鸡蛋松花蛋腌制中蛋白质凝胶特性及颜色变化

龙　门[1]，宋　野[2]，杜庆飞[1]，周　頔[1]，蔡华珍[1]，詹　歌[1,*]
（1.滁州学院生物与食品工程学院，安徽 滁州　239000；
2.南京农业大学 国家肉品质量与安全控制工程技术研究中心，江苏 南京　210095）

摘　要：以新鲜鸡蛋为原料，采用现代“锌法”腌制工艺加工鸡蛋松花蛋，并分析松花蛋内蛋白质凝胶变性、色差等随腌制时间的变化。结果表明：在腌制过程中，松花蛋内游离碱度、硬度、弹性、咀嚼性等显著上升，蛋白质凝胶能力逐渐降低（$P<0.05$），在腌制28 d后变化趋势逐渐稳定（$P>0.05$）；松花蛋在腌制过程中蛋白质分解主要表现在腌制0～14 d，大于86.6 kD的蛋白质逐渐分解；随着松花蛋内碱度的增加，小分子肽类物质（14.3、10 kD）不断累积，蛋清及蛋黄内游离氨基酸含量显著降低（$P<0.05$），在腌制21～28 d后无明显的变化；腌制时间对鸡蛋松花蛋颜色变化有重要的影响，蛋清及蛋黄颜色变化与腌制时间、游离碱度及游离氨基酸含量成显著负相关；主要表现为在腌制过程中L^*、b^*值变化趋势与a^*值变化趋势相反，蛋清及蛋黄整体颜色变化（白度值）趋势成负相关。

关键词：鸡蛋松花蛋；蛋白质分解；凝胶特性；色差

Changes in Protein Gel Characteristics and Colors of Preserved Eggs (Pidan)

LONG Men[1], SONG Ye[2], DU Qingfei[1], ZHOU Di[1], CAI Huazhen[1], ZHAN Ge[1,*]
(1. School of Bio and Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou　239000, China;
2. National Center of Meat Quality and Safety Control, Nanjing Agricultural University, Nanjing　210095, China)

Abstract: In this study, changes in chemical composition, gel characteristics and color of preserved chicken eggs were monitored during pickling for up to several weeks in the presence of 0.3% divalent cation ($ZnCl_2$). The results showed that free alkalinity, hardness, elasticity, cohesiveness and chewiness increased significantly ($P < 0.05$), and gelation capacity became lower ($P < 0.05$) during the first 28 days of pickling, all of which tended to be stable as pickling went on ($P > 0.05$). Most protein (> 86.6 kD) was degraded in the first 14 days of pickling. As the alkalinity of preserved eggs increased, small-molecule peptides (14.3 and 10 kD) accumulated continuously, and the total free amino acid content significantly decreased ($P < 0.05$). In contrast, protein degradation did not continue to occur as the pickling period was prolonged from 21 days to 28 days. L^* and b^* values of preserved eggs changed in a manner opposite to a^* value. Changes in the color of egg white and yolk were significantly negatively correlated to pickling time, free alkalinity and free amino acid content, respectively. Furthermore, a negative correlation was also seen between changes in whiteness values of egg white and yolk.

Key words: preserved egg; protein degradation; gel property; chromatic aberration
DOI:10.7506/spkx1002-6630-201603015
中图分类号：TS206.4　　文献标志码：A　　文章编号：1002-6630（2016）03-0075-06
引文格式：
龙门, 宋野, 杜庆飞, 等. 鸡蛋松花蛋腌制中蛋白质凝胶特性及颜色变化[J]. 食品科学, 2016, 37(3): 75-80. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201603015.　http://www.spkx.net.cn
LONG Men, SONG Ye, DU Qingfei, et al. Changes in protein gel characteristics and colors of preserved eggs (Pidan)[J]. Food Science, 2016, 37(3): 75-80. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201603015. http://www.spkx.net.cn

松花蛋（即皮蛋）作为具有我国传统特色的蛋制品，是以新鲜禽蛋为原料、在碱液中通过蛋白质凝胶变性而制成。因食法简单、风味独特，且具有去火、治泻痢的功效而深受消费者喜爱，并且因其传统特色及独特

收稿日期：2015-04-29
基金项目：滁州学院科研启动基金项目（2014qd040）；安徽省专业改造与新专业建设项目（2013zytz072）；
“十二五”国家科技支撑计划项目（2012BAD28B01）
作者简介：龙门（1987—），女，讲师，博士，研究方向为畜产品加工与品质控制及食品抗菌包装。E-mail：czxy_lm@163.com
*通信作者：詹歌（1985—），男，讲师，博士，研究方向为农产品贮藏加工。E-mail：zhangeczxy@163.com

的风味品质得到广泛的研究，并逐渐由“铅法腌制”转为“铜法”或“锌法”腌制[1-2]。

松花蛋腌制成熟主要经历4 个阶段：化清、凝固、转色、成熟[3]。腌制温度、腌制液碱度及腌制时间对松花蛋的凝胶形成及风味特征有重要的作用，否则会造成碱伤、味苦涩辣、蛋黄实心发硬等品质问题[4]；在松花蛋腌制中，由于碱液的作用，蛋白质逐渐分解产生大量小分子肽类及游离氨基酸，在适当温度条件下该类成分与蛋内还原基团通过羰氨反应逐渐形成不同的颜色，该过程与腌制时间等有显著的相关性。但在过去20 a中，国内外学者对松花蛋的研究大多集中于安全性[5-6]、腌制工艺（“锌法”、“铜法”等无铅工艺）[7-8]、腌制条件（温度、碱度）[9-10]及松花蛋碱度和腌制时间[11-12]。虽然极大地推动了松花蛋产业的发展，但国内外学者对松花蛋加工形成机理的研究较少，对松花蛋加工过程中蛋白质凝胶的形成、颜色变化过程及其相关性的系统研究也未见报道，这成为阻碍松花蛋产业进一步发展的技术瓶颈。另外，现阶段国内松花蛋多采用鸭蛋为原料蛋，严重限制了鸡蛋松花蛋的发展，这与我国产量最大的鸡蛋产业链发展极为不协调，也不利于鸡蛋松花蛋的产业化发展。因此，本研究以新鲜鸡蛋为原料，采用“锌法”腌制工艺加工鸡蛋松花蛋，在整体分析松花蛋腌制过程中蛋白质凝胶变性的基础上，进一步研究加工过程中蛋白质的分解变化及与蛋清、蛋黄的颜色变化规律的相关性，以期为鸡蛋松花蛋的腌制成熟及工艺改进提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜鸡蛋，香辛料（肉豆蔻、八角、花椒、小茴香、桂皮、白芷、山萘、丁香、砂仁），食盐均为滁州市丰乐菜市场售。

氢氧化钠（食品级） 天津市津华化工厂；乙二胺四乙酸（ethylenediamine tetraacetic acid，EDTA）、三羟甲基氨基甲烷（Tris）、十二烷基硫酸钠（sodium dodecyl sulfate，SDS）、考马斯亮蓝、巯基乙醇、过硫酸铵 美国Sigma公司；其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

JY5002电子天平 上海良平仪器仪表有限公司；SPX-250C型恒温恒湿箱 上海博迅实业有限公司医疗设备厂；TEE32型质构仪 英国Stable Micro System公司；Beckman Allegra 64R冷冻离心机 美国贝克曼库尔特有限公司；TY-80S脱色摇床 江苏金坛市宏华仪器厂；FR-980生物电泳图象分析系统 上海复日科技有限公司；602S稳压稳流电泳仪 北京六一仪器厂；HITACHI L-8900氨基酸全自动分析仪 日本日立公司；UltraScan XE型色度仪 美国HunterLab公司；FHJ-25型匀浆机 上海精密科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 鸡蛋松花蛋的腌制

工艺流程：原料检验与清洗→腌制液配制→恒温腌制→抽检→出缸及清洗

原料检验与清洗：取外表完整、大小一致的新鲜鸡蛋用清水洗净，然后放置于吸水纸上吸干水分。

腌制液配制：分别称取4%（质量分数，下同）氢氧化钠、5%食盐、0.3%七水合硫酸锌。先将食盐和氢氧化钠混合后搅拌溶解溶于冷开水中，冷却后再与硫酸锌混合，自然冷却后得到腌制液，将清洗后的新鲜鸡蛋小心放入，并于恒温恒湿箱中腌制。

恒温腌制：（22±2）℃条件下腌制。

抽检：浸泡后每隔5 d以及出缸前对鸡蛋的成熟进程和浸泡质量进行检查测定。随机抽样，观察蛋黄、蛋白变化情况。

出缸及清洗：腌制一段时间后出缸，用40 ℃左右的凉开水将松花蛋逐个洗净并置于室温下晾干备用。

1.3.2 鸡蛋松花蛋凝胶特性研究

1.3.2.1 质构特性变化分析

分别测定鸡蛋松花蛋在腌制7、14、21、28、35 d时的硬度、弹性、内聚性、咀嚼性。

1.3.2.2 蛋白质凝胶形成过程分析

在松花蛋腌制过程中的第7、14、21、28、35天分别进行取样，将蛋清蛋黄分离，蛋清冷冻贮藏备用。采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-polyacrylamide gel electrophoresis，SDS-PAGE）分析蛋清蛋白质的分解程度，并分别测定蛋清、蛋黄中蛋白质的凝胶强度及游离氨基酸释放规律。

1.3.3 鸡蛋松花蛋腌制过程中颜色变化分析

分别测定鸡蛋松花蛋在腌制7、14、21、28、35 d时蛋清、蛋黄中还原基团数量及L^*、a^*、b^*值的变化，并通过白度（W）值变化分析蛋清蛋黄中整体颜色随腌制时间的变化趋势。

1.3.4 指标测定

1.3.4.1 碱度测定

参照GB 5009.47—2003《蛋与蛋制品卫生标准的分析方法》中游离碱度的测定方法。

1.3.4.2 质构特性的测定[13]

采用质构分析（texture profile analysis，TPA）模式，测试前速率：1 mm/s，测试速率：2 mm/s，测试后速率：2 mm/s，压缩比70%，恢复时间5 s，探头型号为P/50，触发力分别为5 g。质构参数：硬度、弹性、咀嚼性、内聚性，数据采集由计算机软件完成。

硬度：样品达到一定变形时所必需的力，其值指第一次压缩时的最大峰值；弹性：变形样品在去除压力后恢复到变形前的高度比率，用第二次压缩与第一次压缩的高度比值表示；内聚性：表示测试样品经过第一次压缩变形后所表现出来的对第二次压缩的相对抵抗能力，用两次压缩所做正功之比表示，该值可模拟表示样品内部聚合力；咀嚼性：将样品咀嚼成吞咽时的稳定状态所需的能量，咀嚼性＝硬度×内聚性×弹性。

穿刺实验的测定条件为：测试前速率5 mm/s，测试速率2 mm/s，测试后速率5 mm/s，测试距离为15 mm，探头型号为P/0.5，因为不确定两次压缩的破裂点，所以穿刺实验被用来测量破坏力具体值，能够具体反映蛋清的凝胶强度，重复6 次取平均值。

1.3.4.3　蛋清凝胶强度测定

按一定方向取2 cm×1 cm×1 cm的皮蛋蛋清凝胶方块，上压宽0.5 cm的玻璃带，玻璃带下悬挂一容器，按0.5 mL/s的速率加水，直至玻璃带将凝胶方块压断为止，计算此时所加水的质量，即为蛋清凝胶所能承受的压力/（g/cm^2）。

1.3.4.4　SDS-PAGE分析

采利用考马斯亮蓝法[14]测定蛋白质浓度，必要时稀释一定倍数。

SDS-PAGE法测定分子质量分布：根据Laemnli法进行SDS-PAGE，分离胶体积分数为10%，浓缩胶体积分数为5%，用考马斯亮蓝R-250染色，Quantity-One分析蛋白质分子质量[15]。

1.3.4.5　游离氨基酸含量分析

游离氨基酸含量的测定采用氨基酸自动分析仪法，参考Virgil等[16]的方法并略作修改：取适量的样品蛋清，加入pH 6.5的0.2 mol/L磷酸盐缓冲液60 mL，6 000 r/min冷冻高速匀浆3 min，10 000×*g*冷冻离心20 min，过滤后取上清液0.5 mL，并用3%水杨酸溶液调节pH值为2.0，加入双蒸水0.25 mL，15 000×*g*冷冻离心20 min，取上清液0.5 mL，用0.02 mol/L盐酸溶液稀释5～10 倍，检测游离氨基酸的组成。检测条件：pH 3.3～4.9的柠檬酸缓冲液为洗脱液，茚三酮-乙二醇甲醚-乙酸钠缓冲液（1∶1∶1，*V*/*V*，pH 7.4）为显色液，所有氨基酸均在570 nm波长处检测，羟脯氨酸在440 nm波长处检测。

1.3.4.6　还原基团测定

参照GB/T 5009.7—2008《食品中还原糖的测定》方法测定。

1.3.4.7　色差测定[17-18]

采用UltraScan XE型色度仪测定，采用RSLN模式。取准备好的待测样品，用透明保鲜膜将其包好后进行测定，测定时将蛋清的切割平面对准电荷耦合元件（charge-coupled device，CCD）摄像头，室温下，在小孔径光束下测定，每个样品选择6 个部位进行测定。通过联机电脑软件分别得出*L**、*a**、*b**值。其中*L**值表示亮度（0＝黑色，100＝白色）；*a**值表示红绿色度（－*a**＝绿色，＋*a**＝红色）；*b**值表示黄蓝色度（－*b**＝蓝色，＋*b**＝黄色）。

白度值计算：按下式计算，每个样品重复6 次，取平均值。白度值越大，色泽品质可接受度越高。

$$W=100-[(100-L^*)^2+a^{*2}+b^{*2}]^{\frac{1}{2}}$$

1.4　数据统计处理

所有数据利用Microsoft Excel进行统计处理，采用Origin 8.0进行作图分析。不同平均值之间用SAS 8.2统计软件的GLM程序中的邓肯氏多重比较法进行差异显著性检验。

2　结果与分析

2.1　鸡蛋松花蛋凝胶特性研究

2.1.1　鸡蛋松花蛋腌制过程中碱度变化

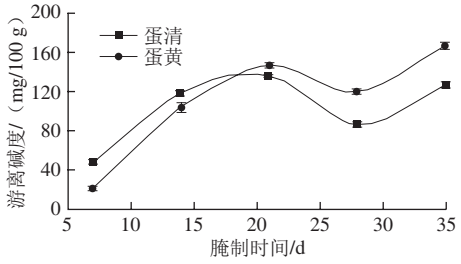


图1　鸡蛋松花蛋腌制过程中游离碱度变化

Fig.1　Changes in free alkalinity in albumen and yolk during pickling

碱度是松花蛋加工形成的重要外界因素，随着腌制时间的变化，鸡蛋中蛋清蛋黄的游离碱度不断变化。在鸡蛋松花蛋腌制过程中蛋清及蛋黄的游离碱度变化见图1。蛋清及蛋黄的游离碱度随腌制时间的变化趋势大致相似。随着腌制时间的延长，蛋内游离碱度总体呈显著的上升趋势（$P<0.05$）；在腌制21～28 d时，蛋清及蛋黄的游离碱度均呈降低趋势，但是随着腌制时间的延长，蛋清及蛋黄的游离碱度继续增加。主要的原因可能是在松花蛋的腌制初期，随着碱度的渗透，鸡蛋壳膜逐渐分离，蛋壳膜被破坏造成蛋内碱度逐渐渗透；随着腌制过程的继续进行，蛋内外碱度逐渐平衡，蛋清及蛋黄内部分蛋白质降解及美拉德反应的变化造成碱性离子的逐渐减少，蛋清及蛋黄内游离碱度呈现略微的降低趋势[19]。

2.1.2 鸡蛋松花蛋腌制过程中凝胶特性变化研究

2.1.2.1 鸡蛋松花蛋腌制过程中质构变化

表1 鸡蛋松花蛋腌制过程中质构变化

Table 1 Changes in texture properties in albumen during pickling

质构	腌制时间/d				
	7	14	21	28	35
硬度/N	53.85±1.18^{c}	79.62±0.62^{b}	101.18±1.16^{a}	102.43±1.30^{a}	102.00±1.04^{a}
弹性	0.16±0.06^{b}	0.92±0.10^{a}	0.85±0.05^{a}	0.91±0.04^{a}	0.89±0.03^{a}
内聚性/g	0.49±0.06^{b}	0.96±0.11^{a}	0.86±0.06^{a}	0.89±0.04^{a}	0.91±0.04^{a}
咀嚼性/N	0.31±0.09^{b}	0.93±0.14^{a}	0.88±0.02^{a}	0.81±0.07^{a}	0.85±0.03^{a}

注：同行小写字母不同表示差异显著（$P<0.05$）。表2、4同。

由表1可知，硬度在腌制7～21 d内呈显著上升趋势，在腌制后期（21～35 d）无显著变化（$P>0.05$）；在腌制过程中（0～35 d），弹性、内聚性和咀嚼性的变化呈现相似的变化规律，均呈显著上升趋势（$P<0.05$），在第14天达到最高值，随腌制时间延长差异不显著（$P>0.05$）。在鸡蛋松花蛋腌制的中后期（21～28 d），随着碱与蛋白质作用时间的延长，部分蛋白质将会发生降解生成肽与氨基酸，改变了蛋清凝胶已达到的平衡状态，使蛋清凝胶网络结构稍微松散，表现为硬度、弹性、咀嚼性和内聚性随腌制时间延长而不断增加。

2.1.2.2 鸡蛋松花蛋腌制过程中凝胶强度变化

松花蛋内凝胶特性的变化可能与蛋白质变性有关，蛋白质凝胶过程就是适度变性的蛋白质分子聚集形成一个有规则的蛋白质网状结构的过程，脆度、剪切力及刚度能反映松花蛋的凝胶强度[20]。通过对不同腌制时期松花蛋的脆度、剪切力和刚度（表2）分析可知，随着腌制时间的延长，在7～21 d中，脆度、剪切力和刚度呈显著的增加趋势（$P<0.05$）；但是在腌制21～35 d时，无显著变化趋势（$P>0.05$），与松花蛋中质构特性变化趋势相同。另外，通过对凝胶强度变化的分析进一步表明，在松花蛋腌制过程中，随着蛋白质逐渐变性，凝胶能力逐渐降低，在腌制28 d后无显著的变化规律（$P>0.05$）。

表2 鸡蛋松花蛋腌制过程中凝胶强度变化

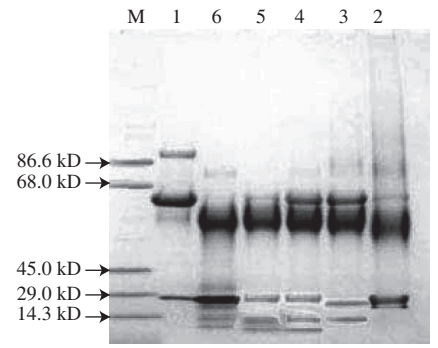
Table 2 Changes of gel properties in albumen during pickling process

质构	腌制时间/d				
	7	14	21	28	35
脆度/kN	0.34±0.02^{c}	0.45±0.07^{b}	0.71±0.04^{a}	0.65±0.04^{a}	0.71±0.08^{a}
剪切力/cm	0.43±0.04^{c}	1.32±0.04^{b}	2.04±0.36^{a}	1.89±0.14^{a}	2.00±0.29^{a}
刚度/（kN/cm）	0.06±0.02^{c}	0.18±0.07^{b}	0.35±0.03^{a}	0.33±0.05^{a}	0.36±0.04^{a}
凝胶强度/（g/cm^{2}）	395.33±5.44^{a}	373.83±7.62^{b}	291.9±4.66^{c}	280.46±3.64^{d}	279.22±4.19^{d}

综合上述分析可以看出，在实验条件下，鸡蛋松花蛋质构特性主要形成于腌制0～21 d、凝胶特性主要形成于0～28 d，在腌制28 d后，随腌制时间的延长并无明显的变化趋势。

2.1.3 鸡蛋松花蛋腌制过程中蛋白质变化研究

2.1.3.1 SDS-PAGE分析



M. 标准蛋白Marker；泳道1～6分别表示腌制0、7、14、21、28、35 d的鸡蛋松花蛋样品。

图2 不同腌制期蛋清蛋白质SDS-PAGE分析

Fig.2 SDS-PAGE profile of albumen during pickling

由图2可知，高分子质量的蛋白质被逐渐降解，低分子质量蛋白质不断生成。具体表现为，与对照组（0 d）相比，腌制7 d后，大于86.6 kD的蛋白质条带逐渐变暗，说明松花蛋内蛋白质降解在腌制前期已经开始；随着腌制过程的继续进行，在腌制14 d后，分子质量小于14.3 kD的新条带逐渐明显；腌制到21 d后，可以看出更小分子肽类条带（分子质量约10 kD）开始逐渐积累；在腌制到28 d后，并无条带消失和新条带出现，进一步说明在腌制28 d后，蛋白质分解基本稳定。

从不同腌制期蛋清蛋白分布电泳图来看，鸡蛋松花蛋加工过程中，存在明显的蛋白质降解过程，并且小分子肽类物质（分子质量为14.3 kD及10 kD）不断累积，在28 d时趋于稳定，与质构特性及凝胶特性变化结果相似。因此进一步表明松花蛋的形成是蛋白质分解和变性共同作用的结果，该变化过程在腌制前期（0～21 d）变化明显，随着腌制时间的延长，该过程逐渐稳定（28 d）。因此，腌制时间是调控松花蛋质构品质的重要因素。

2.1.3.2 不同腌制时间中氨基酸释放规律分析

由表3可知，与新鲜鸡蛋相比，在鸡蛋松花蛋腌制过程中（0～35 d），蛋清内游离氨基酸总量呈显著下降趋势，在腌制35 d后，游离氨基酸总量由441.41 mg/100 g降低至363.26 mg/100 g。在腌制过程中变化的游离氨基酸主要包括两种碱性氨基酸（赖氨酸和精氨酸）和两种含硫氨基酸（半胱氨酸和甲硫氨酸）以及丝氨酸、苏氨酸和异亮氨酸。因为在碱性条件下，含硫氨基酸及部分碱性氨基酸和支链氨基酸逐渐分解氧化，产生了氨气和硫离子，在重金属的作用下形成了鸡蛋松花蛋的特殊风味和凝胶化特性，对松花蛋的风味形成有重要的作用[21]。此外，游离氨基酸总量在腌制初期（0～7 d）即

已降低，在腌制28～35 d变化趋势较小，进一步说明该实验条件下松花蛋品质的变化是一个动态过程，且随着腌制过程逐渐趋于稳定。与新鲜鸡蛋相比，在鸡蛋松花蛋腌制过程中，蛋黄游离氨基酸总量也呈显著下降趋势，腌制35 d后，游离氨基酸总量由389.27 mg/100 g降低至323.46 mg/100 g，与蛋清中游离氨基酸变化规律相似，但是其总量明显低于蛋清。在腌制过程中蛋清组氨酸含量呈略微的上升趋势，在腌制35 d后，由7.15 mg/100 g上升至7.88 mg/100 g，但是蛋黄内组氨酸含量在腌制过程中逐渐降低。

表3 不同腌制时间游离氨基酸含量变化

Table 3 Changes in hydrophobic amino acids during pickling

氨基酸名称	蛋清中含量/（mg/100 g）						氨基酸名称	蛋黄中含量/（mg/100 g）					
	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d		0 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
半胱氨酸	22.35	19.48	10.50	7.82	7.64	7.22	半胱氨酸	12.13	13.16	8.89	4.62	5.33	4.97
亮氨酸	9.38	9.05	8.72	6.48	6.38	6.28	亮氨酸	11.01	10.89	7.44	5.32	4.11	4.38
精氨酸	19.58	19.50	16.28	13.71	13.54	13.48	精氨酸	18.33	18.01	15.44	11.21	10.19	10.05
蛋氨酸	17.42	13.71	10.93	7.05	3.90	3.82	蛋氨酸	14.42	12.85	10.62	8.01	4.86	2.21
赖氨酸	40.36	36.16	33.57	28.66	28.52	27.92	赖氨酸	23.60	21.43	17.66	15.38	13.11	12.15
苏氨酸	30.97	28.27	23.03	17.45	17.07	17.17	苏氨酸	34.15	30.22	27.16	21.11	20.87	20.69
丝氨酸	18.14	11.01	7.69	5.67	4.75	4.12	丝氨酸	15.19	13.22	10.31	7.66	5.19	4.77
组氨酸	7.15	7.08	7.03	7.91	7.89	7.88	组氨酸	11.43	10.22	10.19	8.31	7.10	6.88
苯丙氨酸	28.79	27.93	28.21	28.50	28.59	28.46	苯丙氨酸	23.88	23.17	23.64	23.75	23.17	23.61
谷氨酸	25.44	25.01	24.59	23.73	23.88	23.69	谷氨酸	26.77	26.19	25.76	25.31	25.19	25.51
丙氨酸	53.05	52.94	53.32	53.58	53.93	57.39	丙氨酸	42.61	43.78	42.91	42.44	42.51	42.18
甘氨酸	22.87	22.78	23.56	24.24	24.19	24.05	甘氨酸	25.66	25.15	25.72	25.19	25.51	25.31
异亮氨酸	18.95	18.89	18.89	18.81	18.69	18.52	异亮氨酸	16.77	16.25	16.82	16.33	16.92	16.79
脯氨酸	44.29	44.07	43.85	43.48	43.41	43.27	脯氨酸	35.71	36.05	35.88	35.94	35.82	36.11
缬氨酸	53.51	53.35	53.35	53.40	53.40	53.35	缬氨酸	50.66	49.26	49.79	50.19	50.03	49.96
天冬氨酸	29.16	27.96	27.78	27.09	27.20	26.64	天冬氨酸	26.95	26.41	26.33	25.12	26.76	25.89
总量	441.41	417.19	391.3	367.58	362.98	363.26	总量	389.27	378.26	357.56	330.89	326.67	323.46

2.2 鸡蛋松花蛋腌制过程中颜色变化分析

2.2.1 鸡蛋松花蛋腌制过程中还原基团变化

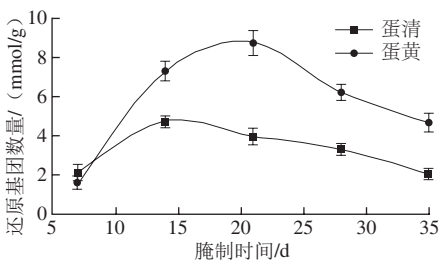


图3 鸡蛋松花蛋腌制过程中还原基团数量变化

Fig.3 Changes in reducing group contents of albumen and yolk during pickling

松花蛋颜色的变化是一个复杂的过程，但是羰氨反应是目前松花蛋内广为接受的颜色变化机理。还原基团是发生羰氨反应的重要因素。由图3可知，随着腌制时间的延长，蛋清及蛋黄内部还原基团的数量呈先升高后降低的趋势。蛋清在14 d时，还原基团数量最大，随着腌制时间的延长，该值逐渐降低；蛋黄在腌制21 d时，还原基团数量最大。

2.2.2 鸡蛋松花蛋腌制过程中蛋清和蛋黄颜色变化

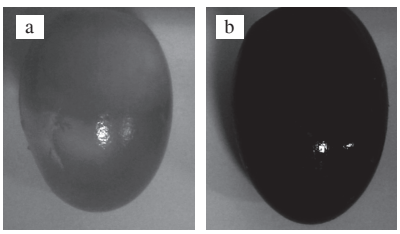
表4 不同腌制时间蛋清和蛋黄颜色变化

Table 4 Color changes of albumen and yolk during pickling

色差		腌制时间/d				
		7	14	21	28	35
蛋清	L^*	59.54±1.02^b	67.15±1.36^a	57.33±1.14^b	39.22±0.79^c	32.44±1.70^d
	a^*	−0.45±0.17^c	−3.68±0.90^d	8.61±1.16^b	19.62±1.61^a	18.51±1.31^a
	b^*	30.16±1.03^b	37.19±1.11^a	30.32±1.21^c	25.39±2.04^d	17.49±1.04^e
	W	49.53±0.89^b	50.24±1.44^a	46.95±1.53^c	31.27±1.27^d	27.80±1.37^e
蛋黄	L^*	75.54±1.11^a	68.15±1.36^b	51.33±1.04^c	42.22±0.75^d	31.42±0.79^e
	a^*	0.65±0.13^c	2.18±0.77^d	6.21±0.90^c	17.63±1.03^b	19.61±1.14^a
	b^*	55.16±1.61^a	52.19±1.02^b	29.32±1.01^c	16.39±1.14^d	15.49±1.04^d
	W	44.61±1.15^d	47.46±1.33^c	69.23±0.98^b	74.75±2.05^a	73.67±1.17^a

由表4可知，随着腌制时间的延长，蛋清的L^*值呈先升高后降低的趋势（$P<0.05$），在腌制14 d时出现最大值，其后随着腌制时间的延长，L^*值逐渐减低；蛋清中b^*值变化趋势与L^*值基本一致，均为在腌制14 d后逐渐降低。而a^*值变化趋势刚好相反。在腌制过程中蛋黄的L^*、b^*值逐渐降低，a^*值显著增加（$P<0.05$）。松花蛋颜色的变化主要由羰氨反应（美拉德反应）造成。在腌制过程中，部分蛋白分解产生游离氨基酸，与蛋液中葡萄糖发生反应，使氨基酸与葡萄糖分解产生醛、氨和二氧化碳及呋喃类，而呋喃类物质易与多肽类物质螯合后产生不同的颜色[22]；另一方面，胱氨酸和半胱氨酸含有硫氢基（—SH）及二硫基（—S—S），易与金属离子结合，便会产生各种不同的颜色[23]。因此，在腌制过程中松花蛋颜色的改变是蛋内外部条件共同作用的结果，通过调控不同的腌制时间，可以实现对松花蛋颜色的调控。

W值是综合松花蛋内L^*、a^*、b^*值的一种颜色综合表示方式，能够反映产品的整体颜色变化并且与产品整体外观成显著正相关。由表4可知，在腌制过程中（14～35 d）蛋清的白度逐渐降低（$W=-1.010\times t+57.024$，$R^2=0.899$，式中，t为腌制时间），蛋清中呈现出由黄色变棕色的过程。而蛋黄中的W值会随着腌制时间的延长而逐渐增加，但是在腌制28 d后，无明显的变化趋势（$P>0.05$），具体颜色变化见图4。



a. 腌制21 d的松花蛋；b. 腌制35 d的松花蛋。

图4 不同腌制时间松花蛋颜色对比

Fig.4 Comparison of color during pickling

综上所述，腌制时间对鸡蛋松花蛋颜色变化有重要的影响，蛋清及蛋黄颜色变化与腌制时间、游离碱度及游离氨基酸总量成显著负相关，因此可以通过控制腌制时间实现调控松花蛋颜色品质的目的。在鸡蛋松花蛋腌制过程中，蛋清、蛋黄的*L**、*b**值与*a**值呈相反的变化；并且蛋清、蛋黄的整体颜色变化呈相反趋势。因此，针对蛋清及蛋黄的不用颜色变化过程调控其腌制工艺对松花蛋腌制有重要的指导意义。

3 结 论

在鸡蛋松花蛋腌制过程中，鸡蛋壳膜逐渐分离，造成蛋内碱度逐渐渗透，部分蛋白质将会发生降解生成肽与氨基酸，改变了蛋内凝胶已达到的平衡状态，使蛋清凝胶网络结构稍微松散，表现为松花蛋内游离碱度、硬度、弹性、咀嚼性等显著上升，蛋白质凝胶能力逐渐降低（$P<0.05$），但是在腌制28 d后变化趋势逐渐稳定。

松花蛋在腌制过程中蛋白质分解主要表现在腌制0～14 d，大于86.6 kD的蛋白质逐渐分解；随着松花蛋内碱度的增加，小分子肽类（14.3 kD及10 kD）物质不断累积，在腌制21～28 d后无明显的变化；蛋清及蛋黄内游离氨基酸总含量显著降低（$P<0.05$），在腌制过程中变化的游离氨基酸主要包括两种碱性氨基酸（赖氨酸和精氨酸）和两种含硫氨基酸（半胱氨酸和甲硫氨酸）以及丝氨酸、苏氨酸和异亮氨酸。

腌制时间对鸡蛋松花蛋颜色变化有重要的影响，蛋清及蛋黄颜色变化与腌制时间、游离碱度及游离氨基酸总含量成显著负相关；主要表现为鸡蛋松花蛋在腌制过程中色差不断变化，其中蛋清中*L**、*b**值先增加后降低、*a**值逐渐增加，蛋黄中*L**、*b**值逐渐降低、*a**值逐渐增加，导致蛋清及蛋黄整体颜色变化（*W*值）趋势成负相关。因此，针对蛋清及蛋黄的颜色变化过程调控其腌制工艺对松花蛋腌制有重要的指导意义。

参考文献：

[1] 赵燕, 徐明生, 涂勇刚. 皮蛋加工相关机理研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(17): 472-475.

[2] 马美湖. 我国蛋品工业科技成就,差距及发展前景的探讨[J]. 中国家禽, 2002, 24(19): 33-39. DOI:10.3969/j.issn.1004-6364.2002.19.019.

[3] 涂勇刚, 赵燕, 徐明生, 等. 皮蛋加工过程中流变与凝胶特性的变化规律[J]. 食品科学, 2012, 33(19): 21-24.

[4] 欧阳玲花, 冯健雄, 闵华, 等. 皮蛋加工研究现状与展望[J]. 食品工业科技, 2009, 30(4): 349-351.

[5] 魏乃杰. 风味艺术皮蛋的制备及其安全性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2010: 21.

[6] 李军鹏, 侯畅, 熊善柏, 等. 腌制条件对皮蛋品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(8): 101-105. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2009.08.028.

[7] 张献伟, 郭善广, 蒋爱民, 等. K^+型无铅鸡蛋皮蛋加工技术[J]. 食品科学, 2011, 32(14): 350-355.

[8] 吕峰, 郑明锋, 陈丽娇. 梯度控温腌制无铅皮蛋工艺[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2006, 34(4): 527-530. DOI:10.3321/j.issn:1671-5470.2005.04.027.

[9] SUN J, MA M, WU L, et al. Effects of heat treatment on production cycle and quality of Pidan[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2011, 27(5): 367-372. DOI:10.3969/j.issn.1002-6819.2011.05.064.

[10] GANASEN P, BENJAKUL S. Physical properties and microstructure of Pidan yolk as affected by different divalent and monovalent cations[J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(1): 77-85. DOI:10.1016/j.lwt.2009.06.007.

[11] 杨有仙, 赵燕, 涂勇刚, 等. 皮蛋腌制过程中碱度、pH及质构特性变化规律的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 111-114.

[12] GANASEN P, BENJAKUL S. Chemical composition, physical properties and microstructure of Pidan white as affected by different divalent and monovalent cations[J]. Journal of Food Biochemistry, 2011, 35(5): 1528-1537. DOI:10.1111/j.1745-4514.2010.00475.

[13] ZHANG X, JIANG A, CHEN M, et al. Effect of different alkali treatments on the chemical composition, physical properties, and microstructure of Pidan white[J]. Journal of Food Science & Technology, 2015, 52: 1-8. DOI:10.1007/s13197-013-1201-x.

[14] 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 164-168.

[15] CHANG H M, TSAI C F, LI C F. Changes of amino acid composition and lysinoalanine formation in alkali-pickled duck eggs[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(4): 1495-1500. DOI:10.1021/jf980951k.

[16] VIRGIL I R, SACCAN I G, GABBA L. Changes of free amino acids and biogenic amines during extended ageing of Italian dry-cured ham[J]. LWT-Food Science and Technology, 2007, 40(5): 871-878. DOI:10.1016/j.lwt.2006.03.024.

[17] PATTARAVIVAT J, MORIOKA K, SHIROSAKI M, et al. Effect of washing conditions on the removal of lipid from the fatty fish escolar (*Lepidocybium flavobrunneum*) meat[J]. Journal of Biological Sciences, 2008, 8(1): 34-42. DOI:10.3923/jbs.2008.34.42.

[18] 孙汉巨, 丁琦, 张冰, 等. 超高压对鸭蛋蛋液杀菌及物性影响[J]. 食品科学, 2011, 32(3): 23-26.

[19] 罗序英, 赵燕, 涂勇刚, 等. 皮蛋蛋白质凝胶形成及其调控的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(23): 383-387.

[20] BABAJIMOPOULOS M, DAMODARAN S, RIZVI S S H, et al. Effects of various anions on the rheological and gelling behavior of soy proteins: thermodynamic observations[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1983, 31(6): 1270-1275. DOI:10.1021/jf00120a032.

[21] WALSH R G, NASHEF A S, FEENEY R E. Intramolecular cross-linking of proteins by formation of lysinoalanine or lanthionine. modification of disulfides in ovomucoids[J]. International Journal of Peptide & Protein Research, 1979, 14(4): 290-299.

[22] KATO Y, WATANABE K, SATO Y. Effect of Maillard reaction on some physical properties of ovalbumin[J]. Journal of Food Science, 1981, 46(6): 1835-1839.

[23] 袁伟, 刘会平, 张晨萍, 等. 真空减压法制备天津松花蛋与白洋淀松花蛋的对比[J]. 食品科技, 2013, 38(8): 107-112.