

组学技术在植物乳杆菌及其发酵食品中的研究进展

梁婉诗^{1,2}, 刘欣桐^{1,2}, 麦婉^{1,2}, 赖淑琴^{1,2}, 陈小榕^{1,2}, 刘冬梅³, 曾新安^{1,2,3}, 汪跃华¹, 黄燕燕^{1,2*}

(1. 佛山科学技术学院食品科学与工程学院, 广东佛山 528225) (2. 佛山科学技术学院广东省食品智能制造重点实验室, 广东佛山 528225) (3. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 植物乳杆菌作为公认普遍安全的微生物, 其具有免疫、抗氧化、降胆固醇、降解亚硝酸盐、抑菌、吸附重金属等功能, 在发酵食品工业中发挥着重要作用。随着组学技术的不断完善与进化, 加快了益生菌的研究向定量化和高通量的方向发展, 有助于发现益生菌在遗传水平上的特征。该研究对植物乳杆菌组学技术及其在发酵食品中的应用进行综述, 阐述了基因组学、比较基因组学、转录组学、蛋白组学和代谢组学等技术在植物乳杆菌研究进展及其发酵食品中的应用进展, 并对植物乳杆菌组学研究存在的问题及发展趋势进行了讨论。综合利用组学技术, 可从遗传、表达、代谢等多个方面对植物乳杆菌进行全方面多角度地研究, 以为植物乳杆菌的产业化应用提供理论基础。

关键词: 植物乳杆菌; 基因组学; 比较基因组学; 转录组学; 蛋白组学; 代谢组学

文章编号: 1673-9078(2023)05-376-385

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.5.0599

Research Progress of Omics Techniques in *Lactiplantibacillus plantarum* and Its Application in Fermented Food

LIANG Wanshi^{1,2}, LIU Xintong^{1,2}, MAI Wan^{1,2}, LAI Shuqin^{1,2}, CHEN Xiaorong^{1,2}, LIU Dongmei³, ZENG Xin'an^{1,2,3}, WANG Yuehua¹, HUANG Yanyan^{1,2*}

(1.School of Food Science and Engineering, Foshan University of Science and Technology, Foshan 528225, China)

(2.Guangdong Provincial Key Laboratory of Intelligent Food Manufacturing, Foshan University of Science and Technology, Foshan 528225, China)

(3.School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: *Lactiplantibacillus plantarum* is generally recognized as a generally safe microorganism. It exerts functions such as immunity support, anti-oxidant, cholesterol-lowering, nitrite-degrading, bacteria inhibitory, and heavy metal adsorption capacities, thus, plays an important role in the fermented food industry. With the continuous improvement and evolution of omics technology, the research on probiotics has been directed in the direction of quantification and high-throughput, which helps discover the characteristics of probiotics at the genetic level. This paper reviews the omics technology for studying *L. plantarum* and its application in fermented food. The progress of genome, comparative genome, transcriptome, proteome and metabolomics in studying *L. plantarum* and its application in fermented food. The existing problems and development trends of *L. plantarum* omics research are discussed. Comprehensive utilization of omics technology can allow multi-angle research on *Lactobacillus plantarum* from multiple aspects such as genetics, expression and metabolism, in order to provide a theoretical foundation for the industrial application of *L. plantarum*.

Key words: *Lactiplantibacillus plantarum*; genomics; comparative genomics; transcriptomics; proteomics; metabolomics

引文格式:

梁婉诗,刘欣桐,麦婉,等.组学技术在植物乳杆菌及其发酵食品中的研究进展[J].现代食品科技,2023,39(5):376-385.

LIANG Wanshi, LIU Xintong, MAI Wan, et al. Research progress of omics techniques in *Lactiplantibacillus plantarum* and its application in fermented food [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(5): 376-385.

收稿日期: 2022-05-13

基金项目: 广东省科技创新战略专项资金(2022B1212010015); 佛山科学技术学院高层次人才经费(CGZ07001); 企业委托项目(BKH208034)

作者简介: 梁婉诗(1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品中微生物的利用和控制, E-mail: 849140824@qq.com.

通讯作者: 黄燕燕(1992-), 女, 博士, 特聘青年研究员, 研究方向: 食品中微生物的利用和控制, E-mail: huang_yanyan@fosu.edu.cn

乳酸菌 (Lactic Acid Bacteria, LAB) 是一类广泛存在于传统发酵食品中的益生菌, 如酸奶、奶酪、酸面团、饮料、酒、香肠、酸菜、橄榄、纳豆、豆豉等^[1]食品中均有益生菌存在。越来越多的证据表明 LAB 在人类健康中发挥着重要作用^[2,3], 具有预防慢性疾病、改善营养状况、增强免疫力、促进生长、减轻压力等功效^[4-6], 使其在食品和制药行业备受瞩目。LAB 可产生包括有机酸、细菌素、脂肪酸以及胞外多糖^[7,8]在内的多种功能性代谢产物, LAB 产生的多种功能性代谢产物不仅可以赋予食品独特风味, 还具有一定的健康功效^[8]。

植物乳杆菌 (*Lactiplantibacillus plantarum*) 是一种革兰氏阳性杆菌^[9], 属于乳酸杆菌, 是公认普遍安全的微生物。植物乳杆菌是 LAB 中最为常见的一种, 表现为厌氧或兼性厌氧, 大部分为单体存在但也可成对或成链分布, 多表现为直或弯杆状, 为人体重要菌群的天然组成部分^[10]。植物乳杆菌不仅可以吸附重金属、塑化剂等有害因子, 还具有抗氧化、降胆固醇、降解亚硝酸盐和抑菌等活性, 从而其被广泛应用^[9-13]。植物乳杆菌对宿主健康发挥着重要作用, 主要表现在调节肠道微生物的稳定和平衡^[14]、抑制肠道中的病原体和有害细菌^[15]、调节免疫反应^[16]等。早期的研究大多局限于益生菌及其代谢活性产物的提取。随着研究的深入, 越来越多的 LAB 菌株的益生特性, 将被进一步发现。

组学技术属于系统生物学的概念, 主要包括基因组学、比较基因组学、转录组学、蛋白组学、代谢组学与离子组学等。随着组学技术研究不断完善和进化, 其已成为益生菌研究的主要技术之一。组学并不是一门孤立的学科, 它与其他检测技术联合研究有助于发现益生菌在遗传水平上的特征。基因组学和转录组学可解析植物乳杆菌的遗传信息和功能基因。蛋白质组学和代谢组学在研究植物乳杆菌应对生理和环境变化的适应机理方面也是一种非常有效的方法。在研究植物乳杆菌时, 综合利用上述 4 种技术, 可以从遗传、表达、代谢等多个方面对其进行全方面多角度地研究, 从而为人类健康事业作出更大的贡献^[17]。结合组学技术对植物乳杆菌的代谢机理进行研究, 对开发特定人群的植物乳杆菌发酵食品具有重要意义。因此, 本文将主要针对植物乳杆菌的组学研究及其在发酵食品中的应用进行综述, 以期植物乳杆菌的产业化应用奠定了理论基础。

1 植物乳杆菌的组学研究

1.1 植物乳杆菌的基因组学研究

上世纪二十年代, 基因组 (Genome) 的概念首次面世, 主要用来描述生物的遗传信息。在此基础上, Roderick^[18]于上世纪八十年代年提出基因组学 (Genomics), 进一步丰富了基因组的概念, 为后续人类及其他生物的基因研究奠定了理论基础。从基因组层面上对基因的选择、突变、重组和基因组功能特性的研究, 在探究基因组在物种进化及变异过程中发挥着举足轻重的作用^[19]。自从第一个完整的细菌基因组 (流感嗜血杆菌) 通过 Sanger DNA 测序方法测序以来^[20], 全基因组测序取得了相当大的进展。目前, 新一代测序 (Next Generation Sequencing, NGS) 一般不需要序列库, 即可对大量的 DNA 片段进行测序^[21]。现有的 NGS 平台应用了不同的测序技术, 其中焦磷酸测序 (www.454.com)、合成测序 (www.illumina.com)、连接测序 (www.solid.appliedbiosystems.com)、半导体测序 (www.lifetechnologies.com) 和纳米孔测序 (www.genomics.cn) 是比较典型的测序工具^[22]。

Handelsman 等^[23]提出了宏基因组 (Metagenome) 的概念, 又称元基因组学, 其概述了微生物群中的物种丰度和生态系统中常见的代谢途径。截至 2022 年 3 月, NCBI 数据库中已有 311 株植物乳杆菌完成了全基因组测序。相比欧美和日本等国家, 我国的 LAB 基因组测序起步比较晚^[24]。第一株 LAB 即干酪乳杆菌 Zhang 等^[25]的基因组测序工作于 2008 年完成, 虽然这是我国对于 LAB 基因组学的首次探究, 但这也预示着我国在基因组测序方面达到了领先水平, 为推动我国后续 LAB 基因组研究做出了巨大贡献。近年来, 一些具有益生功能的植物乳杆菌已完成了测序及功能基因解析^[26], 比如 *L. plantarum* ST-III 具有降低冠心病的发病风险^[27]; *L. plantarum* PS128 可调节免疫^[28]; *L. plantarum* ZJ316 具有抑制 *Staphylococcus aureus*、*Escherichia coli*、*Salmonella*、*Listeria monocytogenes* 等多种致病菌的能力; 此外, 在国内完成测序的 *L. plantarum* P-8^[29]也具有抑制病原菌的活性。

1.2 植物乳杆菌的比较基因组学研究

基因组学分析方法有助于筛选出更有利于工业生产的 LAB, 拓宽 LAB 的应用范围。结构基因组学是一种最基本也是应用最广泛的 LAB 基因组学研究方法, 通常以全基因组测序为目标, 得到基因组大小和鸟嘌呤+胞嘧啶 (Guanine+Cytosine, G+C) 含量等基

本信息。如 Michiel 等对 *L. plantarum* WCFS1 的编码开放阅读框 (Open Reading Frames, ORFs) 蛋白和 RNA 的基因进行预测^[30]。而功能基因组学主要是对 LAB 各个基因进行功能探究。由于 LAB 的各项生化功能均由基因编码, 通过分析菌种的发酵特性, 可为筛选最优发酵剂、控制发酵时间提供参考, 进而从基因层面探究 LAB 代谢特征和生理活性, 将有助于其更好地应用于食品工业。Anna 等^[31]研究发现通过 *L. casei* IBB3423 基因注释发现 40 多个糖苷酶相关基因, 此外还预测出了一个 β -果糖苷酶相关的信号序列和 39 个糖基转移酶相关信号序列, 这表明了该菌株具有强大的碳水化合物代谢能力。李雪飞等^[32]对芒果源 *L. plantarum* FMNP01 的全基因组进行了功能注释, 并对其细菌素合成相关基因进行了阐述, 为该菌株细菌素的开发提供了理论基础。Illegheems 等^[33]对 *Lactobacillus fermentum* 222 的中心碳水化合物代谢、蛋白质水解系统和氨基酸转换途径进行重建, 发现了糖转运系统 (Phosphotransferase System, PTS) 和通透酶相关基因。陈臣^[24]在探究 *L. plantarum* ST-III 的低聚果糖代谢通路时, 对代谢产物和基因组进行测定, 发现当菌株利用低聚果糖时相比于利用葡萄糖作为碳源有 324 个基因发生变化且产物中乙酸含量明显增加。

比较基因组学中常用的比较内容包括基因组共线性分析、特定基因的比较分析和 GC 偏好分析、物种间系统发生关系等。比较基因组学中常用的研究方法有两种: (1) 在得到全基因组序列的基础上, 与数据库中已知的全基因组序列进行对比, 找出对比对象和差异化对象, 并进行共线性分析, 这一方法能够有效找出基因组中揭示物种间进化关系的核心基因组和揭示环境与物种进化关系的泛基因组^[34], 并分别基于两种基因构建进化树。比较基因组学通常用来对同种或异种生物之间基因功能和结构进行比较, 如 Deo 等^[35]通过对比分析了 106 株 LAB 的胞外多糖相关基因, 阐述了各类基因的聚类数和组成以及编码不同蛋白基因的数量, 从而强调了乳酸菌中 EPS 基因簇的高变异性可能与菌种来源相关。Illegheems 等^[33]对比了 *L. fermentum* 222 和 *L. plantarum* 80 的基因结构和遗传潜力, 探究两者作为可可豆传统发酵剂的发酵特性, 其中 *L. fermentum* 222 具有编码柠檬酸转运蛋白的基因和参与氨基酸转化的酶, 而 *L. plantarum* 80 是该物种中唯一含有与果糖或山梨糖摄取和消耗有关基因簇的菌株。对候选功能性发酵剂菌株 *L. fermentum* 222 和 *L. plantarum* 80 的基因组序列进行深入分析, 揭示了 *L. fermentum* 222 和 *L. plantarum* 80 能够主导可可豆发酵的原因。Qi 等^[36]通过比较基因组分析发现 *L. casei*

ATCC334、*L. casei* LC5、*L. rhamnosus* GG 和 *L. paracasei* WX322 具有高度共线性, *L. paracasei* WX322 和 *L. casei* ATCC334 具有局部基因倒位, *L. paracasei* WX322 中没有大规模的基因插入、缺失或倒位, 仅发现少量插入和倒位, 说明 *L. paracasei* WX322 在进化过程中存在小范围基因重组和转移。

(2) 另一种方法是在得到全基因组序列的基础上设计基因探针, 然后与未完成全基因组测序的菌种进行杂交, 通过检测结果反应基因缺失和表达情况^[37], Castilho 等^[38]通过 DNA 探针互补表达探究蓝鳍金枪鱼的热适应效应, 与对照组 (20 °C) 相比, 发现冷处理组 (15 °C) 中的心室、红肌和白肌中有 113、81 和 196 个差异基因表达, 说明不同的肌纤维类型对热适应反应的基因表达水平不同, 这可能反映了蓝鳍金枪鱼的组织恒温特性。Perez-Diaz 等^[39]以靶基因 (*csh*) 为模板进行 PCR 扩增和构建非放射性 DIG 标记探针, 证实了植物乳杆菌中 *csh* 的独特性, 此方法能够快速有效地鉴定出乳杆菌中独特的基因组序列, 也同样适用于其他细菌的快速检测。

1.3 植物乳杆菌的转录组学研究

微阵列和 RNA 测序 (RNA-Seq) 是目前用于转录组学分析的两种主要技术^[21]。微阵列通过与一系列互补核苷酸探针的杂交来测量预先建立的一组序列或转录本的数量; 而 RNA-Seq 利用超高通量 DNA 测序将所有转录本 RNA 捕获为 cDNA 序列^[40]。在益生菌组学领域, 转录组学分析已被用于研究参与应激诱导反应的分子机制, 例如胃肠道中胆汁盐的应激耐受性^[41]。此外, 转录组学有助于揭示益生菌与宿主或其他微生物群相互作用的分子策略, 包括脂质代谢的变化、粘液信号通路的调节以及细胞生长和细胞通讯 (细胞间信号传导)^[42]。Reverón 等^[43]采用全基因组转录组分析技术研究了 *L. plantarum* WCFS1 对白藜芦醇的分子反应, 并对乳酸杆菌如何在系统水平上响应白藜芦醇产生了新的机制见解。Bron 等^[44]在不同条件下发酵 *L. plantarum* WCFS1, 并对其进行全基因组转录组学分析和生理特性评估, 揭示了植物乳杆菌的生理特性受发酵条件的显著影响。Bu 等^[45]采用转录组学方法研究了 *L. plantarum* Q7 产生细菌素 Q7 的生物合成过程, 通过研究发现 *groS* 基因可能是合成细菌素 Q7 的关键基因。该实验的结果为提高细菌素的产量提供了新的调控目标。Lu 等^[46]对生长在葡萄糖和低聚果糖 (FOS) 上的对 *L. plantarum* ST-III 和分解代谢控制蛋白 A (CcpA) 突变株进行了完整的转录组和代谢分析。研究结果表明 CcpA 在响应植物乳杆菌的碳源和有效

性方面起着核心作用,并为植物乳杆菌复杂而广泛地调节网络提供了新的机制见解。基因组学和转录组学的结合是解决实验问题最常见的方法之一。考虑到特定的环境,基因组和转录组技术的结合^[47-49]或者宏基因组和宏转录组技术的综合研究^[50]可用于许多领域,如研究 LAB 在食品腐败中的作用^[51]、LAB 菌株的潜在在益生菌特性^[52]等。

1.4 植物乳杆菌的蛋白质组学研究

蛋白质组学涉及研究蛋白质发育过程中数量、组成、结构、水平和生理功能的变化以及对内部或外部刺激的反应^[53]。由于蛋白质组更复杂,并且翻译后修饰(如糖基化、甲基化、磷酸化、泛素化、氧化)而不断变化,因此开发了综合蛋白质组学技术以分离、量化、鉴定和表征样本中存在的所有蛋白质^[54]。Wu 等^[55]采用 iTRAQ 蛋白质组学分析方法建立了植物乳杆菌在类奶酪条件下的全面蛋白质组图谱。Jiang 等^[56]采用多组学分析方法研究了 Ca^{2+} 对 *L. plantarum* K25 中胞外多糖生物合成的影响。蛋白质组学分析结果表明, Ca^{2+} 提高了大部分与碳转运和代谢、脂肪酸合成、氨基酸合成、离子转运有关蛋白的浓度。Mazzeo 等^[57]通过蛋白质组学全面研究了碳分解代谢控制蛋白 A (CCPA) 在 *L. plantarum* WCFS1 厌氧和好氧条件下的生长调节作用。结果表明, CCPA 突变失活后显著改变了 76 种蛋白质的表达水平,主要与细胞的碳水化合物和能量代谢、膜运输、核苷酸代谢、蛋白质生物合成和折叠等功能有关,证实了 CCPA 在好氧和厌氧状态下的多效调节作用。Zhai 等^[58]通过同位素标记的 iTRAQ 法比较 *L. plantarum* CCFM8610 和 CCFM191 对镉的耐受性,研究表明 *L. plantarum* CCFM8610 耐镉的潜在机制可能归因于特定的生存模式,细胞防御和修复系统,响应 Cd 增强疏水性氨基酸的生物合成, Cd 结合能力和细胞壁生物合成能力,离子运输,原噬菌体 P2b 蛋白 18、CadA、mntA 和 lp_3327 等关键蛋白的作用。Hamon 等^[59]利用比较蛋白质组学研究植物乳杆菌中天然蛋白质多样性与胆盐耐受性的关系,通过采用双向电泳(2-DE)、胰酶消化、液相色谱-质谱分析和数据库检索等方法分析蛋白质组的定性和定量差异,最终鉴定出六种在植物乳杆菌胆盐耐受过程中关键作用的蛋白质。Yao 等^[60]利用蛋白质组学技术研究 *L. plantarum* DMDL9010 降解亚硝酸盐的机理,结果发现 *L. plantarum* DMDL9010 在 24 h 内可完全降解 0.276 g/L 的亚硝酸盐。蛋白质组学分析有助于了解植物乳杆菌的不同特性,识别出个体特性的蛋白质组特

征图谱,这些特性可作为初步选择具益生菌潜力菌株的生物标志物。

1.5 植物乳杆菌的代谢组学研究

代谢组被认为是基因组、转录组和蛋白质组的最终结果,与微生物细胞的分子表型直接相关^[61]。代谢组学在益生菌组学研究中的应用在过去几年中得到了发展。代谢组学已被用于绘制代谢途径和揭示微生物代谢网络^[62],如研究食品发酵过程中产生的代谢物及其对发酵食品感官、功能和营养品质的影响^[63];评估施用益生菌菌株对常驻微生物群代谢行为的影响^[64];表征益生菌大规模生产过程中分泌的微生物分子(例如,有机酸、短链脂肪酸、生物表面活性剂、多糖、肽、细菌素等)^[65]。从技术上讲,代谢组学实验和分析通常分为靶向和非靶向两种^[21]。靶向代谢组学,是指对先验已知且以纯化形式可获取的一小部分定义的代谢物进行检测和精确定量^[66];而非靶向代谢组学(也称为非靶向发现全局代谢组学)允许对样品中存在的所有代谢物(代谢指纹)进行完整扫描和测量。基于质谱(MS)的方法、核磁共振光谱(NMR)和拉曼光谱(RS)作为代谢组学研究的主要分析技术因其选择性好、灵敏度高的优点而脱颖而出。近年来,代谢组学通过与傅立叶变换红外光谱(FT-IR)、紫外-可见(UV-Vis)吸收光谱、偏振测定法、圆二色谱和 X 射线晶体学^[67]等其他分析技术的融合更新换代,进一步促进了整个代谢组学分析的发展。Li 等^[68]采用代谢组学研究发现 *L. plantarum* NCU116 可以有效改善大鼠的肥胖症。Zha 等^[69]通过代谢组学分析,评估了 *L. plantarum* P9 发酵乳在发酵和储存期间的代谢组学变化。在牛奶发酵和储存期间,共发现了 35 种差异代谢物。相关研究提供了有关乳制品和发酵乳代谢产物的新数据,这将有助于功能性发酵乳制品的未来发展。Wu 等^[70]研究了初始酸碱(pH 值 5.5 和 8.5)胁迫对 *L. plantarum* ATCC 14917 代谢谱的影响。结果表明,碱胁迫可以限制 *L. plantarum* ATCC 14917 发酵过程中酸性环境的形成,但是低酸性的条件更适合植物乳杆菌的生长。Xu 等^[71]研究建立了接种植物乳杆菌和异种发酵布氏乳杆菌玉米青贮的微生物组和代谢组谱,提高了对玉米青贮形成的生物学过程的认识,有助于重新评价青贮的营养价值和发酵品质。综上所述,采用代谢组学可以考察植物乳杆菌在不同条件下的生理及功能特性,从而为植物乳杆菌的开发应用提供强有力的支持。

2 植物乳杆菌组学技术在发酵食品中的应用

2.1 泡菜

泡菜是一种传统的美食,用纤维含量丰富的蔬菜或水果如卷心菜、大白菜、萝卜、黄瓜等作为原料,风味独特,可长期保存。组学技术常用于跟踪泡菜在发酵或长期储存期间的代谢物和微生物演替变化,还可用于提高泡菜的质量和安全性^[72,73]。Wu 等^[74]研究泡菜在自然发酵过程中风味的变化,相比于发酵初期的泡菜,发现发酵中期挥发性成分增加了两倍以上且酯类和醛类含量最多。Zhao 等^[75]基于 GC-MS 法测定泡菜中味觉标记物,发现通过益生菌(植物乳杆菌、布氏乳杆菌和乙醇片球菌)共培养可以显著增加泡菜中谷氨酸(鲜味)、蔗糖(甜味)、甘氨酸(甜味)、乳酸(酸味)和 γ -氨基丁酸。Jung 等^[72]通过宏基因组 16S rRNA 基因的系统发育分析表明,明串珠菌、乳杆菌和魏氏菌是优势属。宏基因组序列的分配揭示了异养的遗传特征碳水化合物的乳酸发酵,这与检测甘露醇、乳酸、乙酸和乙醇作为发酵产物是一致的。大多数泡菜宏基因组序列与肠膜明串珠菌和乳酸杆菌基因具有同一性^[76],这表明这两个属在泡菜发酵中的重要性。杨永亮以豆角、竹笋和胡萝卜作为原材料并接种植物乳杆菌来发酵泡菜,发现相较于自然发酵,接菌发酵的泡菜产酸更多、霉菌的数量会更少,且接种量为 0.2% 时泡菜的品质更高。使用多种乳酸菌混合发酵可以弥补单菌发酵使得泡菜风味较差的缺陷,但是乳酸菌的选择、不同乳酸菌的比例等难以确定,需要大量的实验寻找最合适的菌种组合及配比^[77]。乳酸菌可有效降解泡菜中的生物胺,使用多种乳酸菌混合发酵效果更加明显^[78],另外也可以有降解香肠中腐胺、尸胺、酪胺和组胺等^[79]。

2.2 发酵茶

发酵茶具有独特风味品质,以及抗衰老、抑菌、降血脂、减肥等功效。在过去几十年里,人们对发酵茶中的细菌和真菌成分进行了深入研究^[80,81]。普洱分为生普洱和熟普洱,而熟普洱是在较高温度和湿度下加速发酵制成的^[82]。Tian 等^[83]采用 PCR-DGGE 法研究了不同陈酿月份(<1 至 192 个月)生熟普洱样品中细菌和真菌群落,结果表明普洱茶的贮藏时间与品质之间的关系是复杂的,涉及多酚含量和微生物丰度的变化。真菌和细菌的丰度随着储存时间的推移而下降,并且在成熟期明显高于生普洱。Lyu 等^[84]通过对发酵成熟普洱进行宏基因组研究表明其涉及 3 个细菌

门和 1 个真菌门,并分析了萜类和聚酮化合物的代谢以及其他次生代谢物的生物合成等 16 个途径和鉴定到了 69 个相关的基因。Zhao 等^[85]对新鲜固态发酵普洱通过细菌 16S rRNA 和真菌 18S rRNA 基因的扩增子测序发现优势细菌包括变形菌门(48.42%)、厚壁菌门(19.91%)、放线菌门(16.91%)和蓝藻门(9.95%),还有优势真菌-曲霉(94.98%)。大量研究应用了各种代谢组学方法用于研究发酵茶中挥发性和非挥发性化学成分的动态变化。Verloop 等^[86]采用串联质谱法在红茶中检测到低丰度酚类物质的茶二胺。Tan 等^[87]基于 UPLC-MS 的非靶向代谢组学方法分析了红茶在其发酵过程中长达 14 h 中代谢物的变化,鉴定到了 61 种已鉴定代谢物如儿茶素、二聚儿茶素、黄酮醇苷、氨基酸、酚酸、生物碱和核苷等。涂政等^[88]通过代谢组学技术研究冠突散囊菌和植物乳杆菌联合发酵绿茶比未发酵绿茶的醇、醛、烃、酯和酮类等物质均显著增加($P < 0.05$)。

2.3 发酵乳制品

传统发酵乳制品是指由天然发酵剂和传统工艺发酵而成的酸马奶、酸牛奶、奶酪等产品。目前测序技术对传统发酵乳制品中细菌多样性研究获得了广泛的应用。Monnet 等^[89]在第 5、14、19 和 35 天,通过宏转录组学分析研究了 Reblochon 型奶酪中微生物的活性,发现奶酪是由两种 LAB (*Streptococcus thermophilus* 和 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)、两种酵母 (*Debaryomyces (D.) hansenii* 和 *Geotrichum (G.) candidum*) 和一种发酵细菌 (*Brevibacterium (B.) aurantiacum*) 生产的,但 *B. aurantiacum* 转录本丰度在调查中相当低。两种 LAB 的转录组变化很小,而差异表达的基因在两种酵母中很明显。在发酵过程中,参与氨同化和半乳糖分解代谢的基因在酵母中被下调。从第 14 天到第 35 天,*G. candidum* 和 *D. hansenii* 中氨基酸分解代谢基因上调。第 35 天后,电子传递链基因的下调,其意味着微生物细胞活性降低,这可以解释奶酪中蛋白质和挥发性有机化合物的协同代谢组变化。国内外大量研究发现在牛乳中添加增殖剂可使植物乳杆菌在发酵牛乳中增殖。Robitaille 等^[90]在牛乳中添加酪蛋白的水解产物可促使植物乳杆菌活菌数增殖至 1×10^9 cfu/g,随着添加量的增加,活菌数并没有呈线性增加,可见酪蛋白水解产物中含有植物乳杆菌在牛乳中生长的限制因子。Settachaimongkon 等^[91]研究证明植物乳杆菌可以在嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌发酵牛乳中生长,预培养的植物乳杆菌(4.5% NaCl, pH 值 4.5 或 6.5)会显著降低发酵乳中嗜热链球菌和

保加利亚乳杆菌活菌数,缓解了发酵乳的后酸化,而总活菌数也保持在较高水平。

2.4 发酵果汁

发酵果汁的活力与代谢活性受多种因素的影响,包括食品本身的固有参数、加工参数、微生物参数以及产生的代谢产物参数等。植物乳杆菌是一种适用于果汁发酵的益生菌,大部分果汁中的营养物质为植物乳杆菌提供了适宜的生长环境。仵白敏等^[92]通过代谢组技术研究发现植物乳杆菌发酵产生的有机酸能与葡萄汁中的香气物质(酯、醇、酸、烯炔、醛、酮类等)相互作用影响果汁的感官品质,并且抑制果汁中杂菌的生长(图1)。大量研究发现植物乳杆菌发酵大部分的果蔬基质后会使其醇、酯和酮类物质含量或种类增加,并且使醛类物质的相对含量显著减少^[93-95]。杨立启等^[96]通过代谢组技术研究植物乳杆菌发酵柑橘汁的挥发性物质变化,结果表明发酵后烯类物质明显含量升高,但柠檬烯含量发生了一定程度的降低, β -月桂烯(香脂香气)、 β -蒎品烯(柠檬香气)和 β -榄香烯(茴香香味)均有所提高。总体而言,与原汁相比,植物乳杆菌发酵后果汁的风味更加丰富、浓郁、独特,对果汁整体品质有积极作用。

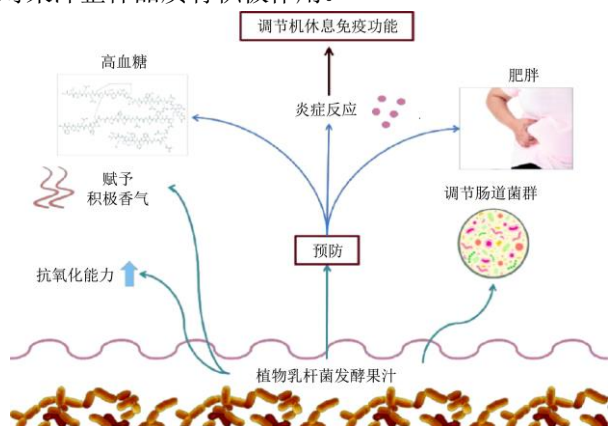


图1 植物乳杆菌发酵果汁对抗氧化、香气及人体健康的影响

Fig.1 Effect of *L. plantarum* fermented fruit juice on oxidation, aroma and human health

3 结语

随着测序技术的高速发展,组学被广泛运用到各个研究领域中。目前,利用组学技术在研究植物乳杆菌生长代谢机制及益生功能等方面取得了一定成就,但由于乳酸菌代谢及功能复杂,组学技术也存在一定的局限性,植物乳杆菌组学研究仍面临一些问题。首先,目前测序技术随机测序错误率偏高,需重复测序进行纠错,导致测序成本增加。现有测序技术与上一代测序技术联用可以对测序技术进行优化,实现大规

模商业化应用是未来的发展趋势。其次,组学测序数据庞大,生信分析软件不够丰富,亟需开发强大的生信分析工具成为弥补组学缺陷的关键。最后,植物乳杆菌样本较复杂,仅使用单一组学技术对其进行研究可能无法得出全面的结论,有必要联合其他组学技术,从多个角度进行分析,提高结果的全面性和准确性。组学技术在食品领域研究存在的几个挑战:(1)如何选择有效的样品;(2)如何精准提取有效的结果信息;(3)缺少对组学研究结果的验证。乳酸菌是一种重要的生物资源,利用多组学技术挖掘乳酸菌中重要功能基因和对功能性代谢产物的代谢通路研究是乳酸菌未来的发展方向。

参考文献

- [1] Hutkins R. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond [J]. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 2017, 71: 1330-1331.
- [2] Rajoka M S R, Mehwish H M, Siddiq M, et al. Identification, characterization, and probiotic potential of *Lactobacillus rhamnosus* isolated from human milk [J]. *Lwt - Food Science and Technology*, 2017, 84: 271-280.
- [3] Tang W, Dong M, Wang W, et al. Structural characterization and antioxidant property of released exopolysaccharides from *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* SRFM-1 [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 173: 654-664.
- [4] De Simone C. The unregulated probiotic market [J]. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2019, 17(5): 809-817.
- [5] Dowarah R, Verma A K, Agarwal N, et al. Selection and characterization of probiotic lactic acid bacteria and its impact on growth, nutrient digestibility, health and antioxidant status in weaned piglets [J]. *Plos One*, 2018, 13(3): e0192978.
- [6] Tsai Y L, Lin T L, Chang C J, et al. Probiotics, prebiotics and amelioration of diseases [J]. *Journal of Biomedical Science*, 2019, 26: 3-11.
- [7] Lynch K M, Zannini E, Coffey A, et al. Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: isolation, properties, characterization, and health benefits [J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2018, 9(1): 155-176.
- [8] Sauer M, Russmayer H, Grabherr R, et al. The efficient clade: lactic acid bacteria for industrial chemical production [J]. *Trends in Biotechnology*, 2017, 35(8): 756-769.
- [9] Devi S M, Halami P M. Genetic variation of pln loci among probiotic *Lactobacillus plantarum* group strains with

- antioxidant and cholesterol-lowering ability [J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2019, 11(1): 11-22
- [10] Fei Y T, Liu D M, Luo T H, et al. Molecular characterization of *Lactobacillus plantarum* DMDL 9010, a strain with efficient nitrite degradation capacity [J]. *Plos One*, 2014, 9(11): e113792.
- [11] Liu D M, Guo J, Zeng X A, et al. The probiotic role of *Lactobacillus plantarum* in reducing risks associated with cardiovascular disease [J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2017, 52(1): 127-136.
- [12] Seddik H A, Bendali F, Gancel F, et al. *Lactobacillus plantarum* and its probiotic and food potentialities [J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2017, 9(2): 111-122.
- [13] De Vries M C, Vaughan E E, Kleerebezem M, et al. *Lactobacillus plantarum*- survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract [J]. *International Dairy Journal*, 2006, 16(9): 1018-1028.
- [14] Rehman A, Heinsen F-A, Koenen M E, et al. Effects of probiotics and antibiotics on the intestinal homeostasis in a computer controlled model of the large intestine [J]. *Bmc Microbiology*, 2012, 12: 1-10.
- [15] 刘飞,郝婧宇,段素芳,等.益生菌对断奶鼠消化酶活力、肠道运动性及粘膜形态的影响[J].*食品工业科技*,2021,42(16): 353-360.
- [16] Sarkar A, Mandal S. Bifidobacteria-Insight into clinical outcomes and mechanisms of its probiotic action [J]. *Microbiological Research*, 2016, 192: 159-171.
- [17] Papadimitriou K, Zoumpoulou G, Foligne B, et al. Discovering probiotic microorganisms: *in vitro*, *in vivo*, genetic and omics approaches [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6(58): 58.
- [18] 李伟,印莉萍.基因组学相关概念及其研究进展[J].*生物学通报*,2000,35(11):1-3.
- [19] Tong C, Najm G M, Pinter-Wollman N, et al. Comparative genomics identifies putative signatures of sociality in spiders [J]. *Genome Biology and Evolution*, 2020, 12(3): 122-133.
- [20] Land M, Hauser L, Jun S R, et al. Insights from 20 years of bacterial genome sequencing [J]. *Functional and Integrative Genomics*, 2015, 15(2): 141-161.
- [21] Xu Y J. Foodomics: A novel approach for food microbiology [J]. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2017, 96: 14-21.
- [22] Goodwin S, Mcpherson J D, McCombie W R. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2016, 17(6): 333-351.
- [23] Handelsman J, Rondon M R, Brady S F, et al. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products [J]. *Chemistry and Biology*, 1998, 5(10): R245-R249.
- [24] 陈臣.植物乳杆菌 ST-III全基因组序列分析及其对低聚果糖代谢通路的解析[D].无锡:江南大学,2014.
- [25] Zhang W, Yu D, Sun Z, et al. Complete nucleotide sequence of plasmid plca36 isolated from *Lactobacillus casei* Zhang [J]. *Plasmid*, 2008, 60(2): 131-135.
- [26] Li X, Gu Q, Lou X, et al. Complete genome sequence of the probiotic *Lactobacillus plantarum* strain ZJ316 [J]. *Genome Announcements*, 2013, 1(2): e0009413.
- [27] 孙立国,莫蓓红,蒋能群.植物乳杆菌 ST-III对实验性动物高胆固醇血症影响的研究[J].*乳业科学与技术*,2004,4:150-152.
- [28] Liu W H, Yang C H, Lin C T, et al. Genome architecture of *Lactobacillus plantarum* PS128, a probiotic strain with potential immunomodulatory activity [J]. *Gut Pathogens*, 2015, 7(1): 1-7.
- [29] Zhang W, Sun Z, Bilige M, et al. Complete genome sequence of probiotic *Lactobacillus plantarum* P-8 with antibacterial activity [J]. *Journal of Biotechnology*, 2015, 193: 41-42.
- [30] Kleerebezem M, Boekhorst J, Van Kranenburg R, et al. Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(4): 1990-1995.
- [31] Koryszewska-Baginska A, Gawor J, Nowak A, et al. Comparative genomics and functional analysis of a highly adhesive dairy *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* IBB3423 strain [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(18): 7617-7634.
- [32] 李雪飞,郭丽琼,叶志伟,等.芒果源植物乳杆菌 FMNP01 的全基因组测序及序列分析[J].*中国食品学报*,2018,18(5): 232-238.
- [33] Illegheems K, De Vuyst L, Weckx S. Comparative genome analysis of the candidate functional starter culture strains *Lactobacillus fermentum* 222 and *Lactobacillus plantarum* 80 for controlled cocoa bean fermentation processes [J]. *Bmc Genomics*, 2015, 16: 1-13.
- [34] Snipen L, Almoy T, Ussery D W. Microbial comparative pan-genomics using binomial mixture models [J]. *Bmc Genomics*, 2009, 10(1): 1-8.
- [35] Deo D, Davray D, Kulkarni R. A diverse repertoire of exopolysaccharide biosynthesis gene clusters in *Lactobacillus* revealed by comparative analysis in 106 sequenced genomes

- [J]. *Microorganisms*, 2019, 7(10): 444.
- [36] Qi T, Wang S, Deng L, et al. Controlling pepper soft rot by *Lactobacillus paracasei* WX322 and identification of multiple bacteriocins by complete genome sequencing [J]. *Food Control*, 2021, 121: 107629.
- [37] Dally S, Rupp S, Lemuth K, et al. Single-stranded DNA catalyzes hybridization of PCR-products to microarray capture probes [J]. *Plos One*, 2014, 9(7): e102338.
- [38] Castilho P C, Buckley B A, Somero G, et al. Heterologous hybridization to a complementary DNA microarray reveals the effect of thermal acclimation in the endothermic bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) [J]. *Molecular Ecology*, 2009, 18(10): 2092-2102.
- [39] Perez-Diaz I M. Putative and unique gene sequence utilization for the design of species specific probes as modeled by *Lactobacillus plantarum* [J]. *Current Microbiology*, 2013, 66(3): 266-270.
- [40] Lowe R, Shirley N, Bleackley M, et al. Transcriptomics technologies [J]. *Plos Computational Biology*, 2017, 13(5): e1005457.
- [41] Lv L X, Yan R, Shi H Y, et al. Integrated transcriptomic and proteomic analysis of the bile stress response in probiotic *Lactobacillus salivarius* LJ01 [J]. *Journal of Proteomics*, 2017, 150: 216-229.
- [42] Kleerebezem M, Binda S, Bron P A, et al. Understanding mode of action can drive the translational pipeline towards more reliable health benefits for probiotics [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, 56: 55-60.
- [43] Reveron I, Plaza-Vinuesa L, Franch M, et al. Transcriptome-based analysis in *Lactobacillus plantarum* WCFS1 reveals new insights into resveratrol effects at system level [J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2018, 62(9): 1700992.
- [44] Bron P A, Wels M, Bongers R S, et al. Transcriptomes reveal genetic signatures underlying physiological variations imposed by different fermentation conditions in *Lactobacillus plantarum* [J]. *Plos One*, 2012, 7(7): e38720.
- [45] Bu Y, Liu Y, Li J, et al. Analyses of plantaricin Q7 synthesis by *Lactobacillus plantarum* Q7 based on comparative transcriptomics [J]. *Food Control*, 2021, 124: 107909.
- [46] Lu Y, Song S, Tian H, et al. Functional analysis of the role of CcpA in *Lactobacillus plantarum* grown on fructooligosaccharides or glucose: a transcriptomic perspective [J]. *Microbial Cell Factories*, 2018, 17(1): 1-11.
- [47] Curtis C, Shah S P, Chin S F, et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups [J]. *Nature*, 2012, 486(7403): 346-352.
- [48] Ju Y S, Lee W C, Shin J Y, et al. A transforming KIF5B and RET gene fusion in lung adenocarcinoma revealed from whole-genome and transcriptome sequencing [J]. *Genome Research*, 2012, 22(3): 436-445.
- [49] Craig D W, O'shaughnessy J A, Kiefer J A, et al. Genome and transcriptome sequencing in prospective metastatic triple-negative breast cancer uncovers therapeutic vulnerabilities [J]. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2013, 12(1): 104-116.
- [50] Solbiati J, Frias-Lopez J. Metatranscriptome of the oral microbiome in health and disease [J]. *Journal of Dental Research*, 2018, 97(5): 492-500.
- [51] Andreevskaya M, Johansson P, Laine P, et al. Genome sequence and transcriptome analysis of meat-spoilage-associated lactic acid bacterium *Lactococcus piscium* MKFS47 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(11): 3800-3811.
- [52] Saulnier D M, Santos F, Roos S, et al. Exploring metabolic pathway reconstruction and genome-wide expression profiling in *Lactobacillus reuteri* to define functional probiotic features [J]. *Plos One*, 2011, 6(4): e18783.
- [53] Larance M, Lomond A I. Multidimensional proteomics for cell biology [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2015, 16(5): 269-280.
- [54] Robinson J T, Thorvaldsdottir H, Winckler W, et al. Integrative genomics viewer [J]. *Nature Biotechnology*, 2011, 29(1): 24-26.
- [55] Wu Z, Wang P, He J, et al. Proteome analysis of *Lactobacillus plantarum* strain under cheese-like conditions [J]. *Journal of Proteomics*, 2016, 146: 165-171.
- [56] Jiang Y, Zhang M, Zhang Y, et al. Calcium (Ca²⁺)-regulated exopolysaccharide biosynthesis in probiotic *Lactobacillus plantarum* K25 as analyzed by an omics approach [J]. *Journal of Dairy Science*, 2021, 104(3): 2693-2708.
- [57] Mazzeo M F, Cacace G, Peluso A, et al. Effect of inactivation of ccpA and aerobic growth in *Lactobacillus plantarum*: A proteomic perspective [J]. *Journal of Proteomics*, 2012, 75(13): 4050-4061.
- [58] Zhai Q, Xiao Y, Zhao J, et al. Identification of key proteins and pathways in cadmium tolerance of *Lactobacillus plantarum* strains by proteomic analysis [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 1-17.
- [59] Hamon E, Horvatovich P, Izquierdo E, et al. Comparative

- proteomic analysis of *Lactobacillus plantarum* for the identification of key proteins in bile tolerance [J]. *Bmc Microbiology*, 2011, 11: 1-11.
- [60] Yao K, Liu D M, Liang M H, et al. Detection of nitrite degradation by *Lactobacillus plantarum* DMDL9010 through the anaerobic respiration electron transport chain using proteomic analysis [J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2021, 56(4): 1608-1622.
- [61] Agin A, Heintz D, Ruhland E, et al. Metabolomics - an overview. From basic principles to potential biomarkers (part 1) [J]. *Medecine Nucleaire-Imagerie Fonctionnelle Et Metabolique*, 2016, 40(1): 4-10.
- [62] Cukkemane A, Kumar P, Sathyamoorthy B. A metabolomics footprint approach to understanding the benefits of synbiotics in functional foods and dietary therapeutics for health, communicable and non-communicable diseases [J]. *Food Research International*, 2020, 128: 108679.
- [63] Chung H J, Sim J H, Min T S, et al. Metabolomics and lipidomics approaches in the science of probiotics: a review [J]. *Journal of Medicinal Food*, 2018, 21(11): 1086-1095.
- [64] Ghini V, Tenori L, Pane M, et al. Effects of probiotics administration on human metabolic phenotype [J]. *Metabolites*, 2020, 10(10): 396.
- [65] Bianchi L, Laghi L, Correani V, et al. A combined proteomics, metabolomics and *in vivo* analysis approach for the characterization of probiotics in large-scale production [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(1): 157.
- [66] Cambiaghi A, Ferrario M, Masseroli M. Analysis of metabolomic data: tools, current strategies and future challenges for omics data integration [J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2017, 18(3): 498-510.
- [67] Dias D A, Jones O A H, Beale D J, et al. Current and future perspectives on the structural identification of small molecules in biological systems [J]. *Metabolites*, 2016, 6(4): 46.
- [68] Li C, Cao J, Nie S P, et al. Serum metabolomics analysis for biomarker of *Lactobacillus plantarum* NCU116 on hyperlipidaemic rat model feed by high fat diet [J]. *Journal of Functional Foods*, 2018, 42: 171-176.
- [69] Zha M, Li K, Zhang W, et al. Untargeted mass spectrometry-based metabolomics approach unveils molecular changes in milk fermented by *Lactobacillus plantarum* P9 [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2021, 140(5): 110759.
- [70] Wu L Y, Wang W W, Wu Z, et al. Effect of acid and alkali stress on extracellular metabolite profile of *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 [J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2020, 60(8): 722-729.
- [71] Xu D, Ding W, Ke W, et al. Modulation of metabolome and bacterial community in whole crop corn silage by inoculating homofermentative *Lactobacillus plantarum* and heterofermentative *Lactobacillus buchneri* [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 9: 3299.
- [72] Jeong S H, Lee H J, Jung J Y, et al. Effects of red pepper powder on microbial communities and metabolites during kimchi fermentation [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2013, 160(3): 252-259.
- [73] Park S E, Yoo S A, Seo S H, et al. GC-MS based metabolomics approach of Kimchi for the understanding of *Lactobacillus plantarum* fermentation characteristics [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2016, 68: 313-321.
- [74] Wu R, Yu M, Liu X, et al. Changes in flavour and microbial diversity during natural fermentation of suan-cai, a traditional food made in Northeast China [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2015, 211: 23-31.
- [75] Zhao N, Zhang C, Yang Q, et al. Selection of taste markers related to lactic acid bacteria microflora metabolism for Chinese traditional Paocai: a gas chromatography-mass spectrometry -based metabolomics approach [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(11): 2415-2422.
- [76] 杨永亮. 泡菜中植物乳杆菌的分离鉴定及其应用[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- [77] 胡书芳, 王雁萍. 乳酸菌在泡菜生产中的应用[J]. *安徽农业科学*, 2008, 21: 9275-9276, 9327.
- [78] 许女, 李田田, 贾瑞娟, 等. 降解亚硝酸盐和生物胺乳杆菌筛选及其改善鱼肉香肠品质效果[J]. *农业工程学报*, 2018, 34(15): 304-312.
- [79] Tosukhowong A, Visessanguan W, Pumpuang L, et al. Biogenic amine formation in Nham, a Thai fermented sausage, and the reduction by commercial starter culture, *Lactobacillus plantarum* BCC 9546 [J]. *Food Chemistry*, 2011, 129(3): 846-853.
- [80] Tamang J P, Watanabe K, Holzappel W H. Review: diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 377.
- [81] Xu A, Wang Y, Wen J, et al. Fungal community associated with fermentation and storage of Fuzhuan brick-tea [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 146(1): 14-22.
- [82] Lv H P, Zhang Y J, Lin Z, et al. Processing and chemical

- constituents of Pu-erh tea: A review [J]. Food Research International, 2013, 53(2): 608-618.
- [83] Tian J, Zhu Z, Wu B, et al. Bacterial and fungal communities in Pu'er Tea samples of different ages [J]. Journal of Food Science, 2013, 78(8): M1249-1256.
- [84] Lyu C, Chen C, Ge F, et al. A preliminary metagenomic study of puer tea during pile fermentation [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2013, 93(13): 3165-3174.
- [85] Zhao M, Zhang D L, Su X Q, et al. An integrated metagenomics/metaproteomics investigation of the microbial communities and enzymes in solid-state fermentation of Pu-erh tea [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 10117.
- [86] Verloop A J W, Vincken J P, Gruppen H. A tandem mass spectrometry method based on selected ions detects low-abundance phenolics in black tea- theatrindimins as products of the oxidative cascade [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2016, 30(15): 1797-1805.
- [87] Tan J, Dai W, Lu M, et al. Study of the dynamic changes in the non-volatile chemical constituents of black tea during fermentation processing by a non-targeted metabolomics approach [J]. Food Research International, 2016, 79: 106-113.
- [88] 涂政,梅慧玲,李欢,等.冠突散囊菌和植物乳杆菌联合发酵对绿茶液态饮料品质的影响[J].茶叶科学,2018,38(5):496-507.
- [89] Monnet C, Dugat Bony E, Swennen D, et al. Investigation of the activity of the microorganisms in a Reblochon-style cheese by metatranscriptomic analysis [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 536.
- [90] Robitaille G, Champagne C P. Growth-promoting effects of pepsin- and trypsin-treated caseinomacropptide from bovine milk on probiotics [J]. Journal of Dairy Research, 2014, 81(3): 319-324.
- [91] Settachaimongkon S, Van Valenberg H J F, Gazi I, et al. Influence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 on post-acidification, metabolite formation and survival of starter bacteria in set-yoghurt [J]. Food Microbiology, 2016, 59: 14-22.
- [92] 仵白敏.复合益生菌发酵葡萄汁工艺优化与营养特性研究[D].郑州:中国农业科学院,2020.
- [93] Mantzourani I, Kazakos S, Terpou A, et al. Potential of the probiotic *Lactobacillus Plantarum* ATCC 14917 strain to produce functional fermented pomegranate juice [J]. Foods, 2019, 8(1): 4.
- [94] 束文秀,吴祖芳,刘连亮,等.胡柚汁益生菌发酵挥发性风味特征[J].食品科学,2018,39(4):59-65.
- [95] 任婷婷,岳田利,魏欣,等.益生菌发酵苹果浆工艺优化及发酵前后挥发性风味成分分析[J].食品科学,2019,40(8):87-93.
- [96] 杨立启,季坚,黄海婵,等.植物乳杆菌 *Lactobacillus plantarum* 15 对不同品种柑橘全果汁的发酵及其挥发性物质分析[J].食品与发酵工业,2019,45(8):203-209.