DOI:10.12441/spyswjs.20251203002 [文章编号] 1673-1689(2026)06-0052-10

氯化钠添加量对牦牛乳硬质干酪中微生物群落演变的影响

宋雪梅[1,2] 宋国顺[1,2] 张苏悦[1,2] 梁 琪[1,2*]

(1. 甘肃农业大学食品科学与工程学院,甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省功能乳品工程实验室,甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】探明氯化钠添加量对牦牛乳硬质干酪微生物群落的调控机制。**【方法】**采用高通量测序技术,在氯化钠添加质量分数分别为 1.0%、1.3%、1.8%、2.3% 条件下,分析干酪在 0~6 个月成熟期间的微生物群落演变特征。**【结果】**随着氯化钠添加质量分数减少,干酪中链球菌属(*Streptococcus*)相对丰度先升后降,乳球菌属(*Lactococcus*)相对丰度缓慢上升,埃舍里希亚-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)相对丰度呈上升趋势,乳杆菌属(*Lactobacillus*)相对丰度整体降低,魏斯氏菌属(*Weissella*)相对丰度快速下降,不动杆菌属(*Acinetobacter*)、金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)相对丰度先降后升。氯化钠添加质量分数为 2.3% 时,干酪以 *Lactobacillus*、*Weissella* 为特征差异菌属,且相对丰度高于其他组;氯化钠添加质量分数为 1.0% 时,干酪中 *Lactococcus*、*Acinetobacter*、*Chryseobacterium*、*Pseudomonas* 为特征差异菌属,其中后三者相对丰度较氯化钠添加质量分数为 2.3% 时增幅明显;氯化钠添加质量分数为 1.3% 时,这 3 个菌属相对丰度较氯化钠添加质量分数 1.0% 处理组大幅下降,并在氯化钠添加质量分数 1.8% 组中降至最低。**【结论】**通过优化发酵剂组成、控制原料乳质量、适度降盐及添加适配有益菌等工艺,实现低盐牦牛乳硬质干酪的安全性与品质提升。

关键词:氯化钠;牦牛乳;硬质干酪;微生物群落演变

Effects of Sodium Chloride Addition on Microbial Community Evolution of Yak Milk Hard Cheese

SONG Xuemei[1,2] *SONG Guoshun*[1,2] *ZHANG Suyue*[1,2] *LIANG Qi*[1,2*]

(1. College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2. Functional Dairy Products Engineering Laboratory of Gansu, Lanzhou 730070, China)

Abstract: [**Objective**] To investigate the regulatory mechanism of sodium chloride sodium chloride addition level on the microbial community in yak milk hard cheese. [**Method**] High-throughput sequencing technology was employed to analyze the evolution of microbial communities after the addition of sodium chloride at mass fractions of 1.0%, 1.3%, 1.8%, and 2.3% during the 0~6 month maturation period. [**Result**] As the sodium chloride addition mass fraction decreased, the *Streptococcus* in the cheese first increased and then decreased, which was accompanied by a slow increase in the relative abundance of *Lactococcus*, an upward trend in the relative abundance of *Escherichia-Shigella*, an overall downward trend in the relative abundance of *Lactobacillus*, and a rapid decreasing trend in the relative abundance of *Weissella*. In addition, the relative abundance of *Acinetobacter*, *Chryseobacterium*, and *Pseudomonas* first decreased and then increased. In the cheese with sodium chloride added at the mass fraction of 2.3%, *Lactobacillus* and *Weissella* were the characteristic differential bacterium genus, with their relative abundance being higher than that in other groups. In

基金项目:国家自然科学基金地区科学基金项目(31860449)。

通信作者:梁琪(1968—),女,博士,教授,硕士研究生导师,主要从事乳品科学与微生物研究。E-mail:Liangqi@gsau.edu.cn

收稿日期:2025-12-03 **修回日期:**2026-03-03

the cheese with sodium chloride added at the mass fraction of 1.0%, the characteristic differential bacterium genus were *Lactococcus*, *Acinetobacter*, *Chryseobacterium*, and *Pseudomonas*. Among them, the latter three genera showed evident increases in relative abundance compared with those in the cheese with sodium chloride added at the mass fraction of 2.3%. Their relative abundance was markedly lower in the cheese with sodium chloride added at the mass fraction of 1.3% than in the cheese with sodium chloride added at the mass fraction of 1.0%, and reached the lowest levels in the cheese with sodium chloride added at the mass fraction of 1.8%. [**Conclusion**] The safety and quality of low-salt yak milk hard cheese can be improved by optimizing starter cultures, controlling the quality of raw milk, moderately reducing the salt content, and inoculating appropriate beneficial bacteria.

Keywords: sodium chloride; yak milk; hard cheese; microbial community evolution

不同种类的干酪中氯化钠质量分数差异较大，通常为0.7%~6.0%，甚至有的腌制干酪中氯化钠质量分数可达7.57%[1-2]。氯化钠在干酪生产中发挥着关键作用，不仅能促进凝块收缩、增强体系离子强度以促进乳清析出，还可调控水化蛋白质含量、水分活度（a_w）、pH等理化指标以及微生物的生长繁殖[3-6]。然而，钠摄入过量与高血压、心血管疾病等慢性疾病的发生密切相关[7]。随着消费者对健康饮食的需求不断提升，高盐干酪逐渐向低盐化方向发展。但是干酪中氯化钠减少后，会出现苦味增强、质地更软且更黏等问题[8]。因此，在减少干酪中氯化钠质量分数的情况下如何确保低盐干酪品质是当前研究的挑战。

干酪品质的形成与微生物群落结构密切相关。干酪中微生物分为发酵剂与非发酵剂2类，发酵剂微生物在生产阶段将乳糖转化为乳酸，推动乳蛋白凝固形成凝块，在成熟阶段参与蛋白质降解以塑造干酪的质地与风味；非发酵剂微生物源于原料乳或生产环境，通过参与物质代谢间接调控干酪风味特征。大多数干酪在生产时都会添加氯化钠，其添加量的变化间接引发pH、a_w等指标波动，进而影响微生物生长繁殖，最终影响干酪质量。目前，不同学者针对不同类型干酪开展了研究，如Dugat-Bony等[9]发现氯化钠质量分数降低后，软质表面成熟干酪中莓实假单胞菌（*Pseudomonas fragi*）显著增多，造成产品货架期缩短。Tabla等[10]证实氯化钠质量分数可显著调控软质羊乳干酪表面嗜温菌、假单胞菌及耐盐菌数量。Munster型干酪中氯化钠质量分数降低40%会破坏微生物群落平衡[11]。切达干酪中氯化钠质量分数变化会影响发酵剂微生物存活时间、改变非发酵剂微生物组成[12]，且与降解苦味肽的PepX酶活性密切相关[13]。氯化钠质量分数对干酪中微生物群落及干酪品质具有显著影响，且其添加量的减少对不同种类干酪品质的影响程度存在差异[14]。

牦牛乳是青藏高原特有的优质乳源，其脂肪与蛋白质含量显著高于普通乳源，这也赋予了牦牛乳硬质干酪独特的营养与感官特性。添加氯化钠是牦牛乳硬质干酪生产中的关键工艺，但现有研究仅初步探讨了氯化钠添加量对其理化性质与生物胺的影响[15]，尚未揭示氯化钠添加量、微生物群落与产品品质的内在关联。因此，以牦牛乳硬质干酪为对象，采用高通量测序技术，系统分析氯化钠添加量对干酪成熟过程中微生物群落演变规律的影响，探讨微生物群落与干酪a_w、pH等理化性质的相关性，旨在为低盐干酪的配方优化、工艺改进及品质调控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

牦牛乳：来自甘肃甘南藏族自治州卓尼县木耳乡大峪沟，海拔2 300 m，冷藏条件下运送到实验室；凝乳酶（酶活力890 IMCU/g）、混合发酵剂（嗜热发酵剂IDC604与嗜温发酵剂DOM1按质量比1∶1组成）：北京多爱特生物科技有限公司；氯化钠：食品级，湖南省湘澧盐化有限责任公司。

1.2 仪器与设备

自动凯氏定氮仪：K9840型，济南海能仪器有

限公司；水分活度仪：HD-3A 型，无锡市华科仪器仪表有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品制备

参考刘兴龙等[16]的方法制备干酪，添加的氯化钠质量分数分别为 1.0%、1.3%、1.8%、2.3%，对应制备 4 种新鲜牦牛乳硬质干酪，分别编号 A 组、B 组、C 组、D 组。样品经真空包装后，于 4 ℃分别成熟 0、1、2、3、4、5、6 个月，各成熟期样品编号依次为 A0~A6、B0~B6、C0~C6、D0~D6。所有成熟期干酪样品均于−80 ℃冻存备用。

1.3.2 理化指标测定

a_w、总蛋白质（TN）质量分数、pH、氯化钠质量分数、游离氨基酸（FAA）质量分数的测定方法参照文献[15，17]。

1.3.3 干酪中微生物菌群的测定

采用加入溶菌酶的 CTAB 方法提取基因组 DNA，利用 1 g/dL 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 纯度和浓度。取适量 DNA 于离心管中，用无菌水稀释至 1 ng/μL。以 16S rRNA 的 V3—V4 区为引物，在 PCR 混合液中加入 15 μL Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix、0.2 μmol/L 引物和 10 ng 基因组 DNA。98 ℃预变性 1 min，然后 98 ℃变性 10 s，50 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 30 s，共循环 30 次，最后 72 ℃延伸 5 min。经 2 g/dL 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物后，再用试剂盒回收产物。使用 NEB Next® Ultra™ II FS DNA PCR-free Library Prep Kit 建库试剂盒进行文库构建，构建好的文库采用 Qubit 和 Q-PCR 定量，文库合格后使用 Illumina NovaSeq 6000 上机测序。委托北京诺禾致源科技股份有限公司完成高通量测序。

1.4 数据分析

使用 FLASH（Version 1.2.11，http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/）[18]对每个样本的 reads 进行拼接，得到原始 tags 数据，然后使用 fastp 软件（Version 0.23. 1）对原始 tags 数据进行过滤处理，得到高质量 tags 数据。通过将 tags 序列与物种注释数据库（Silva database，https://www.arb-silva.de/ for 16S/18S）比对，获得有效 tags 数据[19]。使用 QIIME2（Version QIIME2-202202）软件中的 DADA2 模块对有效 tags 数据降噪，获得最终扩增子序列变异（amplicon sequence variants，ASV）及特征表[20]。采用 QIIME2 软件在数据库 Silva 138.1 中注释物种，计算 Chao1、Shannon、Simpson 指数并对差异进行分析，同时分析微生物 β 多样性。使用 Adonis 函数分析组间群落结构差异的显著性。通过 LEfSe 分析组间显著差异物种，LDA score 阈值为 4.0。使用 R 软件（version 4.0.3）分析微生物与理化性质之间的 Spearman 相关性，采用 pheatmap（version1.0.12）绘制热图。

2 结果与讨论

2.1 氯化钠添加质量分数对牦牛乳硬质干酪中微生物群落的影响

序列经处理后，4 组牦牛乳硬质干酪（成熟 0~6 个月）的微生物中共获得 3 872 个 ASV，其界、门、纲、目、科、属、种水平分类单元数分别为 3 750、3 633、3 628、3 601、3 481、3 053、1 416 个。如图 1 所示，干酪中 ASV 数量随氯化钠添加质量分数增加呈减少趋势，A 组中 ASV 数量为 D 组的 2.04 倍。这一现象与氯化钠对微生物的调控作用有关，低盐条件有利于微生物生存及代谢，而高盐环境抑制其生长繁殖，故低盐干酪中微生物 ASV 数量更多。

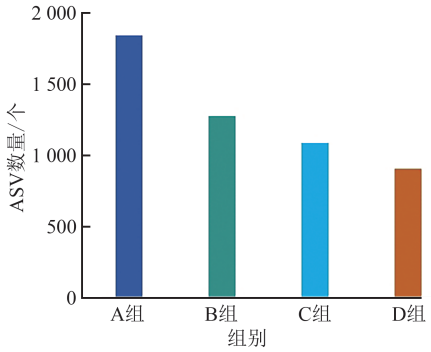


图 1 氯化钠添加质量分数对牦牛乳硬质干酪中微生物 ASV 数量的影响

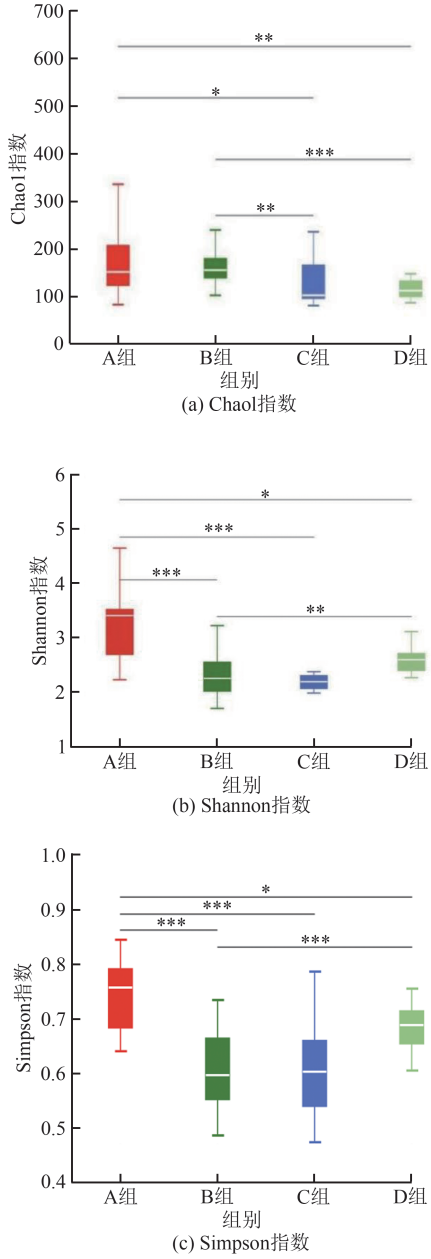
Fig. 1 Effects of sodium chloride addition mass fraction on the number of microbial ASV in yak milk hard cheese

2.2 干酪中微生物多样性分析

2.2.1 氯化钠添加质量分数对牦牛乳硬质干酪中微生物 α 多样性的影响

Chao1 指数反映物种丰富度，Shannon、Simpson 指数综合反映群落丰富度与均匀度。从图 2 可知，Chao1 指数随氯化钠添加质量分数增大呈降低趋

势。Kruskal-Wallis检验显示，A组与B组、C组、D组间无显著性差异（P>0.05），A组、B组与C组、D组间存在显著性差异（P<0.05）。Shannon、Simpson指数随氯化钠添加质量分数增大呈先降后升趋势。A组的这2个指数显著高于其余3组（P<0.05），而D组显著高于B组、C组（P<0.05）。结合低盐干酪中ASV数量较多的结果，说明低盐条件有利于增加微生物的丰富度，高盐则降低物种丰富度。微生物α多样性在A组、D组中均较高，原因可能是低盐条件下微生物通过功能分化占据了不同生态位，而高盐条件下耐盐微生物通过代谢协同形成稳定群落，均有利于维持较高的α多样性[14]。



***—差异极显著（P<0.001）；**—差异高度显著（P<0.01）；*—差异显著（P<0.05）。

图2　各组牦牛乳硬质干酪中微生物的α多样性分析

Fig. 2　Analysis of α diversity of microorganisms in hard cheese from different yak milk groups

2.2.2　氯化钠添加质量分数对牦牛乳硬质干酪中微生物β多样性的影响

基于Weighted Unifrac距离的PCoA结果见图3。PC1和PC2分别可解释59.36%和13.64%的群落变异，累计贡献率达73.00%，有效反映了不同氯化钠添加质量分数条件下干酪的微生物群落差异。A组在成熟期间群落分散，随着成熟时间的延长差异逐渐减弱。表明低盐条件下，成熟时间是群落变化的主要驱动因素且早期群落演替更活跃。而B组、C组和D组群落结构无明显分离，样品点显著重叠且与A组明显分离，说明氯化钠添加质量分数是主导因子，高盐产生的渗透压过滤掉了盐敏感微生物，使其群落结构更相似。Adonis分析（R^2=0.457 9，P<0.05）和Kruskal-Wallis检验（A组与B组、C组、D组差异极显著，P<0.01；B组、C组、D组间无显著差异，P>0.05）进一步证实，氯化钠添加质量分数对干酪中微生物群落结构的影响极显著。

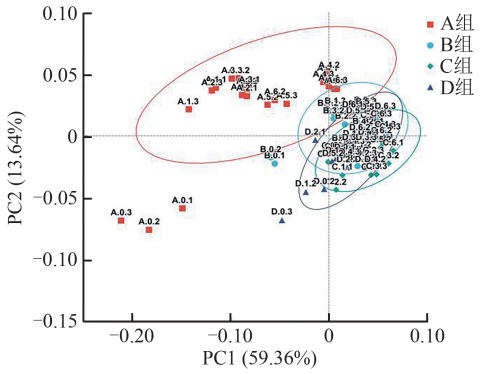


图3　牦牛乳硬质干酪中微生物PCoA

Fig. 3　Principal coordinate analysis of microorganisms in yak milk hard cheese

2.3　氯化钠添加质量分数对牦牛乳硬质干酪中微生物种属的影响

添加不同质量分数氯化钠后，牦牛乳硬质干酪中微生物群落属水平变化见图4。排名前十的微生

物依次为 *Streptococcus*、*Lactococcus*、*Weissella*、*Lactobacillus*、*Acinetobacter*、*Chryseobacterium*、*Pseudomonas*、*Enterococcus*、*Serratia*、*Escherichia-Shigella*。其中，*Streptococcus*（相对丰度 33.16%~49.62%）与 *Lactococcus*（相对丰度 19.62%~39.85%）为群落核心优势菌属，其优势地位与加入的发酵剂直接相关。群落中 *Weissella*、*Lactobacillus*、*Acinetobacter* 等为非发酵剂微生物，主要源自原料乳或加工环节[21-22]。所有干酪中均未检出金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、大肠杆菌等乳制品中常见腐败菌及致病菌[23]。以上结果表明，氯化钠添加质量分数的调整未改变干酪中发酵剂微生物的优势地位，且在本研究条件下，氯化钠添加质量分数的减少并未引入新的腐败微生物。

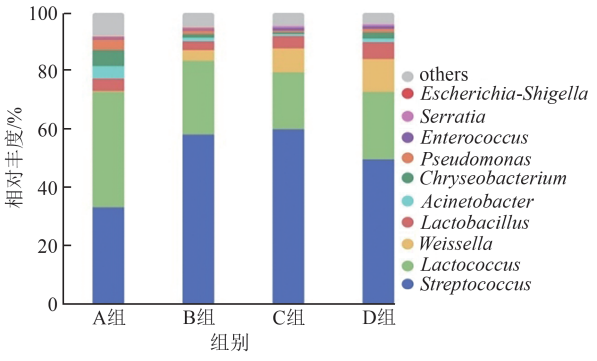


图 4 牦牛乳硬质干酪中属水平的微生物分布

Fig. 4 Microbial distribution at the genus level in yak milk hard cheese

氯化钠添加质量分数对干酪中的发酵剂微生物影响明显。从图 4 可知，当氯化钠添加质量分数从 2.3% 减少至 1.3% 再到 1.0% 时，*Streptococcus* 相对丰度缓慢增加后减少，*Lactococcus* 相对丰度缓慢上升。最终 A 组中 *Lactococcus* 相对丰度最高，*Streptococcus* 相对丰度最低；B 组、C 组中 *Streptococcus* 相对丰度较高，D 组中 *Streptococcus* 相对丰度次之；A 组中 2 个核心优势菌属的相对丰度差距明显缩小。氯化钠的减少导致 *Lactococcus* 相对丰度增加，这与已有研究结果一致[24]。乳酸菌对氯化钠的耐受能力在不同菌属之间存在差异，如链球菌能够在含质量分数 2.5% 氯化钠的环境中生长[25]。乳酸乳球菌存活能力随氯化钠浓度的增加呈下降趋势[26]。由于两者对盐胁迫的耐受阈值以及干酪理化性质改变的适应不同，最终在较低氯化钠添加质量分数下，干酪中 *Lactococcus* 生长竞争优势更明显，而 *Streptococcus* 在氯化钠添加质量分数为 1.3%~1.8% 时更适配牦牛乳干酪的基质环境。此外，嗜热链球菌是牛乳发酵中常用的发酵菌种[27]，不仅酸化能力强，还可产生抗菌素以抑制杂菌污染[28]。从微生物安全性角度分析，A 组中 *Streptococcus* 相对丰度降低，可能为一些有害微生物的生长繁殖提供条件。因此，在研发低盐牦牛乳硬质干酪时，需通过优化发酵剂中 *Streptococcus* 与 *Lactococcus* 比例，从而保持低盐环境下的微生物群落平衡，保障干酪安全与品质。

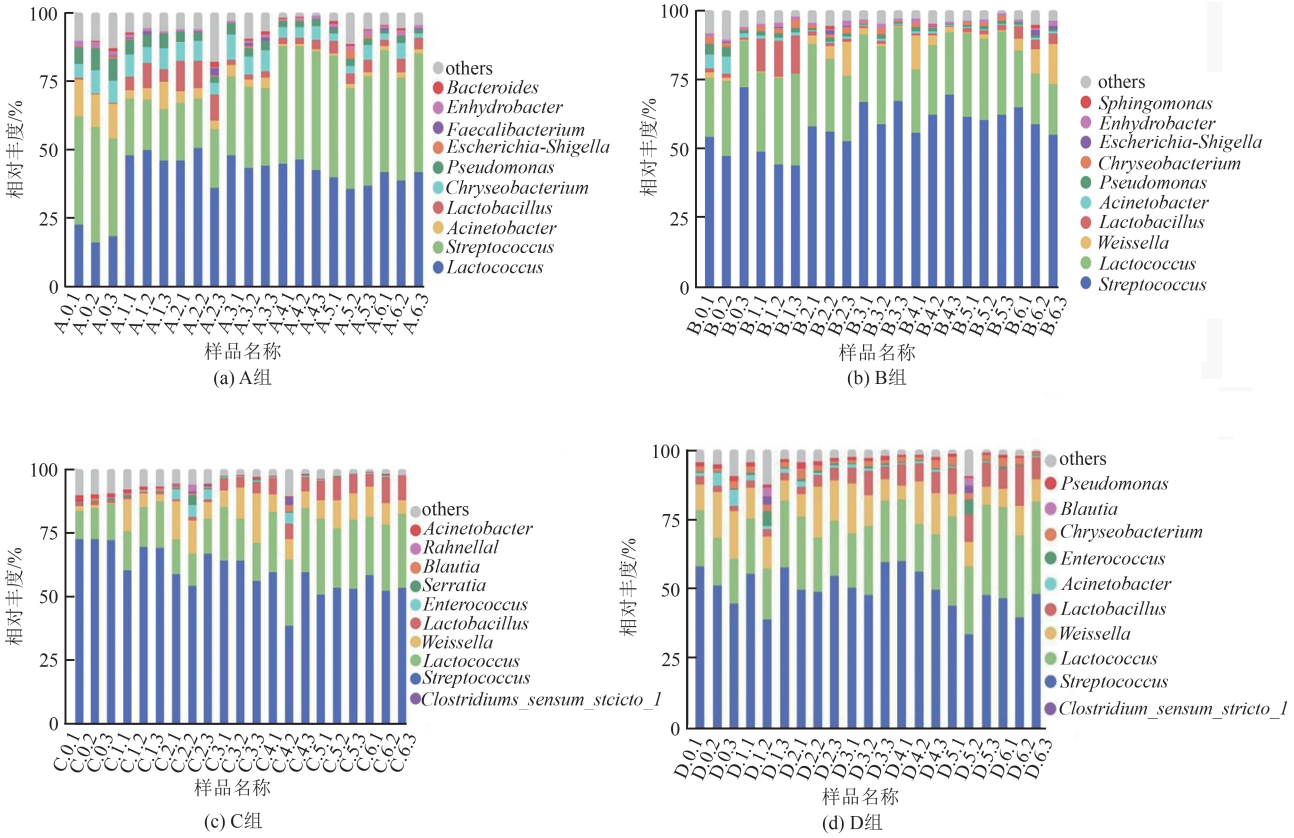
进一步对非发酵剂来源的微生物进行分析发现，随着氯化钠添加质量分数的减少，*Acinetobacter*、*Chryseobacterium*、*Pseudomonas* 相对丰度呈现先下降后上升趋势，C 组中这 3 类微生物相对丰度最低，B 组较 A 组分别降低了 73.66%、77.51%、64.48%，而 A 组较 D 组分别提升了 254.93%、182.03%、218.35%。*Escherichia-Shigella* 相对丰度随氯化钠添加质量分数减少先缓慢增加后快速上升。最终 A 组中 *Chryseobacterium*、*Acinetobacter*、*Pseudomonas*、*Escherichia-Shigella* 相对丰度最高。*Pseudomonas* 是影响干酪感官品质的主要腐败菌之一，可能加速低盐干酪中蛋白质和脂肪降解，引起干酪出现异味、质地劣变等问题；*Acinetobacter* 能够破坏乳品成分，使其品质降低[29]；*Chryseobacterium* 兼具低温耐受性与蛋白质分解能力，可通过降解酪蛋白产生苦味肽等不良风味物质，诱发干酪品质缺陷[13,30]。以上 3 类菌广泛分布于自然环境，易通过原料乳或挤奶、设备的交叉污染进入发酵体系。研究发现，冷藏牦牛乳中 *Pseudomonas*、*Chryseobacterium*、*Acinetobacter* 相对丰度较高[31]。因此，这也凸显了低盐干酪生产中强化原料乳微生物管控的重要性。

当氯化钠添加质量分数从 2.3% 减少到 1.3% 再到 1.0% 时，*Lactobacillus* 相对丰度先快速降低，之后缓慢增加，整体呈降低趋势。C 组、D 组干酪中 *Enterococcus*、*Serratia* 相对丰度组间相差较小，但高于 A 组、B 组。*Weissella* 相对丰度随氯化钠添加质量分数减少呈快速下降的趋势。最终 D 组中 *Weissella*、*Lactobacillus*、*Enterococcus*、*Serratia*

相对丰度最高，且 *Weissella*、*Lactobacillus* 相对丰度分别是C组、B组、A组的1.35倍和1.43倍、3.07倍和1.88倍、54.08倍和1.42倍。D组中 *Weissella*、*Lactobacillus* 相对丰度较高与其耐盐特性有关[32]，且 *Weissella* 与 *Lactobacillus* 具有共生特性，两者协同导致其相对丰度也较高。*Weissella* 广泛存在于发酵食品，尤其是生奶酪中[33-34]，该菌属的部分菌株可产生抑菌物质、胞外多糖及风味物质，已列入发酵食品用菌种名单[35]。*Lactobacillus* 作为干酪后熟期的重要功能菌，可进一步降解大分子肽产生风味物质，其在高盐组的高相对丰度可能有助于提升干酪风味复杂度，但低盐环境下其相对丰度降低，可能导致干酪风味不足。低盐环境打破了干酪的微生态屏障，导致腐败菌及致病菌等有害菌繁殖，同时抑制了 *Weissella* 等有益菌生长。而 Møller 等[36]发现加入 *Lactobacillus helveticus* CHCC 4481 和 *Lactobacillus pentosus* CHCC 13992 辅助菌能够改善低盐 Cheddar 干酪品质。

2.4　氯化钠添加质量分数对牦牛乳硬质干酪成熟过程中微生物种属的影响

进一步分析不同氯化钠添加质量分数条件下，牦牛乳硬质干酪在0~6个月成熟期间的属水平菌群演变规律，结果见图5。在1~4个月成熟过程中，A组 *Lactococcus* 相对丰度高于 *Streptococcus*，前者缓慢降低了7.11%，后者快速上升了121.39%，后期两者相对丰度差距缩小。在1~3个月成熟过程中，B组 *Streptococcus* 相对丰度从45.66%上升到64.34%，后期趋于稳定，*Lactococcus* 相对丰度缓慢降低。C组 *Streptococcus* 相对丰度持续缓慢下降，而 *Lactococcus* 相对丰度缓慢上升。D组 *Streptococcus* 相对丰度在1~4个月成熟过程中从50.63%缓慢增加到55.30%，*Lactococcus* 相对丰度先缓慢上升后略有降低；成熟后期 *Streptococcus* 相对丰度呈降低趋势，*Lactococcus* 相对丰度明显增加。在整个成熟期间，B组~D组中 *Streptococcus* 相对丰度高于 *Lactococcus*。以上情况说明低盐环境有利于 *Lactococcus* 的优势维持，而中高盐环境使 *Streptococcus*



(a) A组　(b) B组　(c) C组　(d) D组

图 5　牦牛乳硬质干酪成熟过程中属水平微生物群落结构

Fig. 5　Microbial community structure at the genus level in yak milk hard cheese during the maturation process

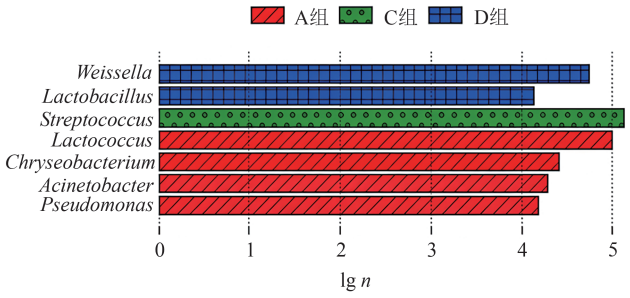
的生长繁殖长期占据主导。氯化钠添加质量分数通过影响2类菌的耐盐性、代谢竞争力等，改变了它们在干酪不同成熟阶段的生长节律。

A组*Lactobacillus*相对丰度在干酪前3个月成熟过程中不断上升，后期呈下降趋势；B组*Lactobacillus*相对丰度在1~2个月成熟期快速下降，后期缓慢降低，在5~6个月成熟期又出现增加现象；C组、D组干酪在前2个月成熟过程中，*Lactobacillus*相对丰度先缓慢上升之后快速增加，说明低盐干酪可能存在后熟风味不足。*Weissella*相对丰度在A组干酪前4个月成熟期间变化（0.02%~0.05%）很小，后期先上升后下降；而*Weissella*相对丰度在B组干酪成熟期间全程无规律波动；在C组干酪1~3个月成熟期间，*Weissella*相对丰度从6.77%上升到12.83%，之后缓慢降低；D组*Weissella*相对丰度在最开始1个月快速降低，1~2个月成熟期缓慢上升，之后从12.16%降到8.47%。*Chryseobacterium*、*Acinetobacter*相对丰度在A组干酪整个成熟过程中分别从7.33%、5.76%下降到3.72%、1.26%；而在B组~D组中，两者平均相对丰度分别低于2.00%、0.73%，整个成熟过程中变化幅度很小。*Pseudomonas*相对丰度在A组、B组干酪前2个月成熟过程中快速下降而后期缓慢降低；在D组干酪整个成熟过程中，*Pseudomonas*相对丰度缓慢降低，说明成熟时间的延长有助于抑制腐败菌的生长繁殖。

以非发酵剂微生物相对丰度>1%为标准，进一步分析成熟后期微生物菌群，发现A组中主要菌群为*Chryseobacterium*、*Acinetobacter*、*Pseudomonas*及新增的*Lactobacillus*；B组中*Chryseobacterium*、*Pseudomonas*相对丰度下降，*Weissella*、*Lactobacillus*相对丰度上升；C组在*Weissella*、*Lactobacillus*基础上新增*Chryseobacterium*；D组中优势菌群剔除*Acinetobacter*、*Pseudomonas*后，保留了*Weissella*、*Chryseobacterium*。以上情况表明，在整个成熟过程中，低盐环境对有害菌的抑制能力较弱，而高盐环境能有效抑制*Pseudomonas*、*Acinetobacter*等有害菌，同时筛选出耐盐性强的功能菌（如*Lactobacillus*、*Weissella*等）。此外，该结果也进一步印证了氯化钠添加质量分数对干酪成熟过程中主要微生物菌群相对丰度的差异化调控作用[37]。

2.5 氯化钠添加质量分数对牦牛乳硬质干酪中差异微生物的影响

采用LEfSe分析不同氯化钠添加质量分数下干酪中属水平的差异微生物。如图6所示，A组、C组、D组中共鉴定出7种极显著差异微生物（P<0.01）。其中，A组中差异微生物为*Lactococcus*、*Chryseobacterium*、*Acinetobacter*、*Pseudomonas*，C组中为*Streptococcus*，D组中为*Weissella*、*Lactobacillus*，这与上述菌群相对丰度变化规律的结果相契合。



n—LDA score。

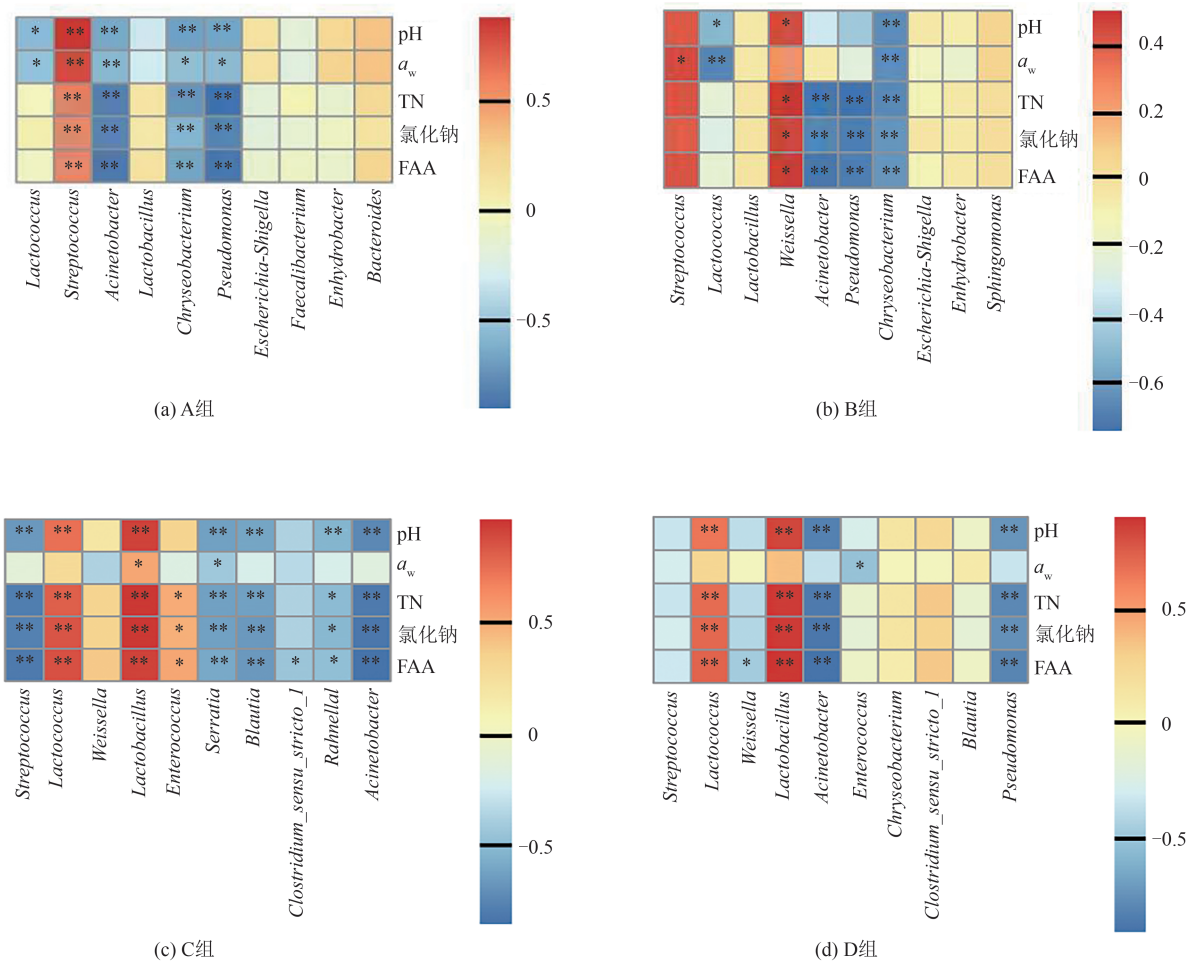
图6 牦牛乳硬质干酪中差异微生物分析

Fig. 6 Analysis of differential microorganisms in yak milk hard cheese

2.6 牦牛乳硬质干酪中环境因子与微生物之间的关系分析

为明确驱动微生物群落变化的影响因素，参考作者所在课题组前期发表的理化性质数据[15,17]，对牦牛乳硬质干酪中相对丰度排名前十的属水平微生物与a_w、pH、FAA质量分数、氯化钠添加质量分数、TN质量分数进行了Spearman相关性分析，结果见图7。A组、B组中*Streptococcus*相对丰度与多数环境因子呈正相关（A组：r>0.56，P<0.01；B组：r>0.40，P>0.05），而C组、D组中*Streptococcus*相对丰度与多数环境因子呈负相关（C组：r>−0.82，P<0.01；D组：r>−0.35，P>0.05）。A组、B组中*Lactococcus*相对丰度与多数环境因子呈弱负相关（P>0.05），而C组、D组中*Lactococcus*相对丰度与多数环境因子呈强正相关（C组：r>0.73，P<0.01；D组：r>0.64，P<0.01）。

C组、D组中*Lactobacillus*相对丰度与多数环境因子呈强正相关（r>0.82，P<0.01），而A组、B组中仅呈弱正相关（P>0.05）。A组~D组中



**—差异极显著（$P<0.01$）；*—差异显著（$P<0.05$）。

图 7　干酪中微生物与环境因子的相关性分析

Fig. 7　Correlation analysis of microbial and physicochemical factors in the cheese

Acinetobacter、*Pseudomonas* 相对丰度均与多数环境因子呈强负相关（$P<0.01$）。A 组、B 组中 *Chryseobacterium* 相对丰度与环境因子呈强负相关（$r>-0.71$，$P<0.05$），而 C 组、D 组中其与环境因子呈弱正相关（$P>0.05$）。以上关系与大多数菌属在干酪成熟过程中相对丰度变化规律相符，其他研究者也证实干酪成熟过程中组分变化会影响细菌群落演替过程[38]。

3　结论

本研究明确了氯化钠添加量是调控牦牛乳硬质干酪中微生物群落结构的关键因子，并阐明了氯化钠添加质量分数（1.0%~2.3%）对干酪中微生物群落的剂量依赖性调控规律。*Streptococcus* 与 *Lactococcus* 为各处理组的核心优势微生物，且氯化钠添加质量分数的降低可改变干酪中 *Streptococcus*、*Lactococcus*、*Lactobacillus*、*Weissella*、*Escherichia-Shigella*、*Acinetobacter*、*Chryseobacterium* 以及 *Pseudomonas* 等多种微生物相对丰度的演变趋势。在氯化钠添加质量分数为 2.3% 的干酪中，*Lactobacillus*、*Weissella* 为特征差异菌属；在氯化钠添加质量分数为 1.0% 的干酪中，*Lactococcus*、*Pseudomonas*、*Acinetobacter*、*Chryseobacterium* 等为特征差异菌属。在氯化钠添加质量分数为 1.3% 的干酪中，*Acinetobacter*、*Chryseobacterium* 和 *Pseudomonas* 相对丰度较 1.0% 时分别降低了 73.66%、77.51%、64.48%；当氯化钠添加质量分数为 1.8% 时，可有效抑制干酪中此类不良微生物增殖。因此，建议通过优化发酵剂配方、严控原料乳质量、适度降低氯化钠添加量及引入低盐适配型有益菌等措施，实现低盐牦牛乳硬质干酪安全性和品质的协同提升。但是研究中还存在一些不足，如未

建立微生物群落变化与干酪风味的定量关联，未量化干酪中腐败菌与功能菌对其品质的影响。后续还需结合感官评价、风味组学技术构建微生物-品质关联模型，筛选低盐适配型有益菌并验证应用效果，从而不断完善低盐干酪品质调控体系。

参考文献

[1] Guinee T P. Salting and the role of salt in cheese[J]. International Journal of Dairy Technology，2004，57(2/3)：99-109.

[2] Massomian A，Rashidimehr A，Mohammadi-Nasrabadi F，et al. Salt contents in fermented dairy products：a strategic blueprint for healthier intake [J]. Food Science & Nutrition，2025，13(1)：e4762.

[3] Tidona F，Zago M，Carminati D，et al. The reduction of salt in different cheese categories：recent advances and future challenges [J]. Frontiers in Nutrition，2022，9：859694.

[4] Bae I，Park J H，Choi H Y，et al. Emerging innovations to reduce the salt content in cheese；effects of salt on flavor，texture，and shelf life of cheese；and current salt usage：a review [J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources，2017，37(6)：793-798.

[5] Yaşar K，Şahingil D，Hayaloğlu A A. Reducing sodium in Kashar cheese by partial substitution of NaCl with KCl：proteolysis，texture，meltability and sensory characteristics [J]. International Dairy Journal，2025，166：106239.

[6] Johnson M E，Kapoor R，Mcmahon D J，et al. Reduction of sodium and fat levels in natural and processed cheeses：scientific and technological aspects [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety，2009，8(3)：252-268.

[7] Lin X，Tang Y，Hu Y，et al. Sodium reduction in traditional fermented foods：challenges，strategies，and perspectives [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2021，69(29)：8065-8080.

[8] Guinee T P，Fox P F. Salt in cheese：physical，chemical and biological aspects[M]. Boston：Springer US，1993：257-302.

[9] Dugat-Bony E，Sarthou A S，Perello M C，et al. The effect of reduced sodium chloride content on the microbiological and biochemical properties of a soft surface-ripened cheese [J]. Journal of Dairy Science，2016，99(4)：2502-2511.

[10] Tabla R，Gómez A，Rebollo J E，et al. Salt influence on surface microorganisms and ripening of soft ewe cheese [J]. The Journal of Dairy Research，2015，82(2)：215-221.

[11] Leclercq-Perlat M N，Saint-Eve A，Picque D，et al. Microbiological，physicochemical，and sensory changes throughout ripening of an experimental soft smear-ripened cheese in relation to salt concentrations [J]. Journal of Dairy Science，2024，107(8)：6393-6411.

[12] Mcmahon D J. Issues with lower fat and lower salt cheeses. issues with lower fat & lower salt cheeses[J]. Australian Journal of Dairy Technology，2010，65(3)：200-205.

[13] Rulikowska A，Kilcawley K N，Doolan I A，et al. The impact of reduced sodium chloride content on Cheddar cheese quality[J]. International Dairy Journal，2013，28(2)：45-55.

[14] Dugat-Bony E，Bonnarme P，Fraud S，et al. Effect of sodium chloride reduction or partial substitution with potassium chloride on the microbiological，biochemical and sensory characteristics of semi-hard and soft cheeses [J]. Food Research International，2019，125：108643.

[15] 宋国顺，张炎，袁润泽，等. 不同NaCl添加量对牦牛乳硬质干酪成熟过程中生物胺产生的影响[J]. 食品科学，2022，43(22)：34-42.
Song G S，Zhang Y，Yuan R Z，et al. Effect of different NaCl addition levels on biogenic amine production during the maturation of yak milk hard cheese [J]. Food Science，2022，43(22)：34-42.(in Chinese)

[16] 刘兴龙，甘伯中，李帆，等. 白牦牛乳硬质干酪加工工艺技术研究[J]. 食品科学，2009，30(14)：94-98.
Liu X L，Gan B Z，Li F，et al. Study on processing technology of hard cheese from white yak milk [J]. Food Science，2009，30(14)：94-98.(in Chinese)

[17] 宋雪梅，宋国顺，梁琪，等. 氯化钠添加量对牦牛乳硬质干酪成熟过程中游离氨基酸含量的影响[J]. 乳业科学与技术，2024，47(6)：23-30.
Song X M，Song G S，Liang Q，et al. Effect of sodium chloride addition on free amino acid contents in hard yak cheese during maturation[J]. Journal of Dairy Science and Technology，2024，47(6)：23-30.(in Chinese)

[18] Magoč T，Salzberg S L. FLASH：fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. Bioinformatics，2011，27(21)：2957-2963.

[19] Edgar R C，Haas B J，Clemente J C，et al. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection[J]. Bioinformatics，2011，27(16)：2194-2200.

[20] Wang Y Y，Guo H，Gao X G，et al. The intratumor microbiota signatures associate with subtype，tumor stage，and survival status of esophageal carcinoma [J]. Frontiers in Oncology，2021，11：754788.

[21] 刘珊春，赵欣，赛宇，等. 西藏羊八井地区牦牛酸乳中乳酸菌菌种鉴定[J]. 食品工业科技，2016，37(10)：208-212.

Liu S C，Zhao X，Qian Y，et al. Identification of lactic acid bacteria strains in yak yogurt from Yangbajing，Tibet [J]. Food Industry Science and Technology，2016，37（10）：208-212.（in Chinese）

[22] Kaur M，Singh H，Jangra M，et al. Lactic acid bacteria isolated from yak milk show probiotic potential [J]. Applied Microbiology and Biotechnology，2017，101（20）：7635-7652.

[23] Cremonesi P，Perez G，Pisoni G，et al. Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolates in raw milk cheese[J]. Letters in Applied Microbiology，2007，45(6)：586-591.

[24] Juan B，Trujillo A J，Ferragut V. The effect of salt reduction and partial substitution of NaCl by KCl on physicochemical，microbiological，and sensorial characteristics and consumers' acceptability of semi-hard and hard lactose-free cow's milk cheeses[J]. Frontiers in Nutrition，2022，9：861383.

[25] Narvhus J A，Axelsson L. Lactic acid bacteria [M]. Amsterdam：Elsevier，2003：3465-3472.

[26] Kristensen L S，Siegumfeldt H，Larsen N，et al. Diversity in NaCl tolerance of *Lactococcus lactis* strains from *DL*-starter cultures for production of semi-hard cheeses [J]. International Dairy Journal，2020，105：104673.

[27] Hols P，Hancy F，Fontaine L，et al. New insights in the molecular biology and physiology of revealed by comparative genomics [J]. FEMS Microbiology Reviews，2005，29(3)：435-463.

[28] Kabuki T，Uenishi H，Seto Y，et al. A unique lantibiotic，thermophilin 1277，containing a disulfide bridge and two thioether bridges[J]. Journal of Applied Microbiology，2009，106(3)：853-862.

[29] Pinu F R. Early detection of food pathogens and food spoilage microorganisms：application of metabolomics [J]. Trends in Food Science & Technology，2016，54：213-215.

[30] Mohamed A S，El-Malt L M，Abdel Hameed K G，et al. Incidence of *Chryseobacterium* spp. in raw milk and some dairy products [J]. SVU-International Journal of Veterinary Sciences，2022，5(2)：77-90.

[31] 宋雪梅，马安娜，刘炫妍，等. 不同冷藏时间牦牛乳中细菌群落结构和理化性质比较[J]. 现代食品科技，2022，38(7)：126-132，62.
Song X M，Ma A N，Liu X Y，et al. Comparison of bacterial community structure and physicochemical properties in yak milk at different refrigeration durations [J]. Modern Food Science and Technology，2022，38（7）：126-132，62.（in Chinese）

[32] 王新惠，张雅琳，孙劲松，等. 基于高通量测序技术分析广味香肠中细菌群落结构和演替规律[J]. 中国食品学报，2021，22(3)：76-82.
Wang X H，Zhang Y L，Sun J S，et al. Bacterial community structure and succession law in cantonese sausage based on high-throughput sequencing technology [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2021，22(3)：76-82.（in Chinese）

[33] Teixeira C G，da Silva R R，Fusieger A，et al. O gênero *Weissella* na indústria de alimentos：uma revisão [J]. Research，Society and Development，2021，10（5）：e8310514557.

[34] Tsigkrimani M，Bakogianni M，Paramithiotis S，et al. Microbial ecology of artisanal feta and kefalograviera cheeses，part I：bacterial community and its functional characteristics with focus on lactic acid bacteria as determined by culture-dependent methods and phenotype microarrays[J]. Microorganisms，2022，10(1)：161.

[35] Bourdichon F，Casaregola S，Farrokh C，et al. Food fermentations：microorganisms with technological beneficial use [J]. International Journal of Food Microbiology，2012，154(3)：87-97.

[36] Møller K K，Rattray F P，Ardö Y. Application of selected lactic acid bacteria and coagulant for improving the quality of low-salt Cheddar cheese：chemical，microbiological and rheological evaluation [J]. International Dairy Journal，2013，33(2)：163-174.

[37] Yanachkina P，McCarthy C，Guinee T，et al. Effect of varying the salt and fat content in Cheddar cheese on aspects of the performance of a commercial starter culture preparation during ripening[J]. International Journal of Food Microbiology，2016，224：7-15.

[38] Possas A，Bonilla-Luque O M，Valero A. From cheese-making to consumption：exploring the microbial safety of cheeses through predictive microbiology models [J]. Foods，2021，10(2)：355.