



## 研究报告

## 云南泡梨中乳酸菌的分离鉴定及其应用

丁冯玲 陈玮玮 韩鹏 郑露华 罗扬 易恩 梁小波\*

昆明理工大学农业与食品学院 云南 昆明 650500

**摘要:**【背景】泡梨是云南省常见的一种腌渍水果,在云南加工食用已经有一百多年的历史,因其味道酸甜可口、风味独特而深受人们喜爱,而目前对泡梨中微生物种群的系统分析和发酵原理的研究尚未见报道。【目的】研究乳酸菌在云南泡梨中的分布及应用,阐明乳酸菌种类对泡梨发酵中风味物质的影响。【方法】从云南省4个不同地区采集12份泡梨样品,经菌落菌体形态、生理生化特性和16S rRNA基因序列分析进行菌种分离与鉴定。利用分离的乳酸菌为菌种进行泡梨的制备,采用GC-MS技术对人工接种的复合乳酸菌发酵与自然发酵泡梨进行风味物质的分析与感官评价。【结果】分离鉴定出79株植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、3株类植物乳杆菌(*Lactobacillus paraplantarum*)、1株戊糖乳杆菌(*Lactobacillus pentosus*)、1株干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)、2株副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)和1株短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*),植物乳杆菌为泡梨发酵中的优势菌。将分离所得乳酸菌用于泡梨制备的结果表明,乳酸菌使泡梨的发酵时间缩短5 d且品质更优,分析其中的风味物质发现接种乳酸菌发酵泡梨风味物质更丰富,其中酯类和醇类远多于自然发酵泡梨。【结论】云南泡梨中含有丰富的乳酸菌,选用分离出的优势乳酸菌作为复合乳酸菌用于泡梨发酵获得色泽、口感更好的泡梨,且发酵周期更短,风味物质更丰富。该研究对泡梨制备工艺和进一步标准化生产均具有重要意义。

**关键词:** 泡梨, 乳酸菌, 发酵, 分离鉴定, 风味物质

## Isolation, identification and application of lactic acid bacteria from Yunnan pickled pear

DING Feng-Ling CHEN Wei-Wei HAN Peng ZHENG Lu-Hua LUO Yang YI En  
LIANG Xiao-Bo\*

College of Agriculture and Food, Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650500, China

**Abstract:** [Background] Pickled pear is a popular pickled fruit in Yunnan Province with delicious taste and unique flavor. It has been eating in Yunnan for more than 100 years. However, the systematic analysis of the microbial population in this product and the study of the fermentation mechanism are still lack. [Objective] The purpose of this study was to analyze the distribution of lactic acid bacteria in pickled pears, and to elucidate the effects of lactic acid bacteria on flavor substances in pear fermentation. [Methods] Lactic acid bacterial strains were isolated from twelve samples of pickled pears collected from

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (31360022)

\*Corresponding author: Tel: 86-871-65920216; E-mail: liangxbkmust@hotmail.com

Received: 17-07-2019; Accepted: 02-09-2019; Published online: 29-09-2019

基金项目: 国家自然科学基金(31360022)

\*通信作者: Tel: 0871-65920216; E-mail: liangxbkmust@hotmail.com

收稿日期: 2019-07-17; 接受日期: 2019-09-02; 网络首发日期: 2019-09-29

four different regions of Yunnan Province. Bacterial strains were identified by colony morphology, physiological and biochemical characteristics and 16S rRNA gene sequence analysis. The isolated lactic acid bacteria were used in pickled pears preparation and the resulting products were evaluated by sensory evaluation and flavor substances analyses by GC-MS. **[Results]** Altogether, 79 strains of *Lactobacillus plantarum*, 3 strains of *Lactobacillus paraplantarum*, 1 strain of *Lactobacillus pentosus*, 1 strain of *Lactobacillus casei*, 2 strains of *Lactobacillus paracasei* and 1 strain of *Lactobacillus brevis* were isolated from pickled pear samples, with *Lactobacillus plantarum* being the dominant strain in pickled pears. Using isolated strains in the pickled pear fermentation, the product got better flavor and shorter process time than natural fermentation about 5 days. The composition of flavor substances analyses showed that in lactic acid bacteria fermented pears, ester and alcohol were much more abundant than those in natural fermented pears. **[Conclusion]** Lactic acid bacteria are abundant in Yunnan pickled pear. Using these bacteria in pickled pear fermentation could produce pickled pear with better color and taste, more abundant flavor substances, in shorter time. This study confers great significance for the improvement and standardized preparation of Yunnan pickled pears producing.

**Keywords:** Pickled pear, Lactic acid bacteria, Fermentation, Isolation and identification, Flavor substance

乳酸菌在许多泡菜、果汁、发酵乳等食品中的分布与功能已有大量的报道<sup>[1-3]</sup>,是公认的食品级益生菌,具有维持肠道菌群平衡、降低胆固醇等保健作用,已经被广泛应用于食品的发酵工业中<sup>[4]</sup>。乳酸菌在发酵过程中产生的醋酸、丙酸等有机酸,不仅可以赋予泡梨酸味,还可以与发酵过程中产生的醇、酮、醛等物质相互作用,形成多种新的呈味物质。

泡梨作为一种地区特色传统发酵食品,也是为数不多的发酵水果之一,研究认为微生物在其生产过程中发挥了重要作用,对风味与品质影响重大<sup>[5]</sup>,而目前对泡梨中微生物种群的系统分析和发酵原理的研究尚未见报道。基于泡梨酸甜的风味,本文推测乳酸菌是泡梨发酵中的重要微生物,泡梨中乳酸菌的组成和特性可能与泡梨的风味、品质密切相关。

目前云南泡梨的主要生产方式仍然是家庭作坊式的生产,不同地区的泡梨,用的原料梨品种不同,泡制方法不一,导致生产标准不统一、产品质量不稳定。因此,将菌种分离、鉴定和分析应用到泡梨的发酵中,不仅对丰富云南发酵食品中乳酸菌资源有极其重要的意义,也为筛选具有优良性状的食品发酵工业用菌提供了有利前提<sup>[6-7]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 泡梨样品的采集

12 份散装泡梨样品分别购自云南省昆明市、保山市、腾冲市、大理州大理古城、红河州个旧市、蒙自市等 6 个不同地区,样品来源见表 1。在进行菌种分离前,对每份泡梨汁的 pH 值进行测定。除大理古城的泡梨样品 pH 值为 4.31 略高外,其它样品的 pH 值均在 3.3–3.9 之间,符合乳酸菌发酵的特点。

#### 1.1.2 培养基与主要试剂和仪器

MRS 液体培养基(g/L): 蛋白胨 10.0, 葡萄糖 20.0, 牛肉膏 10.0, 酵母粉 5.0, 磷酸氢二钾 2.0, 乙酸钠 5.0, 柠檬酸氢二铵 2.0, 吐温-80 1.08, 硫酸镁 0.58, 硫酸锰 0.25, pH 值调至 6.2±0.2。MRS 固体培养基: MRS 液体培养基中加琼脂 15.0 g/L, pH 值调至 6.2±0.2。葡萄糖发酵培养基(g/L): 多价胨 20.0, 酵母膏 5.0, 氯化钠 5.0, 葡萄糖 5.0, 溶解后调节 pH 至 7.0。精氨酸产氨培养基(g/L): 多价胨 20.0, 酵母膏 5.0, 氯化钠 5.0, 精氨酸 10.0, 溶解后调节 pH 至 7.0。精氨酸产氨对照培养基(g/L): 多价胨 20.0, 酵母膏 5.0, 氯化钠 5.0, 溶解后调节 pH 至 7.0。所有培养基 0.7×10<sup>5</sup> Pa 灭菌 30 min。

表 1 泡梨样品来源

Table 1 Source of the pickled pear samples

样品编号 Sample No.	样品来源 Sample source	样品种类 Sample type	pH	分离菌株编号 Strain No.
1	Cuihu, Kunming	Merchant purchase	3.63	1-1-n, 1-2-n
2	Nanping Street, Kunming	Merchant homemade	3.74	2-1-n, 2-2-n
3	Zhonghe, Tengchong	Merchant purchase	3.34	3-1-n, 3-2-n
4	Gudong, Tengchong	Merchant homemade	3.33	4-1-n, 4-2-n
5	Dali Ancient, Dali	Merchant purchase	4.31	5-1-n, 5-2-n
6	Zhongshan Road, Gejiu	Merchant homemade	3.57	6-1-n, 6-2-n
7	Yangjiatian, Gejiu	Merchant homemade	3.34	7-1-n, 7-2-n
8	Kowloon Farmers Market, Mengzi	Merchant purchase	3.56	8-1-n, 8-2-n
9	Guilin Street, Mengzi (1)	Merchant homemade	3.37	9-1-n, 9-2-n
10	Guilin Street, Mengzi (2)	Merchant homemade	3.33	10-1-n, 10-2-n
11	Ancient Farmers Market, Jianshui County	Merchant purchase	3.81	11-1-n, 11-2-n
12	Hanlin Street, Jianshui County	Merchant homemade	3.50	12-1-n, 12-2-n

注: 将 12 个样品分别进行 2 次分离, 对分离的菌株依次进行编号; 例如“1-1-n”代表第一批样品进行第一次分离得到的第一株菌。  
Note: The 12 samples were separately separated twice and sequentially numbered; For example, “1-1-n” represents the first strain of the first batch of the first sample.

细菌基因组 DNA 提取试剂盒、Qiagen 凝胶回收试剂盒、PCR 试剂和引物, 生工生物工程(上海)股份有限公司。

PCR 仪, Bio-Rad 公司; CO<sub>2</sub> 培养箱, Thermo Fisher 公司; 电热恒温鼓风干燥箱, 上海博讯实业有限公司; 琼脂糖凝胶电泳仪, 北京市六一生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 乳酸菌的分离纯化

以无菌生理盐水分别以 10<sup>-1</sup>–10<sup>-5</sup> 逐级稀释泡梨汁后, 涂布于含有 2%碳酸钙的 MRS 平板上, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中培养 24–48 h。每个梯度 3 个平行, 以无菌生理盐水为阴性对照。

挑取产生溶钙圈的单菌落在 MRS 固体培养基上多次划线以得到纯的单一菌株, 并进行菌落形态的观察<sup>[8]</sup>。

1.2.2 菌株的生理生化鉴定

参照《乳酸细菌分类鉴定及试验方法》<sup>[8]</sup>, 将初步分离得到的菌株接种到 MRS 液体培养基中, 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养至对数期, 进行菌体细胞形态观察和革兰氏染色、过氧化氢酶实验、氧化酶活性实验, 以进行初步鉴定<sup>[9]</sup>。对符合乳酸菌特征的菌

株, 采用 16S rRNA 基因序列分析做进一步鉴定。

1.2.3 乳酸菌 16S rRNA 基因扩增与序列分析

使用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取细菌总 DNA, 提取的 DNA 用 1%琼脂糖凝胶电泳验证。以基因组总 DNA 为模板, 使用乳酸菌 16S rRNA 基因通用引物(27f: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCT CAG-3'; 1495r: 5'-CTACGGCTACCTTGTACG A-3')<sup>[10]</sup>进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(40 μL): 10×Buffer 4 μL, dNTP mix 3.2 μL, rTaq 酶(5 U/μL) 0.2 μL, 正、反向引物(5 μmol/L)各 2 μL, DNA 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 补足 40 μL。PCR 反应条件: 95 °C 4 min; 95 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 90 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物用凝胶回收试剂盒纯化后测序, 测序由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。单个菌株的测序结果通过 NCBI BLAST 进行相似性检索, 选择相似性较高的菌株序列在 NCBI BLAST 网页采用邻接(Neighbor-Joining)法构建系统发育树, 确定其遗传学位置。同一泡梨样品中的菌株序列用 MEGA 7.0 构建系统发育树, 分析泡梨中乳酸菌的遗传距离。

1.2.4 泡梨酸度检测与复合乳酸菌发酵泡梨的制备

将泡菜中分离筛选的优良乳酸菌菌株应用于

泡菜的发酵中不仅能够提高泡菜的风味以及安全性,也能够有效提高泡菜的生产效率<sup>[11]</sup>。

将分离的乳酸菌分别接种并添加到泡梨中,根据产酸情况、发酵程度等选出在泡梨发酵过程中性能优质的乳酸菌,并进行复合乳酸菌发酵泡梨的制备。在本研究中,复合乳酸菌发酵泡梨菌种选择原则:性状稳定,耐酸,生长繁殖迅速,易保存且存活期长,产酸能力与产香能力强。制作工艺为:新鲜沙梨→清洗→沥干→装坛→加入辅料→注入灭菌水→接种乳酸菌(接种量为1%)或不接种(自然发酵泡梨)→密闭发酵(室温下90 d)→成品。对复合乳酸菌分别进行1:1、1:2、1:3的接种比例进行不同复配,选择最优的复合条件对泡梨的感官及风味成分进行详细分析,自然发酵泡梨为对照组。

1.2.5 泡梨的感官评定

由18人分别对自然发酵泡梨和复合乳酸菌发酵泡梨进行色泽、香气、滋味、质地方面的品鉴(表2)。根据品尝人员评分,去除最高分和最低分后,取平均分为自然发酵与复合乳酸菌发酵泡梨最

后的得分。

1.2.6 泡梨风味成分分析

将感官评分最高的泡梨通过气相色谱-质谱联用(GC-MS)法分析其中的风味成分。色谱条件和质谱条件参照章献等<sup>[12]</sup>的研究方法,并根据现有条件进行修改。

色谱条件:色谱柱 SH-Rxi-5Sil MS 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);载气:氦气;柱流量:1 mL/min;不分流进样;升温程序:柱初温 35 °C,保持 5 min,以 10 °C/min 升至 150 °C,保持 20 min;再以 5 °C/min 升至 250 °C,保持 30 min;进样口温度 250 °C。

质谱条件:离子源 EI;电子能量 70 eV;接口温度 280 °C;离子源温度 200 °C;四极杆温度 150 °C;扫描范围 35–500 *m/z*。

挥发性风味物质的定性定量方法:检测到的未知化合物与 NIST14. library 相匹配,匹配度结合文献[13-16]予以定性,确定可萃取风味成分,各挥发性成分的相对百分含量按峰面积计算。

表 2 泡梨感官评定指标及评分标准

Table 2 The sensory evaluation indexes and scoring standards of pickled pear

项目	标准	扣分	得分
Project	Standard	Deduction	Score
Color	Pear color is normal, fresh, shiny, free of debris and foreign matter, clear soup, no mold floating film		20
	The color of the pear is slightly dim, and the soup is slightly turbid	1–3	
	The color of the pear is not normal, the soup is turbid, and there are impurities and foreign matter	4–6	
	Pears are black, the soup is cloudy, and there is a mold floating film	7–10	
Aroma	It has the inherent aroma of pear, or a fermented aroma, or a compound aroma after the addition of excipients, no bad odors		30
	The aroma is not rich, the fermented aroma is light, no bad smell and other odors	1–4	
	Slightly fermented aroma, doped odor	5–8	
	Have bad smells (such as rancid smell) and other odors	9–15	
Taste	Sour, sweet and salty, moderately pure, no sour, salty, sweet, no succulent taste, good taste		30
	Sour, sweet and salty, no odor, taste is good	1–4	
	Sour, sweet and salty, sweet and sour salty or too light, no smell	5–8	
	Sour, sweet and salty, sweet and sour salty or too light, unpleasant taste	9–15	
Texture	Moderate soft and firm, crisp, chewy		20
	Soft and hard, the pears are less crispy	1–3	
	Pear tissue is slightly hard or slightly soft, no brittleness	4–6	
	Pear tissue is hard or soft and loses its organization	7–10	

## 2 结果与分析

### 2.1 泡梨中乳酸菌的分离

通过 MRS 平板法从 6 个地区的 12 个样品中共分离获得 204 株菌, 对分离到的菌株进行培养, 发现这些菌在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下均生长良好, 并且在生长过程中能够产酸。

另外, 采自腾冲市中和镇和固东镇(样品编号为 3、4)、大理州大理古城(样品编号为 5)、红河州蒙自市桂林街(样品编号为 9、10)的 5 个样品未分离到乳酸菌。然而, 对泡梨中酵母菌进行分离, 发现这些样品中均含有丰富的酵母菌(结果未展示)。

### 2.2 泡梨中乳酸菌的鉴定

#### 2.2.1 细菌形态观察

将分离纯化的菌株在 MRS 培养基上划线接种, 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养 24 h 后, 观察平板上的菌落形态, 挑单个菌落经结晶紫染色后在生物显微镜下观察菌体细胞形态。结果显示所有菌落在 MRS 平板上呈不同程度乳白色, 圆形, 不透明或半透明, 表面光滑, 边缘整齐, 其菌体形态为长杆状或是短杆状, 呈短链状、长链状排列, 单个菌体两端多呈圆形, 个别呈方形(图 1)。

#### 2.2.2 生理生化实验

将分离的菌株进行革兰氏染色、接触酶实验、葡萄糖发酵产气实验、氧化酶实验和精氨酸产氨实验。结果表明有 186 株菌表现为革兰氏阳性、过氧化氢酶阴性、葡萄糖氧化酶阴性和精氨酸产氨气阴性的菌株, 初步鉴定为乳酸菌。其余 18 株菌分别

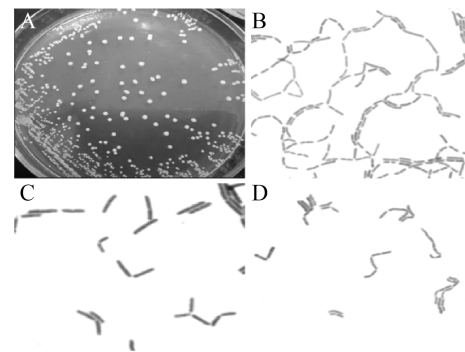


图 1 部分菌落形态和菌体细胞形态的观察

**Figure 1 Morphological observation of partial colonies and bacterial cells**

注: A: MRS 平板上的菌落形态; B: 菌株 1-1-8 细胞形态; C: 菌株 6-1-11 细胞形态; D: 菌株 12-2-2 细胞形态; 放大 1 000 倍。  
Note: A: Colony morphology; B: Cell morphology of 1-1-8; C: Cell morphology of 6-1-11; D: Cell morphology of 12-2-2; 1 000×.

在接触酶实验、葡萄糖产气实验以及精氨酸产气实验中的结果难以判定, 因而列入未定菌株。

#### 2.2.3 乳酸菌 16S rRNA 基因的序列分析

通过 PCR 扩增细菌 16S rRNA 基因, 有 186 株菌均得到约 1.5 kb 大小的 DNA 片段, 初步鉴定为乳酸菌(图 2)。测序后将所得序列使用 Vector NTI advance10 (Invitrogen) alignment 进行序列比较, 将序列完全相同视为同一菌株, 最终得到 87 株乳酸菌。对这 87 株菌的 16S rRNA 基因序列通过 NCBI BLAST 同源性比较, 结果表明分离的乳酸菌包括植物乳杆菌、类植物乳杆菌、戊糖乳杆菌、干酪乳杆菌、副干酪乳杆菌和短乳杆菌(表 3)。

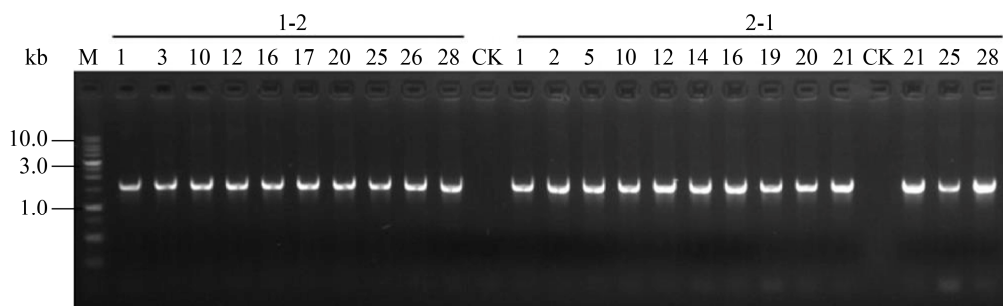


图 2 部分菌株 16S rRNA 基因 PCR 扩增的琼脂糖凝胶电泳图

**Figure 2 The gel electrophoresis of metagenome of PCR amplification of 16S rRNA gene of partial strains**

注: M: 1 kb DNA Marker; CK: 加 ddH<sub>2</sub>O 的阴性对照。

Note: M: 1 kb DNA Marker; CK: Negative with ddH<sub>2</sub>O.

表 3 泡梨中乳酸菌的组成与地区分布  
Table 3 The composition and regional distribution of lactic acid bacteria from pickled pear

样品编号 Sample No.	样品来源 Source	分离到的菌种(菌株数) Isolated strain (number of strains)
1	Cuihu, Kunming	<i>L. plantarum</i> (14), <i>L. paracasei</i> (2), <i>L. casei</i> (1)
2	Nanping Street, Kunming	<i>L. plantarum</i> (21)
3	Zhonghe, Tengchong	—
4	Gudong, Tengchong	—
5	Dali Ancient, Dali	—
6	Zhongshan Road, Gejiu	<i>L. plantarum</i> (16), <i>L. paraplantarum</i> (3), <i>L. breris</i> (1)
7	Yangjiatian, Gejiu	<i>L. plantarum</i> (4)
8	Kowloon Farmers Market, Mengzi	<i>L. plantarum</i> (15)
9	Guilin Street, Mengzi (1)	—
10	Guilin Street, Mengzi (2)	—
11	Ancient Farmers Market, Jianshui County	<i>L. plantarum</i> (5)
12	Hanlin Street, Jianshui County	<i>L. plantarum</i> (4)、 <i>L. pentosus</i> (1)

注：—：未检出。  
Note: —: Not detected.

2.3 泡梨中乳酸菌种群分析  
2.3.1 泡梨中乳酸菌菌种分布

泡梨中分离到的均为乳酸杆菌,且植物乳杆菌为优势菌,占总乳酸菌的 90.8% (79 株),类植物乳杆菌占 3.5% (3 株),戊糖乳杆菌占 1.1% (1 株),干酪乳杆菌占 1.1% (1 株),副干酪乳杆菌占 2.3% (2 株),短乳杆菌占 1.1% (1 株) (表 3)。乳酸杆菌是乳酸菌中种类最多、数量最大的种类,被广泛应用于食品工业、生物技术以及医药开发领域<sup>[17]</sup>。而植物乳杆菌是泡菜和发酵水果制备中的重要微生物,更是发酵食品中风味物质形成的主要细菌之一,能代谢产生有机酸、过氧化氢、双乙酰和细菌素等物质,这些物质能够抑制病原菌和腐败菌<sup>[18]</sup>。研究表明,植物乳杆菌发酵泡菜能明显提高泡菜总酸含量、降低盐度和亚硝酸盐含量<sup>[19]</sup>,发酵食品风味上的变化也大多来自植物乳杆菌<sup>[20]</sup>。本研究中乳酸菌的分离结果表明在泡梨的自然发酵过程中,植物乳杆菌发挥了主要作用。

在泡梨的自然发酵中有多种乳酸菌共同发酵。除植物乳杆菌外,同时分离到了类植物乳杆菌、干酪乳杆菌、副干酪乳杆菌、短乳杆菌以及戊糖乳杆菌,这体现了传统发酵食品的特点,即原始性和随机性。在传统发酵食品的制备中,往

往是植物乳杆菌与其他乳酸菌共同作用形成其独特的风味<sup>[21-25]</sup>。在研究中我们发现,所有泡梨样品中均存在不同类型的酵母菌(结果未展示),张晓等<sup>[26]</sup>的研究也表明酵母在泡菜的发酵过程中对风味物质的产生起到积极作用,但尚无酵母在发酵水果中的功能报道,对于这些乳酸菌与酵母菌在泡梨风味形成中的作用尚需要进一步研究。

2.3.2 泡梨酸度分析

自然发酵泡梨的工艺使分离到的乳酸菌种类较少。本研究中仅分离到 6 种乳杆菌,未分离到其他类型的乳酸菌,除植物乳杆菌占据绝对优势,其他类型乳酸菌数量很少。泡梨的自然发酵时间长达 90 d,使得乳酸菌在厌氧条件下产酸并累积,导致几乎所有样品的总酸 pH 值偏低。测定不同样品的 pH 值发现,除样品 4 (未分离到乳酸菌) pH 值稍高,其余泡梨样品的 pH 值均低于 4 (表 1),表明采集的泡梨样品均处于发酵末期阶段。随着发酵的进行,由于乳酸的累积使得发酵体系的总酸增高, pH 值降低,从而抑制体系中部分不耐酸乳酸菌的生长<sup>[27]</sup>,造成分离到的乳酸菌种类与数量减少。在接种乳酸菌发酵泡梨中,我们发现接种短乳杆菌的泡梨在发酵前期 pH 值下降较快,接种植物乳杆菌的泡梨在发酵中后期对泡梨原本的酸度影响不

大,但其风味较好,产品品质稳定。其他乳酸菌发酵泡梨对酸度影响均不明显,并且发酵终止时与短乳杆菌和植物乳杆菌发酵泡梨的 pH 相差不大。因此将选择短乳杆菌和植物乳杆菌作为复合乳酸菌发酵剂进行下一步的研究。

2.4 复合乳酸菌发酵泡梨的制备及泡梨的感官评价

复合乳酸菌发酵结果显示,在植物乳杆菌(6-1-11)与短乳杆菌(6-2-5) 1:2 接种的复合发酵泡梨中,在发酵中后期出现菌体大量死亡的现象,且泡梨表面出现黑斑,1:3 接种的泡梨出现类似现象。使用从泡梨中分离的植物乳杆菌与短乳杆菌 1:1 作为复合乳酸菌发酵剂发酵效果最好。结果表明以植物乳杆菌与短乳杆菌 1:1 人工接种复合乳酸菌发酵的泡梨要比自然发酵泡梨快 5 d,发酵 2 d 后泡梨发酵液 pH 值已低于 5.5,而自然发酵泡梨 7 d 后 pH 值才低于 5.5。随着发酵的继续,pH 继续下降,人工接种复合乳酸菌发酵的样品在 pH 3.6 左右趋于稳定,自然发酵的样品在 pH 3.8 左右趋于稳定,直至 90 d 发酵结束。因此选择植物乳杆菌与短乳杆菌 1:1 的复合乳酸菌泡梨进行感官分析(表 4)。

由表 4 可知,人工接种复合乳酸菌发酵泡梨感官评价总分值高于自然发酵泡梨,整体品质较好;而自然发酵泡梨得分较低,色泽、香气和风味方面均差于接种乳酸菌发酵泡梨。

表 4 泡梨的感官评分

Table 4 Sensory evaluation of fermented pear product (score)

Items	Natural fermentation	Compound lactic acid bacteria fermentation
Color	17	18
Aroma	26	27
Taste	24	27
Texture	18	18
Total score	85	90

2.5 泡梨风味成分分析

为进一步了解乳酸菌种类对泡梨风味的影响,分别对人工接种复合乳酸菌泡梨和自然发酵泡梨制品进行 GC-MS 分析,各挥发性成分分析分类统计见表 5。

由表 6 可知,两种方法制备的泡梨中检出酯类 34 种,酰胺类 7 种,酮类 8 种,烃类 75 种,醇类 20 种,以及其他化合物(包括醛、酸、酚等) 21 种。烃类化合物在两种泡梨中相对含量最大,且大部分为低分子量烷烃,对香味影响的阈值较高<sup>[28]</sup>,大多无气味或香味较弱<sup>[29]</sup>,所以对泡梨风味贡献不大。酯类化合物是由脂质代谢或者发酵生成的醇和羧酸酯化后的产物,一般具有令人愉快的水果香气或酒香味<sup>[29]</sup>。泡梨中的醇类物质与乳酸菌发酵有很大关系,苯乙醇具有甜香、玫瑰花香和蜂蜜香<sup>[30]</sup>。其他类物质中含有醛、酚和酸,一般认为 C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub> 的饱和醛具有较好的风味<sup>[31]</sup>,苯乙醛具有风信子香和果香。其他挥发性化合物如 2-甲

表 5 泡梨中挥发性风味物质种类及相对含量

Table 5 Types and relative percentages of volatile compounds identified in pickled pear

类别 Category	复合乳酸菌发酵 Compound lactic acid bacteria fermentation		自然发酵 Natural fermentation	
	相对含量	数量	相对含量	数量
	Relative content	Quantity	Relative content	Quantity
Ester	10.183	21	7.54	13
Amide	8.361	4	21.77	3
Ketones	1.189	4	0.65	4
Hydrocarbon	55.190	54	28.87	21
Alcohol	22.383	10	2.49	10
Other	2.694	11	38.68	10
Total	100	104	100	61

表 6 两种发酵泡梨中的挥发性成分及相对含量

Table 6 Volatile components and relative content (%) of two kinds of pickled pear

类别	挥发性成分	复合乳酸菌发酵	自然发酵
Category	Volatile constituents	Compound lactic acid bacteria fermentation	Natural fermentation
Ester	Methyl palmitate	—	0.07
	Palmitate	0.252	—
	Ethyl acetate	0.294	—
	Vinyl acetate	—	0.03
	Octadecyl vinyl ester	0.064	—
	Butyl trichloroacetate	2.199	—
	Dibutyl sulfate	1.143	—
	Thioacetate	1.049	—
	Isobutyl phthalate	1.270	—
	Ethylhexyl phthalate	0.381	—
	Diisobutyl phthalate	—	0.40
	Dimethyl phthalate	—	0.03
	Dibutyl phthalate	1.093	0.26
	Hexyl decyl ester	0.086	—
	Mercaptoisobutyl ester	0.036	—
	Eicosyl vinyl ester	0.190	—
	Bis(2-ethylhexyl) adipate	0.491	0.07
	Ethyl benzoate	—	6.33
	Methyl benzoate	—	0.09
	Ethyl crotonate, (E)-ethyl trans-2-butenate	—	0.05
	$\gamma$ -hydroxy octadecanoic acid lactone	0.177	—
	$\gamma$ -hydroxybutyrolactone	—	0.05
	Ethyl $\beta$ -hydroxybutyrate	—	0.08
	8-phenyloctanoic acid trimethylsilyl ester	—	0.03
	4-octadecanolide	0.346	—
	Ethyl 3-hydroxytridecanoate	0.079	—
	3-(methylthio)-(E)-2-ethyl acrylate	0.021	—
	2-pentyl undecyl ester	0.034	—
	Ethyl 2-methylbutyrate	—	0.05
	2-butoxyethanol benzoate	0.164	—
	Methyl 13-methylpentadecanoate	0.550	—
	1-(+)-Ascorbic acid 2,6-hexadecanoate	0.264	—
Alcohol	Isoamyl alcohol	0.768	0.31
	Isobutanol	—	0.11
	Cetyl alcohol	0.188	—
	Cyclohexanol	—	0.03
	Trans linalool oxide (furan type)	—	0.02
	Trans-2-nonenol	0.035	—
	Octadecanol	0.088	—
	Phenylethanol	1.278	0.55
	Benzyl alcohol	0.081	0.40
	Alpha-furanmethanol	—	0.09
	3,7,11-trimethyl-1-dodecanol	—	0.02
	2-methyl-n-butanol	0.915	0.92
	2-hexyl-1-octanol	0.180	—
	2,6-Dimethyl-2,7-octadiene-1,6-diol	—	0.04
	2,3-butanediol	18.753	—
	1-methoxy-2-butanol	0.097	—

(待续)



(续表 6)			
Other	Butyraldehyde	—	0.05
	Isobutyl tert-butyl ether	0.048	—
	Dibutylhydroxytoluene	0.029	—
	Vinyl guaiacol	—	0.10
	Quinol	—	0.07
	Phenylacetaldehyde	0.228	0.03
	benzoic acid	—	28.3
	Benzaldehyde	—	0.01
	phenol	0.165	—
	N,N,2-trimethyl-3-pentylamine	—	10.00
	D-ribose, 2-deoxy-bis(thioheptyl)-dithioacetal	0.460	—
	3-allyl-2-methoxyphenol	0.304	—
	2-ethylhexanoic acid	0.045	—
	2-naphthylaniline	0.327	—
	2-methoxy-phenol	0.073	—
	2-methyl-1,4-benzenediol	—	0.04
	2,4-di-tert-butylphenol hydroquinone	0.527	—
	2,4-dimethylbenzaldehyde	0.488	0.01
	1-isochroman-3-carboxylic acid	—	0.07

注：—：未检出。  
Note: —: Not detected.

氧基-苯酚具有木香和药香，很可能与泡梨用的甘草有关<sup>[32]</sup>。

两种发酵泡梨中的挥发性化合物组成有明显的差别。在复合乳酸菌发酵泡梨中以烃类(相对含量为 55.19%)、醇类(相对含量为 22.38%)、酯类(相对含量为 10.18%)含量最多，而在自然发酵泡梨中醛、酸、酚等其他类(相对含量 38.7%)、烃类(相对含量 28.9%)、酰胺类化合物(相对含量 21.8%)含量最多。复合乳酸菌发酵泡梨中检测到的挥发性化合物种类(104 种)远多于自然发酵泡梨(61 种)，其中对风味贡献较大的酯类物质和醇类物质远多于自然发酵泡梨，推测在接种乳酸菌发酵的泡梨中，乳酸菌在短期内大量繁殖，有机酸快速积累，对其他微生物的生长产生抑制作用，从而使泡梨处于稳定的乳酸菌发酵过程，能够将风味物质稳定积累<sup>[32]</sup>，其中三氯乙酸丁酯、邻苯二甲酸异丁酯、硫酸二丁酯、硫代乙酸酯等酯类含量较高(表 6)。另外，在复合乳酸菌发酵泡梨中含硫的酯类呈现浓郁的气味，会掩盖其他物质的味道，且硫化物阈值较低，低含量就能产生很浓的香味<sup>[33]</sup>，这是泡梨具

有独特香味的主要原因。相反，自然发酵泡梨中微生物繁殖较慢，具有微生物交替发酵的过程，前期微生物发酵过程中产生的风味物质较少，经过长时间的发酵，早期产生的风味物质挥发流失而不能积累<sup>[33]</sup>；而且自然发酵泡梨中的苯甲酸含量很高(相对含量为 28.3%)，具有苯和甲醛的臭味，会影响泡梨的风味，这也是复合乳酸菌发酵泡梨风味更佳的原因。

3 讨论与结论

云南泡梨是一种特色鲜明的传统发酵水果，在当地颇受消费者的喜爱，但目前其家庭作坊式生产方式使泡梨品质不稳定。本文通过对云南省 6 个地区 12 份泡梨中乳酸菌的分离与鉴定，发现云南泡梨中乳酸菌含量丰富，其中植物乳杆菌为泡梨发酵后期的优势菌。王俊瑞等<sup>[34]</sup>在研究东北传统发酵白菜时发现植物乳杆菌在白菜发酵的不同阶段对产品的风味、口感等起着积极作用。而有研究证明乳酸菌是发酵泡菜中绝对的优势菌，其中植物乳杆菌是分离最多的一类乳酸菌<sup>[35]</sup>。有研究<sup>[36]</sup>利用植物乳杆菌制备了具有抗氧化活性的发酵蔬菜水果

饮料,证明了植物乳杆菌可以成功用于配制蔬菜水果饮料。泡梨作为云南地区具有代表性的发酵水果,目前尚未有其发酵原理的相关报道。本文研究并鉴定了参与泡梨发酵的乳酸菌,揭示了泡梨发酵中乳酸菌分布情况。研究表明,植物乳杆菌在云南发酵泡梨中具有优势地位,并发现在自然发酵泡梨中风味物质种类丰富,但高含量的苯甲酸影响了自然发酵泡梨的气味,存在一定的缺陷。另外,我们发现泡梨中除了含有丰富的乳酸菌之外,酵母菌也参与了泡梨发酵的过程。酵母菌在泡梨发酵中能产生酒精、甘露醇、有机酸、维生素等丰富的物质,从而赋予泡梨独特的口感和香气。例如梁莉等<sup>[37]</sup>利用乳酸菌与酵母菌复配制得品质优良并风味独特的复合发酵南瓜汁。张晓等<sup>[26]</sup>将植物乳杆菌、短乳杆菌和鲁氏酵母 3 种菌复合发酵制备的泡菜母液中乳酸菌活菌数可达  $1.78 \times 10^8$  CFU/mL,酵母菌活菌数达  $1.22 \times 10^8$  CFU/mL。这说明酵母在发酵食品中的地位尤为重要,而本文针对乳酸菌进行了较为系统的微生物分类分析与应用,关于两者在泡梨发酵中的相互作用及对泡梨发酵的影响有待进一步研究阐明。

此外,复合乳酸菌发酵对泡梨发酵过程及品质的改善起重要作用。有研究利用多种乳酸菌复合发酵生产乳品饮料、泡菜等,并证明乳酸菌复合发酵剂对提高食品的热稳定性和口感有明显的效果<sup>[38-39]</sup>。Sun 等在制备葡萄酒的研究中发现选用乳酸菌发酵剂和合理的酸度使葡萄酒的“果味”感有明显增加<sup>[40]</sup>。在本研究中,将植物乳杆菌与短乳杆菌以 1:1 的比例进行复配,发现在发酵前期添加复合乳酸菌的泡梨比自然发酵泡梨的产酸周期缩短。另外,在感官与风味物质分析中发现,复合乳酸菌发酵泡梨中富含的酯类风味物质在嗅觉、味觉上赋予的体验优于自然发酵泡梨。研究发现在有氧代谢中,短乳杆菌由乳酸→丙酮酸→乙酸转化的新途径中丙酮酸脱氢酶具有关键作用,这可能是短乳杆菌在发酵前期进行有氧活动,使复合乳酸菌发酵泡梨更快产酸并累积,从而使发酵前期 pH 值降

低,加快发酵速率。而植物乳杆菌在有氧条件下,其自身过氧化氢酶的激活对细胞的存活具有强的保护作用<sup>[41]</sup>,该研究从侧面证明了我们选择的复合发酵剂对泡梨稳定性及风味物质的形成起着积极作用。

综上,云南泡梨中乳酸菌分布较为丰富,主要包括植物乳杆菌、类植物乳杆菌、戊糖乳杆菌、干酪乳杆菌、副干酪乳杆菌和短乳杆菌,而其中植物乳杆菌为发酵泡梨的优势菌。另外,在泡梨发酵的前期人为接种复合乳酸菌能提高泡梨发酵过程中的产酸速率,即找到泡梨发酵的优势菌并人为添加可以大大缩短泡梨制备的工艺周期。从泡梨的风味层面来说,复合乳酸菌发酵泡梨中的风味物质比自然发酵泡梨更丰富,制备的泡梨口感更耐人回味。本研究科学分析了泡梨中乳酸菌的分布情况,为云南泡梨工业化生产提供了理论依据,提出在泡梨生产上可利用优势菌复合发酵以缩短发酵周期,增加风味物质丰富度,为泡梨产业的可持续发展提供新的方向。

## REFERENCES

- [1] Wang B, Li SY, Zhang CP, et al. PCR-DGGE analysis for bacterial diversity of fruit pickles in Yuxi region[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2017, 32(4): 740-746 (in Chinese)  
王蓓, 李淑英, 张翠萍, 等. PCR-DGGE 分析玉溪地区水果泡菜中细菌多样性[J]. 云南农业大学学报: 自然科学, 2017, 32(4): 740-746
- [2] Gao W. Isolation and identification of lactic acid bacteria for the pickles from some regions in Sichuan province[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2010 (in Chinese)  
高娃. 四川部分地区泡菜中乳酸菌的分离鉴定[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2010
- [3] Sulaiman NB, Arief II, Budiman C. Characteristic of lamb sausages fermented by Indonesian meat-derived probiotic, *Lactobacillus plantarum* IIA-2C12 and *Lactobacillus acidophilus* IIA-2B4[J]. Media Peternakan, 2016, 39(2): 104-111
- [4] Shi YJ. The separation of LAB for fermented chili sauce and series chili sauce product research[D]. Shihezi: Master's Thesis of Shihezi University, 2013 (in Chinese)  
时永杰. 乳酸菌发酵辣椒酱菌种的筛选及系列辣椒酱产品的研发[D]. 石河子: 石河子大学硕士学位论文, 2013

- [5] Wang YX, Kui KG. Dyeing technology of Dali folk pear[J]. Fruit Growers' Friend, 2000(1): 37 (in Chinese)  
王玉兴, 奎克恭. 大理民间泡梨的泡制技术[J]. 果农之友, 2000(1): 37
- [6] Chen X, Xu SG, Zhou T, et al. Effect of autochthonous *Lactobacillus plantarum* from Guizhou fermented meat (Nanx Wudl) on flavor and quality characteristics of fermented sausages[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(6): 174-182 (in Chinese)  
陈曦, 许随根, 周彤, 等. 贵州酸肉中的植物乳杆菌对发酵香肠风味和品质特性的影响[J]. 中国食品学报, 2018, 18(6): 174-182
- [7] Su NN, Guan QQ, Peng Z, et al. Effects of lactic acid bacteria on quality and antibacterial properties of mulberry puree[J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(9): 117-124 (in Chinese)  
苏能能, 关倩倩, 彭珍, 等. 乳酸菌发酵对桑葚浆品质及抑菌性能的影响[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(9): 117-124
- [8] Ling DW, Dong XZ. Classification and Identification of Lactic Acid Bacteria and Experimental Methods[M]. Beijing: China Light Industry Press, 1999 (in Chinese)  
凌代文, 东秀珠. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999
- [9] Dong XZ, Cai MY. Common Bacterial System Identification Manual[M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese)  
东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001
- [10] Zhang J, Xu GH, You LQ. Identification of lactic acid bacteria by 16S rDNA sequencing[J]. Innovation Edition of Farm Products Processing, 2009(4): 47-49, 69 (in Chinese)  
张洁, 徐桂花, 尤丽琴. 16S rDNA 序列分析法鉴定乳酸菌[J]. 农产品加工: 创新版, 2009(4): 47-49, 69
- [11] Lan WT, Chen YS, Yanagida F. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from *Yan-dong-gua* (fermented wax gourd), a traditional fermented food in Taiwan[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2009, 108(6): 484-487
- [12] Zhang X, Zhao Y, Liu Y, et al. Analysis of the volatiles in two kinds of Korea kimchi by gas chromatograph-mass spectrometry with solid phase microextraction[J]. Food and Fermentation Industries, 2009, 35(1): 150-156 (in Chinese)  
章献, 赵勇, 刘源, 等. 2 种韩国泡菜挥发性风味物质分析研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(1): 150-156
- [13] Ho VTT, Zhao J, Fleet G. The effect of lactic acid bacteria on cocoa bean fermentation[J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 205: 54-67
- [14] Zhao N, Zhang CC, 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
- [15] Park SE, Yoo SA, Seo SH, 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
- [16] Xiao ZB, Zhu JC, Feng T, et al. Comparison of volatile components in Chinese traditional pickled peppers using HS-SPME-GC-MS, GC-O and multivariate analysis[J]. Natural Product Research, 2010, 24(20): 1939-1953
- [17] Stefanovic E, Fitzgerald G, McAuliffe O. Advances in the genomics and metabolomics of dairy lactobacilli: a review[J]. Food Microbiology, 2017, 61: 33-49
- [18] Yang YL. Isolation and identification of the *Lactobacillus plantarum* strain from pickles and its application[D]. Guangzhou: Master's Thesis of South China University of Technology, 2013 (in Chinese)  
杨永亮. 泡菜中植物乳杆菌的分离鉴定及其应用[D]. 广州: 华南理工大学硕士学位论文, 2013
- [19] Zhang AQ. The preliminary study of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* and its apply on pickled vegetable[D]. Yaan: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2007 (in Chinese)  
张艾青. 产广谱细菌素植物乳杆菌的初步研究及其在泡菜中的应用[D]. 雅安: 四川农业大学硕士学位论文, 2007
- [20] Wang SQ, Bao Y, Dong XM, et al. Physiological function and application of *Lactobacillus plantarum*[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2010, 12(4): 49-55 (in Chinese)  
王水泉, 包艳, 董喜梅, 等. 植物乳杆菌的生理功能及应用[J]. 中国农业科技导报, 2010, 12(4): 49-55
- [21] Wang LP, Wang X, Ai LZ, et al. Fermentation of low-salt pickled radish by pure strains of *Lactobacillus plantarum*[J]. Food Science, 2013, 34(17): 182-186 (in Chinese)  
汪立平, 汪欣, 艾连中, 等. 纯种植物乳杆菌发酵低盐萝卜泡菜的研究[J]. 食品科学, 2013, 34(17): 182-186
- [22] Tigu F, Assefa F, Mehari T, et al. Probiotic property of lactic acid bacteria from traditional fermented condiments: *Datta* and *Awaze*[J]. International Food Research Journal, 2016, 23(2): 770-776
- [23] Liu HX, Hu SL, Liu WJ, et al. Survey of diversity of lactic acid bacteria in traditional fermented milk products from Kazakhstan[J]. China Dairy Industry, 2017, 45(7): 9-12 (in Chinese)  
刘红新, 呼斯楞, 刘文俊, 等. 哈萨克斯坦传统发酵乳制品中乳酸菌的多样性[J]. 中国乳品工业, 2017, 45(7): 9-12
- [24] Zha MS. Diversity analysis of lactic acid bacteria in traditional yak milk products in Tibet[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2014 (in Chinese)  
扎木苏. 西藏地区传统牦牛奶制品中乳酸菌的多样性研

- 究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2014
- [25] Xiong T, Guan QQ, Song SH, et al. Dynamic changes of lactic acid bacteria flora during Chinese sauerkraut fermentation[J]. Food Control, 2012, 26(1): 178-181
- [26] Zhang X, Xia YB. Optimizing mother liquid condition for celery pickle preparation based on composite fermentation of lactic acid bacteria and yeast[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2013, 39(2): 204-208 (in Chinese)  
张晓, 夏延斌. 乳酸菌和酵母菌复合发酵芹菜汁制备泡菜母液条件的优化[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2013, 39(2): 204-208
- [27] Yan Z, Wang CL, Gu XB. Influence of pH on the growth of *Lactobacillus casei* G-7 and lactic acid production[J]. Food and Fermentation Industries, 2003, 29(6): 35-38 (in Chinese)  
闫征, 王昌禄, 顾晓波. pH值对乳酸菌生长和乳酸产量的影响[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(6): 35-38
- [28] Hou AX, Wang YQ, Huang Q, et al. Comparison of volatile flavor compounds and qualities between naturally fermented and inoculated Chinese leaf mustard (*Brassica juncea* Coss.) grown in Hunan province, China[J]. Food Science, 2018, 39(6): 237-245 (in Chinese)  
侯爱香, 王一淇, 黄晴, 等. 自然发酵与人工接种发酵湖南芥菜的挥发性风味组分和品质分析[J]. 食品科学, 2018, 39(6): 237-245
- [29] Gu SQ, Wang XC, Tao NP, et al. Characterization of volatile compounds in different edible parts of steamed Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. Food Research International, 2013, 54(1): 81-92
- [30] Chen Z, Huang D, Yu H, et al. Effect of functional bacteria on the formation of flavor substances in pickles[J]. China Condiment, 2017, 42(12): 66-70 (in Chinese)  
陈卓, 黄丹, 于华, 等. 功能菌对泡菜风味物质形成的影响[J]. 中国调味品, 2017, 42(12): 66-70
- [31] Cao D, Cao L, Fan LC, et al. Changes of volatile flavor compounds in pickles during fermentation[J]. Cereals & Oils, 2017, 30(3): 45-49 (in Chinese)  
曹东, 曹琳, 范林川, 等. 泡菜发酵过程挥发性风味成分的变化[J]. 粮食与油脂, 2017, 30(3): 45-49
- [32] Li YB, Wu HC, Deng J, et al. Preparation of a complex bacteria agent for pickles and evaluation of fermentation performance[J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(12): 98-104 (in Chinese)  
李玉斌, 吴华昌, 邓静, 等. 复合泡菜专用菌剂的制备与发酵性能评价[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(12): 98-104
- [33] Adams TB, Gavin CL, Taylor SV, et al. Corrigendum to: "The FEMA GRAS assessment of a,b-unsaturated aldehydes and related substances used as flavor ingredients" [Food and Chemical Toxicology 46 (2008) 2935-2967][J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(10): 2686
- [34] Wu JR, Yue XQ, Shi P, et al. Diversity of lactic acid bacteria involved in Suan-Cai using PCR-DGGE[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2014, 33(2): 127-130 (in Chinese)  
武俊瑞, 岳喜庆, 石璞, 等. PCR-DGGE 分析东北自然发酵酸菜中乳酸菌多样性[J]. 食品与生物技术学报, 2014, 33(2): 127-130
- [35] Zhang QS, Chen G, Shen WX, et al. Review of the diversity and dynamics of lactic acid bacteria in Chinese Paocai[J]. Sichuan Food and Fermentation, 2016, 52(6): 1-8 (in Chinese)  
张其圣, 陈功, 申文熹, 等. 中国泡菜乳酸菌群落结构动态变化研究进展[J]. 食品与发酵科技, 2016, 52(6): 1-8
- [36] Yang XX, Zhou JC, Fan LQ, et al. Antioxidant properties of a vegetable-fruit beverage fermented with two *Lactobacillus plantarum* strains[J]. Food Science and Biotechnology, 2018, 27(6): 1719-1726
- [37] Liang L, Cheng C, Zhang LY, et al. Study on the processing technique of pumpkin juice co-fermented by lactic acid bacteria and yeast[J]. Food Research and Development, 2016, 37(13): 88-91, 92 (in Chinese)  
梁莉, 程晨, 张柳茵, 等. 乳酸菌和酵母菌复合发酵南瓜汁工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(13): 88-91, 92
- [38] Gong YZ, Wang C. A new lactic acid bacteria fermented composite agent and its application[J]. Food and Fermentation Industries, 2014, 40(4): 87-90 (in Chinese)  
弓耀忠, 王呈. 一种新型乳酸菌复合发酵剂的应用及效果[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(4): 87-90
- [39] Zong XY, Ye GB, Bai BY, et al. Prediction of the shelf life for compound starters of lactic acid bacteria[J]. Journal of Ningxia Normal University, 2018, 39(4): 42-45 (in Chinese)  
宗绪岩, 叶光斌, 白彬阳, 等. 乳酸菌复合发酵剂贮藏保质期预测研究[J]. 宁夏师范学院学报, 2018, 39(4): 42-45
- [40] Sun SY, Chen ZX, Jin CW. Combined influence of lactic acid bacteria starter and final pH on the induction of malolactic fermentation and quality of cherry wines[J]. LWT, 2018, 89: 449-456
- [41] Menghe BLG, Kong J, Liu WJ, et al. 2013 annual performance report on the study of characteristic resources of lactic acid bacteria and its technology of starter culture and metabolic engineering[J]. Science and Technology Innovation Herald, 2016, 13(7): 163-164 (in Chinese)  
孟和毕力格, 孔健, 刘文俊, 等. 乳酸菌特色资源及乳酸菌发酵剂和代谢工程技术研究课题 2013 年度执行情况报告[J]. 科技创新导报, 2016, 13(7): 163-164