

皮蛋加工贮存过程中蛋黄颜色变化机理研究

商业部食品检测科学研究所

李树青

中国人民大学商品学系

黄 鹏 王庆玉

摘 要

本文着重研究皮蛋加工过程中蛋黄形成特征黄绿色(或墨绿色)及在贮存过程中某些皮蛋又失去这种特征色调的化学反应机理。实验结果表明皮蛋蛋黄的呈色反应过程是:(1)在强碱性条件下蛋白质中含硫氨基酸降解产生硫离子(S^{2-});(2)硫离子将蛋黄中高磷蛋白的三价铁还原成二价铁并与其形成硫化亚铁而显示出特征的兰绿色;(3)由蛋黄中固有的黄色素同这种兰绿色复合作用形成最终视觉上的黄绿色或墨绿色。某些成品皮蛋在贮存过程中,蛋黄从特征墨绿色“还原”成原有的黄色反应过程,是硫化亚铁在水份参与下同氧气发生氧化还原反应产生三价铁和元素硫,失去了兰绿色成份。蛋黄中深浅不一的色层是由蛋黄的各层次含铁量不同所致。

引 言

皮蛋是我国著名传统特产食品。国家标准^[1]中对皮蛋黄色泽特征的描述为“呈墨绿色并有明显的多种色层”。皮蛋经长期存放或打开久置后蛋黄深色调会消退成为黄色的褪色蛋。对于皮蛋黄呈色及褪色原因,国内的看法较多^[2~8],但是,各种解释均以物理化学原理为出发点,针对蛋黄成分特点所作推论,缺乏切实可靠的科学实验依据。国外对此并无研究,而针对液体全蛋在高温长时间蒸煮后蛋黄变绿现象,发表了不少成果^[9~13]。

本文根据对皮蛋黄颜色变化影响因素及蛋内硫离子的测定结果,阐明呈色过程与蛋白质降解产生的硫离子有关,退色过程则受水分和氧的控制;由金属元素测定及蛋黄成分分离结果,提出呈色物质为存在于卵黄高磷蛋白中的硫化亚铁;进而将揭示呈色及退色过程的机理。

一、材料与方法

1. 实验材料:皮蛋主要取自北京市蛋品

加工厂皮蛋车间,其余取自南京、上海、黄石等地蛋厂。卵黄高磷蛋白纯品为西格玛公司产品。其余药品为国产生化试剂或分析纯试剂。

2. 金属元素(Cu、Fe、Pb)测定:用日立Z-8000型偏振塞曼原子吸收仪,标准测试条件,湿法消化样品^[14]。

3. 颜色测定:用罗威朋(Lovibond)比色仪,将皮蛋黄待测部位贴紧观察孔即可。

4. 颜色变化影响因素测定:将皮蛋对半剖开置于康维皿内室,外室放置不同盐的饱和溶液(a_w 不同),以凡士林涂布磨口处,盖板密封,观察水分活性对颜色变化的影响。另外,在外室放置a. 除氧剂(焦性没食子酸5%+KOH10%);b. 除氧剂+NaBr饱和溶液;c. $(NH_4)_2S$ 5%溶液;d. Na_2S (10%)+盐酸;e. $CdSO_4$ 10%溶液等,同时在三个真空干燥器中分别放入皮蛋后;f. 抽真空(至 $<10^{-2}$ 托);g. 抽真空后充入高纯 N_2 ;h. 放入煮沸过的蒸馏水后抽真空,分别观察皮蛋黄褪色情况。

5. 硫离子测定:样品(约50克)称重后放入研钵中加2%NaOH溶液研糊,迅速定 量

转入三颈瓶中加20ml水、20ml1:1盐酸, 释出的硫化氢以60ml15% CdSO₄溶液吸收, 碘量法滴定吸收液。

6. 蛋黄成分分离: 用丙酮浸泡法分离色素、乙醚分离脂肪。蛋白质成分分离用MgSO₄溶液离心分离法^[15], 使用康强T—124低温高速离心机, A24转头。

7. 紫外可见光区吸收曲线测定: 用岛津UV—3000型紫外双光束双波长分光光度计, 扫描范围250—650nm。

8. 胱氨酸测定: 使用日立氨基酸自动测

定仪, 酸法水解样品。

二、结果与分析

1. 皮蛋黄颜色测定结果及其变化影响因素

实验测得正常皮蛋黄暗度为8~9.6, 平均8.9; 黄色值3.0~15.0, 平均7.8; 绿色值1.4~6.0, 平均4.3。以通俗的语言称之为暗黄绿色或墨绿色。各地所产皮蛋, 色值有所差异, 但描述是一致的。鲜蛋黄及退色蛋颜色特征均为橙黄色。

表1. 皮蛋黄在不同水分活性环境中退色情况 (室温20°C)

外室 颜色变化 时间(天)	NaBr aw= 0.562	NaCl aw= 0.751	KCl aw= 0.842	KNO ₃ aw= 0.926	蒸馏水 aw= 1.000	空气中裸 置RH= 45—60%
0	正常	正常	正常	正常	正常	正常
1	无变化	微退色	同左	同左	完全退色	微退色
7	基本退色	完全退色	完全退色	完全退色	(橙4.0黄15.0)	干缩(暗12.0黄5.0绿4.0)
10	完全退色	(橙4.0 黄13.0)	(橙4.5 黄15.0)	(橙4.0 黄14.0)		同上
30	(橙4.0 黄14.0)					严重干缩(暗15.0 黄2.0, 绿1.0)

从表1的结果来看, 环境水分活性降低将延缓皮蛋黄退色的速度。在空气中放置的皮蛋

黄深色调不消退是因为空气较干燥且有一定风速存在使皮蛋失水过程加剧, 将皮蛋黄置冰箱

表2. 皮蛋黄在不同环境气氛中变色情况

环 境 天 数	a	b	c	d	e	f	g	h
0	正常(暗9.0黄8.0绿5.0)	同左	同左	同左	同左	同左	同左	同左
5	同上	颜色不变 略干缩	色加深	同左	退色(橙4.0黄14.0)	色不变 微干缩	色不变	蛋剖面有水膜, 微退色
15	同上	同上	同上	同上	无CdS黄 色沉淀)	同上	同上	同上
30	同上	(暗11.0黄 6.0绿3.0)	(暗11.5黄 6.0绿6.5)	(暗9.5黄7.5 绿5.0)	/	(暗7.0黄9.0 绿3.0)干	(暗7.0黄9.0 绿3.0)微干	(暗8.6黄9.5绿 3.2)

中冻藏时, 蛋内水分形成冰渣而蛋黄色泽经久不退, 这说明皮蛋黄的退色受水分活性控制, 水参与了退色反应。

从表2可以获得二个结论。其一是氧在退色过程中起关键作用。在有除氧剂存在及抽真空充氮等环境中, 即使有水分存在皮蛋黄也不退色, 这表明退色反应是氧化过程。而a、b、e、f、g各项中皮蛋黄的颜色情况表明退色反应与 H_2S 的逸出无关。在皮蛋体内高碱性的条件下, 是不可能 H_2S 可逸出的。其二是硫离子在皮蛋黄呈色中起关键作用。在表2的c、d项中, 虽然未作除氧处理, 但皮蛋黄不仅没有退色, 反而有所加深。这一方面表明环境中的 H_2S 气体可能起着抗氧剂的作用, 抑制了氧对呈色成分的氧化作用; 另一方面也说明 H_2S 与皮蛋黄中成分发生作用使之颜色加深了。早在1920年Tinkler^[9]就发现 H_2S 对鲜蛋黄有促使变绿的作用。为了更能说明问题, 我们又在已完全退色的皮蛋黄上滴加5% Na_2S 溶液, 稍置片刻退色蛋即可回复到原有的特征暗黄绿色。向鲜蛋黄(或蛋黄粉)加 Na_2S 溶液同样能呈现与正常皮蛋黄相同的颜色特征, 而向蛋白中加 Na_2S 则无颜色变化。对鲜蛋黄加 Na_2S 呈色后的水溶液与皮蛋黄加水经组织搅碎分散的溶液作紫外一可见光区吸收曲线发现二者完全一致。这充分说明 S^{2-} 确实参与了皮蛋黄的呈色过程, 是呈色物质的组成部分之一。这一结论与传统的提法也是吻合的。在下面的研究中将以分离的蛋黄成分加入 Na_2S 后是否呈色作为判断其是否参与了呈色过程的标准。

2. 蛋黄成分分离及其与 Na_2S 反应结果

鲜蛋黄中分离出来的色素、脂肪加 Na_2S 均不呈色。卵磷脂、胆固醇等与 Na_2S 反应亦不呈色。分离蛋白质得到的低密度组分(lipovitellenin), 高密度组分中的 α 及 β —脂磷酰、 α 、 β 、 γ —肝磷酰与 Na_2S 反应均不呈色。唯有卵黄高磷蛋白(phosvitin)组分加 Na_2S 呈极深的墨绿色。但是, 在西格玛公司的除铁纯高磷蛋白中加入 Na_2S 亦无颜色变化。这说明皮

蛋的呈色并非硫离子与高磷蛋白直接结合的结果, 而可能是它与卵黄高磷蛋白组分中所结合的物质(如金属离子)反应的结果。

根据Taborsky的综述^[16], 卵黄高磷蛋白分子量为36000, 分子中含大量的磷酰丝氨酸侧链, 提供成对的磷酰基作为金属离子的络合位。蛋中95%以上的铁(约2mg)三价离子即被其络合, 络合系数 $k=10^{18}$, 难以解离。蛋黄中的铁均为三价态, 与高磷蛋白的络合体具有四面体结构, 铁原子处于高磷蛋白的络合包围之中。研究还表明, 二价铁与高磷蛋白的结合极弱, 铁—高磷蛋白络合体具有较高的氧化还原活性^[16]。

3. 金属元素测定结果

根据皮蛋黄剖面颜色的深浅分布, 一般可划分为四个层次。其中1层较深, 2层最浅, 3层最深, 4层又较浅。从各层中取样测其Fe、Pb、Cu含量及相应的颜色值, 结果列于表3〔铅未检出($<0.5\text{ppm}$), 故未列出〕。

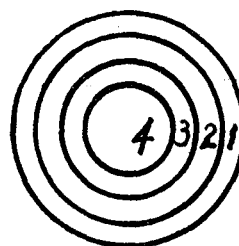


图1. 皮蛋黄分层示意图

从表中可以看出, 皮蛋黄不同层次的铁含量与颜色匹配值之间有良好的相关性。颜色越深的层次, 其罗威朋匹配值越大, 铁含量也越高。颜色与铜含量之间则看不出有明显的相关性。在铜法加工的皮蛋中, 铜显然主要来源于料液向蛋内的扩散, 因此铜在蛋黄中的分布呈现由外层向内层逐渐递减的趋势。

根据我们对不同浓度水平下 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 与 Na_2S 反应呈色测定结果, Pb^{2+} 小于10ppm时与 S^{2-} 反应不呈色, 100ppm时为暗橙黄色, Cu^{2+} 小于10ppm时也不呈色, 在100ppm时亦为暗橙黄色, 与皮蛋

表3.

皮蛋黄不同层次中的铁铜含量及颜色

样 品	层 次	铁 (ppm)	铜 (ppm)	罗 威 朋 匹 配 值				颜 色 表 述
				红	黄	兰	亮度	
北京 铜法 皮蛋	1	64.3	/	5.0	9.0	8.0	/	暗5.0黄1.0绿3.0
	2	12.6	/	4.5	7.5	7.0	/	暗4.5黄0.5绿2.5
	3	105.0	/	5.0	8.0	9.0	/	暗5.0兰1.0绿3.0
	4	33.0	/	4.0	8.0	7.5	/	暗4.0黄0.5绿3.5
北京 铜法 皮蛋	1	60.5	/	5.0	9.0	8.5	/	暗5.0黄0.5绿3.5
	2	20.7	/	4.8	8.0	7.5	/	暗4.8黄0.5绿2.7
	3	91.3	/	5.0	8.0	9.0	/	暗5.0兰1.0绿3.0
	4	13.1	/	4.0	9.0	5.0	/	暗4.0黄4.0绿1.0
北京 铜法 皮蛋	1	51.3	44.7	5.0	10.0	10.0	/	暗5.0绿5.0
	2	10.0	21.9	4.0	7.0	7.0	/	暗4.0绿3.0
	3	72.1	15.9	4.0	7.0	8.0	/	暗4.0兰1.0绿3.0
	4	55.8	17.3	4.0	7.0	6.0	/	暗4.0黄1.0绿2.0
上海 铈法 皮蛋	1	72.0	6.7	4.0	7.5	8.0	/	暗4.0兰0.5绿2.5
	2	24.1	9.6	3.0	6.0	5.4	/	暗3.0黄0.6绿2.4
	3	73.9	21.6	5.0	7.0	8.0	/	暗5.0兰1.0绿2.0
	4	66.7	16.3	4.0	7.0	6.0	/	暗4.0黄1.0绿2.0

正常色泽特征不符,而 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 与 $\text{S}^{=}$ 反应呈暗黄绿或兰绿色,即使浓度低至10ppm。由于无铅皮蛋 Pb^{2+} 不足0.5ppm,因而 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 对皮蛋黄的呈色显然没有什么贡献。而蛋黄中的铁含量高达2mg^[16],且含量水平相当稳定,不受饲料等饲养条件的影响。结合2中的结果,可以认为是蛋黄中固有的铁参与了皮蛋黄的呈色反应。

我们对1. 皮蛋黄的水溶液; 2. 鲜蛋黄加 Na_2S 后的呈色稀释液; 3. 高磷蛋白(自行分离的)组分加 Na_2S 后的水溶液; 4. 10ppm的 Fe^{2+} 加 Na_2S ; 5. 10ppm Fe^{3+} 加 Na_2S ; 6. 鲜蛋黄、水稀释液分别作出了250~650nm的吸收曲线。结果表明,在1,2,6中均有453.6nm及483.7nm两处吸收峰,其它样品则没有。经过对色素的丙酮液作吸收曲线比较,可确认该两峰是蛋黄色素的吸收。在样品1, 2, 3中均有293.4nm的强吸收,而在鲜蛋黄中则没有,可以认为这是皮蛋黄呈色物质特征吸收。由于5在此处没有吸收峰而4则亦有强吸收,由此可以确定呈色物质是 FeS 而非 Fe_2S_3 。

4. 硫离子测定结果

皮蛋在加工过程中, 蛋内硫离子含量由零逐渐增加, 蛋白部分在浸泡25天左右硫离子含量达到顶点(4.5mg/100g), 蛋黄则在40天时达到最大(5.5mg/100g), 随后均逐渐减少, 经过5个月的贮存后, 蛋白中的硫离子含量下降为零, 而蛋黄中也已不足1mg/100g, 此时蛋黄色泽灰白, 已失去皮蛋特征的色泽。

根据国内对皮蛋及鲜蛋的氨基酸分析结果^[16~18]对比, 可以发现除了胱氨酸外, 其余各种氨基酸在皮蛋加工前后基本没有受到破坏, 贮存过程对其影响也不大。而胱氨酸在加工中的损失量约为40~70%。根据我们对皮蛋加工过程中胱氨酸含量变化测定的结果, 在皮蛋加工初期(7天内), 胱氨酸含量由0.3%降至0.15%, 下降了50%, 但在进一步的浸泡加工中, 胱氨酸含量保持基本稳定, 不再下降。这可能是因为剩余的胱氨酸是存在于对碱稳定的蛋白质结构中的缘故。

显然, 皮蛋加工中所产生的硫离子, 来源于胱氨酸的分解产物。而蛋内的胱氨酸除了固有的游离氨基酸外, 主要来源于对碱不稳定的蛋白质降解物。

1. 皮蛋黄的呈色机理

$$\begin{aligned}
 & \text{含硫蛋白质} + \text{OH}^\theta = \begin{array}{c} \text{S}-\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COO}^\theta \\ | \\ \text{S}-\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COO}^\theta \end{array} \\
 & \quad \quad \quad \parallel + \text{OH}^\theta \\
 & \quad \quad \quad \text{S}^\equiv + \text{H}_2\text{O} + \text{CH}_2 = \text{C} \begin{array}{l} \text{NH}_2 \\ \text{COO}^\theta \end{array} \\
 & \quad \quad \quad \quad \quad \quad \parallel + \text{H}_2\text{O} \\
 & \quad \quad \quad \text{NH}_3 + \text{CH}_2\text{COO}^\theta \\
 & \text{S}^\equiv + \text{Fe}^{3+} \longrightarrow \text{高磷蛋白} = \text{S} + \text{Fe}^{2+} \cdots \cdots \text{高磷蛋白} \\
 & \quad \quad \quad \quad \quad \quad \parallel + \text{S}^\equiv \\
 & \quad \quad \quad \text{高磷蛋白} \cdots \cdots \text{FeS} \\
 & \quad \quad \quad \quad \quad \quad (\text{兰绿色})
 \end{aligned}$$

3. 由于呈色物质是FeS, 因此蛋内铁、硫元素含量的不同, 是皮蛋黄形成颜色层次分布

参考文献

- [1] 李树青等: GB9694—88, 皮蛋, 1988.
- [2] 王庆玉: 蛋及蛋制品, 中国人民大学商品学专业教材, P144—155, 1983.
- [3] 杜宝才: 松花蛋的腌制机理, 食品科技, (6): 26—28, 1980.
- [4] 朱曜: 禽蛋研究, 科学出版社, 1985.
- [5] 程廷锦: 蛋品保鲜与加工技术, 食品出版社, 1989.
- [6] 高真: 蛋及蛋制品生产技术, 黑龙江科技出版社, 1984.
- [7] 张伯福: 中华传统风味蛋制品, 中国商业出版社, 1988.
- [8] 中华人民共和国商检局: 皮蛋加工与检验, 中国财经出版社, 1979.
- [9] Tinkler, C.K., J.Biochem, 14: 414—418, 1920.
- [10] Grvani, R.B.: M.S.Thesis Cornell univ, Ithaca, N.Y. 1969
- [11] Patricia.W.G.: J.Food Sci, 46: 328—331, 1981.
- [12] Baker, R.C.: Poultry Sci, 46: 664, 1967.
- [13] Chin, R.G.L.: U.S.Patent 3383221, 1968.
- [14] 谢盛良: 皮蛋中镁离子与松花晶体的相关性研究, 中国人民大学商品学专业硕士论文, 1990.
- [15] Bernadi, G., Cook, W.H.: Biochem Bio-physis. Acta, 44: 86—96, 1980.
- [16] Taborisky, G.: from "The Biochem, and Physio.of Iron", Saltman, P.eds, Elsevier North Holland, Inc, P699—710, 1982.
- [17] 韩刚, 任玉华: 改进皮蛋加工工艺的研究, 农畜产品加工, 1 (4): 16—18, 1989.
- [18] 上海市食品研究所: 检验报告单, 第87/49、51号, 1987.
- [19] 陈寿椿: 重要无机化学反应 (第二版), 上海科技出版社, 1982.