

代谢组学在乳酸菌研究中的应用

杨 慧, 步雨珊, 易华西*

中国海洋大学食品科学与工程学院, 青岛 266000

摘要: 代谢组学是系统生物学的重要分支, 因其高效、高通量等特点而广泛应用于食品科学、药理学等研究领域。本文概述了代谢组学的分离和检测技术, 综述了代谢组学在乳酸菌鉴定、发酵调控、肠道菌群研究等方面中的应用, 对代谢组学在乳酸菌研究中潜在的问题和未来发展趋势进行了讨论, 期望为代谢组学在食品工业微生物中的应用提供参考。

关键词: 乳酸菌; 代谢组学; 研究; 应用

中图分类号: Q939.97

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)8-1474-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.8.024

Application of metabolomics in the study of lactic acid bacteria

YANG Hui, BU Yu-shan, YI Hua-xi*

College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266000, China

Abstract: Metabolomics is an important branch of system biology and has been widely used in the study of food science pharmacology because of its high efficiency and high throughput. This paper outlined the separation and detection techniques of metabolomics, described the application examples of metabolomics in the identification of lactic acid bacteria, fermentation regulation, intestinal probiotics, etc., and discussed the potential problems and future development trends of metabolomic research in lactic acid bacteria, which could provide the information of the metabolomics application in food industry.

Key words: lactic acid bacteria; metabolomics; study; application

代谢组学(metabolomics)是“组学”科学中的一个新兴领域,也称为代谢物组分析或代谢谱分析^[1],涉及到某一生物或细胞在特定时期里的所有低分子量代谢物($< 1\ 500\ \text{Da}$)的定性定量分析^[2],这些代谢物包括内源性和外源性小分子化合物,例如肽、氨基酸、核酸、碳水化合物、有机酸、维生素、多酚,生物碱和矿物质等。代谢组学最初应用于植物科学和毒理学领域^[3],近年来也逐渐成为现代食品科学研究的重要工具^[4],特别是解决与食品安全、质量和营养相关的问题^[4-7]。随着代谢组学在食品科学中应用的逐渐深入,在乳酸菌发酵过程和功能研究中应用代谢组学也成为一个人关注的课题^[8]。乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)是一种工业价值极高的兼性厌氧菌,在食品工业中广泛用于发酵乳、肉制品、果蔬加工等,某些物种的乳酸菌可

以产生抗菌剂以用于食品的保藏^[9],另外还可用于治疗肠道疾病、作为疫苗抗原的传送载体等^[10]。代谢组学可能成为乳酸菌相关研究的一个有效工具,目前已经在乳酸菌发酵代谢产物、代谢通路与调控以及乳酸菌对人和动物肠道作用的评估等研究方向有了新的进展。本文综述了代谢组学的研究技术及其在乳酸菌领域的应用,并探讨了目前存在的问题及发展前景。

1 代谢组学分析技术

代谢组学分析通常被分类为靶向(特异性)或非靶向性(非选择性或整体性)分析。靶向分析更专注于一组特定代谢物的鉴定和定量,对于评估某些条件下样品中特定化合物组的作用非常重要,通常需要更高水平的代谢物提取和纯化。相比之下,非靶向分析专注于检测尽可能多的代谢物组,以获得模式或指纹,而无需识别或量化特定的化合物^[4]。代谢组学旨在将通过一系列最新技术发现收集的信息整合到代谢物分离,检测,鉴定和定量

中,其关键步骤是代谢物的分离和检测^[1]。

1.1 代谢组学分离技术

代谢组学最常用的分离技术是液相色谱(LC)及其高性能(HPLC)或超高性能(UPLC)形式,气相色谱(GC)和毛细管电泳(CE)^[11]。高效液相色谱(HPLC)具有高效、高速和高灵敏度的特点,在食品药品安全检测和质量评价中应用广泛^[12]。超高效液相色谱(UPLC)的引入实现了液相色谱的 latest 技术进步,与 HPLC 相比,UPLC 技术提供更高的峰容量,更高的分辨率,更高的灵敏度和更高的速度,这种方法可以获得与 HPLC 相似的结果,但运行时间要短得多,可以减少 10 倍^[13]。UPLC 的主要研究领域是药物分析和生物分析,也可应用于食品分析中,如测定食品成分,食品添加剂和有害化合物等^[14,15]。气相色谱(GC)更侧重于挥发性代谢物的检测,分离速度快,所需样品量较少^[16]。毛细管电泳(CE)以毛细管为分离通道,可以分离和分析纳升数量级的样品,虽然其制备能力差、分离重现性差等劣势,但是它最吸引人的特点是所需有机溶剂和试剂非常少(几纳升),特别适用于体积受限的样品^[17]。CE 可以分离各种分析物,从小的无机离子到大的蛋白质甚至是完整的细菌均可分离^[18]。

1.2 代谢组学检测技术

在检测技术中,最常用的是核磁共振(NMR),质谱(MS)和近红外光谱(NIR)。NMR 是代谢物指纹识别和分析研究中最常用的分析工具之一,其样品前处理简单且不会破坏组分,成本低,然而,它的主要缺点是灵敏度差和样品需求量大。相反,MS 具有高灵敏度和选择性,最大的优点是它可以对各种分子进行综合评估。MS 分析系统最常见的是直接输注质谱(DIMS),基质辅助激光解吸电离质谱(MALDI-MS)和解吸电喷雾电离(DESI)^[19]。最近,选择性离子流管质谱(SIFT-MS)已被引入食品分析^[20]。在 20 世纪 90 年代早期,红外光谱(IR)被引入作为表征和鉴定微生物的工具^[21]。傅里叶变换在红外光谱中的应用促进了傅里叶转换红外光谱(FTIR)技术的发展,该技术被迅速引入代谢组学程序组。后来,FTIR 被作为用于快速和非破坏性地分析大量不同产品的质量和成分的代谢组学指纹工具^[22]。

1.3 代谢组学联用技术

目前,代谢组学中使用的主要分析技术是联用技术,例如 GC,HPLC 和 CE 与 MS 偶联(分别为 GC-

MS,HPLC-MS 和 CE-MS)。GC-MS 提供高分辨率和可重复性,通过 GC-MS 制备代谢指纹的创新技术已经开发出来^[23]。HPLC-MS 是代谢组分析中最常用的联用方法,与 GC-MS 和 CE-MS 相比具有更高灵敏度,是非靶向代谢组分析的有用工具^[24]。NMR,FTIR 和 DIMS 因其高性能和最少的样品制备,已经用于代谢指纹识别,这归功于它们的高性能和最少的样品制备。然而,NMR 和 FTIR 的检测限高于基于 MS 的技术,其应用范围仅限于那些以高浓度存在的代谢物^[25]。

总之,没有一种单独的方法能够检测样品的所有代谢物,因此需要不同技术的组合以确保获得的结果是全面的。因此,在代谢组学中通常优选联用技术,使鉴定尽可能多的代谢物令其结果接近整个代谢组成为可能。

2 代谢组学在乳酸菌领域的应用

近几年,代谢组学在乳酸菌研究领域取得了很大进展和突破,比如乳酸菌的区分和鉴定,发酵工程以及肠道健康等方面。

2.1 通过代谢指纹区分和鉴定乳酸菌

由于生产实践的需要,人们要求鉴别及了解乳酸菌的特性,另外有些乳酸菌可能是人类或其他动物的致病菌,在生产利用中,可能会出现“敌我不分、认敌为友”的情况,因此这类乳酸菌的鉴定也至关重要。传统的乳酸菌分类鉴定方法多采用形态学观察和生化实验的表型分类法,但是传统方法很容易受到生长条件的影响,结果模糊或难以解释,乳酸菌的遗传本质很难反映^[26]。随着遗传学和分子生物学等学科的发展,全基因组测序、DNA 杂交、16SrRNA 基因测序以及聚合酶链式反应(PCR)技术等方法在乳酸菌分类上得到了广泛的应用,然而并不是所有菌株的基因型与表型都一致,分类结果可能会不同,并且技术价格相对昂贵,耗时费力,不适合常规鉴定^[27]。

寻找一种快速、有效的乳酸菌鉴别方法成为人们研究的热点,因此代谢谱分析方法(metabolic profiling)应运而生。代谢组学能够使用高通量分析方法(例如核磁共振光谱法)分析不同的生物系统,该方法能够对细胞代谢物进行有效和灵敏的鉴定,然后通过多元统计方法来鉴定受实验变量显著影响的代谢物^[28]。Gallegos 等^[29]利用气相色谱离子迁移谱联用技术(GC-IMS)检测乳酸菌中的挥发性代谢物,结合多变量分析技术(PCA),对四种乳酸菌进行

区分,该技术成本低,具有即时检测的优势,无需样品预处理或进行复杂的采样。Tomita 等^[30]利用基于核磁共振的代谢组学技术来区分乳酸菌的菌株依赖性发酵特性,并成功地区分了测试菌株的发酵特征,提供了可能影响发酵食品味道、香气、功能特性的特征代谢物的进一步信息,表明基于 NMR 的代谢组学鉴别可以作为一种用于从大样本集中筛选单个实验室菌株的快速、高通量的技术,并指示某个菌株及其代谢物可能对发酵食品质量产生的潜在影响。Yang 等^[31]利用基于液相色谱-三重四级杆质谱联用仪(LC-QQQ-MS)的靶向代谢组学技术结合非靶向代谢组学技术来区分四种乳酸杆菌(嗜酸乳杆菌,发酵乳杆菌,罗伊氏乳杆菌和德氏乳杆菌),多元统计结果表明,这四种乳酸杆菌在相同的营养环境中培养时显示出独特的代谢指纹,可以明显区分,表明代谢组学方法在快速鉴别人类健康相关细菌菌株方面具有巨大潜力。

尽管代谢组学显示出快速鉴别乳酸菌菌株的潜力,但其与传统乳酸菌鉴定方法和基因型技术不同,在乳酸菌分类学研究中未得到太多的验证和巩固,尚未得到充分探索,迄今为止关于代谢组学方法在乳酸菌鉴定和分型中的应用的信息很少^[32]。因为代谢组学的检测对象仅限于代谢物,无法深入到基因、蛋白层面,在某些乳酸菌的鉴定上确实存在很多局限,但代谢组学与传统鉴别方法、基因型技术和蛋白组学的组合有待成为乳酸菌分类鉴定的更全面更准确的方法,如 Foschi 等^[32]将基于 16S rRNA 的传统基因型方法、基于基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)的蛋白质组学方法及基于质子核磁共振(¹H-NMR)的代谢组学方法在乳酸菌分类和代谢表征方面进行了比较和结合,发现三种方法各有优势,代谢组学方法的优势在于可以将乳酸杆菌生物活性与分类学相关联,操作简单快速,成本低,三种方法的组合可以更全面地展示乳酸菌分类鉴定结果。然而,如何利用多组学方法更准确地实现乳酸菌的分类和鉴定,有待进一步探索。

2.2 乳酸菌发酵条件监测及工艺调整

乳酸菌在发酵过程中会有糖类、氨基酸、挥发性的醇、酮、有机酸、脂肪酸和抑菌物质等大量代谢物生成,根据代谢产物的变化可以为发酵的监控和优化提出指导意见,因此乳酸菌代谢产物的监测极为重要^[33]。代谢组学技术是一种高通量的快速检测方法,近年来,它已经被广泛地应用于乳酸菌发酵过

程中代谢物组分和菌落变化的监测、指导调控和预测发酵过程中的代谢物组分变化以及最终产品的感官和营养品质的评定和调节^[1]。

Piras 等^[34]利用¹H NMR 代谢组学技术结合物理化学方法和微生物学特征来研究原料乳酪的成熟过程,发现¹H NMR 与化学计量学相结合是奶酪代谢物指纹识别的有效工具,这些发现奠定了根据原产地保护(protected designation of origin, PDO)规范生产的 Fiore Sardo 干酪认证的代谢基础,可用于评估奶酪制造过程中的发酵过程,此外,结果表明可以进一步开发 NMR 代谢组学以评估 Fiore Sardo 干酪的真实性,特别是其对 PDO 规范的符合性。Settachaimongkon 等^[35]利用顶空固相微萃取-气质联用技术(SPME-GC / MS)和¹H-NMR 的代谢组学方法结合多元分析来研究在亚致死应激条件下预培养两种商业益生菌菌株(*Lactobacillus rhamnosus* GG 和 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12)对其在酸奶中的存活和代谢物形成的影响,结果表明,这两种菌株对亚致死盐和低 pH 胁迫条件的适应性反应不仅影响它们在酸奶生产期间的存活,而且还导致发酵代谢物组成的显著变化,该研究提供了关于在实际食物载体中应用适应性益生菌的新信息。Ferri 等^[36]利用代谢组学方法选择最佳的面粉-微生物菌种组合来改善谷物发酵食品的感官和功能特性,这是首例使用代谢组学方法将特定的挥发性分子组与发酵谷物中的抗氧化活性和多酚含量相关联,表明代谢组学可能是快速选择菌株/底物组合以同时增加风味和健康的重要工具。Zhao 等^[37]利用基于 GC-MS 的多标记分析筛选泡菜盐水的挥发性有机化合物,监测这些标记物在整个发酵过程中的变化,筛选出 13 种化合物作为泡菜盐水的判别性挥发性标记物,能良好地用于促进乳酸菌起子培养物的筛选和发酵优化,以生产更好感官品质的泡菜相关食物。Seo 等^[38]利用 GC-MS 结合多元统计分析研究泡菜在发酵过程中的代谢变化以及添加不同盐浓度(0%、1.25%、2.5% 和 5%)的泡菜的代谢差异,结果显示早期发酵速度和代谢物根据盐度不同而变化,其中 5% 盐度的泡菜具有更多的细菌多样性,结果表明了基于 GC-MS 的代谢组学在评估具有不同盐度的泡菜的发酵特性方面的适用性。Zhao 等^[39]利用基于 GC-MS 的代谢组学研究副干酪乳杆菌 HD1.7 (*Lactobacillus paracasei* HD 1.7) 作为起子对大白菜发酵过程中细菌群落和代谢组特征的影响,

结果表明与自然发酵相比,接种了副干酪乳杆菌的大白菜具有更短的发酵过程,更少的病原体和更丰富的风味,同时也显示副干酪乳杆菌 HD1.7 是其他蔬菜发酵过程中的理想起子。

此外,在乳酸菌发酵调控方面,代谢组学与其他组学的结合逐渐成为研究热点。Cretenet 等^[40]结合代谢组学、转录组学以及耗氧动力学,对乳酸乳球菌对奶酪生产过程中遇到的初始氧化应激的适应性提出了新的见解,发现在最初高水平的氧存在下,乳酸乳球菌显示出对氧化应激的早期和过渡性适应,这使细胞用于工业时能够维持非常重要的关键性状,例如快速酸化和降低生长培养基的氧化还原电位。Park 等^[41]将代谢组学和宏基因组学结合,研究了泡菜在发酵期间的代谢物和微生物群落的动态变化,确定了利用优势微生物和发酵液缩短泡菜发酵期的可能性。Liang 等^[42]联合利用代谢组学和蛋白组学综合研究了德氏乳杆菌对各种发酵条件的响应,揭示了显着相关的代谢模块、中枢代谢物以及差异蛋白表达谱,为进一步改善乳酸菌合成生产 D-乳酸提供理论指导。代谢组学和其他技术的联用可以涵盖乳酸菌代谢差异、基因表达或蛋白差异的多尺度分析,快速获取大量数据。

2.3 肠道益生菌功能评价

人体肠道内含有各种微生物,它们彼此相互作用以产生新的代谢物。益生菌可以与宿主的肠道微生物相互作用,以诱导有益于健康的微生物群组成的变化^[43],通常用作治疗肠道感染、肠道炎症和肠道过敏等疾病^[44]。然而,个体之间肠道微生物显着不同,并且它们产生的代谢物谱多变。因此,应以全面的角度评估益生菌、肠道微生物和代谢物之间的关系。近年来,运用各大组学技术探索益生菌对肠道的影响已成为了研究的热点。其中,代谢组学能够检测到益生菌作用下肠道代谢物的变化,更全面地解释乳酸菌代谢物对细胞因子表达的影响^[45]。

Chorell 等^[46]研究了食用益生菌后婴儿的血脂特征和代谢反应,将副干酪乳杆菌 LF19 (*Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* F19) 添加到提供给健康婴儿的谷物餐中,然后进行气相色谱-飞行时间质谱 (GC-TOF-MS) 分析以鉴定确定婴儿断奶期间食用益生菌对代谢产物的影响,在 LF19 处理的婴儿中,棕榈油酸(与内脏肥胖有关)的水平降低,腐胺(与肠道完整性有关)的水平增加。Shi 等^[47]利用二维气相色谱飞行时间质谱 (GC × GC-TOF MS) 结合化

学计量学数据分析,鉴定用或不用酒精喂养的小鼠中受益菌显著影响的代谢物,结果表明,鼠李糖乳杆菌可以通过增加肠道脂肪酸、减少肝脏脂肪酸和增加氨基酸浓度的机制来减轻酒精诱导的脂肪肝。Abdulkadir 等^[48]对摄入益生菌的婴儿患者的不同时期的粪便进行基因测序和代谢组学分析,发现益生菌物种成功地定殖早产肠道,减少潜在致病细菌的相对丰度,并影响肠道功能,表明治疗性施用的益生菌可能继续对婴儿早期的肠道微生物群落发挥重要的作用。Noorbakhsh 等^[49]在合生元(即益生菌加益生元)酸奶干预 4 周后,对 16 名健康人和 8 名腹泻型肠易激综合征 (diarrhea predominant irritable bowel syndrome, IBS-D) 患者的尿液和血清代谢物进行了基于 HNMR 的代谢组学研究,结果显示 IBS 引起一碳代谢的转变,这些改变可以通过合生元干预来逆转,在干预反应中也观察到粪便中乳杆菌数量的增加和 IBS-D 患者健康状况的改善。Mengxia 等^[50]通过¹H-NMR 光谱结合多变量分析对补充了益生菌的断奶大鼠的尿液和粪便代谢特征进行了分析,找出潜在的生物标志物和相关的代谢途径,研究发现补充嗜酸乳杆菌 NCFM (*Lactobacillus acidophilus* NCFM) 和乳双歧杆菌 Bi-07 (*Bifidobacterium lactis* Bi-07) 有助于促进断奶大鼠肠道微生物组的结构和功能成熟。Vemuri 等^[51]利用 GC-MS 的代谢组学结合基因测序技术来研究嗜酸乳杆菌 DDS-1 (*Lactobacillus acidophilus* DDS-1) 是否可以在肠道微生物受年龄影响而变化的条件下调节年轻和衰老的小鼠的宿主代谢表型,结果显示嗜酸乳杆菌 DDS-1 增加了有益菌的相对丰度,并降低机会性细菌如变形杆菌的相对水平,表明 DDS-1 对肠道微生物群的调节导致衰老小鼠代谢表型的改善,该研究突出了益生菌在确定和调节健康老化肠道中代谢特征中的关键作用,可以用作识别年轻人和老年人群中特定促进健康的代谢途径的参考。

综上所述,代谢组学是研究益生菌影响宿主健康状况的有效工具,能够很好地检测在益生菌作用下宿主微生物群的代谢反应。相对于基因组学、转录组学、蛋白组学,代谢组学在肠道益生方面的研究较少,还未充分挖掘。代谢组学与其他组学的整合应用将加速益生菌的更深入研究与开发。

3 问题与展望

目前代谢组学在乳酸菌研究领域中的应用主要集中在以下几个方面:(1)在乳酸菌的分类和鉴

定方面,采用靶向或非靶向技术结合多元统计分析,可以根据菌株独特的代谢指纹进行菌株筛选和鉴定,虽然没有得到太多的验证和巩固,但代谢组学因其检测方法的高效、高通量,在菌株筛选和鉴定方面有很大的发展潜力,有待进一步挖掘。(2)在乳酸菌发酵过程监测及工艺优化方面,应用最为广泛,常用于发酵乳制品、泡菜、发酵豆制品等食品加工过程中的监控与优化,便于人们掌握乳酸菌生理生化规律,为发酵工艺的调控和优化指明方向。(3)在肠道益生菌功能评价方面,代谢组学能够对乳酸菌作用下宿主微生物群的代谢进行高通量的检测,识别关键代谢途径或关键代谢物,为探索调控机制提供参考。

代谢组学作为一个新兴学科,也存在一些问题亟待解决。首先,因为代谢物的变化性和不稳定性,代谢组学分析对样本的数量和质量要求很高,因此样本采集相当重要,而目前样本的采集和处理仍处于探索阶段,很难建立一个统一的标准;其次,代谢组学数据复杂多样,如何从大量数据中提取所需信息是当前面临的一大挑战^[52]。另外,寻找代谢物中独特的生物标志物是研究热点,但寻找标志物并不是代谢组学研究的终极目标,深入挖掘其作用机理,解释生物标志物与乳酸菌发酵、益生作用等之间的关系是研究热点,也是难点。代谢组学虽然已经能在一定程度上进行生物学解释,但是在检测过程中很容易受到背景干扰,有时无法完整解释生物学过程,因此需要与其他组学的结合,以获得更全面的结果。代谢组学与其他技术(转录组学、蛋白组学、分子技术等)结合以进行多层次、多角度的生物学解释,是乳酸菌代谢组学分析技术发展的方向,随着其自身的完善与发展,代谢组学在乳酸菌研究领域有望发挥更大的作用。

参考文献

- 1 Mozzi F, et al. Metabolomics as a tool for the comprehensive understanding of fermented and functional foods with lactic acid bacteria[J]. Food Res Int, 2013, 54:1152-1161.
- 2 Yuan ZW, et al. Plasma metabolomics of angelica intervene in blood stasis syndrome rats[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2018, 30:559-567.
- 3 Nicholson JK, et al. Systems biology: metabonomics[J]. Nature, 2008, 455:1054-1056.
- 4 Bayram M, et al. Horizon scanning: how will metabolomics applications transform food science, bioengineering, and med-

- ical innovation in the current era of foodomics? [J]. OMICS, 2018, 22:177-183.
- 5 Castro Puyana M, et al. Application of mass spectrometry-based metabolomics approaches for food safety, quality and traceability[J]. Trac-Trend Anal Chem, 2017, 93:102-118.
- 6 Cappello T, et al. Food safety using NMR-based metabolomics: assessment of the Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, from the Mediterranean Sea [J]. Food Chem Toxicol, 2018, 115:391-397.
- 7 Bertram HC. Nutrimetabolomics: integrating metabolomics in nutrition to disentangle intake of animal-based foods [J]. Metabolomics, 2018, 14:34.
- 8 Oguro Y, et al. Metabolite profile of koji amazake and its lactic acid fermentation product by *Lactobacillus sakei* UONU-MA [J]. J Biosci Bioeng, 2017, 124:178-183.
- 9 Hu YX, et al. Novel bacteriocin produced by *Lactobacillus alimentarius* FM-MM 4 from a traditional Chinese fermented meat Nanx Wudl: purification, identification and antimicrobial characteristics [J]. Food Control, 2017, 77:290-297.
- 10 Wyszynska A, et al. Erratum to: lactic acid bacteria—20 years exploring their potential as live vectors for mucosal vaccination [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2015, 99:2967-2977.
- 11 Zhao D, et al. Applications of metabolomics in fermented food with lactic acid bacteria [J]. Chinese Agr Sci Bull(中国农学通报), 2014, 31:240-244.
- 12 Lim HS, et al. Development and validation of HPLC method for the determination of ferrocyanide ion in food grade salts [J]. Food Chem, 2018, 239:1167-1174.
- 13 Diao JY, et al. An integrated strategy to qualitatively differentiate components of raw and processed viticis fructus based on NIR, HPLC and UPLC-MS analysis [J]. Planta Med, 2018, 84:1280-1291.
- 14 Chaparro JM, et al. Metabolomics and ionomics of potato tuber reveals an influence of cultivar and market class on human nutrients and bioactive compounds [J]. Front Nutr, 2018, 5:36.
- 15 Hu WJ, et al. UPLC-QTOF-MS metabolomics analysis revealed the contributions of metabolites to the pathogenesis of *Rhizoctonia solani* strain AG-1-IA [J]. PLoS One, 2018, 13:0192486.
- 16 Pinu F, et al. Rapid quantification of major volatile metabolites in fermented food and beverages using gas chromatography-mass spectrometry [J]. Metabolites, 2017, 7:37.
- 17 Zhang W, et al. Utility of sheathless capillary electrophoresis-mass spectrometry for metabolic profiling of limited sample amounts [J]. J Chromatogr B, 2019, 1105:10-14.

- 18 Voeten RLC, et al. Capillary electrophoresis; trends and recent advances[J]. *Anal Chem*, 2018, 90:1464-1481.
- 19 Dunn WB, et al. Mass spectrometry and metabolomics; past, present and future[J]. *Metabolomics*, 2013, 9:S1-S3.
- 20 Carrapiso AI, et al. SIFT-MS analysis of Iberian hams from pigs reared under different conditions[J]. *Meat Sci*, 2015, 104:8-13.
- 21 Helm D, et al. Classification and identification of bacteria by Fourier-transform infrared spectroscopy[J]. *J Gen Microbiol*, 1991, 137:69-79.
- 22 Colabella C, et al. Merging FT-IR and NGS for simultaneous phenotypic and genotypic identification of pathogenic *Candida* species[J]. *PLoS One*, 2017, 12:0188104.
- 23 Han XJ, et al. Metabolic fingerprinting analysis of *Zygosaccharomyces rouxii* under sugar stress[J]. *Food Sci(食品科学)*, 2018, 39:167-173.
- 24 Xiao C, et al. Revealing Metabolomic variations in cortex moutan from different root parts using HPLC-MS method[J]. *Phytochem Anal*, 2015, 26:86-93.
- 25 Koek MM, et al. Quantitative metabolomics based on gas chromatography mass spectrometry; status and perspectives[J]. *Metabolomics*, 2011, 7:307-328.
- 26 Adesulu-Dahunsi AT, et al. Rapid differentiation among *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Weissella* species from some Nigerian indigenous fermented foods[J]. *LWT*, 2017, 77:39-44.
- 27 Marta D, et al. Identification of lactobacilli isolated from food by genotypic methods and MALDI-TOF MS[J]. *Int J Food Microbiol*, 2012, 159:107-114.
- 28 Chen L, et al. Metabolomic analysis of energy regulated germination and sprouting of organic mung bean(*vigna radiata*) using NMR spectroscopy[J]. *Food Chem*, 2019, 286:87-97.
- 29 Gallegos J, et al. Target identification of volatile metabolites to allow the differentiation of lactic acid bacteria by gas chromatography-ion mobility spectrometry[J]. *Food Chem*, 2017, 220:362-370.
- 30 Tomita S, et al. Rapid discrimination of strain-dependent fermentation characteristics among *Lactobacillus* strains by NMR-based metabolomics of fermented vegetable juice[J]. *PLoS One*, 2017, 12:0182229.
- 31 Yang K, et al. Rapid differentiation of *Lactobacillus* species via metabolic profiling[J]. *J Microbiol Methods*, 2018, 154:147-155.
- 32 Foschi C, et al. Novel approaches for the taxonomic and metabolic characterization of lactobacilli; integration of 16S rRNA gene sequencing with MALDI-TOF MS and ¹H NMR[J]. *PLoS One*, 2017, 12:0172483.
- 33 Wang YN, et al. Application of metabolomics in fermented and functional food with Lactic acid bacteria[J]. *China Dairy Ind(中国乳品工业)*, 2017, 45:27-31.
- 34 Piras C, et al. A NMR metabolomics study of the ripening process of the Fiore Sardo cheese produced with autochthonous adjunct cultures[J]. *Food Chem*, 2013, 141:2137-2147.
- 35 Settachaimongkon S, et al. Effect of sublethal preculturing on the survival of probiotics and metabolite formation in set-yoghurt[J]. *Food Microbiol*, 2015, 49:104-115.
- 36 Ferri M, et al. Improving the functional and sensorial profile of cereal-based fermented foods by selecting *Lactobacillus plantarum* strains via a metabolomics approach[J]. *Food Res Int*, 2016, 89:1095-1105.
- 37 Zhao N, et al. Multiple roles of lactic acid bacteria microflora in the formation of marker flavour compounds in traditional Chinese paocai[J]. *RSC Adv*, 2016, 6:89671-89678.
- 38 Seo SH, et al. A GC-MS based metabolomics approach to determine the effect of salinity on Kimchi[J]. *Food Res Int*, 2018, 105:492-498.
- 39 Zhao D, et al. *Lactobacillus paracasei* HD 1.7 used as a starter modulates the bacterial community and metabolome profile during fermentation of Chinese cabbage[J]. *Lett Appl Microbiol*, 2018, 67:411-419.
- 40 Cretenet M, et al. Early adaptation to oxygen is key to the industrially important traits of *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* during milk fermentation[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15:1-15.
- 41 Park SE, et al. Changes of microbial community and metabolite in kimchi inoculated with different microbial community starters[J]. *Food Chem*, 2019, 274:558-565.
- 42 Liang SX, et al. Metabolomic and proteomic analysis of D-lactate-producing *Lactobacillus delbrueckii* under various fermentation conditions[J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2018, 45:681-696.
- 43 Long CX, et al. Effects of *Dendrobium candidum* polysaccharide on immunity, intestinal microbiota and enzyme activity in mice with spleen deficiency constipation[J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2017, 29:1020-1024.
- 44 Bajaj BK, et al. Probiotic attributes of the newly isolated lactic acid bacteria from infants' gut[J]. *J Microb Biot Food Sci*, 2017, 5:109-115.
- 45 Xi XM, et al. Progress in microbial metabolomics and its application[J]. *Food Sci(食品科学)* 2016, 37:283-289.
- 46 Chorell E, et al. Impact of probiotic feeding during weaning on the serum lipid profile and plasma metabolome in infants[J]. *Br J Nutr*, 2013, 110:116-126.