002(2016)06-0046-07
引用格式:李小波,刘曼,李培根,等. 山黧豆蛋白质的提取及营养价值研究[J]. 食品科学技术学报,2016,34(6):46-52.
LI Xiaobo, LIU Man, LI Peigen, et al. Study on optimization of extration process and nutritional value of proteins from *Lathyrus sativus* Linn.[J]. Journal of Food Science and Technology, 2016,34(6):46-52.

山黧豆蛋白质的提取及营养价值研究

李小波[1], 刘 曼[1], 李培根[1], 王 钊[1], 曹学丽[1,*], 牛晓峰[2], 李雪帆[2]
(1. 北京工商大学 食品学院/食品添加剂与配料北京高校工程研究中心/食品质量与安全北京实验室,
北京 100048; 2. 太原六味斋实业有限公司, 山西 太原 030006)

摘 要:优化碱溶酸沉提取山黧豆蛋白的方法,得到山黧豆粗蛋白,并分析其氨基酸组成,同时对山黧豆蛋白质进行了综合的营养价值评价。结果显示,山黧豆蛋白质的较佳提取条件为:提取温度40 ℃,pH值10,提取时间1 h,料液比1:20 g/mL。此条件下,山黧豆蛋白质的提取率最高,蛋白质质量分数高达26.1%。山黧豆蛋白的等电点为pH值5;山黧豆蛋白质中含有18种蛋白质氨基酸,其中谷氨酸质量分数最高为17.4%,其次是天冬氨酸10.0%。其必需氨基酸占总氨基酸的比值*EAA/TAA*为42%(>40%)、必需氨基酸与非必需氨基酸的比值*EAA/NEAA*为72.41%(>60%),即均大于FAO/WHO提出的参考蛋白量。山黧豆蛋白中的氨基酸评分、化学评分、氨基酸比值系数以及必需氨基酸比率,除蛋氨酸+胱氨酸、苏氨酸、色氨酸、缬氨酸外,其他均高于WHO/FAO标准;蛋氨酸+胱氨酸、色氨酸分别为第一和第二限制性氨基酸。山黧豆蛋白质的必需氨基酸指数*EAAI*值为1.16,根据蛋白质的评价标准:*EAAI*值大于0.9为优质蛋白源,说明山黧豆蛋白质属于优质蛋白。

关键词:山黧豆; 蛋白质; 提取; 氨基酸分析; 营养价值
中图分类号:TS214.9; TS201.2; TS207.3 **文献标志码**:A

山黧豆(*Lathyrus sativus* Linn.),又名马牙豆、家山黧豆等,木兰纲(Magnoliopsida)蔷薇亚纲(Rosidae)豆目(Fabales)蝶形花科(Fabaceae)野豌豆族(Trib. Vicieae)山黧豆属(*Lathyrus*),一年生作物[1-2]。由于其具有耐寒、抗旱、抗虫害、固氮肥沃土壤以及低成本高产的特性,在我国东北、西北、华北等地区大面积种植[3]。山黧豆籽实中含有丰富的蛋白质和氨基酸,目前大多集中于对其非蛋白质氨基酸β-N-草酰-L-α,β-二氨基丙酸(β-ODAP)的研究。β-ODAP是一种具有神经毒性的氨基酸,长期食用会造成下肢瘫痪,称为山黧豆中毒。因此,多数研究者致力于对β-ODAP的含量测定、分离以及去毒等。但是对于山黧豆蛋白质的提取及营养价值研究报道还很少见。鉴于此,本文采用碱溶酸沉法提取山黧豆蛋白质,并对温度、pH值、时间、料液比等提取条件进行优化,得到山黧豆粗蛋白质,然后对其氨基酸组成进行分析,综合*EAA/TAA*(必需氨基酸/总氨基酸)、*EAA/NEAA*(必需氨基酸/非必需氨基酸)、*AAS*(氨基酸评分)、*CS*(化学评分)、*RC*(氨基酸比值系数)、*A/E*(必需氨基酸比率)、*EAAI*(必需氨基酸指数)等多项蛋白质营养价值评价指标,对山黧豆蛋白质的营养价值进行了系统评价。

收稿日期:2015-05-28
基金项目:农业部公益性行业(农业)科研专项(201303069-04)。
作者简介:李小波,女,硕士研究生,研究方向为生物分离工程;
*曹学丽,女,教授,博士,主要从事生物分离和分析方面的研究。通信作者。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

主要原料与试剂见表 1。

表 1　主要原料试剂

Tab. 1　Main raw materials and reagents list

原料/试剂名称	来源	级别
山黧豆	山西太原六味斋实业有限公司	–
氢氧化钠	天津市光复科技发展有限公司	分析纯
氯化钠	天津市光复科技发展有限公司	分析纯
牛血清蛋白	–	–
乙醇	–	分析纯
磷酸	北京化工厂	分析纯
浓盐酸	北京化工厂	分析纯
G-250 考马斯亮蓝	天津市光复精细化工研究所	–

1.2　实验仪器

实验仪器见表 2。

表 2　实验仪器设备

Tab. 2　Main instruments list

设备名称	型号	生产厂家
紫外可见分光光度计	754PC	上海菁华科技仪器有限公司
pH 电极	PHS-3D	上海三信仪表厂
真空冷冻干燥机	Alpha 2–4 LSC	美国 Christ 公司
电子分析天平	GR-200	DENVER 公司
低速离心机	4K15	美国 Sigma 公司
高速多功能粉碎机	F500AG	北京汇海科仪仪器有限公司
旋转蒸发仪	RE-52A	上海亚荣生化仪器公司
氨基酸自动分析仪	835-50	日本日立公司

1.3　实验方法

1.3.1　样品处理

山黧豆粉碎,过 40 目筛,放置到冰箱中备用。

1.3.2　山黧豆蛋白等电点的测定

1.3.2.1　考马斯亮蓝测定蛋白质含量的原理

由于蛋白质与考马斯亮蓝 G250-蛋白质产生的复合物具有高消光效应,所以导致了蛋白质测定具有高度敏感性。蛋白质的疏水微区与考马斯亮蓝相结合后形成的蓝色复合物,其最大吸收峰在 595 nm 处,而未发生反应的考马斯亮蓝 G250 磷酸溶液成棕红色,最大吸收峰应该在 465 nm 处。所以在一定的范围内,考马斯亮蓝与 G250-蛋白质结合生成蓝色复合物后,在 595 nm 下,吸光度与蛋白质含量会呈现一定的线性关系,故可用于蛋白质浓度的测定[4]。

1.3.2.2　山黧豆蛋白等电点的测定

取 5 份 10 g 山黧豆粉,加入 100 mL 蒸馏水,用氢氧化钠调节 pH 值到 10,浸泡、搅拌 1 h,4 000 r/min 离心 20 min,沉渣加水调节到 pH 值为 11,再搅拌,离心,将 2 次离心所得上清液合并。上清液分别调节 pH 值为 3.5,4,4.5,5,5.5,分别离心,取 0.1 mL 上清液,加入 0.9 mL 水,加入 4 mL 考马斯亮蓝(5 ~ 20 min 之间进行比色)测定吸光值,上清液吸光值最小点为山黧豆蛋白的等电点。

1.3.3　山黧豆蛋白提取条件的优化

称取一定质量的山黧豆粉,采用一定的料液比(g/mL)、提取时间、提取温度和碱溶 pH 值对山黧豆粉进行提取[5 - 7],调节 pH 值至山黧豆蛋白的等电点 pH = 5,使蛋白质充分析出,4 000 r/min 离心 20 min,弃去上清液,得到山黧豆的粗蛋白,冻干,称重。

1.3.3.1　提取温度的影响

山黧豆蛋白质提取条件料液比为 1∶10 g/mL、提取时间为 1 h、pH 值为 9,分别设置温度为 20,30,40,50,60 ℃,考察提取温度对山黧豆蛋白质提取率的影响。

1.3.3.2　pH 值的影响

保持提取温度为 40 ℃,料液比 1∶10 g/mL,时间 1 h,分别调节 pH 值为 5,6,7,8,9,考察 pH 值对山黧豆蛋白质提取率的影响。

1.3.3.3　提取时间的影响

保持体系 pH = 9、温度 40 ℃、料液比 = 1∶10 g/mL,提取时间为 0.5,1,1.5,2,2.5 h,考察不同提取时间对山黧豆蛋白质提取率的影响。

1.3.3.4　料液比的影响

提取条件温度为 40 ℃,pH 值为 9,提取时间为 1.5 h,分别调节料液比为 1∶10,1∶20,1∶30,1∶40,1∶50 g/mL,考察料液比对山黧豆蛋白质提取率的影响。

1.3.3.5　正交试验设计

根据单因素的实验结果,采用正交试验 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交试验[8 - 10],确定山黧豆蛋白质的最佳提取条件。试验因素水平表见表 3。

1.3.4　山黧豆蛋白质的氨基酸组成分析

取冻干的山黧豆粗蛋白粉 1 g,加入水解管中,

加 6 mol/L 盐酸在真空封管后，于(110 ±1) ℃下水解 22 h[11]，色氨酸的水解条件为 4 mol/L 氢氧化钠溶液，(110 ±1) ℃下真空水解 20 h[12]，采用 835-50 型氨基酸自动分析仪分析山黧豆粗蛋白的 18 种氨基酸的组成。

表 3　正交试验因素水平表

Tab. 3　Orthogonal experiment table

水平	因素			
	A 温度/℃	B pH 值	C 提取时间/h	D 料液比/(g·mL^{-1})
1	30	8	1	1∶10
2	40	9	1.5	1∶20
3	50	10	2	1∶30

1.3.5　山黧豆蛋白质氨基酸营养价值评价

蛋白质氨基酸的营养价值评价方法大概有以下几种：氨基酸评分(见式(1))、化学评分(见式(2))、必需氨基酸比率(见式(3))、氨基酸比值系数(见式(4))、必需氨基酸指数(见式(5))[13-18]。

$$AAS = \frac{\text{某一必需氨基酸的质量比(mg/g 蛋白质)}}{\text{FAO 氨基酸质量比(mg/g 蛋白质)}}, \tag{1}$$

$$CS = \frac{\text{实验蛋白质氨基酸质量比(mg/g 蛋白质)}}{\text{鸡蛋蛋白质氨基酸质量比(mg/g 蛋白质)}}, \tag{2}$$

$$A/E(\text{每种必需氨基酸的量}) = \frac{\text{每种必需氨基酸质量比}}{\text{总必需氨基酸质量比(包括胱氨酸、酪氨酸)}} \times 100\%, \tag{3}$$

$$RC = \frac{AAS}{AAS\text{ 之均数}}, \tag{4}$$

$$EAAI = \sqrt[n]{\frac{a_1 \times a_2 \cdots \times a_n}{A_1 \times A_2 \cdots \times A_n}}。 \tag{5}$$

式(5)中，a_1、$a_2 \cdots a_n$ 为各种必需氨基酸占必需氨基酸的总量之比；A_1、$A_2 \cdots A_n$ 为鸡蛋蛋白质中相应的必需氨基酸占必需氨基酸总量之比；n 为必需氨基酸的种类。

本文采用上述方法对山黧豆氨基酸的营养价值进行了评价。

2　结果与讨论

2.1　山黧豆蛋白质等电点的测定

不同 pH 值山黧豆蛋白质上清液的吸光值见图 1。由图 1 可以看出，当 pH 值为 5 时，吸光度值最小，此时上清液含蛋白质量最少，接近蛋白质的等电点，所以确定山黧豆蛋白质的等电点为 pH = 5。因此，以等电点 pH = 5 作为后续的山黧豆蛋白提取工艺中碱溶后的酸沉 pH 值条件。

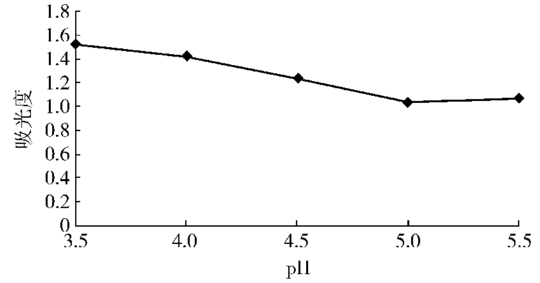

图 1　不同 pH 值山黧豆蛋白质上清液的吸光度

Fig. 1　Absorbance values of *Lathyrus sativus* Linn. protein supernatant at different pH

2.2　山黧豆蛋白的提取条件优化

2.2.1　温度对山黧豆蛋白质提取率的影响

在料液比为 1∶10 g/mL、提取时间为 1 h、pH 值为 9 的条件下，考察提取温度对山黧豆蛋白质提取率的影响，见图 2。

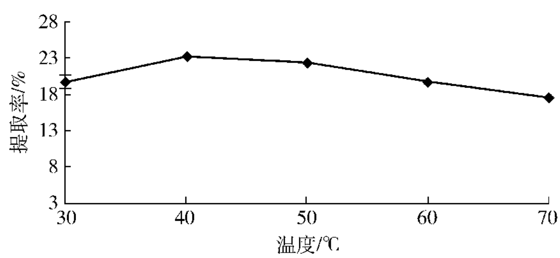

图 2　温度对提取率的影响

Fig. 2　Extraction yield of *Lathyrus sativus* Linn. protein at different temperatures

由图 2 可知，在一定的温度范围内，随着温度升高，山黧豆蛋白质的提取率也随之升高，到 40 ℃时，山黧豆蛋白质的提取率达到最高，温度超过 40 ℃，蛋白质的提取率有所下降。因为蛋白质的溶出需要一定的温度，当温度过高，可能由于淀粉的糊化作用使蛋白质的提取率降低；温度过高，还可能造成蛋白质的变性，最终影响蛋白质的品质。因此蛋白质的提取温度设为 40 ℃较为适宜。

2.2.2　pH 值对山黧豆蛋白质提取率的影响

保持提取温度为 40 ℃，料液比 1∶10 g/mL，时间 1 h，考察 pH 值对山黧豆蛋白质提取率的影响，见图 3。

从图 3 可以看出，随着山黧豆提取液 pH 值的升高，蛋白质的提取率也随之升高。随着 pH 值的升高，植物蛋白的溶解度一般都会随之增大，但 pH

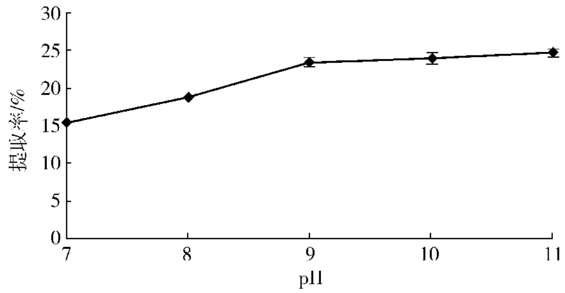

图 3　pH 值对提取率的影响

Fig. 3　Extraction yield of *Lathyrus sativus* Linn. protein at different pH

值太高会引起蛋白质变性，产生一些副产物，如形成有毒的氨基酸，也会降低该蛋白质的食用价值。因此选择 pH 值为 9。

2.2.3　提取时间对山黧豆蛋白质提取率的影响

保持 pH = 9、温度 40 ℃、料液比 = 1∶10 g/mL，考察不同提取时间对山黧豆蛋白质提取率的影响，见图 4。

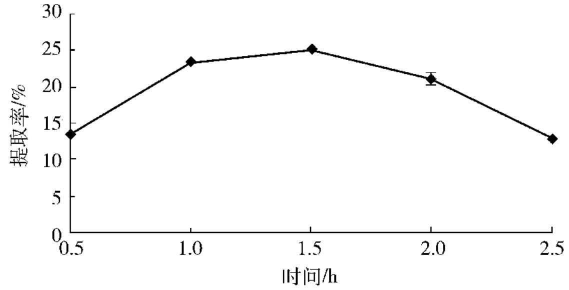

图 4　提取时间对提取率的影响

Fig. 4　Extraction yield of *Lathyrus sativus* Linn. protein at different extraction time

由图 4 可以看出，随着提取时间的延长，山黧豆蛋白质的提取率随之提高。当浸提温度为 1.5 h，山黧豆蛋白质的提取率达到最高，之后随着时间的延长提取率下降，原因可能是由于一定的时间后，山黧豆中的淀粉发生糊化作用，与蛋白质结合，从而导致蛋白质难以溶出，所以提取时间选择在 1.5 h。

2.2.4　料液比对山黧豆蛋白质提取率的影响

保持温度为 40 ℃，pH 为 9，提取时间为 1.5 h，考察料液比对山黧豆蛋白质提取率的影响，见图 5。

由图 5 可以看出，随着料液比的增大，山黧豆蛋白质提取率逐渐升高，料液比为 1∶20 g/mL 时提取率最大。料液比的增大有利于蛋白质的充分溶出，随着料液比增大，提取上清液浓度降低，在酸沉时容易造成蛋白质不能充分溶出。因此选取 1∶20 g/mL 为较佳的料液比。

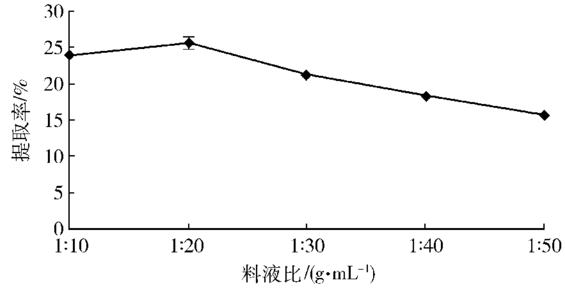

图 5　料液比对提取率的影响

Fig. 5　Extraction yield of *Lathyrus sativus* Linn. protein at different liquid ratios

2.2.5　山黧豆蛋白质提取条件正交试验优化结果

各因素对山黧豆蛋白质提取率的影响大小为 D > B > C > A，即料液比 > pH 值 > 时间 > 温度（见表 4），较佳提取条件为 $A_2B_3C_1D_2$，确定温度为 40 ℃，pH 值为 10，提取时间为 1 h，料液比为 1∶20 g/mL 的提取条件为较优组合，此条件山黧豆蛋白质的提取率较高，可以达到 26.1%。

表 4　正交试验表及结果

Tab. 4　Result of orthogonal experiment

实验号	A	B	C	D	提取率/%
1	1	1	1	1	16.7
2	1	2	2	2	23.5
3	1	3	3	3	18.9
4	2	1	2	3	15.4
5	2	2	3	1	20.9
6	2	3	1	2	25.8
7	3	1	3	2	17.6
8	3	2	1	3	20.1
9	3	3	2	1	23.7
均值 1	19.7	16.567	20.867	20.433	
均值 2	20.7	21.5	20.867	22.3	
均值 3	20.467	22.8	19.133	18.133	
均值 4	1	6.233	1.734	4.167	
R	1	6.233	1.734	4.167	

2.3　山黧豆蛋白质的氨基酸组成分析

对山黧豆蛋白质中含有的 18 种蛋白质氨基酸进行分析，结果见表 5。氨基酸的总量高达 86.17%，其中含量最高的是谷氨酸，为 17.4%，其次是天冬氨酸，为 10.0%。谷氨酸在人体内通过促进氮基丁酸的合成，从而降低血氨，促进脑细胞的呼吸，因此可以用于如精神分裂症和脑血管障碍等引

起的记忆和语言障碍、小儿智力不全等精神疾病的治疗[19]。天门冬氨酸作为一种良好的营养增补剂,具有防止和消除疲劳的作用,可用于治疗肝脏病、心脏病、高血压症[20]。山黧豆蛋白质中的 8 种必需氨基酸质量分数为 36.19%,而且赖氨酸含量较高,为 5.59%。但是赖氨酸一般是其他植物蛋白质的第一限制氨基酸,山黧豆可以用于赖氨酸缺乏症及其伴随性疾病患者的辅食[21]。

表 5 山黧豆蛋白质氨基酸成分分析

Tab.5 Amino acid composition analysis of *Lathyrus sativus* Linn. protein $mg \cdot g^{-1}$

氨基酸成分	质量比	氨基酸成分	质量比	氨基酸成分	质量比
丙氨酸(Ala)	37.2	组氨酸(His)	23.3	脯氨酸(Pro)	25.8
精氨酸(Arg)	77.1	异亮氨酸(Ile)	43.3	丝氨酸(Ser)	40.8
天冬氨酸(Asp)	100	亮氨酸(Leu)	70.8	苏氨酸(Thr)	29.8
胱氨酸(Cys)	9.2	赖氨酸(Lys)	55.9	酪氨酸(Tyr)	34.1
谷氨酸(Glu)	174	蛋氨酸(Met)	9.8	缬氨酸(Val)	44.8
甘氨酸(Gly)	34.5	苯丙氨酸(Phe)	4.54	色氨酸(Try)	5.9

2.4 山黧豆蛋白质的营养价值评价

山黧豆蛋白质的各种营养评价指标见表 6。FAO/WHO 提出参考蛋白模式为必需氨基酸占总氨基酸的比值 $EAA/TAA>40\%$、必需氨基酸与非必需氨基酸的比值 $EAA/NEAA>60\%$。由表 5 和表 6 可知,山黧豆蛋白质氨基酸的 $EAA/TAA=42\%$,$EAA/NEAA=72.41\%$,均大于 FAO/WHO 提出的参考蛋白模式。

对山黧豆中的蛋白质进行营养学评价与对比,计算山黧豆蛋白中的氨基酸评分、化学评分、氨基酸比值系数以及必需氨基酸比率。结果表明,除蛋氨酸+胱氨酸、苏氨酸、色氨酸、缬氨酸外,其他必需氨基酸均高于 WHO/FAO 标准模式,必需氨基酸评分为 54.29,其中蛋氨酸+胱氨酸含量最少,仅为 19 mg/g,苏氨酸次之,质量比为 29.8 mg/g,而苯丙氨酸+酪氨酸、赖氨酸含量较高。因此,蛋氨酸+胱氨酸、色氨酸分别为第一和第二限制性氨基酸。

EAAI 是评价蛋白质营养价值最常用的指标,*EAAI* 值越高,说明氨基酸组成越平衡,蛋白质的利用率越高。根据蛋白质的评价标准:*EAAI* 值大于 0.9 为优质蛋白质源,在 0.9~0.8 为良好蛋白质源,在 0.8~0.7 为可用蛋白质源,小于 0.7 为不宜蛋白质源[22],山黧豆蛋白质的 *EAAI* 值为 1.16,说明山黧豆蛋白质属于优质蛋白质。

表 6 山黧豆蛋白质的各种营养评价指标

Tab.6 Nutrition evaluation of *Lathyrus sativus* Linn. protein

名称	WHO/FAO 推荐模式/($mg \cdot g^{-1}$)	全鸡蛋的蛋白质质量比/($mg \cdot g^{-1}$)	山黧豆蛋白质质量比/($mg \cdot g^{-1}$)	*AAS*	*CS*	*A/E*	*RC*
异亮氨酸	40	66	43.3	108.25	0.66	1.2	1.16
亮氨酸	70	88	70.8	101.14	0.80	1.96	1.09
赖氨酸	55	64	68.8	125.09	1.08	1.9	1.34
*蛋氨酸+胱氨酸	35	55	19	54.29	0.35	0.53	0.58
苯丙氨酸+酪氨酸	60	10	79.5	132.5	7.95	2.2	1.42
苏氨酸	40	51	29.8	74.5	0.58	0.82	0.80
*色氨酸	10	16	5.9	59	0.37	0.16	0.63
缬氨酸	50	73	44.8	89.6	0.61	1.24	0.96
总量	360	513	361.9				

*为限制性氨基酸

3 结 论

采用碱溶酸沉法,通过对山黧豆蛋白提取方法的优化,得到山黧豆粗蛋白,对其氨基酸组成进行了分析,对山黧豆蛋白质进行营养价值综合评价。结果表明,山黧豆蛋白质的较佳提取条件为

提取温度 40 ℃,pH 值 10,提取时间 1 h,料液比 1∶20 g/mL,此条件下山黧豆蛋白质的提取率较高,蛋白质质量分数高达 26.1%。山黧豆蛋白的等电点为 pH = 5。

FAO/WHO 提出参考蛋白模式为必需氨基酸占总氨基酸的比值 *EAA/TAA* > 40%、必需氨基酸与非必需氨基酸的比值 *EAA/NEAA* > 60%,而山黧豆蛋白质氨基酸的 *EAA/TAA* = 42%,*EAA/NEAA* = 72.41%,均大于 FAO/WHO 提出的参考蛋白模式。

山黧豆蛋白中的氨基酸评分、化学评分(*CS*)、氨基酸比值系数(*RC*)以及必需氨基酸比率(*A/E*),除蛋氨酸 + 胱氨酸、苏氨酸、色氨酸、缬氨酸外,其他均高于 WHO/FAO 标准模式;蛋氨酸 + 胱氨酸、色氨酸分别为第一和第二限制性氨基酸。*EAAI* 是评价蛋白质营养价值最常用的指标,*EAAI* 值越高,说明氨基酸组成越平衡,蛋白质的利用率越高。山黧豆蛋白质的 *EAAI* 值为 1.16,根据蛋白质的评价标准 *EAAI* 值大于 0.9 为优质蛋白源,说明山黧豆蛋白质属于优质蛋白质,值得进一步开发利用。

参考文献:

[1] CHASE L A, PETERSON N L, KOERNER J F. The *Lathyrus* toxin, β-N-oxalyl-L-α, β-diaminopropionic acid (ODAP), and homocysteic acid sensitize CA1 pyramidal neurons to cystine and L-2-amino-6-phosphonohexanoic acid[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2007, 219: 1 - 9.

[2] YAN Zeyi, PETER S S, LI Zhixiao, et al. *Lathyrus sativus* (grass pea) and its neurotoxin ODAP[J]. Phytochemistry, 2006, 67: 107 - 121.

[3] 徐姗姗. 山黧豆蛋白质的提取及其功能性质的研究[J]. 现代食品科技, 2006, 22(3): 38 - 41.
XU S S. Extraction of protein from *Lathyrus sativus* and study on its functional characters[J]. Modern Food Science and Technology, 2006, 22(3): 38 - 41.

[4] WILSON I D, PLUMB R, GRANGER J, et al. HPLC-MS-based methods for the study of metabonomics[J]. Journal of Chromatography B, 2005, 817(1): 67 - 76.

[5] BARFIELD M, SPOONER N, LAD R, et al. Application of dried blood spots combined with HPLC-MS/MS for the quantification of acetaminophen in toxicokinetic studies[J]. Journal of Chromatography B, 2008, 870(1): 32 - 37.

[6] 李娟, 张耀庭, 曾伟, 等. 应用考马斯亮蓝法测定总蛋白含量[J]. 中国生物制品学杂志, 2000, 13(2): 118 - 120.

[7] 王孝平, 邢树礼. 考马斯亮蓝法测定蛋白含量的研究[J]. 天津化工, 2009, 23(3): 40 - 42.
WANG X P, XING S L. Determination of protein guantitation using the method of Coomassie brilliant blue[J]. Tianjin Chemical Industry, 2009, 23(3): 40 - 42.

[8] 周丽卿, 杜双奎, 赵佳, 等. 响应面法优化鹰嘴豆蛋白提取工艺[J]. 食品科学, 2012(8): 66 - 70.
ZHOU L Q, DU S K, ZHAO J, et al. Optimization of chickpea protein extraction using response surface methodology[J]. Food Science, 2012(8): 66 - 70.

[9] 管斌, 林洪, 王广策. 食品蛋白质化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 335 - 336.

[10] 马文鹏, 任海伟. 芸豆蛋白的提取及其营养价值评价[J]. 食品科技, 2013(1): 75 - 79.
MA W P, REN H W. Nutritional value evaluation and extraction of protein isolate from kidney bean[J]. Food Science and Technology, 2013(1): 75 - 79.

[11] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. 食品中氨基酸的测定: GB/T 5009.124—2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004: 112 - 114.

[12] 朱军, 陈中道. 食品中色氨酸含量的检测分析[J]. 济宁医学院学报, 1998(2): 51 - 51.

[13] ARAI S. A purified test diet for Coho salmon (*Oncorhynchuskisutch*) fry[J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1981, 47(4): 547 - 550.

[14] MURAI T, AKIYAMA T, NOSE T. Effect of amino acid balance on efficiency in utilization of diet by fingerling carp[J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1984, 50(5): 893 - 897.

[15] OSER B L. Protein and amino acid nutrition[M]. NewYork: Academic Press, 1959: 281 - 295.

[16] 杨琴, 杜双田, 郜小娟, 等. 博湖大蘑菇蛋白质营养价值评价[J]. 食品科学, 2009, 30(5): 100 - 103.
YANG Q, DU S T, GAO X J, et al. Nutritional assessment of Bohu mushroom protein[J]. Food Science, 2009, 30(5): 100 - 103.

[17] 周侃, 熊华, 陈升军, 等. 高蛋白含量米蛋白肽制备及产品营养成分分析[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(1): 28 - 32.
ZHOU K, XIONG H, CHEN S J, et al. The high protein of the rice protein peptide preparation and the product nutrition ingredient analysis[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2009, 28(1): 28 - 32.

[18] 李安林, 熊双丽. 豇豆籽蛋白的氨基酸含量与营养价值评价[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(6): 147 - 150.

LI A L, XIONG S L. The content of cowpea seed protein and estimation of nutritive value[J]. Food Research and Development, 2008, 29(6): 147 -150.

[19] 张丙云, 袁亚兰, 高瑜璟, 等. 芸豆蛋白的营养价值和功能特性研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(11): 347 -350.

ZHANG B Y, YUAN Y L, GAO Y J, et al. Study on nutritional assessment and functional properties of kidney bean protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(11): 347 -350.

[20] PASTOR-CAVADA E, JUAN R, PASTOR J E, et al. Nutritional characteristics of seed proteins in 15 *Lathyrus* species (fabaceae) from Southern Spain[J]. LWT-Food Science and Technology, 2011, 44(4): 1059 -1064.

[21] HANBURY C D, WHITE C L, MULLAN B P, et al. A review of the potential of *Lathyrus sativus* L. and *L. cicera* L. grain for use as animal feed[J]. Animal Feed Science and Technology, 2000, 87(1): 1 -27.

[22] 陆东林, 张丹凤, 刘新丽, 等. 牛奶中的氨基酸含量及其营养价值[J]. 中国乳业, 2002(2): 24 -25.

Study on Optimization of Extration Process and Nutritional Value of Proteins from *Lathyrus sativus* Linn.

LI Xiaobo[1], LIU Man[1], LI Peigen[1], WANG Zhao[1], CAO Xueli[1,*], NIU Xiaofeng[2], LI Xuefan[2]

(1. *School of Food and Chemical Engineering/Beijing Higher Institution Engineering Research Center of Food Additives and Ingredients/Beijing Key Lab of Food Quality and Safety, Beijing Technology and Business University, Beijing* 100048, *China*; 2. *Taiyuan Liuweizhai Industry Co Ltd, Taiyuan* 030006, *China*)

Abstract: *Lathyrus sativus* Linn. protein was extracted using the alkaline method and amino acid analysis and comprehensive assessment of nutritional value of protein were investigated. The analysis indicated that the optimized extraction yield of *Lathyrus sativus* Linn. protein was up to 26.1% under the condition of extraction temperature 40 ℃, pH 10, time 1 h, and solid-liquid ratio 1∶20 g/mL. The isoelectric point of *Lathyrus sativus* Linn. protein was pH 5 and 18 amino acids were found. The contents of glutamic acid and aspartic acid were 17.4% and 10.0%. The ratio of essential amino acids to total amino acids (*EAA/TAA*) was 42% and the ratio of essential amino acids to non-essential amino acids (*EAA/NEAA*) was 72.41% which were higher than the reference values proposed by FAO/WHO. Except for methionine + cystine, threonine, tryptophan, and valine, the contents of other amino acids were higher than WHO/FAO standard. Meanwhile, methionine + cystine and tryptophan were the first and second limiting amino acids. Moreover, the essential amino acids index (*EAAI*) of *Lathyrus sativus* Linn. protein was 1.16, which was higher than 0.9, the criteria for high-quality protein source. Thus, *Lathyrus sativus* Linn. proteins had high quality.

Key words: *Lathyrus sativus* Linn.; protein; extraction; amino acids analysis; nutritional value

(责任编辑:檀彩莲)