

内蒙古阿拉善白绒山羊奶及其乳制品 细菌多样性分析

杨晓凤¹, 于靖和¹, 刘明超¹, 何宇星^{1,2}, 乌云达来^{1*}

(1. 内蒙古农业大学食品科学与工程学院, 内蒙古呼和浩特 010018)

(2. 鄂尔多斯市检验检测中心, 内蒙古鄂尔多斯 017010)

摘要: 该研究利用高通量测序技术对采集自内蒙古阿拉善的 15 份白绒山羊奶及其乳制品样本进行细菌多样性分析。结果表明, 其中细菌多样性和丰富度均存在显著差异 ($P<0.05$), 山羊奶加工成传统乳制品后优势菌门和优势菌属发生明显变化, 并且还有很多未被明确分类的细菌属。同时, *Enterobacter* (肠杆菌属)、*Enterococcus* (肠球菌属)、*Raoultella* 及 *Pseudomonas* (假单胞菌属) 等食源性致病菌属相对丰度在乳制品中骤然下降。在 OTU 水平, Shurmeg (奶酪) 细菌物种组成最丰富, 同时, 独有细菌物种也为最多。经 PICRUST2 软件预测细菌基因功能可知, 山羊奶及其乳制品中细菌的主要代谢基因功能为 Global and Overview Maps、碳水化合物代谢 (Carbohydrate Metabolism) 及氨基酸代谢 (Amino Acid Metabolism) 等。综上所述, 该研究结果不仅对内蒙古阿拉善白绒山羊奶及其乳制品中细菌多样性确定充分的认识, 而且为山羊奶及其乳制品中细菌菌群的比较、功能基因的预测及安全性评价提供依据。

关键词: 阿拉善盟; 山羊奶; 乳制品; 细菌多样性

文章编号: 1673-9078(2025)03-115-123

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.3.0170

Analysis of Bacterial Diversity in White Cashmere Goat Milk and Its Dairy Products Collected from Alxa, Inner Mongolia

YANG Xiaofeng¹, YU Jinghe¹, LIU Mingchao¹, HE Yuxing^{1,2}, Wuyundalai^{1*}

(1. College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

(2. Ordos Inspection and Testing Center, Ordos 017010, China)

Abstract: High-throughput sequencing was used to analyze bacterial diversity in 15 samples of white cashmere goat milk and its dairy products collected from Alxa, Inner Mongolia. The samples differed significantly in bacterial diversity and richness ($P<0.05$). Processing goat milk into traditional dairy products greatly alters the dominant bacterial phyla and genera and introduces many unclassified bacteria. Additionally, the relative abundances of foodborne pathogens, including *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Raoultella*, and *Pseudomonas*, were greatly reduced in the traditional dairy products. At the operational taxonomic unit level, Shurmeg had the richest composition of bacterial species and the highest number of unique

引文格式:

杨晓凤, 于靖和, 刘明超, 等. 内蒙古阿拉善白绒山羊奶及其乳制品细菌多样性分析[J]. 现代食品科技, 2025, 41(3): 115-123.

YANG Xiaofeng, YU Jinghe, LIU Mingchao, et al. Analysis of bacterial diversity in white cashmere goat milk and its dairy products collected from Alxa, inner Mongolia [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(3): 115-123.

收稿日期: 2024-02-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32360570); 内蒙古自治区科技计划重大专项项目 (2020CG0012)

作者简介: 杨晓凤 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品微生物及其生物技术、益生菌, E-mail: 1939927070@qq.com

通讯作者: 乌云达来 (1975-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物及其生物技术、益生菌, E-mail: wydlnm@126.com

bacterial species. According to PICRUSt2-based prediction of gene function, the main metabolic gene functions of bacteria in goat milk and its dairy products included global and overview maps, carbohydrate metabolism, and amino acid metabolism. The results of this study clarify the bacterial diversity in white cashmere goat milk and its dairy products collected in Alxa, Inner Mongolia, providing a basis for comparison of bacterial microbiota, prediction of functional genes, and safety evaluation of goat milk and its dairy products.

Key words: Alxa League; goat milk; dairy product; bacterial diversity

内蒙古阿拉善白绒山羊奶及其乳制品营养价值丰富, 保健作用突出, 但对其发挥益生作用的细菌多样性相关研究鲜有报道。内蒙古阿拉善白绒山羊属于克什米尔绒山羊的一支, 在阿拉善特定生态条件下, 经长期自然选择和人工培育而形成的地方良种^[1,2]。据研究报道, 山羊奶具有比牛奶更易消化吸收和过敏原特性较低等特点^[3,4]。牧民们非常注意保藏山羊奶时的干净卫生, 通常将山羊奶制成 Shurmeg (奶酪)、Wurum (奶皮子)、Airag (奶酒) 等乳制品食用。山羊奶及其乳制品富含丰富的碳水化合物、蛋白质、脂肪、维生素以及人体所需的微量元素 (如钙、磷、锌等)^[5], 并且具有预防心脑血管疾病、调节免疫系统、预防衰老及促进生长发育等益生功能^[6,7]。因此, 当地牧民非常重视山羊奶及其乳制品的日常饮食, 在牧民心目中具有神圣的地位, 蒙语将其统称为“查干益得”, 意为白色的食物。

Shurmeg (奶酪) 是先将生鲜山羊奶进行发酵后去除部分奶油后加热处理, 挤压除去乳清后成形的一种发酵乳制品^[8]。其具有形状多样、口感独特等特点, 这与其加工工艺 (加热温度、发酵时间、排乳清程度等) 有着密切的联系。通过自然发酵而制作的 Shurmeg (奶酪) 主要涉及乳酸菌和酵母菌的发酵^[9,10], 因此生鲜羊奶中固有微生物和环境微生物的菌群多样性可导致奶酪感官特性的差异。Wurum (奶皮子) 是将生鲜山羊奶加热至沸腾, 不断翻扬搅拌, 使乳脂肪上浮于山羊奶表面并紧密结合而成的一种多孔结构油层固形物, 其制作工艺虽然较简单, 但优质的传统山羊奶皮受很多制作工艺参数的控制, 如加热温度、翻扬次数、保温温度及保温时间等。Airag (奶酒) 是一种酒精含量较低的乳饮料, 通常由新鲜马奶制作, 但有时也由新鲜羊奶制作^[11]。使用传统发酵剂 (Hurunge) 制作的 Airag (奶酒) 是蒙古族自古以来特有的生活习俗, 特别是传统发酵剂的传代保存对次年制作 Airag (奶酒) 的成与败起着至关重要的作用, 因此蒙古族非常重视 Airag (奶酒) 的制作和传统发酵剂的传代

保存^[12]。据研究报道, Airag (奶酒) 且具有丰富的营养价值, 1 L Airag (奶酒) 可满足一个成年人的每日维生素 C 的需求^[13]。因此, 研究具有独特的地理、气候条件下生存的阿拉善白绒山羊乳及其发酵乳制品中蕴藏着丰富的有益微生物资源具有重要的意义。

因此, 本研究利用高通量测序技术, 基于细菌 16S rRNA 基因的 V3-V4 可变区序列, 分析内蒙古阿拉善地区白绒山羊奶及其乳制品中的细菌多样性并进行功能基因预测, 对进一步提高对内蒙古阿拉善地区乳及其乳制品中细菌多样性的认识, 为山羊奶及其乳制品中优势菌群的比较和功能基因的预测提供基础的数据分析。

1 材料与方法

1.1 样本的收集

表 1 样本采集信息
Table 1 Sample collection information

样本种类	样本编号	采集地点
山羊奶	M-1	阿拉腾敖包镇
	M-2	曼德拉苏木
	M-3	雅布赖镇
	M-4	雅布赖镇
	M-5	雅布赖镇
	M-6	巴彦高勒苏木
奶酪	S-1	曼德拉苏木
	S-2	阿拉腾朝克苏木
	S-3	巴彦高勒苏木
奶皮子	W-1	曼德拉苏木
	W-2	雅布赖镇
	W-3	巴彦高勒苏木
奶酒	A-1	雅布赖镇
	A-2	阿拉腾朝克苏木
	A-3	阿拉腾朝克苏木

山羊奶及其乳制品 Shurmeg (奶酪)、Wurum (奶皮子)、Airag (奶酒) 样本共 15 份, 于 2021 年 9 月采集自内蒙古阿拉善右旗 3 个苏木、2 个镇的牧民家庭, 具体样本采集信息和位置如表 1 所示。乳制品的制作过程中均未添加任何食品添加剂和商业发酵剂。将收集的样本储存在 50 mL 无菌离心管中, 通过车载冰箱低温 (1~4 °C) 保存, 然后转运到实验室保存于 -80 °C 备用。

1.2 DNA提取与PCR扩增

根据制造商的说明, 使用 E.Z.N.A.® soil DNA Kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 从山羊奶及其乳制品中提取微生物群落基因组 DNA。在 1% 琼脂糖凝胶上检查 DNA 完整性, 用 NanoDrop 2000 紫外-可见分光光度计 (Thermo Scientific, Wilmington, USA) 测定 DNA 纯度和浓度。通过添加引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTW TCTAAT-3'), 使用 PCR 热循环仪 (美国加利福尼亚州 ABI) 对进行细菌 16S rRNA 基因的高变区 V3-V4 扩增。PCR 反应体系: 5×Fast Pfu Buffer, 4 μL; 2.5 mmol/L dNTPs, 2 μL; 5 μmol/L Forward Primer, 0.8 μL; 5 μmol/L Reverse Primer, 0.8 μL; Fast Pfu Polymerase, 0.4 μL; BSA, 0.2 μL; Template DNA, 10 ng; 补 ddH₂O 至 20 μL。参数如下: 95 °C 变性 3 min; 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 30 次循环; 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 终止。从 2 wt.% 琼脂糖凝胶中回收 PCR 产物, 使用 AxyPrep DNA 凝胶提取试剂盒 (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 根据制造商的说明进行纯化, 并使用 Quantus 荧光计 (Promega, USA) 进行定量。

1.3 Illumina MiSeq测序

利用 Illumina 公司的 MiSeq PE300/NovaSeq PE250 平台进行测序 (中国上海), 将原始数据存入 NCBI 序列读取档案 (SRA) 数据库 (登录号: PRJNA867164)。

1.4 测序数据处理

使用 fastp^[14] (<https://github.com/OpenGene/fastp>, version 0.20.0) 软件对原始测序序列进行质控, 使用 FLASH^[15] (<http://www.cbcb.umd.edu/software/flash>, version 1.2.7) 软件进行拼接: (1) 过滤 reads 尾部质量值 20 以下的碱基, 设置 50 bp 的窗口, 如

果窗口内的平均质量值低于 20, 从窗口开始截去后端碱基, 过滤质控后 50 bp 以下的 reads, 去除含 N 碱基的 reads; (2) 根据 PE reads 之间的 overlap 关系, 将成对 reads 拼接 (merge) 成一条序列, 最小 overlap 长度为 10 bp; 拼接序列的 overlap 区允许的最大错配比率为 0.2, 筛选不符合序列; (3) 根据序列首尾两端的 barcode 和引物区分样品, 并调整序列方向, barcode 允许的错配数为 0, 最大引物错配数为 2。

使用 UPARSE 软件 (<http://drive5.com/uparse/>, version 7.1)^[16,17], 根据 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类。利用 RDP classifier (<http://rdp.cme.msu.edu/>, version 2.2)^[18] 对每条序列进行物种分类注释, 比对 Silva 16S rRNA 数据库 (v138), 设置比对阈值为 70%。

1.5 生物信息学和统计分析

使用 Mothur 软件 (V.1.30.2) 计算样本序列, 提取最小数量的样本序列后, 在 OTU 水平上计算 Shannon、Simpson、Ace、Chao1 及 Good's coverage 等 Alpha 多样性指数, 并绘制 Sobs 指数曲线图和 Shannon 指数曲线。用 Qiime 软件计算 Beta 多样性距离矩阵, 用 R 语言 (3.3.1 版) 绘制样本层次聚类图; 用 R 语言 (3.3.1 版) 进行 PCoA 的统计分析和绘图; 使用 R 语言 vegan 软件包进行 NMDS 分析和作图, 然后比较样品之间的相似性; 使用 R 语言 (3.3.1 版) 进行 Venn 统计和绘图; 根据 tax_summary_a 文件夹中的数据表, 使用 R 语言 (3.3.1 版) 工具绘制条形图; Kruskal-Wallis 秩和检验用于组间差异的统计分析, FDR 多重检验用于校正, Welch (uncorrected) 检验方法用于事后检验。各组之间的差异水平值为 0.95。基于细菌 16S rRNA 基因, 利用 PICRUSt 2 预测羊奶和乳制品中细菌的基因功能, 以找出微生物参与的 KEGG 代谢途径。生物信息学分析在 Majorbio I-Sanger 云平台上进行。组间统计分析采用 Kruskal-Wallis 秩和检验, $P < 0.05$ 视为差异显著。相关绘图使用 Origin 2020b。

1.6 数据分析

每组试验重复三次, 各试验数据以平均值 ± 标准误差 ($\bar{X} \pm SD$) 表示, 使用 SPSS 26.0 软件对试验数据进行统计分析处理, 以 P 值表示统计学的差异, 以 $P < 0.05$ 有显著性差异, $P < 0.01$ 极显著性差异。用 Excel 及 Origin 2020b 进行绘图。

表 2 山羊奶及其乳制品中细菌16S rRNA基因序列特征分析

Table 2 Characterization of bacterial 16S rRNA gene sequences in Goat milk and its dairy products

Sample number	Seq-num	OTUs	Good's coverage
M-1	42 795	34	0.999 6
M-2	48 210	43	0.999 8
M-3	43 189	23	0.999 8
M-4	46 267	40	0.999 9
M-5	46 841	26	0.999 8
M-6	37 770	33	0.999 8
C-1	43 941	440	0.997 2
C-2	48 558	102	0.998 9
C-3	38 734	180	0.998 3
W-1	45 696	237	0.998 1
W-2	44 184	272	0.997 3
W-3	53 217	150	0.998 9
A-1	42 285	81	0.999 6
A-2	43 955	22	0.999 9
A-3	43 825	41	0.999 8

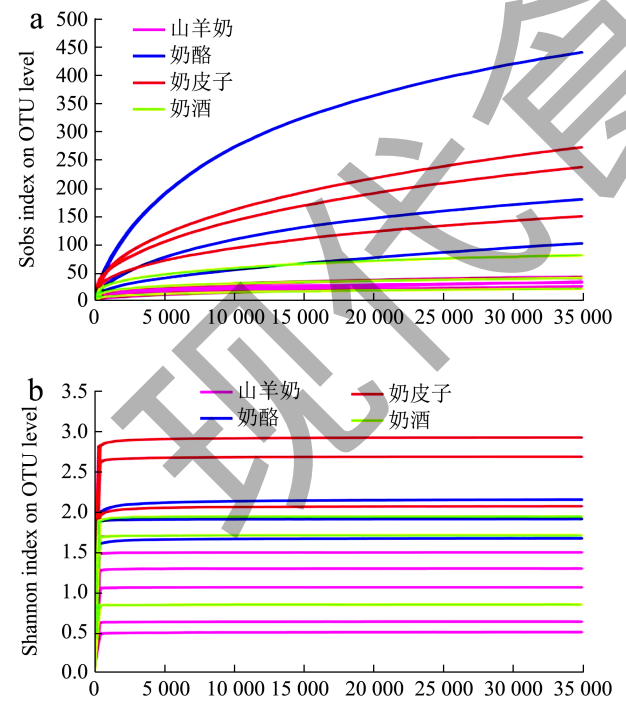


图 1 OTU 水平细菌的 Sobs 指数曲线和 shannon 指数曲线

Fig.1 Rarefaction curve and Shannon index curve of bacteria based on OTU level

2 结果与讨论

2.1 细菌16S rRNA基因序列特点

对内蒙古阿拉善地区山羊奶及其乳制品样本（共 15 份）中细菌 16S rRNA 基因序列进行测序并质控分析（见表 2），共获得 669 467 条高质量 16S rRNA 基因序列，每个样本平均产生 44 631 条（SD=3 699），平均长度为 424 bp。所有高质量的 16S rRNA 基因序列按 97% 相似度进行 OTU 聚类，共鉴定出 1 724 个 OTUs，每个样本中 OTU 数量在 22~272 之间。同时，采用稀释性曲线、细菌 Shannon 指数曲线（见图 1）及 Good's coverage 值（>0.99）分析得知，当前测序深度足以揭示样本中大多数细菌多样性，因此本研究中细菌 16S rRNA 基因序列的测序量可满足后续生物信息学分析的要求。

2.2 细菌的 Alpha 多样性分析

由 Shannon 指数结果（如图 2a）可知，山羊奶、奶酪、奶酒之间的 Shannon 指数均无显著差异（ $P>0.05$ ），而且奶酪、奶皮子之间的 Shannon 指数也无显著差异（ $P>0.05$ ），但奶皮子的 Shannon 指数显著高于山羊奶和奶酒（ $P<0.05$ ）。在 Simpson 指数（如图 2b）中山羊奶的 Simpson 指数显著高于奶皮子（ $P<0.05$ ），但与奶酪和奶酒之间均无显著差异（ $P>0.05$ ）；而且奶酪、奶皮子、及奶酒之间的 Simpson 指数均无显著性差异（ $P>0.05$ ）。由 Ace 指数（如图 2c）和 Chao1 指数（如图 2d）分析可知，山羊奶和奶酒之间的 Ace 指数和 Chao1 指数均无显著差异（ $P>0.05$ ），而且奶酪和奶皮子之间的 Ace 指数和 Chao1 指数也均无显著差异（ $P>0.05$ ）。但奶酪和奶皮子的 Ace 指数和 Chao1 指数均显著高于山羊奶和奶酒（ $P<0.05$ ）。因此，奶酪和奶皮子的细菌多样性和丰富度均高于山羊奶；奶酒的细菌多样性高于山羊奶，但丰富度大致相等。所以，山羊奶及其乳制品的细菌多样性和丰富度存在显著差异，而且山羊奶的细菌群落组成随着通过传统工艺制作成乳制品其细菌多样性和丰富度发生变化。

2.3 细菌Beta多样性分析

基于 brary_curtis 距离算法绘制样本层级聚

类图、PCoA 图及 NMDS 图，进而比较山羊奶及其乳制品样本中细菌菌群组成的相似性和差异性（见图 3）。山羊奶、奶皮子及奶酒的细菌完全分开，分为三大聚类（见图 3a），但奶酪的样本 S-1 和样本 S-3 与奶皮子细菌聚集在一起，而样本 S-2 与奶酒细菌聚集在一起。即山羊奶、奶皮子、及奶酒各自的细菌菌群结构相似性高，而奶酪中细菌菌群结构与奶皮子和奶酒具有一定的相似性。因此，山羊奶及其乳制品的细菌菌群结构存在差异。PCoA 图（图 3b）和 NMDS 图（图 3c）分析可知，山羊奶及其乳制品的细菌聚类在四个明显分开的区域，表明山羊奶及其乳制品的细菌菌落组成存在显著差异（ $P<0.05$ ）。因此，进一步证明山羊奶及其乳制品的细菌菌群结构存在差异。

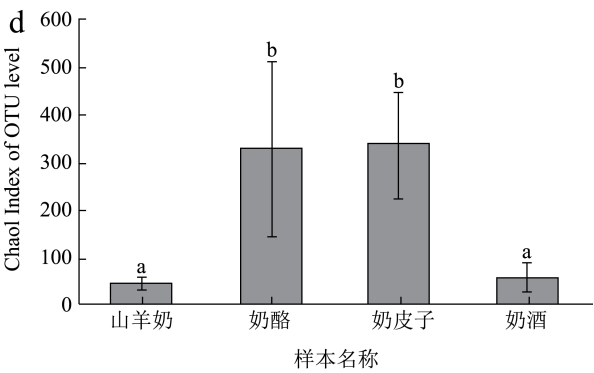
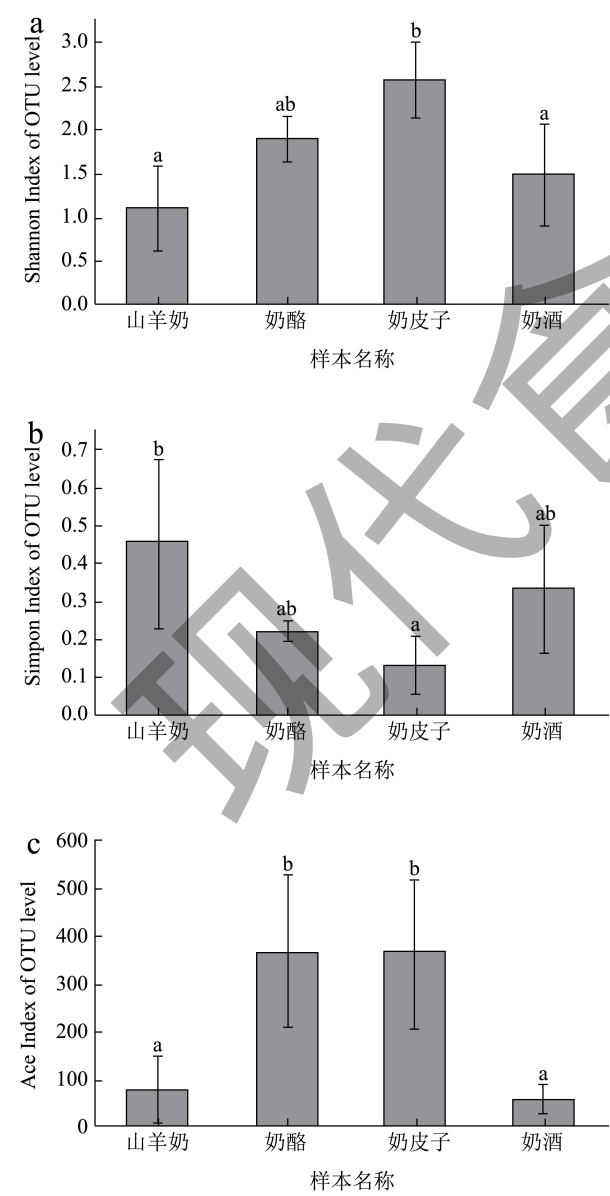


图 2 细菌 Alpha 多样性及组间差异分析
Fig.2 Alpha diversity of bacteria and analysis of differences between groups

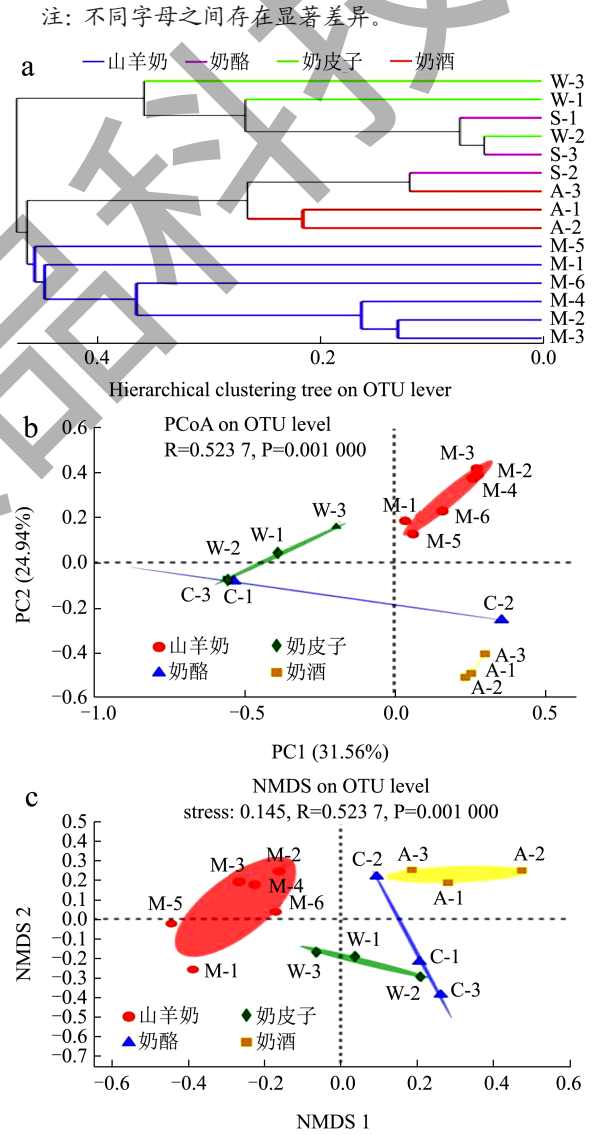


图 3 基于 brary_curtis 距离算法绘制山羊奶及其乳制品细菌 Beta 多样性分析
Fig.3 Mapping of bacterial Beta diversity based on the brary_curtis distance algorithm

注: a 为样本层级聚类图, b 为 PCoA 图, c 为 NMDS 图。

2.4 细菌物种组成与差异性分析

基于 16S rRNA 基因测序结果在所有样本中共鉴定出 26 个细菌门,但在各样本相对丰度大于 1.0% 的细菌门中,山羊奶和奶酒的优势细菌门均为 Firmicutes (58.01% 和 75.96%) 和 Proteobacteria (41.84% 和 23.91%)。奶酪的优势细菌门为 Firmicutes (28.01%)、Proteobacteria (45.99%) 及 Actinobacteria (25.28%);而奶皮子的优势细菌门为 Firmicutes (21.29%)、Proteobacteria (49.78%)、Actinobacteria (23.36%) 及 Cyanobacteria (4.81%) (如图 4a)。由此可知,阿拉善白绒山羊奶及其乳制品的共有优势细菌门为 Firmicutes 和 Proteobacteria,这与 Fugl 等^[19]研究埃塞俄比亚自然发酵驼乳、Gao 等^[20]研究内蒙古奶酪、奶豆腐和马奶酒等乳制品中的主要细菌门的结果一致。但随着自然发酵和不同工艺制作的乳制品,其优势细菌门的相对丰度发生改变,优势细菌门的数量增多。丰富的营养物质和开放式发酵方法有助于细菌多样性的保留和交换,各种细菌之间的相互作用为乳制品提供了独特的风味和地域性特性。尤其,乳酸菌可将碳水化合物发酵成乳酸,乳酸可快速酸化食品质地,从而延长产品的保质期、提高微生物的安全性和促进风味物质的形成^[21]。山羊奶及其乳制品中共鉴定出 419 个细菌属,优势细菌属如表 3 和图 4b 所示,奶酪和奶皮子的细菌属丰富度远高于山羊奶和奶酒细菌属丰富度。其中,奶皮子的细菌属丰富度最高,奶酒的细菌属丰富度最低。且山羊奶及其乳制品的优势菌属及其占比也存在较大差异,奶皮子的优势菌属为 *Rhodococcus* (红球菌属) (17.91%)、*Variovorax* (13.30%)、*Bacillus* (杆菌属) (9.30%)、*Enterobacter* (肠杆菌属) (7.67%) 等;奶酪的优势菌属为 *Rhodococcus* (红球菌属) (24.03%)、*Lactobacillus* (乳酸菌属) (16.32%)、*Variovorax* (15.04%)、*Lactococcus* (乳球菌) (9.20%)、*Acetobacter* (醋酸杆菌) (8.11%) 等;山羊奶的优势菌属为 *Lactococcus* (乳球菌) (42.09%)、*Enterobacter* (肠杆菌属) (19.46%)、*Enterococcus* (肠球菌属) (11.78%)、*Acinetobacter* (不动杆菌属) (9.88%) 等;奶酒的优势菌属为 *Lactobacillus* (乳酸菌属) (69.02%)、*Acetobacter* (醋酸杆菌) (22.04%)、*Lactococcus* (乳球菌) (4.88%) 等。同时山羊奶及其乳制品中有很多未被明确分类的细菌属,如奶皮子和奶酪中的 *unclassified-f-Rhizobiaceae*

(分别为 12.77% 和 14.31%)、奶皮子中的 *norank_f_norank_o_Chloroplast* (4.80%)、山羊奶中的 *unclassified-f-Enterobacteriaceae* (1.13%) 等,有待我们深入研究。

通过 Venn 图分析可直观地发现山羊奶及其乳制品的物种组成相似性及差异性。由图 4e 可知,山羊奶、奶酪、奶皮子及奶酒在 OTU 水平细菌物种组成分别为 93 个、572 个、457 个、93 个,说明奶酪的细菌物种组成最丰富,其次为奶皮子。山羊奶、奶酪、奶皮子及奶酒的共有细菌物种为 35 个,而山羊奶、奶酪、奶皮子及奶酒的独有细菌物种分别为 10 个、326 个、213 个、13 个。通过优势细菌门(图 4c)和优势细菌属(图 4d)的组间差异显著性检验(Kruskal-Wallis 秩和检验)分析可知,在门水平 Actinobacteriota 相对丰度存在显著差异 ($P < 0.05$),而 Cyanobacteria 相对丰度存在极显著差异 ($P < 0.01$);在属水平 *Lactobacillus* (乳酸杆菌)、*Acinetobacter* (不动杆菌)及 *Variovorax* 的相对丰度存在极显著差异 ($P < 0.01$),而 *Rhodococcus* (红球菌)、*Enterobacter* (长杆菌)、*unclassified_f_Rhizobiaceae* 及 *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* 的相对丰度存在显著差异 ($P < 0.05$)。其中, *Rhodococcus* (红球菌)是一组非常多样化的细菌属,具有降解大量天然有机化合物和外源化合物的能力^[22]。据研究报道, *Variovorax* 具有降解芳香族化合物的能力^[23],而且 *Variovorax* 物种也已从不同的极端环境中分离出来,这代表 *Variovorax* 在极端环境中适应和生长的能力。还有,山羊奶中的优势细菌属为 *Lactococcus* (乳球菌),而奶酪和奶酒中优势细菌属为 *Lactobacillus* (乳酸杆菌)。我认为这与样品的加工方式的差异有关,山羊奶为未加工鲜乳,而奶酪和奶酒均为发酵乳制品,发酵过程导致菌株生存环境酸度上升, pH 值下降,从而导致生长菌群发生变化,产生差异。由于 *Lactobacillus* 的耐酸性高于 *Lactococcus*^[24],且 *Lactobacillus* 参与乳糖消耗并产生乳酸和一些脂肪酸的主要乳酸菌属,有助于发酵乳制品的质地和风味的形成。而 *Lactococcus* 通过快速将乳糖转化为乳酸来启动发酵,此外还产生挥发性代谢物、蛋白水解酶和胞外多糖^[25]。因此,由于山羊奶及其乳制品的细菌属存在差异,从而导致其形成各自独特的风味。

同时,本研究中发现现在乳制品奶酪、奶皮子、

奶酒中 *Enterobacter* (肠杆菌属)、*Enterococcus* (肠球菌属)、*Raoultella* (拉奥氏菌属) 及 *Pseudomonas* (假单胞菌属) 等的相对丰度骤然下降, 尤其在奶酒中的下降更为突出。综上所述, 与山羊奶相比, 通过传统工艺制作的乳制品的细菌物种数量增多, 尤其奶酪和奶皮子的细菌物种数量远大于山羊奶, 而奶酒的细菌独有物种数量与山羊奶相比也有所增加, 但增幅不大。我们认为这与奶酪和奶皮子的制作过程中的发酵时间比奶酒短, 而且产品的最终 pH 值高于奶酒等因素有关。还有, 产品状态也是影响因素之一, 如奶酪和奶皮子是固态物质, 而奶酒是液态物质。因此, 本研究结果为山羊奶及其乳制品中益生菌的研究和安全性评价提供参考依据。总之, 山羊奶及其乳制品中细菌群落组成存在显著差异。

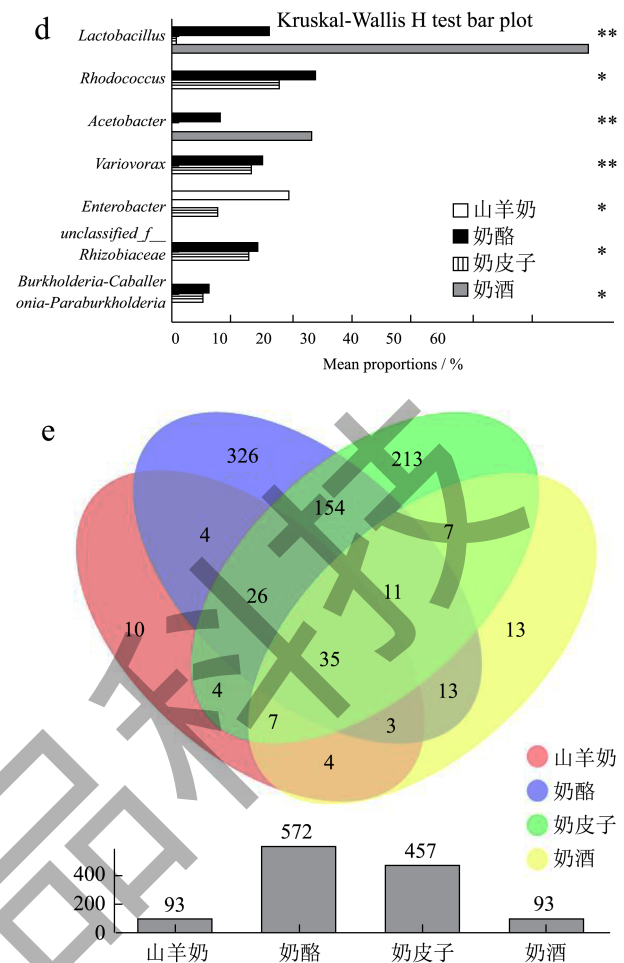
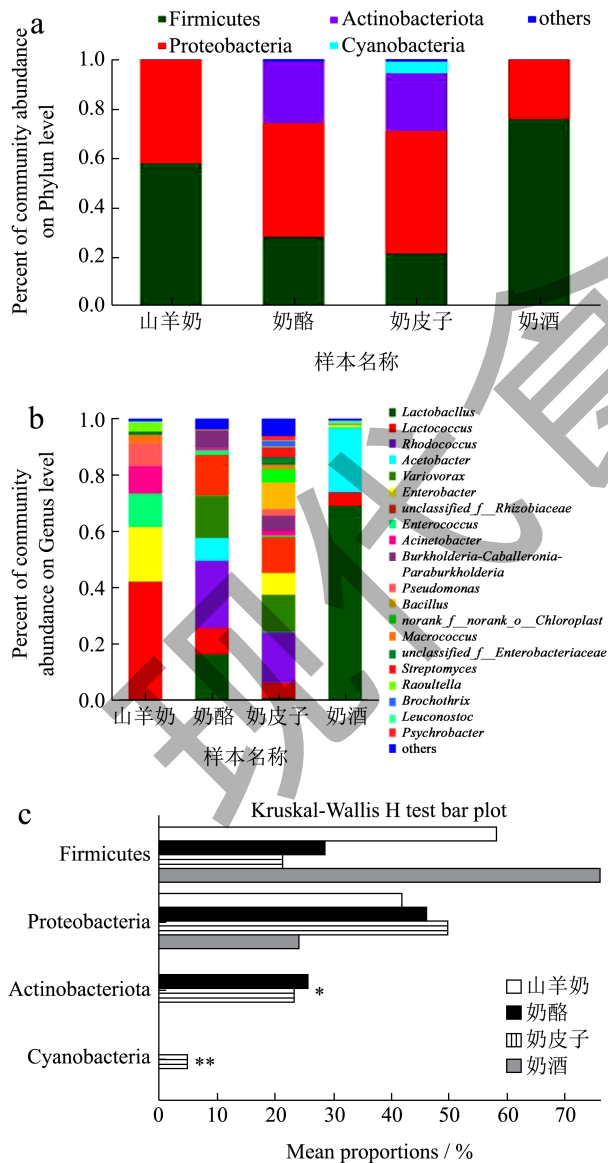


图4 细菌物种组成及差异性分析

Fig.4 Bacterial community composition and Venn diagram

注: a 为门水平细菌群落组成相对丰度, b 为属水平细菌群落组成相对丰度, c 为门水平物种差异性分析, d 为属水平物种差异性分析, e 为基于 OTU 水平山羊奶及其乳制品中细菌物种 Venn 图。* 代表 $P < 0.05$, ** 代表 $P < 0.01$ 。

2.5 细菌功能基因预测分析

山羊奶及其乳制品中细菌各种代谢相关通路基于 KEGG 数据库 Pathway level 1 水平相对丰度前 5 的基因功能主要分 5 大类 (如图 5a), 即新陈代谢 (Metabolism)、环境信息处理 (Environmental Information Processing)、遗传信息处理 (Genetic Information Processing)、细胞过程 (Cellular Processes) 及人类疾病 (Human Diseases), 其中新陈代谢相对丰度最高, 说明新陈代谢相关基因在山羊奶及其乳制品细菌的代谢功能中起着重要作用。并且, 山羊奶和奶酒、奶酪和奶皮子的新陈代谢、环境信息处理、细胞过程及人类疾病的相对丰度相似性高, 而且奶酪和奶皮子中的相对丰度

高于山羊奶和奶酒。但遗传信息处理相对丰度在奶酪、奶皮子及奶酒中高于山羊奶。在 Pathway level 2 水平（如图 5b）相对丰度前 5 的基因功能有 Global and Overview Maps、碳水化合物代谢（Carbohydrate Metabolism）、氨基酸代谢（Amino Acid Metabolism）、膜运输（Membrane Transport）及能量代谢（Energy Metabolism），其中 Global and Overview Maps 的相对丰度最高。因此，山羊奶和奶酒、奶酪和奶皮子的基因功能相对丰度较为相似，但是奶酪和奶皮子的基因功能相对丰度高于山羊奶和奶酒。由此可知，山羊奶及其乳制品中细菌代谢相关的基因功能存在差异，并且乳制品中细菌代谢相关的基因功能比山羊奶更为富集，因此证明细菌代谢基因功能的强化对传统乳制品的保健功能中发挥着重要作用。

表 3 山羊奶及其乳制品中细菌种类的占比（%）

Table 3 Percentage of bacterial species in Goat milk and dairy products (%)

Genus	山羊奶	奶酪	奶皮子	奶酒
<i>Lactobacillus</i>	0.01	16.32	0.74	69.02
<i>Lactococcus</i>	42.09	9.20	5.35	4.88
<i>Rhodococcus</i>	0.01	24.03	17.91	—
<i>Acetobacter</i>	—	8.11	0.21	22.04
<i>Variovorax</i>	—	15.04	13.30	—
<i>Enterobacter</i>	19.46	0.14	7.67	0.61
<i>Enterococcus</i>	11.78	1.74	0.59	0.30
<i>Acinetobacter</i>	9.88	0.79	1.70	0.07
<i>Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia</i>	—	6.28	5.35	—
<i>Pseudomonas</i>	8.16	0.06	2.45	—
<i>Bacillus</i>	0.07	0.04	9.30	0.15

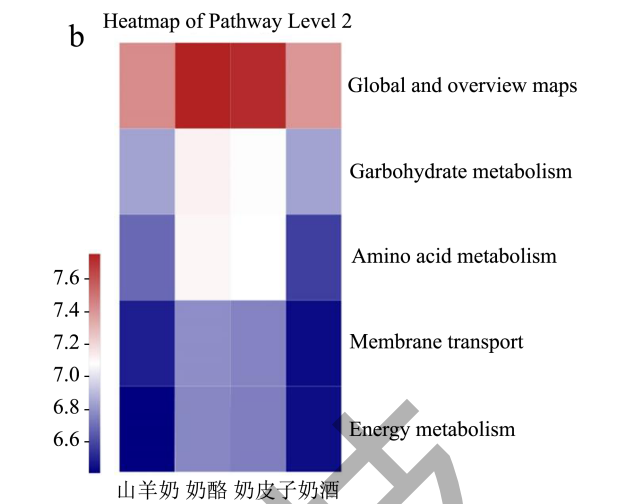
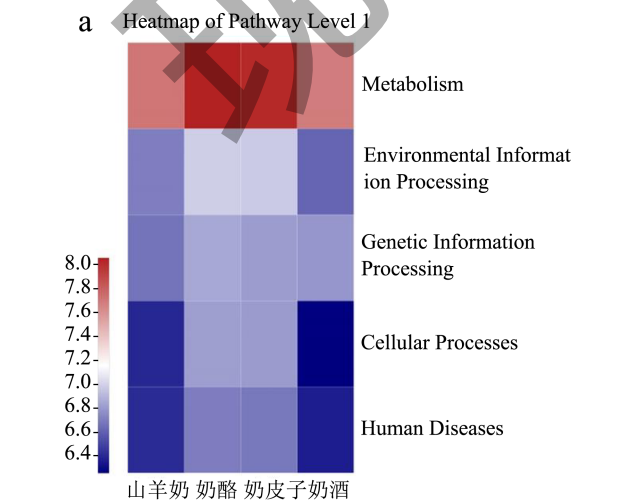


图 5 相对丰度前 5 代谢基因功能预测

Fig.5 Functional prediction of top 5 metabolic genes in relative abundance

3 结论

内蒙古阿拉善白绒山羊奶及其乳制品中细菌多样性和丰富度存在显著差异（ $P<0.05$ ），而且山羊奶的细菌群落组成随着通过传统工艺制作成乳制品而细菌多样性和丰富度发生变化，其细菌物种数量增多，尤其奶皮子和奶酪的细菌物种数量远高于山羊奶，而奶酒的细菌独有物种数量与山羊奶相比有所增多，但增幅不大。乳制品比山羊奶的优势菌门与优势菌属增多，并且相对丰度发生改变。同时，本研究中发现与山羊奶相比在乳制品中 *Enterobacter*、*Enterococcus*、*Raoultella* 及 *Pseudomonas* 等食源性致病和环境污染相关的细菌属相对丰度骤然下降，所以日常生活中应该把山羊奶经自然发酵或加热处理后食用。另外，本研究中还发现山羊奶及其乳制品中有很多未被明确分类的细菌属有待深入研究。山羊奶及其乳制品细菌代谢相关的基因功能存在显著差异，而且乳制品中细菌代谢相关的基因功能比山羊奶更为富集，证明这些主要的代谢基因功能在传统乳制品的保健功能中发挥着重要作用。总之，本研究结果对山羊奶及其乳制品中细菌的研究以及对细菌基因功能的深入了解提供参考。

参考文献

[1] GUO J Z, ZHONG J, LI L, et al. Comparative genome analyses reveal the unique genetic composition and selection signals underlying the phenotypic characteristics of three Chinese domestic goat breeds [J]. Genetics,

- Selection, Evolution, 2019, 51(1): 70.
- [2] GUO J Z, TAO H X, LI P F, et al. Whole-genome sequencing reveals selection signatures associated with important traits in six goat breeds [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 10405.
- [3] YU J, WANG W H, MENGHE B L G, et al. Diversity of lactic acid bacteria associated with traditional fermented dairy products in Mongolia [J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(7): 3229-3241.
- [4] CLARK S. A 100-Year Review: Advances in Goat milk research [J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(12): 10026-10044.
- [5] ZHANG F X, WANG Z X, LEI F Y, et al. Bacterial diversity in Goat milk from the Guanzhong area of China [J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(10): 7812-7824.
- [6] CRISTINA S, BRICIA L, JAVIER F, et al. Consumption of goat cheese naturally rich in omega-3 and conjugated linoleic acid improves the cardiovascular and inflammatory biomarkers of overweight and obese subjects: A randomized controlled trial [J]. Nutrients, 2020, 12(5): 1315.
- [7] MARIO C, CLAUDIA D, ARTURO N, et al. Antioxidant activity, bioactive polyphenols in Mexican goats' milk cheeses on summer grazing [J]. Journal of Dairy Research, 2010, 77(1): 20-26.
- [8] FEDERICA B, CHRISTIAN A, TERESA B M, et al. Microbial characterization of an artisanal production of Robiola di Roccaverano cheese [J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(5): 4056-4067.
- [9] SAIDI V, SHEIKH-ZEINODDIN M, KOBARFARD F, et al. Bioactive characteristics of a semi-hard non-starter culture cheese made from raw or pasteurized sheep's milk [J]. 3 Biotech, 2020, 10(3): 85.
- [10] SERHAN M, CAILLIEZ-GRIMAL C, BORGES F, et al. Bacterial diversity of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese [J]. Food Microbiology, 2009, 26(6): 645-652.
- [11] TSERENPUREV B O, BAASANDAI E, MASATO S, et al. Who is making Airag (fermented mare's milk)? A nationwide survey of traditional food in Mongolia [J]. Nomadic Peoples, 2015, 19(1): 7-29.
- [12] WUYUNDALAI B, YUXING H, WEI L. Diversity analysis of bacterial and function prediction in hurunge from Mongolia [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 835123.
- [13] CUOI S-H. Characterization of Airag collected in Ulaanbaatar, Mongolia with emphasis on isolated lactic acid bacteria [J]. Journal of Animal Science and Technology, 2016, 58: 10.
- [14] SHIFU C, YANQIANG Z, YARU C, et al. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor [J]. Bioinformatics, 2018, 34(17): i884-i890.
- [15] TANJA M, STEVEN L S. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [16] ROBERT C E. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998.
- [17] STACKEBRANDT E, GOEBEL B M. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1994, 44(4): 846-849.
- [18] QIONG W, GEORGE M G, JAMES M T, et al. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(16): 5261-5267.
- [19] FUGL A, BÉRHE T, KIRAN A, et al. Characterisation of lactic acid bacteria in spontaneously fermented camel milk and selection of strains for fermentation of camel milk [J]. International Dairy Journal, 2017, 73: 19-24.
- [20] GAO M L, HOU H M, TENG X X, et al. Microbial diversity in raw milk and traditional fermented dairy products (Hurood cheese and Jueke) from Inner Mongolia, China [J]. Genetics and Molecular Research, 2017, 16 (1): 1-13.
- [21] HU Y Y, ZHAN L, WEN R X, et al. Role of lactic acid bacteria in flavor development in traditional Chinese fermented foods: A review [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(10): 2741-2755.
- [22] HANNA B, PETER-LEON H, ULF H. *Rhodococcus* as a versatile biocatalyst in organic synthesis [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(19): 4787.
- [23] KEVIN M P, CHRISTOPHER M D, EUGENE L M. Benzene degradation by a *variovorax* species within a coal tar-contaminated groundwater microbial community [J]. Applied Environmental Microbiology, 2017, 83(4): e02658-16.
- [24] LIANG T T, XIE X Q, ZHANG J M, et al. Bacterial community and composition of different traditional fermented dairy products in China, South Africa, and Sri Lanka by high-throughput sequencing of 16S rRNA genes [J]. LWT- Food Science and Technology, 2021, 144(7): 111209.
- [25] ADELENE AI-LIAN S, LIONEL L A I, SWEE H E L, et al. A review on *Lactococcus lactis*: from food to factory [J]. Microbial Cell Factories, 2017, 16(1): 55.