尤旭升, 李兴江, 叶剑, 等. 乳酸菌发酵砀山酥梨汁差异代谢物的鉴定及其关键代谢途径研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(7): 1−9. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040252
YOU Xusheng, LI Xingjiang, YE Jian, et al. Identification of Differential Metabolites in Lactic Acid Bacteria-Fermented Dangshan Pear Juice and Study of Key Metabolic Pathways[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(7): 1−9. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040252

·特邀主编专栏—地方特色食品:加工技术、感官品质、风味特性和营养健康（客座主编:易俊洁、和劲松、郭超凡）·

乳酸菌发酵砀山酥梨汁差异代谢物的鉴定及其关键代谢途径研究

尤旭升[1], 李兴江[2], 叶　剑[2], 吴学凤[2,*]
（1.桐城市科技创新服务中心, 桐城企业服务中心, 桐城创新研究院, 安徽桐城 231400;
2.合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽省发酵食品工程研究中心, 安徽合肥 230601）

摘　要: 为了深入分析乳酸菌发酵砀山酥梨汁过程中营养物质变化情况，本研究采用超高效液相色谱-质谱联用技术（UPLC-MS）分析了植物乳杆菌（*Lactobacillus plantarum*）和嗜酸乳杆菌（*Lactobacillus acidophilus*）混合发酵砀山酥梨汁过程中的代谢组学变化。感官评定结果显示发酵梨汁酸味、甜味更加平衡，香气更加丰富。主成分分析（PCA）结果显示，所有样品可明显分为三类。代谢组学分析共鉴定出 80 种差异代谢物，主要包括氨基酸类、肽类、糖类及有机酸类化合物。KEGG 通路富集分析表明，这些差异代谢物主要参与苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸代谢、淀粉与蔗糖代谢、果糖与甘露糖代谢、谷胱甘肽代谢、精氨酸代谢以及三羧酸循环和丙酮酸代谢等关键代谢途径。研究结果表明，乳酸菌发酵可显著改变梨汁中代谢物组成，从而改善其营养价值。本研究为砀山酥梨发酵饮料的工业化生产提供了理论依据和技术支持。

关键词: 梨汁, 代谢组学, 发酵, 乳酸菌
中图分类号: TS255.7　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)07−0001−09
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040252
本文网刊:

Identification of Differential Metabolites in Lactic Acid Bacteria-Fermented Dangshan Pear Juice and Study of Key Metabolic Pathways

YOU Xusheng[1], LI Xingjiang[2], YE Jian[2], WU Xuefeng[2,*]
（1.Tongcheng Science and Technology Innovation Service Center, Tongcheng Enterprise Service Center, Tongcheng Innovation Research Institute, Tongcheng 231400, China;
2.Anhui Fermented Food Engineering Research Center, School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China）

Abstract: In order to deeply analyze the changing situation of nutrients during the fermentation of Dangshan pear juice by lactic acid bacteria, in this study, the ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS) was used to analyze the metabolomics changes during the mixed fermentation of Dangshan pear juice by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus*. The sensory evaluation results indicated that the fermented pear juice exhibited a better balanced sourness and sweetness, along with a more complex aroma profile. The principal component analysis (PCA) results indicated that all samples could be clearly classified into three categories. A total of 80 differential metabolites were

收稿日期: 2025−04−20
基金项目: 安徽省自然科学基金项目（2308085MC112）; 桐城市揭榜挂帅项目（JZ2023YDZJ0311）。
作者简介: 尤旭升（1972−）, 男, 本科, 研究方向: 自然科学, E-mail: 58184695@qq.com。
*** 通信作者:** 吴学凤（1981−）, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品发酵工程及农产品副产物综合利用, E-mail: wuxuefeng@hfut.edu.cn。

identified through metabolomics analysis, mainly including amino acids, peptides, sugars and organic acids. The results by KEGG pathway enrichment analysis indicated that these differential metabolites were mainly involved in some key metabolic pathways such as phenylalanine, tyrosine and tryptophan metabolism, starch and sucrose metabolism, fructose and mannose metabolism, glutathione metabolism, arginine metabolism, as well as the tricarboxylic acid cycle and pyruvate metabolism. The research results showed that lactic acid bacteria fermentation could significantly change the composition of metabolites in pear juice, promoting the biodegradation of complex macromolecular substances, thereby improving its nutrition and functional properties. This study provides a theoretical basis and technical support for the industrial production of fermented beverages from Dangshan sweet pears.

Key words: pear juice; metabolomics; fermentation; lactic acid bacteria

梨属于蔷薇科苹果亚科梨属植物，因其果肉脆嫩，高含糖量和低酸性，被誉为“功能食品”，其温和的风味深受人们喜爱[1−2]。砀山酥梨主要产自安徽省宿州市砀山县，是中国国家地理标志产品，地方特色食品。其产量丰富，以其果实较大，表皮金黄，果肉翠绿，口感甜润、汁液甘甜且不腻而闻名。砀山酥梨富含糖、蛋白质、有机酸及多种维生素，具有极高的营养价值，且具有生津止渴、润肠通肺的作用[3−4]。但由于其果肉中存在石细胞，导致其直接食用颗粒感明显，在一定程度上削弱了它的口感品质[5]。因此，通过深加工制备梨汁成为提升其附加值的有效途径。

近年来，微生物发酵技术为梨汁品质改良提供了新思路。乳酸菌因其安全性和益生特性成为首选发酵菌种[6]。如 Li 等[7] 利用嗜酸乳杆菌发酵梨汁，发现可以显著改善梨汁的酶促褐变情况，发酵后梨汁的褐变程度和色差均显著降低，自由基清除能力显著提升。陈清爱等[8] 利用植物乳杆菌发酵砀山梨汁发现发酵过程中梨汁风味物质的种类及含量不断变化，其中发酵 48 h 时风味物质种类最丰富，发酵有效改善了梨汁的感官品质。特别值得注意的是，混菌发酵梨汁展现出了一定的协同效应。如 Roberts 等[9] 发现植物乳杆菌和干酪乳杆菌混合发酵梨汁的抗氧化能力最强，混菌培养中酸类和萜烯类化合物较多。仝文玲[10] 筛选了副干酪乳杆菌以及保加利亚乳杆菌作为梨汁的发酵菌种，通过工艺优化确定了混菌发酵的接种参数，且混菌发酵梨汁的乳酸含量、抗氧化活性、抑菌活性均升高。然而，现有研究多聚焦于发酵终产物的特性分析，对动态发酵过程中的代谢调控机制仍缺乏系统认知。因此，有必要进行梨汁发酵全过程的动态研究，以构建更精确的动态代谢网络模型，从而精准控制发酵过程，提高目标产物的得率和生产效率。

本研究采用超高效液相色谱-质谱联用技术（UPLC-MS），对植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌混合发酵砀山酥梨汁的全过程进行非靶向代谢组学分析。对各发酵阶段的差异代谢物进行相关性分析，明确梨汁发酵代谢通路的变化并探索代谢物与发酵梨汁品质的相互联系。为益生菌发酵梨汁产品的产业化生产提供理论基础，并为拓宽酥梨产品种类提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜且成熟度较好（软硬适中）的砀山酥梨（金盖酥） 安徽梨多宝生物科技股份有限公司（于 2023 年 9 月采集于中国安徽省砀山县）；甲醇、乙腈 色谱纯，上海源叶生物科技有限公司；蔗糖 上海阿拉丁生化科技股份有限公司；植物乳杆菌（*Lactobacillus plantarum*, LP）、嗜酸乳杆菌（*Lactobacillus acidophilus*, LA） 中国工业微生物菌种保藏管理中心（CICC）；MRS 液体培养基和固体培养基 北京索莱宝科技有限公司。

Vanquish Q Exactive Plus 液相色谱-四级杆静电场轨道阱质谱联用仪 赛默飞世尔科技公司；HPX-9052ME 恒温培养箱 上海恒克仪器有限公司；LDZX-50KBS 高压灭菌锅 上海申安医疗器械厂；ZHJH-C1112B 超净工作台 上海智城分析仪器制造有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 梨汁的发酵 菌种活化：用接种环挑取冷冻的乳酸菌于固体 MRS 培养基的平板中划线，37 ℃ 倒置培养 18 h，从平板中挑取生长良好且无污染的单菌落，放入液体 MRS 培养基，再于 37 ℃ 静置培养 24 h。将活化好的菌种按 5% 的接种量接种至已灭菌的固体 MRS 培养基，于 37 ℃ 静置培养 6 h 后测定 OD_{600} 的吸光度，直至吸光度值为 0.6±0.01 可进行接种发酵。发酵液的调制[11−12]：选择大小适中，无腐烂发霉的酥梨，利用榨汁机去皮打浆得梨汁，添加蔗糖将梨汁调整糖度为 20 °Brix，并分装 100 mL 于 250 mL 三角瓶中，于 121 ℃ 灭菌 30 min，冷却至室温后使用。接种：按比例 1∶1 同时接种植物乳杆菌（2×10^6 CFU/mL）和嗜酸乳杆菌（2×10^6 CFU/mL），进行混菌发酵，于 37 ℃ 恒温培养箱中培养 5 d，分别于第 1、2、3、4、5 d 进行取样，将取得的发酵液在 65 ℃ 灭菌 30 min，并将不添加菌种发酵的梨汁作空白对照（CK）。根据不同的发酵时间将发酵液样品分别命名为 PA1、PA2、PA3、PA4、PA5。

1.2.2 梨汁的感官评价 感官评价由 20 名经过培训的评估小组完成（10 名女性和 10 名男性，平均年龄 30 岁，所有小组成员在发酵食品相关领域都有超过 5 年的经验）。在整个感官分析过程中，样品在标准

感官室中进行评估，具有白光、受控气流和 20~25 ℃的室温。分别从香气(0~30 分)、口感(0~30 分)、色泽(0~20 分)、质地(0~20 分)四个方面进行评估[8]。

1.2.3　UPLC-MS 测定代谢物　样品前处理[13−14]：将发酵样品和未发酵梨汁于 4 ℃下缓慢解冻，并将甲醇、乙腈溶液置于冰箱冷藏 2 h。将冷藏后的甲醇、乙腈、水以 2∶2∶1(v/v)加入至 1 mL 样品中，涡旋混合，低温超声 30 min，−20 ℃静置 10 min，在−4 ℃，10000 r/min 的条件下离心 20 min，取上清液真空干燥，上机前加入 100 μL 乙腈水溶液(1∶1，v/v)复溶，涡旋，离心 15 min，取上清液过 0.22 μm 的滤膜后上机检测。质控样本(QC)是将所有待测样本等体积混合制备，以检查仪器的稳定性。

色谱分析条件：色谱柱：ACQUITY UPLC HSS T3(100 mm×2.1 mm，1.8 μm)；柱温：25 ℃；流速：0.5 mL/min；进样量：2 μL；流动相 A：水+25 mmol/L 乙酸铵+25 mmol/L 氨水(1∶1∶1，v/v)；流动相 B：乙腈。梯度洗脱程序见表 1。

表 1　梯度洗脱程序
Table 1　Elution gradient program

时间(min)	流动相A(%)	流动相B(%)
0~0.5	5	95
0.5~7.0	35	65
7.0~8.0	60	40
8.0~9.0	60	40
9.0~9.1	5	95
9.1~12.0	5	95

质谱分析条件：样品质谱信号采集分别采用正负离子扫描模式，电喷雾毛细管电压和碰撞电压分别为：5500 V、35 eV。加热温度和毛细管温度分别为：450 ℃和 325 ℃，鞘气流速 40 Arb，质谱扫描范围：60~1000(m/z)，全 MS 分辨率为：17500。

化合物的分析与鉴别：原始数据经 Proteo Wizard 软件成功转换成 MzML 格式后，利用 XCMS 程序进一步处理，主要进行峰对齐、保留时间校正和峰面积的精确提取。随后，为了对 XCMS 提取到的数据进行定性分析，主要使用 PMDB 数据库。在定性之前，首先对数据的完整性进行检查，剔除组内缺失值超过 50% 的代谢物，并对缺失值进行合理替换，同时删除数据中的极值，确保数据的准确性和可靠性。最后对数据进行总峰面积的归一化，确保各样本和代谢物间能进行平行性比较。采用相似度评分≥70% 及二级谱图验证筛选高置信度结果。根据 Metabolomics Standards Initiative 标准划分置信度等级(Level 1-2)，并结合砀山酥梨的生物学背景排除不合理代谢物，最终获得可靠差异化合物列表用于后续分析。

1.3　数据处理

所有试验均平行三次，其结果以平均值±标准差表示。使用 MetaboAnalyst 平台对选定的化合物进行可视化和多变量统计分析。首先通过主成分分析(PCA)对数据进行系统全面的剖析。为进一步确定组间存在显著差异的代谢物，采用预测变量重要性 VIP>1 结合 t 检验的结果进行筛选。随后将差异代谢物在 KEGG 数据库中进行代谢途径分析，并对关键代谢途径进行富集分析，绘制相关代谢通路图。

2　结果与分析

2.1　发酵梨汁的感官评定

基于人的嗅觉、视觉、味觉等对发酵梨汁进行感官评价，从而判断梨汁色泽、风味、口感、质地等，进而全方面分析梨汁的品质。本研究通过将未发酵梨汁(CK)与乳酸菌混菌发酵梨汁的第 1、2、3、4、5 d 进行感官分析比较，结果如表 2 所示。可以得出如下结论：发酵梨汁总分高于未发酵的梨汁，且发酵 5 d 的梨汁感官评价总分达到了 87.13 分；香气方面，发酵梨汁得分都高于未发酵梨汁；口感方面，发酵梨汁第 5 d 高达 26.16 分，发酵前的梨汁口感单一，得分为 15.99 分。发酵后梨汁酸味、甜味更加平衡，香气更加丰富，且色泽更加澄明；质地方面，乳酸菌发酵后的梨汁比 CK 组更好。综上，混菌发酵梨汁的品质更优。

表 2　感官评价结果
Table 2　Sensory evaluation result

组别	各项评价得分				总分(0~100分)
	香气(0~30分)	口感(0~30分)	色泽(0~20分)	质地(0~20分)	
CK	18.41	15.99	10.09	10.24	54.73
PA1	20.01	18.92	12.34	11.11	62.38
PA2	20.89	24.20	13.98	12.09	71.16
PA3	22.67	23.93	14.66	12.98	74.24
PA4	21.65	22.84	15.99	14.01	74.49
PA5	25.98	26.16	18.80	16.19	87.13

2.2　梨汁发酵过程中代谢物的 PCA

PCA 作为一种无监督降维方法，不依赖于不同发酵组的信息，能真实地反映数据的原始状态，有助于从整体上全面把握数据的特点。通过对代谢物进行 PCA，不仅可以从总体上揭示样本组间的差异以及组内的变异程度，还能清晰地观察到样本间的分布趋势[15]。采用 PCA 对 LP 与 LA 混合发酵的梨汁进行差异性分析，如图 1 所示，PC1(76.1%)和 PC2(9%)共同解释了总方差的 85.1%，这说明不同发酵时间的梨汁之间都可以较好地区分，并且可以进行代谢物的生物信息学分析。从图中可以看出同组的平行样本聚集在一起，表明样本分析的稳定性和重复性较好。通过 PC1 可以观察到 CK 和发酵样品之间显著分离，表明发酵可以显著改善梨汁的代谢物。发酵第 2 d 至第 5 d 的样品相对接近，表明随着时间的推移，代谢物的组成趋于相似，并且不同发酵时间明显聚为三类。因此可以将梨汁发酵分为三个阶段，PJ1(CK)、PJ2(PA1)、PJ3(PA2~PA5)。

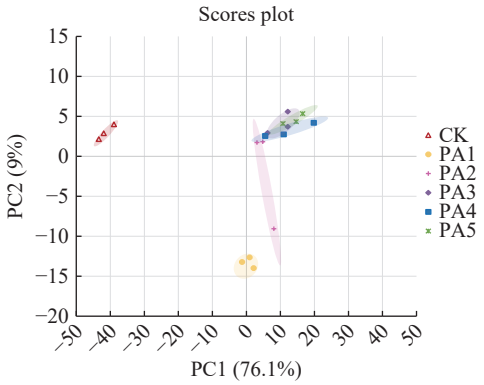


图 1　混菌发酵梨汁过程中 PCA

Fig.1　PCA during mixed culture fermentation of pear juice

2.3　梨汁发酵过程中差异代谢物的筛选与分析

2.3.1　梨汁发酵不同阶段的 OPLS-DA　为了对不同阶段梨汁的差异代谢物进行筛选，对 PJ1、PJ2、PJ3 三个阶段的样本进行两两对比的 OPLS-DA，如图 2A~C 所示，不同发酵阶段的样本点均分为左右两簇，均呈现出较好的分离效果。如图 2D~F 中可以看出，三组模型对 X 矩阵的解释率（R^2X）分别为 0.737、0.491 及 0.151，对 Y 矩阵的解释率（R^2Y）分别为 0.999、0.997、0.925，三组模型预测能力（Q^2）均大于 0.5，接近 1，表明三组模型的拟合度较高，模型预测准确性较高。

2.3.2　梨汁发酵过程中差异代谢物的筛选　基于 OPLS-DA 的结果，以 VIP>1，P<0.05，|FC|>4 作为筛选差异代谢物的指标，分别绘制三组火山图，如图 3 所示，PJ2 vs PJ1 共筛选到 737 种差异代谢产物，其中 603 种上调，134 种下调；PJ3 vs PJ1 共筛选到 702 种差异代谢物，其中 541 种上调，161 种下调；PJ3 vs PJ2 共筛选到 260 种差异代谢物，其中 142 种上调，118 种下调。

对检测到的数据进行 $\log_2$ 处理后，结合 HDMB 数据库，在有机酸及其衍生物、苯基丙类化合物、核

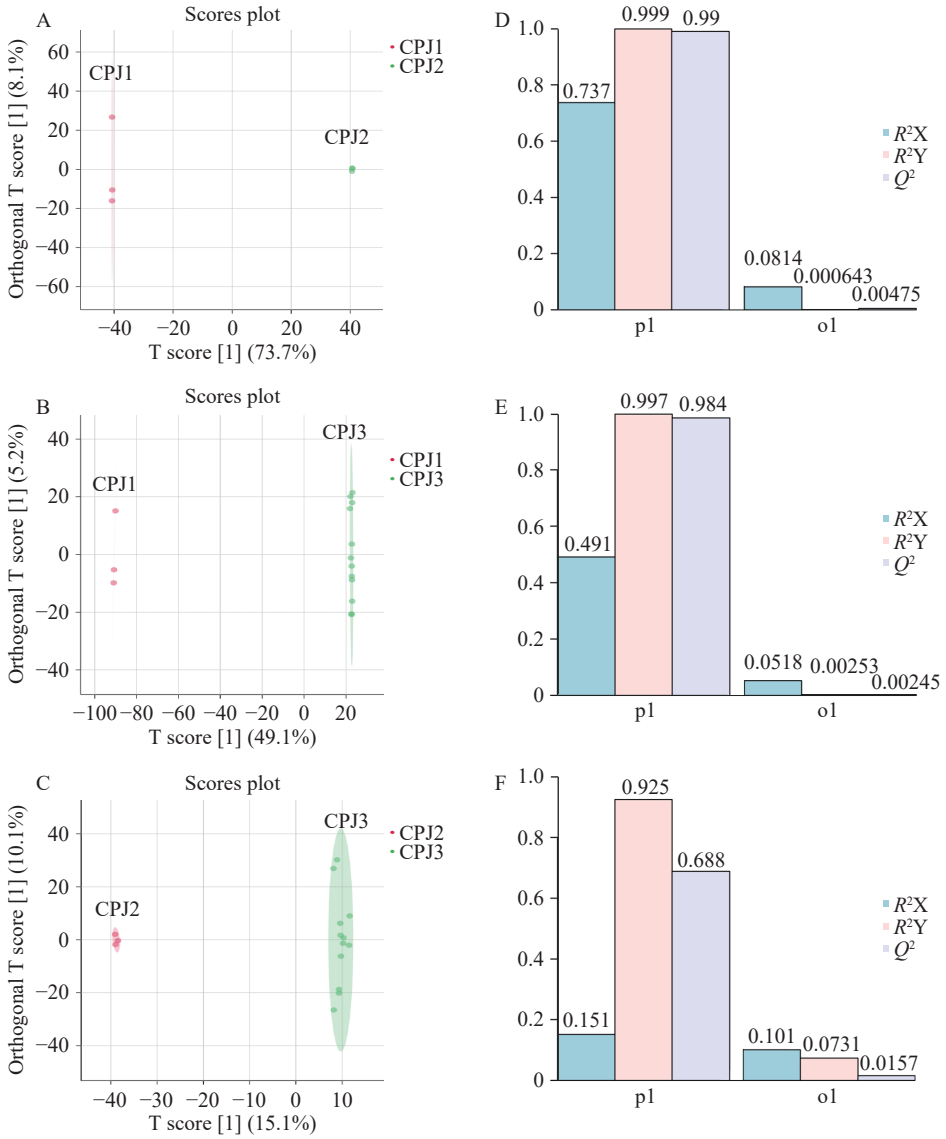


图 2　混菌发酵梨汁不同阶段的 OPLS-DA 得分图及其验证模型

Fig.2　OPLS-DA score plot and its verification model of mixed fermentation of pear juice at different stages

注：A~C：OPLS-DA 得分图；D~F：交叉验证图；p1：主成分；o1：正交成分。

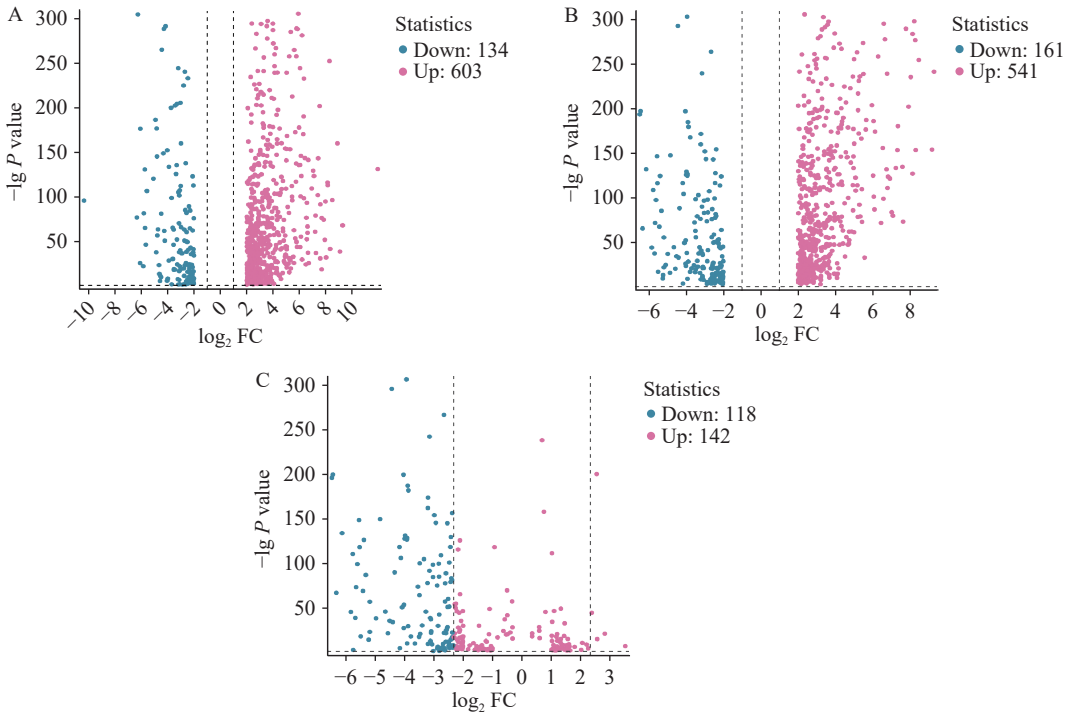


图 3　混菌发酵梨汁不同阶段的差异代谢物火山图

Fig.3　Volcano plot of differential metabolites at different stages of mixed fermentation of pear juice

注：A 图为 PJ2 vs PJ1，B 图为 PJ3 vs PJ1，C 图为 PJ3 vs PJ2。

苷酸及其类似物、有机氮化合物中对混菌发酵梨汁的过程进行差异代谢物的筛选（VIP>1，P<0.05），部分差异代谢产物见表 3。从表中可知，整个发酵过程共检测到 80 种差异代谢物，包括氨基酸及其衍生物、类黄酮化合物、多酚及其衍生物、糖脂类、有机杂环分子、碳水化合物、肉桂酸及其衍生物等。这些差异代谢物通过不同的代谢途径，参与了发酵过程中微生物的生长、代谢、产物合成等多个方面，不仅影响了发酵的过程，还可能决定了最终发酵产品的营养成分、风味、口感以及保质期[16]。

表 3　差异代谢物筛选

Table 3　Screening of differential metabolites

化合物	分子式	VIP	化合物	分子式	VIP
1-羟基-2-萘甲酸	$C_{11}H_8O_3$	28.309	3,5-二羟基-3-甲基戊酸	$C_6H_{12}O_4$	1.8207
乳酸己酯	$C_9H_{18}O_3$	27.666	精氨酰组氨酸	$C_{14}H_{26}N_6O_4$	1.8138
蔗糖	$C_{12}H_{22}O_{11}$	26.515	绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	1.7982
儿茶素	$C_{15}H_{14}O_6$	16.313	甜菜碱	$C_5H_{11}NO_2$	1.7881
山梨醇	$C_6H_{14}O_6$	16.623	异欧前胡素	$C_{16}H_{14}O_4$	1.7194
肌醇半乳糖苷	$C_{12}H_{22}O_{11}$	12.392	泽兰林素	$C_{18}H_{16}O_7$	1.6858
苯基乳酸	$C_9H_{10}O_3$	11.881	D-阿洛酮糖	$C_6H_{12}O_6$	1.6792
松二糖	$C_{12}H_{22}O_{11}$	8.6753	异麦芽酮糖	$C_{12}H_{22}O_{11}$	1.6528
戊二酰甘氨酸	$C_7H_{11}NO_5$	7.7705	D-鸟氨酸	$C_5H_{12}N_2O_2$	1.5769
3-苯丙酰甘氨酸	$C_{11}H_{13}NO_3$	6.2832	N-油酰天冬酰胺	$C_{22}H_{40}N_2O_4$	1.5477
海藻糖	$C_{12}H_{22}O_{11}$	5.8843	D-木糖	$C_5H_{10}O_5$	1.4549
熊果苷	$C_{12}H_{16}O_7$	4.8405	棕榈酸	$C_{16}H_{32}O_2$	1.4258
棉酚	$C_{30}H_{30}O_8$	4.9891	积雪草苷	$C_{15}H_{20}O_9$	1.4167
D-果糖	$C_6H_{12}O_6$	4.3536	环匹阿尼酸	$C_{20}H_{19}N_2O_3$	1.4166
L-焦谷氨酸	$C_5H_7NO_3$	4.2633	香草基扁桃酸	$C_9H_{10}O_5$	1.4164
苯锈啶	$C_{19}H_{31}N$	4.0459	N-乙酰-5-羟色胺	$C_{12}H_{14}N_2O_2$	1.4113
D-甘露糖	$C_6H_{12}O_6$	3.5133	芥酸酰胺	$C_{22}H_{43}NO$	1.3949
6-磷酸葡萄糖酸三钠	$C_6H_{10}Na_3O_{10}P$	3.2634	青蒿素A	$C_{13}H_{18}O_2$	1.3784
龙胆苦苷	$C_{16}H_{20}O_9$	3.2516	乙二醇	$C_2H_6O_2$	1.3469
山姜素	$C_{16}H_{14}O_4$	3.1284	十一烷基甘氨酸	$C_{13}H_{25}NO_3$	1.2984
6-羟基己酸丁酯	$C_{10}H_{20}O_3$	3.1063	D-苏糖醇	$C_4H_{10}O_4$	1.2813
富马酸	$C_4H_4O_4$	3.0595	蛋氨酸	$C_5H_{11}NO_2S$	1.2801
苏氨酸-羟脯氨酸	$C_9H_{16}N_2O_5$	2.9794	反-3,5-二甲氧基-4-羟基肉桂	$C_{11}H_{12}O_4$	1.2763
二酚葡糖苷酸	$C_{12}H_{14}O_8$	2.9372	维生素BT	$C_7H_{15}NO_3$	1.2714

续表 3

化合物	分子式	VIP	化合物	分子式	VIP
D-半乳糖苷	$C_6H_{13}NO_5$	2.911	苯丙氨酰丙氨酸	$C_{12}H_{16}N_2O_3$	1.2613
表没食子儿茶素	$C_{15}H_{14}O_7$	2.8764	异亮氨酰-亮氨酸	$C_{13}H_{26}N_2O_3$	1.2512
野黑樱苷	$C_{14}H_{17}NO_6$	2.8179	肉豆蔻酸	$C_{14}H_{28}O_2$	1.2284
3,4-二羟基苯乳酸	$C_9H_{10}O_5$	2.7216	3-羟基亚油酸	$C_8H_{14}O_5$	1.1977
双苷氨肽	$C_4H_8N_2O_3$	2.6576	苹果酸	$C_4H_6O_5$	1.194
甲基吡喃己糖苷酸	$C_{23}H_{25}ClO_{10}$	2.5939	苯甲酰(2-羟基苯酰)甲烷	$C_{15}H_{12}O_3$	1.1859
L-精氨酸	$C_6H_{14}N_4O_2$	2.4436	5-氨基戊酸	$C_5H_{11}NO_2$	1.1744
乳糖-6-磷酸酯	$C_{12}H_{23}O_{14}P$	2.3548	对水杨酸	$C_7H_6O_3$	1.1553
姜黄素	$C_{21}H_{20}O_6$	2.1761	脯氨酸	$C_5H_9NO_2$	1.1539
4-(4-氨基苯氧基)苯胺	$C_{12}H_{12}N_2O$	2.159	腺苷	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	1.1524
D-葡糖胺-6-磷酸	$C_6H_{14}NO_8P$	2.0169	2,4-二羟基喹啉	$C_9H_7NO_2$	1.1489
植物鞘胺醇	$C_{18}H_{39}NO_3$	1.8629	3-氨基丙腈	$C_3H_6N_2$	1.1474
L-阿拉伯糖酸-1,4-内酯	$C_5H_8O_5$	1.8547	对仲丁基苯酚	$C_{10}H_{14}O$	1.1437
2-氨基-1-苯乙醇	$C_8H_{11}NO$	1.8501	烟酰胺	$C_6H_6N_2O$	1.1297
甘油茶碱	$C_{10}H_{14}N_4O_4$	1.8402	牛磺胆酸钠	$C_{26}H_{44}NNaO_7S$	1.1149
磷脂酰乙醇胺	$C_{41}H_{78}NO_8P$	1.832	苯丙氨酸	$C_9H_{11}NO_2$	1.1054

2.3.3　梨汁发酵过程中差异代谢物的分析　图 4 热图使梨汁发酵过程中差异代谢物之间的成对相关性可视化。梨汁在 LP 与 LA 的作用下产生与糖、氨基酸、有机酸、脂肪酸、多酚黄酮、核苷酸及其衍生物等代谢相关物质，这些化合物对发酵后梨汁的口感及品质至关重要[16−17]。总的来说，从热图上可观察到，差异代谢物随着发酵时间的变化可以分为三个部分。

C 区中差异代谢物主要富集在 CK 组，即发酵 0 d，主要包括 D-阿洛酮糖、半乳糖胺、L-苹果酸、D-果糖、D-木糖、蔗糖、海藻糖-6-磷酸和 D-松二糖等物质，这些物质主要为糖类及其衍生物，在开始发酵后含量下降，表明这些物质主要来自于原料梨汁中，而不是乳酸菌产生的代谢物。A 区中差异代谢物主要集中在 PA2~PA5 组，植物鞘氨醇、3-苯基乳酸、羟基苯乳酸、戊二酰甘氨酸、脯氨酸等物质在该阶段含量较高。鞘氨醇是植物组织脂质提取物中主要的游离长链碱，具有抗氧化及抗菌的作用[18]。L-精氨酸通过代谢释放的氨能中和发酵过程中的酸性环境，稳定 pH，因此对乳酸菌发酵具有一定促进作用[19]。而脯氨酸是饮料中的重要呈味氨基酸，可以增加鲜甜感和风味复杂性[20]。通过以上分析可知，在未发酵阶段，梨汁主要由糖类组成；口感比较单一，香气不够丰富。在乳酸菌发酵阶段，主要是酸类物质、氨基酸及其衍生物以及核苷酸及其类似物的积累。其中有机酸及其衍生物的增加对发酵产品的风味和保存特性有至关重要的作用[21]，因此乳酸菌发酵能改变代谢物的组成及其丰度，梨汁的风味和品质都得到了显著改善。

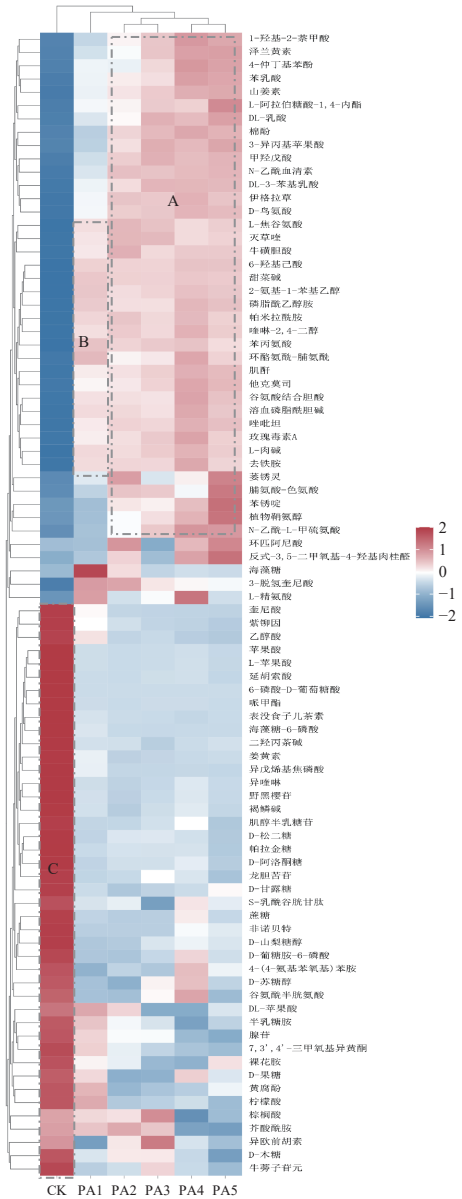


图 4　梨汁发酵过程中差异代谢物的热图

Fig.4　Heatmap of differential metabolites during the fermentation process of pear juice

2.4　梨汁发酵过程中代谢通路分析

2.4.1　代谢通路的富集　以 KEGG 数据库为基础，将差异代谢物与特定代谢途径联系起来，通过富集分析获得重要代谢途径，研究发酵过程中代谢途径的动态变化。如图 5 所示，大多数差异代谢

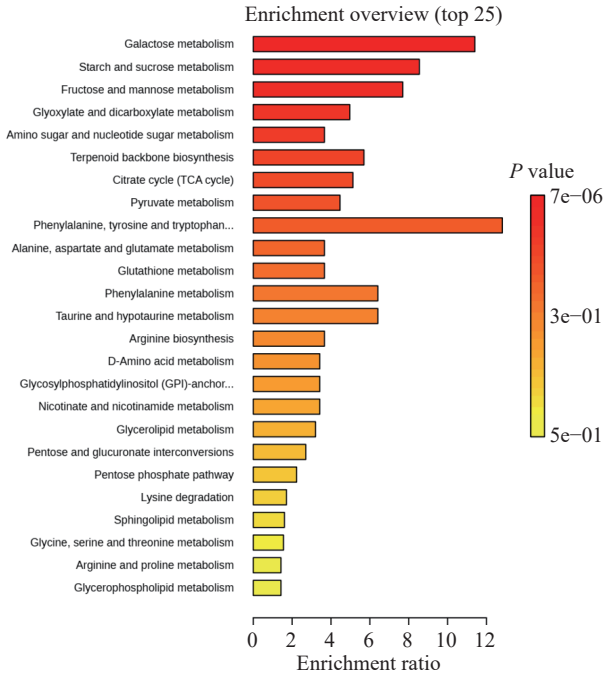


图 5　梨汁发酵过程中差异代谢物的 KEGG 途径

Fig.5　KEGG pathway of differential metabolites during the fermentation of pear juice

物富集在“生物合成”和“代谢”途径中，其中重要的代谢途径主要包括：苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸代谢（Phenylalanine, tyrosine and tryptophan metabolism）、淀粉和糖代谢（Starch and sucrose metabolism）、果糖和甘露糖的代谢（Fructose and mannose metabolism）、谷胱甘肽代谢（Glutathione metabolism）以及精氨酸的生物合成（Arginine biosynthesis）、TCA 循环（TCA cycle）、丙酮酸代谢（Pyruvate metabolism）。参与代谢的重要差异物质主要为苯丙氨酸、精氨酸、脯氨酸、谷氨酰胺、果糖、柠檬酸、苹果酸。

2.4.2　代谢通路的预测　将筛选的差异代谢物映射到 KEGG 数据库中，获得各差异代谢物的相应代谢路径，并绘制相关代谢通路图，如图 6 所示，绿色箭头表示发酵后的浓缩梨汁相比未发酵的含量升高或降低。

与氨基酸相关的途径主要表现在苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸等氨基酸的代谢以及精氨酸的生物合成。碳水化合物的代谢途径包括淀粉和蔗糖的代谢、果糖和甘露糖的代谢以及氨基酸糖和核苷酸糖的代谢（Amino sugar and nucleotide sugar metabolism）。蔗糖、甘露糖、果糖经过发酵其含量均有所下降，说明发酵过程微生物主要以糖类物质作为能量来源，并将其转化为其他营养物质或风味物质，因此部分氨基酸（甘氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸）和有机酸（苹果酸、草酰乙酸、柠檬酸）在发酵后含量上升。柠檬酸和苹果酸既是能量代谢中间体，又是风味物质前体，其含量上升可以正向促进清新风味，并通过强化 TCA 循环产能，增强微生物的代谢活力，从而缩短发酵周期[22]。TCA 循环是大部分生物共有的代谢途径，其中好氧生物通过氧化产生 ATP 和 CO_2 释放储存在乙酰 CoA 中的能量[23]。共检测到 TCA 循环中四个

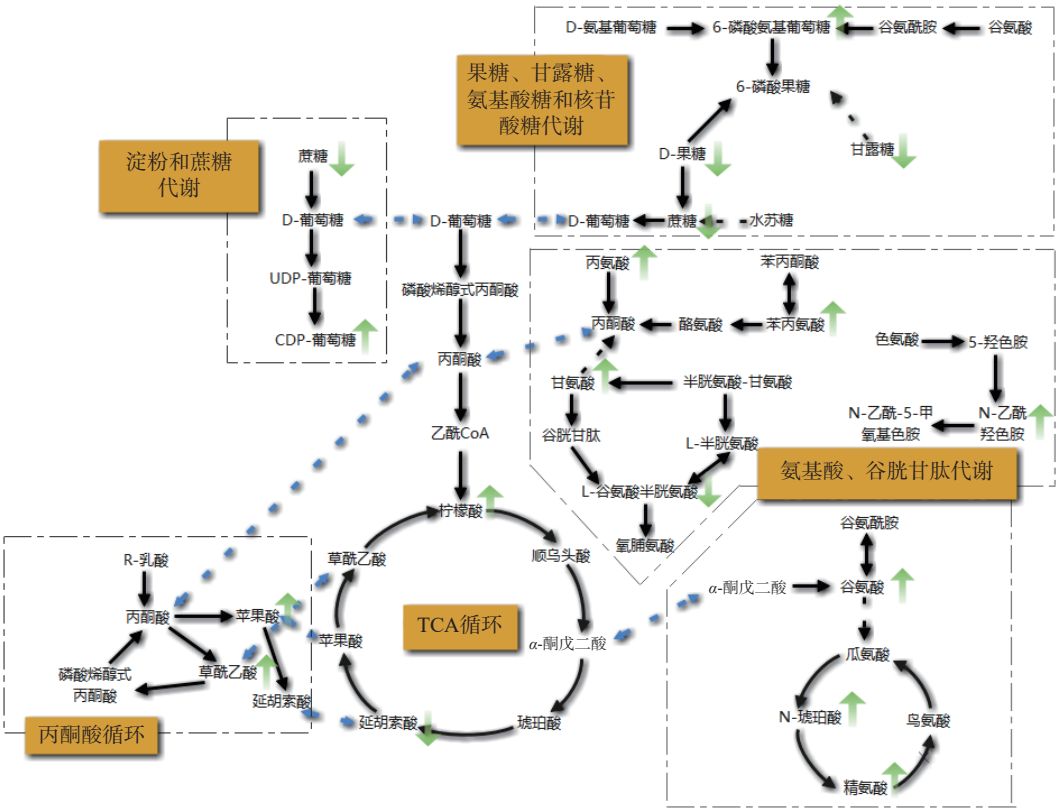


图 6　特定代谢物和 KEGG 途径之间的代谢网络图

Fig.6　Metabolic network diagram between specific metabolites and KEGG pathways

关键组分，分别为柠檬酸、苹果酸、草酰乙酸以及延胡索酸，除延胡索酸外，其他有机酸水平有所提高。苹果酸和草酰乙酸可以参与丙酮酸循环，其含量上升通过扩大丙酮酸代谢池、调节碳流分配、提供还原力，从而影响发酵产物的方向与效率[24]。α-酮戊二酸参与生物体中的 TCA 循环，是氨基酸生产的中间体，它参与谷胱甘肽的代谢合成谷氨酰胺，并且与谷氨酰胺的合成也有关[25−26]。与未发酵梨汁相比，发酵梨汁代谢产物差异明显，发酵过程中乳酸菌可以影响其代谢途径及其有效成分的含量，代谢途径的差异是导致发酵代谢产物多样性的关键因素。

不同的代谢途径对细菌在发酵过程中的增殖具有显著影响，同时细菌的增殖状态也直接影响着代谢产物的生成与变化[27]。这种相互作用机制，使得发酵过程中的代谢产物可能出现增加或减少的现象，从而丰富了发酵产物的种类与数量[28]。植物乳杆菌在发酵过程中可以产生多种有机酸和抗菌物质，抑制有害微生物的生长，改善发酵环境，对发酵产品的安全性和稳定性可能具有一定的促进作用[29]。*Lactobacillus acidophilus* 以其优异的耐酸和益生菌特性而闻名[30]。在发酵过程中，嗜酸乳杆菌能够耐受低 pH 环境，保持良好的生长和代谢活性，分泌大量乳酸等有机酸以调节发酵基质的 pH，并且可以合成维生素、氨基酸等生物活性物质，提高发酵产物的营养价值和功能性质[31-33]。

近年来，一些研究强调了乳酸菌发酵果蔬中代谢途径的变化。如 Meng 等[34] 报道了 LP 与 LA 发酵枇杷汁的代谢途径，富集的前 3 条途径分别是氨基酸代谢、氨基酸的生物合成、谷胱甘肽的代谢，发酵过程中的差异代谢物主要集中在有机酸及其衍生物、氨基酸、多肽和类似物，结果表明在发酵过程中不同乳酸菌对其风味的重建和功能的改善起着至关重要的作用。Tang 等[35] 研究发现在嗜热链球菌和酿酒酵母发酵苹果哈密瓜饮料中，主要代谢途径包括精氨酸代谢、谷胱甘肽代谢、次生代谢产物的合成以及氨基酸的合成，发酵前后果汁的差异调节代谢产物主要是有机酸及其衍生物、氨基酸，并且对氨基酸的影响最为显著。

代谢组学数据表明，乳酸菌发酵可显著提高梨汁中功能性物质的含量，从而提高梨汁的营养品质、功能特性和生物利用度。

3 结论

本研究通过对植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌混合发酵砀山酥梨汁的动态代谢组学分析，揭示了发酵过程中代谢物的变化及其与梨汁品质的关系。研究结果表明植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌混合发酵实现了关键代谢途径的调控，从而引起了发酵过程中不同时间段的代谢物组成改变及发酵产物中 80 种差异代谢物的含量变化。PCA 表明，不同发酵时间的梨汁在代谢物组成上存在显著差异。发酵初期主要积累有机酸类物质，标志着乳酸菌的活跃代谢；而随着发酵时间的延长，氨基酸及其衍生物如精氨酸、脯氨酸等逐渐增多，增强了梨汁的风味和营养价值。通过 KEGG 代谢途径分析，发现氨基酸代谢、TCA 循环、糖代谢等关键代谢途径在发酵过程中得到显著调控，进一步促进了梨汁的功能性提升和营养成分的增加。因此，植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌混合发酵可以通过代谢途径的调控提升其营养价值。该研究为梨汁的工业化生产提供了理论基础和技术支持，推动了酥梨发酵产品的多样化和高附加值的实现。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] REILAND H, SLAVIN J. Systematic review of pears and health[J]. Nutrition Today, 2015, 50(6): 301−305.

[2] POTTER D, ERIKSSON T, EVANS R C, et al. Phylogeny and classification of Rosaceae[J]. Plant Systematics and Evolution, 2007, 266(1): 5−43.

[3] 马剑, 陈智玲, 张宏志, 等. 乳酸菌发酵梨汁过程中的品质变化及其抗氧化活性研究[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2021, 41(6): 123−128. [MA Jian, CHEN Zhiling, ZHANG Hongzhi, et al. Study on the quality change and antioxidant activity of pear juice fermented by lactic acid bacteria[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2021, 41(6): 123−128.]

[4] LI Xia, ZHANG Junying, GAO Wenyuan, et al. Study on chemical composition, anti-inflammatory and anti-microbial activities of extracts from Chinese pear fruit (*Pyrus bretschneideri* Rehd.)[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(10): 3673−3679.

[5] WEI Pengcheng, WU Xianang, FENG Xiaofeng, et al. Combining metabolomics to analyze the effects of cell wall component and stone cells on fruit texture in Dangshan pear[J]. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 2025, 66(3): 575−586.

[6] 于潇, 马可心, 潘德胤, 等. 三株乳酸菌对发酵牛肉干理化性质及蛋白质高级结构的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(23): 98−107. [YU Xiao, MA Kexin, PAN Deyin, et al. Effects of three strains of lactic acid bacteria on physicochemical property and protein advanced structure of fermented beef jerky[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(23): 98−107.]

[7] LI X Y, GAO J, SIMAL-GANDARA J, et al. Effect of fermentation by *Lactobacillus acidophilus* CH-2 on the enzymatic browning of pear juice[J]. LWT, 2021, 147: 111489.

[8] 陈清爱, 徐道煌, 秦宇昕, 等. 植物乳杆菌发酵砀山梨汁香气成分的变化过程分析[J]. 安徽农业大学学报, 2023, 50(6): 1067−1074. [CHEN Qing'ai, XU Daohuang, QIN Yuxin, et al. Analysis of the variation of aroma components in Dangshan pear juice fermented by *Lactobacillus* plantarum[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2023, 50(6): 1067−1074.]

[9] ROBERTS D, REYES V, BONILLA F, et al. Viability of *Lactobacillus* plantarum NCIMB 8826 in fermented apple juice under simulated gastric and intestinal conditions[J]. LWT, 2018, 97: 144−150.

[10] 仝文玲. 乳酸菌复合发酵玉露香梨汁的研究[D]. 临汾: 山西师范大学, 2020. [TONG Wenling. Study on compound fermen-

tation of yulu pear juice by lactic acid bacteria[D]. Linfen: Shanxi Normal University, 2020.]
[11] JIN Duxin, JIN Yuxuan, ZHANG Wei, et al. Exploring Jiangshui-originated probiotic lactic acid bacteria as starter cultures: Functional properties and fermentation performances in pear juice[J]. Food Bioscience, 2024, 61: 104982.
[12] 吴江娜, 魏冠棉, 毛娜, 等. 不同乳酸菌发酵对雪花梨汁营养成分、抗氧化活性及挥发性风味物质的影响[J]. 中国食品学报, 2024, 24(9): 310−321. [WU Jiangna, WEI Guanmian, MAO Na, et al. Effects of different lactic acid bacteria fermentation on nutrient composition, antioxidant activity and volatile flavor substances of snow pear juice[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(9): 310−321.]
[13] LIU Wanlin, LUO Xiaoye, QIU Shuyi, et al. Determining the changes in metabolites of *Dendrobium officinale* juice fermented with starter cultures containing *Saccharomycopsis fibuligera* FBKL2.8DCJS1 and *Lactobacillus paracasei* FBKL1.3028 through untargeted metabolomics[J]. BMC Microbiology, 2023, 23(1): 67.
[14] RANGANATHAN A, IFTIKHAR S, TRIPATHI J, et al. Production of vinegar from pear juice and comparative analysis of its quality with apple juice vinegar[J]. Advances in Research, 2024, 25(1): 117−125.
[15] GONZAGA M I S, GUIMARÃES D V, SILVA R E R, et al. Assessing the impact of pre-treated green coconut waste biochar on tropical soil fertility, initial plant growth, and nutrient uptake using PCA analysis[J]. Journal of Soils and Sediments, 2025, 25(4): 1213−1226.
[16] LI Songlin, CHEN Cheng, JI Yuxiang, et al. Improvement of nutritional value, bioactivity and volatile constituents of quinoa seeds by fermentation with *Lactobacillus casei*[J]. Journal of Cereal Science, 2018, 84: 83−89.
[17] SEPTEMBRE-MALATERRE A, REMIZE F, POUCHERET P. Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation[J]. Food Research International, 2018, 104: 86−99.
[18] YU Hui, XU Xian, HAO Junxiong, et al. Mixed fermentation of *Citrus* peel pomace with *Trichoderma koningii, Aspergillus oryzae* and *Lactobacillus casei*: Process optimization, antioxidant activities and non-targeted metabolomics analysis[J]. Food Bioscience, 2025, 66: 106180.
[19] DUAN Wenhui, GUAN Qijie, ZHANG Huiling, et al. Improving flavor, bioactivity, and changing metabolic profiles of goji juice by selected lactic acid bacteria fermentation[J]. Food Chemistry, 2023, 408: 135155.
[20] KIM M J, JEONG J Y, HWANG I M, et al. Modulation of fermentation dynamics in kimchi using *Leuconostoc mesenteroides* starter[J]. Food Bioscience, 2025, 66: 106317.
[21] CUI Haipeng, ZHAO Shengxu, JI Yuan, et al. Effect of L-proline on stability and *in vitro* digestive antioxidant capacity of mulberry anthocyanins in model beverages[J]. LWT, 2025, 215: 117210.
[22] YAN Yan, ZOU Mingxin, TANG Cui, et al. The insights into sour flavor and organic acids in alcoholic beverages[J]. Food Chemistry, 2024, 460: 140676.
[23] OMINI J J, KRASSOVSKAYA I, OBATA T. Malate dehydrogenase-citrate synthase multienzyme complex dynamics is affected by TCA cycle flux in living yeast cells[J]. The FASEB Journal, 2022, 36(S1): 0R339.
[24] YANG Xinyu, YANG Zhijie, WANG Yanbo, et al. Proteomics and metabolomics elucidate the biosynthetic pathway of acid stress-induced exopolysaccharides and its impact on growth phenotypes in *Lactiplantibacillus plantarum* HMX2[J]. Food Chemistry, 2025, 476: 143431.
[25] CHAN M Z A, LAU H, LIM S Y, et al. Untargeted LC-QTOF-MS/MS based metabolomics approach for revealing bioactive components in probiotic fermented coffee brews[J]. Food Research International, 2021, 149: 110656.
[26] CAI Yimeng, LIN Pochun, LI Yuhan, et al. Alpha-ketoglutarate supramolecular network accelerates diabetic wound healing through exudates management and neovascularization[J]. Chemical Engineering Journal, 2024, 502: 157837.
[27] XU Miaomiao, ZHANG Qiao, LIU Xiaoguang, et al. Impact of alpha-ketoglutarate on skeletal muscle health and exercise performance: A narrative review[J]. Nutrients, 2024, 16(22): 3968.
[28] YILDIRIM R M, YILDIRIM R M. Fermentation of light and dark bean coffee brews with SCOBY and lactic acid bacteria[J]. Fermentation, 2025, 11(3): 158.
[29] CHO Y E, KIM J G, KIM D K. Bioconversion of cabbage juice: Enhanced S-methylmethionine via non-thermal treatment and lactic acid bacteria fermentation[J]. Food Bioscience, 2025, 64: 105860.
[30] LUAN Xiaoxu, FENG Meiqin, SUN Jian. Effect of *Lactobacillus plantarum* on antioxidant activity in fermented sausage[J]. Food Research International, 2021, 144: 110351.
[31] JEON S, KIM H, CHOI Y, et al. Complete genome sequence of the newly developed *Lactobacillus acidophilus* strain with improved thermal adaptability[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 697351.
[32] de ASSIS B B T, PIMENTEL T C, DANTAS A M, et al. Biotransformation of the Brazilian Caatinga fruit-derived phenolics by *Lactobacillus acidophilus* La-5 and L*acticaseibacillus casei* 01 impacts bioaccessibility and antioxidant activity[J]. Food Research International, 2021, 146: 110435.
[33] FERREIRA I, de SOUSA MELO D, MENEZES A G T, et al. Evaluation of potentially probiotic yeasts and *Lactiplantibacillus plantarum* in co-culture for the elaboration of a functional plant-based fermented beverage[J]. Food Research International, 2022, 160: 111697.
[34] MENG Fanbing, LEI Yuting, LI Qingzhou, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* fermentation on antioxidant activity and metabolomic profiles of loquat juice[J]. LWT, 2022, 171: 114104.
[35] TANG Zizhong, WANG Qing, ZHAO Zhiqiao, et al. Evaluation of fermentation properties, antioxidant capacity *in vitro* and *in vivo*, and metabolic profile of a fermented beverage made from apple and cantaloupe[J]. LWT, 2023, 179: 114661.