

咸鸭蛋腌制过程中蛋黄凝聚变化分析

陈颜红^{1,2}, 王修俊^{1,2*}, 于沛^{1,2}, 聂黔丽^{1,2}

(¹ 贵州大学酿酒与食品工程学院 贵阳 550025

² 贵州省发酵工程与生物制药重点实验室 贵阳 550025)

摘要 为研究贵州三穗特色咸鸭蛋腌制过程中,蛋黄凝聚过程的变化及关键控制点,采用低盐腌制,检测氯化钠作用下,蛋黄凝聚部分的蛋白质相关指标的变化。结果表明:腌制 8 d 时,离子键及疏水相互作用增强,氢键及二硫键减弱, α -螺旋与 β -折叠的占比降低, γ -随机结构与 β -转角的占比增加,蛋白质二级结构发生变化,蛋白质发生变性,NaCl 改变了低密度脂蛋白结构,蛋黄的蛋白质-脂肪乳化体系被破坏,未发生聚集形成凝胶结构。腌制 12~16 d 时,离子键强度减弱,氢键、疏水作用、二硫键含量增加, α -螺旋结构占比继续下降, γ -随机、 β -折叠、 β -转角结构占比均略有上升,蛋黄蛋白质分子发生聚集,并出现较明显的松沙口感,出油量在 40% 以上。腌制 16~28 d 时,低密度脂蛋白结构继续更新,蛋黄水分继续流失,为脂质分子聚集形成油滴提供了更有利的环境,蛋黄的脱水与蛋白质凝胶的结合使蛋黄最终成为球状凝聚体。观察腌制过程中蛋黄凝聚部分的微观结构,发现蛋黄颗粒逐渐减小,排列紧密,且出现交联作用,这是腌制咸蛋黄产生特殊的松沙感的主要原因。结论:腌制 12~16 d 是咸蛋黄形成独特松沙口感及渗油现象的关键阶段,蛋白质分子的聚集有利于油脂渗出。

关键词 咸蛋; 腌制; 蛋黄凝聚; 油脂; 蛋白质化学

文章编号 1009-7848(2023)04-0377-13 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2023.04.035

贵州三穗鸭是中国地方蛋系麻鸭优质品种,其与普通市售鸭蛋相比,具有蛋白质营养价值更高,维生素及微量元素更丰富的特点^[1]。咸蛋又名盐蛋,蛋白鲜嫩雪白,蛋黄呈橘红色,滋味鲜香独特,广受消费者喜爱^[2-3]。传统的盐水腌制法,为了提高蛋黄出油率,食盐用量较大,存在蛋白盐含量较高,口感差的情况,并且长期摄入高钠盐会导致人体出现高血压、中风等疾病^[4]。而灰包法和盐泥包裹法均存在污染环境、腌制不均匀等问题^[5]。咸蛋品质的好、坏主要由咸蛋黄品质决定^[6]。鸭蛋经过食盐腌制后,蛋黄体积缩小并凝聚成球体,熟制后蛋黄油脂渗出,呈现桔红色。Anton 等^[7]研究表明,蛋黄中含有丰富的蛋白质,为食盐诱导凝胶提供了基础。食盐向蛋黄扩散后改变蛋黄蛋白质性

质,这是蛋黄松沙出油的必要条件。Harrison 等^[8]研究得出低离子(NaCl)强度作用下蛋白质分子存在相互作用,NaCl 使蛋白质周围的水分子重排,水分子会优先与 Na⁺ 结合,使疏水作用增强,从而导致蛋白质分子发生聚集。目前咸蛋的降盐腌制技术还不理想,主要原因是低盐腌制过程中蛋黄凝聚机制尚不明确,缺乏理论依据和研究关键点^[9-10]。本团队前期进行咸蛋低盐腌制控制技术的研发,得到两段式腌制工艺,生产的咸蛋蛋白咸度可控、蛋黄品质优良。为优化咸蛋降盐腌制技术,提高产品质量,有必要对蛋黄凝聚机制进行深入研究。

本研究以贵州三穗鸭蛋为原料,在咸蛋两段式腌制工艺的基础上,对 NaCl 作用下蛋黄凝聚部分的蛋白质进行分析,探究蛋黄凝聚过程的变化及关键控制点,为低盐腌制技术改善咸蛋品质提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂 试验材料:贵州三穗鸭蛋,贵州省三穗县翼宇鸭业有限公司。

试验试剂:硫酸铜、盐酸、氢氧化钠、硫酸锌

收稿日期: 2022-04-28

基金项目: 贵州省科技创新人才团队项目(黔科合平台人才[2020]5004); 中央引导地方科技发展专项(黔科中引地[2018]4020); 三穗县科技项目([2016]003); 科技平台及人才团队计划项目(黔科合平台人才[2018]5251); 贵州省发酵工程与白酒酿造人才基地项目(黔人领发[2018]3 号)

第一作者: 陈颜红,女,硕士生

通信作者: 王修俊 E-mail: 775298123@qq.com

(分析纯),成都金山化学试剂有限公司;酒石酸钾钠、亚铁氰化钾(分析纯),天津市北联精细化学品开发有限公司;Tris-HCl,北京 Solarbio 科技有限公司;溴化钾(光谱级),成都金山化学试剂有限公司;乙醇、戊二醛(分析纯),天津市富宇精细化工有限公司; β -巯基乙醇、考马斯亮蓝 G-250、考马斯亮蓝 R-250(分析纯),美国 Sigma 公司;磷酸二氢钠(分析纯),天津市大茂化学试剂厂;磷酸氢二钠(分析纯),天津市光复科技发展有限公司;乙酸锌、尿素、乙二胺四乙酸、甘氨酸、2-硝基苯甲酸、(分析纯),贵州罗德生物科技有限公司;氯化钠(食品级),众力佳诚超市。

1.1.2 试验设备与仪器 BS-30KA 磁力搅拌器,上海衡平仪器仪表有限公司;XHF-D 高速分散器,上海科准仪器有限公司;HH-1 电子恒温水浴锅,天津市泰斯特仪器有限公司;TMS-PRO 质构仪,北京盈盛恒泰科技责任有限公司;SIGMA2-16K 高速离心机,德国西格玛公司;Varioskan Flash 多功能酶标仪,美国 Thermo Scientific 公司;GJ-10 真空冷冻干燥机,北京松源华兴科技发展有限公司;S-3400N 电子扫描显微镜,日本日立公司;L-8800 全自动氨基酸分析仪,Hitachi 公司;HP-2136 便携式色差仪,上海临嘉科教仪器有限公司;傅里叶红外光谱仪,美国 Thermo 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 咸蛋样品制备 工艺流程:三穗麻鸭蛋→洗净晾干→25%食盐溶液腌制 8 d→取出晾干→第 2 阶段腌制 20 d→取样检测

咸蛋腌制液配制(腌制液质量:三穗鲜鸭蛋质量=1:1):第 1 阶段腌制液为 25%的食盐溶液;第 2 阶段腌制液根据总质量的百分比计算,食盐 10%、香辛料质量分数 0.6%、白酒(56%Vol)体积分数 0.7%。

取样检测:第 1 阶段腌制时间 8 d,第 2 阶段时间 20 d。期间每 4 d 取样检测分析,样品于冰箱冷藏保存。

1.2.2 咸蛋氯化钠含量测定 参照《食品安全国家标准 食品中氯化物的测定》(GB 5009.44-2016)中的佛尔哈德法测定各腌制阶段咸蛋的氯化钠含量^[11]。

1.2.3 蛋黄水分测定 参照《食品安全国家标准

食品中水分的测定》(GB 5009.3-2016)中的直接干燥法对各腌制阶段蛋黄的水分进行测定^[12]。

1.2.4 蛋黄出油率测定 参照 Lai 等^[13]的方法,将各腌制阶段的蛋黄研磨均匀,取 3 g 样品于 35 mL 的正己烷-异丙醇(3:2)试剂中,室温均质 5 min。过滤后将其在 100 ℃水浴中蒸发浓缩后,在烘箱中 105 ℃烘干至恒重,烧杯的 2 次质量差值为总脂质质量。另取 3 g 样品于 35 mL 蒸馏水中,匀浆,室温 4 000 r/min 条件下离心 20 min,取上清液于 30 mL 正己烷-异丙醇溶液中,溶解悬浮物,摇匀静止分层 5 min。将上层脂质层转移至烧杯中,沸水浴蒸发浓缩后,在烘箱中 105 ℃烘干至恒重,烧杯的 2 次质量差值为游离脂质的质量。蛋黄出油率按公式(1)计算:

$$\text{蛋黄出油率} = \frac{\text{游离脂质质量(g)}}{\text{总脂质质量(g)}} \times 100\% \quad (1)$$

1.2.5 蛋黄色度测定 将腌制完成的咸蛋在 100 ℃水浴中熟制后,取蛋黄边缘部分(约 1 cm×1 cm×1 cm),使用手持式色差仪测定各腌制阶段蛋黄样品。其中, a 表示红度值; b 表示黄度值; L 表示亮度值。

1.2.6 蛋黄硬化率及蛋黄指数的测定 将蛋黄在滤纸上滚动以除去蛋清。测量蛋黄的总质量(M_0)。用刀切开蛋黄,用茶匙刮去可移动的内部蛋黄(软的或液体的)。测量外部(硬化)蛋黄(M_1)的质量。蛋黄的硬化率(X)按公式(2)计算:

$$X = \frac{\text{蛋黄硬化部分}(M_1)}{\text{蛋黄总质量}(M_0)} \times 100\% \quad (2)$$

将蛋黄静置于平板 5 min,待其稳定,使用游标卡尺测量蛋黄高度(mm)及蛋黄直径(mm)。每次取 3 个鸭蛋黄,每个蛋黄测定 3 次,求平均值。按公式(3)计算:

$$\text{蛋黄指数} = \frac{\text{蛋黄高度}}{\text{蛋黄直径}} \quad (3)$$

1.2.7 蛋黄质构(TPA)的测定 将完整的咸蛋黄置于物性测定仪基台中心,选取 TPA 测定模式。设置测定参数为最大压缩量程 950 N,测试前速率为 5 mm/s,测试速率为 1 mm/s,测试后速率为 5 mm/s,发点负载 0.15 N,压缩比为 50%。其硬度、内聚性、弹性、胶黏性、咀嚼性由仪器配套软件得到。每组样品平行测定 6 次。

1.2.8 蛋黄可溶性蛋白含量测定 将牛血清蛋白(BSA) 配制为 0~100 $\mu\text{g/mL}$ 的 5 个梯度标准溶液,加入 0.1 mg/mL 考马斯亮蓝 G-250 染色液,在 595 nm 波长处测定吸光度,绘制标准曲线。取蛋黄样品 1 g 加 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲溶液(pH 6.5)50 mL 混合均匀,5 000 r/min 高速均质 2 min,10 000 r/min 高速离心 20 min,取上清液,测定在波长 595 nm 处的吸光度^[14]。蛋黄可溶性蛋白含量按公式(4)计算:

$$\text{蛋白质含量}(\text{mg/g}) = \frac{\rho \times V_T}{1000 \times m} \quad (4)$$

式中, ρ ——标准蛋白含量, $\mu\text{g/mL}$; V_T ——提取液总体积,mL; m ——样品质量,g。

1.2.9 蛋黄蛋白质化学键作用力的测定 参照 Zhao 等^[15]的方法稍作修改,根据凝胶样品在不同的化学键变形剂中的溶解性标识化学键的含量,将咸蛋蛋黄粉碎后,分别称取 4 份 1.0 g 样品与 A (0.6 mol/L NaCl)、B (0.6 mol/L NaCl+1.5 mol/L 尿素)、C(0.6 mol/L NaCl+8 mol/L 尿素)、D(0.6 mol/L NaCl+8 mol/L 尿素+0.5 mol/L β -巯基乙醇)4 种蛋白质变性溶剂混合摇匀,并于高速分散器 6 000 r/min 下高速均质 30 s,4 000 r/min 离心 20 min 后取上清液,采用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量。其中 A 溶剂蛋白质含量、AB 溶剂中蛋白质含量之差、BC 溶剂中蛋白质含量之差、CD 溶剂中蛋白质含量之差依次表示为离子键、氢键、疏水性相互作用、二硫键含量。每次取 3 个样品测试,每个样品测试 3 个平行值。

1.2.10 游离巯基(SH)含量测定 参照张晓维等^[16]的方法稍作修改,采用 Ellman 试剂测定咸蛋蛋黄凝聚部分中巯基的含量。取 3 g 切碎的样品与 27 mL 磷酸缓冲液 (pH 8.0)(1 mol/L 的 Tris-HCl)混合置于 50 mL 离心管中,3 000 r/min 均质 2 min,4 000 r/min 离心 20 min,测定上清液的蛋白浓度(C)。取 0.20 mL 上清液加入 2.80 mL 缓冲液(0.10 mol/L Tris,0.10 mol/L 甘氨酸,4.00 mmol/L 乙二胺四乙酸,pH 8.0)和 0.02 mL 的 Ellman 试剂(4 mg/mL DTNB 溶解于 Tris-甘氨酸缓冲液中)。最后在波长 412 nm 处测定上清液的吸光度。巯基含量按公式(5)计算:

$$\text{SH}(\mu\text{mol/g}) = \frac{(73.53 \times A_{412})}{C} \times D \quad (5)$$

式中,73.53——Ellman 试剂的摩尔消光系数; A_{412} ——样品在波长 412 nm 处的吸光度值; C ——样品质量浓度,mg/mL; D ——稀释倍数 15.01。

1.2.11 FT-IR 傅里叶变换红外光谱测定 参照于沛等^[17]的方法,取腌制到一定时间(0~28 d)的咸蛋蛋黄凝聚部分,冻干后研磨备用。取 1 mg 研磨后样品与 150 mg 溴化钾充分混合后再次研磨,用红外压片机压制成薄圆片。使用红外光谱扫描仪对样品扫描,扫描前均进行 KBr 背景扣除。分辨率为 4 cm^{-1} ,收集波数范围为 4 000~400 cm^{-1} ,扫描次数 16。利用 OmnicV8.0 处理软件处理数据,并绘制光谱图,进行自动基线校正,做傅里叶去卷积和二阶导数谱。在 Origin 2018 软件中使用 Gausse 函数多次拟合二阶导数谱和傅里叶去卷积谱至残差值最小,手动选择各子峰的峰位,将重叠的不同谱带完全分开。确定各子峰值和不同蛋白质二级结构的对应关系后,根据其峰面积的占比表示蛋白质二级结构的相对百分含量。

1.2.12 腌制过程中咸蛋蛋黄凝胶微观结构观测

将蛋黄部分切成 1.0 cm \times 0.5 cm \times 0.5 cm 大小的立方体薄片,置于磷酸盐缓冲液(pH 7.2)配制的 2.5%戊二醛固定过夜,固定液须浸没样品。配制 4 个梯度(体积分数为 60%,80%,90%,100%)的乙醇溶液,然后依次对样品脱水 10 min 后进行冷冻干燥,使用双层玻璃纸胶带将其安装在 SEM 短桩上,存根和样品镀金,将样品置于扫描电镜下观察其蛋黄凝胶微观结构。

1.2.13 数据分析 采用 Excel 2019、SPSS 24.0 对数据进行统计分析,Origin 2019 绘制图形。且用 SPSS 24.0 软件对数据进行 ANOVA 差异性分析($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 腌制过程中咸蛋中的氯化钠含量变化分析

由图 1 腌制过程中氯化钠含量变化可以看出,腌制前 8 d 为高盐腌制阶段,主要针对蛋白的腌制,使蛋白中的氯化钠含量快速升高,加快腌制速率。在第 2 腌制阶段,腌制液盐浓度降低,在一定的时间内控制了蛋白中氯化钠的渗入量。另一

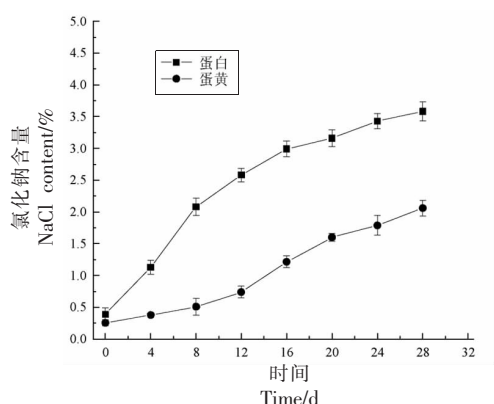


图1 腌制过程中氯化钠含量变化

Fig.1 Changes in sodium chloride content during pickling

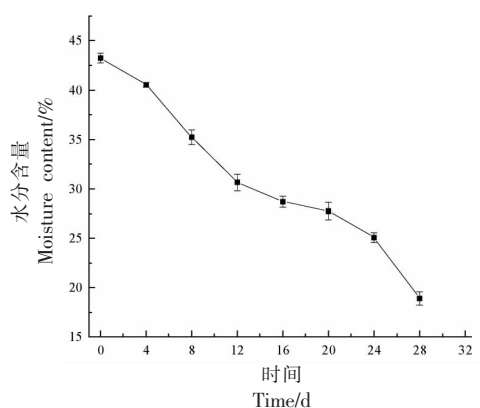


图2 腌制过程中蛋黄水分变化

Fig.2 Changes in egg yolk moisture during pickling

方面,由于蛋清与蛋黄仍然存在较大的氯化钠浓度差,因此可保证蛋黄中的氯化钠含量继续上升,使蛋黄保持较好的腌制效果。

2.2 腌制过程中蛋黄中的水分变化分析

由图2可知,蛋黄中的水分含量在腌制过程中显著下降。水分含量由新鲜鸭蛋黄的43.23%降低至17.50%,降低了25.73%。结合图1可知,腌制过程中,蛋黄中氯化钠含量与水分含量呈负相关,且在腌制8d后水分降低速率加快,原因是腌制第2阶段蛋黄中的氯化钠含量上升速率加快,使蛋黄中的水分向蛋清迁移。

2.3 腌制过程中蛋黄硬化率及蛋黄指数变化分析

观察未腌制蛋黄与两个腌制阶段结束后蛋黄状态的变化如图3~5所示。

如图4所示,蛋黄在腌制8d后体积缩小,形状逐渐偏向球体,在切开后备外层由液体状态转变为固体凝胶状,内部仍然呈现黏液状。如图5所示,在腌制28d后,蛋黄缩小至球状,切开后备观察到蛋黄基本固化。蛋黄逐渐凝聚固化是氯化钠的渗入与水分的流失共同作用的结果。检测整个腌制过程中的硬化率与蛋黄指数的结果如图6所示。

由图6可知,腌制初期,蛋黄的固化开始于卵黄膜附近,并朝蛋黄中心延伸,蛋黄内部仍为液态,随着外部咸蛋黄的进一步脱水而使黏稠度升高,当蛋黄更加浓缩时,包括脂蛋白在内的蛋白质分子之间可能产生相互作用,从而导致形成凝胶态。腌制28d后,蛋黄由液体状态的椭球型转变



图3 新鲜蛋黄

Fig.3 Fresh egg yolk

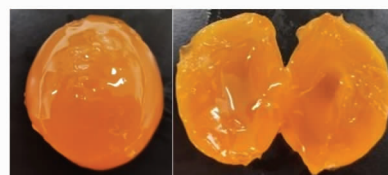


图4 腌制8d(第1阶段)后的蛋黄状态

Fig.4 Egg yolk state after 8 days of marinating

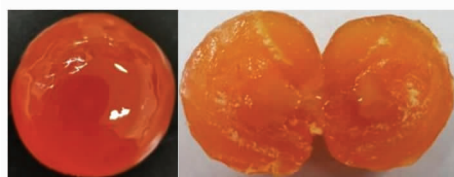


图5 腌制28d后的蛋黄状态

Fig.5 Egg yolk state after 28 days of marinating

为凝聚状球体。

2.4 腌制过程中蛋黄出油率与色泽变化分析

腌制过程中的出油率及色度值变化见图7、图8。

出油率与蛋黄色泽变化直接相关,出油率高则蛋黄红度值(a 值)越高,蛋黄越接近橘红色。如图7所示,腌制前4d,蛋黄出油率变化不显著,分析原因为前4d蛋黄氯化钠渗入量极少。在腌

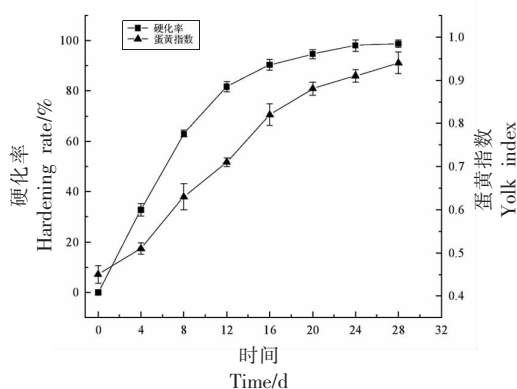


图 6 腌制过程中蛋黄硬化率与蛋黄指数的变化

Fig.6 Changes in egg yolk hardening rate and egg yolk index during the curing process

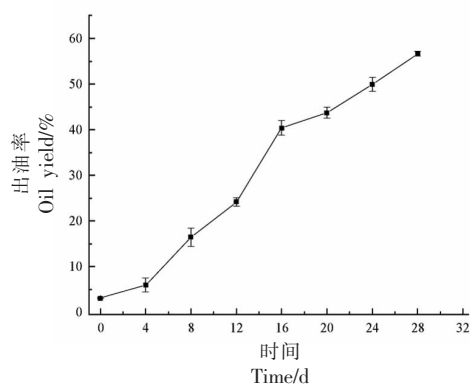


图 7 腌制过程中蛋黄出油率变化

Fig.7 Changes in the oil yield of egg yolks during the pickling process

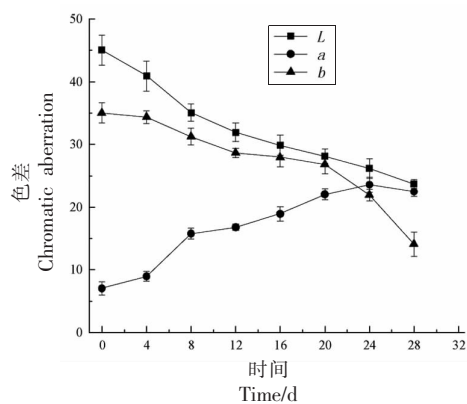


图 8 腌制过程中蛋黄色差变化

Fig.8 Change of egg yellow difference during the pickling process

制 4~8 d 过程中,蛋白经过前 4 d 的腌制与蛋黄快速形成较高的氯化钠浓度差,氯化钠渗入蛋黄的量增多,蛋黄从接近蛋白的外层颜色开始逐渐加

深,出油率逐渐升高。腌制 8 d 后为低盐腌制阶段,蛋黄出油率变化速率加快。腌制至 20 d 时可观察到明显的油脂渗出,此时出油率为 48.72%。继续腌制,出油率升高速率及红度值(a 值)下降速率减慢。腌制 28 d 后,蛋黄出油率为 65.60%,出油率比鲜鸭蛋黄提高了 60% 以上。蛋黄色泽由新鲜鸭蛋黄的明亮黄色,逐渐下降、变深、最终呈现桔红色,原因可能是鸭蛋黄中的脂溶性色素随着油脂的渗出而流出,且由于蛋黄水分含量的降低,脂溶性色素浓度增大,使蛋黄的颜色加深。

2.5 腌制过程中咸蛋蛋黄的质构(TPA)分析

腌制过程中咸蛋蛋黄的质构特性变化见图 9。

由图 9 可知,蛋黄的硬度、胶黏性、咀嚼性、内聚性在腌制前 16 d 呈上升趋势,在腌制第 16 天达到最大值,随后呈下降趋势。原因是在腌制前期蛋黄随着氯化钠含量的升高,不断脱水硬化,腌制 16 d 后蛋黄出油率升高至 43.72%,液体油脂在蛋黄球颗粒之间起到润滑作用,蛋黄口感松沙,故随着出油率的继续升高,蛋黄的硬度、胶黏性、咀嚼性、内聚性开始呈下降趋势。因此,此腌制工艺在腌制 16 d 时,蛋黄质构特性值开始下降,此时蛋黄的氯化钠含量在 1.2% 左右,出油率在 40%~45% 之间,蛋黄已经出现松沙细腻、入口鲜香的口感。

将质构特性与前文蛋黄的理化指标结果结合分析,在蛋黄腌制过程中从外层到内层发生凝聚,蛋黄状态由腌制前的黏稠状溶胶状态变为黏度增加,形成坚硬且富有弹性的球状凝聚体,硬化率为 98.72%。腌制过程中未凝聚的流体蛋黄部分在熟制后并未检测出油脂渗出,且色泽与未腌制蛋黄基本相似。咸蛋蛋黄的组成成分复杂且多样,主要成分为低密度脂蛋白(LDL)和卵黄球蛋白,占蛋黄干物质的 78%^[18]。初步推测,咸蛋腌制过程中油脂的渗出,与氯化钠的渗入和水分的流出后,改变了蛋黄蛋白质-脂肪体系结构有直接关系,由于低密度脂蛋白的结构改变,可使低密度脂蛋白体系释放出游离脂质。

2.6 腌制过程中可溶性蛋白含量变化分析

可溶性蛋白含量的标准曲线见图 10,腌制过程中可溶性蛋白含量变化见图 11。

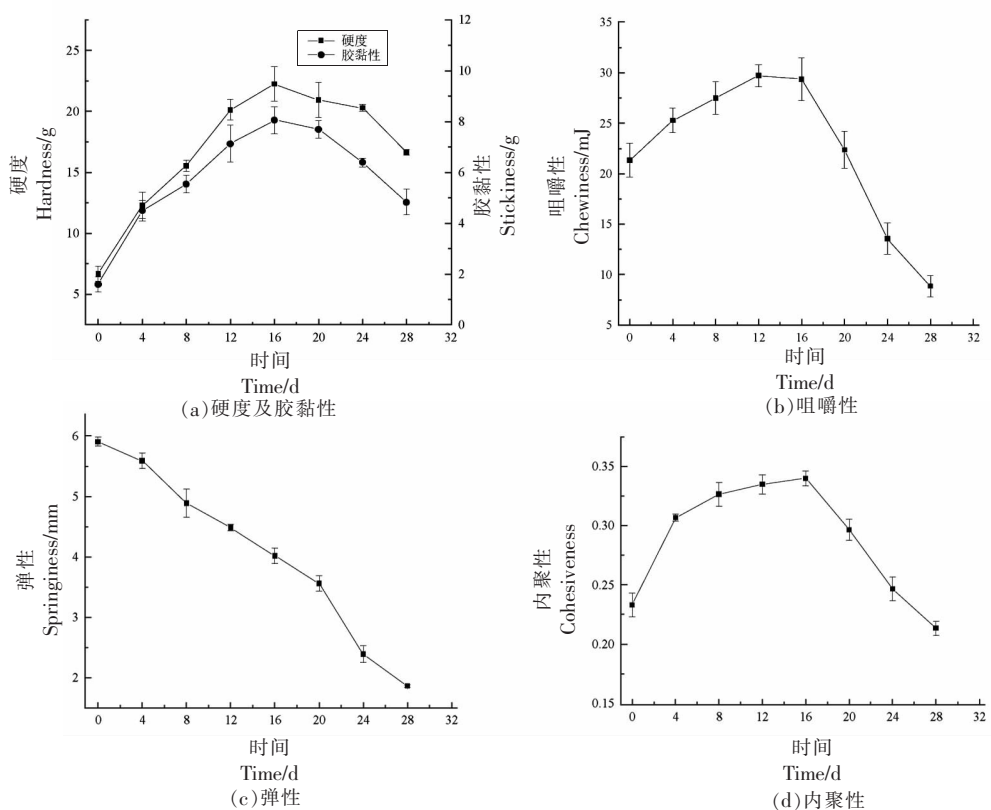


图9 腌制过程中咸蛋蛋黄质地变化

Fig.9 Changes in texture value of salted egg yolk during pickling

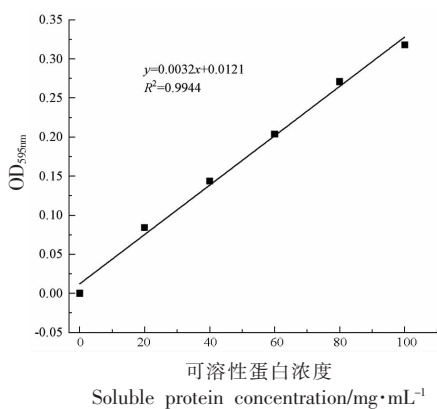


图10 可溶性蛋白标准曲线

Fig.10 Standard curve of soluble protein

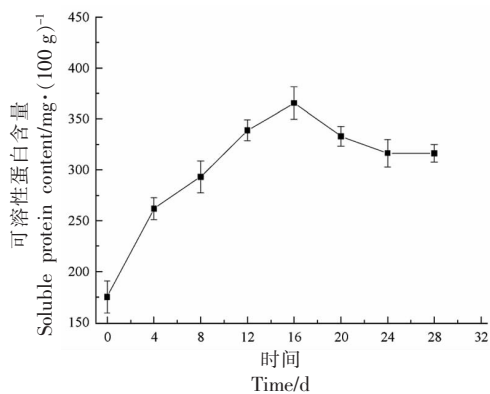


图11 蛋黄可溶性蛋白含量变化

Fig.11 Changes in soluble protein content

由图11可知,腌制过程中蛋黄可溶性蛋白含量呈先上升后下降,最后趋于稳定的趋势,在前4d上升速率最快。腌制前期可溶性蛋白含量与蛋黄中氯化钠含量呈正相关,说明随着盐离子的渗入,蛋白质发生了盐溶作用。研究发现盐溶作用的产生与蛋黄中的颗粒结构有关,蛋黄颗粒结构主要以高密度脂蛋白-卵黄高磷蛋白通过钙-磷桥连

接而成复合物的形式存在^[9]。随着NaCl含量的逐渐增加,Na⁺代替了蛋黄颗粒结构钙-磷桥中的Ca²⁺,破坏了蛋黄的颗粒结构,卵黄高磷蛋白被溶出。在腌制至16d时,可溶性蛋白含量达到最大值(365.5 mg/100 g),而后开始缓慢下降,说明蛋黄中氯化钠含量达到一定值时(此时蛋黄中氯化钠含量为1.16%),Cl⁻与带正电荷的蛋白质分子存在

相互作用,导致静电排斥力降低,使蛋白质分子间的疏水相互作用增强,疏水相互作用能促进蛋白质分子之间的相互作用,使蛋白质溶解度降低,从而降低了可溶性蛋白含量。

2.7 腌制过程中蛋白质化学键作用力分析

对腌制过程中蛋黄蛋白质化学键作用力的计算结果见表 1。

表 1 腌制过程中蛋黄分子间作用力变化 (mg/100 g)

Table 1 Changes in the force between egg yolk molecules during the pickling process (mg/100 g)

腌制时间/d	离子键	氢键	疏水作用	二硫键
0	74.97 ± 1.10 ^f	52.06 ± 0.97 ^a	8.24 ± 0.13 ^d	96.71 ± 1.24 ^a
4	131.35 ± 1.05 ^b	50.35 ± 1.79 ^a	10.86 ± 0.61 ^e	68.49 ± 0.96 ^c
8	164.77 ± 3.20 ^a	38.29 ± 0.85 ^b	13.75 ± 1.57 ^b	20.91 ± 0.81 ^e
12	105.19 ± 2.15 ^c	21.16 ± 0.98 ^c	14.56 ± 0.49 ^a	15.90 ± 1.01 ^f
16	83.22 ± 1.06 ^e	22.56 ± 0.67 ^c	16.26 ± 1.11 ^{ab}	17.06 ± 1.40 ^g
20	86.91 ± 1.21 ^d	21.02 ± 1.54 ^c	15.08 ± 1.30 ^{ab}	20.50 ± 1.20 ^f
24	83.78 ± 1.65 ^e	12.74 ± 0.63 ^e	14.15 ± 0.71 ^b	42.15 ± 1.55 ^d
28	82.82 ± 2.24 ^e	18.71 ± 1.09 ^d	10.32 ± 1.07 ^c	74.92 ± 1.02 ^b

注:同列不同肩标小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

如表 1 所示,蛋黄分子间不同作用力含量存在显著差异,离子键是被称为盐键的一种化学键,通过 2 个或多个原子或化学基团失去或获得电子而成为离子后形成^[20]。由表 1 可知,咸蛋在腌制过程中,离子键的相对含量呈先上升后下降至基本趋于稳定的趋势。咸蛋腌制 0~8 d,离子键含量上升至 164.77 mg/100 g,腌制 8~28 d,离子键含量下降。推测原因是前期 NaCl 由蛋清向蛋黄扩散,Na⁺能屏蔽带负电荷蛋白质分子间的静电相互作用,促进了离子键的产生。在腌制 8 d 后 NaCl 的渗入量与渗透速率增大及蛋白质变性,导致蛋白质表面的负电荷相互作用减小,离子键含量降低^[20-21]。

新鲜蛋黄的氢键为 52.06 mg/100 g,腌制 16 d 后降低至 22.56 mg/100 g。有研究表明,在咸蛋各腌制阶段,变化最为显著的二级结构为氢键,这是由于腌制成熟过程中蛋白质的 α 螺旋和 β 折叠结构含量下降导致^[22]。说明此时蛋黄蛋白质二级结构发生改变,蛋白质发生变性。对于蛋黄凝聚部分氢键的变化还需要结合 2.9 节蛋白质二级结构的变化结果分析。

咸蛋黄腌制过程中,疏水作用的化学键含量变化趋势为先增加后下降。腌制 16 d 时,疏水相互作用由 8.24 mg/100 g 增加至 16.26 mg/100 g。Denmat 等^[23]研究认为,食盐的诱导作用使蛋白质周围的水分重新排列,水分子会优先和 Na⁺结合,

蛋白质表面疏水性因此减弱,疏水相互作用增强。因此,这导致蛋白质分子间的相互作用强于蛋白质与溶剂之间的相互作用,从而使蛋白质分子产生聚集作用。

二硫键是指蛋白质分子内部 2 个半胱氨酸残基的巯基 (-SH) 通过脱氢氧化而结合形成的一种共价键^[24],是维持蛋白质结构稳定性的重要化学键。腌制的前 8 d,二硫键含量相较于未腌制的蛋黄降低了 87.68%,蛋白质的结构变化即变性速率较快。郑华等^[19]研究表明,腌制过程中随着蛋黄中氯化钠含量逐渐增加,在氯化钠的作用下,维持蛋白质空间结构的二硫键会发生断裂从而生成巯基。对于二硫键含量还需结合 2.8 节的巯基含量的变化结果分析。

综合分析蛋黄、蛋白质腌制过程中化学键的变化可知,腌制 12 d 时,离子键及疏水相互作用增强,氢键及二硫键减弱,蛋黄外层凝聚,故咸蛋黄在腌制前期,氯化钠的渗入改变了蛋白质的结构,蛋白质分子变性,然而并未发生聚集形成凝胶结构,推断原因为氯化钠为一价金属离子,离子强度较弱,且前期蛋黄中的氯化钠含量较低。腌制 12 d 时,蛋黄外层凝聚的主要原因是蛋黄脱水,使得蛋黄颗粒开始变得紧密而聚集。腌制 12 d 时,蛋黄出油率增加,说明蛋黄低密度脂蛋白结构的破坏是油脂渗出的必要条件。腌制 12~16 d,离子

键强度显著减弱,而氢键、疏水作用、二硫键含量呈上升趋势,随着 NaCl 渗透量的继续增加,在 Na^+ 作用下,蛋白质分子之间形成盐桥而促进凝胶网络的形成^[25-26]。新的化学键的生成说明蛋黄蛋白质分子发生聚集。

2.8 腌制过程中游离巯基(SH)含量分析

游离巯基的含量是表示蛋白质变性程度的指标之一^[27]。由图 12 可知,在咸蛋黄腌制过程中,凝胶部分游离巯基含量呈先增加后降低的趋势。此结果与 2.7 节的表 1 中二硫键含量的变化趋势相符。在腌制过程中,随着咸蛋蛋黄中氯化钠含量不断增加,使维持蛋白质空间结构的二硫键被破坏而生成巯基,并在 16 d 时达到最大值。这与郑华等^[19]的研究结果相似,其研究表明:在腌制过程中,蛋黄蛋白质中的巯基含量逐渐升高至第 3 周时达到最大值后转为逐渐降低趋势。推断原因为:蛋黄由于水分含量降低而导致脱水,从而流动性降低,蛋黄体系蛋白质浓度升高,并且蛋黄中氯化

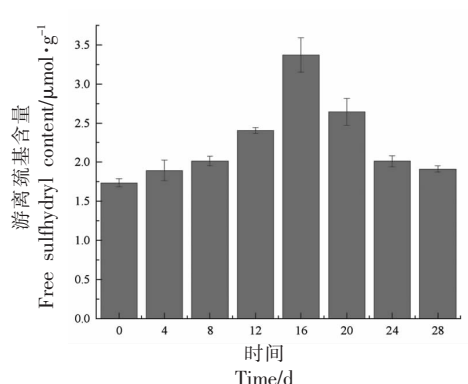


图 12 腌制过程中巯基含量变化

Fig.12 Changes in sulfhydryl content during pickling

钠含量也随腌制时间逐渐延长,蛋白质在氯化钠的进一步作用下发生聚集而形成新的二硫键,使巯基含量逐渐减少。

2.9 腌制过程中蛋白质二级结构变化分析

2.9.1 腌制过程中蛋黄 FT-IR 红外光谱分析 腌制过程中蛋黄凝聚部分 FT-IR 红外光谱检测结果见图 13。

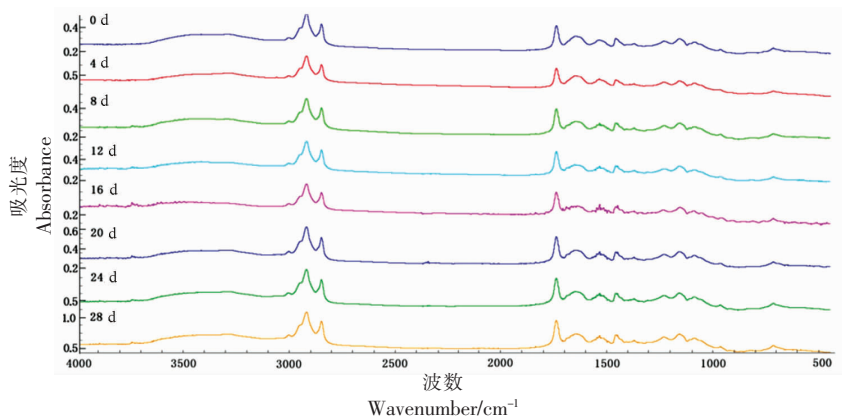


图 13 腌制过程中蛋黄凝聚体 FT-IR 红外光谱图

Fig.13 FT-IR spectrum of egg yolk aggregates during the curing process

如图 13 可知,蛋白质红外光谱酰胺 I 带的峰主要是由蛋白质骨架中的羰基振动引起,能够直观地反映蛋白质的构象及其变化,因此可根据蛋白质二级结构含量的变化来确定蛋白质的变性情况^[28]。咸蛋腌制过程中的 FT-IR 红外光谱图可以看出,蛋白质在酰胺 I 带($1600\sim 1700\text{ cm}^{-1}$)的信号较强,主要是 C=O 肽链伸缩振动、N-H 弯曲振动和 C-N 伸缩振动的耦合^[29]。

2.9.2 蛋白质二级结构变化分析 高斯函数分峰拟合后结果见图 14,蛋白质二级结构变化计算结

果见表 2。

将酰胺 I 带中各子峰的相对面积表示每个二级结构的含量。酰胺 I 带的各个子峰所对应的二级结构构象的波数范围为: $1600\sim 1640\text{ cm}^{-1}$ 为 β -折叠, $1640\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ 为无规则卷曲结构, $1650\sim 1658\text{ cm}^{-1}$ 为 α -螺旋, $1660\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ 为 β -转角。

拟合计算结果如表 2 所示,未进行腌制的新鲜蛋黄蛋白质二级结构中的 α -螺旋和 β -折叠含量较高,分别占比 39.72% 和 30.82%,共占蛋黄蛋白质总构象的 70.54%。腌制的前 8 d,蛋黄凝聚部

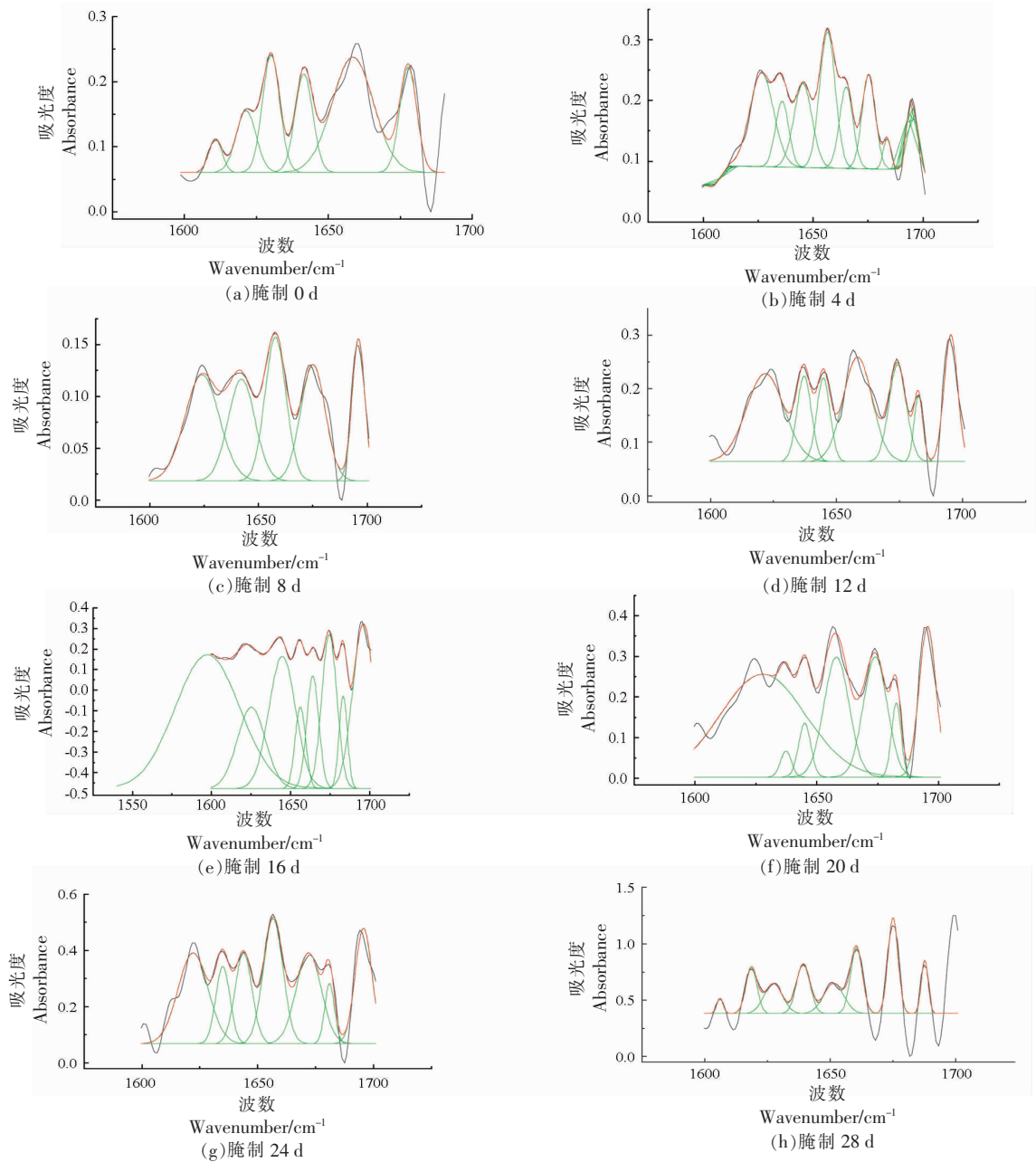


图 14 咸蛋黄腌制过程中的高斯曲线拟合图

Fig.14 Gaussian curve fitting diagram during the pickling process of salted egg yolk

分 α -螺旋的含量逐渐降低, γ -随机结构占比增加, β -折叠的含量较腌制前略有下降, β -转角占比增加。有相关研究表明, α -螺旋+ β -折叠为蛋白质分子内总相互作用氢键^[30], 结合 2.7 节的表 1 中氢键含量变化可推测, α -螺旋与 β -折叠被 Na^+ 破坏是氢键减少的主要原因。蛋白质在氯化钠的作用下, α -螺旋与 β -折叠的氢键断裂, 向 β -转角结构的转化, 蛋白质发生变性。

金属盐能够屏蔽蛋白质分子间静电作用, 改变溶剂中氢键含量, 使蛋白质 α -螺旋结构向 β -结构的转变^[31-32]。如图 15 所示, 腌制 8 d 后, 随着咸蛋在腌制的第 2 阶段氯化钠含量升高速率加快, α -螺旋结构含量继续下降, β -转角结构继续增加, 而 β -折叠结构占比呈上升趋势, 这与蛋白质分子发生聚集产生凝胶结构后, 新的化学键生成, α -螺旋结构转化为 β -折叠与 β -转角结构有关, β -折叠

表2 腌制过程中蛋白质二级结构含量

Table 2 Protein secondary structure content during pickling

腌制时间/ d	β - 折叠/%	γ - 随机结构/%	α - 螺旋/%	β - 转角/%
0	30.82	12.48	41.72	14.99
4	31.23	13.27	33.80	21.70
8	26.12	15.53	25.65	32.69
12	33.03	11.81	23.95	31.21
16	35.10	12.90	19.44	32.57
20	37.11	13.59	16.60	32.70
24	36.67	12.32	16.62	34.39
28	36.15	12.40	14.18	37.27

结构可以促进蛋白质分子间发生更多的聚集和交联。此变化与之前于沛等^[17]研究的三穗特色黄皮蛋蛋清凝胶结构形成过程中,蛋白质二级结构变化趋势相似,只是变化较皮蛋蛋清不明显,推断原因为 Na^+ 的离子强度要低于 Cu^{2+} 。在腌制的8~16 d, α -螺旋结构占比减少了6.21%, β -折叠占比增加了8.98%。说明在腌制8~16 d的这个阶段,蛋白质分子发生聚集,形成咸蛋黄中的凝胶结构。前期研究发现,在腌制16 d结束时,蛋黄出现较明显的松沙口感,说明低盐腌制控制在腌制12~16 d是咸蛋黄形成独特松沙口感的关键阶段。腌制16~28 d, α -螺旋结构继续向 β -折叠与 β -转角结构转化,腌制成熟的咸蛋黄的蛋白质分子的结构主要为 β -折叠与 β -转角,共占比73.42%。

2.10 腌制过程中咸蛋黄凝胶微观结构分析

通过SEM扫描电镜观察,通过戊二醛固定后

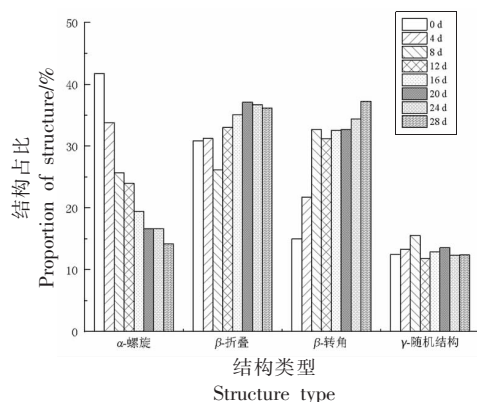


图15 二级结构类型变化趋势

Fig.15 Change trend of protein secondary structure types

的咸蛋黄,在腌制0~28 d过程中的微观结构,如图16所示。未开始腌制的咸蛋黄颗粒体积较大,排列较稀疏,且颗粒之间并没有观察到交联作用。腌制初期的4~8 d,观察蛋黄凝聚部分可知,蛋黄由于脱水作用,蛋黄颗粒体积减小。腌制12~28 d,蛋黄球颗粒的形状越来越接近于球状,且腌制成熟的咸蛋黄颗粒体积较新鲜鸭蛋明显减小,且排列紧密度更高。这与Kaewmanee^[33]对于干腌法得到的咸蛋黄微观结构的观察结果相似。说明盐分的渗入与蛋黄的脱水,改变了蛋黄结构,使蛋黄颗粒更紧密,且蛋黄颗粒之间出现交联作用,这是腌制后的咸蛋黄产生特殊的松沙感的主要原因。由图16可以看出,腌制时间越长,渗入蛋黄内的氯化钠越多,蛋黄球颗粒越小,挤压的越密实,咸蛋黄的沙性就越好。

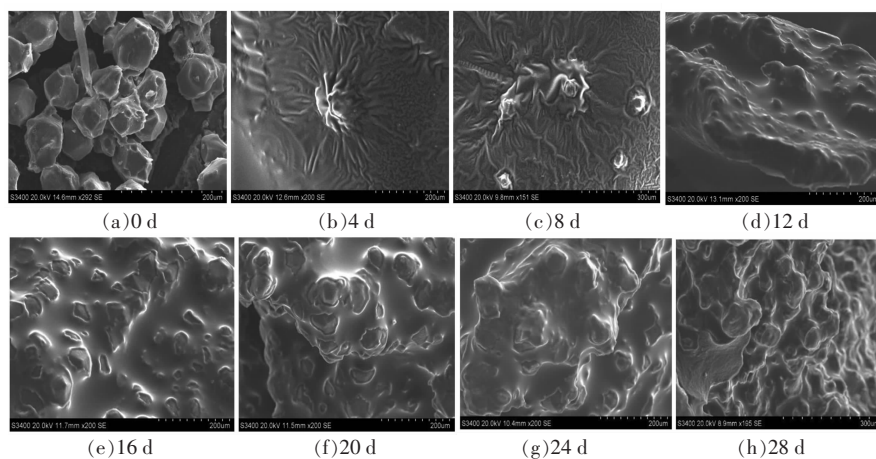


图16 腌制过程中咸蛋黄凝胶微观结构

Fig.16 Changes in the microstructure of salted egg yolk during the pickling process

3 结论

本试验通过对腌制过程中蛋黄凝聚部分的蛋白质相关理化指标的测定分析可知,腌制前 8 d, NaCl 改变了低密度脂蛋白结构, 蛋黄的蛋白质-脂肪乳化体系被破坏, 然而并未发生聚集形成凝胶结构。腌制 8~12 d 蛋黄外层开始变得紧密而聚集, 蛋黄低密度脂蛋白结构被破坏, 这是形成油脂渗出的必要条件。腌制 12~16 d 是咸蛋黄形成独特松沙口感及渗油现象出现的关键阶段, 蛋白质分子的聚集有利于油脂的渗出。此阶段离子键强度减弱, 氢键、疏水相互作用、二硫键含量增加, α -螺旋结构占比继续下降, γ -随机 β -折叠 β -转角结构占比均略有上升, 新的化学键和二级结构的生成说明蛋黄蛋白质分子发生聚集, 此阶段蛋黄的质构特性值不断变化, 在腌制第 16 天时, 蛋黄的硬度、胶黏性、咀嚼性、内聚性均达到最大值。随着出油率的继续升高, 液体油脂在蛋黄球颗粒之间起到润滑作用, 蛋黄出现较明显的松沙口感。腌制 16~28 d, 低密度脂蛋白结构继续更新, 蛋黄水分的继续流失为脂质分子聚集形成油滴提供更有利的环境, 蛋黄的脱水与蛋白质凝胶的结合使蛋黄最终成为球状凝聚体。通过观察腌制过程中蛋黄凝聚部分的微观结构发现, 蛋黄颗粒逐渐减小, 排列紧密, 且之间出现交联作用, 这是腌制后的咸蛋黄产生特殊的松沙感的主要原因。

参 考 文 献

- [1] 沈畅莹, 王修俊, 黄珊. 贵州三穗特色麻鸭蛋成分分析及营养评价[J]. 食品与机械, 2017, 33(12): 55-60.
- [2] 李和平, 赵竟熠, 魏建春. 咸蛋黄风味基料的研制及工艺优化[J]. 现代食品, 2019(16): 75-78.
- [3] 何家林, 朱雪晶, 欧阳玲花, 等. 用响应面法优化咸蛋腌制工艺[J]. 江西农业学报, 2017, 29(4): 85-88.
- [4] 孙静, 皮劲松, 潘爱鑫, 等. 咸蛋腌制剂低盐高渗替代物的筛选[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(24): 6334-6337, 6341.
- [5] 张晓维, 刘旭辉, 高洁, 等. 真空减压加速皮蛋蛋清凝胶形成的机理[J]. 现代食品科技, 2020, 36(6): 172-180.
- [6] 孙静, 杜金平, 杨华, 等. 咸蛋腌制添加抗氧化剂改善蛋黄的内质特性[J]. 现代食品科技, 2021, 37(1): 182-191.
- [7] ANTON M, DENMAT M, BEAUMAL V, et al. Filler effects of oil droplets on the rheology of heat-set emulsion gels prepared with egg yolk and egg yolk fractions[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2001, 21(1/2/3): 137-147.
- [8] HARRISON L J, CUNNINGHAM F E. Influence of frozen storage time on properties of salted yolk and its functionality in mayonnaise[J]. Journal of Food Quality, 1986, 9(3): 167-174.
- [9] 苏鹤, 杨瑞金, 赵伟, 等. 低盐咸蛋的腌制工艺及其品质研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 186-189.
- [10] SU H, YANG R J, ZHAO W, et al. Preparation of salted eggs with low salt[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 186-189.
- [11] SAKAMOTO S, HAMACHI I. Recent progress in chemical modification of proteins[J]. Anal Sci, 2019, 35(1): 5-27.
- [12] HE J L, ZHU X J, OUYANG L H, et al. Optimization of Pickling technology of salted duck eggs by response surface methodology [J]. Journal of Jiangxi Agriculture, 2017, 29(4): 85-88.
- [13] SUN J, PI J S, PAN A L, et al. Salted eggs pickled formulation screening of low hypertonic salt substitutes[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2015, 54(24): 6334-6337, 6341.
- [14] ZHANG X W, LIU X H, GAO J, et al. Mechanism of accelerating the formation of preserved egg white gel by vacuum decompression[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(6): 172-180.
- [15] SUN J, DU J P, YANG H, et al. Adding antioxidants during pickling to improve the interior quality of salted egg yolk[J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(1): 182-191.
- [16] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中氯化物的测定: GB 5009.44-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 5-7.
- [17] Gazette of the National Health Commission of the

- People's Republic of China. National standards for food safety Determination of chloride in food: GB 5009.44-2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2016: 5-7.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中水分的测定: GB 5009.3-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-2.
- Gazette of the National Health Commission of the People's Republic of China. National standards for food safety Determination of water content in food: GB 5009.3-2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2016: 1-2.
- [13] LAI C, JAO H. Oil exudation and histological structures of duck egg yolks during brining[J]. Poultry Science, 2010, 89(4): 738-744.
- [14] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 出口乳、蛋、豆类食品中蛋白质含量的测定 考马斯亮蓝法: SN/T 3926-2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 1-2.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine. Determination of protein content in milk, egg and bean products for export Coomassie brilliant blue method: SN/T 3926-2014[S]. Beijing: China Standard Press, 2014: 1-2.
- [15] ZHAO Y, CHEN Z Y, LI J K, et al. Changes of microstructure characteristics and intermolecular interactions of preserved egg white gel during pickling[J]. Food Chemistry, 2016, 203(11): 5-16.
- [16] 张晓维, 刘旭辉, 高洁, 等. 真空减压加速皮蛋蛋清凝胶形成的机理[J]. 现代食品科技, 2020, 36(6): 172-180.
- ZHANG X W, LIU X H, GAO J, et al. Mechanism of vacuum decompression accelerating gel formation of preserved egg white[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(6): 172-180.
- [17] 于沛, 王修俊, 徐雯, 等. 贵州三穗特色黄皮蛋加工过程中凝胶形成及颜色变化分析[J]. 食品科学, 2021, 42(19): 65-73.
- YU P, WANG X J, XU W, et al. Analysis of gel formation and color change during the processing of yellow preserved eggs in Sansui, Guizhou.[J]. Food Science, 2021, 42(19): 65-73.
- [18] 徐丽兰, 赵燕, 徐明生, 等. 食盐诱导的蛋黄凝聚行为研究进展[J]. 中国食品学报, 2019, 19(3): 317-325.
- XU L L, ZHAO Y, XU M S, et al. Research progress on salt-induced egg yolk condensation[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(3): 317-325.
- [19] 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 H, PENG H, LIN J, et al. Effect of salt on properties of salted yolk protein.[J]. Food Science, 2013, 34(1): 83-87.
- [20] CHEN Z Y, LI J K, TU Y G, et al. Changes in gel characteristics of egg white under strong alkali treatment[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 45(3): 1-8.
- [21] 邵瑶瑶, 赵燕, 徐明生, 等. 金属离子对蛋白质凝胶化行为的影响研究进展[J]. 食品科学, 2017, 38(5): 299-304.
- SHAO Y Y, ZHAO Y, XU M S, et al. A review of effects of metal ions on gelation behavior of protein[J]. Food Science, 2017, 38(5): 299-304.
- [22] SINGH A, RAMASWAMY H. Effect of high pressure processing on color and textural properties of eggs[J]. Journal of Food Research, 2013, 2(4): 11.
- [23] DENMAT M, ANTON M, GANDEMER G. Protein denaturation and emulsifying properties of plasma and granules of egg yolk as related to heat treatment[J]. Journal of Food Science, 1999, 64(2): 3-10.
- [24] 李文静, 李利君, 吴瑜, 等. 蛋白质化学修饰的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2018, 40(10): 1781-1786.
- LI W J, LI L J, WU Y, et al. Progress on chemical modification of protein[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2018, 40(10): 1781-1786.
- [25] 赵国华. 食品化学[M]. 北京: 科学出版社, 2014: 99-128.
- ZHAO G H. Food chemistry[M]. Beijing: Science Press, 2014: 99-128.
- [26] 邵俊花, 吴菊清, 周光宏, 等. 巯基和疏水性对蛋白质乳化及凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(23): 155-159.
- SHAO J H, WU J Q, ZHOU G H, et al. Effects of sulfhydryl content and hydrophobicity on gel and emulsifying properties of pork proteins[J]. Food Science, 2013, 34(23): 155-159.
- [27] 贺文杰, 胥伟, 王宏勋, 等. 芡实黄酮对鸭肉肌原纤维蛋白变性的抑制作用[J]. 食品科技, 2020, 45(9): 114-121.

- HE W J, XU W, WANG H X, et al. Inhibitory effect of gordon euryale flavonoids on degeneration of myofibrillar protein in duck meat[J]. *Food Technology*, 2020, 45(9): 114-121.
- [28] 魏胜男, 李文怡, 杨小龙, 等. 不同贮藏条件对鸡蛋蛋白质二级结构的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2019(2): 56-59, 179.
- WEI S N, LI W Y, YANG X L, et al. Effects of different storage conditions on the secondary structure of egg protein[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary*, 2019(2): 56-59, 179.
- [29] 谢孟峡, 刘媛. 红外光谱酰胺Ⅲ带用于蛋白质二级结构的测定研究[J]. *高等学校化学学报*, 2003(2): 226-231.
- XIE M X, LI Y. The amide III band of infrared spectrum was used to determine the secondary structure of protein[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2003(2): 226-231.
- [30] MIRANDA K G C. Structure-guided encapsulation of model proteins into biocompatible polymers[D]. Rio Piedras: Universidad de Puerto Rico, 2001.
- [31] 夏莹. 金属离子腌制对蛋清蛋白结构与特性的影响研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
- XIA Y. Study on the structure and properties of egg white pickled with metal ions[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011.
- [32] 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 P, LIU H P, ZHOU Q, 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.
- [33] KAEWMANEE T, BENJAKUL S, VISESSANGUAN W. Changes in chemical composition, physical properties and microstructure of duck egg as influenced by salting[J]. *Food Chemistry*, 2008, 112(3): 6-7.

Analysis of the Changes of Egg Yolk Coagulation in the Salting Process of Salted Egg

Chen Yanhong^{1,2}, Wang Xiujun^{1,2*}, Yu Pei^{1,2}, Nie Qianli^{1,2}

¹*School of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025*

²*Guizhou Provincial Key Laboratory of Fermentation Engineering and Biopharmacy, Guiyang 550025*

Abstract In order to explore the changes of salted egg yolk aggregation and the key control point in the salting process of Sansui salted egg in Guizhou Province, based on the low-salt salting technology, and through the detection of sodium chloride, changes of protein-related indexes in egg yolk aggregation. The results showed that the 8 days before pickling, ionic bond and hydrophobic interaction increased, the hydrogen bond and disulfide bond decreased, the ratio of α -helix to β -sheet decreased, the ratio of γ -random structure to β -turn increased, the secondary structure of protein changed, and the protein denatured, NaCl alters the structure of the low-density lipoprotein, and the yolk's protein-fat emulsion system was broken, but didn't coalesce to form a gelatinous structure. When salted for 12-16 d, the ionic bond strength decreased, the hydrogen bond, hydrophobic interaction and disulfide bond content increased, the proportion of α -helix structure continued to decrease, the proportion of γ -random, β -sheet and β -turn structure increased slightly, and the protein molecules of egg yolk aggregated, and there was a more obvious sense of loose sand mouth, oil output in more than 40%. During curing for 16-28 d, the structure of the low-density lipoprotein continued to renew, and the water loss from the yolk provided a more favorable environment for the accumulation of lipid molecules to form oil droplets, the dehydration of the yolk and the binding of the protein gels result in the final globular coagulation of the yolk. Through observing the microstructure of egg yolk coagulation part during curing, it was found that the yolk particles are gradually reduced and closely arranged, and there was cross-linking between them, this was the salted egg yolk after the production of a special loose sand feeling the main reason. Finally, it was concluded that curing 12 to 16 days was the key stage for the formation of the special loose sand taste of salted egg yolk and the appearance of oil seepage.

Keywords salted egg; salting; egg yolk aggregation; oil; protein chemistry