

# 稻秸灰水提物对咸蛋黄理化特性的影响

吕蕙, 马美湖, 刘远远

(国家蛋品加工技术研究分中心, 华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070)

**摘要:** 本研究将稻秸灰水提物与食盐混合配制腌制液腌制咸蛋, 并比较了食盐水腌制和水提物腌制对咸蛋黄含盐量、含水量、出油率、流变特性、质构特性、蛋白结构的影响, 研究表明: 由于盐类的进入和油脂渗出, 蛋黄的质构特性如: 硬度、胶黏性、咀嚼性呈先增大后减小的趋势 ( $p < 0.05$ ), 其中水提物组硬度从 272.89 g 增至最大值 458.65 g 后又逐渐降至 228.87 g。流变学结果显示蛋黄弹性模量和粘性模量均显著增大。水提物组蛋黄蛋白二级结构中  $\alpha$ -螺旋在 25 d 时显著减少至 12.36% ( $p < 0.05$ ),  $\beta$ -折叠在 25 d 时显著增大至 41.71% ( $p < 0.05$ )。SDS-PAGE 表明水提物的加入不会影响蛋黄蛋白质肽链结构。水提物组咸蛋黄的出油率达到 20.12%, 较盐水组高, 出油率是评价咸蛋品质的一个重要指标。此研究既优化了传统草木灰包裹法工艺又保持着草木灰咸蛋的优良品质, 为咸蛋腌制提供了一种新思路。

**关键词:** 稻秸灰水提物; 咸蛋黄; 出油率; 质构特性; 蛋白质结构

文章编号: 1673-9078(2019)04-148-156

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.4.021

## Effects of Straw Ash Aqueous Extracts on Physicochemical Characteristics of Salted Egg Yolk

LYU Hui, MA Mei-hu, LIU Yuan-yuan

(National Research and Development Center for Egg Processing, College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** In this work, straw ash aqueous extracts were mixed with salt to prepare salted egg. Effects of saline salting and straw ash aqueous extracts salting on salt content, water content, oil exudation, rheological properties, texture characteristics and protein structure of salted egg yolk were evaluated. Results showed that the texture characteristics of egg yolk, such as hardness, gumminess and chewiness, increased firstly and then decreased due to the penetration of salt and exudation of oil ( $p < 0.05$ ). The hardness of the aqueous extracts group increased from 272.89 g to a maximum of 458.65 g and then gradually decreased to 228.87 g. The rheological results indicated that the elastic modulus and viscous modulus of egg yolk increased significantly. The  $\alpha$ -helix of the egg yolk protein of the aqueous extracts group significantly reduced to 12.36% at 25 days ( $p < 0.05$ ), while  $\beta$ -sheet significantly increased to 41.71% ( $p < 0.05$ ). SDS-PAGE showed that the aqueous extracts did not affect the structure of peptide chain of the egg yolk protein. The oil exudation of salted egg yolk in the aqueous extracts group reached 20.12%, which was higher than that of saline salting group. The oil exudation was an important indicator to evaluate the quality of salted egg. The condition of traditional plant ash salting process was optimized to obtain the excellent quality of salted egg, providing a new idea to produce salted egg.

**Key words:** straw ash aqueous extracts; salted egg yolk; oil exudation; texture properties; protein structure

咸蛋是我国一种传统蛋制品, 因其独特的风味和蛋黄松沙、流油的口感占有十分重要的消费市场, 深受国民喜爱, 且咸蛋黄常用于月饼、蛋黄酥等焙烤食品的加工, 应用范围广<sup>[1,2]</sup>。咸蛋传统的加工方式有包

收稿日期: 2018-12-06

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31571784); 公益性行业 (农业) 科研专项 (201303084)

作者简介: 吕蕙 (1993-), 女, 硕士, 研究方向: 蛋品加工技术

通讯作者: 马美湖 (1957-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 肉类蛋品加工技术与理论研究

灰法、包泥法、盐水浸泡法等, 其中尤以草木灰包裹法腌制的咸蛋品质最佳, 最为消费者认可, 其主要体现在蛋黄出油率高, 松沙可口, 咸淡适中。目前对于咸蛋的研究大都集中在降低含盐量、提高出油率、缩短生产周期。如: 腌制前的预处理, 使用柠檬酸、乙酸和蛋白酶分步浸泡<sup>[3,4]</sup>等对鲜蛋进行预处理, 研究显示这些预处理方式均能在一定程度上缩短腌制周期。通过辅助技术缩短腌制周期最终降低含盐量, 如: 利用脉动压、磁电等辅助咸蛋<sup>[5,6]</sup>的腌制, 大大提高了咸蛋生产效率。此外, 还有研究者对腌制成熟后咸蛋的

煮制压力进行探讨,利用高压煮制咸蛋能够大大降低咸蛋清含盐量和提高蛋黄出油率<sup>[7]</sup>。这些研究结果虽然能一定程度上提高咸蛋的品质,但是腌制的咸蛋仍存在风味差,有硬心等问题,因此目前工业生产大都还是采用传统包灰法腌制咸蛋。

已有研究表明,包泥法和包灰法咸蛋含盐量相对盐水浸泡法较低,咸蛋黄品质较优,其蛋黄出油高且松沙口好<sup>[8,9]</sup>。从微观角度看,草灰咸蛋蛋壳相比盐水咸蛋蛋壳较粗糙,可能的原因是草灰中含的碱性成分,如:碳酸钾等盐与蛋壳直接接触。包灰法腌制后壳膜纤维直径比盐水的壳膜纤维要细,吸附在膜纤维上的盐分颗粒比盐水法腌制的要少且数量也较少<sup>[10]</sup>,这可能也是草灰咸蛋含盐量较少的原因。但草灰咸蛋因加工工艺较复杂、不卫生、品质难以控制,使得大规模加工生产的产品品质稳定性较差,且易造成生产环境污染等,这些均成为草灰包裹法咸蛋生产加工的劣势。

因此,本研究的主要目的是利用超声辅助水浸提法从稻秸灰中将水溶性有效成分充分浸提,并将水物干燥后与食盐水复配成腌制液用于鸭蛋的腌制,并对腌制后咸蛋黄的基本理化特性如含盐量、含水量和出油率的测定并分析咸蛋黄的特性如:质构、流变性质和蛋黄蛋白质一、二级结构,探究稻秸灰水提物腌制对咸蛋黄产生的影响,以期通过此工艺腌制的咸蛋产品既能具有传统包灰法咸蛋的出油率高、松沙可口品质,又能提高产品品质的卫生安全性以及质量的稳定性和操作便捷性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

新鲜鸭蛋(产于3 d内)购于华中农业大学菜市场,蛋重为65 g~75 g/枚;稻秸灰水提物(前期实验提取);硝酸银、正己烷、异丙醇、氯仿、甲醇 国药集团化学试剂有限公司;SDS-PAGE 试剂盒,武汉谷歌生物科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

DHR2 流变仪,美国沃特斯公司;TA.XT.plus 质构仪,英国 stable micro system;Nexus 470 红外光谱仪,美国赛默飞世尔科技公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 咸蛋的腌制

稻秸灰水提物的制备:

在搅拌速率为250 r/min、搅拌时间为30 min,稻秸灰:水=1:2 (*m:m*),超声功率为150 W、超声时间为30 min的条件下对稻秸灰进行浸提,抽滤得到浸提液,浸提液经105 °C干燥至恒重。

实验分组:

1、盐水组:将水煮沸冷却后,配制(18 g 食盐+2 g 食盐)%的食盐水腌制液,将鸭蛋洗净、称重于食盐水中浸泡腌制(腌制液与蛋重质量比约为1:1)。

2、水提物组:将水煮沸冷却后,配制(18 g 食盐+2 g 水提物)%的混合腌制液,将鸭蛋洗净、称重于腌制液中浸泡腌制(腌制液与蛋重质量比约为1:1)。

#### 1.3.2 水分含量

水分含量采用烘干法<sup>[11]</sup>。将蛋清、蛋黄分离后分别搅拌均匀,各称取3 g 蛋清、蛋黄样品,同一样品做3次平行。将称量好的样品置于烘干且洁净的铝盒(含盒盖)中,称量样品和铝盒的总质量。随后放入105 °C的烘箱中干燥6 h,取出后放入干燥器中冷却,称量烘干后样品和铝盒的总质量,直到2次称量的质量小于0.004 g为止。计算蛋清、蛋黄水分含量。计算公式:

$$\text{水分含量} = \frac{W_1 - W_2}{m} \times 100\%$$

式中:W<sub>1</sub>: 样品质量+铝盒质量, g; W<sub>2</sub>: 烘干后样品质量+铝盒质量, g; m: 样品质量, g。

#### 1.3.3 含盐量

含盐量采用硝酸银滴定法<sup>[12]</sup>。蛋黄、蛋清各称取5.0 g于100 mL小烧杯中,加100 mL蒸馏水,用玻璃棒搅拌静置5 min,再搅拌,再静置,反复3~4次,静置15 min,吸取上清液10 mL于小三角瓶中,加蒸馏水20 mL,加5% K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> 7~8滴,用0.1 mol/L硝酸银滴定,出现砖红色为终点。计算公式:

$$\text{NaCl含量(\%)} = \frac{0.05845NV}{W} \times 100\%$$

式中: N: AgNO<sub>3</sub>的浓度, mol/L; V: 消耗 AgNO<sub>3</sub>的体积, mL; W: 样品重量, g; 0.05845: NaCl的当量。

#### 1.3.4 蛋黄出油率

将咸蛋黄分成两份后,以扇形的形式分割称取,以达到蛋黄由内至外为均一的状态。称取3 g咸蛋黄在35 mL的正己烷和异丙醇(3:2, *V:V*)混合,在均质机中以转速为5000 r/min下均质10 min,然后滤液通过滤纸收集后,于55 °C下蒸发掉溶剂,加入少量无水乙醇于10000 r/min下离心10 min沉淀蛋白,清液在105 °C干燥至恒重,称其质量为总脂质质量。

另取5 g咸蛋黄与25 mL去离子水混合在5000 r/min下均质30 s,匀浆液在25 °C下10000 r/min条件

下离心 30 min, 然后取上清液, 添加 25 mL 的正己烷和异丙醇(3:2, *V:V*)溶解掉悬浮体。有机溶剂-脂相层通过分液漏斗获取, 于 55 °C 下旋转蒸发, 再加入少量无水乙醇于 10000 r/min 下离心 10 min 沉淀蛋白, 清液在 105 °C 干燥至恒重, 称取质量作为游离脂质的质量<sup>[13]</sup>。计算公式:

$$\text{出油率} / \% = \frac{\text{游离脂质质量}}{\text{总脂质质量}} \times 100\%$$

### 1.3.5 流变特性

采用旋转流变仪测定。将样品置于校正好的流变仪测试平台上, 选择直径为 40 mm 铝平行板测量系统, 平行板间距为 1 mm。在 25 °C 振荡模式下和线性粘弹区范围内, 进行频率扫描。蛋黄的应变为 0.98%, 振荡频率范围为 0.1~700 rad/s, 测定形成过程中储能模量或弹性模量 ( $G'$ ) 和损耗模量或黏性模量 ( $G''$ ) 随振荡频率的变化情况。

### 1.3.6 质构特性

采用物性测定仪测定蛋黄的质构性质<sup>[14]</sup>。测定前先预处理样品, 将咸蛋用水锅煮 15 min (每次均为 2.5 L 水, 从沸水开始计时), 冷却剥壳, 将蛋黄切成 2 个半球。样品采用压缩柱状铝探针 (型号为 P36R) 压缩, 每个样品做 2 次轴向压缩, 蛋黄形变为 20%, 测定均在室温完成。力距形变测前速率 5 mm/s, 测后速率 5 mm/s, 测试速率 1 mm/s, 触发力 5 g, 记录。对质构曲线通过软件分析得到硬度、弹性、内聚性、胶黏性和咀嚼性等质构参数。

### 1.3.7 FT-IR 测定蛋白质二级结构的变化

将冷冻干燥的蛋黄与 KBr 充分研磨并压制混合。使用 FT-IR 扫描 400~4000  $\text{cm}^{-1}$  整个条带, 扫描中以 4  $\text{cm}^{-1}$  的分辨率收集自动信号, 每次样品测量重复 3 次。使用 OMNIC 6.0 软件对数据收集后进行光谱数据分析。用 Peakfit 4 软件对谱图酰胺 I 带进行傅立叶变换去卷积、二阶导数峰拟合, 子峰数目在 9~12 之间, 其  $r^2 > 0.99$ , 确认峰位归属, 计算各子峰面积的相对质量分数。各子峰与二级结构对应关系的指认为: 1600~1639  $\text{cm}^{-1}$  为  $\beta$ -折叠; 1640~1650  $\text{cm}^{-1}$  为无规则卷曲; 1651~1660  $\text{cm}^{-1}$  为  $\alpha$ -螺旋; 1661~1700  $\text{cm}^{-1}$  为  $\beta$ -转角<sup>[15]</sup>。

### 1.3.8 SDS-PAGE 分析

样品处理: 准确称取 10 mg 冻干蛋黄粉于 5 mL 的 0.5 mol/L 氯化钠溶液中, 涡旋至蛋黄粉充分溶解, 使得蛋黄溶液浓度为 2 mg/mL, 样品与上样缓冲液 (*V:V=4:1*) 充分混合, 于沸水中煮制 5 min, 上样体积为 20  $\mu\text{L}$ 。

电泳条件: 5%分离胶和 12%浓缩胶, 先以 80 V

电压跑至分离胶处, 将电压调至 120 V 直到跑完。再进行固定、染色、脱色等步骤。

### 1.3.9 数据处理

实验数据采用 WPS office 2016 软件进行结果处理, 采用 Origin Pro 8.5 软件作图, 相关性分析采用 IBM SPSS19.0 Statistics 22 软件, 以  $p < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 两组咸蛋蛋清、蛋黄含水量和含盐量的比较

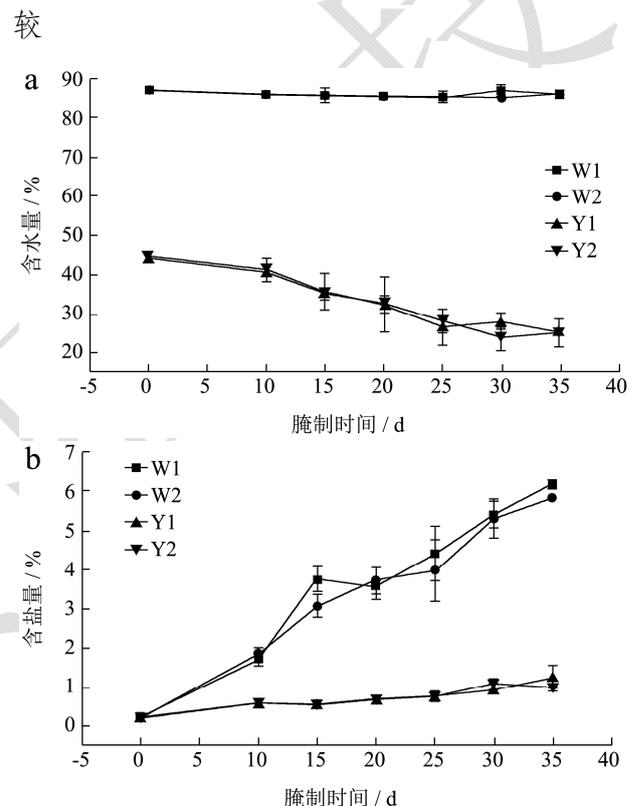


图1 两组咸蛋蛋清、蛋黄含水量和含盐量的比较

Fig.1 Comparison of moisture contents and salt contents of salted egg between two groups

注: W 为蛋清, Y 为蛋黄; 1 为盐水腌制组, 2 为水提取物腌制组。

图 1 中显示了不同实验组蛋清、蛋黄在腌制过程中水分和含盐量的变化情况。不同腌制组在腌制过程中, 蛋清水分均基本保持不变, 维持在 84.52%~86.46% 之间, 而蛋黄水分含量显著降低, 从 44.33% 降低至 23.70% ( $p < 0.05$ ), 其原因主要是在腌制过程中蛋清的含盐量逐渐增加且较蛋黄多, 蛋清与蛋黄间形成盐浓度差, 使蛋黄中的水分向蛋清迁移直至腌制液中<sup>[16]</sup>, 蛋黄发生脱水作用且逐渐发生硬化, 水分含量变化显著。而蛋清在腌制体系中处于一个中间态, 蛋黄中的水分会迁移至蛋清, 蛋清中的水分透过蛋壳膜和蛋壳

迁移至腌制液, 总体处于动态平衡过程, 因此蛋清含水量变化不显著。随着腌制时间的延长, 不同腌制组蛋清和蛋黄的含盐量均显著增加 ( $p<0.05$ ), 其中盐水腌制组蛋清含盐量由最初的 0.19% 升至 6.15%, 水提物组蛋清含盐量升至 5.83%。盐水腌制组蛋黄含盐量则从 0.23% 升至 1.22%, 水提物腌制组蛋黄最终含盐量为 0.99%。不同腌制组间蛋清含盐量的增加幅度显著高于蛋黄 ( $p<0.05$ ), 蛋清含盐量约增加了 30%, 而蛋黄只增加约 4%, 这是因为蛋黄在腌制过程中逐渐转变成固态且蛋黄中脂质含量较高, 对盐类的渗透有一定的阻碍作用<sup>[8]</sup>。

不同腌制组间蛋清、蛋黄的含水量和含盐量均无显著性差异 ( $p>0.05$ ), 其可能的原因是: 稻秸灰水提物的主要成分为可溶性盐类, 在整个腌制过程中, 盐类的渗透主要还是以氯化钠为主, 因此腌制渗透规律无显著性差异, 最终使得含盐量与水分含量在不同腌制组间没有明显差异。

## 2.2 两个腌制组蛋黄出油率的比较

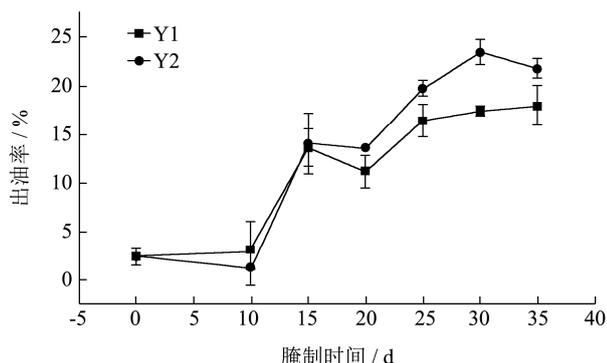


图2 两个腌制组成蛋黄出油率的比较

Fig.2 Comparison of oil exudation of salted duck egg between two groups

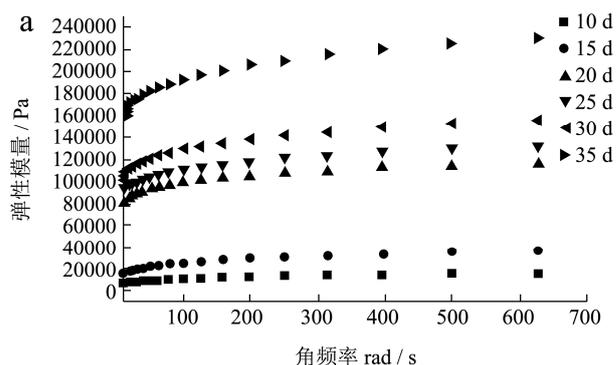
注: Y 为蛋黄; 1 为盐水腌制组, 2 为水提物腌制组。

在腌制过程中, 随着盐的进入, 蛋黄会发生脱水作用, 蛋黄中的蛋白变性、蛋黄的乳化性丧失, 使得游离脂质从低密度脂蛋白胶束释放, 腌制导致乳化的细小脂质球逐渐分离和渗出, 增强了水分向蛋外部的扩散, 并增加了亲脂基团聚集的机会以及形成可见油滴<sup>[17]</sup>, 因此, 随着腌制过程的进行, 蛋黄出油率会逐渐增加。如图 2 显示, 不同腌制组咸蛋黄, 随着腌制过程延长, 蛋黄出油率均显著增加 ( $p<0.05$ ), 其中盐水腌制组从腌制开始时的 2.23% 升至 17.31%, 水提物腌制组则升至 20.12%, 且通过比较不同腌制组的出油率可以发现, 腌制后期水提物组出油率显著高于盐水腌制组, 在 30 d 高出约 6% ( $p<0.05$ ), 与已有文献报道的草灰咸蛋出油率显著高于盐水咸蛋结果一致<sup>[10]</sup>。

可能的原因是稻秸灰水提物腌制液呈碱性, 蛋壳与碳酸钾等碱性接触后, 蛋壳中酸性蛋白的水溶性会增强, 蛋壳的通透性增加, 促进腌制液中的金属离子进入蛋壳直至蛋黄, 且促进蛋黄的脱水作用, 从而使蛋黄出油率增加<sup>[18]</sup>。此外, 吴玲<sup>[1]</sup>等人利用 KCl 部分替代 NaCl 腌制咸蛋发现, 随着 KCl 替代量的增大, 蛋黄的出油率随之增加, 对原料稻秸灰进行金属种类和含量分析发现, 稻秸灰中金属种类丰富且含量也较高, 通过检测发现其中以钾含量最高, 含量为 8.89%, 而水提物源于稻秸灰, 且稻秸灰中的钾盐如 KCl、 $K_2CO_3$  属于易溶性盐类, 因此在腌制过程中多种金属离子进入蛋黄并对蛋黄出油产生影响从而使得出油率增加。

## 2.3 蛋黄流变学特性的变化

图 3 中显示了不同腌制组蛋黄在腌制过程中流变学特性的变化, 弹性模量 ( $G'$ ) 与粘性模量 ( $G''$ ) 分别代表凝胶体系中弹性成分与粘性成分。由图 3 可知, 在咸蛋黄凝胶体系中, 始终是  $G'>G''$ , 这说明在咸蛋黄中弹性成分占主导, 并且  $G'$  与  $G''$  均随着腌制时间的延长而增大, 且  $G'$  增大较多, 这一结果已有的研究报道是一致的<sup>[19,20]</sup>。发生这一变化的可能原因是在鸭蛋黄中, 存在颗粒、浆质以及低密度脂蛋白, 这些物质具有形成凝胶结构的能力。同时, 在腌制期间, 盐类的进入与脱水作用均能对蛋黄凝胶结构的形成产生影响, 且随着盐类浓度的增大与脱水作用的加剧, 已有研究结果表明<sup>[1,14,16]</sup>蛋黄颗粒之间因脱水作用会从原有的饱满状态转变成皱缩状态, 颗粒与颗粒之间结合更加紧密, 从而形成非常致密的凝胶网络结构<sup>[21]</sup>。从表观上看, 随着腌制的进行, 腌制液中的氯化钠以及其他盐类进入蛋黄中, 使得蛋黄发生脱水作用, 蛋黄逐渐硬化, 由液态变成半固态直至固态, 这一现象与其流变学特性变化也是一致的。不同腌制组样品之间比较发现, 食盐腌制组  $G'$  与  $G''$  在腌制至 35 d 时均显著大于水提物腌制组 ( $p<0.05$ ), 这一结果形成可能的原因是水提物组蛋黄出油率较高油脂释放较多, 使得蛋黄整体的粘弹性降低。



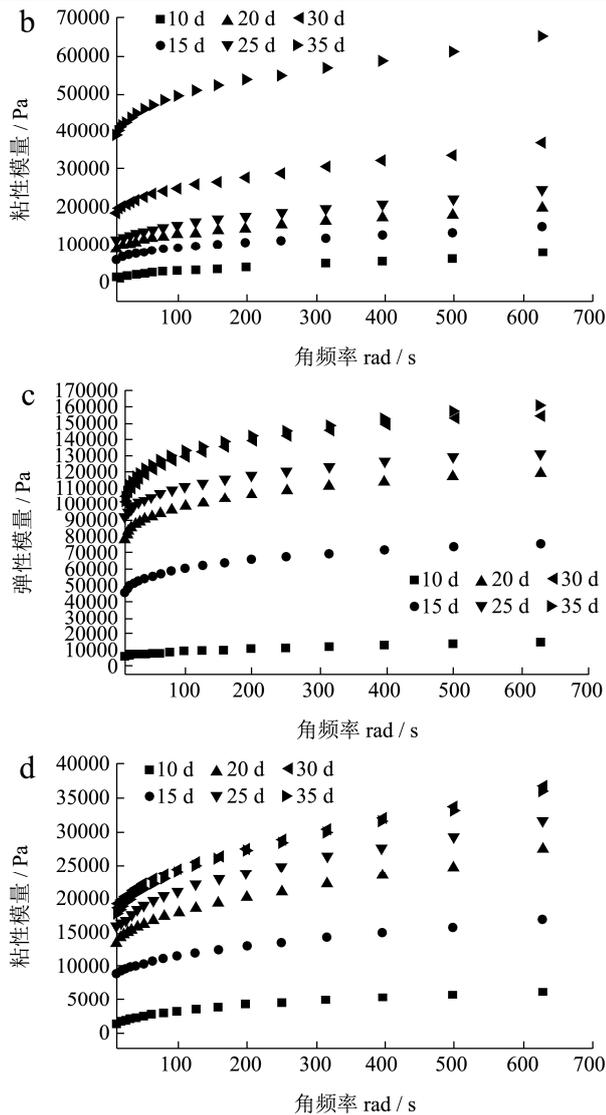


图3 两个腌制组蛋黄流变学特性的变化

Fig.3 The changes of rheological properties of salted egg yolks

注: a、b 分别表示盐水腌制组蛋黄的弹性模量与粘性模量; c、d 分别表示稻秸灰水提物腌制组蛋黄的弹性模量与粘性模量。

2.4 两组熟制咸蛋黄质构特性的比较

表1 两组熟制咸蛋黄质构特性的比较

Table 1 Comparison of texture characteristics of cooked salted yolk between two groups

指标	样品	腌制时间/d			
		0	10	15	20
硬度/g	盐水组	272.89±17.43 <sup>d</sup>	401.71±20.28 <sup>Ac</sup>	428.13±39.95 <sup>Abc</sup>	445.78±30.89 <sup>Aabc</sup>
	水提物组		343.56±22.72 <sup>Bc</sup>	432.18±22.09 <sup>Ab</sup>	458.65±17.90 <sup>Aa</sup>
胶黏性/g	盐水组	241.04±15.66 <sup>b</sup>	343.90±10.98 <sup>Aa</sup>	382.02±30.96 <sup>Aa</sup>	360.62±26.78 <sup>Aa</sup>
	水提物组		293.14±15.40 <sup>Bb</sup>	368.03±17.01 <sup>Aa</sup>	359.14±35.12 <sup>Aa</sup>
咀嚼性/(g·mm)	盐水组	238.50±19.45 <sup>b</sup>	302.91±17.01 <sup>Aa</sup>	335.05±41.16 <sup>Aa</sup>	290.17±8.17 <sup>Aa</sup>
	水提物组		289.92±23.70 <sup>Ab</sup>	363.22±15.84 <sup>Aa</sup>	262.79±21.24 <sup>Ac</sup>

转下页

由表1可知,不同腌制组蛋黄的硬度、胶黏性、咀嚼性在腌制过程中呈现先增大后减少的趋势,以硬度为例,在腌制初始时,新鲜鸭蛋黄熟制后的硬度为272.89 g,随着腌制的进行,不同腌制组的蛋黄硬度均达到最大,其中盐水腌制组为494.21 g,水提物组为458.65 g。而在腌制25 d后硬度又会呈现逐渐减少且直至腌制结束( $p < 0.05$ ),腌制完成时盐水腌制组蛋黄硬度为263.23 g,水提物为228.87 g,同时胶黏性、咀嚼性也有类似的趋势,其可能的原因是,腌制前期盐的进入促使蛋黄凝胶的形成,当氯化钠浓度为1.5%时,蛋黄会从溶胶态转变成凝胶状态,形成凝胶网络结构<sup>[21]</sup>,从而使得其硬度、胶黏性、咀嚼性均增大,而随着腌制的进行,蛋黄在盐的作用下发生脱水变性使得蛋黄内部低密度脂蛋白的释放,出油率升高,油脂的渗出使得原本紧密结合的蛋白的结构变得松散。此外,也有文献指出在腌制后期,因为高浓度 $Na^+$ 的进入取代了钙磷桥中的二价 $Ca^{2+}$ 使得钙磷桥的破坏,使得原本紧密结合的脂蛋白与卵黄高磷蛋白解离释放<sup>[22]</sup>,聚集于蛋黄中的颗粒因此会被破坏,最终导致蛋黄的硬度、胶黏性、咀嚼性均减少。同时从表1中可以看出,蛋黄的弹性、内聚力、回复性随着腌制时间的延长呈显著性下降( $p < 0.05$ ),两个腌制组的弹性由最初的1.00降至约0.41,回复性由0.75降至约0.20,内聚力由0.88降至0.47,并且在实验过程中也不难发现,腌制后期熟制后的蛋黄具有松沙质地,受挤压后回复性明显变差,而造成蛋黄弹性、内聚力、回复性变差的原因很大程度上是与蛋黄在腌制过程中渗出的脂质有关, Sirvente H 和 Xu L 用透射扫描电镜对咸蛋黄进行表征,发现这些渗出的油脂大都存在于已形成的凝胶网络结构<sup>[23,24]</sup>,而当油脂进入凝胶网络结构中时可能会降低了蛋黄的弹性、回复性等。两个腌制组咸蛋黄成熟时(35 d)的质构并没有显著差异( $p > 0.05$ ),各指标均处于同一水平,这表明添加了水提物腌制的咸蛋黄仍保持其原有的质构特性。

接上页

内聚力	盐水组	0.88±0.03 <sup>a</sup>	0.87±0.02 <sup>Aa</sup>	0.80±0.01 <sup>B<sup>ab</sup></sup>	0.75±0.02 <sup>ABc</sup>
	水提物组		0.86±0.02 <sup>Aa</sup>	0.85±0.00 <sup>Aa</sup>	0.74±0.02 <sup>Ab</sup>
回复性	盐水组		0.65±0.03 <sup>Ab</sup>	0.58±0.05 <sup>Ac</sup>	0.46±0.03 <sup>Ad</sup>
	水提物组	0.75±0.03 <sup>a</sup>	0.64±0.07 <sup>Ab</sup>	0.63±0.02 <sup>Ab</sup>	0.50±0.02 <sup>Ac</sup>
弹性	盐水组		1.00±0.02 <sup>e</sup>	0.91±0.08 <sup>Ad<sup>e</sup></sup>	0.84±0.01 <sup>Ac<sup>d</sup></sup>
	水提物组		1.04±0.06 <sup>Ba</sup>	0.99±0.00 <sup>B<sup>b</sup></sup>	0.77±0.02 <sup>Ac</sup>
指标	样品	腌制时间/d			
		25	30	35	
硬度/g	盐水组	494.21±35.20 <sup>Aa</sup>	459.99±47.08 <sup>Ab</sup>	263.23±41.14 <sup>Ad</sup>	
	水提物组	431.59±27.57 <sup>Aa</sup>	396.21±55.31 <sup>Ab</sup>	228.87±37.18 <sup>Ad</sup>	
胶黏性/g	盐水组	385.09±34.72 <sup>Aa</sup>	267.27±24.33 <sup>Ab</sup>	128.67±20.91 <sup>Ac</sup>	
	水提物组	316.17±9.03 <sup>Bb</sup>	231.92±9.01 <sup>Ac</sup>	120.96±27.97 <sup>Ad</sup>	
咀嚼性/(g·mm)	盐水组	306.35±21.19 <sup>Aa</sup>	161.34±39.53 <sup>Ac</sup>	56.00±10.76 <sup>Ad</sup>	
	水提物组	223.12±2.60 <sup>Bd</sup>	103.82±6.03 <sup>Ac</sup>	66.12±4.39 <sup>Af</sup>	
内聚力	盐水组	0.72±0.07 <sup>Ac</sup>	0.58±0.08 <sup>Bd</sup>	0.47±0.03 <sup>Ac</sup>	
	水提物组	0.72±0.01 <sup>Ab</sup>	0.51±0.02 <sup>Ac</sup>	0.48±0.04 <sup>Ac</sup>	
回复性	盐水组	0.37±0.06 <sup>Ac</sup>	0.29±0.04 <sup>Af</sup>	0.20±0.02 <sup>Ag</sup>	
	水提物组	0.37±0.01 <sup>Ad</sup>	0.22±0.01 <sup>Be</sup>	0.21±0.03 <sup>Ac</sup>	
弹性	盐水组	0.74±0.10 <sup>Ac</sup>	0.57±0.11 <sup>Ab</sup>	0.44±0.04 <sup>Aa</sup>	
	水提物组	0.70±0.02 <sup>Ad</sup>	0.47±0.03 <sup>Be</sup>	0.41±0.02 <sup>Af</sup>	

注：不同小写字母代表同一腌制条件不同腌制时间下有显著性差异；不同大写字母代表不同腌制条件同一腌制时间下有显著性差异。 $p < 0.05$  时表示有显著性差异。下表同。

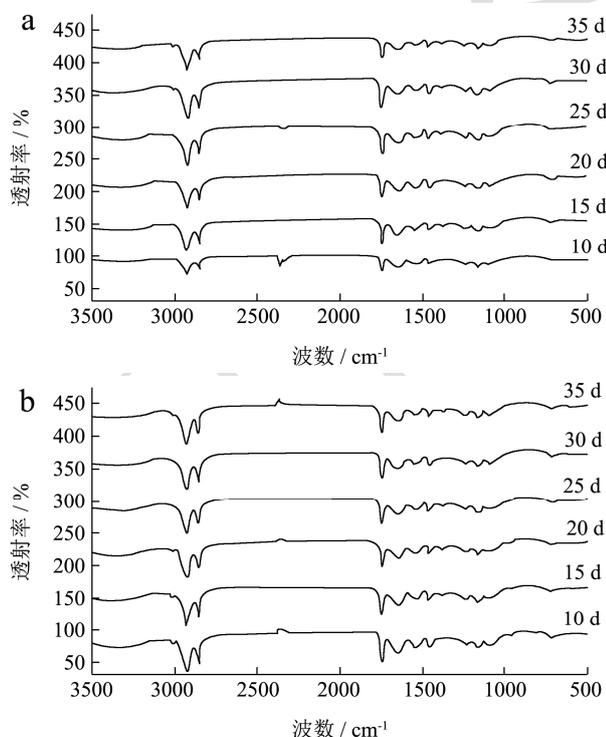


图4 两个腌制组蛋黄蛋白质的傅里叶红外分析

Fig.4 FT-IR analysis of protein structures of egg yolk between two groups

注：a：盐水腌制组；b：水提物腌制组。

## 2.5 蛋黄蛋白质 FT-IR 的变化

图4中显示了不同腌制组的蛋黄傅立叶红外结构的变化。已有文献报道，在 $2854\text{ cm}^{-1}$ 和 $2924\text{ cm}^{-1}$ 处会出峰，因为亚甲基的非对称振动，在腌制过程中随着食盐进入，油脂会渗出，从而造成新鲜的咸蛋黄与熟制后的咸蛋黄在 $2854\text{ cm}^{-1}$ 处存在差异<sup>[24,25]</sup>，由图可知，不同的腌制处理组在 $400\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ 间无明显峰位置的变化。蛋黄在腌制过程会逐渐由半流动态转变成半固态直至固态，这主要是因为蛋黄中天然蛋白质分子发生了结构上的改变，如蛋白质结构中的次级键被破坏，肽链结构被打开，从而使原本规则有序的结构转变成松散的结构。蛋黄在腌制过程中使得蛋白结构发生变化的主要是受到盐类的影响。表2是傅里叶红外数据经二阶导、分峰处理后得到的蛋黄蛋白质的二级结构的变化，其中 $1600\sim 1639\text{ cm}^{-1}$ 归于 $\beta$ -折叠成分， $1640\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ 归于无规卷曲成分， $1651\sim 1660\text{ cm}^{-1}$ 归于 $\alpha$ -螺旋成分， $1661\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ 归于 $\beta$ -转角成分<sup>[26]</sup>，从表中数据可以看出，盐水腌制组的蛋白二级结构中 $\beta$ -折叠成分在腌制20 d后呈现显著增大的趋势，在25 d时达到最大，最大值为38.92%，而在35 d时又显著减小 ( $p < 0.05$ )，减少至32.10%。水提物腌制组的蛋

白二级结构中β-折叠成分在25 d时也达到最大,含量为41.71%,与盐水腌制组有显著差异( $p < 0.05$ ),在后续腌制过程中又显著减小,减少至34.33%。在腌制期间不同腌制组的β-折叠成分总体均呈现先增大而后减少的变化趋势。β-折叠的增加通常意味着蛋白质与脂质分子之间的相互作用加强<sup>[24]</sup>,咸蛋在腌制过程中因为盐含量的增加对蛋黄颗粒的破坏,蛋黄颗粒变小,脂质球变得多而小,使得出油率的增加,因而可能增加了蛋白质分子与脂质分子之间的相互作用力,且可以看出在腌制至25 d后,水提物腌制组的β-折叠略高于盐水腌制组,这与水提物腌制组的出油率在25 d后高于盐水腌制组是相对应的。α-螺旋结构在不同腌制

组的25 d时均发生了显著减少( $p < 0.05$ ),盐水腌制组降至13.92%,水提物腌制组降至12.36%,而在后续腌制过程中又显著增大,盐水腌制组增大至27.61%,水提物腌制组增大至26.35%,其可能的原因是α-螺旋结构与凝胶结构的形成有关<sup>[27]</sup>,在25 d时发生减小使得蛋黄形成了致密的凝胶网络结构。β-转角结构在不同腌制组中都呈现随着腌制时间的延长先增大再减小的趋势,这有可能是因为腌制导致蛋白质的变性以及形成了聚集体有关,因为在腌制后期形成了大量的游离脂质,脂质分子可能重新与蛋白分子通过疏水相互作用发生了结合,从而形成了脂质蛋白聚集体<sup>[28]</sup>。

表2 两组咸蛋黄中蛋白质二级结构含量的比较

Table 2 Comparison of protein secondary structure content in salted egg yolk between two groups

指标	样品	腌制时间/d					
		10	15	20	25	30	35
1600~1639cm <sup>-1</sup> β-折叠/%	盐水组	33.91±2.43 <sup>Ab</sup>	31.98±0.35 <sup>Ab</sup>	36.07±0.85 <sup>Aab</sup>	38.92±0.65 <sup>Ba</sup>	38.35±4.28 <sup>Aa</sup>	32.10±1.08 <sup>Ab</sup>
	水提物组	31.48±1.93 <sup>Ab</sup>	32.48±5.51 <sup>Ab</sup>	34.56±2.03 <sup>Ab</sup>	41.71±1.14 <sup>Aa</sup>	40.42±0.60 <sup>Aa</sup>	34.33±0.97 <sup>Ab</sup>
1640~1650 cm <sup>-1</sup> 无规卷曲/%	盐水组	12.39±1.15 <sup>Aab</sup>	12.52±0.08 <sup>Aab</sup>	11.20±0.69 <sup>Ab</sup>	13.47±0.91 <sup>Aab</sup>	14.42±2.63 <sup>Aa</sup>	14.01±0.60 <sup>Ba</sup>
	水提物组	13.75±1.26 <sup>Aab</sup>	12.10±2.78 <sup>Ab</sup>	12.31±0.25 <sup>Ab</sup>	13.14±0.36 <sup>Aab</sup>	15.78±0.14 <sup>Aa</sup>	12.57±0.34 <sup>Ab</sup>
1651~1660 cm <sup>-1</sup> α-螺旋/%	盐水组	26.79±1.18 <sup>Aa</sup>	26.82±0.13 <sup>Aa</sup>	25.80±0.41 <sup>Aa</sup>	13.92±0.87 <sup>Ab</sup>	14.32±2.72 <sup>Ab</sup>	27.61±1.14 <sup>Aa</sup>
	水提物组	29.02±2.80 <sup>Aa</sup>	27.16±2.81 <sup>Aa</sup>	27.18±0.84 <sup>Aa</sup>	12.36±0.51 <sup>Ac</sup>	16.66±0.34 <sup>Ab</sup>	26.35±0.57 <sup>Aa</sup>
1661~1700 cm <sup>-1</sup> β-转角/%	盐水组	26.97±0.09 <sup>Ac</sup>	28.68±0.52 <sup>Ab</sup>	26.94±0.25 <sup>Ac</sup>	33.70±1.06 <sup>Aa</sup>	26.24±0.20 <sup>Ac</sup>	26.27±0.67 <sup>Ac</sup>
	水提物组	25.75±2.12 <sup>Ab</sup>	27.84±1.64 <sup>Ab</sup>	25.96±3.12 <sup>Ab</sup>	31.89±1.95 <sup>Aa</sup>	27.14±0.45 <sup>Ab</sup>	26.75±0.10 <sup>Ab</sup>

## 2.6 蛋黄蛋白质 SDS-PAGE 图

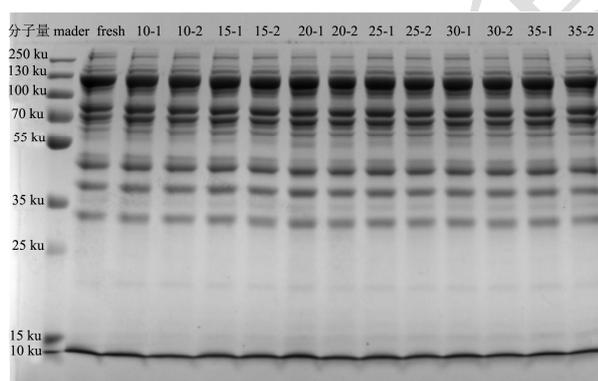


图5 蛋黄蛋白质的 SDS-PAGE 图

Fig.5 The SDS-PAGE pattern of protein in egg yolk

注:图中 fresh 表示新鲜蛋黄,10-1 表示第 10 d 时盐水腌制组,10-2 表示第 10 d 时水提物腌制组。

图5所示为腌制过程中盐水腌制组与水提物腌制组的蛋黄蛋白电泳图,已有文献报道咸蛋黄蛋白的分子量主要集中在30~220 ku<sup>[16]</sup>,且在蛋黄蛋白条带中221,203,122,93,85,68,62,55,21,20,17,5 ku等12条带主要为LDL脱辅基蛋白,110,78,47,31 ku为HDL脱辅基蛋白<sup>[29,30]</sup>,图5中可以明显

看出新鲜蛋黄与腌制处理后的蛋黄蛋白丰度在31,47,78,85,120 ku处较高,其中85、120 ku为LDL脱辅基蛋白,31,47,78 ku为HDL脱辅基蛋白。且从第2泳道的0 d蛋黄到腌制至13和14泳道的35 d蛋黄蛋白在分子量分布上没有显著性差异,这说明随着腌制的进行以及经过不同腌制工艺的处理,虽然对蛋黄蛋白的二级结构产生了影响,但均未对蛋白质的肽链结构造成破坏,腌制过程中蛋白质并未发生肽链的断裂与聚集<sup>[31]</sup>。

## 3 结论

本研究通过向盐水中复配稻秸灰水提物,初步探究了水提物腌制对咸蛋的出油率、流变学特性、质构特性、蛋黄蛋白结构的影响。研究表明:咸蛋黄在整个腌制过程可分为两个阶段,第一阶段为0 d~25 d,在此阶段,随着含盐量的增加,蛋黄颗粒逐渐被破坏,α-螺旋结构含量显著下降( $p < 0.05$ ),从29.02%下降至12.36%,促使蛋黄内部形成致密的凝胶网络结构,从而使得蛋黄的硬度、咀嚼性和胶黏性都显著增大。第二阶段为25 d~35 d,随着腌制的进行,蛋黄的出油率显著上升且水提物腌制组的出油率较大

( $p < 0.05$ ), 由腌制初期的 2.23% 增至 20.13%, 导致蛋黄的硬度、咀嚼性和胶黏性逐渐减少,  $\beta$ -折叠在此阶段显著增大, 最大至 41.17%, 油脂渗出形成了大量游离脂质分子, 增强了脂质分子与蛋白质分子的相互作用力。本研究仅初步探究了稻秸灰水提物对咸蛋腌制的影响, 后续试验中可对稻秸灰水提物成分如何影响咸蛋腌制作出探讨。

## 参考文献

- [1] 吴玲, 孙静, 乐立强, 等. KCl 部分替代 NaCl 腌制咸蛋效果的比较研究[J]. 食品科学, 2011, 32(13): 5-10  
WU Ling, SUN Jing, LE Li-qiang, et al. Effect of potassium chloride as partial sodium chloride substitution in salted duck eggs [J]. Food Science, 2011, 32(13): 5-10
- [2] Chi S P, Tseng K H. Physicochemical properties of salted pickled yolks from duck and chicken eggs [J]. Journal of Food Science, 1998, 63(1): 27-30
- [3] 邵萍, 刘会平, 邹乾, 等. 酸浸减压法腌制咸蛋与传统咸蛋的对比[J]. 食品工业科技, 2017, 38(18): 8-13  
SHAO Ping, LIU Hui-ping, ZOU Qian, et al. The contrast of salted eggs produced by soaking in acid combined with reduced pressure vacuum technology and the traditional method of brine immersion [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(18): 8-13
- [4] Kaewmanee T, Benjakul S, Visessanguan W. Effect of acetic acid and commercial protease pretreatment on salting and characteristics of salted duck egg [J]. Food & Bioprocess Technology, 2012, 5(5): 1502-1510
- [5] Wang X, Gao Z, Xiao H, et al. Enhanced mass transfer of osmotic dehydration and changes in microstructure of pickled salted egg under pulsed pressure [J]. Journal of Food Engineering, 2013, 117(1): 141-150
- [6] 杨哪, 金亚美, 徐悦, 等. 磁电辅助快速腌制咸鸭蛋的工艺[J]. 农业工程学报, 2015, 31(21): 295-300  
YANG Na, JIN Ya-mei, XU Yue, et al. Processing of rapid salting on duck eggs by using magneto electric-assisted method [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2015, 31(21): 295-300
- [7] Yang N, Jin Y, Xu Y, et al. Effect of pressure cooking on physicochemical properties of salted eggs [J]. Rsc Advances, 2016, 6(99): 97089-97095
- [8] Kaewmanee T, Benjakul S, Visessanguan W. Effect of salting processes on chemical composition, textural properties and microstructure of duck egg [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 89(4): 625-633
- [9] 黄娟, 林捷, 郑华, 等. 腌制方法对鸭蛋黄成分变化及品质影响[J]. 食品科技, 2012, 37(4): 60-64  
HUANG Juan, LIN Jie, ZHENG Hua, et al. Effect of salting processing on composition and quality of duck yolk under different method [J]. Food Technology, 2012, 37(4): 60-64
- [10] 潘康, 冯泉, 李蓉, 等. 盐水法和包灰法腌制咸蛋理化性质的比较[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(4): 542-548  
PAN Kang, FENG Xiao, LI Rong, et al. Study on chemical and physical properties of duck egg of saline salting and plant ash salting [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2011, 30(4): 542-548
- [11] GB/T 5009.3-2016, 食品中水分的测定[S]  
GB/T 5009.3-2016 Determination of moisture content in food [S]
- [12] 孙秀秀, 何立超, 杨海燕, 等. 间歇超声辅助加快咸蛋腌制速度工艺优化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(22): 204-211  
SUN Xiu-xiu, HE Li-chao, YANG Hai-yan, et al. Intermittent ultrasound assisted in speeding up the pickling speed of salted eggs [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(22): 204-211
- [13] Lai K M, Chung W H, Jao C L, et al. Oil exudation and histological structures of duck egg yolks during brining [J]. Poultry Science, 2010, 89(4): 738-744
- [14] Kaewmanee T, Benjakul S, Visessanguan W. Effects of salting processes and time on the chemical composition, textural properties, and microstructure of cooked duck egg [J]. Journal of Food Science, 2015, 76(2): S139-147
- [15] 王红妮, 刘会平, 刘平伟, 等. 糟蛋减压加工过程中蛋黄蛋白质二级结构的变化研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(6): 1262-1265  
WANG Hong-ni, LIU Hui-ping, LIU Ping-wei, et al. Changes in yolk protein secondary structure of the preserved egg in wine during low pressure-vacuum processing [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(6): 1262-1265
- [16] Kaewmanee T, Benjakul S, Visessanguan W. Changes in chemical composition, physical properties and microstructure of duck egg as influenced by salting [J]. Food Chemistry, 2009, 112(3): 560-569
- [17] Xu L, Zhao Y, Xu M, et al. Effects of salting treatment on the physicochemical properties, textural properties, and microstructures of duck eggs [J]. Plos One, 2017, 12(8): 1-17
- [18] 刘良忠, 文友先, 张声华, 等. 几种食品添加剂与香辛料对咸蛋加工的影响[J]. 食品工业科技, 2003, 24(1): 48-50  
LIU Liang-zhong, WEN You-xian, ZHANG Sheng-hua, et al.

- Effects of several food additives and spices on the processing of salted eggs [J]. Science and Technology of Food industry, 2003, 24(1): 48-50
- [19] Ai M M, Guo S G, Zhou Q, et al. The investigation of the changes in physicochemical, texture and rheological characteristics of salted duck egg yolk during salting [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 88: 119-125
- [20] Navidghasemizad S, Temelli F, Wu J. Physicochemical properties of leftover egg yolk after livetins removal [J]. LWT- Food Science and Technology, 2014, 55(1): 170-175
- [21] Kaewmanee T, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Effect of sodium chloride and osmotic dehydration on viscoelastic properties and thermal-induced transitions of duck egg yolk [J]. Food & Bioprocess Technology, 2013, 6(2): 367-376
- [22] Cordobes F, Partal P, Guerrero A. Rheology and microstructure of heat-induced egg yolk gels [J]. Rheologica Acta, 2004, 43(2): 184-195
- [23] Sirvente H, Beaumal V, Gaillard C, et al. Structuring and functionalization of dispersions containing egg yolk, plasma and granules induced by mechanical treatments [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(23): 9537-9544
- [24] Xu L, Zhao Y, Xu M, et al. Changes in aggregation behavior of raw and cooked salted egg yolks during pickling [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 80: 68-77
- [25] Guillen M D, Ruiz A, Cabo N. Study of the oxidative degradation of farmed salmon lipids by means of Fourier transform infrared spectroscopy. Influence of salting [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2004, 84(12): 1528-1534
- [26] 张秋会,黄现青,李苗云,等.傅里叶红外光谱法研究肌肉蛋白质的二级结构[J].食品与发酵工业,2015,41(10):247-251  
ZHANG Qiu-hui, HUANG Xian-qing, LI Miao-yun, et al. Study on secondary structure of meat protein by FT-IR [J]. Food and Fermentation Industries, 2015, 41(10): 247-251
- [27] Berhe D T, Lawaetz A J, Engelsen S B, et al. Accurate determination of endpoint temperature of cooked meat after storage by Raman spectroscopy and chemometrics [J]. Food Control, 2015, 52: 119-125
- [28] 孙佳悦,钱方,姜淑娟,等.基于红外光谱分析热处理对牛乳蛋白质二级结构的影响[J].食品科学,2017,38(23):82-86  
SUN Jia-yue, QIAN Fang, JIANG Shu-juan, et al. Effect of heat treatments on the secondary structure of milk proteins analyzed by fourier transform infrared spectroscopy [J]. Food Science, 2017, 38(23): 82-86
- [29] Guilmineau F, Krause I, Kulozik U. Efficient analysis of egg yolk proteins and their thermal sensitivity using sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis under reducing and no reducing conditions [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(24): 9329-9336
- [30] Anton M. Egg yolk: structures, functionalities and processes [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2013, 93(12): 2871-2880
- [31] 郑华,彭辉,林捷,等.食盐对咸蛋黄蛋白质特性的影响[J].食品科学,2013,34(1):83-87  
ZHENG Hua, PENG Hui, LIN Jie, et al. Effect of salt on properties of salted yolk protein [J]. Food Science, 2013, 34(1): 83-87

---

(上接第 197 页)

- [26] Son S H, Jeon H L, Jeon E B, et al. Potential probiotic *Lactobacillus plantarum*, Ln4 from kimchi: Evaluation of  $\beta$ -galactosidase and antioxidant activities [J]. LWT - Food Science and Technology, 2017, 85: 181-161
- [27] S. Behera Sudhanshu, H. Panda Smita, et al. Statistical optimization of elephant foot yam (*Amorphophallus paeoniifolius*) lacto-pickle for maximal yield of lactic acid [J]. Food Science and Technology, 2018, 87: 342-350
- [28] Cho J H, Lee S J, Choi J J, et al. Chemical and sensory profiles of dongchimi, (Korean watery radish kimchi) liquids based on descriptive and chemical analyses [J]. Food Science & Biotechnology, 2015, 24(2): 497-506