生牛乳中芽孢杆菌形态变化规律及污染影响因素分析

刘玉茹[1]，李欣怡[1]，华晓巍[1]，张丙辉[1]，陈晓民[2]，张可心[3]，张德喜[3*]

1 蒙牛乳业（齐齐哈尔）有限公司，黑龙江齐齐哈尔 161000
2 蒙牛乳业（尚志）有限责任公司，黑龙江哈尔滨 150600
3 蒙牛乳业（沈阳）有限责任公司，辽宁沈阳 100122

摘　要：[目的]探究生牛乳受芽孢杆菌属污染的影响因素，分析芽孢杆菌存在不同形态的原因。[方法]采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪（MALDI–TOF–MS）测定生牛乳中芽孢杆菌的种类。[结果]本研究共分离出8 株短芽孢杆菌属、2 株类芽孢杆菌属，其中未邀短芽孢杆菌存在2 种菌落与菌体形态，长杆或细丝形态属于未邀短芽孢杆菌的特殊形态。[结论]菌落形态随传代次数与培养时间延长呈规律性变化，菌体形态无明显规律。芽孢杆菌污染的主要因素与奶牛卧床、挤奶人员手部、擦拭乳区毛巾及设备等消杀有关。本研究为芽孢杆菌防控提供新的形态学见解，为相关防控提供理论依据。

关键词：芽孢杆菌；形态变化；生牛乳；基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪（MALDI–TOF–MS）

文章编号：1671–4393（2025）03–0084–08　　DOI:10.12377/1671–4393.25.03.14

0 引言

芽孢杆菌能形成内生孢子。通常在极端高低温、电离辐射、紫外线、干燥或营养物质极度缺乏等恶劣环境下，菌体自发形成抗逆性极强的芽孢。芽孢具有抵抗多种化学物质灭杀的能力。芽孢杆菌广泛存在于奶牛饲养环境中，例如土壤、牛舍、饲料和挤奶设备等。牛乳中丰富的营养物质是芽孢杆菌的天然培养基，因此，乳制品是易受芽孢杆菌污染的主要食品种类[1]。生牛乳经过超高温瞬时灭菌后，仍有少量芽孢残留其中，待生长条件适宜，这

作者简介：刘玉茹（1982–），女，内蒙古赤峰人，本科，中级工程师，研究方向为食品加工与检验；
李欣怡（2000–），女，黑龙江哈尔滨人，本科，研究方向为乳品工程；
华晓巍（1983–），男，吉林吉林人，本科，研究方向为食品加工与检验；
张丙辉（1983–），男，河北沧州人，本科，工程师，研究方向为食品加工与检验；
陈晓民（1980–），男，黑龙江大庆人，本科，研究方向为食品加工与检验；
张可心（1992–），女，辽宁阜新人，蒙古族，本科，研究方向为食品科学与工程。
*通信作者：张德喜（1979–），男，内蒙古赤峰人，本科，研究方向为食品加工与检验。

中国乳业编辑阅读

些芽孢形成细菌后能合成酶类[2]，影响乳制品的理化性质，尤其会改变组织状态与气味，如造成脂肪上浮、蛋白质絮凝、苦味等[3]。生牛乳中芽孢杆菌种类及数目直接影响产品质量[4]，严重时可直接影响货架期[5]。根据芽孢形态不同，芽孢杆菌可大致分为三大群：一是芽孢为圆形或圆柱状，位于菌体中央或菌端，芽孢壁薄，菌体一般不鼓起。二是芽孢为卵圆形，位于菌体中央或菌端。芽孢壁厚，菌体鼓起。三是端生芽孢，位于菌端，菌体鼓起[6]。本研究采集并选择含有芽孢杆菌的生牛乳，依据《NY/T 1331—2007 乳与乳制品中嗜冷菌、需氧芽孢及嗜热需氧芽孢数的测定》[7]分离芽孢杆菌，使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪（Matrix-assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry[8]，MALDI-TOF-MS）鉴定菌种，明确污染菌种类型，同时研究其菌落与菌体形态与传代次数、培养时间的关系，最后提出可能造成污染的具体来源，为控制生牛乳中芽孢杆菌数量、减少芽孢杆菌导致的质量问题提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验样品与设备

1.1.1 样品采集

生牛乳采集于A、B、C、D 4 家养殖场，共20份样品。

1.1.2 主要试剂与设备

平板计数琼脂（PCA）、革兰氏染色液，北京陆桥技术股份有限公司；振荡器（MS 3 B S25），德国IKA集团；电热恒温培养箱（DHP-9272），上海一恒科技有限公司；灭菌器（GR60DF），致微（厦门）仪器有限公司；CX31显微镜，日本奥林巴斯株式会社；MALDI-TOF-MS，美国布鲁克·道尔顿公司。

1.2 芽孢杆菌的分离

在无菌条件下，吸取10 mL生牛乳至试管中，并在对照管中放置温度计。当转化温度达（80±1）℃开始计时，加热处理（10±1）min。转化完成后冲凉，吸取1 mL样液置于一次性平皿中，倾注18～20 mL PCA培养基，摇匀放凉等待自然凝固，倒置于36 ℃电热恒温培养箱过夜培养48 h，取典型菌落镜检。挑取镜检形态为芽孢的菌落划线于PCA平板，于36 ℃培养24 h。观察并记录菌落特征，直至获得芽孢杆菌纯菌株。

1.3 芽孢杆菌的鉴定方法

1.3.1 革兰氏染色

在无菌条件下，挑取纯化后的芽孢杆菌典型菌落涂片，等待自然干燥，过火固定。使用1 000 倍油镜观察菌体形态及芽孢位置。

1.3.2 MALDI-TOF-MS鉴定菌种

（1）试剂准备

标准溶剂：使用1.5 mL离心管加入500 μL乙腈、475 μL超纯水、25 μL三氟乙酸配制标准溶剂，当日有效。

基质溶液：1 支2.5 mg IVD HCCA基质中添加250 μL标准溶剂，涡旋混匀，形成透明饱和溶液，室温保存，7 天内有效。

70%甲酸水溶液：将300 μL一级水、700 μL甲酸混合至1.5 mL Eppendorf管中，涡旋震荡混匀。

（2）靶板准备

靶板制备分为直接转移法、扩展直接转移法和甲酸提取法。本研究使用扩展直接转移法，具体操作如下：挑取少量单菌落样品均匀涂抹靶孔内，形成薄层，自然干燥后，滴加1 μL70%甲酸，自然干燥后再滴加1 μL基质溶液，自然干燥待测。

（3）上机检测

环境温度和湿度需分别保持在10～30 ℃和15～85 RH%，通过激光照射样品与基质形成的共结晶薄膜，基质吸收激光能量并传递给生物分子。在电离过程中，基质将质子转移至生物分子，或从生物分子中获取质子，从而实现生物分子的电离。飞行时间质谱（TOF）是基于离子在电场作用下加速

中国乳业线上阅读

飞过飞行管道，根据其到达检测器的飞行时间差异进行检测，即测定离子质荷比（M/Z）与离子飞行时间成正比。检测时靶板上的样品经过激光轰击，产生的碎片粒子在电场作用下被加速，高速通过飞行管到达检测器，产生信号生成谱图，与标准数据库比对后得出鉴定结果。

1.4 菌种传代方法

菌种传代参照陈晓明等[9]研究，将涂布法更改为三区划线法，从原始平板菌种中挑出少量菌体划线，记为1 代，将平板放入（36±2）℃电热恒温培养箱分别培养24 h和48 h，记录菌落与菌体形态。再从1 代平板中挑取少量菌体划线，记为2 代。

1.5 数据统计分析

采用Microsoft Excel 2022处理数据。

2 结果与分析

2.1 生牛乳中芽孢杆菌的鉴定结果

2.1.1 形态学鉴定结果

本研究依据《NY/T 1331—2007 乳与乳制品中嗜冷菌、需氧芽孢及嗜热需氧芽孢数的测定》，从20 个样品分离10 株芽孢杆菌，分别命名为yb-1、yb-2、yb-3、yb-4、yb-5、yb-6、yb-7、yb-8、yb-9、yb-10。形态学鉴定结果分为菌落与菌体形态。在PCA平板上，其菌落一般为圆形，形状规则，半透明或不透明，部分菌落由中心到边缘不断弱化至半透明，多数表面光滑、平整、湿润，仅yb-4表面微凸，边缘不平整。从菌落大小看，芽孢杆菌菌落较普通细菌大，不同种芽孢杆菌的菌落大小略有差异。菌落颜色一般呈黄色或白色，分离菌株形态特征见表1。

在1 000 倍油镜下观察涂片，结果显示，10 株芽孢杆菌均为革兰氏阳性菌，形态有差异，一般以短杆状或长杆状为主，形成端生芽孢或卵圆形芽孢，染色结果如图1所示。

分离菌株中，yb-9是不透明、光滑平整的黄色菌落，yb-10菌落的透明度明显高于yb-9，几乎全透明，菌落略小于yb-9。在油镜下观察两种菌体形态，发现巨大差异。yb-9（图1-i）明显可见膨胀的孢子囊，是典型的芽孢形态，但yb-10（图1-j）却呈长杆状，类似于细丝形态。该现象在yb-5（图1-e）中同样出现。对此，本研究对菌种类型做了进一步鉴定。

2.1.2 MALDI-TOF-MS鉴定结果

本研究中，从20 个生牛乳样品分离的10 株芽孢杆菌主要菌属为短芽孢杆菌属和类芽孢杆菌属，

表 1 芽孢杆菌分离菌株菌落与菌体形态特征

编号	表观特征					
	菌落			孢子		
	特征	大小（mm）	颜色	形状	孢子囊明显膨胀	主要位置
yb-1	不透明、整齐、扁平	2 ~ 3	黄	S	+	T
yb-2	半透明、整齐、扁平	3 ~ 4	黄	S	+	C
yb-3	半透明、整齐、光滑	2 ~ 3	白	E	+	T
yb-4	不透明、微凸、湿润	1 ~ 2	白	E	-	/
yb-5	半透明、整齐、扁平	3 ~ 4	黄	S	+	C
yb-6	不透明、整齐、扁平	3 ~ 4	黄	S	+	C
yb-7	不透明、光滑、扁平	1 ~ 2	黄	S	+	C
yb-8	不透明、整齐、扁平	3 ~ 4	黄	S	+	C
yb-9	不透明、整齐、扁平	2 ~ 3	黄	S	+	T
yb-10	透明、整齐、扁平	1 ~ 2	白	E	-	/

注：E-椭圆或柱状；S-球形或近球形；C-游离芽孢；T-端生或次端生芽孢

中国乳业线上阅读

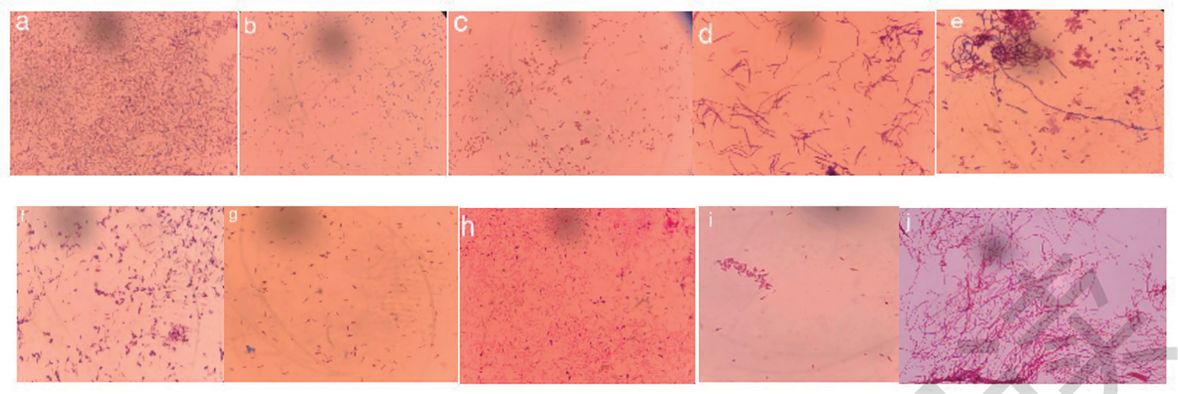


图 1 a~i 10 株芽孢杆菌革兰氏染色照片（×1 000）

鉴定至种级别为未邀短芽孢杆菌和粪类芽孢杆菌。总体看，短芽孢杆菌属污染严重，比例高达80%。该菌属中，除侧孢短芽孢杆菌（*B.latersporus*）是兼性厌氧外，其余菌种均为严格好氧，最适生长温度为30 ℃，随春夏季气温升高，易在环境中大量繁殖（表2）。

表 2 10 株芽孢杆菌 MALDI-TOF-MS 鉴定结果

编号	分离条件	鉴定结果
yb-1	PCA 平板，（36±2）℃	短芽孢杆菌属
yb-2		短芽孢杆菌属
yb-3		类芽孢杆菌属
yb-4		粪类芽孢杆菌
yb-5		短芽孢杆菌属
yb-6		短芽孢杆菌属
yb-7		短芽孢杆菌属
yb-8		短芽孢杆菌属
yb-9		未邀短芽孢杆菌
yb-10		未邀短芽孢杆菌

2.2 菌种传代次数、培养时间与形态变化的关联分析

由表2可知，yb-9与yb-10同为未邀短芽孢杆菌，该菌在2002年首次被发现命名，在乳制品中尤其常见[10]。结合上述分析，可得出结论：未邀短芽孢杆菌存在不同菌落与菌体形态。为探究菌落与菌体形态与传代次数、培养时间之间的关系，分别对yb-9与yb-10使用三区划线法传代于PCA平板，所得的原始菌落形态如图2所示。相比yb-9，yb-10透明度高、颜色浅、略小。

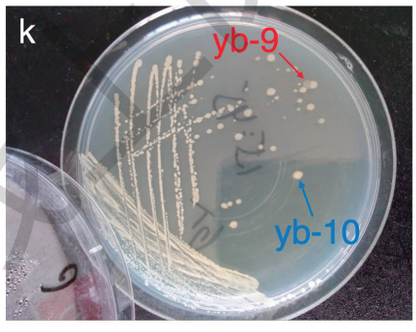


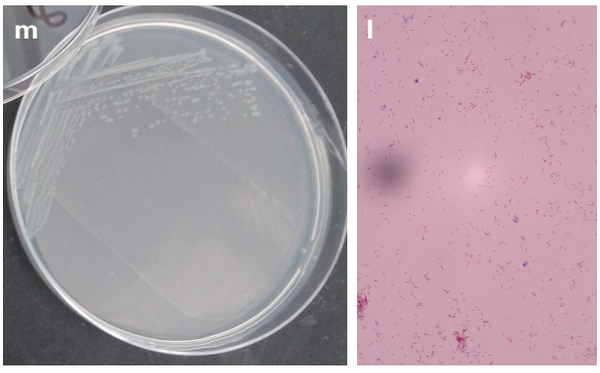
图 2 k 未邀短芽孢杆菌的 2 种原始菌落形态

2.2.1 yb-9菌种传代次数与培养时间分析

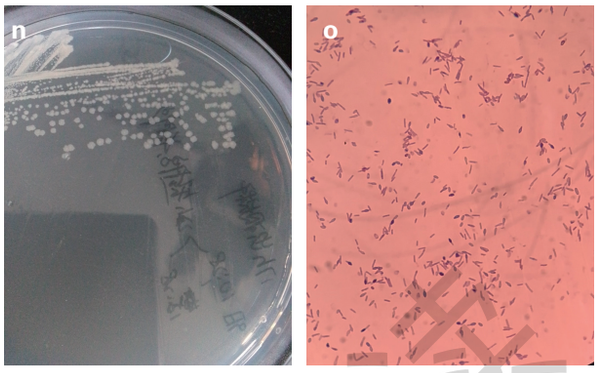
对yb-9实施传代分离操作，得到1 代yb-9。由图3-m可知，1 代yb-9培养24 h所得菌落较小，呈半透明状，菌体以短杆菌为主，未出现芽孢和细丝形态。培养时间延长至48 h时（图3-n），所得菌落颜色明显加深，呈黄色，菌体可见部分卵圆形芽孢。继续传代分离1 代yb-9，得到2 代yb-9。图3-p显示2 代yb-9培养24 h所得菌落特征与1 代yb-9培养24 h所得菌落特征高度一致，菌体以短杆菌为主，未出现芽孢和细丝形态。培养时间延长至48 h时，所得菌落形态与菌体特征与1 代yb-9培养48 h高度相似。

综上所述，yb-9的传代过程显示，1 代yb-9与2 代yb-9的菌落形态与培养时间之间存在一定规律。同代菌种随培养时间延长，菌落透明度逐渐降低，颜色愈深。同一培养时间，1 代yb-9与2 代yb-9菌落与菌体特征相似，但并未发现细丝形态与yb-9传代

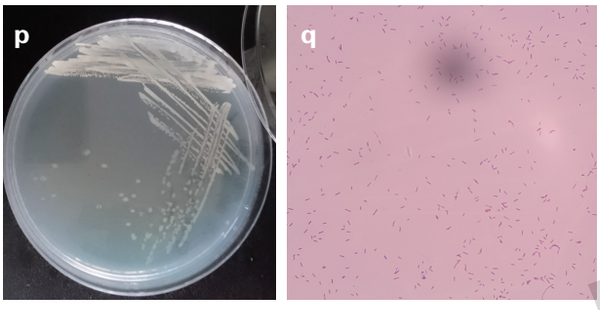
中国乳业线上阅读



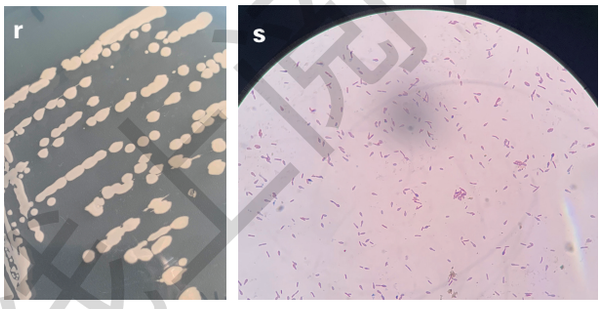
m～l 1 代yb-9，培养24 h菌落与菌体形态



n～o 1 代yb-9，培养48 h菌落与菌体形态

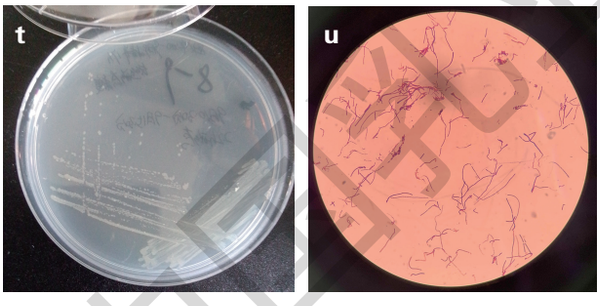


p～q 2 代yb-9，培养24 h菌落与菌体形态

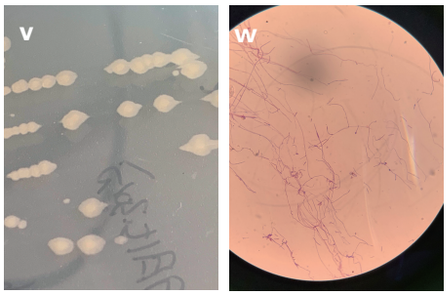


r～s 2 代yb-9，培养48 h菌落与菌体形态

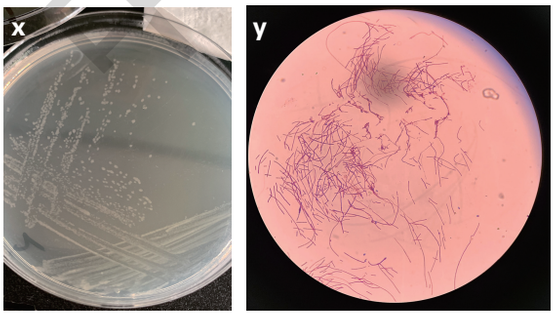
图 3 yb-9 不同传代次数与培养时间对应的菌落与菌体特征



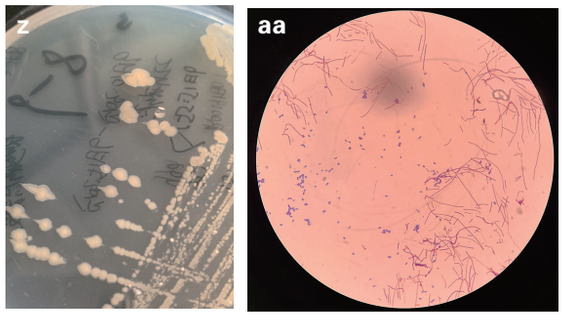
t～u 1 代yb-10，培养24 h菌落与菌体形态



v～w 1 代yb-10，培养48 h菌落与菌体形态



x～y 1 代yb-10，培养24 h菌落与菌体形态



z～aa 1 代yb-10，培养48 h菌落与菌体形态

图 4 yb-10 不同传代次数与培养时间对应的菌落与菌体特征

中国乳业杂志网络版

次数及培养时间相关联。

2.2.2 yb-10菌落传代次数与培养时间分析

对yb-10实施传代分离操作，得到1 代yb-10。由图4-t可知，1 代yb-10培养24 h与1 代yb-9培养24 h所得菌落相似，呈半透明状，但菌体以长杆菌为主，培养时间延长至48 h时，所得菌落颜色明显加深，呈黄色，但菌体形态变细，主要以细丝形态存在，同时可见少部分卵圆形芽孢。继续分离1 代yb-10，得到2 代yb-10。图4-x可见2 代yb-10培养24 h与1 代yb-10培养24 h所得菌落相似，菌体同样以长杆菌为主，培养时间延长至48 h时，所得菌落可见部分卵圆形芽孢，菌落与菌体形态与1 代yb-10培养48 h所得菌落高度相似。

综上所述，yb-10传代过程显示，1 代yb-10与2 代yb-10菌落形态与培养时间之间存在一定规律。同代菌种随培养时间延长，菌落透明度逐渐降低，颜色愈深，菌体由长杆形态逐渐变成细丝形态，出现少部分芽孢。同一培养时间，1 代yb-10与2 代yb-10菌落与菌体特征相近。

3 讨论

3.1 yb-9 与 yb-10 的形态特征及对乳制品质量安全的影响

在传代过程中，本研究发现yb-9与yb-10存在共同点与不同点。共同点主要是菌落形态，培养24 h所得菌落均较小、透明度高，颜色浅，延长培养时间至48 h所得菌落增大、透明度低，颜色变黄加深。不同点是菌体形态，yb-9属典型芽孢形态，yb-10却出现长杆状形态，且随培养时间增加而变细，最终变为细丝形态，同时出现少部分芽孢。国内外关于未邀短芽孢杆菌研究较少，仅Ammanagi等[11]对未邀短芽孢杆菌IBA菌株黑色素的功能和结构表征进行了报道，形态研究至今未见报道。本研究创新点是发现未邀短芽孢杆菌的长杆及细丝形态，不足点是其形态变化机制与原因仍未揭示，需深入研究导致变化的因素，为牧场及乳制品工厂的芽孢杆菌防控提出新的建议。

芽孢杆菌威胁乳制品质量安全，因此乳制品工厂的芽孢杆菌防控尤为重要。如今菌体的形态已成为工厂判断原料奶中是否存在芽孢杆菌的重要依据。但本研究发现了未邀短芽孢杆菌的特殊形态，打破芽孢内生孢子的传统印象，因此乳制品工厂需同样重视长杆、细丝等菌体形态，避免由芽孢杆菌造成的乳制品质量问题。

3.2 芽孢杆菌的污染来源及影响

牧场中的芽孢杆菌属主要来源于原奶污染，如饲料、土壤、粪便、饲喂水源、受污染的乳房、卧床和挤奶设备[12, 13]。Beno等[14]研究发现，芽孢杆菌属受卧床污染概率较大，因此牧场需重点关注卧床管理。除卧床外，如挤奶人员的手部和擦拭乳房的毛巾等直接接触奶牛乳房的物品，牧场应严格保证细菌消杀的有效性，同时还需注意前药浴的浓度与时间以及集乳器洁净度等。

原料奶中的芽孢杆菌不仅影响生牛乳质量，一定程度上也影响设备清洁度，增加加工安全隐患。Zhang等[15]发现短芽孢杆菌可在不锈钢表面产生具有黏附定植作用的生物膜。生物膜形成的第一步是细菌附着，附着后的细菌不断增殖积累，形成细胞外聚合物。短芽孢杆菌形成的生物膜，其细胞外聚合物主要成分是脂质、核酸和酰胺I，耐受次氯酸钠和常规CIP清洗。除短芽孢杆菌外，含有蜡样芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌和嗜热地芽孢杆菌的生牛乳接触生产设备表面，也能产生定植作用的生物膜[16]。可从预防和清洗两方面去除生物膜影响。预防上，可增加RO膜工艺滤除芽孢，减少芽孢杆菌数目，保证产品质量安全；清洗上，针对短芽孢杆菌属的生物膜，使用脱氧核糖核酸酶I或脂肪酶，配合CIP清洗，可有效去除[17]。

4 结论

本研究采集20 个生牛乳样品，从中分离出10 种

中国乳业线上阅读

芽孢杆菌，主要污染菌种为短芽孢杆菌属及类芽孢杆菌属。研究发现，未邀短芽孢杆菌存在两种菌落与菌体形态，随传代次数与培养时间的延长，两种菌落形态出现规律性变化，但菌体形态变化无明显规律。该结果可作为乳制品工厂在形态学识别芽孢杆菌的又一管控手段，便于合理判别芽孢杆菌。此外，研究还进一步讨论了牧场中芽孢杆菌的来源、影响与防控手段，为从源头减少芽孢杆菌污染提供理论依据。

参考文献

[1] 耿方琳，牛洪梅，贾凯，等.环境基质对芽孢杆菌状态演变与热抗性影响的研究进展[J].食品与发酵工业，2023，49（24）：347–353.

[2] Delaunay L，Postollec F，Legu é rinel I，et al.Detection of risk areas in dairy powder processes：The development of thermophilic spore forming bacteria taking into account their growth limits[J].International journal of food microbiology，2024，418：110716.

[3] 李建洲，邵伟，陈贺，等.生鲜乳中芽孢杆菌的危害与控制措施[J].中国奶牛，2020（5）：47–52.

[4] 胡凤月，周燕霞，巩有博，等.灭菌乳中嗜热脂肪芽孢杆菌商业无菌的最低可视浓度的测定[J].食品安全质量检测学报，2020，11（24）：9409–9414.

[5] 侯霞霞，王云霞，刘丽君，等.生牛乳中芽孢杆菌的分离鉴定及其耐热性[J].乳业科学与技术，2022，45（6）：1–6.

[6] 郭利亚，赵广英，张养东，等.饲源等多因素下牛奶中芽孢杆菌危害及热处理效果分析[J].中国饲料，2022（13）：10–14.

[7] 中华人民共和国农业部.NY/T 1331—2007 乳与乳制品中嗜冷菌、需氧芽孢及嗜热需氧芽孢数的测定[S].

[8] Mezian L，Chincha A I A，Vecchione A，et al.Aerobic spore–forming bacteria in powdered infant formula：Enumeration，identification by MALDI–TOF mass spectrometry（MS），presence of toxin genes and rpoB gene typing[J].International journal of food microbiology，2022，368：109613.

[9] 陈晓明，魏宝丽，张建国.短小芽孢杆菌E601传代和中子辐照后的菌落形态变化[J].核农学报，2008，22（3）：291–295.

[10] Logan N A，Forsyth G，Lebbe L，et al.Polyphasic identification of Bacillus and Brevibacillus strains from clinical，dairy and industrial specimens and proposal of Brevibacillus invocatus sp. Nov.[J].International journal of systematic and evolutionary microbiology，2002，52（Pt 3）：953–966.

[11] Ammanagi A，Shivasharana C T，Krishnaveni R，et al.Functional and structural characterization of melanin from Brevibacillus invocatus Strain IBA[J].Doklady Biological Sciences，2021，500（1）：159–169.

[12] Magnusson M，Svensson B，Kolstrup C，et al.Bacillus cereus in free–stall bedding[J].Journal of Dairy Science，2007，90（12）：5473–5482.

[13] Olajide A M，Lapointe G.Detection of spore forming Paenibacillus macerans in raw milk[J].Journal of Microbiological Methods，2020，177：106048.

[14] Beno S M，Cheng R A，Orsi R H，et al.Paenibacillus odorifer，the predominant Paenibacillus species isolated from milk in the United States，demonstrates genetic and phenotypic conservation of psychrotolerance but clade–associated differences in nitrogen metabolic pathways[J].mSphere，2020，5（1）.

[15] Zhang Q，Hu X，Zhang R，et al.Characterization of Brevibacillus biofilm isolated from pasteurized milk and evaluation of the efficacy of sodium hypochlorite，CIP，and enzymatic treatment against the biofilm[J].Food Control，2024，161：110405.

[16] Yang S，Wang Y，Ren F，et al.The sources of Bacillus cereus contamination and their association with cereulide production in dairy and cooked rice processing lines[J].Food Quality and Safety，2023（7）：7–14.

[17] 宋艳晶，李娟.乳制品质量与安全检测技术的研究进展[J].中国乳业，2024（8）：119–123.

Analysis of the Law of Morphological Changes of *Bacillus Cereus* in Raw Milk and the Factors of Contamination

LIU Yuru[1]，LI Xinyi[1]，HUA Xiaowei[1]，ZHANG Binghui[1]，CHEN Xiaomin[2]，ZHANG Kexin[3]，ZHANG Dexi[3*]

下转99页

中国乳业线上阅读

that the content of milk lactoferrin in 12 flavored fermented milks was none; the recovery rate of 7 spiked flavored fermented milks was between 86.3%~109.1%, and the CV values were all far below 12%; the ratio of milk lactoferrin content in 7 flavored fermented milks mixed with pasteurized milk compared to the control group was between 92.3%~110.5%, and most CV values were far below 12%; the content of milk lactoferrin in 3 spiked flavored fermented milks decreased with the extension of heat time at 72 ℃, and the decline curves were similar. Through comparative analysis with the national standard method, the compliance rates of milk lactoferrin content detected by the ELISA method in raw milk and pasteurized milk were 97.54% and 111.2%, respectively, indicating that the accuracy of this detection method meets national standards.[Conclusion] The optimized sandwich ELISA detection reagent can accurately determine the content of milk lactoferrin in flavored fermented milk.

Keywords: bovine lactoferrin; flavored fermented milk; Sandwich ELISA

▲上接90页

[1]Mengniu Dairy (Qiqihar) Co., Ltd., Qiqihar Heilongjiang 161000
[2]Mengniu Dairy (Shangzhi) Co., Ltd., Harbin Heilongjiang 150600
[3]Mengniu Dairy (Shenyang) Co., Ltd., Shenyang Liaoning 100122

Abstract: [Objective]To investigate the influencing factors of *Bacillus contamination* in raw milk and analyze the reasons for the different forms of *Bacillus*.[Method]The species of *Bacillus* in raw milk were determined by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS).[Result]In this study, 8 strains of *Brevibacillus* and 2 strains of *Paenibacillus* were isolated, among which there were 2 types of colony and morphology of *Brevibacillus invocatus*, and the long rod or filamentous form belonged to the special morphology of *Brevibacillus invocatus*.[Conclusion]The morphology of colonies changed regularly with the passage times and culture time, but there was no obvious pattern. The main factors of *Bacillus* contamination were related to the disinfection of cow bed, milkers'hands, wiping towels and equipments in the milk area. This study provided new morphological insights for the prevention and control of *Bacillus* and provided theoretical basis for related prevention and control.

Keywords: *Bacillus*; morphological change; raw milk; MALDI-TOF-MS

中国乳业线上阅读