陈强强, 寇肖迪, 徐海俊, 等. 蜡样芽孢杆菌在三种不同乳产品中的生长动力学特性以及引起乳制品感官变化特征 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(17): 233−243. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025090242
CHEN Qiangqiang, KOU Xiaodi, XU Haijun, et al. Growth Kinetics and Organoleptic Characterization of *Bacillus cereus* in Three Different Dairy Products[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(17): 233−243. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025090242

· 生物工程 ·

蜡样芽孢杆菌在三种不同乳产品中的生长动力学特性以及引起乳制品感官变化特征

陈强强[1], 寇肖迪[1], 徐海俊[1], 胡　瑜[2], 唐俊妮[1,*]
（1.西南民族大学药学与食品学院, 四川成都 610225;
2.康美包（苏州）有限公司, 江苏苏州 215021）

摘　要: 为探究蜡样芽孢杆菌在不同牛奶产品中的生长动力学特性及对牛奶品质影响，本研究采集了 50 份乳制品（包括 25 份工厂前处理罐原料乳和 25 份市售纸盒包装商品乳），通过甘露醇卵黄多粘菌素琼脂培养基（MYP）分离疑似菌株，结合形态学观察、蛋白质毒素结晶实验、Vitek-2 生化鉴定及 16S rRNA 测序分离鉴定蜡样芽孢杆菌；以筛选生长速率最快的菌株作为实验对象，按 10^1、10^2、10^3 CFU/mL 初始浓度回接至三种不同牛奶产品（纯牛奶、舒化牛奶和谷粒牛奶）中，研究在两种温度（25 ℃ 和 35 ℃）下，蜡样芽孢杆菌在三种不同产品中的生长动力学，采用 Logistic 方程拟合生长模型，同步监测三种牛奶产品的 pH 变化和感官影响。结果显示：分离鉴定的 3 株蜡样芽孢杆菌（B1、B2 和 B3）均源自原料乳，市售乳中未检出；通过生长曲线测定，研究 B1 菌株对三种不同牛奶产品的影响，结果表明温度和初始接种浓度对蜡样芽孢杆菌的生长影响较为明显，在 35 ℃ 条件下和高初始接种浓度下，乳制品中的蜡样芽孢杆菌较 25 ℃ 更早进入对数期和稳定期，迟滞期更短，三种类型的产品中，舒化牛奶更有利于蜡样芽孢杆菌的生长；Logistic 模型拟合度 R^2>0.9857；牛奶的 pH 随菌浓度增长变化明显，不同乳制品感官劣变具有各自的特异性，其中舒化牛奶气味劣变最为显著。本研究为乳制品蜡样芽孢杆菌污染预警及安全控制提供科学依据

关键词: 蜡样芽孢杆菌, 乳品, 生长动力学, pH 变化, 感官品质
中图分类号: TS252.1　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)17−0233−11
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025090242
本文网刊:

Growth Kinetics and Organoleptic Characterization of *Bacillus cereus* in Three Different Dairy Products

CHEN Qiangqiang[1], KOU Xiaodi[1], XU Haijun[1], HU Yu[2], TANG Junni[1,*]
（1.College of Pharmacy and Food, Southwest Minzu University, Chengdu 610225, China;
2.SIG Combibloc (Suzhou) Co., Ltd., Suzhou 215021, China）

Abstract: The purpose of this study was to investigate the growth kinetics of *Bacillus cereus* in different milk products and its impact on milk quality. Fifty dairy products (including 25 raw milk from factory pre-treatment tanks and 25 commercial milk packaged in boxes) were collected, and suspected strains were isolated using Mannitol-Egg-Yolk-Polymyxin Agar (MYP). Morphological observation, protein toxin crystallization experiment, Vitek-2 biochemical identification, and 16S rRNA sequencing were used to isolate and identify *B. cereus*. Further, one strain with the fastest growth rate was selected as the experimental object, and the strain was inoculated into three different milk products (pure milk, lactose-decomposed milk, and grain milk) at initial concentrations of 10^1, 10^2, and 10^3 CFU/mL. The growth kinetics of *B. cereus* in three different products were studied at two temperatures (25 ℃ and 35 ℃), and a Logistic equation was used to fit the growth

收稿日期: 2025−09−22
基金项目: 西南民族大学 2025 年研究生创新型科研项目一般项目（No.164）。
作者简介: 陈强强（1999−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 2338659742@qq.com。
*** 通信作者:** 唐俊妮（1971−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物与食品安全, E-mail: 392783291@qq.com。

model. The pH and sensory changes of the three milk products were simultaneously monitored. The results showed that the three strains (B1, B2, and B3) of *B. cereus* originated from raw milk were isolated and identified and they were not detected in commercial milk products. By measuring the growth curve, B1 strain with a faster growth rate was selected as the experimental object to study its effects on three different milk products. The results showed that temperature and initial inoculation concentration had a more significant impact on the growth of *B. cereus*. At 35 ℃ and high initial inoculation concentration, *B. cereus* in dairy products entered the logarithmic and stable phases earlier than at 25 ℃, with a shorter lag period. Among the three types of products, lactose-decomposed milk was more conducive to the growth of *B. cereus*. The fitting degree of the Logistic model was R^2>0.9857. It was found that the pH of milk changed significantly as the bacterial concentration increased. Different dairy products had their own characteristics in terms of sensory degradation. Among them, the odor deterioration of lactose-decomposed milk was the most significant. This study provides a scientific basis for the early warning and safety control of *B. cereus* contamination in dairy products.

Key words: *Bacillus cereus*; dairy products; growth kinetics; pH changes; sensory quality

随着全球乳制品消费量的持续增长及消费者对营养健康需求的不断提升，乳制品质量安全已成为食品工业和公共卫生关切的核心。据 OECD-FAO 预测，2029 年全球牛奶产量将达到 9.97 亿吨[1]，中国作为全球最大的乳制品新兴市场，人均乳制品消费量逐年攀升[2]。然而，乳及乳制品富含优质蛋白、乳糖和脂肪，为微生物繁殖提供了理想基质，其从牧场到餐桌的复杂供应链极易遭受致病菌污染，引发腐败变质与食源性疾病[3]。近年来，由微生物污染导致的乳制品安全事件频发，不仅造成巨大经济损失，更严重威胁消费者健康，其中蜡样芽孢杆菌已成为全球乳制品召回的主要原因之一[4]。

蜡样芽孢杆菌是一种广泛分布于土壤、尘埃、水体及食品生产环境的革兰氏阳性产芽孢食源性致病菌[5]。其芽孢具有极强的耐热性，可耐受传统巴氏杀菌（72~85 ℃）和超高温瞬时灭菌（UHT），在成品乳中长期存活，于适宜条件下萌发并快速增殖[6]。该菌在乳制品中的污染率高达 10%~40%，其致病因子主要包括致腹泻肠毒素和致呕吐毒素，摄入 10^5~10^8 CFU/mL 的活菌或 1.5~12 μg/kg 的呕吐毒素即可引发中毒症状[7]。蜡样芽孢杆菌可在 4~8 ℃ 冷藏条件下缓慢生长，对低温长货架期乳制品构成持续威胁[8]。据估计，全球约 1.4%~12% 食源性疾病由蜡样芽孢杆菌引起[9]。

蜡样芽孢杆菌在乳制品中的生长动力学是预测其安全风险和货架期的核心参数，最大比生长速率等关键动力学参数决定产品不同贮藏条件下的安全时限，细菌生长受原料源头、温度、基质组成、初始菌浓度等多因子影响。Tirloni 等[3] 对意大利乳制品生产链的长期监测表明，该菌在原料乳中检出率为 10.3%~35%，主要污染源为挤奶设备和青贮饲料，巴氏杀菌后成品乳中检出率显著降低。郭佳等[4] 发现中国北方牧区原料乳污染率较高，粗饲料储存不当成为主要的风险因子。Zhao 等[10] 在全国 10 省份的调研发现夏季样品蜡样芽孢杆菌污染率（28.7%）显著高于冬季（8.5%）样品。Le Marc 等[8] 通过 Stochastic 模型证实，蜡样芽孢杆菌最适生长温度为 30~37 ℃。而 Maktabdar 等[11] 发现冷藏条件下菌株仍可缓慢生长，对低温长货架期乳制品构成威胁。基质组成也会显著影响生长，乳制品中乳糖、蛋白质及添加成分可改变细菌的营养利用效率[12−14]；谷物中的膳食纤维可通过竞争营养延缓菌株增殖[12−13]；此外，乳蛋白中的 κ-酪蛋白可被蜡样芽孢杆菌蛋白酶水解，不仅为菌株提供氮源，还可改变乳体系稳定性，间接影响生长环境[13,15]。王慧莹[16] 指出高碳水化合物和蛋白质含量可促进蜡样芽孢杆菌增殖。舒化奶乳糖分解或加速生长，谷粒奶添加成分可影响代谢[12,17]。Yang 等[17] 在对再制乳生产链的暴露评估中证实产品配方差异会显著改变菌体增殖速率。目前仍缺乏针对舒化奶、谷物奶等创新液态乳中蜡样芽孢杆菌生长的研究。Logistic 模型因参数简洁、拟合度高，常被用于描述微生物“S”型生长过程[18]。但将其与乳品 pH 变化、感官劣变结合的多指标联合预警模型尚未见报道。蜡样芽孢杆菌导致乳制品感官劣变是其危害的重要表现形式，该菌分泌的热稳定蛋白酶与脂肪酶是主要致腐因子，蛋白酶特异性水解 κ-酪蛋白，破坏酪蛋白胶束稳定性，导致蛋白质凝结、乳清析出及苦味肽产生[19]；脂肪酶释放的中短链游离脂肪酸是酸败味的主要来源[12]；在谷粒牛奶中，蜡样芽孢杆菌产生的淀粉酶可降解燕麦多糖，产生短链脂肪酸影响谷物原有风味[20]。基于上述研究现状，本研究以纯牛奶、舒化牛奶、谷粒牛奶三种典型乳制品为对象，探究蜡样芽孢杆菌在不同温度（25、35 ℃）和不同初始污染水平（10^1~10^3 CFU/mL）下的生长动力学规律及乳基质类型对菌株生长的交互影响，构建适用于三种乳制品的 Logistic 生长预测模型、同步监测菌株生长过程中乳制品 pH 变化与感官劣变特征，建立菌浓度-pH-感官评分的关联关系。旨在为乳制品蜡样芽孢杆菌污染的源头管控、生长风险预测及品质劣变预警提供科学依据，助力乳制品工业的安全高效发展。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

实验所用牛奶样品系无菌采集于某工厂前处理罐中牛奶样品共 25 份，以及采集自电商和超市售卖的纸盒包装纯牛奶样品共 25 份（详见表 1）；实验菌株　采用从样品中分离并鉴定的菌株；蜡样芽孢杆菌

表 1　样品采集信息

Table 1　Samples collection information

样品编号	采样时间	样品来源	样品名称
1号	2022.04.22	前处理罐	原料乳
2号	2022.04.22	前处理罐	原料乳
3号	2022.04.22	前处理罐	原料乳
4号	2022.04.22	前处理罐	原料乳
5号	2022.04.22	前处理罐	原料乳
6号	2022.04.22	前处理罐	原料乳
7号	2022.04.22	前处理罐	原料乳
8号	2022.06.08	前处理罐	原料乳
9号	2022.06.08	前处理罐	原料乳
10号	2022.06.08	前处理罐	原料乳
11号	2022.06.08	前处理罐	原料乳
12号	2022.06.08	前处理罐	原料乳
13号	2022.06.08	前处理罐	原料乳
14号	2022.06.08	前处理罐	原料乳
15号	2022.08.03	前处理罐	原料乳
16号	2022.08.03	前处理罐	原料乳
17号	2022.08.03	前处理罐	原料乳
18号	2022.08.03	前处理罐	原料乳
19号	2022.08.03	前处理罐	原料乳
20号	2022.08.03	前处理罐	原料乳
21号	2022.08.03	前处理罐	原料乳
22号	2022.08.03	前处理罐	原料乳
23号	2022.08.03	前处理罐	原料乳
24号	2022.08.03	前处理罐	原料乳
25号	2022.08.03	前处理罐	原料乳
26号	2022.05.25	淘宝电商	商品乳
27号	2022.05.25	淘宝电商	商品乳
28号	2022.05.25	淘宝电商	商品乳
29号	2022.05.25	淘宝电商	商品乳
30号	2022.05.25	淘宝电商	商品乳
31号	2022.05.25	淘宝电商	商品乳
32号	2022.05.25	淘宝电商	商品乳
33号	2022.05.25	淘宝电商	商品乳
34号	2022.05.25	淘宝电商	商品乳
35号	2022.05.25	淘宝电商	商品乳
36号	2022.05.25	永辉超市	商品乳
37号	2022.05.25	永辉超市	商品乳
38号	2022.05.25	永辉超市	商品乳
39号	2022.05.25	永辉超市	商品乳
40号	2022.05.25	永辉超市	商品乳
41号	2022.05.25	永辉超市	商品乳
42号	2022.05.25	永辉超市	商品乳
43号	2022.05.25	永辉超市	商品乳
44号	2022.05.25	华润万家超市	商品乳
45号	2022.05.25	华润万家超市	商品乳
46号	2022.05.25	华润万家超市	商品乳
47号	2022.05.25	华润万家超市	商品乳
48号	2022.05.25	华润万家超市	商品乳
49号	2022.05.25	华润万家超市	商品乳
50号	2022.05.25	华润万家超市	商品乳

(CICC21261)、苏云金芽孢杆菌(CICC22945)、蕈状芽孢杆菌(CICC21473)　三株菌株均购买于中国工业微生物菌种保藏管理中心；甘露醇卵黄多粘菌素琼脂培养基(MYP)、胰酪大豆胨琼脂培养基　广东环凯微生物科技有限公司；营养琼脂培养基、硫酸锰营养琼脂培养基　青岛海博生物技术有限公司；平板计数琼脂培养基、林格试液片剂　德国默克生命科学技术有限公司；Vitek-2 鉴定所用试剂及配套测试卡片　生物梅里埃美国股份有限公司。

DW-HL550 低温冰箱　中科美菱低温科技股份有限公司；Vitek 2 System 全自动微生物鉴定仪　生物梅里埃美国股份有限公司；SN510C 高压蒸汽灭菌锅　重庆雅马拓科技有限公司；1120 BBC 86 生物安全柜　山东博科生物产业有限公司；DHP-9272 电热恒温培养箱　上海一恒科学仪器有限公司；Ecotron 振荡培养箱、TSGP10 水浴锅　赛默飞世尔科技有限公司；H1650K 台式微量高速离心机　湘仪仪器有限公司；MS 3B S25 涡旋混匀仪　德国 IKA 公司；Bax Q7 荧光实时定量 PCR 仪　美国 Hygiena 公司；BSH-2 细胞破碎仪　杭州遂真生物技术有限公司；DRY BATH 恒温干浴器　日本 ASONE 公司；移液器　德国 Eppendorf 公司；S600 双目生物显微镜　德国 LIOO 公司。

1.2　实验方法

1.2.1　样品的采集、分离与纯化　样品采集如表 1 所示，在采集不同批次的前处理牛奶样品时，使用移液器和一次性无菌移液管，每次各准确移取 15 mL 样品至灭菌空试管内，将样品按照采集时间顺序按照 1 号至 25 号依次进行编号，随后置于 4 ℃ 环境冷藏保存备用。对于成品盒装牛奶，采集前先用 75% 酒精对纸盒吸管口进行消毒，随后利用移液器和一次性无菌移液管，从每盒牛奶产品中精准采集 15 mL 乳样，转移至灭菌空试管，按采集时间顺序从 26 号至 50 号依次编号，并同样放置在 4 ℃ 环境中冷藏保存，以待后续使用。参考郭佳等[4] 方法，使用无菌接种环取试管内样品划线接种于 MYP 平板上，30 ℃ 条件下培养 24 h；挑取分离得到的疑似菌株划线接种于营养琼脂培养基上，37 ℃ 条件下培养 24 h；挑取单菌落再次划线接种于营养琼脂培养基，在 37 ℃ 条件下培养 24 h 进行菌株纯化。

1.2.2　分离菌株的形态学观察及生化鉴定　镜检：挑取营养琼脂平板上的纯培养物适量涂布于滴有无菌生理盐水的载玻片上，干燥后固定，滴加 1~2 滴草酸铵结晶紫染色 1 min 后水洗至无色，滴加适量碘液染色 1 min 后水洗至无色，滴加 95% 乙醇脱色约 30 s 后水洗，滴加 1~2 滴沙黄染液复染 1 min 后水洗并干燥，使用显微镜进行镜检。

生化鉴定：使用 Vitek-2 方法鉴定细菌，参考黄立波[21] 的方法并稍作调整，取 3 mL 生理盐水于试管，用无菌拭子蘸取营养琼脂平板上的纯培养物，制备三株分离菌株和蜡样芽孢杆菌(CICC21261)的菌悬液，调整麦氏浊度至 0.5 McF，将菌悬液放入载卡架槽，扫描条形码输入样品编号，载卡架放入装载

仓, 填空卡片后转移至孵育仓, 仪器自动检测并显示结果。

根状生长实验: 参照国标[22] 和文献 [23], 挑取可疑菌落, 间隔 2~3 cm 划平行直线于干燥 1~2 d 的营养琼脂平板, 30±1 ℃ 培养 24~48 h, 以蕈状芽孢杆菌 (CICC21473)作为对照。

蛋白质毒素结晶实验: 参照国标[22], 挑取可疑菌落接种于硫酸锰营养琼脂平板, 30±1 ℃ 培养 24±2 h, 室温放置 3~4 d; 取培养物于载玻片, 加蒸馏水涂膜, 自然干燥后微火固定, 加甲醇作用 30 s, 火焰干燥, 滴 0.5% 碱性复红, 加热 1~2 min, 更换染色液再加热 30 s, 清洗晾干后镜检; 观察游离芽孢(浅红色)和深红色菱形蛋白结晶体; 若游离芽孢不丰富, 室温再培养 2~3 d 后检查, 以苏云金芽孢杆菌(CICC22945)作为对照。

1.2.3 16S rRNA 鉴定 将分离筛选的菌株命名为 B1、B2、B3, 挑取纯化后的单个菌落打散于林格氏液中, 涡流混匀(2500 r/min, 30 s), 取 1 mL 菌液离心(4 ℃, 12000 r/min, 2 min), 弃上清, 收集菌体用于 DNA 提取。采用蛋白酶 K 裂解法[24], 加入 50 μL 蛋白酶 K 裂解液混匀, 55 ℃ 水浴 1 h, 12000 r/min 离心 2 min, 取上清液于 95~97 ℃ 加热 10 min 保存备用。

PCR 反应体系: BioLinker 2×Taq Mix 20 μL, 使用 16S rRNA 基因通用引物 27F(5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′)和 1492R(5′-GGTTACCTTGTTACGACTT-3′)进行 PCR 扩增与测序鉴定[25], DNA 模板 1~3 μL, dd H_2O 补至 40 μL。

扩增条件: 94 ℃ 预变性 3 min; 94 ℃ 变性 30 s, 56 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 90 s, 循环 30 次。PCR 产物经 4% 琼脂糖凝胶电泳, 回收约 1500 bp 单一条带送到生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

1.2.4 样品制备 将灭菌融化的胰酪大豆胨琼脂培养基置于 45 ℃ 水浴锅中保温备用, 随后取经传代培养并完成活菌计数的菌悬液, 用磷酸盐缓冲液(PBS)梯度稀释至 3×10^4、3×10^3、3×10^2 CFU/mL 浓度梯度。各取 1 mL 稀释菌液分别接种至 9 mL 不同牛奶产品(纯牛奶、舒化牛奶、谷粒牛奶)中, 制备污染浓度为 3×10^3、3×10^2、3×10^1 CFU/mL 的样品, 使用涡流混匀仪以 2500 r/min 转速振荡混匀 30 s, 确保菌液与样品充分结合。所有样品按培养条件(25 ℃ 或 35 ℃)、基质类型及初始菌浓度进行系统编号: 纯牛奶组中, 25 ℃ 培养的 10^1、10^2、10^3 CFU/mL 样品分别标记为 25-C-1、25-C-2、25-C-3, 35 ℃ 培养的对应样品标记为 35-C-1、35-C-2、35-C-3; 舒化牛奶组和谷粒牛奶组依次类推, 分别标记为: 25-S-1、25-S-2、25-S-3; 35-S-1、35-S-2、35-S-3; 25-G-1、25-G-2、25-G-3; 35-G-1、35-G-2、35-G-3。完成编号后, 所有样品分别转移至 25 ℃ 和 35 ℃ 恒温培养箱中进行培养。

1.2.5 回接菌株的筛选 对分离鉴定出的三株蜡样芽孢杆菌(B1、B2 和 B3)进行回接筛选, 以用于后续实验。在 25 ℃ 下, 以纯牛奶为培养基质, 三株菌株起始浓度均为 3×10^2 CFU/mL, 分别在培养的第 0~72 h 取样, 使用涡流混匀仪 2500 r/min 转速下 30 s 混匀, 使用 PBS 进行适宜梯度的稀释后取 1 mL 稀释液于无菌培养皿内, 随后倾倒约 15 mL 45 ℃ 左右的平板计数琼脂培养基, 每个样品 3 个平行, 立即平移晃动摇匀培养皿中的混合物, 待凝固后置于 37 ℃ 培养 18~24 h(使用甘露醇卵黄多粘菌素琼脂培养基鉴定是否有杂菌污染)。观察并统计适宜稀释度平板中菌落数量, 计算每个时间段每份样品中的细菌数并绘制生长曲线, 选取生长速率快的一株菌株作为后续研究对象, 进一步研究其在三种不同乳制品中的生长动力学。

1.2.6 生长曲线的测定及生长动力学 采用 1.2.5 中筛选的菌株进行实验, 样品制备详见 1.2.4, 开展两种温度(25 ℃ 和 35 ℃)和三种类型牛奶(纯牛奶、舒化牛奶、谷粒牛奶)中蜡样芽孢杆菌的生长曲线测定。在实验进程的第 0~72 h 取样测定细菌总数, 每个样品设置 3 个平行。使用 Logistic 方程[26−28] 模拟蜡样芽孢杆菌在不同温度和不同奶制品中的生长动力学模型。公式如下:

$$N(t)=\frac{N_{max}}{\left\{1+\exp\left[\frac{4\mu_{max}}{N_{max}(\lambda-t)}+2\right]\right\}}$$

式中, t 代表培养时间(h), N_{max} 为蜡样芽孢杆菌的最大生长量(CFU/mL), μ_{max} 为蜡样芽孢杆菌的最大生长速率(h^{-1}), λ 为迟滞期时长(h)。

1.2.7 观察期内不同牛奶 pH 检测 按照 1.2.4 的制备方法, 分别在 0~72 h 内定时取样, 涡旋混匀 30 s 后, 用 pH 计测定各组样品 pH。

1.2.8 观察期内牛奶感官检测 灭菌干燥西林瓶, 取三种产品各 9 mL, 加入 1 mL $3\times(10^4、10^3、10^2)$ CFU/mL 菌液, 制备 $3\times(10^3、10^2、10^1)$ CFU/mL 污染样品, 密封后按 1.2.4 进行编号, 25、35 ℃ 避光保存。参考国标[29] 及邵景海等[30] 方法, 对污染产品进行一周内组织状态、气味、色泽的单盲法感官评价。评价

表 2 感官评价评分

Table 2 Sensory evaluation scores

项目	评分标准	分值
组织状态	组织均匀细腻, 质地光滑, 无分层	31~40
	质地较细腻, 有少量脂肪膜及蛋白质凝结, 无气泡	16~30
	质地较粗糙, 有气泡产生, 有乳清析出或出现明显分层	0~15
气味	产品风味和奶香协调, 无异常或其他味道	21~30
	产品风味减弱, 有轻微奶香	11~20
	产品风味及奶香味微弱, 有酸味或臭味等异味	0~10
色泽	色泽均匀, 有光泽, 呈正常乳白色	21~30
	色泽较差, 颜色稍加深	11~20
	色泽不均匀, 颜色变暗变黄, 无光泽	0~10

小组由 20 名 22~45 岁食品相关专业人员组成，男女比例各一半，分析不同产品受污染后的感官变化差异。感官评价评分标准见表 2。

1.3　数据处理

用 Excel 2020 软件对数据进行统计和计算，利用 Origin 2021 对各项指标数据分析结果进行可视化制图。

2　结果与分析

2.1　菌株分离、镜检及鉴定结果

经 MYP 培养基形态特征初步鉴别，在采集自前处理罐的 25 份原料乳样品中的第 7 号、12 号和 16 号样品内发现有三株疑似蜡样芽孢杆菌，在 25 份市售纸盒包装商品乳样品内未发现蜡样芽孢杆菌疑似菌株。细菌在 MYP 培养基上的形态特征和镜检结果如图 1 所示，分离的三株菌株革兰染色均为阳性，细胞呈杆状，芽孢位于菌体中心或中心附近偏向一端，芽孢直径与菌体横径相近。

经 Vitek-2 系统鉴定，由表 3 可知，三株分离菌株和蜡样芽孢杆菌（CICC21261）均呈现以下生化特征：亮氨酸芳胺酶、苯丙氨酸芳胺酶、丙氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸芳胺酶、丙氨酸芳胺酶、吡咯烷基芳胺酶、酪氨酸芳胺酶呈阳性；能水解七叶灵；可利用环糊精、D-葡萄糖、N-乙酰-D-葡萄糖氨、丙酮酸盐、D-核糖、糖元、麦芽三糖、N-乙酰-β-D-葡萄糖氨酶和 D-海藻糖作为碳源；并能在 6.5% 氯化钠高盐环境中生长。符合蜡样芽孢杆菌的生理生化特征。

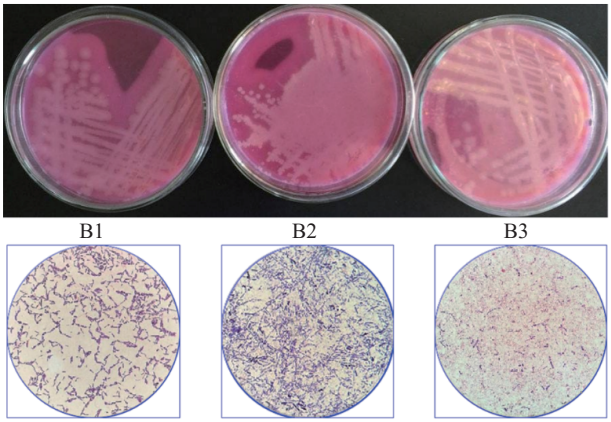


图 1　三株分离菌株在 MYP 培养基上的形态特征和革兰染色镜检结果（B1、B2 和 B3）

Fig.1　Morphology of three isolated strains on MYP medium and Gram staining microscopy results (B1, B2, and B3)

注：油镜观察，放大倍数 1000×。

根状生长试验如图 2 所示，三株菌均形成典型粗糙山谷状菌落结构。

由图 3 可知蛋白质毒素结晶实验检测发现菌体可形成浅红色孢子，但未观察到深红色菱形毒素晶体。

综合生化特征分析、形态学观察、根状生长实验和蛋白质毒素结晶实验结果，三株分离菌株初步确定为蜡样芽孢杆菌。

表 3　三种分离菌株的生化鉴定结果

Table 3　Biochemical identification of three isolates

试验代码	试验项目名称	结果	试验代码	试验项目名称	结果
BXYL	β-木糖苷酶	−	LeuA	亮氨酸芳胺酶	+
BGAL	β-半乳糖苷酶	−	AlaA	丙氨酸芳胺酶	+
APPA	丙氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸芳胺酶	+	GLYG	糖元	+
ELLM	ELLMAN	−	MTE	麦芽三糖	+
dMNE	D-甘露糖	−	PLE	古老糖	−
BMAN	β-甘露糖苷酶	−	AGLU	α-葡萄糖苷酶	−
INU	菊粉	−	PSCNa	腐胺同化	−
OLD	竹桃霉素耐受	−	POLYB_R	多粘菌素B耐受	−
LysA	L-赖氨酸芳胺酶	−	PheA	苯丙氨酸芳胺酶	+
PyrA	吡咯烷基芳胺酶	+	TyrA	酪氨酸芳胺酶	+
CDEX	环糊精	+	INO	肌醇	−
MdX	甲基-D-木糖苷	−	GlyA	氨基酸芳胺酶	−
PHC	磷酰基维生素B	−	IRHA	L-鼠李糖	−
dGLU	D-葡萄糖	+	dTAG	D-塔格糖	−
ESC	七叶灵水解	+	NaCl 6.5%	6.5%氯化钠生长	+
AspA	L-天冬氨酸芳胺酶	−	ProA	脯氨酸芳胺酶	−
AGAL	α-半乳糖苷酶	−	BNAG	N-乙酰-β-D-葡萄糖氨酶	+
dGAL	D-半乳糖	−	MdG	甲基葡萄糖甙酸化	−
AMAN	α-甘露糖苷酶	−	dMAN	D-甘露醇	−
NAG	N-乙酰-D-葡萄糖氨	+	BGLU	β-葡萄糖苷酶	−
PVATE	丙酮酸盐	+	dTRE	D-海藻糖	+
dRIB	D-核糖	+	KAN	卡那霉素耐受	−
TTZ	多粘菌素B耐药	−			

注：+.阳性；−.阴性。

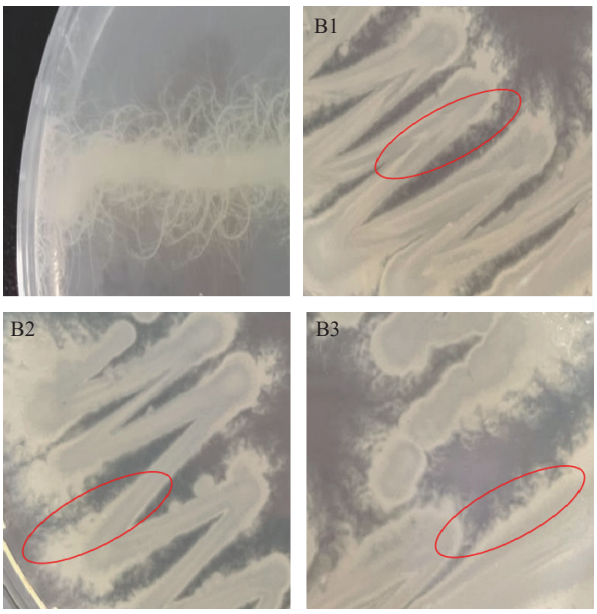


图 2　蜡样芽孢杆菌根状生长实验

Fig.2　Results for *B. cereus* rhizoid growth experiment

注：左边为蕈状芽孢杆菌；B1、B2、B3 分别为筛选出的三株蜡样芽孢杆菌菌落生长形态。

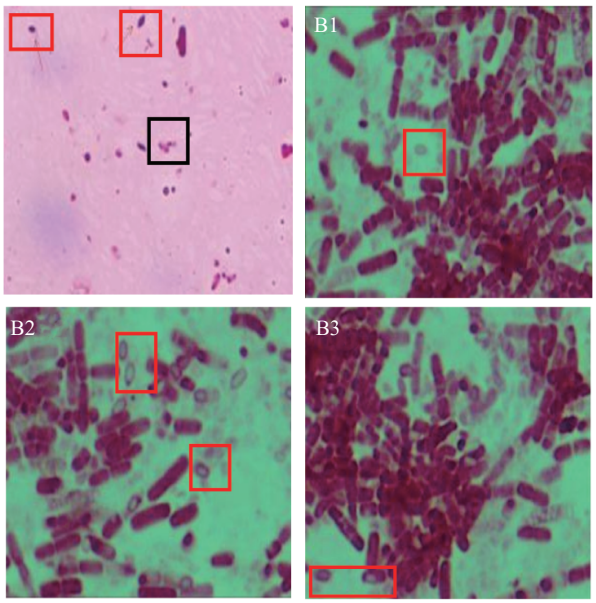


图 3　蛋白质毒素结晶实验

Fig.3　Protein toxin crystallization experiment

注：从左到右分别为苏云金芽孢杆菌、B1、B2 和 B3 三株筛选的菌株，油镜观察，放大倍数 1000×。

进一步通过 16S rRNA 测序及系统发育树分析，如图 4 所示，通过 MEGA 64 软件对三株菌株构建系统发育树，菌株 B1、B2、B3 在同一分支上，为蜡样芽孢杆菌的近缘菌株，证实三株分离菌株为蜡样芽孢杆菌。

2.2　三株分离菌株在纯牛奶中的生长曲线

三株分离菌株 B1、B2 和 B3 在纯牛奶中的生长曲线如图 5 所示，可以看出在 25 ℃ 条件下，以纯牛奶为培养基质，B1 菌株的生长速率相对较快，先到达对数期及稳定期，后期选用 B1 菌株进行回接实验。

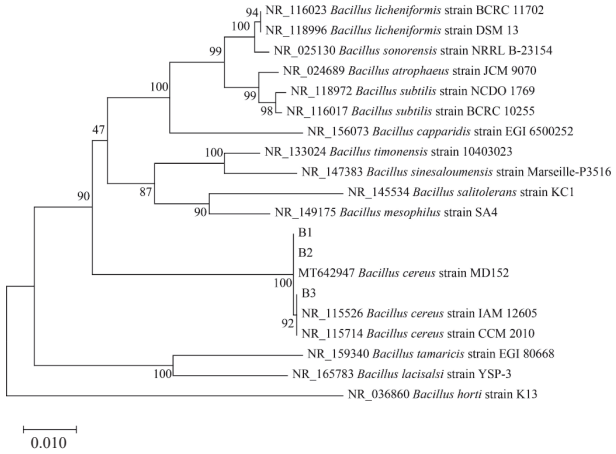


图 4　三株分离菌株的 16S rRNA 系统发育进化树

Fig.4　Phylogenetic tree of 16S rRNA for three isolated strains

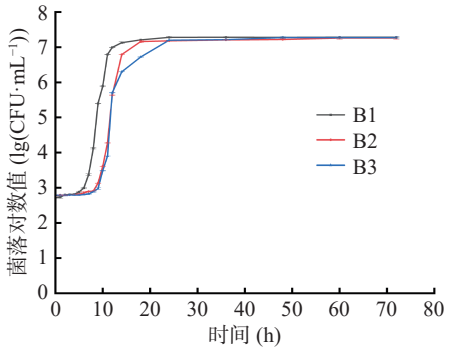


图 5　25 ℃ 下三株分离的蜡样芽孢杆菌在纯牛奶中的生长曲线

Fig.5　Growth curves of three isolated *B. cereus* strains in pure milk at 25 ℃

2.3　蜡样芽孢杆菌 B1 在两种温度和三种类型牛奶中的生长曲线

市售常温商品乳的日常储存温度在 25 ℃ 左右，在夏季高温天气会达到 35 ℃ 及以上，且由于原料乳、商品包材以及灌装管路等残留蜡样芽孢杆菌，经由灭菌程序后商品乳内蜡样芽孢杆菌含量多为低剂量存在，因而实验选取 25 ℃ 及 35 ℃ 作为实验温度、蜡样芽孢杆菌浓度为 10^3、10^2、10^1 CFU/mL 作为初始污染浓度，在最大程度上模拟蜡样芽孢杆菌污染的实际情况进行。

蜡样芽孢杆菌 B1 在纯牛奶中的生长曲线如图 6 A 所示：25 ℃ 下，10^3、10^2、10^1 CFU/mL 菌液分别于 9、11、13 h 进入对数期，13、18、20 h 达稳定期；35 ℃ 下则分别于 8、9、11 h 和 12、14、18 h 进入相应阶段。对比表明，25 ℃ 迟滞期均长于 35 ℃，35 ℃ 温度下，对数期和稳定期的到来时间分别比 25 ℃ 提前约 4 h 和 6 h。

蜡样芽孢杆菌 B1 在舒化牛奶中的生长曲线如图 6 B 所示：25 ℃ 下，10^3、10^2、10^1 CFU/mL 菌液分别于 8、9、10 h 进入对数期，18、14、16 h 达稳定期；35 ℃ 下则分别于 6、8、9 h 和 8、10、12 h 进入相应阶段。对比表明，25 ℃ 迟滞期更长，35 ℃ 对数期和

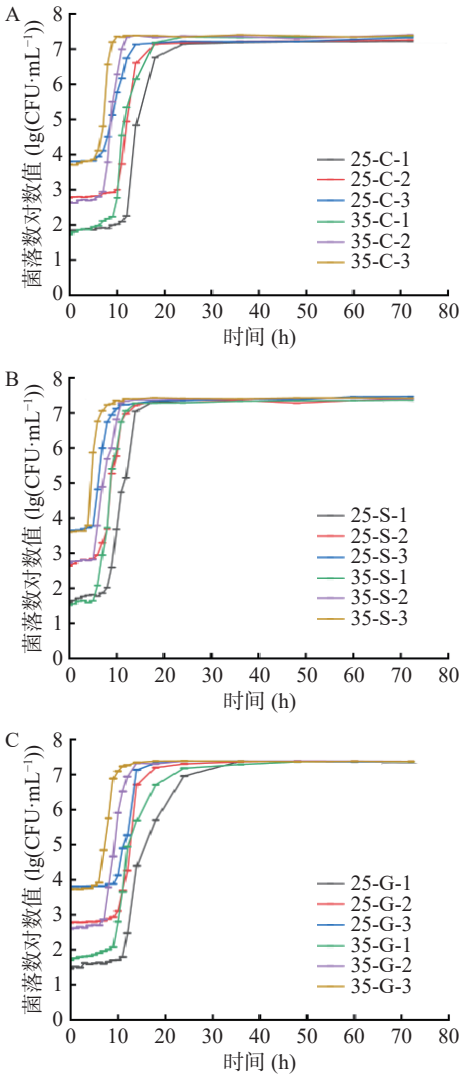


图 6　25 ℃ 和 35 ℃ 下蜡样芽孢杆菌 B1 在纯牛奶(A)、舒化牛奶(B)和谷粒牛奶(C)中的生长曲线

Fig.6　Growth curves of *B. cereus* B1 in pure milk (A), lactose-decomposed milk (B) and grain milk (C) at 25 ℃ and 35 ℃

稳定期分别较 25 ℃ 提前约 3 h 和 5 h。

在谷粒牛奶中，蜡样芽孢杆菌 B1 的生长曲线如图 6 C 所示：25 ℃ 下，各浓度菌液进入对数期的时间为 10~20 h，20~30 h 逐步转入稳定期；而在 35 ℃ 下，时间则提前至第 8~10 h 和第 11~22 h。对比表明，35 ℃ 条件下的迟滞期、对数生长期均短于 25 ℃，且稳定期到来时间平均提前约 8 h。

可见，三种不同类型的牛奶中，舒化牛奶更有利于蜡样芽孢杆菌 B1 的生长，在 25 ℃ 和 35 ℃ 下蜡样芽孢杆菌 B1 在舒化牛奶中生长要比其他两种类型的牛奶先到达对数生长期。

2.4　不同温度和初始接菌浓度下蜡样芽孢杆菌在三种类型牛奶中的生长动力学模型

使用 Logistic 函数模型建立三种乳产品中蜡样芽孢杆菌的生长动力学模型，详见表 4，通过生长动力学方程，可以很好地预测蜡样芽孢杆菌在三种不同乳制品中的生长情况。在不同温度下蜡样芽孢杆菌生长延滞期不同，温度越高，蜡样芽孢杆菌生长延滞期越短，25 ℃ 时，纯牛奶、舒化牛奶、谷粒牛奶的不同初始接菌浓度的生长曲线中的延滞期均比 35 ℃ 长，在相同温度下，蜡样芽孢杆菌的初始接菌浓度越高，体系中的蜡样芽孢杆菌数量增长越快，能够快速进入对数期并达到稳定期。纯牛奶、舒化牛奶和谷粒牛奶在相同温度下，蜡样芽孢杆菌的生长曲线趋势相似，但生长速率不同，最先达到稳定期的是舒化牛奶，其次是谷粒牛奶和纯牛奶，预测模型的 R^2>0.98，表明所建立的生长动力学模型有效和可靠。

2.5　蜡样芽孢杆菌污染对三种类型牛奶的 pH 影响

pH 是监测乳制品变质的重要指标。蜡样芽孢杆菌污染乳制品，产品的 pH 变化受温度与初始接菌浓度双重影响。温度升高缩短延滞期，加速菌群对数

表 4　蜡样芽孢杆菌 B1 生长动力学模型方程及拟合度

Table 4　Growth kinetics model equation and fit of *B. cereus* B1

产品类型	温度(℃)	初始蜡样芽孢杆菌浓度(CFU/mL)	生长拟合曲线	拟合度
纯牛奶	25	10~100	y=7.1978+(1.1929−7.1978)/[1+(x/13.8132)15.6296]	0.9997
		100~1000	y=7.2336+(2.8102−7.2336)/[1+(x/12.0715)12.1038]	0.9994
		1000~10000	y=7.2256+(3.8167−7.2256)/[1+(x/9.6202)7.5885]	0.9993
	35	10~100	y=7.3413+(1.9181−7.3413)/[1+(x/11.4453)8.8364]	0.997
		100~1000	y=7.3105+(2.7023−7.3105)/[1+(x/8.8971)11.3715]	0.9989
		1000~10000	y=7.4009+(3.7702−7.4009)/[1+(x/7.2534)12.1759]	0.9993
舒化牛奶	25	10~100	y=7.4012+(1.7672−7.4012)/[1+(x/10.8805)9.0652]	0.9897
		100~1000	y=7.3425+(2.7649−7.3425)/[1+(x/9.0801)9.1756]	0.9943
		1000~10000	y=7.3461+(3.6314−7.3461)/[1+(x/6.5288)7.8917]	0.9956
	35	10~100	y=7.3631+(1.6429−7.3631)/[1+(x/8.3205)7.2844]	0.9997
		100~1000	y=7.4256+(2.6167−7.4256)/[1+(x/7.4798)5.3059]	0.9865
		1000~10000	y=7.3201+(3.5480−7.3201)/[1+(x/4.8264)11.5486]	0.9934
谷粒牛奶	25	10~100	y=7.3744+(1.5744−7.3744)/[1+(x/16.0868)6.7643]	0.9993
		100~1000	y=7.4122+(2.8088−7.4122)/[1+(x/13.0904)8.8140]	0.9997
		1000~10000	y=7.3800+(3.7948−7.3800)/[1+(x/12.1737)10.4471]	0.9944
	35	10~100	y=7.2901+(1.6594−7.2901)/[1+(x/11.6924)5.2307]	0.9857
		100~1000	y=7.3723+(2.5380−7.3723)/[1+(x/9.1851)9.4216]	0.9993
		1000~10000	y=7.3641+(3.7412−7.3641)/[1+(x/7.6309)9.9539]	0.9988

注：y代表微生物数量的对数lg(CFU/mL)，x代表时间(h)。

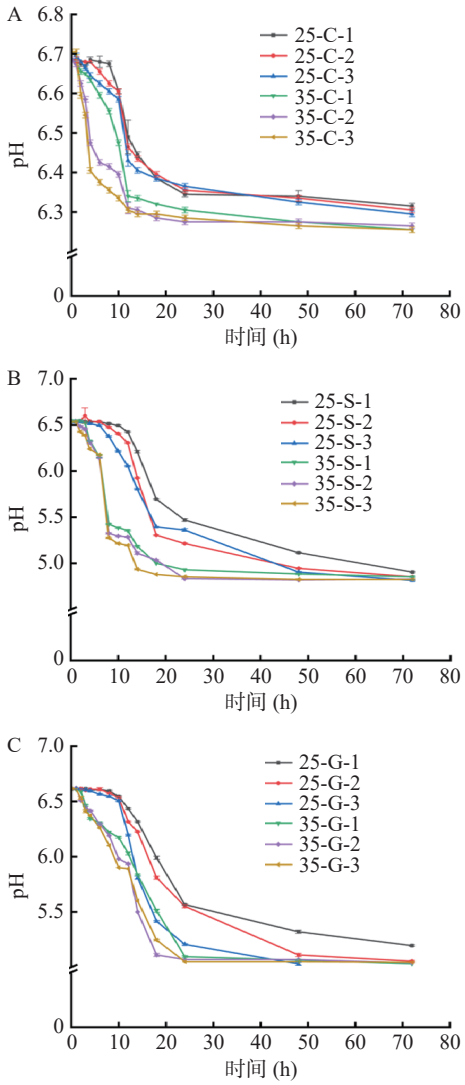


图 7　25 ℃ 和 35 ℃ 下蜡样芽孢杆菌 B1 在纯牛奶(A)、舒化牛奶(B)和谷粒牛奶(C)中生长引起牛奶 pH 变化

Fig.7　Changes of pH due to the growth of *B. cereus* B1 in pure milk (A), lactose-decomposed milk (B) and grain milk (C) at 25 ℃ and 35 ℃

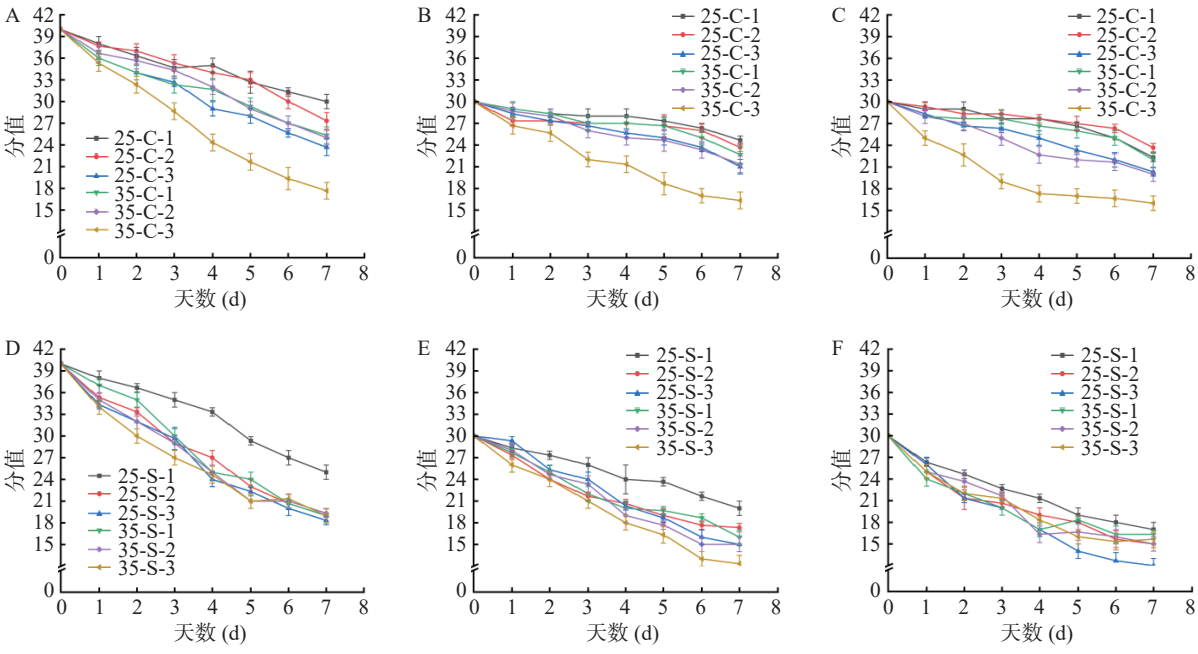
期增殖及产酸代谢，高接菌浓度(10^3 CFU/mL)直接提升酸化效率。由图 7A 所示，纯牛奶在 25 ℃ 时 pH 呈三阶段下降(10 h 内 pH6.7→pH6.55，10~24 h 内→pH6.35，24~72 h 内稳定在 pH6.2~6.3)，35 ℃ 时 10 h 内即达 pH6.35；从图 7B 可看出，舒化牛奶的酸化更明显(25 ℃ 时，72 h 至 pH4.9，35 ℃，24 h 至 pH4.8)；图 7C 显示了谷粒牛奶在 25 ℃ 下，24 h 分至 pH5.5 左右，35 ℃ 下 24 h 降至 pH5.1 左右。高温菌体代谢活性增强，促进酸性代谢物积累，细菌进入稳定期后因底物耗尽使 pH 趋稳，高接菌浓度组到达最低 pH 的时间可提前 12 h。

可见，不同牛奶产品的 pH 随着蜡样芽孢杆菌浓度升高而降低。蜡样芽孢杆菌处于迟滞期及对数期初期时，其浓度较低，pH 降低速率较缓慢；进入对数期中期至稳定期后由于菌的浓度较高，pH 降低速率加快，代谢基本完成后 pH 变化趋于稳定。

2.6　感官评价

纯牛奶受蜡样芽孢杆菌 B1 污染后的感官变化如图 8(A、B、C 和 J)所示。25 ℃ 时，10^1 CFU/mL 组第 2 d 出现组织劣化及异味，第 5 d 结块、第 6 d 异味加重，7 d 内色泽乳白转乳黄；10^2~10^3 CFU/mL 组次日即现组织状态、异味和色泽同步劣化且持续加剧；在 35 ℃ 时，浓度为 10^1 CFU/mL 组第 2 d 出现异味，第 4 d 组织状态明显变化(脂肪上浮、蛋白质凝结)，色泽变黄；浓度为 10^2 CFU/mL 组第 3 d 组织状态改变、产生轻微异味，第 4 d 后色泽劣变加剧；浓度为 10^3 CFU/mL 组第 1 d 出现明显异味，第 2 d 轻微蛋白质凝结，5~7 d 内色泽变黄且有乳清析出，导致组织状态评分大幅下降。

舒化牛奶的感官变化如图 8(D、E、F 和 K)所示。25 ℃ 时，10^1 CFU/mL 组在 2 d 内出现酸味，后期发展为酸臭，伴有组织状态持续劣变和色泽微黄；



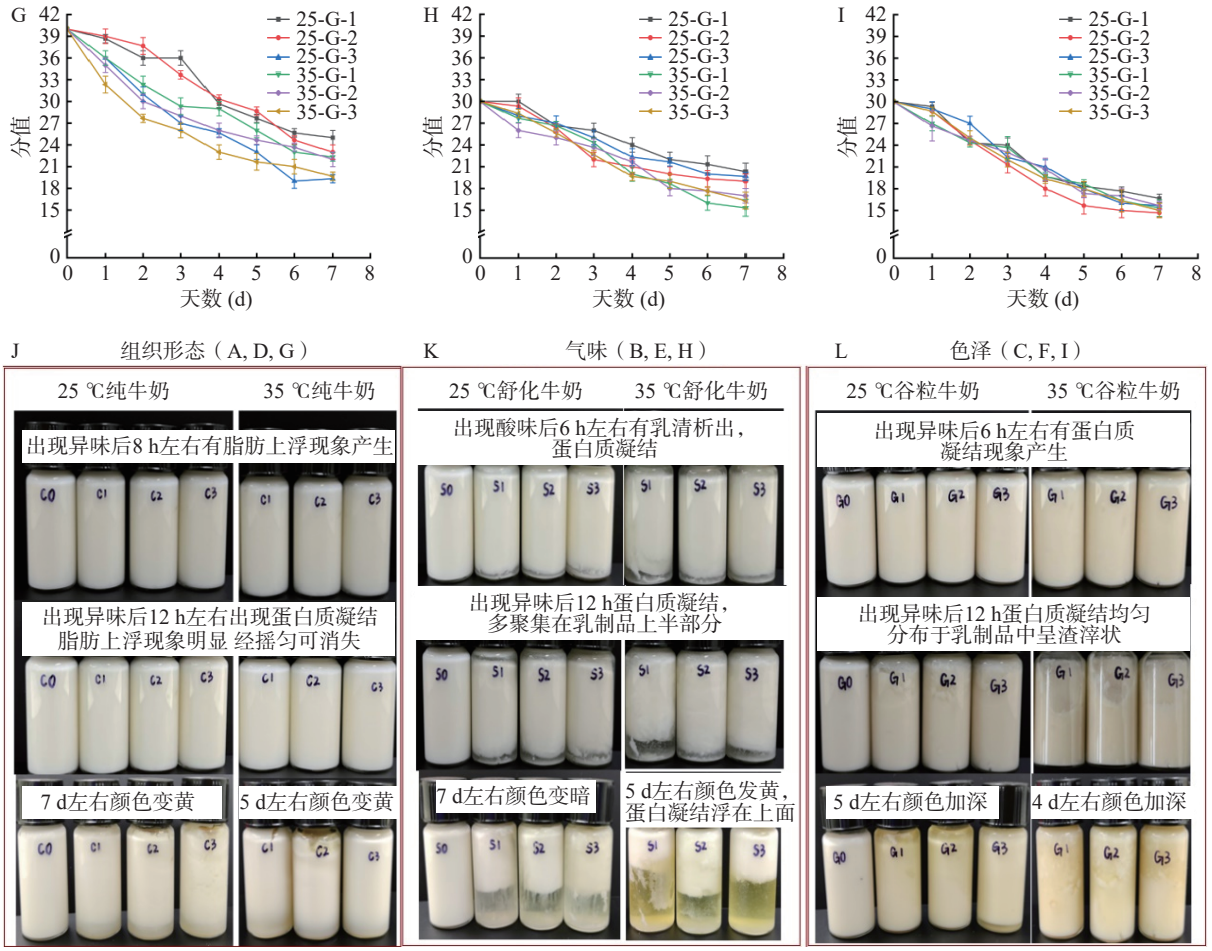


图 8　25 ℃ 和 35 ℃ 下蜡样芽孢杆菌 B1 在纯牛奶中(A、B、C)、舒化牛奶中(D、E、F)和谷粒牛奶中(G、H、I)的组织形态、气味和色泽的评分以及在三种不同类型奶制品中的形态和色泽实际变化图片(J、K、L)

Fig.8　Sensory scores of tissue morphology, odor and color of *B. cereus* B1 in pure milk (A, B, C), lactose-hydrolyzed milk (D, E, F) and grain-containing milk (G, H, I), and images of morphological and color changes in three dairy products (J, K, L) at 25 ℃ and 35 ℃

10^2~10^3 CFU/mL 组则在 24 h 内即出现酸味并持续劣变。35 ℃ 时，所有浓度组(10^1~10^3 CFU/mL)均在第 1 d 出现酸味，并在 5 d 内出现组织状态、气味和色泽的同步且显著的感官评分下降，5~7 d 出现明显分层。

谷粒牛奶的感官变化如图 8(G、H、I 和 L)所示。25 ℃ 时，所有组别在 24 h 内燕麦香气均减弱；10^1 与 10^2 CFU/mL 组分别在第 2、3 d 出现异味和组织状态劣变；10^3 CFU/mL 组则在 24 h 内即出现异味。35 ℃ 时，各浓度组在第 2 d 后均出现组织渣滓化与色泽持续变暗；10^1 CFU/mL 组于第 3 d 出现明显异味，而 10^2 与 10^3 CFU/mL 组在第 2 d 出现酸味，并于第 3 d 发展为明显酸臭味，4~5 d 内色泽明显变暗黄。

可见，蜡样芽孢杆菌 B1 的污染会显著加速三类乳制品的感官劣变，其影响程度与产品类型、储存温度和初始菌浓密切相关，温度越高、初始染菌浓度越大，感官劣变发生速度越快且程度越严重。三种产品中，舒化奶的感官品质下降最快、最严重，可能归因于牛奶中预分解的乳糖为细菌提供了快速增殖的基质，进而大量分泌蛋白酶和脂肪酶，这些酶类分别导致蛋白质凝结、产生苦味，以及脂肪上浮、产生不良风味。

3　讨论

本研究在原料乳中检出了三株蜡样芽孢杆菌(检出率 12.0%)，市售商品乳中未检出，明确了原料乳是蜡样芽孢杆菌主要污染源。该检出率虽然低于乔霖楠等[31] 的乳制品蜡样芽孢杆菌总体污染率(约为 25.50%)，但吻合 Tirloni 等[3] 报告的意大利原料乳中蜡样芽孢杆菌检出率范围为 10.3%~35.0%。生长动力学结果表明，温度与初始浓度是关键控制因子。35 ℃ 较 25 ℃ 使迟滞期缩短 20%~33%，最大比生长速率提升约 40%。在舒化牛奶中，10^3 CFU/mL 组在 35 ℃ 下 6 h 即进入对数期，较 25 ℃(8 h)提前 25%。稳定期到达时间从 18 h 缩短至 8 h(降幅 55%)，该结果与 Le Marc 等[8] 报道的最适生长温度(30~37 ℃)下代谢速率提升结论一致。初始浓度效应呈剂量依赖性，10^3 CFU/mL 组进入稳定期较 10^1 CFU/mL 组平均提前 4.8 h(纯牛奶)、5.2 h(舒化奶)和 6.5 h(谷粒奶)。证实了初始细胞数与迟滞期负相关的理论模型[32]。产品基质也影响蜡样芽孢杆菌生长潜力，舒化牛奶因乳糖预水解，碳源利用效率提升，最大菌量

(N_{max})达 7.4 log CFU/mL, 高于纯牛奶与谷粒牛奶。Logistic 模型拟合度 R^2>0.9857, 证实其可精准预测三类产品中菌体生长轨迹。

蜡样芽孢杆菌的生长直接导致产品品质劣变。其生长代谢引发的 pH 下降与乳品的感官劣变进程同步, 且受温度与初始接菌浓度的共同影响。在纯牛奶中, 25 ℃、初始接菌量为 10^3 CFU/mL 条件下, 24 h 内 pH 从 6.7 降至 6.37, 而 35 ℃ 时 24 h pH 下降到 6.28, 感官劣变表现为异味、结块与色泽变黄。相比之下, 舒化牛奶因乳糖被预先水解为葡萄糖和半乳糖, 单糖更易于被蜡样芽孢杆菌发酵利用, 因而酸化更为迅速和彻底, 在 25 ℃、10^3 CFU/mL 条件下, 24 h 内 pH 从 6.53 大幅降至 5.35, 并在 72 h 降至 pH4.9, 35℃ 时更是在 24 h 内 pH 降至 4.85, 其酸化效率显著高于纯牛奶, 与 Kyritsi 等[33] 关于碳水化合物组成直接影响微生物产酸速率的结论相符, 较低的 pH 环境加剧了蛋白质胶体稳定性丧失, 感官劣变出现早, 常伴有明显酸味与分层。对于谷粒牛奶, 因含有燕麦淀粉等大分子碳源, 需经细菌分泌的胞外酶降解后方可利用, 故其酸化速率介于纯牛奶与舒化牛奶之间: 在相同 25 ℃、10^3 CFU/mL 条件下, 24 h 内 pH 从 6.61 降至 5.2, 35 ℃ 下 24 h 降至 pH5.05, 这体现了底物可利用度对于细菌代谢速率的影响[34]。谷粒牛奶感官劣变则表现为组织渣滓化、色泽变暗及酸臭味, 表明燕麦颗粒可能通过提供营养和影响菌-基质互作加速局部酸化。总体而言, 较高的储存温度与初始污染浓度会显著加速感官劣变进程, 从而大幅缩短产品货架期。

本研究存在的局限在于只采用了单一菌株, 未覆盖蜡样芽孢杆菌群内遗传多样性; 只采用了两种恒定的温度, 未模拟供应链上温度波动, 未来需进一步构建动态温度模型; 感官评价缺乏客观仪器验证, 未来的研究进一步引入电子鼻与电子舌技术[16]。

4 结论

本研究以纯牛奶、舒化牛奶、谷粒牛奶为研究对象, 系统探究了蜡样芽孢杆菌的污染源头、生长动力学特性及对乳制品品质的影响, 得出以下主要结论: a.蜡样芽孢杆菌的污染源头主要为原料乳, 市售商品乳经杀菌处理后未检出该菌, 多方法联合鉴定筛选出三株蜡样芽孢杆菌; b.温度和初始接种浓度显著影响蜡样芽孢杆菌生长, 35 ℃、高初始接种浓度(10^3 CFU/mL)可缩短迟滞期、加速生长, 三种类型的牛奶中, 舒化牛奶最适宜蜡样芽孢杆菌生长; c.Logistic 模型可精准拟合不同条件下蜡样芽孢杆菌的生长过程, 可用于预测菌量动态变化; d.乳制品 pH 随菌浓度增长呈阶段性下降, 感官劣变具有基质特异性。

本研究的学术贡献在于构建了三种基质、两种温度条件下蜡样芽孢杆菌生长预测模型, 揭示了乳品基质对菌株生长影响以及不同乳品品质劣变和 pH 变化之间的关联。研究结果为乳制品蜡样芽孢杆菌污染的源头控制、生长预测及品质劣变预警提供科学依据。未来研究方向将聚焦于: a.补充低温条件下的生长动力学数据, 构建全温度范围的生长预测模型; b.开展毒力因子检测, 建立“生长特性-毒力水平”的耦合预警体系; c.结合仪器分析技术量化感官劣变指标, 提升评价客观性; d.模拟工业动态生产环境, 探究多因子交互作用下的污染风险, 进一步提升研究结果的实践转化价值。

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

参考文献

[1] OECD-FAO agricultural outlook 2022-2031[M]. Paris: OECD Publishing, 2022.

[2] 中国乳制品工业协会. 2023 中国乳制品行业质量安全报告[R]. 北京: 中国乳制品工业协会, 2024. [China Dairy Industry Association. 2023 China dairy industry quality and safety report[R]. Beijing: China Dairy Industry Association, 2024.]

[3] TIRLONI E, STELLA S, CELANDRONI F, et al. *Bacillus cereus* in dairy products and production plants[J]. Foods, 2022, 11(17): 1−12.

[4] 郭佳, 王婷, 周继福, 等. 乳源蜡样芽孢杆菌耐药性、毒力因子检测及分子特征研究[J]. 中国农业科技导报, 2021, 23(11): 131−138. [GUO J, WANG P, ZHOU J F, et al. Study on drug resistance and molecular typing of *Bacillus cereus* from dairy products[J]. China Agricultural Science and Technology Herald, 2021, 23(11): 131−138.]

[5] LOGAN N A V P D. Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria[M]. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2015: 1-163.

[6] CEUPPENS S, BOON N, UYTTENDAELE M. Diversity of *Bacillus cereus* group strains is reflected in their broad range of pathogenicity and diverse ecological lifestyles[J]. Fems Microbiology Ecology, 2013, 84(3): 433−450.

[7] AUTHORITY E E F S. Scientific opinion on the public health risks of bacterial toxins in dairy products[J]. EFSA Journal, 2016, 14(1): 4362.

[8] LE MARC Y, BUSS DA SILVA N, POSTOLLEC F, et al. A stochastic approach for modelling the effects of temperature on the growth rate of *Bacillus cereus* sensu lato[J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 349: 109241.

[9] 郑跃, 赵鹏, 谢翔燕, 等. 国内外食品中蜡样芽孢杆菌污染情况及控制研究[J]. 食品与发酵工业, 2026, 52(9): 402−410. [ZHENG Yue, ZHAO Peng, XIE Xiangyan, et al. Progress of the contamination and control of Bacillus cereus in foods at home andabroad[J]. Food and Fermentation Industries, 2026, 52(9): 402−410.]

[10] ZHAO S, CHEN J, FEI P, et al. Prevalence, molecular characterization, and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* isolated from dairy products in China[J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(5): 3994−4001.

[11] MAKTABDAR M, HOUMANN R H, SCHEEL N H, et al. Evaluation and validation of extensive growth and growth boundary models for mesophilic and psychrotolerant *Bacillus cereus* in dairy

products (Part 2)[J]. Frontiers in Microbiology, 2025, 16: 1553903.
[12] MEHTA D S, METZGER L E, HASSAN A N, et al. The ability of spore formers to degrade milk proteins, fat, phospholipids, common stabilizers, and exopolysaccharides[J]. Journal of Dairy Science, 2019, 102(12): 10799−10813.
[13] CARRASCOSA C, RAHEEM D, RAMOS F, et al. Microbial biofilms in the food industry-A comprehensive review[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2021, 18(4): 2014.
[14] 仪淑敏, 张培正, 李远钊, 等. 蜡样芽孢杆菌在营养肉汤中的生长模型[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(9): 69−72. [YI S M, ZHANG P Z, LI Y Z, et al. Growth of *Bacillus cereus* in nutritional broth[J]. Food Research and Development, 2009, 30(9): 69−72.]
[15] RAUH V M, JOHANSEN L B, IPSEN R, et al. Plasmin activity in UHT milk: Relationship between proteolysis, age gelation, and bitterness[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(28): 6852−6860.
[16] 王慧莹. 基于计算机视觉技术快速检测食品中蜡样芽孢杆菌的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2011. [WANG H Y. Research on rapid detection of *Bacillus cereus* in food by computer vision[D]. Changchun: Jilin University, 2011.]
[17] YANG Y, WEI S, ZHONG J, et al. Exposure assessment of *Bacillus cereus* introduced into reconstituted milk production in China[J]. Food Bioscience, 2024, 59: 104024.
[18] 牛犇, 洪斌, 穆丽丽, 等. 荧光定量 PCR 在预测微生物学中的应用[J]. 食品工业科技, 2019, 40(5): 275−282. [NIU B, HONG B, MU L L, et al. Application of fluorescent quantitative PCR in predictive microbiology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(5): 275−282.]
[19] RAUH V M I R D E. Plasmin and bacterial protease interactions in UHT milk during storage[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(12): 3564−3572.
[20] 屈雅莉, 张彦辉, 夏兆田, 等. 分离自生牛乳的一株高产蛋白酶蜡样芽孢杆菌特性[J]. 乳业科学与技术, 2025, 48(3): 55−62. [QU Y L, ZHANG Y H, XIA Z T, et al. Characteristics of a protease-producing strain of *Bacillus cereus* isolated from raw milk[J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2025, 48(3): 55−62.]
[21] 黄立波. VITEK-2 全自动微生物鉴定仪在蜡样芽孢杆菌检测中应用分析[J]. 中国医疗器械信息, 2021, 27(6): 42−43. [HUANG L B. VITEK-2 automatic microbial identification instrument was applied in the detection of *Bacillus cereus*[J]. Information on Chinese medical devices, 2021, 27(6): 42−43.]
[22] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 蜡样芽孢杆菌检验: GB 4789.14-2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014. [National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National food safety standard: Microbiological examination of food-*Bacillus cereus* test: GB 4789.14-2014[S]. Beijing: China Standards Press, 2014.]
[23] 廖丽辉, 侯艳飞, 秦捷, 等. 蜡样芽孢杆菌根状生长实验方法探讨[J]. 现代食品, 2023, 29(13): 144−147. [LIAO L H, HOU Y F, QIN J, et al. Discussion on the experimental method of *Bacillus cereus* rhizoid growth[J]. Modern Food, 2023, 29(13): 144−147.]
[24] 凌云, 王晶, 王越菲, 等. 不同裂解方式对微生物 DNA 提取的影响[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(12): 61−64. [LING Y, WANG J, WANG Y F, et al. The impact of different lysis methods on microbial DNA extraction[J]. Jiangsu Agricultural Science, 2016, 44(12): 61−64.]
[25] 张鑫, 罗雨帆, 许庆方. 一株芽孢杆菌的筛选及其降解木质纤维素性能[J]. 微生物学报, 2025, 65(4): 1512−1528. [ZHANG X, LUO Y F, XU Q F. A *Bacillus* strain capable of degrading lignocellulose[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(4): 1512−1528.]
[26] ELAHI S, FUJIKAWA H. Comprehensive study of the boundaries of enterotoxin A production and growth of *Staphylococcus aureus* at various temperatures and salt concentrations[J]. Journal of Food Science, 2019, 84(1): 121−126.
[27] 陈琛, 李学英, 杨宪时, 等. 环境因子交互作用下蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型的建立与评价[J]. 现代食品科技, 2015, 31(12): 205−213. [CHEN C, LI X Y, YANG X S, et al. Modeling and evaluating the growth/no growth boundaries of *Bacillus cereus*: Effect of temperature, pH, and water activity[J]. Modern Food Science & Technology, 2015, 31(12): 205−213.]
[28] MEMBRE J, LAMBERT R J W. Application of predictive modelling techniques in industry: from food design up to risk assessment[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 128(1): 10−15.
[29] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 生乳: GB 19301-2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010. [Ministry of Health of the People's Republic of China. National food safety standards for raw milk: GB 19301-2010[S]. Beijing: China Standards Press, 2010.]
[30] 邵景海, 王占东, 王青云, 等. 双蛋白有机酸奶产品的开发[J]. 食品安全导刊, 2021(22): 93−95. [SHAO J H, WANG Z D, WANG Q Y, et al. Development of double-protein organic yogurt products[J]. China Food Safety Magazine, 2021(22): 93−95.]
[31] 乔霖楠, 刘阳泰, 王晔茹, 等. 中国食品中蜡样芽孢杆菌污染状况荟萃分析[J]. 工业微生物, 2025, 55(1): 155−160. [QIAO L N, LIU Y T, WANG Y R, et al. A meta-analysis of *Bacillus cereus* prevalence in Chinese foods[J]. Industrial Microbiology, 2025, 55(1): 155−160.]
[32] BARANYI J, ROBERTS T A. Mathematics of predictive food microbiology[J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 26(2): 199−218.
[33] KYRITSI M, TSIOLAS G, TSOUREKI A, et al. Genomic and transcriptomic profiling of *Bacillus cereus* in milk: Insights into the sweet curdling defect[J]. Foods, 2025, 14(5): 780.
[34] AGUILAR C E G, ROSSI G A M, SILVA H O, et al. Gene detection and enzymatic activity of psychrotrophic *Bacillus cereus* s. isolated from milking environments, dairies, milk, and dairy products[J]. Microorganisms, 2025, 13(4): 889.