

乳酸菌对苏尼特羊肠道菌群组成及肉品质的影响

刘婷¹, 王柏辉¹, 刘畅¹, 段艳¹, 苏琳¹, 田建军¹, 素布达², 靳焯^{1*}

(¹内蒙古农业大学 呼和浩特 010018)

²乌拉特中旗农牧和科技局 内蒙古巴彦淖尔 015300)

摘要 反刍动物肠道菌群多样性对动物肉品质有重要的影响。采用高通量测序技术分析饲料中添加乳酸菌对苏尼特羊肠道菌群组成及肉品质的影响。选取 3 月龄健康苏尼特羊 12 只,分成 2 组,一组饲喂基础饲料,另一组在基础饲料中添加 0.5% 的乳酸菌,饲养 90 d 后屠宰。结果表明:在乳酸菌组肠道中拟杆菌门及疣微菌门丰度占比均显著高于对照组 ($P < 0.05$),毛螺菌科 NK3A20 类群及另枝菌属丰度占比均显著低于对照组 ($P < 0.05$);在乳酸菌组背最长肌中红度值 a^* 、亮度值 L^* 显著高于对照组 ($P < 0.05$),风味物质如烃类、酮类、酯类等显著高于对照组 ($P < 0.05$),氨基酸以及不饱和脂肪酸含量均显著高于对照组 ($P < 0.05$),剪切力值则显著低于对照组 ($P < 0.05$)。整体上,饲料添加乳酸菌可以优化苏尼特羊的肠道菌群结构组成,促进机体营养代谢,进而改善肉品质。

关键词 乳酸菌; 肠道菌群; 高通量测序技术; 肉品质

文章编号 1009-7848(2022)02-0131-09 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2022.02.015

反刍动物具有较为特殊的消化器官,除了瘤胃,肠道也是重要的微生物发酵消化场所,起到营养物质补偿、参与机体的消化代谢的作用^[1]。胃和小肠消化后未被利用的淀粉、纤维物质以及一些不溶性蛋白等都能继续进入大肠中发酵,随后产生葡萄糖、挥发性脂肪酸等能为机体提供营养的能量物质^[2]。Malmuthuge 等^[3]发现饲喂不同饲料会改变奶牛胃肠道菌群的组成及结构,断奶前小奶牛大肠内的细菌丰富度显著高于小肠内的细菌丰富度^[4]。

有研究表明饲料的营养结构对羊肉中氨基酸、脂肪酸的结构和含量都有显著影响^[5]。刘传发等^[6]发现牦牛后肠道内有大量促进短链脂肪酸生成的益生微生物群,进一步提高了食物中营养成分的转化率。赵方舟等^[7]发现乳铁蛋白的干预能够提高仔猪盲肠菌群的多样性,改变短链脂肪酸的含量并改善盲肠菌群结构。乳酸菌能增强动物机体免疫能力并起到抗氧化的功效^[8]。郭春燕等^[9]在研究乳酸菌对反刍动物胃肠道中活菌比例、挥发性脂肪酸含量的影响中发现:瘤胃中外源乳酸菌能提高胃中总活菌比例。本试验采用高通量测序

技术检测肠道菌群菌落中的物种,比较饲料中添加乳酸菌对苏尼特羊肠道细菌多样性、肉的理化感官指标及营养品质的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物饲养及样本采集 从乌拉特中旗农区畜牧业育种园区内随机选取 12 只 3~4 月龄苏尼特羊并将其分为 2 组,每组 6 只【公母各半,体质量均为 (16.94 ± 1.29) kg】。

对照组:10 kg 精饲料、8 kg 青贮饲料和 5 kg 葵花饼;乳酸菌组:乳酸菌添加量为对照组总饲料(精饲料+青贮饲料+葵花饼)的 0.50%。乳酸菌为乳安邦复合微生态制剂(活菌数 $\geq 1.5 \times 10^9$ CFU/g),其成分主要包括干酪乳杆菌 HM-09、植物乳杆菌 HM-10 (*Lactobacillus casei* HM-09、*Lactobacillus plantarum* HM-10)。

在 90 d 饲喂后宰杀放血并采集 500 g 苏尼特羊背最长肌用于羊肉品质分析;苏尼特羊盲肠粪便样品用 50 mL 无酶无菌离心管进行采集,采集后直接贮存在干冰中,盲肠样品用作后期肠道微生物分析,所用样品采集带回后均保存在 -80 °C 冰箱。

1.1.2 仪器与设备 5424R 高速台式冷冻离心机, Eppendorf 公司;气相色谱 GC-质谱联用仪

收稿日期: 2021-02-27

基金项目: 内蒙古科技成果转化专项(2019CG066)

作者简介: 刘婷(1996—),女,博士生

通信作者: 靳焯 E-mail: jinyyec@sohu.com

MS、NanoDrop2000 超微量分光光度计, Thermo Fisher Scientific 公司; DYY-6C 电泳仪, 北京市六一仪器厂; GeneAmp®9700 型 PCR 仪, ABI 公司; Illumina Miseq MISEQ 测序仪, Illumina 公司; 固相微萃取头, Supelco 公司; RE-52AA 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂。

1.1.3 主要试剂及其来源 精饲料, 恒牧饲料科技有限公司; 青贮饲料、葵花饼为蒙古牧民自制; 乳安邦, 内蒙古和美科盛生物技术有限公司; DNA 抽提试剂盒, Omega Bio-Tek 公司; FastPfu 聚合酶, TransGen 公司; DNA 凝胶提取试剂盒, Axygen 公司; 土壤基因组 DNA 提取试剂, MP 公司; 37 种脂肪酸甲酯的混标, Sigma 公司; 正己烷、甲醇为色谱纯级, 其余试剂如无水硫酸钠、氢氧化钠、三氟化硼-乙醚络合物、乙醚、氢氧化钠、硫酸铜、硫酸钾和盐酸均为国产分析纯级, 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 肠道微生物菌群的测定 按照 DNA 提取试剂盒说明书提取微生物群落总 DNA, 利用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取的质量, 利用超微量分光光度计进行样品 DNA 浓度及纯度测定; 使用 (515F 和 926R, 515F: 5'-GTGCCAGCMGC-CGCGGTAA-3'; 926 R: 5'-CCGTCAATTCMTT-TRAGTTT-3') 对 16S rDNA 基因 V4-V5 可变区进行 PCR 扩增。

Illumina Miseq 测序及后期优化数据处理参照王柏辉^[5]的方法。

1.2.2 营养品质的测定 肉中脂肪酸的测定参照袁倩等^[10]的方法; 氨基酸的测定参照 GB 5009.124-2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》的方法。

1.2.3 感官品质测定 挥发性风味物质的测定参照李文博等^[11]的方法; 肉品质基础感官指标及理化指标(色差、pH 值、剪切力和熟肉率)的测定参照罗玉龙等^[12]的方法。在肉羊在屠宰后, 用胴体直插式 pH 计分别在 45 min 和 24 h 测定背最长肌的 pH 值, 记作 pH_{45min} 和 pH_{24h}。测定肉样色泽时肌肉切成 3 cm×3 cm×1 cm 的立方体, 其中 L* 表示亮度值; a* 表示红度值; b* 表示黄度值。取 50 g 左右的肉样, 在肉样中心插入温度计, 在水浴锅中 85

℃煮制 40 min, 待肉样中心温度达到 75 ℃后吸去表面水分, 按照下式计算熟肉率。

$$\text{熟肉率}(\%) = m_1/m_2 \times 100$$

式中, m_1 ——煮前质量, g; m_2 ——煮后质量, g。

1.3 数据处理

运用 SPSS 22.0 版本软件进行单因素方差分析及样本 t 检验。饲喂乳酸菌后胃肠道菌群的 Alpha 多样性及 Beta 多样性利用 FastTree 软件进行统计分析^[13]。

2 结果与分析

2.1 肠道菌群多样性分析

由于反刍动物饲料组成和机体能量代谢的不同, 肠道菌群及其代谢产物的变化和肉中化学组成变化紧密相关^[14]。具有益生作用的饲料能在反刍动物消化系统中建立有利于自身生长发育的优势菌群^[15]。同一品种的反刍动物在不同肠段的微生物群落组成和结构中均具有显著差异性^[16], 可能造成各个胃肠段的微生物群落丰度以及组成不同。

通过微生物物种丰富度和均匀度来表示肠道微生物多样性, Shannon 指数越大细菌多样性越高^[17], Ace 和 Chao 1 指数越大, 微生物群落丰富度越高^[18]。由表 1 数据得出对照组与乳酸菌组的 Shannon、Chao 1、Ace 指数具有显著差异性 ($P < 0.05$), 试验表明通过在饲料中添加乳酸菌可以增加苏尼特羊肠道微生物丰富度。两组样品覆盖深度约达到 99%, 当前测序量能够覆盖样本中的绝大部分

表 1 乳酸菌对苏尼特羊瘤胃菌群 α -多样性的影响
Table 1 Effect of lactic acid bacteria on the α -diversity of rumen microbe in Sunit sheep

	乳酸菌组	对照组
序列数	40 508	41 897
OTU 数	2 494	2 140
Shannon 指数	5.24 ± 0.19 ^a	4.31 ± 0.54 ^b
Ace 指数	2 242.5 ± 396.62 ^a	997.46 ± 126.22 ^b
Chao 1 指数	1 987.33 ± 177.54 ^a	1 244.33 ± 59.53 ^b
覆盖率/%	99	99

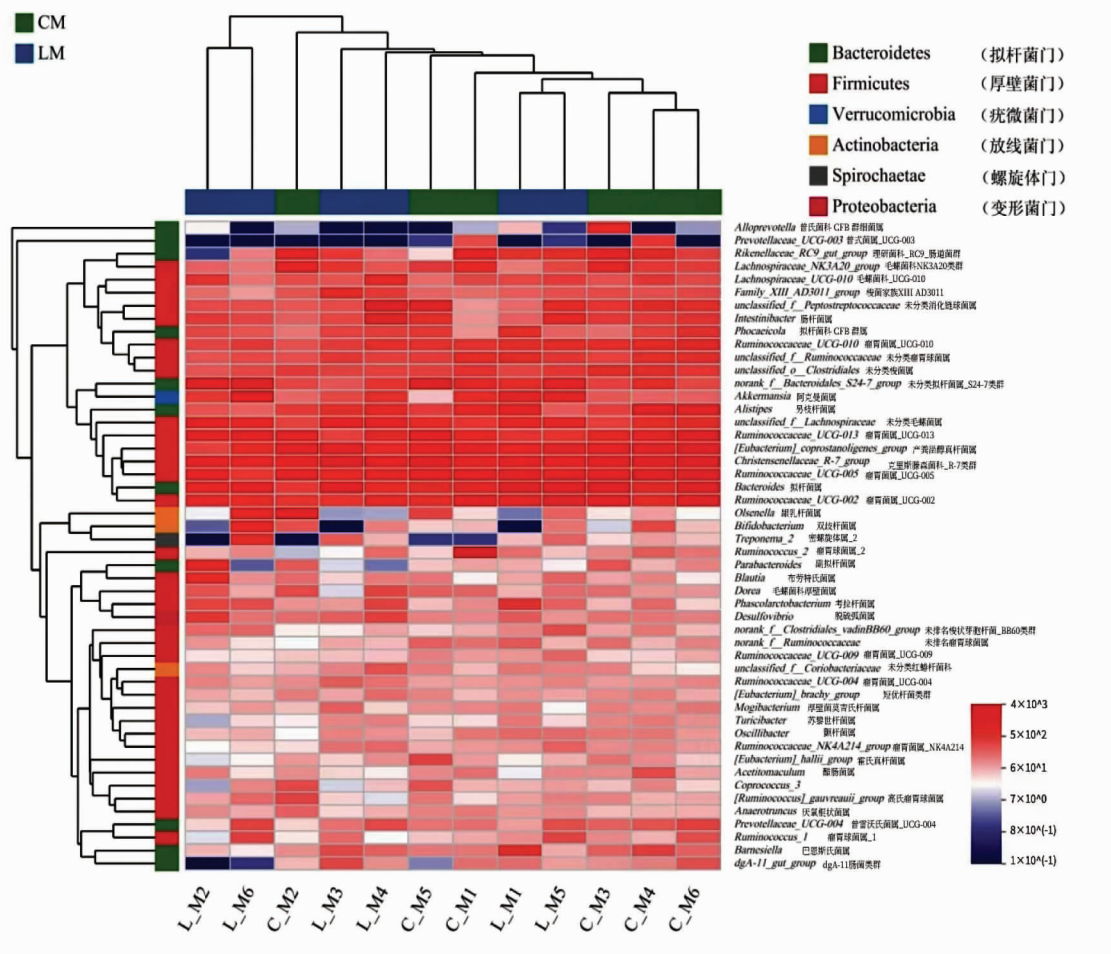
注: 同行不同上标字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 无字母标注表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

物种信息, 乳酸菌组微生物丰富度显著高于对照组, 本研究基因序列质量满足后续生物信息学分析的要求。

2.2 肠道菌群群落组成分析

Beta 多样性分析表示不同分组条件下样本之间微生物结构的相似性或差异性。基于样本属水

平分类, 由共享菌群绘制的聚类热图 1 可知, 乳酸菌组和对照组的菌落能明显区分开, 乳酸菌组主要以拟杆菌门、疣微菌门为主, 根据两组样本部分有聚类的趋势, 说明这两组从肠道区系划分都为盲肠, 有一定的同源性和相似性。



注:CM 代表对照组;LM 代表乳酸菌组。

图 1 两组间共享属聚类热图

Fig.1 Shared genus cluster heatmap between two groups

2.3 肠道菌群结构分析

2.3.1 菌群门水平分布 在门水平肠道主要物种组成丰度依次为厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria), 从表 2 中可以看出 12 个样品的优势菌群均以厚壁菌门和拟杆菌门为主, 这与杜瑞等^[19]在研究盲肠微生物多样性中的结果相同。其中乳酸菌组的

拟杆菌门及疣微菌门均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 厚壁菌门、放线菌门、变形菌门在两组中无显著差异。

反刍动物胃肠道中拟杆菌门升高能够减轻宿主食源性肥胖的症状, 因为拟杆菌门可以提高动物对碳水化合物的利用增加宿主体内脂肪的降解速率^[20]。有研究表明在动物肠道菌群多样性分析试验中, 无论单胃还是多胃动物的胃肠道菌群内

表2 乳酸菌对苏尼特羊盲肠菌群的影响(门水平,%)
Table 2 Effect of lactic acid bacteria on the cecal flora of Sunit sheep (phylum level,%)

	乳酸菌组	对照组
厚壁菌门	62.05 ± 4.33	71.51 ± 1.45
拟杆菌门	28.42 ± 2.12 ^a	18.34 ± 4.98 ^b
疣微菌门	5.58 ± 1.83 ^a	0.73 ± 0.12 ^b
放线菌门	3.58 ± 1.34	3.47 ± 1.62
变形菌门	1.30 ± 0.81	1.58 ± 0.61

注:同行不同上标字母表示差异显著($P < 0.05$),无字母标注表示差异不显著($P > 0.05$)。

都存在共性^[21]。苏尼特羊肠道菌群内容物中瘤胃菌属占比大,而一些瘤胃球菌属能够产生多种碳水化合物降解酶,具有降解碳水化合物的活性物质^[22]。疣微菌门存在于不同肠段,其遗传因子在不同部位有差异性表达,可以使用数百种酶来消化藻类多糖,能够独自降解糖类营养物质^[23]。

变形菌门中主要包含大肠杆菌等致病菌^[24],试验结果表明乳酸菌组中的变形菌门含量较少,添加乳酸菌后可能促进了放线菌门及疣微菌门的生长,一定程度上抑制了变形菌门的生长。

2.3.2 菌群属水平分布 在属水平肠道物种分布相对丰度大于1%的微生物主要有9个属,如表3所示,两组菌属按照占比降序排列依次为克里斯滕森菌科 R-7_group、拟杆菌属、产粪甾醇真细菌、瘤胃球菌属 UCG_013、瘤胃球菌属 UCG_002、阿克曼菌属等。

从本试验结果总体来看,肠道中乳酸菌组的物种丰富度较高,其中拟杆菌属和阿克曼菌属较为突出,两者丰度比例显著高于对照组($P < 0.05$),其功能不仅局限于发酵碳水化合物,还可能影响着代谢产物和免疫之间的平衡。阿克曼菌属可以合成糖苷酶降解黏蛋白,其菌膜上具有一种耐高温的细菌蛋白能抑制过度肥胖的发生,肠腔内产生的丙酸和丁酸作用于G蛋白偶联受体起到改善宿主对营养物质吸收、脂肪酸沉积以及转运代谢等功能,进一步基于肠道菌群提高羊肉品质^[25]。克里斯滕森菌科、瘤胃球菌属于厚壁菌门,乳酸菌组与对照组之间二者丰度无显著差异,在动物肠道及黏膜中广泛存在,前者促进宿主脂肪代谢沉积^[26],后者主要发酵代谢产物为乙酸和甲

酸,以瘤胃球菌属为主的肠型中细菌主要靠吸收单糖和降解黏蛋白来获取能量。瘤胃球菌属、消化链球菌科均会产生短链脂肪酸,短链脂肪酸除了能作为能源物质,还能随着血液到肌肉组织当中降低肉的pH值^[27]。对照组中另枝菌属丰度显著高于乳酸菌组($P < 0.05$),另枝菌属对动物疾病和精神健康有着重要的作用,研究表明高脂饮食(HFD)能促进另枝菌属中2种与结直肠癌有关的致病菌富集,在大肠癌中具有致病性^[28]。从表3分析可知,与对照组相比饲喂乳酸菌能提高苏尼特羊盲肠中有益菌属的丰度。有研究表明羊肉中的脂肪沉积与拟杆菌属和厚壁菌属的比例有着密切的关系,菌的代谢产物能进一步调控脂代谢途径相关基因,继而影响脂肪沉积水平^[29]。吴琼等^[30]通过高通量测序发现在草原红牛瘤胃菌群功能预测中,糖代谢、氨基酸代谢相关的基因较为富集,可能与相关微生物含有大量的木质纤维素降解酶基因有关。

表3 乳酸菌对苏尼特羊盲肠菌群的影响(属水平,%)
Table 3 Effect of lactic acid bacteria on the cecal flora of Sunit sheep (genus level, %)

	乳酸菌组	对照组
克里斯滕森菌科 R-7_group	8.68 ± 2.96	9.48 ± 3.20
拟杆菌属	9.27 ± 2.60 ^a	4.26 ± 2.09 ^b
产粪甾醇真细菌	4.03 ± 1.69	8.92 ± 2.61
瘤胃球菌属 UCG_013	3.94 ± 2.32	7.00 ± 3.20
瘤胃球菌属 UCG_002	4.51 ± 1.69	5.24 ± 2.59
阿克曼菌属	5.55 ± 1.85 ^a	1.3 ± 0.61 ^b
另枝菌	2.8 ± 2.51 ^b	3.9 ± 2.52 ^a
消化链球菌科	3.13 ± 1.88	1.24 ± 0.77
毛螺菌科 NK3A20 类群	1.07 ± 0.26 ^b	3.21 ± 0.70 ^a

注:同行不同小写字母代表差异显著($P < 0.05$),无字母标注代表差异不显著($P > 0.05$)。

2.4 乳酸菌对苏尼特羊肉品质的影响

肉的pH值对胴体肌肉中蛋白质降解、细菌繁殖、肉色、系水力等指标均有影响。宰后肌肉活动的主要能量来源取决于糖原和磷酸肌酸的分解,其分解产物分别是乳酸、磷酸和肌酸。由于酸性物质会在肌肉中贮存,最终导致肌肉的pH值

下降,测定 pH 值时间分别为 45 min 和 24 h。PSE 肉是指动物宰后肌肉出现色泽灰白(pale)、质地松散(soft)和肉表面渗水(exudative),DFD 肉是指动物宰后肌肉颜色暗黑(dark)、质地坚硬(firm)和表面干燥(dry),二者均是劣质肉的主要表现。 $\text{pH}_{45\text{min}}$ 可以鉴别生理正常肉和 PSE 肉。而 $\text{pH}_{24\text{h}}$ 可以反映羊肉是否成为了 DFD 肉,乳酸菌能够在反刍动物瘤胃中进行定植并与其它菌群互作,生长繁殖过程中还能产生乳酸等酸性代谢产物,不断增强肠道蠕动,使钙、镁等营养元素处于较易吸收的离子状态。此外,乳酸菌在动物消化系统中会生成一部分活性物质供机体更好地吸收代谢矿物质元素,如活性肽,能够通过协同螯合作用增加无机钙、镁、铁离子的含量,最终使畜禽肉中钙、镁蓄积^[31]。乳酸菌对苏尼特羊肉中 pH 值的影响,如表 4 所示。乳酸菌组 $\text{pH}_{24\text{h}}$ 值显著低于对照组,说明乳酸菌可以产生一些酸性代谢产物,可能增加羊肉中有机微量矿物质含量。

肌肉色泽,可以作为直观评价肉品好坏的指标。肌肉颜色变化主要是受到血红素的状态以及铁离子的氧化还原程度的影响,铁离子的氧化还原能够引起 3 种肌红蛋白(Mb)的转化,并在低氧分压下与氧结合生成 MbO_2 ,使得肉色呈鲜红色。然而随着年龄的增加以及饲料的不同,动物的肉色会发生变化。机体内能够自身产生多种抗氧化酶,能够保护机体免受自由基的损伤,自由基数量的减少能够保护肌肉中含磷脂的细胞膜免受脂质过氧化物的伤害,延缓分割肉中肌红蛋白变为高铁血红蛋白的速率^[32]。在乳酸菌的背最长肌的 a^* 值和 L^* 值略高于对照组, b^* 值在两组中均无显著差异($P>0.05$),说明饲喂乳酸菌可以减缓肉色变暗的速度,使得肉质颜色更加鲜红。

肉的嫩度是指肉易切割的程度,肉的嫩度主要取决于肌肉组织中肌纤维类型的基因表达及肌纤维的类型组成。pH 值、离子强度和某些外源性酶类都能够影响肌纤维中的肌球蛋白,使其发生改变。有研究表明肌原纤维的形态、结缔组织以及肌内脂肪的含量对肉的嫩度有着重要的影响^[33]。肌肉嫩度增加,肉质口感变好是由于肌纤维的密度降低,肌肉组织结构较为松散所导致^[34]。乳酸菌

组的剪切力显著低于对照组($P<0.05$),肉的剪切力值越小,嫩度则越大。饲喂乳酸菌可以改善羊肉的嫩度,可能是乳酸菌通过调整苏尼特羊肠道菌群结构,影响脂肪酸代谢,进而使肉中脂肪沉积。

熟肉率也是评价肉品质指标之一,熟肉率越高,表明加热后肉的失重少,水分流失少,缩水率低,乳酸菌组与对照组的熟肉率均无显著差异($P>0.05$)。

风味作为肉的营养品质指标能直接影响消费者对羊肉接受程度。风味由各种有机小分子挥发性物质共同形成,主要包括醛、醇、酮、酯、硫类化合物等^[35]。如表 4 所示,醇、醛两类占比最大,乳酸菌组烃类、酮类、酯类以及其它风味物质均显著高于对照组($P<0.05$),乳酸菌组的挥发性风味成分优于对照组,使得羊肉的风味品质更好^[36]。

氨基酸是肉香味的前体物质以及呈味物质,其种类和比例能衡量羊肉的营养价值,并维系人体的正常的生命活动。氨基酸在加热条件下经过脱羧、脱氨等化学反应,最终分解形成呈味氨基酸,刺激人体味觉传感器使其具有甜味、苦味、鲜味和酸味,一般熟知的呈特殊鲜味的氨基酸有谷氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸和酪氨酸这 6 种^[37]。由表 5 可知,乳酸菌组的总氨基酸含量显著高于对照组,羊肉的营养品质得到提高。

必需脂肪酸是人体维持正常代谢不可缺少的,同时必须通过食物供给的脂肪酸,其中 n-3 系列多不饱和脂肪酸(PUFA)主要包括 α -亚麻酸(ALA)、二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)等。乳酸菌组中 PUFA 以及 n-3 PUFA 的含量显著高于对照组($P<0.05$),乳酸菌组中 EPA 的含量显著高于对照组($P<0.05$),n-3 多不饱和脂肪酸能通过不同代谢途径降低人体血清中低密度脂蛋白胆固醇和甘油三酯水平,预防人体心血管疾病和炎症的发生。花生四烯酸(AA)属于 n-6 系列多不饱和脂肪酸,影响着机体骨代谢以及肉中风味物质的形成,乳酸菌组 AA 含量显著高于对照组($P<0.05$)。本研究中乳酸菌组中多不饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸显著高于对照组($P<0.05$),这与乳酸菌影响肠道菌群代谢产物调控脂肪酸代谢有关。

表4 乳酸菌对苏尼特羊肉感官及营养指标的影响

Table 4 Effect of lactic acid bacteria on sensory and nutritional indexes of Sunit sheep

感官品质		乳酸菌组	对照组
基础指标	pH _{45min}	6.25 ± 0.15	6.32 ± 0.12
	pH _{24h}	5.32 ± 0.02 ^b	6.13 ± 0.03 ^a
风味/%	<i>L</i> [*]	36.50 ± 0.19 ^a	33.27 ± 0.5 ^b
	<i>a</i> [*]	19.94 ± 0.55 ^a	17.30 ± 0.18 ^b
	<i>b</i> [*]	3.77 ± 0.58	3.31 ± 0.04
	熟肉率/%	0.59 ± 0.02	0.54 ± 0.03
	剪切力/N	77.28 ± 0.92 ^b	96.07 ± 2.38 ^a
	醇类	36.98 ± 3.41 ^b	41.07 ± 5.72 ^a
	醛类	37.15 ± 6.50 ^b	40.71 ± 7.08 ^a
	烃类	5.08 ± 1.06 ^a	4.75 ± 0.91 ^b
	酮类	6.35 ± 0.52 ^a	4.88 ± 0.57 ^b
	酯类	4.90 ± 0.92 ^a	4.33 ± 0.97 ^b
其它	8.02 ± 0.98 ^a	1.20 ± 0.31 ^b	

注:同行不同上标字母表示差异显著($P < 0.05$),无字母标注表示差异不显著($P > 0.05$)。

表5 乳酸菌对苏尼特羊肉营养品质的影响

Table 5 Effect of lactic acid bacteria on nutritional quality of Sunit sheep

营养品质		乳酸菌组	对照组
氨基酸/g·(100 g) ⁻¹	必需氨基酸总量	24.85 ± 1.65	22.48 ± 0.72
	非必需氨基酸总量	36.80 ± 1.70 ^a	32.95 ± 1.11 ^b
	总氨基酸	61.65 ± 3.35 ^a	55.43 ± 1.83 ^b
脂肪酸/%	棕榈酸(C16:0)	25.11 ± 0.61 ^b	27.03 ± 0.73 ^a
	硬脂酸(C18:0)	17.47 ± 1.17	17.07 ± 1.13
	油酸(C18:1 cis-9)	39.12 ± 1.82 ^b	45.58 ± 1.97 ^a
	亚油酸(C18:2 cis-9 tan-11)	0.34 ± 0.07 ^a	0.22 ± 0.01 ^b
	γ-亚麻酸(C18:3 n-6)	8.15 ± 0.86 ^a	3.09 ± 0.30 ^b
	α-亚麻酸(C18:3 n-3)	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.01
	共轭亚油酸(CLA)	0.31 ± 0.09 ^a	0.15 ± 0.01 ^b
	花生四烯酸(C20:4 n-6)	3.76 ± 0.28 ^a	0.86 ± 0.11 ^b
	二十碳五烯酸(C20:5 n-3)	0.18 ± 0.05 ^a	0.05 ± 0.04 ^b
	二十二碳六烯酸(C22:6 n-3)	0.12 ± 0.01	0.06 ± 0.06
	饱和脂肪酸(SFA)	45.49 ± 0.51	47.41 ± 1.49
	单不饱和脂肪酸(MUFA)	41.34 ± 1.62 ^b	47.96 ± 1.73 ^a
	多不饱和脂肪酸(PUFA)	13.17 ± 1.15 ^a	4.63 ± 0.51 ^b
n-3 PUFA	0.42 ± 0.05 ^a	0.22 ± 0.09 ^b	
n-6 PUFA	12.32 ± 1.07 ^a	4.22 ± 0.41 ^b	

注:同行不同上标字母表示差异显著($P < 0.05$),无字母标注表示差异不显著($P > 0.05$)。

3 结论

饲料中添加乳酸菌会使苏尼特羊肠道微生物的组成和结构发生改变,而肠道菌群代谢产物的改变继而影响肉品质。整体上乳酸菌组肠道微生物丰富及均匀度更高,门水平厚壁菌门和拟杆菌

门为优势菌群,属水平拟杆菌属和阿克曼菌属丰富度高且均与脂肪代谢有关,在饲料中添加乳酸菌还可以显著提高肉的 *a*^{*} 红度值、*L*^{*} 亮度值、降低肉的剪切力、提高肌肉中风味物质、氨基酸以及不饱和脂肪酸的含量,起到改善羊肉品质的效果。

参 考 文 献

- [1] BAUER P V, DUCA F A, WAISE T, et al. Metformin alters upper small intestinal microbiota that impact a glucose-sglT1-sensing glucoregulatory pathway[J]. *Cell Metabolism*, 2018, 27(1): 101-117.
- [2] 许婷婷. 高谷物饲料对山羊盲肠发酵、微生物区系和黏膜形态结构的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- XU T T. The effects of high-grain diet on cecal fermentation, bacterial microbiota and mucosal morphology of goats[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.
- [3] MALMUTHUGE N, LI M, GOONEWARDENE L A, et al. Effect of calf starter feeding on gut microbial diversity and expression of genes involved in host immune responses and tight junctions in dairy calves during weaning transition[J]. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96(5): 3189-3200.
- [4] MALMUTHUGE N, GRIEBEL P J, GUAN L L. Taxonomic identification of commensal bacteria associated with the mucosa and digesta throughout the gastrointestinal tracts of preweaned calves[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80(6): 2021-2028.
- [5] 王柏辉. 饲养方式对苏尼特羊胃肠道菌群、脂肪酸代谢和羊肉品质的影响及机理研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019.
- WANG B H. Effects of feeding regimens on gastrointestinal microbiota, fatty acid metabolism and meat quality of Sunit sheep and its underlying mechanism[D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2019.
- [6] 刘传发, 张良志, 付海波, 等. 野牦牛和家牦牛粪便菌群与短链脂肪酸关系的研究[J]. *兽类学报*, 2019, 39(1): 1-7.
- LIU C F, ZHANG L Z, FU H B, et al. Relationship research between fecal microbes and short chain fatty acid between wild yak and domestic yak[J]. *Acta Theriologica Sinica*, 2019, 39(1): 1-7.
- [7] 赵方舟, 胡平, 汪晶, 等. 早期乳铁蛋白干预对哺乳仔猪盲肠菌群结构、短链脂肪酸含量及黏膜炎症因子水平的影响[J]. *南京农业大学学报*, 2021, 44(1): 151-159.
- ZHAO F Z, HU P, WANG J, et al. Effects of early life lactoferrin intervention on cecal microbiota, the concentration of short chain fatty acids and the level of mucosal cytokines in suckling piglets[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2021, 44(1): 151-159.
- [8] BAGAYEVA T V, KITAEVSKAYA S V, RESHETNIK O A. The study of antioxidant potential of commercially valuable starter cultures of lactic acid bacteria[J]. *International Journal of Pharmacy and Technology*, 2016, 8(4): 24366-24372.
- [9] 郭春燕, 王雅晶, 纪守坤, 等. 瘤胃投喂外源乳酸菌对奶牛胃肠道活菌比例及挥发性脂肪酸浓度的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2019, 55(2): 94-98, 102.
- GUO C Y, WANG Y J, JI S K, et al. Effects of rumen feeding exogenous lactic acid bacteria on the ratio of viable bacteria in the gastrointestinal tract and the concentration of volatile fatty acids in dairy cows[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2019, 55(2): 94-98, 102.
- [10] 袁倩, 王柏辉, 苏琳, 等. 两种饲养方式对苏尼特羊肉脂肪酸组成和脂肪代谢相关基因表达的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(9): 29-34.
- YUAN Q, WANG B H, SU L, et al. Effects of two feeding regimens on fatty acid composition and lipid metabolism-related gene expression in Sunit sheep[J]. *Food Science*, 2019, 40(9): 29-34.
- [11] 李文博, 罗玉龙, 刘畅, 等. 饲养方式对苏尼特羊肉挥发性风味成分和脂肪酸组成的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(24): 207-213.
- LI W B, LUO Y L, LIU C, et al. Effects of feeding patterns on volatile flavor components and fatty acid composition of Sunit sheep meat[J]. *Food Science*, 2019, 40(24): 207-213.
- [12] 罗玉龙, 杨晶, 靳志敏, 等. 不同部位苏尼特羊食用品质与脂肪酸组成[J]. *食品工业*, 2015, 36(9): 294-297.
- LUO Y L, YANG J, JIN Z M, et al. Study on the eating quality and fatty acid composition in different anatomical locations of Sunit sheep[J]. *Food Industry*, 2015, 36(9): 294-297.
- [13] PRICE M N, DEHAL P S, ARKIN A P. FastTree 2—approximately maximum-likelihood trees for large alignments[J]. *PLoS One*, 2010, 5(3): 9490.
- [14] LARA M, SONIA A, RAUL B, et al. Antioxidants included in the diet of fattening lambs: Effects on immune response, stress, welfare and distal gut mi-

- crobiota[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2012, 173: 177–185.
- [15] 吴健豪. 益生菌在犊牛生产中的应用[J]. *畜牧与饲料科学*, 2018, 39(5): 34–38.
- WU J H. Application of probiotics in calf production [J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2018, 39 (5): 34–38.
- [16] TOROK V A, ALLISON G E, PERCY N J, et al. Influence of antimicrobial feed additives on broiler commensal posthatch gut microbiota development and performance[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(10): 3380–3390.
- [17] BRULC J M, ANTONOPOULOS D A, MILLE M E, et al. Gene-centric metagenomics of the fiber-adherent bovine rumen microbiome reveals forage specific glycoside hydrolases[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(6): 1948–1953.
- [18] 刘怡萱, 许国琪, 曹鹏熙, 等. 基于 16S rRNA 高通量测序的西藏农、牧区牦牛酸奶菌群多样性分析[J]. *食品科学*, 2020, 41(18): 92–97.
- LIU Y X, XU G Q, CAO P X, et al. Microbial diversity of yak yogurt in agricultural and pastoral areas of Tibet analyzed based on high-throughput 16S rRNA gene sequencing[J]. *Feed Science*, 2020, 41(18): 92–97.
- [19] 杜瑞, 靳焯, 王柏辉, 等. 益生菌对苏尼特羊胃肠道菌群、代谢物及肉品质的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(11): 14–21.
- DU R, JIN Y, WANG B H, et al. Dietary probiotics affect gastrointestinal microflora and metabolites and consequently improves meat quality in Sunit lambs[J]. *Food Science*, 2020, 41(11): 14–21.
- [20] LIU R, HONG J, XU X, et al. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention[J]. *Nature Medicine*, 2017, 23 (7): 859–868.
- [21] 李娜, 肖英平, 吕文涛, 等. 饲养密度对番鸭屠宰性能和肠道菌群结构的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2020, 56(12): 6.
- LI N, XIAO Y P, LÜ W T, et al. Effects of feeding densities on slaughter performance and intestinal flora structure of muscovy duck[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2020, 56(12): 6.
- [22] SUEN G, STEVENSON D M, BRUCE D C, et al. Complete genome of the cellulolytic ruminal bacterium *Ruminococcus albus* 7[J]. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(19): 5574–5575.
- [23] SICHERT A, CORZETT C H, SCHECHTER M S, et al. Verrucomicrobia use hundreds of enzymes to digest the algal polysaccharide fucoidan[J]. *Nature Microbiology*, 2020, 5(8): 1026–1039.
- [24] WANG H, NI X, QING X, et al. Live probiotic *Lactobacillus johnsonii* BS15 promotes growth performance and lowers fat deposition by improving lipid metabolism, intestinal development, and gut microflora in Broilers [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8(1): 1073–1076.
- [25] ZHOU K. Strategies to promote abundance of *Akkermansia muciniphila*, an emerging probiotics in the gut, evidence from dietary intervention studies[J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 33: 194–201.
- [26] RAMAYO-CALDAS Y, ZINGARETTI L, POPOVA M, et al. Identification of rumen microbial biomarkers linked to methane emission in Holstein dairy cows[J]. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 2020, 137(1):49–59.
- [27] GRECO G, HAGEN F, MEIBNER S, et al. Effect of individual SCFA on the epithelial barrier of sheep rumen under physiological and acidotic luminal pH conditions[J]. *Journal of Animal Science*, 2018, 96 (1): 126–142.
- [28] PARKER B J, WEARSCH P A, VELOO A C M, et al. The genus *Alistipes*: Gut bacteria with emerging implications to inflammation, cancer, and mental health [J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 906.
- [29] TURNBAUGH P J, LEY R E, MAHOWALD M A, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest[J]. *Nature*, 2006, 444(7122): 1027–1031.
- [30] 吴琼, 王思珍, 张适, 等. 基于 16S rRNA 高通量测序技术分析草原红牛瘤胃微生物多样性和功能预测的研究[J]. *畜牧与兽医*, 2020, 52(1): 62–67.
- WU Q, WANG S Z, ZHANG S, et al. Analysis of microbial diversitythe rumen of Grassland Red cattle and prediction of the function of the microbes based on the 16S rRNA high-throughput sequencing technology[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2020, 52(1): 62–67.
- [31] 卜尔红. 酪蛋白磷酸肽生产工艺优化及其应用研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009.

- BU E H. The optimal producing technology and application of the casein phosphopeptides[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2009.
- [32] 刘晓霞. 富硒益生菌对鸡生长和肉品质的改善及抗球虫感染的机制研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- LIU X X. Mechanisms study of selenium-enriched probiotics improving growth performance and meat quality of chickens and resisting coccidiosis infection [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.
- [33] LEE O O, WANG Y, YANG J, et al. Pyrosequencing reveals highly diverse and species-specific microbial communities in sponges from the red sea [J]. International Society for Microbial Ecology, 2011, 5(4): 650-664.
- [34] ANGOOD K M, WOOD J D, NUTE G R, et al. A comparison of organic and conventionally-produced lamb purchased from three major UK supermarkets: Price, eating quality and fatty acid composition[J]. Meat Science, 2008, 78(3): 176-184.
- [35] DDH B, ARNOLD J W. Electronic nose analysis of volatile compounds from poultry meat samples, fresh and after refrigerated storage[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2010, 82(3): 315-322.
- [36] KHAN M I, JO C, TARIQ M R. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors: A systematic review[J]. Meat Science, 2015, 110: 278-284.
- [37] 徐立峰. 人体必需但又不能合成的有机物[J]. 生物学教学, 2019, 44(6): 80.
- XU L F. An organic substance that is essential to the human body but cannot be synthesized[J]. Biology Teaching, 2019, 44(6): 80.

Effects of *Lactobacillus* on Intestinal Flora Composition and Meat Quality of Sunit Sheep

Liu Ting¹, Wang Bohui¹, Liu Chang¹, Duan Yan¹, Su Lin¹, Tian Jianjun¹, Su Buda², Jin Ye^{1*}

¹Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018

²Bureau of Agriculture, Animal Husbandry and Science and Technology of Wulate Zhongqi, Bayan Nur 015300, Inner Mongolia)

Abstract The diversity of intestinal flora in ruminants plays an important role in the quality of animal meat. In this study, high-throughput sequencing was used to analyze the effects of *Lactobacillus* on intestinal flora composition and meat quality of Sunit sheep. Twelve 3-month-old healthy Sunit sheep were divided into two groups, one group was fed with basic diet, the other group was fed with 0.5% *Lactobacillus* and slaughtered after 90 days. The results showed that Bacteroidetes and Verrucomicrobia in the intestinal flora of the *Lactobacillus* group were significantly higher than the control group ($P<0.05$), *Lachnospiraceae* NK3A20 group and *Alistipes* were significantly lower than the control group ($P<0.05$). In the *Lactobacillus* group, the redness value a^* and luminance value L^* were significantly higher than the control group ($P<0.05$), the flavor substances such as hydrocarbons, ketones and esters were significantly higher than the control group ($P<0.05$), the contents of amino acids and unsaturated fatty acids were significantly higher than the control group ($P<0.05$), and the shear force was significantly lower than the control group ($P<0.05$). *Lactobacillus* added to feed could optimize intestinal flora composition of Sunit sheep, promote nutrient metabolism of the body and improve meat quality.

Keywords *Lactobacillus*; intestinal flora; high-throughput sequencing; meat quality