

牡蛎捕后贮运过程中的活力和呈味特性

闫丽新, 殷中专, 蔡 琰, 刘俊荣, 徐晔, 田元勇*

(大连海洋大学食品科学与工程学院 辽宁大连 116023)

摘要 为研究鲜活太平洋牡蛎流通中的品质变化,设定“无水运输-复水处置-干藏销售”运输链模拟捕后贮运过程,以活力、呈味特性及微生物 3 个指标评价其货架品质。结果表明:①活力:无水运输 1 d 后,牡蛎质量、pH 值和 SDH 活性分别由 187.08 g、6.78 和 7.92 mg/g 显著降至 183.39 g、6.56 和 5.84 mg/g,人工海水复水后迅速回升至初始状态;后期干藏过程中糖原含量、pH 值逐渐降低,而核苷酸能荷(AEC)8 d 内保持在 40 % 以上,干藏第 10 天显著降至 26.26%。②呈味特性:牡蛎全软体中牛磺酸和谷氨酸含量较高,分别为 2.76 mg/g 和 1.05 mg/g,其次是天冬氨酸和丙氨酸,分别为 0.43 mg/g 和 0.49 mg/g,其中只有谷氨酸味觉活度值(TAV 值)>1,是影响牡蛎风味的重要化合物,模拟流通过程中谷氨酸含量一直较为稳定,没有较大波动。③微生物:牡蛎无水运输 1 d 后细菌总数显著上升,复水后没有明显变化,在后期干藏过程中逐渐上升,第 10 天细菌总数为 10^4 /g,在可食用标准 10^7 /g 范围;通过高通量测序反映模拟流通过程后期微生物群落以交替假单胞菌属和希瓦氏菌属为主,在牡蛎腐败过程发挥了重要作用。结论:太平洋牡蛎在“无水运输 1 d-复水-干藏销售 8 d”模式下可维持初始状态的最佳品质。

关键词 太平洋牡蛎; 无水运输; 复水; 干藏; 呈味特征; 微生物

文章编号 1009-7848(2022)12-0224-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.12.023

牡蛎是我国海水养殖产量最多的贝类,2020 年产量为 542.46 万 t^[1],牡蛎活品具有较高的营养和经济价值。自然环境中牡蛎生长在潮间带,能够承受频繁的低氧/复氧应激,并使线粒体在整个低氧/复氧循环中保持较好的功能^[2]。牡蛎相较于虾夷扇贝和菲律宾蛤仔具有更强的耐干露能力。徐美禄等^[3]研究发现牡蛎可在 6 d 内保持良好品质。而菲律宾蛤仔和虾夷扇贝的耐干露极限分别为 4 d 和 2 d^[4]。目前,牡蛎活品捕后以无水运输为主,到达市场后进行干藏或湿藏方式销售。湿藏销售因存在成本高、营养消耗等弊端,故干藏销售模式应用更为广泛。“无水运输-干藏销售”模式下长时期干露对牡蛎活品货架期产生不利影响。贝类捕后早期因环境变化剧烈,活力和风味下降最明显,是品质易逝期^[5]。牡蛎在无水运输过程中高密度、物理碰撞和挤压等胁迫导致其体内乳酸、章鱼碱等无氧代谢物质的积累^[6]。在干露运输后增加复水

处置,可以提高牡蛎活品贮藏稳定性^[3]。本研究根据牡蛎现有流通状况,利用无水运输,在到达销售地后增加复水操作来消除缺氧胁迫影响,使其品质恢复,进而延长活品货架期。考虑到内陆地区消费需求,采用人工海水代替天然海水对牡蛎进行复水操作。模拟“无水运输-人工海水复水-干藏销售”的捕后流通模式,对模拟流通过程品质变化进行评价。

影响活品牡蛎品质因素包括活力、呈味特性、微生物等指标。活力通常采用三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP)关联化合物进行评价。鲜味是牡蛎的重要呈味特性,影响其鲜味的物质包括氨基酸、有机酸、核苷酸和碱类,此外,一些小分子肽确定为鲜味的贡献者。呈鲜味的氨基酸主要是以谷氨酸为代表,有鲜味的天然氨基酸,如天冬氨酸,在贝类中以游离态和结合态两种形式存在。鲜味代表性的核苷酸主要是 5'-鸟苷酸(5'-GMP)、5'-肌苷酸(5'-IMP)和 5'-腺苷酸(5'-AMP),在扇贝中主要是 AMP 和 IMP。贝类特征滋味形成的主要物质还有琥珀酸及其钠盐。此外,牡蛎是滤食性贝类,当这些软体动物来自受污染地区时,会将致病菌带给消费者,增加了食源性疾病的风险^[7-8]。近年来,高通量测序技术在分析微生物

收稿日期: 2021-12-15

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0901001);辽宁省教育厅青年科技人才“育苗”项目(QL202008)

第一作者: 闫丽新,女,硕士生

通信作者: 田元勇 E-mail: tianyuanyong@foxmail.com

菌落组成方面已很成熟, 利用其分析牡蛎体内的菌落组成情况, 可为牡蛎的食用安全提供基础信息。

本研究模拟牡蛎捕后流通过程, 将采捕后的牡蛎立即装入泡沫箱内并用冰袋冷却, 无水运输 1 d, 然后, 将人工海水复水(36 h)后的牡蛎干藏(10 d), 通过活力、呈味物质含量、微生物 3 个指标评价模拟流通过程中的品质变化。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

太平洋牡蛎(120 个)于 2020 年 9 月 2 日购于大连石城岛生蚝小镇, 质量(187.08±18.48) g。

氯化钠(分析纯)、磷酸氢二钠(分析纯)、碘乙酸钠(分析纯)、氢氧化钾(色谱纯), 中国天津市科密欧化学试剂有限公司; 甲醇(色谱纯), 美国 Sigma 公司; 高氯酸、硫酸、盐酸、磷酸、磷酸氢二钾(色谱纯)、磷酸二氢钾(色谱纯)、氯化钾(分析纯)、蒽酮(分析纯), 国药集团化学试剂有限公司; 无水乙醇(分析纯), 天津市富宇精细化工有限公司; 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-Triphenyltetrazoliumchloride, TTC)(分析纯), 中国北京索莱宝科技有限公司; 琥珀酸钠(分析纯), 大连美仑生物技术有限公司。平板计数琼脂、月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤(Lauryl Sulfate Tryptose Broth, LST)、煌绿乳酸胆盐肉汤(Brilliant Green Lactose Bile

Broth, BGLB), 北京陆桥技术股份有限公司。

1.2 仪器与设备

Agilent 1260 高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; UV-1800PC 紫外分光光度计, 上海美谱达仪器有限公司; BS224S 型精密电子天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; PB-10 pH 计, 德国 Sartorius 公司; Milli-Q 超纯水净化仪, 美国 Millipore 公司; L-8900 全自动氨基酸分析仪, 日本日立公司; GL-21M 高速冷冻离心机, 德国 HERMLE Labortechnik GmbH 公司; 无菌实验台, 苏净集团苏州安泰空气技术有限公司; 恒温培养箱, 上海一恒科学仪器有限公司; 立式压力蒸汽灭菌器, 上海申安医疗器械厂。

1.3 试验方法

1.3.1 原料与处理 太平洋牡蛎采捕后立即装入泡沫箱(加冰袋降温), 无水运输至实验室(约 5 h)。到达实验室后继续在泡沫箱里放置 1 d, 模拟无水运输。然后, 放入循环水槽进行复水处置 36 h(人工海水, 盐度 2.8%, 氧质量浓度 5.51 mg/L, 温度 25.1 °C, 循环速率 3 次/h, 贝水比 1:10)。将牡蛎放在 4 °C 冰柜干露贮藏 10 d, 模拟销售。贮藏过程中使用人工海水浸湿的湿布进行保湿处置。模拟过程取样点见表 1。分离牡蛎闭壳肌于 -80 °C 条件下贮藏, 用于 ATP 等理化指标的检测。软体部分用灭菌匀浆器混匀, 用于细菌总数的检测和微生物高通量测序。

表 1 模拟流通过程牡蛎取样点

Table 1 Sampling points of oyster during simulated supply chain

捕后处置	离水运输	模拟无水运输	复水处置	模拟贮藏(干藏 4 °C)					
历经时间	5 h	1 d	36 h	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d	
标记	C	T	D	E2	E4	E6	E8	E10	

1.3.2 模拟流通过程的牡蛎活力分析 在活力分析前测定样品的质量。选取 5 只牡蛎, 准确称其质量, 监测模拟流通过程中质量的变化。活力评价指标包括闭壳肌糖原含量、pH 值、ATP 相关化合物含量、核苷酸能荷以及鳃中琥珀酸脱氢酶活力。

1) 闭壳肌中糖原含量的测定 取 2.0 g 闭壳肌, 加入 30% KOH 溶液 4 mL, 沸水浴消化 20 min。冷却至室温后加入无水乙醇 20 mL, 3 000 g 离心 15 min, 取沉淀。沉淀中依次加入 10 mL 水、

15 mL 无水乙醇和 1 滴饱和氯化钾溶解, 3 000 g 离心 15 min, 取沉淀加水溶解后用蒽酮比色法测定其含量^[9]。

2) 闭壳肌中 pH 值的测定 取 2.0 g 闭壳肌, 立刻加入 10 mL 20 mmol/L 碘乙酸钠溶液, 冰浴条件下用玻璃棒将肌肉充分捣碎, 静置 25 min, 用精密 pH 计测定。

3) 闭壳肌中 ATP 及其关联化合物的提取及测定 分别称取 1.0 g 闭壳肌, 加入 10 mL 5%

PCA 溶液,冰浴条件下捣碎 10 min 后用 2 mol/L KOH 调 pH 值在 2~3.5 之间,然后定容 20 mL,5 000×g 离心 5 min,将上清液用 0.45 μm 滤膜过滤,取 4.0 mL 加入 1 mL 0.1 mol/L 磷酸缓冲液,待分析。用高效液相色谱法分析,选取日本 GL sciences 公司(ODS-SP C18,4.6 mm×250 mm,5 μm)的色谱柱;检测波长:254 nm;进样量:10 μL;温度:30 ℃;流速:0.8 mL/min;流动相:0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液,并用磷酸调 pH 值至 6.5^[10]。核苷酸负荷(AEC)计算公式:

$$AEC = \frac{2ATP + ADP}{2(ATP + ADP + AMP)} \times 100\% \quad (1)$$

式中:ATP——三磷酸腺苷含量;ADP——二磷酸腺苷含量;AMP——磷酸腺苷含量^[11]。

4) 鳃中琥珀酸脱氢酶(Succinate dehydrogenase, SDH)活力的测定 称取牡蛎鳃 1.0 g,切碎后加入 10 mL TTC 溶液(0.2% TTC、0.1%琥珀酸钠、3%氯化钠、2.84%磷酸氢二钠),37 ℃水浴 30 min 后放入冰中立即冷却,加入 15 mL 无水乙醇搅拌 30 min,3 000×g 离心 5 min,取上清液用 0.45 μm 滤膜过滤,在 485 nm 处测定其吸光度,根据三苯基甲腈(Triphenylformazan, TF)标准曲线计算 TF 的生成量。以单位时间内 TF 的生成量定义为 1 个酶活力单位 U^[12]。

1.3.3 模拟流通过程太平洋牡蛎呈味特性分析 将牡蛎(5 只)全部软体匀浆,称取 0.5 g,加入 0.02 mol/L HCl 10 mL,10 000 r/min 均质 30 s,定容 100 mL,10 000×g 离心 10 min,用 0.45 μm 滤膜将上清液过滤,用全自动氨基酸分析仪测定游离氨基酸含量。称取牡蛎软体匀浆组织 1.0 g,参考闭壳肌中 ATP 及其关联化合物的提取及测定方法测定全软体 AMP、IMP 含量。最后折合成每 mL 提取液中的呈味化合物含量,计算味觉活度值(taste activity value, TAV),对各种呈味物质的影响进行评价。TAV 值为太平洋牡蛎全软体呈味化合物含量与其阈值之间的比值^[13]。

1.3.4 模拟流通过程牡蛎微生物指标分析

1) 细菌总数的测定 将试验用牡蛎刀、生理盐水在 121 ℃条件下杀菌 15 min,冷却至室温,备用。用灭菌的牡蛎刀剖开牡蛎外壳,取软体组织 25.0 g,加无菌生理盐水 225 mL,匀浆,取匀浆液

测定细菌总数。测定方法采用 GB/T 4789.2-2016 《食品微生物学检验 菌落总数测定》^[14]。

2) 高通量测序 采用 SDS 方法提取样本的基因组 DNA。以稀释的基因组 DNA 为模板,根据测序区域的选择,采用 16S DNA 的 V₄ 区特异引物 515 F 和 806 R 进行 PCR 扩增。PCR 产物用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测。将构建好的文库经 Qubit 和 Q-PCR 定量,文库合格后使用 NovaSeq6000 上机测序。根据 Barcode 序列和 PCR 扩增引物序列从下机数据中拆分出各样本数据,截去 Barcode 和引物序列后对每个样本的 reads 进行拼接,过滤处理得到高质量的 Tags 数据。通过与物种注释数据库进行比对检测嵌合体序列,最终去除其中的嵌合体序列,得到有效数据。利用 Uparse^[15]软件对所有样本的有效数据进行聚类,默认以 97% 的一致性将序列聚类成为 OTUs(Operational Taxonomic Units)。根据所有样本在属水平的物种注释及丰度信息,选取丰度排名前 35 的属,根据其在每个样本中的丰度信息,从物种和样本两个层面进行聚类,采用 Fasttree 软件+R 语言制作热图(由北京诺禾致源生物信息科技有限公司协助完成)。

1.4 统计分析

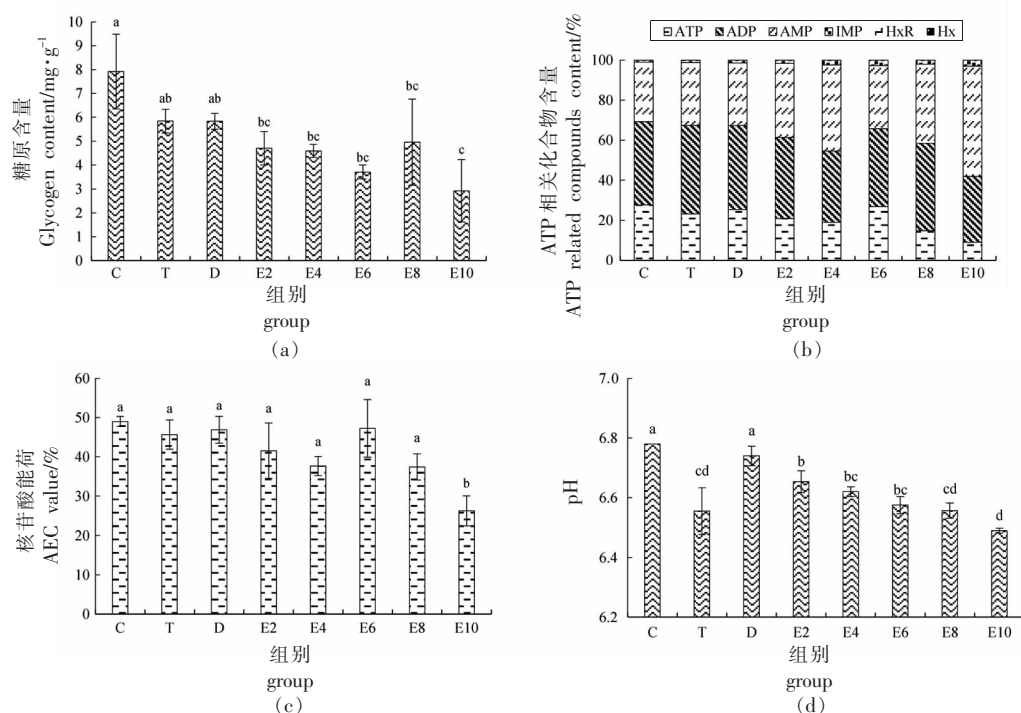
试验数据均采用平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS17.0 软件进行方差统计分析,用独立样本 *t* 检验对两组间显著性进行检验,显著性水平设为 0.05。使用 Panel Check 1.4.2 软件对活力数据进行主成分分析。

2 结果与分析

2.1 牡蛎模拟流通过程中活力变化

牡蛎质量与其销售价格密切相关。太平洋牡蛎初始质量为 187.08 g,经 1 d 的无水运输,质量下降为 183.39 g。复水后其质量恢复至 192.19 g。后期干藏过程中因能量物质的消耗其质量呈下降趋势,第 10 天质量降至最低,174.25 g。

牡蛎模拟流通过程活力指标如图 1 所示。牡蛎初始糖原含量为 7.92 mg/g,无水运输 1 d 后降至 5.84 mg/g。复水后糖原含量没有明显变化,在后期干藏过程中逐渐下降。糖原是牡蛎重要的能源物质,运输过程中无氧代谢被大量消耗。牡蛎是附



注: C. 对照组; T. 无水运输 1 d 组; D. 复水 36 h 组; E2. 干藏 2 d 组; E4. 干藏 4 d 组; E6. 干藏 6 d 组; E8. 干藏 8 d 组; E10. 干藏 10 d 组, 下同。同组内标不同的字母表示有显著性差异 ($P < 0.05$), 标有相同字母表示无显著性差异 ($P > 0.05$), 下同。

图 1 模拟流通过程中牡蛎闭壳肌能量变化

Fig.1 Energy changes of adductor muscle of oyster during simulated supply chain

着性贝类, 肌肉不需要储备较多糖原, 而像虾夷扇贝等具有较强活动能力的贝类, 需要通过横纹肌快速收缩, 游泳以躲避海星等捕食者等行为, 扇贝闭壳肌糖原储备可达 50 mg/g ^[16]。复水期间, 由于人工海水中缺乏牡蛎可以利用的食物, 因此缺氧胁迫虽解除, 但牡蛎糖原含量并没有明显恢复。此外, 有研究表明, 核苷酸和磷酸精氨酸的恢复速度比糖原恢复速度快^[17], 因此, 糖原含量复水后没有明显恢复。后期干藏过程中糖原含量呈下降趋势的主要原因是缺氧胁迫, 牡蛎消耗体内的糖原来维持自身的生理代谢。

牡蛎模拟流通过程中 ATP 相关化合物含量变化如图 1b 所示。牡蛎无水运输 1 d 后, ATP 含量由 $2.29 \mu\text{mol/g}$ 降至 $1.42 \mu\text{mol/g}$, 人工海水复水后恢复至 $1.94 \mu\text{mol/g}$ 。后期干藏过程中 ATP 含量逐渐降低, 相应的 AMP 含量呈上升趋势。ATP 是一种高能磷酸化合物, 可为细胞各项生命活动提供能量^[18-19]。运输过程中牡蛎进行无氧糖酵解, 通过消耗体内的糖原产生 ATP 来维持自身的生理

代谢, 使 ATP 含量没有明显变化。后期干藏过程中, 糖原含量的减少使其不能满足自身正常代谢需求, 开始消耗体内的 ATP 来维持平衡, 因此 ATP 含量逐渐降低。本试验中牡蛎均为活品, 未检测到仅在贝类死后才产生的 HxR 和 Hx。ATP 存在 $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} \rightarrow \text{AMP} \rightarrow \text{IMP/AdR} \rightarrow \text{HxR} \rightarrow \text{Hx}$ 两种降解途径, 有研究表明, 牡蛎肌肉中这两种降解途径共同存在, 然而, 由于 AdR 脱氨酶活性较高, 导致降解速率较快, 因此在此过程中并没有检测到^[20]。

牡蛎模拟流通过程中 AEC 值变化如图 1c 所示。牡蛎无水运输、复水、干露 8 d 的 AEC 值均在 40% 以上, 后期干藏直至 10 d 才出现显著下降。AEC 值被认为是描述肌细胞能量状态的重要指标, 用来反映受到环境胁迫的程度^[21]。通常认为 AEC 大于 75% 具有较好的活力^[22]。然而, 牡蛎在无任何胁迫状态下闭壳肌的 AEC 值仅为 53.9%, 可能是因为牡蛎长期附着在其它物体上, 导致闭壳肌不需要太多的能量^[2]。此外, 贝类肌肉 AEC 值一般受季节的影响, 这与其生殖周期有关^[23]。有研究

表明牡蛎闭壳肌六七月份 AEC 值最高,10 月份最低,贻贝(*Mytilus edulis*)的 AEC 值季节变化规律和牡蛎类似^[24-25]。除季节影响外,养殖密度和贝龄也会影响 AEC 值,高密度养殖的牡蛎普遍比低密度养殖的 AEC 值低,而贝龄对 AEC 值的影响大多取决于季节,不同季节变化是不同的^[24]。

牡蛎模拟流通过程中 pH 值变化如图 1d 所示。牡蛎初始 pH 6.78,运输 1 d 后,pH 值显著降至 6.56。复水后 pH 值恢复至初始水平 6.74,后期干藏过程中其逐渐降低。牡蛎运输过程中无氧呼吸产生的 opine 类酸性代谢产物使 pH 值降低,高温、撞击等胁迫更会加剧酸性代谢物的产生。有研究表明 15 min 的机械振动就可使牡蛎的免疫功能出现显著的下降^[26]。牡蛎复水后,氧气的参与使牡蛎的胁迫因素解除,pH 值回升。后期干藏过程中牡蛎避免了高温、撞击胁迫的影响,酸性代谢物产生速率较慢,pH 值缓慢下降。

SDH 是有氧代谢的指示酶,被用作缺氧胁迫程度的评价指标^[27]。有研究表明,当日本沼虾和中华绒螯蟹面临低氧胁迫时,肌肉中 SDH 活性会随低氧暴露时间的延长而降低^[27-28]。太平洋牡蛎模拟流通过程中鳃 SDH 活性变化如图 2 所示。牡蛎初始 SDH 活性为 12.53 U/g,无水运输 1 d 后显著降至 8.95 U/g。复水后 SDH 活性恢复至 14.84 U/g,并维持至干藏 8 d,第 10 天显著下降至 9.94 U/g。运输过程中牡蛎氧气供应不足,SDH 活性明显下降。复水后缺氧胁迫解除,琥珀酸脱氢酶的活性得到明显回升。后期干藏过程中,虽然牡蛎面临缺氧胁迫,但是贮藏温度较低,降低了自身的生理代谢,呼吸速率也明显降低,因此 SDH 一直维持较高活性,干藏第 10 天才出现显著下降。

牡蛎模拟流通过程中活力指标主成分分析结果如图 3 所示。对糖原含量、pH 值、ATP 相关化合物含量、AEC 值以及 SDH 活性进行主成分分析发现,前 2 个主成分的累计贡献率为 98.3%,反映原指标的大部分信息。主成分分析将牡蛎大致分为 4 组:C、T、D-E8、E10。初始点状态最好,无水运输 1 d 后状态较差,复水后品质明显回升,干藏至第 8 天仍保持较好品质,第 10 天品质下降。

2.2 牡蛎模拟流通过程中呈味化合物含量变化

牡蛎模拟流通过程中软体呈味化合物含量变

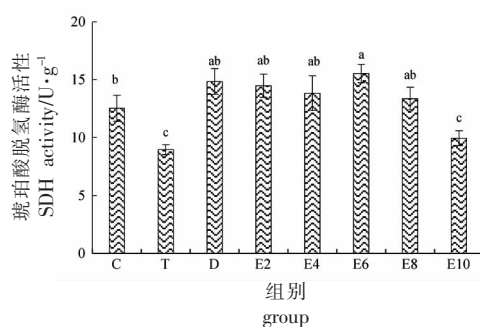


图 2 模拟流通过程中牡蛎鳃琥珀酸脱氢酶活性的变化

Fig.2 The changes of SDH activity in gills of oysters during simulated supply chain

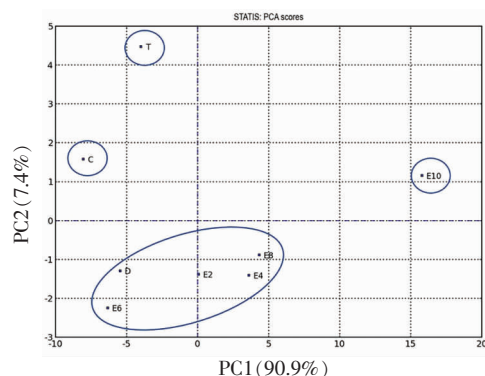


图 3 主成分分析

Fig.3 Principal component analysis

化见表 2。呈味核苷酸主要有 AMP 和 IMP 两种,AMP 含量较低且波动不大。IMP 的 TAV>1,对呈味影响明显。IMP 初始含量为 0.37 mg/mL,无水运输后降至 0.25 mg/mL,复水后恢复至初始状态。IMP 含量后期干藏至第 10 天才出现下降。IMP 是鲜味的增强剂,比味精强得多,与天冬氨酸、谷氨酸之间存在协同效应,可以增加鲜味。

牡蛎软体中游离氨基酸主要为牛磺酸和谷氨酸,其次为天冬氨酸和丙氨酸,与 Murata 等^[29]研究结果一致。其中,谷氨酸 TAV>1,说明只有谷氨酸对呈味影响明显。模拟流通过程中谷氨酸含量较为稳定,没有较大波动。牛磺酸在生物体内有调节渗透压的作用,对呈味不起作用。天冬氨酸和谷氨酸有酸味,然而,其钠盐会呈现鲜味。谷氨酸可与人工海水中钠离子结合形成呈鲜味的谷氨酸钠,并且 L-谷氨酸和 IMP 两种鲜味化合物之间也具有增强的协同作用^[30-31]。丙氨酸是一种形成渗透压

表 2 模拟流通过程中牡蛎呈味化合物含量和 TAV 值的变化

呈味 化合物	呈味特征	阈值/ mg·mL ⁻¹	含量/mg·mL ⁻¹										TAV 值									
			C	T	D	E2	E4	E6	E8	E10	C	T	D	E2	E4	E6	E8	E10				
AMP	甜味	0.5	0.03	0.06	0.06	0.09	0.04	0.13	0.13	0.04	0.13	0.21	0.02	0.06	0.12	0.13	0.18	0.18	0.07	0.26	0.42	0.03
IMP	鲜味	0.25	0.37	0.25	0.36	0.45	0.39	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.22	1.49	0.99	1.44	1.82	1.56	1.35	1.35	1.35	0.88
牛磺酸	无	无	2.79	2.45	2.65	2.69	2.60	2.68	2.70	2.62	2.70	2.62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
天冬氨酸	鲜味	1	0.43	0.28	0.40	0.31	0.27	0.29	0.31	0.29	0.31	0.29	0.43	0.28	0.28	0.40	0.31	0.27	0.29	0.29	0.31	0.29
苏氨酸	甜味	2.6	0.15	0.11	0.00	0.00	0.00	0.13	0.10	0.08	0.10	0.08	0.06	0.04	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.04	0.03
丝氨酸	甜味	1.5	0.08	0.08	0.06	0.09	0.10	0.10	0.12	0.15	0.12	0.15	0.05	0.05	0.05	0.04	0.06	0.07	0.07	0.07	0.08	0.10
谷氨酸	鲜味	0.3	1.05	1.01	1.06	1.04	1.02	1.09	1.22	1.00	1.22	1.00	3.51	3.37	3.37	3.55	3.47	3.39	3.63	4.06	4.06	3.34
甘氨酸	甜味	1.3	0.21	0.24	0.24	0.22	0.24	0.34	0.34	0.25	0.23	0.25	0.17	0.19	0.19	0.18	0.17	0.19	0.26	0.26	0.18	0.19
丙氨酸	甜味	0.6	0.49	0.36	0.19	0.28	0.26	0.32	0.53	0.43	0.53	0.43	0.81	0.60	0.60	0.32	0.46	0.44	0.54	0.54	0.88	0.71
胱氨酸	苦/甜/硫味	无	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
缬氨酸	甜味/苦味	0.4	0.01	0.17	0.16	0.18	0.16	0.16	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.42	0.42	0.41	0.44	0.41	0.41	0.41	0.05	0.06
甲硫氨酸	苦/甜/硫味	0.3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
异亮氨酸	苦味	0.9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
亮氨酸	苦味	1.9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
酪氨酸	苦味	无	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
苯丙氨酸	苦味	0.9	0.21	0.14	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.25	0.19	0.25	0.23	0.16	0.16	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.21	0.28
赖氨酸	甜味/苦味	0.5	0.09	0.09	0.09	0.10	0.10	0.10	0.09	0.16	0.13	0.16	0.17	0.19	0.19	0.19	0.19	0.21	0.21	0.18	0.26	0.32
组氨酸	苦味	0.2	0.04	0.03	0.02	0.01	0.03	0.02	0.02	0.02	0.06	0.02	0.20	0.13	0.13	0.08	0.06	0.15	0.08	0.08	0.29	0.11
色氨酸	苦味	无	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
精氨酸	苦味/甜味	0.5	0.10	0.11	0.11	0.17	0.13	0.20	0.12	0.14	0.12	0.14	0.20	0.21	0.21	0.22	0.33	0.27	0.40	0.40	0.25	0.28

的物质，也是碳水化合物缺氧呼吸即酵解的主要终产物，在干露过程中大量积累^[29]，这是丙氨酸无水运输后含量升高，复水后含量降低，并在后期干藏过程中逐渐上升的原因。

2.3 牡蛎模拟流通过程中微生物的变化

牡蛎模拟流通过程中细菌总数变化如图4所示。无水运输后牡蛎细菌总数显著上升，复水后没有明显变化，并在后期干藏过程中逐渐上升。细菌总数可接受品质界限为 $10^7/g$ ^[32]，说明牡蛎在第10天仍可食用。长竹蛎和栉孔扇贝4℃贮藏12h时细菌总数没有明显变化，而当贮藏时间延长至24h时，细菌总数显著升高^[33]。同样的，将蓝蟹在4℃下贮藏10d后细菌总数达到临界值^[34]。

牡蛎模拟流通过程中微生物物种注释以热图的形式展示(图5)。根据所有样本在属水平的物种注释及丰度信息，选取丰度排名前35的属，根据其在每个样本中的丰度信息，从物种和样本两个层面进行聚类，绘制成热图。热图是一种二维呈

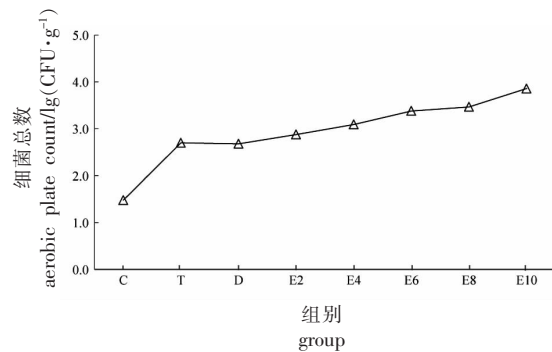


图4 模拟流通过程中牡蛎细菌总数变化

Fig.4 Changes of aerobic plate count of oyster during simulated supply chain

现，可分为4类：I类以短波单胞菌属等为主，在恢复前期较多，在贮藏过程中含量较少，可能与温度的变化有关，对温度的要求较高。II类以水栖菌属为主，运输后较多，经复水操作，明显降低，并在后期贮藏过程中含量较低。III类微生物以交替假单胞菌属和希瓦氏菌属为主，主要存在贮藏后期，

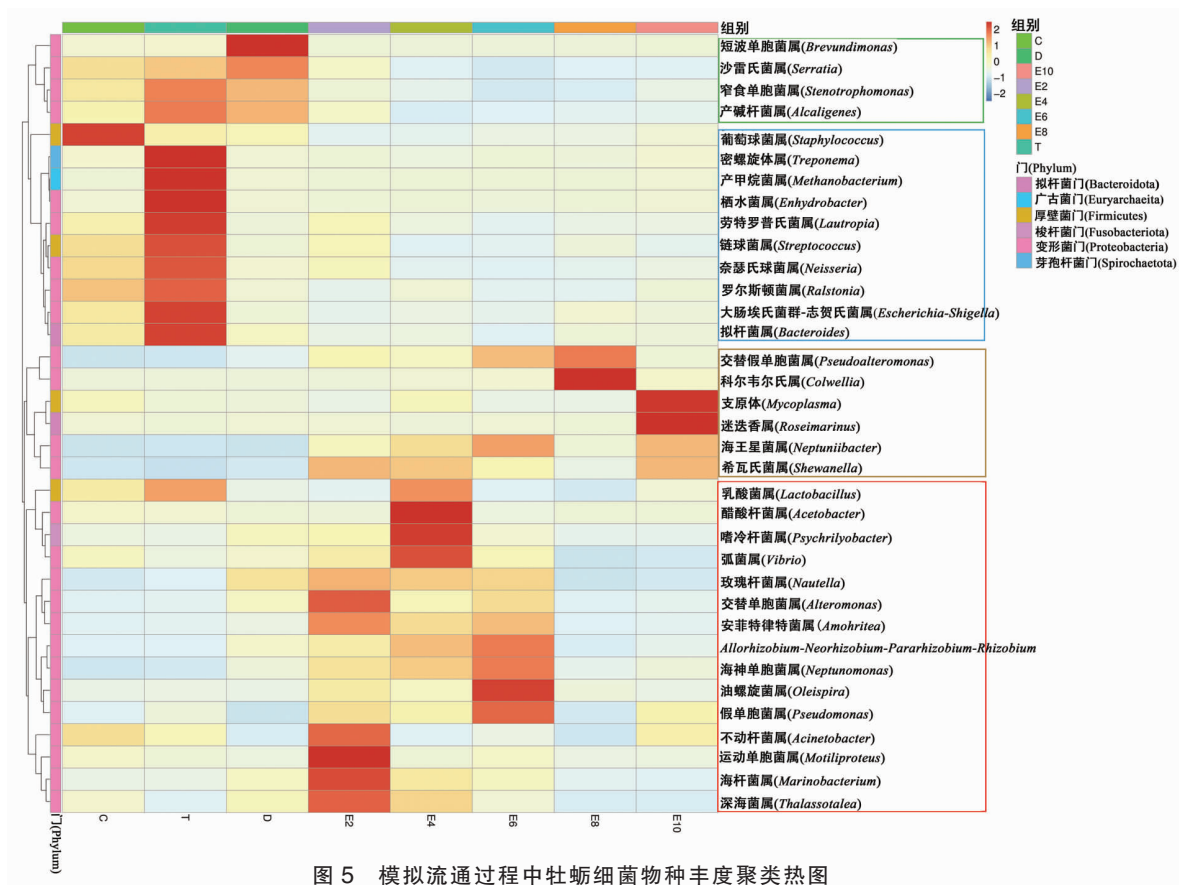


Fig.5 Heat map of microorganism species abundance in oyster during simulated supply chain

为腐败菌。Ⅳ类以弧菌、交替单胞菌和嗜冷杆菌属为主,贮藏中期比例明显增多,而在贮藏后期含量会显著降低。曹荣等^[3]分析牡蛎闭壳肌冷藏(4℃)过程中微生物群落结构的变化规律,发现在属的水平上,弧菌属冷藏前期比例迅速下降,希瓦氏菌属和交替假单胞菌属在冷藏后期占优势,在牡蛎腐败过程中起重要作用。本研究中微生物群落结构的变化规律与其基本一致。

3 结论

采收后的太平洋牡蛎无水运输 1 d 后进行复水处置,然后 4℃下干藏,得到以下结论:

1) 活力 无水运输 1 d 后太平洋牡蛎质量、pH 值、ATP 含量和 SDH 活性显著下降,复水后迅速回升至初始状态;后期干藏过程中糖原含量、pH 值逐渐降低,而 AEC 值始终保持初始状态,干藏第 10 天才显著下降。

2) 呈味 呈味化合物中只有 IMP 和谷氨酸 TAV 值>1,是影响牡蛎风味的重要物质。其中,谷氨酸在模拟流通过程中较为稳定,没有较大波动。IMP 含量仅在无水运输 1 d 和干藏 10 d 时较低。

3) 微生物 牡蛎运输 1 d 后细菌总数显著上升,复水后没有明显变化,并在后期干藏过程中逐渐上升,第 10 天仍在可食用标准范围内。

太平洋牡蛎在“无水运输 1 d-复水-干藏销售 8 d”模式下接近于初始品质。在此模式下,节约销售成本的同时可较好地保持风味品质,研究结果可为牡蛎的运输、销售提供参考。

参 考 文 献

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴 2021[G]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
Fisheries Bureau of the Agriculture Ministry of China. China fishery statistical yearbook 2021[G]. Beijing: China Agriculture Press, 2021.
- [2] KAWABE S, TAKADA M, SHIBUYA R, et al. Biochemical changes in oyster tissues and hemolymph during long-term air exposure[J]. Fisheries Science, 2010, 76(5): 841-855.
- [3] 徐美禄. 捕后处置对太平洋牡蛎货架期的影响[D]. 大连: 大连海洋大学, 2020.
- [4] 闫丽新, 姜明慧, 刘俊荣, 等. 捕后干露对 3 种贝类活品品质的影响[J]. 水产科学, 2021, 40(2): 159-165.
- [5] YAN L X, JIANG M H, LIU J R, et al. Effects of post-harvest air exposure on quality of three species of molluscs[J]. Fisheries Science, 2021, 40(2): 159-165.
- [5] 李亚烜, 刘俊荣, 刘洋, 等. 易逝期胁迫强度对虾夷扇贝活力可恢复性的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2020, 35(5): 733-740.
- [6] LI Y X, LIU J R, LIU Y, et al. Re-immersion physiologic recovery of yesso scallop following different stress treatments in the quality determined period[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2020, 35(5): 733-740.
- [6] SATO M, TAKEUCHI M, KANNO N, et al. Distribution of opine dehydrogenases and lactate dehydrogenase activities in marine animals [J]. Comp Biochem Physiol B, 1993, 106(4): 955-960.
- [7] FANG T, HUANG L, LIU L. Mathematical modeling of growth of Salmonella spp. and spoilage microorganisms in raw oysters[J]. Food Control, 2015, 53: 140-146.
- [8] ANDERSON P M, MENEZES N M, LEONARDO N, et al. Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the Coastal region of Florianópolis - Brazil[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2006, 37(2): 159-163.
- [9] CARROLL K N, LONGLEY W, ROE J. The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent[J]. Journal of Biological Chemistry, 1956, 220(2): 583-593.
- [10] RYDER J M, JOHN M. Determination of adenosine triphosphate and its breakdown products in fish muscle by high-performance liquid chromatography [J]. J Agric Food Chem, 1985, 33(4): 678-680.
- [11] ATKINSON D E. Biological feedback control at the molecular level[J]. Ence, 1965, 150(3698): 851-857.
- [12] TSUNODA K, INOUE N, AOYAMA M, et al. Simple colorimetry of dehydrogenase activity in oyster using tetrazolium chloride[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan (Shokuhin Eiseigaku

- Zasshi), 2009, 26(3): 229–233.
- [13] CHEN D W, ZHANG M. Non-volatile taste active compounds in the meat of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Food Chemistry, 2007, 104(3): 1200–1205.
- [14] 刘宏道, 计融, 付萍, 等. 食品微生物学检验 菌落总数测定: GB4789.2–2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- LIU H D, JI R, FU P, et al. Food microbiological analysis aerobic plate count: GB4789.2–2016 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.
- [15] BRIAN J H, DIRK G, ASHLEE M E, et al. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons[J]. Genome Research, 2011, 21(3): 494–504.
- [16] BAILEY D M, JOHNSTONE I A. Scallop swimming kinematics and muscle performance: Modelling the effects of ‘within-animal’ variation in temperature sensitivity [J]. Marine & Freshwater Behaviour & Physiology, 2005, 38(1): 1–19.
- [17] ALBALAT A, SINCLAIR S, LAURIE J, et al. Targeting the live market: Recovery of Norway lobsters *Nephrops norvegicus* (L.) from trawl-capture as assessed by stress-related parameters and nucleotide breakdown[J]. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology, 2010, 395(1/2): 206–214.
- [18] LIVERA W C D, SHIMIZU C. Comparison and characterization of arginine kinases purified from the prawn *penaeus Japonicus* (Kurumaebi) and the swimming crab *Portunus trituberculatus* (Gazami)[J]. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 2014, 53(9): 2377–2386.
- [19] VOLLMER M, HOCHACHKA P W, MOMMSEN T P. Octopine dehydrogenase and phosphoarginine kinase in squid mantle: Cooperation of Two enzymes at the arginine branchpoint in cephalopod muscle[J]. Canadian Journal of Zoology, 1981, 59(7): 1447–1453.
- [20] WEI H, TIAN Y, LIN Y, et al. Condition-dependent adenosine monophosphate decomposition pathways in striated adductor muscle from Japanese scallop (*Patinopecten yessoensis*) [J]. Journal of Food Science, 2020, 85(5): 1–8.
- [21] PICADO A. Adenylate energy charges as a tool for evaluating sub-lethal toxicity [J]. Qatar University Science Journal, 1999(19): 36–45.
- [22] ATKINSON D E. Energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers [J]. Biochemistry, 1968, 7(11): 4030–4034.
- [23] SKJOLDAL U. Studies on the deep-water pelagic community of Korsfjorden, Western Norway. Adenosine phosphates and nucleic acids in *Meganycitiphanes norvegica* (Euphausiacea) in relation to the life cycle [J]. Sarsia, 1976, 60(1): 63–80.
- [24] MOAL J, COZ J R L, SAMAIN J F, et al. Oyster adenylate energy charge: Response to levels of food [J]. Aquatic Living Resources, 1991, 4(2): 133–138.
- [25] SKJOLDAL H R, BARKATI S. ATP content and adenylate energy charge of the mussel *Mytilus edulis* during the annual reproductive cycle in Lindaspollene, Western Norway [J]. Marine Biology, 1982, 70(1): 1–6.
- [26] LACOSTE A, MALHAM S K, GÉLÉBART F, et al. Stress-induced immune changes in the oyster *Crassostrea gigas* [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2002, 26(1): 1–9.
- [27] 管越强, 李利, 王慧春, 等. 低氧胁迫对日本沼虾呼吸代谢和抗氧化能力的影响 [J]. 河北大学学报(自然科学版), 2010, 30(3): 301–306.
- GUAN Y Q, LI L, WANG H C, et al. Effects of hypoxia on respiratory metabolism and antioxidant capability of *Macrobrachium nipponense* [J]. Journal of Hebei University (Natural Science Edition), 2010, 30(3): 301–306.
- [28] 李泽健. 低氧胁迫对中华绒螯蟹能量代谢, 呼吸代谢及抗氧化代谢的影响 [D]. 河北: 河北大学, 2012.
- LI J Z. Effects of hypoxia stress on energy metabolism, respiratory metabolism and antioxidant metabolism of *Eriocheir sinensis* [D]. Hebei: Hebei University, 2012.
- [29] MURATA M, SAKAGUCHI M. Changes in contents of free amino acids, trimethylamine, and nonprotein nitrogen of oyster during ice storage [J]. Nihon-Suisan-Gakkai-Shi, 1986, 52(11): 1975–1980.
- [30] ROUDOT-ALGARON F. The taste of amino acids, peptides and proteins: Examples of tasty peptides in casein hydrolysates [J]. Bibliogr, 1996, 76(4): 313–348.
- [31] YAMAGUCHI S, YOSHIKAWA T, IKEDA S, et al. Measurement of the relative taste intensity of some

- a*-amino acid and 50-nucleotides[J]. Journal of Food Science, 1971(36): 846-849.
- [32] KIM Y M, PAIK H D, LEE D S. Shelf - life characteristics of fresh oysters and ground beef as affected by bacteriocin - coated plastic packaging film [J]. Journal of the Ence of Food & Agriculture, 2002, 82(9): 998-1002.
- [33] 刘丽娟, 孟香丽, 姜向阳, 等. 不同保存条件对贝类体内微生物的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 84-86.
- LIU L J, MENG X L, JIANG X Y, et al. Effects of storage conditions on total number of bacteria and coliform group in shellfish[J]. Food Science, 2010, 31(1): 84-86.
- [34] PARLAPANI F F, MICHAILEDIS S, ANAGNOSTOPOULOS D A, et al. Bacterial communities and potential spoilage markers of whole blue crab (*Callinectes sapidus*) stored under commercial simulated conditions[J]. Food Microbiology, 2019, 82(9): 325-333.
- [35] 曹荣, 刘淇, 赵玲, 等. 基于高通量测序的牡蛎冷藏过程中微生物群落分析[J]. 农业工程学报, 2016, 32(20): 275-280.
- CAO R, LIU Q, ZHAO L, et al. Microbial flora analysis of oyster during refrigerated storage by high throughput sequencing technology[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2016, 32(20): 275-280.

Vigour and Taste Characteristics of *Crassostrea gigas* during Post-harvest Storage and Transportation

Yan Lixin, Yin Zhongzhuan, Cai Yan, Liu Junrong, Xu Tanye, Tian Yuanyong*
(College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, Liaoning)

Abstract In order to study the quality change of live *Crassostrea gigas* after post-harvesting, the simulated storage and transportation process of the transport chain of 'waterless transport-re-immersed treatment - air exposure storage selling' was set up. The shelf quality of live oyster was evaluated by three indexes including vitality, taste characteristic and microorganism. The experimental results showed that ① Vitality: after 1 day of waterless transportation, oyster weight, pH and SDH activity decreased significantly from 187.08 g, 6.78 and 7.92 mg/g to 183.39 g, 6.56 and 5.84 mg/g, respectively. After reimmersion by the artificial seawater, it quickly recovered to the initial state. Glycogen content and pH gradually decreased in the later air exposure storage process, but AEC value remained at about 40.00% all the time, and significantly decreased to 26.26% on the 10th day of air exposure storage. ② Taste characteristics: taurine and glutamic acid contents were higher in the whole software, which were 2.76 mg/g and 1.05 mg/g, respectively, followed by aspartic acid and alanine, which were 0.43 mg/g and 0.49 mg/g, respectively. Only the TAV value of glutamate was >1, which was an important compound affecting the flavor of *Crassostrea gigas*. The content of glutamate in the simulated circulation was stable and did not fluctuate greatly. ③ Microorganism: The total number of bacteria increased significantly after 1 day of waterless transportation, but did not change significantly after re-immersion, and gradually increased in the later air exposure storage process. However, the total number of bacteria on the 10th day was 10^4 /g, which was still within the edible 10^7 /g range. High-throughput sequencing showed that the microbial community structure at the later stage of the simulated circulation process was dominated by *Pseudoalteromonas* and *Shewanella*, which may play an important role in the process of oyster spoilage. Therefore, the initial quality of *Crassostrea gigas* could be maintained under the mode of '1 d waterless transportation - re-immersed - air exposure storage selling 8 d'.

Keywords *Crassostrea gigas*; air exposure transportation; re-immersed; air exposure storage; taste characteristics; microorganism