

不同温度胁迫条件下太平洋牡蛎挥发性化合物的变化

孟楠¹, 郝丽莉¹, 王昕岑^{1,2*}, 宋雨¹, 丛培旭¹, 徐杰^{1*}, 李兆杰¹, 薛长湖^{1,3}

(1. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

(2. 青岛大学营养与健康研究院, 山东青岛 266071) (3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 山东青岛 266237)

摘要: 为探究温度胁迫后太平洋牡蛎挥发性成分的变化, 该研究采用感官评定、气相色谱-离子迁移谱 (Gas Chromatography-Ion Mobility Spectroscopy, GC-IMS)、气相色谱-质谱联用 (Gas Chromatography-Mass Spectrometer, GC-MS) 结合多元统计分析的方法, 对不同温度胁迫条件 (12、22、32 °C) 的太平洋牡蛎挥发性成分进行了检测, 同时测定了其存活率以及脂肪酸含量的变化。结果显示, 胁迫 6 d 后, 低温 12 °C 组的存活率达到 97.90%, *n*-3 型多不饱和脂肪酸 (Polyunsaturated Fatty Acid, PUFA) 含量升高。感官评定、GC-IMS 以及 GC-MS 结果显示辛醛等鱼腥味醛类成分含量下降, 而呈紫罗兰气味的 (*E,Z*)-2,6-壬二烯醛升至 12.15%, 提供了愉悦的气味。高温 32 °C 胁迫后存活率降至 26.00%, *n*-3 PUFA 含量下降从 46.07% 下降至 39.59%, 同时饱和醛等腥味醛类含量显著上升, 加重了太平洋牡蛎的腥味, 导致牡蛎的品质严重下降。最后通过统计分析筛选 6 种关键成分: 己醛、辛醛、(*E,Z*)-2,6-壬二烯醛、(*E*)-2-壬烯醛、(*E,E*)-2,4-庚二烯醛以及 3-辛酮。温度对太平洋牡蛎的存活率、*n*-3 PUFA 含量及挥发性成分有较大影响, 该研究为提升太平洋牡蛎品质提供了有益参考。

关键词: 太平洋牡蛎; 温度; 胁迫; 存活率; 脂肪酸; 挥发性成分

文章编号: 1673-9078(2024)02-265-272

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.2.0276

Changes in Volatile Compounds in Pacific Oysters under Different Temperature Stress Conditions

MENG Nan¹, HAO Lili¹, WANG Xincen^{1,2*}, SONG Yu¹, CONG Peixu¹, XU Jie^{1*}, LI Zhaojie¹, XUE Changhu^{1,3}

(1. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

(2. Institute of Nutrition and Health, Qingdao University, Qingdao 266071, China)(3. National Laboratory for Marine Science and Technology, Laboratory of Marine, Drugs and Biological Products, Qingdao 266237, China)

Abstract: The changes in volatile components in Pacific oysters under temperature stress were investigated using multiple methods, including sensory evaluation, gas chromatography-ion mobility spectroscopy (GC-IMS), gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and multivariate statistical analysis. The analysis was conducted under different temperature stress conditions (12, 22, and 32 °C). Concurrently, survival rate and fatty acid content of Pacific oysters were determined. After 6 days of stress, the 12 °C group exhibited a 97.90% survival rate, accompanied by an increase in *n*-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) content. Sensory evaluation, GC-IMS, and GC-MS results indicated a decrease in the content of aldehydes associated with fishy flavor,

引文格式:

孟楠,郝丽莉,王昕岑,等.不同温度胁迫条件下太平洋牡蛎挥发性化合物的变化[J].现代食品科技,2024,40(2):265-272.

MENG Nan, HAO Lili, WANG Xincen, et al. Changes in volatile compounds in pacific oysters under different temperature stress conditions [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(2): 265-272.

收稿日期: 2023-03-08

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2019YFD0901802); 现代农业产业技术体系专项 (CARS-49)

作者简介: 孟楠 (1998-), 女, 硕士, 研究方向: 水产品化学与品质, E-mail: mengnan@stu.ouc.edu.cn

通讯作者: 王昕岑 (1990-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 水产品营养, E-mail: cen0812@163.com; 共同通讯作者: 徐杰 (1973-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 水产品化学与脂质变化, E-mail: xujie9@ouc.edu.cn

including octanal, and an increase in the content of (*E,Z*)-2,6-nonadienal (12.15%), which associated with fruity flavor, providing a pleasant odor to Pacific oysters. In contrast, exposure to high temperature stress at 32 °C resulted in a decrease in survival rate to 26.00%, accompanied by a decrease in *n*-3 PUFA content from 46.07% to 39.59%. Concurrently, there was a considerable increase in the content of aldehydes associated with fishy flavor, such as saturated aldehydes, intensifying the fishy smell of Pacific oysters and resulting in a notable deterioration in quality. In other words, high temperature stress caused a serious decline in oyster quality. Statistical analysis revealed significant differences in six key volatile components: octanal, hexanal, (*E,Z*)-2,6-nonadienal, (*E*)-2-nonenal, (*E,E*)-2,4-heptadienal, and 3-octanone. The survival rate, *n*-3 PUFA content, and volatile component composition of Pacific oysters were remarkably influenced by temperature stress. This study provides a valuable reference for enhancing the quality of Pacific oysters.

Key words: Pacific oysters; temperature; stress; survival rate; fatty acid; volatile compounds

牡蛎, 又称生蚝、海蛎子, 是世界上第一大养殖贝类, 因其肉质鲜嫩肥美且营养丰富而备受消费者欢迎, 其中太平洋牡蛎是最重要的一类。研究表明, 太平洋牡蛎富含 *n*-3 多不饱和脂肪酸 (Polyunsaturated Fatty Acid, PUFA), 二十碳五烯酸 (Eicosapentaenoic Acid, EPA) 占 10.79%~15.24%, 二十二碳六烯酸 (Docosahexaenoic Acid, DHA) 占 10.35%~15.50%^[1], *n*-3 PUFA 已被研究证明在癌症、心脑血管疾病等具有良好的作用, 因此太平洋牡蛎是一种极好的健康食品^[2]。然而, 近年来全球变暖导致海洋温度发生变化, 海水温度是影响水生生物, 特别是贝类生存环境的重要因素。研究发现太平洋牡蛎生长温度的改变会影响牡蛎行为以及生理过程^[3], 改变抗氧化酶活性并导致蛋白质损伤^[4]。在温度变化过程中, 也会改变细胞内脂类、糖和蛋白质的代谢, 而挥发性化合物主要来自脂质等氧化降解, 因此温度胁迫可对挥发性化合物产生影响^[5]。

太平洋牡蛎形成的风味是众多呈香挥发性物质以不同比例混合的集合效应的结果, 多为醛类、醇类、酮类。目前的研究已经证明环境因素会影响太平洋牡蛎的生化组成和感官特性, 然而以往的研究主要集中在牡蛎的贮藏、加工和养殖过程中^[6-8], 缺乏生长环境温度变化对太平洋牡蛎的挥发性成分进行研究。气相色谱-质谱法 (Gas Chromatography-Mass Spectrometer, GC-MS) 因其灵敏度高、操作简单快速、重现性好等优点, 被广泛应用牡蛎的关键挥发性成分分析, 包括牡蛎新鲜度预测和地理溯源等^[9]。此外, 气相色谱-离子迁移谱 (Gas Chromatography-Ion Mobility Spectroscopy, GC-IMS) 作为一种不同于 GC-MS 识别能力的技术, 近年来在挥发性化合物分析中也得到了广泛应用。除了仪器分析外, 统计分析在挥发性化合物的鉴定中起着至关重要的作用。

因此本研究选取在不同温度下养殖的太平洋牡蛎为研究对象。采用感官评定、GC-IMS 以及 GC-MS 技术对太平洋牡蛎挥发性成分进行评价, 并通过统计学分析, 确定不同温度胁迫下的关键挥发性化合物, 同时对胁迫过程中牡蛎的成活率和脂肪酸变化进行测定。旨在为牡蛎的挥发性成分研究和品质控制提供依据, 并为太平洋牡蛎在温度胁迫下的变化机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试剂与设备

分析纯盐酸、甲醇、正己烷, 国药集团; 质谱级正己烷, 美国 Thermo Fisher 公司; Model V-30 氧气泵, 广东海利集团; PB100 手持式高速匀浆机, 苏州华美辰仪器设备有限公司; AB135S 精密天平, 瑞士梅特勒公司; DUC-1C 氮吹仪, 日本 TAITEX 公司; FlavourSpec® 风味分析仪 (配备 CTC 自动顶空进样器), 德国 G.A.S 公司; 8890 气相色谱仪、7000D 三重四极杆质谱仪, 美国安捷伦科技有限公司。

1.2 试验设计

新鲜太平洋牡蛎购买于威海市乳山牡蛎养殖场, 从中随机挑选牡蛎个体进行生物学参数统计, 测得壳长 (86.2±6.7) mm, 宽 (46.2±1.6) mm, 高 (25.4±3.2) mm, 质量 (72.8±6.1) g。将牡蛎用流水清洗, 盐度控制在太平洋牡蛎适宜生长的 28‰, 在 22 °C 的实验室养殖水槽中暂养一周。一周后将其转移至具有可以自动调节温度的水箱中, 胁迫 6 d。共设置三个温度梯度, 分别是低温组 (12 °C)、对照组 (22 °C) 以及高温组 (32 °C), 调节后的海水温度保持恒温, 盐度均保持在 28‰。暂养和胁迫期间每日投喂螺旋藻粉, 换水量 1/3。当牡蛎离开水 5 s 内无法自主闭合时, 视为死亡, 将死亡个体及时

移出, 以免影响牡蛎生活的水质。胁迫 6 d 后, 随机选取 6 个活体样本, 液氮冷冻, 保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 待后续实验使用。

1.3 试验方法

1.3.1 存活率测定

为了分析不同温度和盐度对牡蛎存活的影响, 每天记录各组牡蛎的存活和死亡只数, 与初始值进行比较。

1.3.2 试样制备

取液氮冷冻后太平洋牡蛎样品, 自然解冻, 取手持匀浆机搅拌均匀后, 置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, 待后续测定。 $n=6$ 。

1.3.3 脂肪酸组成变化

牡蛎中脂肪酸含量根据 GB 5009.6-2016《食品中脂肪的测定》中酸水解法进行测定。GC-MS 测定方法参考 Minhaz 等^[10]的研究。色谱条件: 色谱柱 HP-INNOWAX 石英毛细管柱 ($30\text{ m}\times 0.32\text{ mm}$, $0.25\text{ }\mu\text{m}$), 进样口温度为 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, 检测器温度为 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。升温程序: 初始温度为 $170\text{ }^{\circ}\text{C}$ 并保持 5 min, 以 $3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$, 在 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保持 15 min。质谱条件: 离子源温度 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, 电子轰击能量 70 eV , 扫描范围 m/z 50~500, 溶剂延迟 3 min。结合 NIST17 数据库进行定性分析, 面积归一化计算各脂肪酸占总脂肪酸组成百分比, 平行三份。

1.3.4 感官分析

将太平洋牡蛎样品放入 100 mL 锥形瓶中, 平衡 30 min。选取经过感官评定课程学习以及系统训练的 10 位成员作为感官评定小组 (5 男 5 女, 年龄 20~26 岁)。本研究采用国际标准 ISO 6564-1985《感官分析方法学—风味剖面检验》中的独立方法, 对样品进行感官评价。经过讨论, 选取青草味、果香味、哈喇味、鱼腥味以及金属味作为描述词。采用 0~10 分评定气味等级, 0 分最弱, 10 分最强, 结果取平均值, 平行三份。

1.3.5 GC-IMS分析挥发性化合物

参考 Zhang 等^[11]方法, 稍作修改后进行。将 2.0 g 牡蛎样品分别放入 20 mL 顶空瓶中, 用隔片密封, 孵育温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 时间 20 min。进样温度 $85\text{ }^{\circ}\text{C}$, 速度 $60\text{ mL}/\text{min}$ 。采用 FS-SE-54-CB 毛细管柱 ($15\text{ m}\times 0.53\text{ mm}$, $1.0\text{ }\mu\text{m}$), 柱温 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。氮气 (纯度为 99.99%) 作为载气流速, 设定程序为: 初始流速 $5\text{ mL}/\text{min}$, 保持 2 min, 10 min 时, 升至 $15\text{ mL}/\text{min}$,

15 min 时, $50\text{ mL}/\text{min}$, 20 min 升至 $100\text{ mL}/\text{min}$, 保持到 25 min。IMS 温度 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, 漂移气 (氮气, 纯度为 99.99%) 流速 $150\text{ mL}/\text{min}$ 。以 n -酮 C_4 - C_9 为外标, 计算挥发性化合物的保留指数 (Retention Index, RI)。通过比较 GC-IMS 库的 RI 和标准漂移时间来鉴定挥发性化合物, 平行三份。

1.3.6 GC-MS分析挥发性化合物

根据 Kawabe 等^[12]研究方法, 稍作修改后进行, 平行三份。

挥发性化合物提取: 使用配备 $50/30\text{ }\mu\text{m}$ DVB/CAR/PDMS 纤维的 SPME 装置提取牡蛎挥发性化合物。准确称量均质后的牡蛎样品 2.0 g 至 20 mL 顶空瓶中, 在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下平衡 20 min, 同样温度下萃取 30 min。完成后, 将纤维插入 GC 仪器的进样口 ($250\text{ }^{\circ}\text{C}$) 以解吸分析物 5 min。

GC-MS 方法: 色谱柱: HP-5ms UI ($30\text{ m}\times 0.25\text{ mm}$, $0.25\text{ }\mu\text{m}$); 采用超高纯度氮气 ($\geq 99.999\%$) 作为载气, 恒定流速为 $1.0\text{ mL}/\text{min}$, 不分流进样; 升温程序如下: 初温 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温 3 min, 以 $6\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, 再以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 10 min。MS 条件为: MS 传输线温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, 质量扫描范围 m/z 33~300, EI 电子能量为 70 eV 。用正构烷烃 (C_6 - C_{30}) 计算挥发性化合物的线性保留指数。通过与 NIST20 和 Wiley 11 文库的 GC 保留指数和质谱 (Mass Spectrometry, MS) 的比较, 对挥发性化合物进行了鉴定。同时采用峰面积归一化法计算各成分的相对含量。

1.4 数据分析

用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析, 所有数据均以平均数 \pm 标准差表示, 认为 $P<0.05$ 的结果具有显著性差异。GC-IMS 采用 LAV 以及 Reporter 插件分析结果, 偏最小二乘回归分析 (Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA) 以及 VIP 图的绘制在 <https://www.metaboanalyst.ca/> 网站完成。

2 结果与讨论

2.1 不同温度胁迫对太平洋牡蛎存活率的影响

牡蛎在 6 d 胁迫期内的存活率变化如表 1 所示。6 d 中 $12\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度下的牡蛎存活率没有发现显著差异, 但随着温度的升高, 成活率显著降低 ($P<0.05$)。32 $^{\circ}\text{C}$ 胁迫 6 d 后, 存活率降至 26.00%。这与早期的研究结果一致, 即牡蛎具有特定的热敏感性^[13]。研究表明, 高温胁迫会加剧太平洋牡蛎的生理活动,

干扰摄食和消化行为，降低机体对环境的适应能力^[14]，同时高温胁迫也可以通过改变相关的微生物群落而影响牡蛎的生存^[15]。另外，高温是牡蛎病害产生的一种强大的环境驱动因素，这可能是多数病原体倾向于温暖的环境中生长，从而导致病原体的增殖，如疱疹病毒 OsHV-1^[16]。因此，高温环境下，太平洋牡蛎体内生理行为加剧、肠道微生物的改变以及病原体的增殖可能是导致死亡率增高的原因。

2.2 不同温度胁迫对太平洋牡蛎脂肪酸组成的影响

太平洋牡蛎在 12、22、32 °C 三种不同温度胁迫 6 d 后的脂肪酸组成如表 2 所示。太平洋牡蛎中共检出 26 种脂肪酸，其中 6 种饱和脂肪酸，8 种单不饱和脂肪酸，以及 12 种 PUFA。其中 PUFA 占比在 40% 左右，这与前人的报道相符^[17]。与对照组相比，高温胁迫后，饱和脂肪酸 C18:0 含量增加，PUFA 中 C20:5、C18:3、C22:6 等含量发生下

降。而低温胁迫下 PUFA 的含量整体保持平衡，但 C20:5、C22:6 等 PUFA 的含量增加。

当处于高温胁迫时，会使细胞膜的变相温度增加，水生生物需要提高细胞膜稳定性以增强耐热能力，因此导致饱和脂肪酸含量升高^[18]。而 PUFA 是牡蛎中具有高营养价值的成分，高温胁迫后，会产生大量活性氧^[19]，导致 PUFA 发生氧化，产生部分短链挥发性物质，导致牡蛎的腥味等成分增加。而低温胁迫提高部分 C20:5、C22:6 等 *n*-3 PUFA 的含量，从而提升牡蛎的品质。Zhu 等^[20]对低温胁迫下的扇贝进行脂肪酸分析，结果发现 13 °C、11 °C 低温胁迫下，扇贝中 C20:5 及 C22:6 的水平显著升高，这与本研究的结果是相符的。而 Yu 等^[21]对海参升温胁迫后的脂肪酸谱进行测定，发现随着温度的升高，C20:5 及 C22:6 的含量显著下降，因此，通过以上结果，本研究可以得出初步结论，太平洋牡蛎在温度变化过程中，通过调节脂肪酸的含量以适应不同的水温。

表1 不同温度胁迫下牡蛎存活率
Table 1 Survival rate of oysters under different temperature stress (%)

温度/°C	胁迫时间/d						
	0	1	2	3	4	5	6
12	100.00±0.00	97.9±1.10 ^a	97.90±1.10 ^a	97.90±1.10 ^a	97.90±1.10 ^a	97.90±1.10 ^a	97.90±1.10 ^a
22	100.00±0.00	94.60±1.65 ^a	87.80±5.50 ^b	72.00±6.30 ^b	68.00±4.80 ^b	64.00±3.80 ^b	52.00±5.00 ^b
32	100.00±0.00	84.00±2.50 ^b	71.00±5.20 ^c	52.00±4.40 ^c	41.00±2.25 ^c	30.00±2.10 ^c	26.00±2.16 ^c

注：结果以 SD ± 平均值表示；a~c 用不同字母标记的值在同一行中显著性差异 ($P < 0.05$)。下表同。

表2 不同温度胁迫6 d后太平洋牡蛎脂肪酸组成 (占总脂肪酸%)
Table 2 Fatty acid profile (% of total fatty acids) of Pacific oyster after 6 days under different temperature stress

脂肪酸	温度/°C			脂肪酸	温度/°C		
	12	22	32		12	22	32
C14:0	2.59±0.06 ^b	3.67±0.22 ^a	2.51±0.28 ^b	C18:3(<i>n</i> -6)	0.27±0.02 ^b	0.54±0.02 ^a	0.23±0.00 ^b
C15:0	0.74±0.02 ^b	0.65±0.01 ^c	0.79±0.02 ^a	C18:3(<i>n</i> -3)	1.60±0.07 ^a	1.98±0.02 ^a	0.82±0.09 ^b
C16:0	20.02±0.98 ^a	19.50±2.37 ^a	20.91±2.14 ^a	C18:4(<i>n</i> -6)	3.11±0.32 ^{ab}	3.64±0.35 ^a	2.60±0.13 ^b
C16:1	2.45±0.24 ^b	3.70±0.39 ^a	2.02±0.21 ^b	C20:1(<i>n</i> -7)	1.45±0.12 ^c	2.01±0.12 ^b	2.92±0.08 ^a
15- 甲基十六烷酸	0.57±0.03 ^{ab}	0.52±0.07 ^b	0.63±0.01 ^a	C20:1(<i>n</i> -9)	0.54±0.06 ^b	0.86±0.03 ^a	0.60±0.07 ^b
C16:2	0.61±0.06 ^a	0.59±0.02 ^a	0.55±0.02 ^a	C20:1(<i>n</i> -11)	4.26±0.13 ^a	4.16±0.16 ^a	4.08±0.20 ^a
C17:0	1.94±0.20 ^b	1.50±0.08 ^c	2.25±0.00 ^a	C20:4	1.69±0.14 ^a	1.37±0.10 ^b	1.55±0.13 ^{ab}
C17:1	0.83±0.07 ^a	0.78±0.10 ^a	0.68±0.04 ^a	C20:5	18.59±0.32 ^a	16.52±1.31 ^b	14.57±0.34 ^c
C18:0	6.70±0.67 ^b	6.28±0.17 ^b	10.64±0.30 ^a	C22:2	2.93±0.41 ^a	3.03±0.12 ^a	2.69±0.01 ^a
C18:1(<i>n</i> -6)	0.73±0.08 ^a	0.69±0.07 ^a	0.77±0.03 ^a	C21:5	1.47±0.02 ^a	1.46±0.03 ^a	1.08±0.05 ^b
C18:1(<i>n</i> -9)	2.93±0.19 ^b	3.56±0.29 ^a	3.26±0.11 ^{ab}	C22:5	1.10±0.02 ^a	1.22±0.07 ^a	1.22±0.12 ^a
C18:1(<i>n</i> -13)	5.95±0.72 ^a	4.61±0.41 ^b	4.73±0.36 ^b	C22:6	14.52±0.47 ^a	13.39±1.25 ^{ab}	12.32±0.68 ^b
C18:2(<i>n</i> -9)	1.29±0.16 ^b	1.44±0.03 ^b	1.03±0.02 ^a	PUFA	45.07±0.57 ^a	46.07±2.86 ^a	39.59±0.93 ^b
C18:2(<i>n</i> -6)	0.95±0.05 ^a	0.85±0.09 ^a	0.86±0.07 ^a				

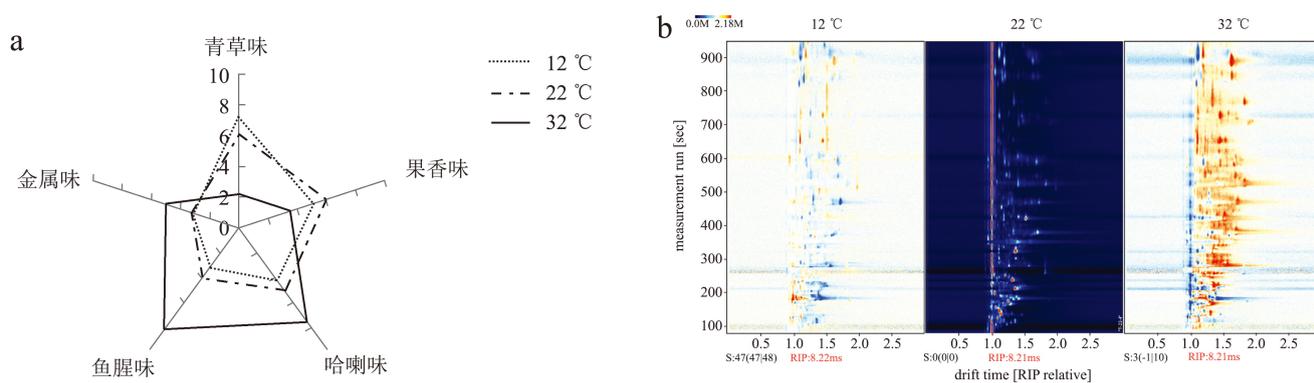


图 1 不同温度胁迫下太平洋牡蛎挥发性成分感官评价 (a) 以及 GC-IMS 地形图 (b)

Fig.1 The sensory description (a) and HS-GC-IMS topographic plots (b) of volatile compounds in oysters by different temperatures

2.3 感官分析

水温是重要的环境因子，对海洋生物的生理行为以及生长变化具有显著的影响^[22]。目前温度胁迫对于太平洋牡蛎的营养研究多集中于生理生化行为，缺少对挥发性气味成分的研究。挥发性成分是太平洋牡蛎作为水产品受到消费者喜爱的重要因素，因此本研究首先采用感官评价方法分析了不同温度胁迫下太平洋牡蛎的挥发性气味变化，结果如图 1a 所示。

由图 1a 感官评定结果可知，对照组 22 °C 牡蛎主要呈青草味以及果香味，是因为太平洋牡蛎主要以藻类为食，内脏中含有部分未消化的藻类。同时伴有腥味、哈喇味以及金属味，主要是由于水体中的腥味物质、牡蛎体内的脂质氧化以及所吸附的金属离子导致。低温 12 °C 胁迫 6 d 后，青草味的气味强度显著增加，而鱼腥味以及哈喇味下降，说明低温胁迫后太平洋牡蛎产生更愉悦的气味。而高温 32 °C 胁迫后，果香味和青草味的气味强度显著降低，鱼腥味和哈喇味等不良气味显著增加。由此可见，高温胁迫对牡蛎的风味产生了负面影响，感官品质下降。

2.4 GC-IMS分析

采用 GC-IMS 对不同胁迫条件下太平洋牡蛎的挥发性成分进行了分析。如图 1b 所示，低于参考标准的挥发性成分浓度以蓝色显示，高于参考标准的挥发性成分浓度以红色显示。光谱上的每个点代表从样品中检测到的化合物^[22]。与对照温度 (22 °C) 相比，温度胁迫后高温组 (32 °C) 的红色信号增加，说明挥发性物质信号较强，而低温组 (12 °C) 则与对照组变化不大，甚至出现了部分挥发性成分的含

量减少的现象。美拉德反应、脂质氧化降解、氨基酸降解和微生物增殖可产生挥发性化合物^[23]。研究表明，温度和变化会影响牡蛎的生理代谢、免疫反应和微生物群落^[24]。因此，胁迫后可以改变挥发性成分的含量。太平洋牡蛎高温胁迫 6 d 后，增加了部分挥发性成分的信号强度。这一结果可能是由于太平洋牡蛎在高温胁迫后 PUFA 氧化降解，从而使挥发性物质含量增加。

2.5 GC-MS分析

由于 GC-IMS 检测到大量的挥发性成分二聚体，无法对挥发性成分进行更详细的信息研究。为了全面了解牡蛎挥发性化合物的变化，采用 GC-MS 进行分析。通过将其 RI 和 MS 图谱与内部数据库和参考化合物进行比较，对各种组分进行定性分析。GC-MS 共鉴定出 37 种不同的挥发性化合物 (表 3)，包括 23 种醛类、3 种酸类、3 种酮类、3 种醇类、1 种酯类以及呋喃等化合物。其中，主要化合物为醛类，以 (*E,E*)-2,4-庚二烯醛、(*E,Z*)-2,6-壬二烯醛和辛醛为主；酮类次之，主要为 3,5-辛二烯-2-酮、3-辛酮和 1-戊烯-3-酮；醇类主要为 1-辛烯-3-醇和 1-庚醇。挥发性化合物种类的研究结果与之前的研究相一致^[25]，这些成分与牡蛎的新鲜程度有很大的关系，也进一步反映出牡蛎的品质优劣。由表 2 可知，随着胁迫温度的升高，辛醛、己醛等饱和醛，*E,E*-2,4-庚二烯醛以及 *E*-2-辛烯醛等不饱和醛的含量都显著升高，而 3-辛酮等饱和酮含量下降，醇类化合物 1-辛烯-3-醇和 1-庚醇无显著变化。

醛主要由脂质氧化和降解产生，阈值低，对食物的整体味道有很大影响。本研究证明高温胁迫会

导致太平洋牡蛎的 PUFA 含量下降, 而脂肪酸氧化降解可以产生挥发性醛类物质, 因此高温胁迫中 PUFA 含量的下降是导致挥发性醛增加的直接原因。己醛、辛醛作为短链饱和醛, 主要呈现不愉快的脂肪味以及鱼腥味^[26], 会导致太平洋牡蛎的难闻气味增加。低温胁迫后相对于对照组, 辛醛、壬醛的含量下降, 说明在太平洋牡蛎在适应低温胁迫的环境下, 较少的发生氧化降解反应。*(E,Z)*-2,6-壬二烯醛在太平洋牡蛎中含量仅次于 *(E,E)*-2,4-庚二烯醛, 达 11.17%, 呈现强烈的紫罗兰和黄瓜似香气, 高温胁迫后, 含量显著下降, 这可能是由于过度的热休克防御, 使牡蛎遭受严重的伤害, 消耗挥发性物质来维持它们的生存^[27]。*(E,E)*-2,4-庚二烯醛作为牡蛎的主要风味形成化合物, 来源于 *n*-3 PUFA 的氧化反应, 高温胁迫加剧了 *(E,E)*-2,4-庚二烯醛的生成, 从而促进 *n*-3 PUFA 含量的进一步下降^[28]。

挥发性醇主要是脂肪氧化的分解产物和美拉德反应的衍生物, 饱和醇的阈值较高, 对牡蛎的气味影响不大, 因此不作为研究对象。而长链不饱和醇 1-辛烯-3-醇主要通过 12-脂氧合酶 (12-LOX) 在 C20:4 *n*-6 的作用下产生, 为太平洋牡蛎提供了一种植物状和蘑菇状的香气^[29]。1-辛烯-3-醇在高温胁迫后, 含量下降至 6.76%, 进一步使高温组牡蛎失去了愉悦的气味。

酮主要由微生物诱导氧化、脂质氧化或氨基酸降解形成。大多数都有独特的淡雅果香。酮类也是牡蛎体内重要的挥发性成分, 胁迫后共有 5 种酮类发生变化, 其中变化最为显著的酮类是 3-辛酮以及 3,5-辛二烯-2-酮。3-辛酮主要呈现果香以及花香, 可以增加太平洋牡蛎愉悦性气味^[29]; 而 3,5-辛二烯-2-酮主要呈现哈喇味, 对太平洋牡蛎的腥味具有一定加和作用^[30]。因此, 高温胁迫下 3-辛酮的减少以及 3,5-辛二烯-2-酮的增加, 一定程度上是导致牡蛎产生腥味的因素; 低温组 3-辛酮含量的增加以及 3,5-辛二烯-2-酮的减少, 则使牡蛎更具愉悦的气味。以上的所有结果与感官分析的结果相符, 即高温 32 °C 胁迫会使太平洋牡蛎腥味成分增加, 增加不愉悦的感官体验, 低温胁迫则产生相反的结果, 使太平洋牡蛎产生更多果香味等宜人的气味。

表 3 不同温度胁迫 6 d 后太平洋牡蛎挥发性成分相对含量
Table 3 Relative contents of volatile compounds in oysters after 6 days under different temperature stress (%)

序号	化合物	温度/°C		
		12	22	32
1	甲酸乙烯酯	0.60±0.03 ^b	0.65±0.04 ^b	1.23±0.08 ^a
2	丙醛	0.64±0.16 ^a	ND	1.10±0.36 ^a
3	二甲基硫醚	0.55±0.10 ^b	0.53±0.10 ^b	1.28±0.17 ^a
4	3-甲基-丙酮	0.40±0.11 ^a	0.45±0.07 ^a	ND
5	二乙基硼酸	2.34±0.51 ^b	3.46±0.7 ^a	3.61±0.29 ^a
6	1-戊烯-3-酮	0.64±0.27 ^b	1.41±0.22 ^a	ND
7	3-戊酮	ND	ND	1.09±0.21 ^a
8	2-乙基呋喃	1.13±0.32 ^b	1.95±0.09 ^a	1.13±0.43 ^b
9	<i>E</i> -2-戊烯醛	1.91±0.04 ^a	1.84±0.19 ^a	2.13±1.06 ^a
10	己醛	2.04±0.28 ^b	1.94±0.33 ^b	3.73±0.69 ^a
11	<i>E</i> -2-己烯醛	2.61±0.49 ^b	3.30±0.64 ^{ab}	3.55±0.60 ^a
13	苯甲醚	1.55±0.20 ^c	2.00±0.31 ^a	2.19±0.16 ^a
14	4-庚烯醛	0.49±0.07 ^b	ND	1.06±0.28 ^a
15	庚醛	4.68±0.31 ^a	3.61±0.26 ^b	4.57±0.80 ^a
16	<i>E,E</i> -2,4-己二烯醛	ND	ND	0.85±0.13 ^a
17	苯甲醛	3.22±1.11 ^b	5.22±0.89 ^a	2.05±0.10 ^{ab}
18	正庚醇	0.91±0.07 ^c	2.83±0.32 ^a	1.50±0.27 ^b
19	1-辛烯-3-醇	7.36±0.75 ^a	7.52±0.58 ^a	6.76±0.60 ^a
20	3-辛酮	2.41±0.72 ^a	2.59±0.13 ^a	1.43±0.12 ^b
21	辛醛	5.67±0.40 ^b	6.13±1.29 ^b	8.70±0.82 ^a
22	<i>E,E</i> -2,4-庚二烯醛	12.91±1.15 ^b	12.23±1.37 ^b	15.90±2.43 ^a
23	苯乙醛	1.03±0.17 ^a	0.81±0.11 ^{ab}	0.70±0.11 ^b
24	<i>E</i> -2-辛烯醛	2.42±0.53 ^b	1.63±0.20 ^b	3.70±0.54 ^a
25	3,5-辛二烯-2-酮	6.58±0.65 ^b	6.23±1.72 ^b	7.18±0.28 ^a
26	壬醛	1.19±0.16 ^a	1.60±0.14 ^b	1.50±0.04 ^{ab}
27	<i>E,E</i> -2,4-辛二烯醛	2.01±0.13 ^a	2.40±0.45 ^a	0.93±0.15 ^b
28	<i>E,Z</i> -6-壬二烯醛	12.15±2.37 ^a	11.17±1.99 ^b	5.23±0.59 ^b
29	<i>E</i> -2-壬烯醛	1.23±0.12 ^b	2.70±0.09 ^a	2.94±0.41 ^a
30	4-乙基-苯甲醛	0.96±0.12 ^b	2.24±0.38 ^a	2.11±0.35 ^a
31	癸醛	1.69±0.28 ^a	1.64±0.10 ^a	1.03±0.17 ^b
33	<i>E</i> -2-癸烯醛	3.17±0.17 ^a	2.59±0.20 ^a	3.10±0.44 ^a
34	2-十一酮	2.84±0.47 ^a	1.79±0.05 ^b	ND
35	<i>E,E</i> -2,4-癸二烯醛	3.80±1.04 ^a	2.64±0.32 ^a	3.75±0.38 ^a
36	十一醛	3.48±0.68 ^a	ND	ND
37	十二醛	1.17±0.12 ^a	0.72±0.04 ^b	0.68±0.08 ^b
38	肉豆蔻酸	1.95±0.27 ^a	1.18±0.07 ^b	ND
39	棕榈酸	2.29±0.42 ^b	3.00±0.63 ^{ab}	3.43±0.23 ^a

注: ND: 未检出。

2.6 统计学方法分析挥发性化合物差异

为了更清楚地反映温度胁迫处理下太平洋牡蛎挥发性风味成分的差异。采用 PLS-DA 对不同温度胁迫后的牡蛎样品进行了区分。如图 2 所示, 通过 PLS-DA 能够实现明显的组间分离, 每个组被显示为更紧密地聚集在一起。且通过综合分析, 最终筛选出 6 个 $VIP > 1$ 、 $P < 0.05$ 的挥发性成分, 作为温度胁迫下太平洋牡蛎的潜在标志物, 包括 5 种醛类, 1 种酮类。结果表明己醛、辛醛、(E,Z)-2,6-壬二烯醛、(E)-2-壬烯醛、(E,E)-2,4-庚二烯醛以及 3-辛酮为温度胁迫过程中关键的挥发性化合物, 这 6 种化合物的含量变化, 导致了太平洋牡蛎的气味变化。

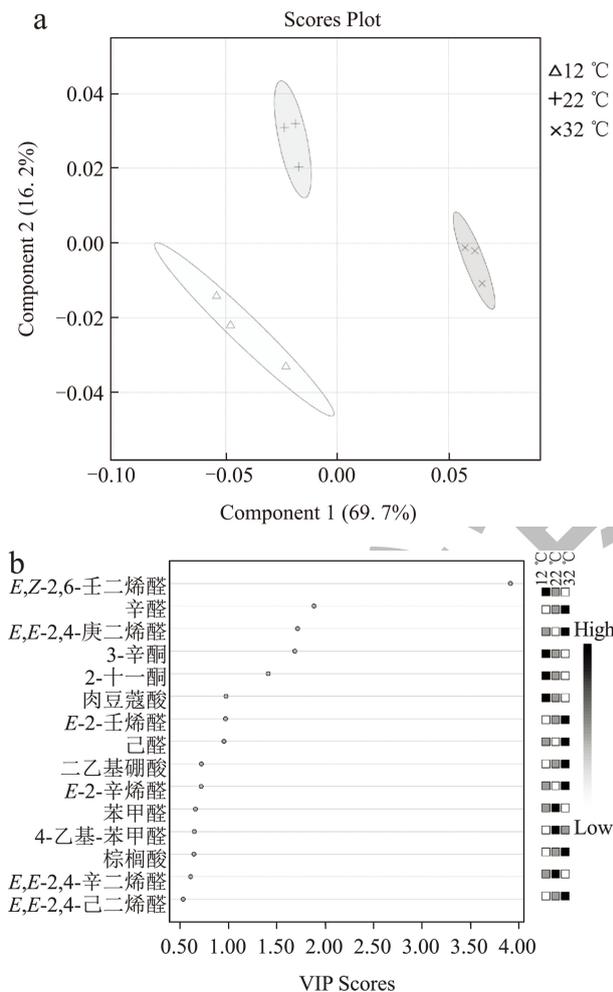


图 2 不同温度胁迫下太平洋牡蛎挥发性成分 PLS-DA 图 (a) 以及 VIP 评分图 (b)

Fig.2 The PLS-DA (a) and VIP scores (b) of volatile compounds in oysters under different temperature stress

综上, 本研究结合了感官评价, GC-IMS 以及 GC-MS 三种分析方法, 首次对不同温度胁迫 6 d 后太平洋牡蛎的挥发性成分变化进行了阐述, 高温胁迫降低了牡蛎 $n-3$ PUFA 的含量, 同时产生大量腥

味气体, 导致太平洋牡蛎品质下降, 存活率降低。而低温组则在保持太平洋牡蛎高存活率的同时, 能够提升太平洋牡蛎的良好品质, 使其释放更多令人愉悦的挥发性成分。

3 结论

本研究综合感官评价、GC-IMS 和 GC-MS 方法分析了太平洋牡蛎在温度胁迫下挥发性成分的变化, 同时测定了其存活率以及脂肪酸变化, 且以 VIP 值为基础, 建立了太平洋牡蛎 GC-MS 分析的 PLS-DA 模型, 筛选了 6 个关键挥发性物质。实验结果表明, 在低温 12 °C 胁迫条件下, 太平洋牡蛎的存活率达 97.9%, $n-3$ PUFA, 特别是 C20:5 含量升至 15.59%, 辛醛含量下降至 5.67%, 壬醛下降至 1.19%, 而呈紫罗兰气味的 (E,Z)-2,6-壬二烯醛升至 12.15%, 使太平洋牡蛎更具宜人的气味, 从而提高了牡蛎的品质。而高温 32 °C 胁迫后, 存活率降至 26.00%, PUFA 含量显著下降, 辛醛含量升至 8.70%, 饱和醛等腥味成分含量增加, 呈果香味的 3-辛酮下降至 1.43%, 导致太平洋牡蛎品质下降。本研究首次探索了海水温度影响下牡蛎的挥发性成分变化, 为改进牡蛎暂养净化技术、提高牡蛎品质提供理论依据。

参考文献

- [1] HU X P, AN Q D, ZHOU D Y, et al. Lipid profiles in different parts of two species of scallops (*Chlamys farreri* and *Patinopecten yessoensis*) [J]. Food Chemistry, 2018, 243: 319-327.
- [2] MANSON J E, COOK N R, LEE I M, et al. Marine $n-3$ fatty acids and prevention of cardiovascular disease and cancer [J]. New England Journal of Medicine, 2019, 380(1): 23-32.
- [3] ANESTIS A, LAZOU A, PÖRTNER H O, et al. Behavioral, metabolic, and molecular stress responses of marine bivalve *Mytilus galloprovincialis* during long-term acclimation at increasing ambient temperature [J]. American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology, 2007, 293(2): 911-921.
- [4] LEMASSON A J, HALL-SPENCER J M, FLETCHER S, et al. Indications of future performance of native and non-native adult oysters under acidification and warming [J]. Marine Environmental Research, 2018, 142: 178-189.
- [5] ZHAO X, YU H, KONG L, et al. Transcriptomic responses to salinity stress in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. PLoS One, 2012, 7(9): e46244.
- [6] FRATINI G, MEDINA I, LUPI P, et al. Effect of a finishing

- period in sea on the shelf life of Pacific oysters (*C. gigas*) farmed in lagoon [J]. Food Research International, 2013, 51(1): 217-227.
- [7] COCHET M, BROWN M, KUBE P, et al. Understanding the impact of growing conditions on oysters: a study of their sensory and biochemical characteristics [J]. Aquaculture Research, 2015, 46(3): 637-646.
- [8] VAN HOUCKE J, MEDINA I, LINSSEN J, et al. Biochemical and volatile organic compound profile of European flat oyster (*Ostrea edulis*) and Pacific cupped oyster (*Crassostrea gigas*) cultivated in the Eastern Scheldt and Lake Grevelingen, the Netherlands [J]. Food Control, 2016, 68: 200-207.
- [9] ZHANG Z, LI T, WANG D, et al. Study on the volatile profile characteristics of oyster *Crassostrea gigas* during storage by a combination sampling method coupled with GC/MS [J]. Food Chemistry, 2009, 115(3): 1150-1157.
- [10] MINHAZ T M, SARKER J, KHAN M N A, et al. Data on growth performance, proximate composition, and fatty acid content of edible oyster (*Crassostrea* spp.), farmed on shell string along Cox's Bazar coast [J]. Data in Brief, 2020, 33: 106450.
- [11] ZHANG Q, DING Y, GU S, et al. Identification of changes in volatile compounds in dry-cured fish during storage using HS-GC-IMS [J]. Food Research International, 2020, 137: 109339.
- [12] KAWABE S, MURAKAMI H, USUI M, et al. Changes in volatile compounds of living Pacific oyster *Crassostrea gigas* during air-exposed storage [J]. Fisheries Science, 2019, 85(4): 747-755.
- [13] KO G W K, DINESHRAM R, CAMPANATI C, et al. Interactive effects of ocean acidification, elevated temperature, and reduced salinity on early-life stages of the pacific oyster [J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(17): 10079-10088.
- [14] RAHMAN M A, HENDERSON S, MILLER-EZZY P, et al. Immune response to temperature stress in three bivalve species: Pacific oyster *Crassostrea gigas*, Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and mud cockle *Katylisia rhytiphora* [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2019, 86: 868-874.
- [15] KONG N, ZHAO J, ZHAO B, et al. Effects of high temperature stress on the intestinal histology and microbiota in Yesso scallop *Patinopecten yessoensis* [J]. Marine Environmental Research, 2023, 185: 105881.
- [16] KING W L, JENKINS C, SEYMOUR J R, et al. Oyster disease in a changing environment: decrypting the link between pathogen, microbiome and environment [J]. Marine Environmental Research, 2019, 143: 124-140.
- [17] 王允茹,蔡秋杏,张晨晓,等.北部湾海区几种常见牡蛎基础营养及脂肪酸成分比较分析[J].食品安全质量检测学报,2021,12(7):2849-2854.
- [18] 宋悦,卓馨,陈娟娟,等.不同胁迫温度条件下坛紫菜中脂肪酸和挥发性物质分析[J].食品科学,2017,38(10):191-198.
- [19] DOMINGUEZ R, OLABARRIA C, WOODIN S A, et al. Contrasting responsiveness of four ecologically and economically important bivalves to simulated heat waves [J]. Marine Environmental Research, 2021, 164: 105229.1-105229.13.
- [20] ZHU W, ZHANG C, TAN K, et al. Variation of lipids and fatty acids in noble scallop *Chlamys nobilis* under low temperature stress [J]. Aquaculture, 2022, 554: 738121.
- [21] YU H, ZHANG C, GAO Q, et al. Impact of water temperature on the growth and fatty acid profiles of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* (*Selenka*) [J]. Journal of Thermal Biology, 2016, 60: 155-161.
- [22] 蔡丽,魏泽宏,唐涛,等.池塘内循环水"跑道"养殖与池塘传统养殖翘嘴鲈肌肉营养成分和挥发性风味物质的比较[J].水产学报,2021,45(10):1621-1633.
- [23] PEI F, YANG W, MA N, et al. Effect of the two drying approaches on the volatile profiles of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by headspace GC-MS and electronic nose [J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 72: 343-350.
- [24] ERICSON J A, VENTER L, COPEDO J S, et al. Chronic heat stress as a predisposing factor in summer mortality of mussels, *Perna canaliculus* [J]. Aquaculture, 2023, 564: 738986.
- [25] FRATINI G, LOIS S, PAZOS M, et al. Volatile profile of Atlantic shellfish species by HS-SPME GC/MS [J]. Food Research International, 2012, 48(2): 856-865.
- [26] HU M, WANG S, LIU Q, et al. Flavor profile of dried shrimp at different processing stages [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 146: 111403.
- [27] LAWSON C A, RAINA J B, DESCHASEAUX E, et al. Heat stress decreases the diversity, abundance and functional potential of coral gas emissions [J]. Global Change Biology, 2021, 27(4): 879-891.
- [28] LIU H, ZHENG H, WANG S, et al. Cloning and functional characterization of a polyunsaturated fatty acid elongase in a marine bivalve noble scallop *Chlamys nobilis* Reeve [J]. Aquaculture, 2013, 416-417: 146-151.
- [29] MEHDI M A H, ALAWI A M A A, THABET A Z A, et al. Analysis of bioactive chemical compounds of leaves extracts from *Tamarindus indica* using FT-IR and GC-MS spectroscopy [J]. Asian Journal of Research in Biochemistry, 2021, 8(1): 22-34.
- [30] 苏国万,黄可欣,何伟炜,等.酶解前后牡蛎风味变化的对比分析[J].现代食品科技,2020,36(7):242-249.