

皮蛋壳表层红色斑块成分的分析与鉴定

孙 静¹, 杨 雪¹, 周 彬², 杜华英³, 贾 鸣¹, 李 刚⁴, 杜金平^{1*}

(1. 湖北省农业科学院畜牧兽医研究所, 武汉 430064; 2. 湖北工业大学生物工程与食品学院, 武汉 430064;
3. 江西农业大学食品科学与工程学院, 南昌 330045; 4. 湖北农垦对外经济交流中心, 武汉 430060)

摘 要: **目的** 分析鉴定皮蛋壳表面红色斑块物质组成成分, 为控制红斑生成提供理论依据。**方法** 采用场发射扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)、X 射线衍射仪(X-ray diffractometer, XRD)、X 射线电子能谱仪(X-ray photo-electron spectroscopy, XPS)分析皮蛋壳表面红色斑块的微观结构和化学成分。**结果** 皮蛋壳表面红色斑块物质是大块片状物附着在粗糙的碳酸钙晶体外层, 蛋壳气孔也被块状异物堵塞, XPS 检测出红斑由 C、O、N、Fe、Cu、S、Mg 等元素组成, Fe 元素含量低, 未检出 Pb 元素; XRD 分析确定红斑的主要物质是 Cu₂O, 红斑外层 Cu⁺因氧化而成 Cu²⁺。**结论** 皮蛋壳表面红色斑块主成分为 Cu₂O。采取鸭蛋消毒控菌, 低温避光腌制或许可控制蛋壳红斑形成。

关键词: 皮蛋; 红色斑块; 成分分析; Cu₂O

Analysis and identification of red patch components on preserved egg shell surface

SUN Jing¹, YANG Xue¹, ZHOU Bin², DU Hua-ying³, JIA Ming¹, LI Gang⁴, DU Jin-Ping^{1*}

(1. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China; 2. College of Bioengineering and Food, Hubei University of Technology, Wuhan 430064, China; 3. College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 4. Hubei Agricultural Reclamation Foreign Economic Exchange Center, Wuhan 430060, China)

ABSTRACT: Objective To analyze and identify the components of red patch on preserved egg shell surface, and provide theoretical basis for controlling the formation of red spots. **Methods** The microstructure and chemical composition of red patches on preserved egg shell surface were analyzed by field emission scanning electron microscope (SEM), X-ray diffractometer (XRD) and X-ray photo-electron spectroscopy (XPS). **Results** The red spots on eggshell were large sheets attached to the rough outer layer of calcium carbonate crystals and eggshell stomata were also blocked by lumpy foreign bodies, XPS detected that the red patches was composed of C, O, N, Fe, Cu, S, Mg and other elements. The content of Fe was low, and Pb was not detected. XRD analysis showed that the main substance of red patches was Cu₂O, and the outer layer of red patches Cu⁺ was oxidized to form Cu²⁺. **Conclusion** The main component of red patch on preserved egg shell surface is Cu₂O. Adopting disinfection and control bacteria of duck eggs and curing at low temperature and avoiding light may control the formation of red patch

基金项目: 国家现代农业产业技术体系资助项目(CARS-42-26)、湖北省动物胚胎工程与分子育种重点实验室项目(2022ZD108)、湖北省农业科学院“青年拔尖人才”培养计划项目(2021)

Fund: Supported by the Earmarked Fund for the China Agriculture Research System (CARS-42-26), the Hubei Provincial Key Laboratory of Animal Embryo Engineering and Molecular Breeding (2022ZD108), and the Top Talent Training Program of Hubei Academy of Agricultural Sciences (2021)

***通信作者:** 杜金平, 研究员, 主要研究方向为家禽育种与产品加工研究。E-mail: ddjinpin@163.com

***Corresponding author:** DU Jin-Ping, Professor, Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Hubei Academy of Agricultural Science, Wuhan 430064, China. E-mail: ddjinpin@163.com

on preserved eggs shell surface.

KEY WORDS: preserved eggs; red patches; composition analysis; Cu_2O

0 引言

鸭蛋经食用碱、硫酸铜、食盐、茶末等辅料加工成的皮蛋,是独具风味的中国传统的生食蛋制品^[1]。一般认为好皮蛋的标准为:蛋壳光洁、蛋白完整、凝胶弹性好、蛋黄五色环明显,具有清凉的特殊风味^[1-2]。皮蛋生产上用铜盐、锌盐或铜锌混合盐配合氢氧化钠腌制^[1],通常皮蛋壳表面会附着星点状分布的黑色斑点,乐立强^[3]、孙静等^[4]和陈鹏^[5]分析鉴定了皮蛋壳黑色斑点成分主要是金属的硫化物沉淀,如 PbS 、 CuS 、 Cu_2S 等,作用是在皮蛋成熟的后期,堵塞蛋壳的气孔、蛋膜的网孔及腐蚀孔,从而调节皮蛋内碱的渗透及含量^[1,6-9]。皮蛋壳上过度过深的斑点会使消费者产生“皮蛋含铅、铜等重金属”的疑虑,让很多喜食皮蛋的消费者对之持以回避态度,更倾向选购蛋壳外观光洁明亮的皮蛋^[2]。近来,湖北、广东、西安等地皮蛋加工厂中均发现大规模蛋壳红斑现象,严重影响了皮蛋的外观品质,导致其销售量降低。

目前,皮蛋壳上红斑的鉴定和防控研究在国内外尚未见报道,已有研究采用 X 射线电子能谱仪和 X 射线衍射仪等手段定性分析了从皮蛋壳上刮下的黑斑物质的化学组成^[3-5],试验方法和检测手段均对皮蛋壳上红色斑块成分鉴定具有借鉴价值。X 射线电子能谱仪(X-ray photo-electron spectroscopy, XPS)、X 射线衍射仪(X-ray diffractometer, XRD)用于鉴定物质成分、结构的研究报道多见于矿石、生物合成、药物鉴定中,如陈鹏^[5]采用 XPS 研究了煤中硫化物的存在形式,许乃岑等^[10]采用 XRD 研究了玄武岩中矿物种类,王亚男等^[11]采用 XRD 对生物合成的 WO_3 材料进行表征;孙扬波^[12]采用 XRD 鉴定中药中样品来源,采用 XPS、XRD 研究蛋壳物质成分、结构与蛋禽品种的关联性;胡成西^[13]采用 XRD 构建了 6 种蛋壳的 X 射线衍射指纹图谱来实现不同品种蛋壳的鉴别,COSTA 等^[14]采用电子自旋共振(electron spin resonance, ESR)、XRD 和场发射扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)等分析手段研究 γ 射线辐照鸡蛋壳的信号特征,乐立强^[3]、孙静等^[4]通过 XPS、XRD 联合电感耦合等离子体原子发射光谱法鉴定了皮蛋壳表面黑色斑点的主要成分,这些研究采取多种手段鉴定了以碳酸钙基质的体系中无机物质的成分、价态、结构,本研究也是分析蛋壳上沉积的有色斑块的物质组成,除了要准确鉴定出附着在碳酸钙骨架上不同深度的该物质的组成,还要剔除碳酸钙对仪器分析谱图的影响,上述参考文献具有一定的借鉴价值。本研究拟从红斑外观和色度、在不同的溶剂中溶解情况和红斑表

面微观结构及附着状态、红斑表面 X 衍射能谱信号、红斑粉末 X 射线衍射信号等角度出发,以鲜鸭蛋和无红斑皮蛋壳作对照,通过元素组成和存在形式及物质组成来判断皮蛋红斑的主要成分,为进一步推断皮蛋表面形成红斑的原因提供依据,也是为在加工过程中抑制皮蛋红斑形成提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

鲜鸭蛋来自湖北省农业科学院家禽试验场相同日龄荆江蛋鸭青壳系;按照质量分数,用氢氧化钠 5%、食盐 1.5%、红茶末 3%、硫酸铜 0.41%配制成腌制液^[15],在 28~35 °C 室温下腌制 30 d 制得皮蛋。

盐酸、硝酸、硫酸、磷酸、氯仿、丙酮、氨水、氢氧化钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

1.1.2 设备与仪器

FA2004B、YP2002 型电子天平(感量 0.1 mg,上海越平科学仪器有限公司);85-2 型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司);PP 通风橱(武汉新天实验装备有限公司);CR400/410 型色彩色差计(日本 Konika-Minolta 公司);SUPRATM 55 型场发射扫描电镜(日本日立公司);MULTILAB2000 型 X 光电子能谱仪(德国 Thermo Fisher Scientific 公司);D8 ADVANCE 型 X 射线粉末衍射仪(德国布鲁克公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理

分离皮蛋蛋壳,去掉蛋壳内膜,用镊子从一部分带红斑的蛋壳上取下有红斑的蛋壳片用于做 XPS 和 SEM 扫描,用手术刀从另一部分蛋壳上刮下红色斑块并研磨成粉末,用于 XRD 检测,粉末呈红棕色,蛋壳红斑薄片和粉末均放置于 60 °C 下烘干 48 h 备用。

1.2.2 皮蛋表面红斑溶解试验

为研究斑点成分的溶解性,取 0.5 g 左右已处理好的蛋壳红斑薄片,分别加入 2 mL 纯净水、2 mL 盐酸、硝酸、硫酸、磷酸、氯仿、丙酮、氨水、氢氧化钠等溶液(浓度均为 0.1 mol/L)中,观察溶解情况,以是否溶解、溶解气泡生成快慢评价溶解情况,并做好记录。

1.2.3 色度测定

采用色差仪分别测定鲜鸭蛋壳、皮蛋壳无红斑部分及皮蛋壳红斑部分的色度值,先用标准白板将色彩色差计进行校准,再测定色度,每种蛋壳分别平行测定 10 次,按照

公式(1)计算色度, 并用 SAS 软件对色度差异性进行分析。

$$E = 0.5\sqrt{(a^* \times a^* + b^* \times b^* + L^* \times L^*)}$$
 (1)

式中: E 为色度值, L^* 为亮度值; a^* 为红绿值; b^* 为黄蓝值。

1.2.4 SEM 电镜扫描

采用 SEM 对蛋壳表面形态进行表征, 加速电压为 5 kV, 所有样品观察前用纯净水清洗后烘干, 在高真空环境下, 在不导电的样品表面镀一层金薄膜^[14]。

1.2.5 XPS 测定

采用多功能电子能谱仪对有红斑的蛋壳薄片进行测试, 测试前对检测样品进行真空处理。先采用 Mg-Al 双阳极扫描, 功率 300 W, 单色器; 再进行窄扫描, 功率 150 W, 单色器, 并用电子中和枪中和。

测定条件: 真空度为 2×10^{-7} Pa, 分辨率为 0.47 eV, 采用 Al Ka (hr=1486.6 eV) 辐照源, 能量分析器采用固定透过能方式全扫描, 通能为 100 eV, 步宽为 1 eV, 精细扫描时步宽为 0.05 eV, 样品结合能荷电校正采用污染碳 CIS (284.6 eV)^[4]。

1.2.6 XRD 测定

将已处理好的红斑粉末样品置于玻璃槽中, 压平。

测定条件: 扫描方式: 连续扫描; 波长: 1.54056 KX; 滤光片: 镍; 扫描速度: $10^\circ/\text{min}$; X 光管: Cu 靶; 管电压: 40 kV; 管电流: 20 mA; 散射狭缝: 0.2° ; 接受狭缝: 1° ; 起始角度: 5° ; 终止角度: 85° ^[4]。

1.2.7 数据处理

所有测定均平行重复 3 次, 结果以平均值±标准偏差表示。运用 SPSS 25.0 软件对数据进行单因素方差分析, 采用 Duncan 法检验, 以 $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 皮蛋壳红斑直观图及溶解情况

在相同光线条件下, 蛋壳感官差异如图 1 所示。鲜鸭蛋表面光洁无斑点(图 1a), 鲜鸭蛋经碱和硫酸铜等辅料处理 30 d 制作皮蛋后, 表面附着有明显黑点斑点, 其大小不一, 在蛋壳上还可以观察到细小密集的小黑点(图 1b); 在腌制的皮蛋中有近 50% 的红斑蛋出现, 如图 1c 所示, 感官表现为大块的红棕/褐色斑块附着在蛋壳表面, 也附着部分和皮蛋相同的大小不一的黑点斑点。

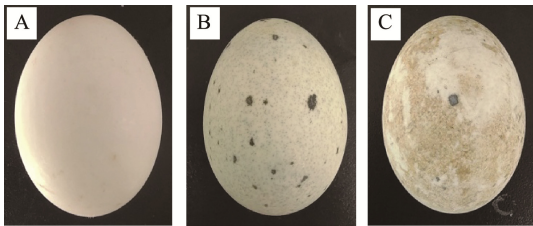


图 1 鲜鸭蛋(A)、无红斑皮蛋(B)和红斑皮蛋(C)

Fig.1 Fresh duck egg (A), preserved egg without red spot (B), preserved egg with red spot (C)

由表 1 可以看出, 附着在蛋壳表面的大块红棕色斑块不溶于水、乙醇或氢氧化钠, 可快速溶于盐酸, 可溶于硝酸、磷酸、硫酸溶液, 并产生气泡, 与硫酸反应时溶液变蓝; 不溶于强碱、弱碱和无水乙醇等极性溶剂, 也不溶于氯仿和丙酮等有机溶剂, 初步推断红棕色斑块主要含有铜元素。

表 1 皮蛋壳红斑对不同溶剂的溶解结果

Table 1 Dissolution results of preserved egg shell surface with red spot in different solvents

溶剂	溶解情况	溶剂	溶解情况
纯净水	不溶解	氯仿	不溶解
盐酸	溶解, 有大量气泡	丙酮	不溶解
硝酸	溶解, 有少量气泡	氨水	不溶解
磷酸	溶解, 有少量气泡	片碱	不溶解
硫酸	溶解, 溶液变蓝	无水乙醇	不溶解

2.2 斑块色差分析

鲜鸭蛋、皮蛋壳无红斑部位、皮蛋壳红斑部位的色度测定结果见表 2。由表 2 可知, 三者 L^* 值差异显著($P < 0.05$), 鸭蛋加工成皮蛋后亮度降低, a^* 为负值则色泽偏绿, b^* 为正值则色泽偏黄, 红斑部分较正常皮蛋亮度显著降低, 变暗, a^* 值显著升高为正值、 b^* 值也显著升高, 红黄色调明显, 整体色度值显著降低。这与红斑部位呈现明显的红棕色的感官现象一致。

表 2 色度检测结果

Table 2 Chroma detection results

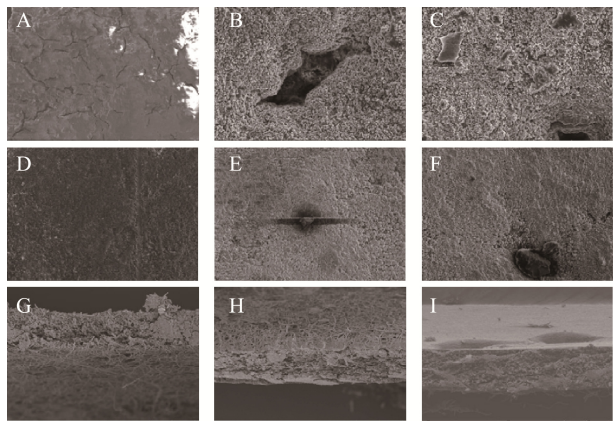
样品	L^*	a^*	b^*	E
鲜鸭蛋壳	80.05±1.53 ^a	-4.56±0.95 ^c	5.69±0.92 ^c	80.41±1.45 ^a
无红斑皮蛋壳	72.73±1.93 ^b	-2.19±0.29 ^b	7.47±0.63 ^b	73.15±1.92 ^b
红斑蛋壳	60.35±3.02 ^c	0.92±0.42 ^a	14.22±1.87 ^a	62.03±3.36 ^c

注: 不同字母表示显著性差异不同, $P < 0.05$ 。

2.3 红斑微观结构分析

图 2 鲜鸭蛋、无红斑皮蛋、有红斑皮蛋的蛋壳表皮层微观结构。蛋壳最外层为表皮层, 占蛋壳总厚度的 2%~3%, 对比发现, 鲜鸭蛋蛋壳表皮层较为光滑、结构致密, 披覆一层油膜层, 偶见狭长裂纹和直径小于 1 μm 的细小气孔。腌制 30 d 的无斑点的皮蛋壳表面结构较鲜鸭蛋壳粗糙, 碳酸钙片状堆叠形貌明显, 有直径 11.8 μm 的气孔, 可见沉积物堵塞气孔的现象。这与阮晓娟^[8]研究报道的腌制 30 d 后皮蛋气孔直径 10~40 μm 的结果较为一致。有红斑的皮蛋壳表层也看到碳酸钙片状堆叠和块状

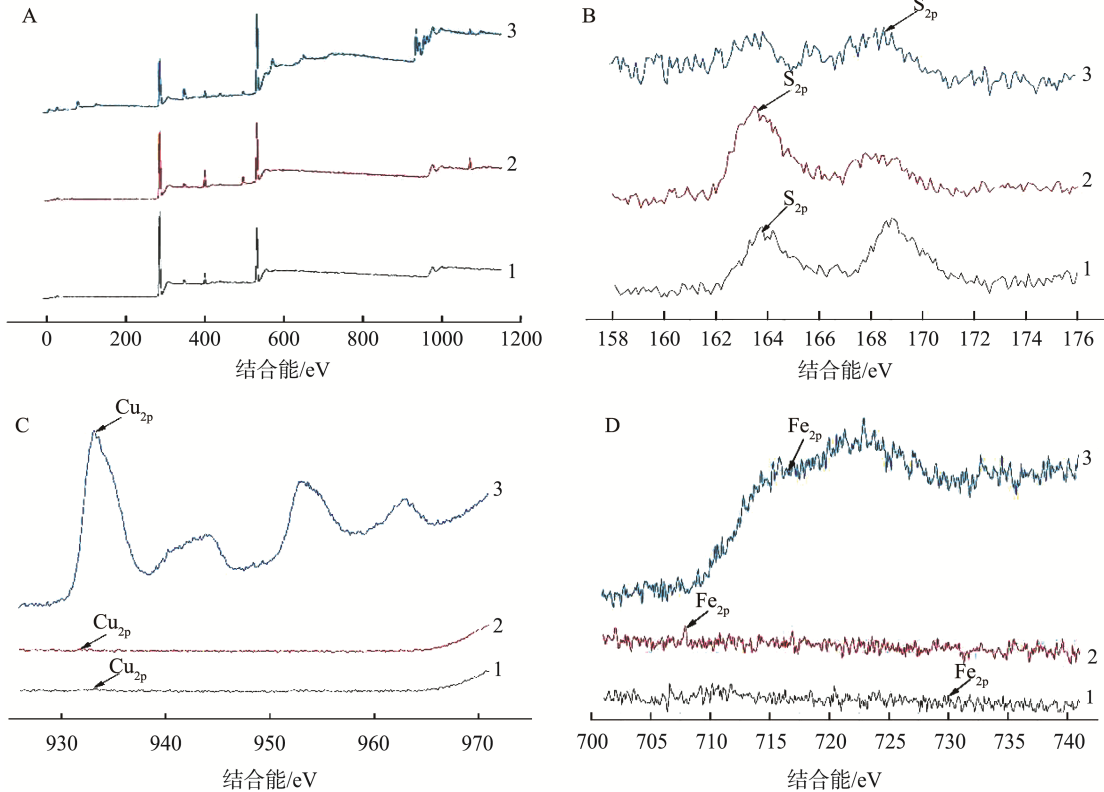
沉积物堵塞气孔的现象,放大 1000 倍可观察到蛋壳表面有大块片状物附着在蛋壳表面,可以判断红斑物质类似于皮蛋表面黑点部分是由于铜化合物在表面堆积堵孔所产生的颜色。



注: A~C 分别为鲜鸭蛋壳、皮蛋壳无红斑部分、皮蛋壳红斑部分蛋壳质地(1000 $\times$); D~F 分别为鲜鸭蛋壳、皮蛋壳无红斑部分、皮蛋壳红斑部分气孔堵塞情况(500 $\times$); G~I 分别为鲜鸭蛋壳、皮蛋壳无红斑部分、皮蛋壳红斑部分蛋膜(300 $\times$)。

图 2 蛋壳微观电镜照片

Fig.2 Microelectron microscopy of eggshell



注: A 为扫描全谱图, B 为 S_{2p} 窄扫描, C 为 Cu_{2p} 窄扫描, D 为 Fe_{2p} 窄扫描; 1~3 分别为鲜鸭蛋、无红斑皮蛋和红斑皮蛋。

图 3 鲜鸭蛋、无红斑皮蛋、红斑皮蛋的 XPS 图

Fig.3 XPS diagrams of fresh duck egg, preserved egg without red spot, preserved egg with red spot

2.4 XPS 结果分析

XPS 是研究元素种类及其化学状态的有效方法,可以确定研究对象的元素组成和存在形式,即对元素进行定性分析,XPS 对有红斑的皮蛋蛋壳的测定图谱见图 3, 所含元素及谱峰情况见表 3。

由双阳极扫描全谱图可以得出皮蛋蛋壳红斑的主要元素有 C、O、N、S、Fe、Cu、Mg 等(表 3)。Ca 是蛋壳主成分,对除 Ca 外的各元素特征峰的高分辨窄扫描来进一步确定各元素的化合态。其中 Cu 的峰结合能为 931 和 933 eV。Fe 的峰结合能为 707、720、730 eV, S 的峰结合能为 163 和 168 eV。

根据各个元素的单谱扫描图谱、标准图谱、分峰图及其峰结合能可以推断出: 蛋壳上的 Cu 可能是以 Cu^{2+} 、 Cu^+ 存在, 红斑部分 Cu 占原子百分比略微高于无红斑部分、鲜鸭蛋中的比例, 分别是 0.12%、0.09%、0.10%。Fe 峰在全谱图中峰值特征不明显, 可能是扫描面上铁含量较低, 价态不好判断。S 可能的存在形式有 S^{2-} 、 SO_4^{2-} 、-SH。根据蛋壳表面呈现暗红色初步推测皮蛋壳红斑(表层)主要成分是 CuS 。这与乐立强^[3]、孙静等^[4]在皮蛋壳斑点中检测到 Cu 元素的结果一致。

表 3 蛋壳 X 射线扫描结果
Table 3 X-ray scan results of eggshell

样品	元素名称	峰结合能/eV	半峰宽/eV	谱峰面积/(s·eV)	原子百分比/%	O/C
鲜蛋壳	C _{1s}	284.79	1.40	172602.18	73.50	0.26
	O _{1s}	532.06	2.60	117737.67	18.94	
	N _{1s}	399.83	1.51	20976.16	5.53	
	Pb _{4f}	142.99	0.19	245.14	0	
	S _{2p}	168.78	2.05	1676.77	0.37	
	Fe _{2p}	720.43	0.10	6869.6	0.24	
	Cu _{2p}	933.23	0.38	4500.3	0.10	
	Mg _{2p}	49.89	0.32	306.69	0.29	
红斑蛋壳	C _{1s}	284.79	1.35	169995.19	76.17	0.21
	O _{1s}	532.31	2.62	95352.89	16.14	
	N _{1s}	399.94	1.51	21801.57	6.04	
	Pb _{4f}	138.47	0.03	208.23	0	
	S _{2p}	163.72	2.45	1703.43	0.39	
	Fe _{2p}	730.62	0.17	6039.66	0.22	
	Cu _{2p}	933.01	1.85	5137.56	0.12	
	Mg _{2p}	50.30	0.11	223.01	0.22	
无红斑蛋壳	C _{1s}	284.78	1.91	155415.11	66.28	0.32
	O _{1s}	531.39	2.44	132290.74	21.31	
	N _{1s}	399.68	1.51	32858.62	8.67	
	Pb _{4f}	146.29	0.17	378.21	0	
	S _{2p}	163.50	2.35	1940.78	0.43	
	Fe _{2p}	707.88	0.23	5932.92	0.21	
	Cu _{2p}	931.74	0	4282.36	0.09	
	Mg _{2p}	51.25	0.17	454.61	0.42	

鸭蛋经过碱的浸泡, 红斑皮蛋蛋壳表面油膜层被溶解, O/C 从 0.26 降低到 0.21, 而无红斑皮蛋蛋壳表面 O/C 较红斑皮蛋壳、鲜蛋的高 0.11 和 0.06, 油膜层被溶解变薄使无红斑蛋壳失去光泽, 质地变脆, 蛋壳更易破损。

2.5 XRD 结果分析

XRD 是研究物质的物相和晶体结构的有效方法, 可以确定研究对象的物相组成。皮蛋表面红色斑块的 XRD 测定结果见图 4。由图 4a 的 X 射线衍射图谱中 2 θ =36.521、42.423、61.552 的 3 个峰对应标准卡片 01-077-0199, 对应了 Cu₂O 物质, 即蛋壳红斑成分为 Cu₂O 其含量约占蛋壳的 7.20%, 而无红斑部分和鲜蛋壳上均未检测出 Cu₂O。对照 XPS 结果, XPS 检测的是红斑表面物质组成, 初步判断为 CuS, 但又检测到 Cu⁺, 而 Cu₂S 呈现灰黑色, 这与红斑皮蛋蛋壳表面颜色不相符。XRD 从红斑蛋壳粉末中检测到 Cu₂O, 这与 XPS 检测出 Cu⁺相对应, 可能是红斑物质 Cu₂O 沉积在蛋壳表面或壳孔时, 表面被氧化成 CuS 层而掩蔽了内部的 Cu₂O, 氧化产物 CuS 含量极低又不能 XRD 检测到。故红斑物质主成分为 Cu₂O。

3 讨论与结论

3.1 Fe 的排除

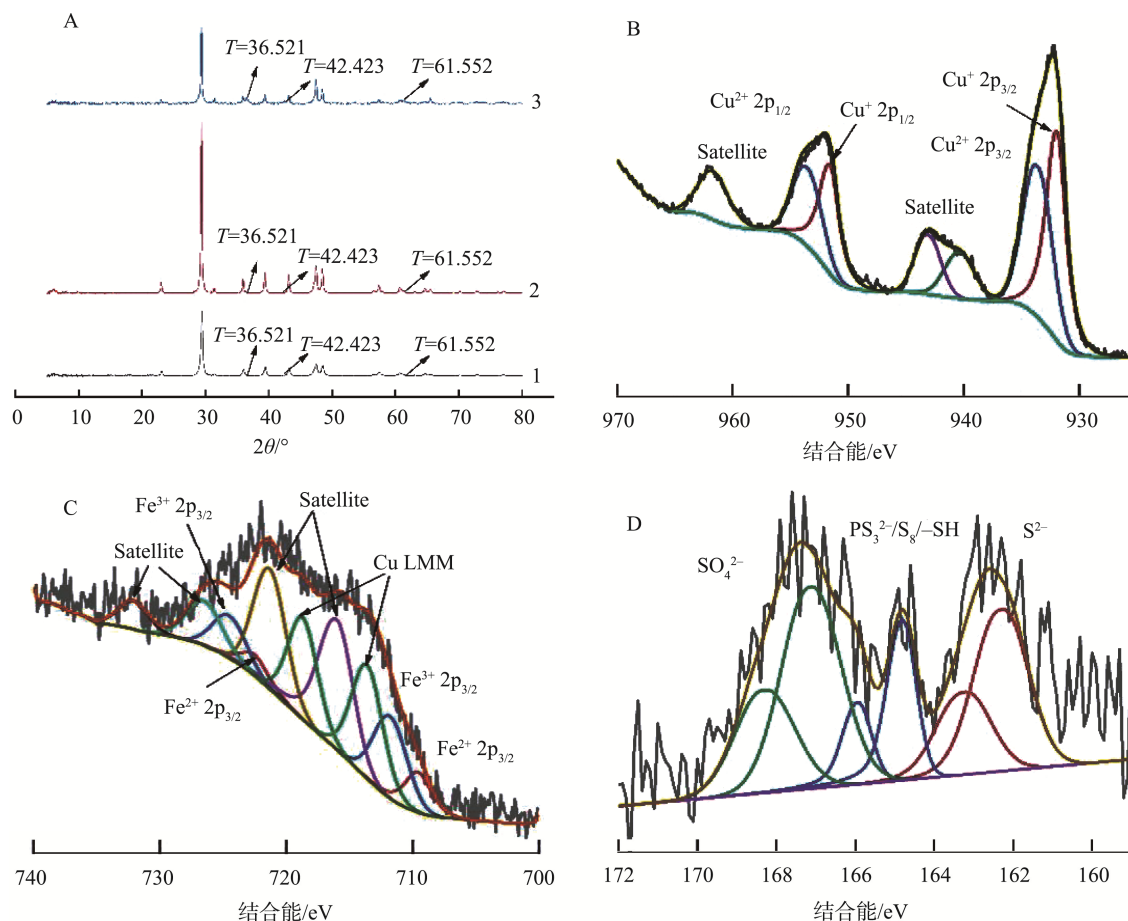
采用 XPS 扫描红斑蛋壳表面时, 在 707、720、730 eV

处可见 Fe 元素的吸收峰, 经 XRD 检测未发现 Fe 及其化合物, 可能是 Fe 在红斑蛋壳中含量极低, 低于 XRD 扫描仪的检出限。且含 Fe 的化合物中固体为红色的有 Fe₂O₃、Fe(OH)₃、Fe₂(SO₄)₃ 固体为灰白色, 水溶液为红棕色, 不符合蛋壳红斑不溶于水的事实, 故排除 Fe 的化合物。

3.2 Cu 的价态变化及沉积

铜原子的电子排列为 1s² 2s² 2p⁶ 3s² 3p⁶ 3d¹⁰ 4s¹, 铜易失去 4s 轨道的一个电子而得到+1 价的 Cu, 如果氧化能力再强一点的氧化剂的话, 就会夺取 3d 轨道中的一个电子, 得到+2 价的 Cu。饲料里通常会添加 CuSO₄·5H₂O 来改善鸭、鱼等动物肠道健康、调节肠道微生物等, 皮蛋的腌制也需添加 CuSO₄·5H₂O 来堵塞蛋壳孔来调控进碱量, 添加的是 Cu²⁺, 而鲜鸭蛋制作成皮蛋后(红斑和无红斑)蛋壳上均检测出 Cu⁺, 可能是机体代谢、蛋白质代谢等生命活动^[16]或腌制料液中具有抗氧化性物质的还原作用使 Cu²⁺被还原成 Cu⁺, 沉积在蛋壳上的 Cu⁺在空气中是稳定状态, 若在溶液中存在强氧化性的物质时则可能被进一步氧化成 Cu²⁺。

孙静等^[17]在研究皮蛋壳斑点形成规律时发现, 斑点物质硫化物仅在有内容物存在的蛋壳上才会沉积形成黑斑, 在纯蛋壳上不会沉积形成斑点。CANTU 等^[18]在研究纳米级 ZnS 吸附水溶液中铜(II)和铅(II)离子时, 发现 pH、光照



注: A 为 XRD 图, 1~3 分别为鲜鸭蛋、无红斑点蛋和红斑点蛋, 其中, T 为衍射角; B 为 Cu_{2p} 窄扫描分峰图; C 为 Fe_{2p} 窄扫描分峰图; D 为 S_{2p} 窄扫描分峰图。

图 4 XRD 图和红斑点蛋 Cu_{2p} 、 Fe_{2p} 、 S_{2p} 窄扫描分峰图

Fig.4 XRD diagram and narrow scanning peaks of Cu_{2p} , Fe_{2p} and S_{2p} in red patch preserved egg

条件、反应时间、离子浓度和其他离子干扰对铜(II)的吸附具有一定程度的影响。SAWANT 等^[19]在室内可见光照射下发现铜锌锡硫化物纳米结构的形成具有光催化性。HUANG 等^[20]用硫化钙修复铅、镍、锌、铜和镉污染地下水时发现多硫化物具有还原性,能吸附液体中的铅、镍、锌、铜和镉达到原位稳定的效果。AI 等^[21]发现茶多酚(茶叶主成分之一)在鸭蛋清凝胶形成过程中可改变反应微环境,可增强鸭蛋清凝胶的非特异性交联作用,促进蛋白质凝胶的钙桥形成;此外茶多酚还具有还原性。

综上,我们推断皮蛋加工中,随着蛋壳表面的油膜层在碱存在下溶解、暴露出粗糙的碳酸钙晶体,腌制溶液中添加的 Cu^{2+} 随着碱物质内渗形成的动力吸附在蛋壳表面及碳酸钙晶体孔隙间^[18-22],与饲料沉积在蛋壳里的铜一起,在碱性环境中遇到蛋内蛋白质分解形成的多硫化物和茶多酚等还原性物质,被还原成 Cu^+ 并被原位固定,定向连续生长形成块状、柱状、片状的 Cu_2O 晶体^[23], Cu_2O 晶体被牢牢吸附在蛋壳表面^[21],此时碳酸钙可看作是 Cu_2O 晶体形成的骨架和生物质模板, Cu_2O 晶体与内部纤维紧紧交织,不易去除。红斑 Cu_2O

的形成过程受室内可见光催化,并受茶多酚、锌离子、钠离子等影响,避光腌制或许可减少蛋壳红斑的形成。

卢昌丽等^[24]检测发现厚壁菌门和变形菌门为鸭蛋表面优势菌,弧菌、淤泥假单胞菌、肠杆菌等致病菌受气温影响明显,夏季多、冬季少。鸡蛋壳外微生物也具有相似规律^[25-27]。智秀娟等^[28]在天鹅蛋中分离鉴定到麦氏弧菌(*Vibrio metschnikovii*)、屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)和粪产碱杆菌(*Alcaligenes faecalis*)会通过蛋壳表面的气孔侵染而使蛋品腐败;王伟杰^[29]对辽宁省市售的蛋与蛋制品等食品中检测到蜡样芽胞杆菌和副溶血性弧菌,尤其第二、三季度(高温高湿条件)检测率高;笔者在高温季节(28~35℃)腌制皮蛋时发生爆蛋的样品中亦分离出耐碱的麦氏弧菌,麦氏弧菌广泛存在于稻草、泥土、粪便及污染的水中^[30]。赵延洋^[31]发现硫酸盐还原菌(醋酸钙不动杆菌 SRB4)和嗜盐菌(地衣芽孢杆菌 SRB2)等微生物诱导 Ca-Mg 型碳酸盐的沉淀和矿化过程起重要作用。可见蛋内及蛋壳外所带的麦氏弧菌等耐碱嗜盐菌也可能对蛋壳表面 Cu_2O 晶体的形成及矿化有促进作用。李丽杰等^[32]研究了酵母菌对重金属的吸附作用,

酵母菌中谷胱甘肽、与酵母菌解毒重金属相关的基因和蛋白、转运蛋白介导的细胞内重金属的排出和液泡隔离机制及金属硫蛋白和植物螯合肽对重金属具有螯合作用, 为本研究中微生物促进 Cu_2O 在皮蛋壳表面沉积提供了一定理论基础。李如意^[33]研究了普罗威登斯属细菌的重金属吸附行为, 普罗威登斯属细菌对于金属离子具有一定的抗性, 在 pH 7.0, 35℃ 时会加快细菌繁殖, 细菌表面具有各种官能团, 并且可以分泌胞外聚合物(如多铜氧化酶等), 这些都会受到外界环境的干扰, 从而能够影响菌株对重金属产生抗性和吸附能力, 这也可能是造成皮蛋壳表面沉积 Cu_2O 的原因, 而普罗威登斯属细菌主要来源于被重金属污染的土壤和水源, 这与原料鸭蛋的来源有关, 改变蛋鸭养殖模式^[34-36]和原料蛋清洗消毒可减少加工原料蛋的原始菌落总数^[37-41], 为了初步研究鸭蛋载菌量与加工皮蛋生成红斑相关度, 本课题组对比了鸭蛋臭氧水清洗前后的菌落数和相同条件下腌制皮蛋的红斑蛋比例, 发现清洗后蛋壳外菌落杀灭率 99% 以上, 经不高于 25℃ 恒温避光腌制, 几乎没有红斑蛋出现^[40]。鸭蛋消毒灭菌控菌结合低温避光腌制或许可控制蛋壳红斑的发生, 红斑具体形成机理需进一步研究探明。

3.3 结 论

通过多重检测手段分析判断蛋壳红斑主成分为 Cu_2O 。鸭蛋消毒灭菌控菌结合低温避光腌制或许可控制蛋壳红斑的发生。

参考文献

- [1] 马美湖. 禽蛋制品生产技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2003.
MA MH. Production technology of poultry egg products [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2003.
- [2] 刘焱, 罗灿, 欧阳元, 等. 茶叶种类及添加量对皮蛋品质的影响[J]. 茶叶科学, 2013, 33(2): 116-124.
LIU Y, LUO C, OUYANG Y, *et al.* Effects of tea varieties and dosage on preserved egg quality [J]. J Tea Sci, 2013, 33(2): 116-124.
- [3] 乐立强. 皮蛋表面斑点成分分析与控制方法的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
LE LQ. Study on composition analysis and control method of spot on preserved egg surface [D]. Huazhong Agricultural University, 2011.
- [4] 孙静, 皮劲松, 潘爱奎, 等. 皮蛋壳斑点成分分析[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(22): 5478-5482, 5503.
SUN J, PI JS, PAN AIL, *et al.* Component analysis of skin and eggshell spots [J]. Hubei Agric Sci, 2014, 53(22): 5478-5482, 5503.
- [5] 陈鹏. 用 XPS 研究贵州煤各显微组分中有机硫存在形态[J]. 燃料化学学报, 1997, 25(3): 238-241.
CHEN P. XPS was used to study the organic sulfur forms in various macerals of Yanzhou coal [J]. J Fuel Chem, 1997, 25(3): 238-241.
- [6] 孙静, 马美湖, 吴玲, 等. 热处理对皮蛋生产周期和品质的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(5): 367-372.
SUN J, MA MH, WU L, *et al.* Effect of heat treatment on production cycle and quality of preserved eggs [J]. Trans Chin Soc Agric Eng, 2011, 27(5): 367-372.
- [7] 阎华. 不同金属辅料对皮蛋加工品质的影响[J]. 江苏农业学报, 2008, (3): 208-209.
YAN H. Effects of different metal excipients on processing quality of preserved eggs [J]. Jiangsu J Agric, 2008, (3): 208-209.
- [8] 阮晓娟. 碱腌制对蛋壳的影响及蛋清凝胶机理的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
RUAN XJ. Effect of alkali curing on eggshell and gelation mechanism of egg white [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014.
- [9] 侯大军, 李洪军. 碱处理对风味皮蛋物理品质的影响[J]. 食品工业科技, 2008, 29(5): 119-121.
HOU DJ, LI HJ. Effect of alkali treatment on physical quality of preserved egg [J]. Sci Technol Food Ind, 2008, 29(5): 119-121.
- [10] 许乃岑, 沈加林, 张静. X 射线衍射-X 射线荧光光谱-电子探针等分析测试技术在玄武岩矿物鉴定中的应用[J]. 岩矿测试, 2015, 34(1): 75-81.
XU NC, SHEN JL, ZHANG J. Application of X-ray diffractometry, X-ray fluorescence spectrometry and electron probe in mineral identification of basaltic rocks [J]. Rock Miner Anal, 2015, 34(1): 75-81.
- [11] 王亚男, 李伟, 贾欠欠, 等. 三氧化钨的生物合成及其对亚甲基蓝的光降解[J]. 环境工程学报, 2018, 12(12): 3297-3307.
WANG YN, LI W, JIA QQ, *et al.* Biosynthesis of tungsten trioxide and its photodegradation of methylene blue [J]. Chin J Environ Eng, 2018, 12(12): 3297-3307.
- [12] 孙扬波. 矿物类中药炉甘石鉴定方法的系统研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2018.
SUN YB. Systematic study on identification method of calamine [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2018.
- [13] 胡成西. 蛋壳的 X-射线衍射实验研究[J]. 光散射学报, 2006, 18(3): 282-287.
HU CX. Experimental study of X-ray diffraction on eggshell [J]. J Light Scatt, 2006, 18(3): 282-287.
- [14] COSTA ZM, PONTUSCHKA WM, LUDWIG V, *et al.* A study based on ESR, XRD and SEM of signal induced by gamma irradiation in eggshell [J]. Radiat Meas, 2007, 42(6): 1233-1236.
- [15] 马美湖, 葛长荣, 杨富民, 等. 动物性食品加工学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017.
MA MH, GE CR, YANG FM, *et al.* Animal food processing science [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2017.
- [16] 万俊, 艾民珉, 周伦, 等. 皮蛋加工过程中油脂氧化及抗氧化特性研究[J]. 食品工业, 2018, 39(9): 126-131.
WAN J, AI MM, ZHOU Q, *et al.* Study on lipid oxidation and antioxidant properties of preserved eggs during processing [J]. Food Ind, 2018, 39(9): 126-131.
- [17] 孙静, 蔡盈, 杜金平. 不同金属添加剂对皮蛋壳斑点形成的影响[J]. 农产品加工(学刊), 2013, (22): 12-15.
SUN J, CAI Y, DU JP. Effects of different metal additives on the formation of shell spots [J]. Farm Prod Process, 2013, (22): 12-15.
- [18] CANTU JM, VALLE JP, PUENTE A, *et al.* Copper(II) and lead(II) adsorption onto zinc sulfide nanoparticles effects of light, pH, time, temperature, and interferences [J]. Int J Environ Sci Technol, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03610-w>
- [19] SAWANT JP, RAJPUT R, PATIL S, *et al.* Photocatalytic activities of hydrothermal synthesized copper zinc tin sulfide nanostructures [J]. J Mater Sci: Mater Electron, 2021, 32: 22803-22812.
- [20] HUANG CY, CHENG PC, CHANG JH, *et al.* Feasibility of remediation lead, nickel, zinc, copper, and cadmium-contaminated groundwater by calcium sulfide [J]. Water, 2021, 13(16): 2266.
- [21] AI MM, ZHOU Q, GUO SG, *et al.* Effects of tea polyphenol and $\text{Ca}(\text{OH})_2$ on the intermolecular forces and mechanical, rheological, and microstructural characteristics of duck egg white gel [J]. Food Hydrocolloid, 2019, 94: 11-19.

- [22] 张益鹏, 王树才, 王石泉. 鸭蛋蛋壳质特性研究[J]. 华中农业大学学报, 2014, 33(2): 123–127.
ZHANG YP, WANG SC, WANG SQ. Study on the characteristics of eggshell mass transfer in duck eggs [J]. J Huazhong Agric Univ, 2014, 33(2): 123–127.
- [23] 张凯. 鸭蛋壳的力学特性及多孔超微结构的渗透特性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2012.
ZHANG K. Study on mechanical properties of duck eggshell and permeability of porous ultrastructure [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012.
- [24] 卢昌丽, 熊香元, 龚慧可, 等. 不同季节新鲜鸭蛋表面污染细菌的多样性分析[J]. 食品科学, 2021, 42(18): 306–313.
LU CL, XIONG XY, GONG HK, *et al.* Diversity analysis of bacteria contaminated on the surface of fresh duck eggs in different seasons [J]. Food Sci, 2021, 42(18): 306–313.
- [25] 陈力力, 申田宇, 刘金, 等. 鸡蛋贮藏期细菌污染及其对蛋品质影响的研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(17): 357–363.
CHEN LL, SHEN TY, LIU J, *et al.* Research progress on bacterial contamination of eggs during storage and its effect on egg quality [J]. Food Sci, 2019, 40(17): 357–363.
- [26] 申田宇, 陈力力, 刘焱, 等. 腐败变质鸡蛋内容物细菌群落多样性分析[J]. 激光生物学报, 2020, 29(2): 168–175, 182.
SHEN TY, CHEN LL, LIU Y, *et al.* Analysis of bacterial community diversity in the contents of spoiled eggs [J]. J Laser Biol, 2020, 29(2): 168–175, 182.
- [27] 时学锋, 郑江霞. 鸡蛋微生物污染及抗菌防御机制的研究进展[J]. 中国家禽, 2021, 43(12): 78–84.
SHI XF, ZHENG JX. Research progress on microbial contamination and antibacterial defense mechanism of eggs [J]. Chin Poul, 2021, 43(12): 78–84.
- [28] 智秀娟, 郝艳芳, 全其根, 等. 天鹅蛋中主要致腐微生物的分离与鉴定[J]. 食品工业科技, 2016, 37(7): 101–104, 109.
ZHI XJ, HAO YF, TONG QG, *et al.* Isolation and identification of major decaying microorganisms from swan eggs [J]. Sci Technol Food Ind, 2016, 37(7): 101–104, 109.
- [29] 王伟杰. 2017—2018年辽宁省市售食品中常见食源性致病微生物污染情况及其趋势分析[D]. 长春: 吉林大学, 2020.
WANG WJ. Analysis on the contamination situation and trend of common foodborne pathogenic microorganisms in commercial food in Liaoning Province from 2017 to 2018 [D]. Changchun: Jilin University, 2020.
- [30] 张昊, 杨林杰, 张腾飞, 等. 一株致皮蛋“爆蛋”的嗜碱菌株分离鉴定及其 De novo 测序分析[J]. 现代食品科技, 2022, 38(3): 49–55, 73.
ZHANG H, YANG LJ, ZHANG TF, *et al.* Isolation and identification of a basophilic bacterium BD from “Bursting” preserved egg and De novo sequencing analysis of the strain [J]. Mod Food Sci Technol, 2022, 38(3): 49–55, 73.
- [31] 赵延洋. 微生物诱导钙镁离子沉积矿化机制的实验研究[D]. 青岛: 山东科技大学, 2020.
ZHAO YY. Experimental study on the mechanism of calcium-magnesium ion deposition mineralization induced by microorganisms [D]. Qingdao: Shandong University of Science and Technology, 2020.
- [32] 李丽杰, 贺敏, 贺银凤, 等. 酵母菌对重金属的吸附与抗性和解毒重金属的胞内分子机制研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(3): 330–337.
LI LJ, HE M, HE YF, *et al.* Research progress on adsorption and resistance to heavy metals and intracellular molecular mechanism of detoxification of heavy metals in yeast [J]. Food Sci, 2019, 40(3): 330–337.
- [33] 李如意. 普罗威登斯属细菌的重金属吸附行为及转录组测序分析[D]. 株洲: 湖南工业大学, 2019.
LI RY. Heavy metal adsorption behavior and transcriptome sequencing analysis of *Providencia* bacteria [D]. Zhuzhou: Hunan University of Technology, 2019.
- [34] 杨霞. 发酵床养鸭和传统地面养鸭生产性能的对比研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2017.
YANG X. Comparative study on production performance of fermented bed reared ducks and traditional ground reared ducks [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2017.
- [35] 赵小丽. 蛋鸭 3 种生态养殖模式分析[J]. 中国家禽, 2018, 40(18): 66–68.
ZHAO XL. Analysis of three ecological breeding modes of laying duck [J]. Chin Poul, 2018, 40(18): 66–68.
- [36] 吴文锦, 汪兰, 张依洁, 等. 不同养殖及腌制方式下咸鸭蛋的贮藏期研究[J]. 中国家禽, 2015, 37(12): 35–38.
WU WJ, WANG L, ZHANG YJ, *et al.* Study on storage period of salted duck eggs under different culture and salting methods [J]. Chin Poul, 2015, 37(12): 35–38.
- [37] 袁兴云, 张贝贝, 莫庆楠, 等. 微酸性电解水对受鸡粪液污染鸡蛋表面沙门氏菌的喷雾消毒效果[J]. 农业工程学报, 2021, 37(20): 333–338.
YUAN XY, ZHANG BB, MO QN, *et al.* Spray disinfection effect of slightly acidic electrolyzed water on salmonella on the surface of eggs contaminated by chicken manure [J]. Trans Chin Soc Agric Eng, 2021, 37(20): 333–338.
- [38] 李侠, 温佳琪, 王秀娟, 等. 物理化学协同处理对蛋源表面微生物的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(9): 203–213.
LI X, WEN JQ, WANG XJ, *et al.* Effect of physical and chemical synergistic treatment on microorganisms on the surface of egg source [J]. China J Food, 2021, 21(9): 203–213.
- [39] 孙静, 杜金平, 向俊, 等. 腌制前清洗消毒对咸蛋游离氨基酸的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(15): 6160–6168.
SUN J, DU JP, XIANG J, *et al.* Effect of cleaning and disinfection before pickling on free amino acids of salted eggs [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(15): 6160–6168.
- [40] 孙静, 杜金平, 卢立志, 等. 鸭蛋菌落数及洁蛋加工[J]. 食品安全导刊, 2018, (31): 28–29.
SUN J, DU JP, LU LZ, *et al.* Colony count of duck eggs and egg cleaning processing [J]. Chin Food Saf Magaz, 2018, (31): 28–29.
- [41] 孙静, 邓姝颖, 李游, 等. 次氯酸钠杀菌结合聚乙烯醇基纳米 SiO₂ 复合材料涂膜对鸭蛋保鲜效果的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(18): 295–299.
SUN J, DENG SY, LI Y, *et al.* Effect of sodium hypochlorite sterilization combined with polyvinyl alcohol based nano-SiO₂ composite coating on preservation effect of duck eggs [J]. Sci Technol Food Ind, 2017, 38(18): 295–299.

(责任编辑: 郑丽 韩晓红)

作者简介



孙静, 博士, 副研究员, 主要研究方向为蛋品加工研究。

E-mail: sammi8866@sina.com



杜金平, 研究员, 主要研究方向为家禽育种与产品加工研究。

E-mail: ddjpin@163.com