



## SÜTÜN MİKROBİYOTASI VE BOZULMASINA YOL AÇAN ÖNEMLİ BAKTERİLER

Cem Sezai Başar<sup>1\*</sup> Zeynep Dilek Heperkan<sup>2</sup>

1 İstanbul Aydın Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Gıda Güvenliği ve Beslenme Programı, İstanbul, Türkiye

2 İstanbul Aydın Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

Geliş / Received: 31.01.2021; Kabul / Accepted: 18.03.2021; Online baskı / Published online: 23.04.2021

Başar, C.S., Heperkan. Z.D. (2021). Sütün mikrobiyotası ve bozulmasına yol açan önemli bakteriler. *GIDA* (2021) 46 (3) 660-668 doi: 10.15237/gida.GD21034

Başar, C.S., Heperkan. Z.D. (2021). *Milk microbiota and its important spoilage bacteria. GIDA* (2021) 46 (3) 660-668 doi: 10.15237/gida.GD21034

### ÖZ

Süt sağımdan başlayarak işleninceye kadar çeşitli ortamlardan, ekipmanlardan ve personelden bulaşan mikroorganizmalar nedeniyle bozulur. Süt mikrobiyotasında laktik asit bakterileri, psikrotrofik Gram negatif bakteriler, Gram pozitif sporlu bakteriler ve patojen bakteriler bulunur. Bu bakteri ve enzimlerin faaliyeti sütün duyuşal ve yapısal özelliklerini değiştirerek bozulmasına neden olur. Çiğ süt mikrobiyotası hem sütün hem de süt ürünlerinin kalite ve güvenliğini etkileyen en önemli parametrelerden birisi olup, bir taraftan çiftlik ortamını yansıtırken, diğer taraftan sağım ve işletme koşulları hakkında da fikir verir. Çiğ sütte sıklıkla bulunan ve sütün bozulmasına yol açan en önemli bakteriler *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Flavobacterium* ve bazı koliform üyeleridir. Sütün bozulmasında pastörizasyon öncesi bulaşmaların yanında pastörizasyon sonrası bulaşmalara bağlı mikroorganizma faaliyeti de önemli rol oynar. Özellikle psikrotrofik termofilik karakterdeki *Bacillus* türleri pastörizasyondan sonra meydana gelen bozulmalardan sorumludur. Bu makalede, sütün mikroorganizmalarla bulaşma yolları, sütte bulunan mikroorganizmaların özellikleri ve sütün bozulmasındaki rolleri konusunda bilgiler sunulmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Mikrobiyel bozulma, süt, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paenibacillus*

## MILK MICROBIOTA AND ITS IMPORTANT SPOILAGE BACTERIA

### ABSTRACT

Milk spoils due to microorganisms transmitted from environments, equipment and personnel starting from milking to process. Lactic acid bacteria, psychrotrophic Gram negative bacteria, Gram positive spore-forming bacteria and pathogenic bacteria are present in the milk microbiota. The activity of these bacteria and enzymes changes the sensory and structural properties of milk, causing it to spoil. Milk microbiota is one of the most important parameters affecting the quality and safety of both milk and dairy products. Bacteria found in milk that cause milk spoilage are *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Flavobacterium* and some coliform members. Besides contamination before and after pasteurization, microorganism activity also plays an important role in spoiling milk. Especially, *Bacillus* species with psychrotrophic thermophilic character are responsible for the deterioration that occurs after pasteurization. In this article, information on the ways of contamination of milk with

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: csezaibasara@stu.aydin.edu.tr

☎: +90 532 468 5987

Cem Sezai Başar; ORCID no: 0000-0001-8915-9576

Zeynep Dilek Heperkan; ORCID no: 0000-0001-7801-9607

microorganisms, the characteristics of microorganisms as well as their roles in milk spoilage are presented.

**Keywords:** Microbial spoilage, milk, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paenibacillus*

## GİRİŞ

Süt, zengin besin içeriği ve uygun yapısal özellikleri nedeniyle pek çok mikroorganizmanın gelişmesine uygun bir gıda maddesidir. Mikroorganizma yükü ne kadar yüksek ise süt o kadar kısa sürede bozulur. Mikroorganizma sayısı ile birlikte sütün bozulmasını etkileyen bir diğer önemli faktör sıcaklıktır. Sıcaklık ile bozulma doğru orantılı olup, sıcaklık arttıkça sütün bozulması hızlanır, başka bir ifadeyle sıcaklık yükseldikçe süt daha çabuk bozulur. Süt, sağım sırasında meme kanalı, personel, sağımda kullanılan kaplar veya sağım makinesi, tank ve depolardan kaynaklanan, çok sayıda ve çeşitli mikroorganizmalarla bulaşabilir (Nieminen vd., 2007). Çiğ süt mikrobiyotası bir taraftan çiftlik ortamını yansıtırken, diğer taraftan sağım ve işletme koşulları hakkında da fikir verir. Süt hayvanları, barnaklar ve meraların temiz ve bakımlı olması, sağımın hijyenik koşullarda yapılması, sütün soğutulması ve soğuk zincirin korunması, işletmenin sanitasyon kurallarına uygun şekilde tasarım ve üretimi, sütte mikroorganizma sayısının önemli derecede düşük olmasını ve dolayısıyla süt kalitesinin yüksek olmasını sağlar (Doussset vd., 2016; Martin vd., 2019). Genel görüş olarak, meme içindeyken sütün mikroorganizma içermediği, sütte bulunan mikroorganizmaların sağım ile birlikte meme derisi, dış ortam veya yavruların ağız boşluğundan kaynaklandığı düşünülüyordu. Son yıllarda yapılan çalışmalar ise meme bezi içinde endojen bir mikrobiyotanın varlığını göstermektedir (Addis vd., 2016; Fusco vd., 2020). İneklerde bağırsak bakterilerinin meme bezine geçişi metagenomik araştırmalar ile kanıtlanmıştır (Young vd., 2015). Sağlıklı, emziren ineklerde dışkı, süt lökositleri ve kan lökositleri mikrobiyotasında yer alan *Ruminococcus*, *Bifidobacterium* cinsleri ve *Peptostreptococcaceae* ailesine ait türlerin ortak varlığı aynı hayvanlardan alınan örneklerle gösterilmiştir (Young vd., 2015). Bakterilerin, bağırsak lümenini terk ederek mezenterik lenf düğümlerinden meme bezine, muhtemelen dendritik hücreler gibi immün hücreler yoluyla geçebileceği böylece, memeden farklı anatomik bölgelerden bir şekilde

meme bezine girebileceği belirtilmiştir (Addis vd., 2016; Fusco vd., 2020). Sütün sağımı ve bunu izleyen taşıma, depolama, süt ürünlerine dönüştürme, pastörizasyon ve pastörizasyon sonrası aşamalar dahil geçirdiği tüm evrelerde meydana gelen değişiklikleri anlayabilmek ve değerlendirebilmek için çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesinin bilinmesi çok önemlidir (Boor vd., 2017; Dortey vd., 2020). Bu makalede, sütün mikroorganizmalarla bulaşma yolları, sütte bulunan mikroorganizmaların özellikleri ve sütün bozulmasındaki rolleri konusunda son yıllarda yapılan çalışmalara ait bilgilerin sunulması amaçlanmıştır.

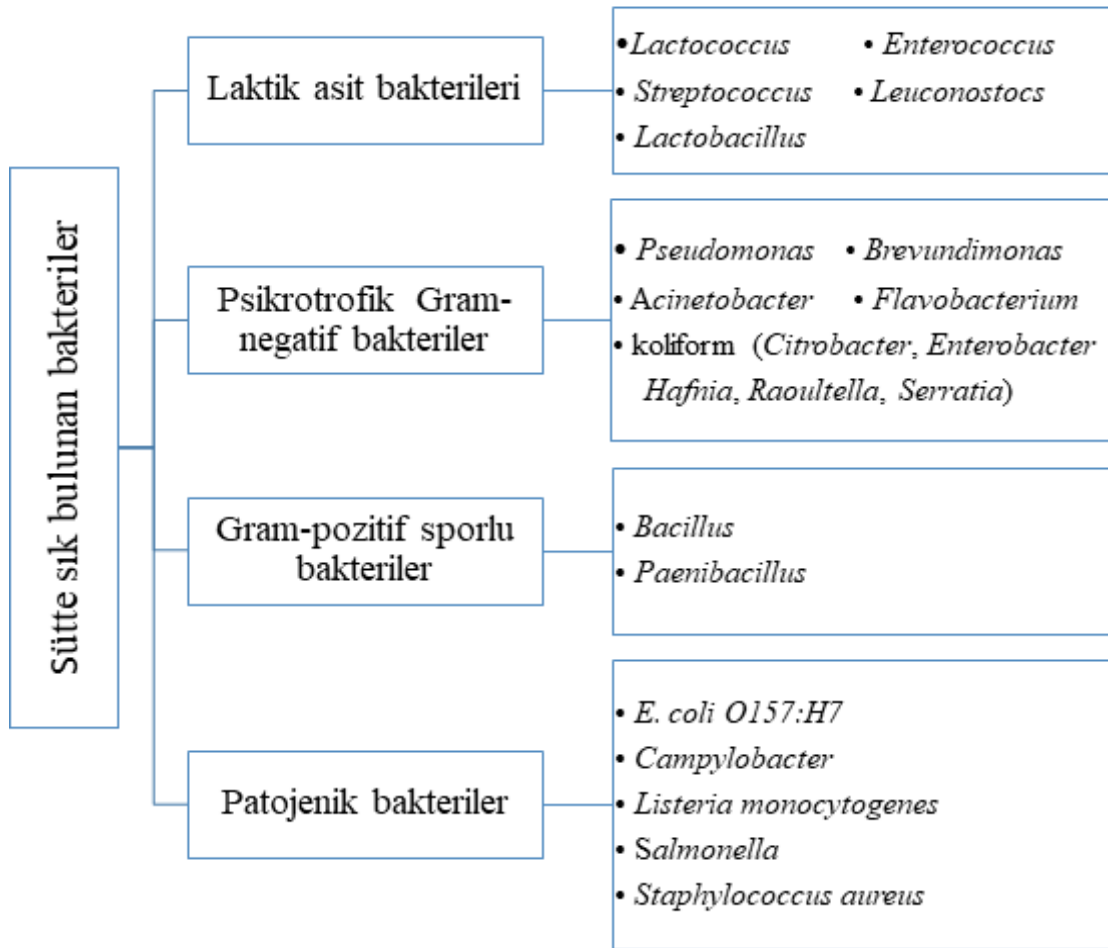
## SÜTÜN BOZULMASI VE İLGİLİ MİKROORGANİZMALAR

Mikroorganizma faaliyetleri sonucunda meydana gelen bozulmalar ile süt ve fermente sütün yaklaşık %30'unun kayıp olduğu bildirilmiştir (Trmcic vd., 2015). Sütün bozulmasında pastörizasyon öncesi bulaşmaların yanında pastörizasyon sonrası bulaşmalara bağlı mikroorganizma faaliyeti de önemli rol oynar (Ryser vd., 2016). Pastörizasyon sonrası bulaşmaların süt endüstrisinde ciddi bir sorun olduğu, bu tip bulaşmanın daha çok perakende düzeyinde meydana geldiği ve tüketici hatalarının da önemli payı olduğu bildirilmiştir (Golan ve Buzby, 2015; Martin vd., 2018). Sütün mikroorganizmalar ile bulaşmasında meme bezi içindeki endojen mikrobiyotanın yanında dış ortamdaki örneğin sağım personel ve ekipmanları; süt taşıma ve depolama ekipmanları, hava, su, toprak, ot/yem gibi kaynaklar ve sütle beslenen yavruların ağız boşluğu rol oynar. Sütte bulunan mikroorganizmalar farklı araştırmacılar tarafından değişik kriterler dikkate alınarak sınıflandırılmaktadır. Örneğin bazı kaynaklarda süt mikrobiyotası, bakterilerin Gram boyamaya karşı gösterdikleri reaksiyonlara göre Gram pozitif ve Gram negatif olmak üzere 2 gruba ayrılarak incelenir (Trmcic vd., 2015; Lu vd., 2017). Diğer bazı kaynaklarda bozulma yapan, sporlu ve patojenik gibi bakterilerin fonksiyonel, morfolojik ve fayda-zarar özellikleri birlikte dikkate alınarak

sınıflandırma yapılmaktadır (Rodrigues vd., 2017). Literatürde karşılaşılan bir diğer sınıflandırma ise; pastörizasyon sonrası bulaşanlar ve psikrotolerant gram negatif bakteriler olmak üzere 2 grup halinde yapılır (Martín vd., 2012). Ancak, mikroorganizmaları tespit etmek için kullanılan yöntemler ve özellikle omik teknolojilerdeki gelişmeler çiğ sütün daha önce düşünülenlerden daha heterojen ve karmaşık bir mikrobiyotaya sahip olduğunu göstermiştir (Fusco vd., 2020). Bu makalede sütün özellikleri de göz önüne alınarak sütte bulunan bakteriler dört grup altında toplanmıştır; (i) laktik asit bakterileri (LAB), (ii) psikrotrofik Gram negatif bakteriler, (iii) Gram pozitif sporlu bakteriler ve (iv) patojenik bakteriler (Şekil 1).

### LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

Çiğ sütte *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Leuconostoc* gibi laktik asit bakterileri bulunabilir (Rodrigues vd., 2017; Fusco vd., 2020). Sütte bulunan LAB içinde sayı bakımından en yüksek olan *Streptococcus* türleridir (Rodrigues vd., 2017). Soğuk zincirin kırılması veya sütün oda sıcaklığında bekletilmesi LAB'ın laktozu hidrolize ederek laktik asit oluşturmaya neden olur. Asit oluşumu sütte pH'nın düşmesine ve tadın ekşimesine yol açtığından içme sütünde LAB sayısının yüksek olması istenmeyen bir durumdur.



Şekil 1. Sütte sık bulunan bakteriler

Sütün soğutulması, pastörize edilmesi ve daha sonra soğukta depolanması LAB sayısında azalmayla sonuçlanır. Sütün aksine, peynir (Wyder vd., 2019) ve yoğurt gibi süt ürünlerinde ise LAB sayısının yüksek ve aktif olması, laktozu fermente etmesi ve bakterinin türüne ve üretilen fermente ürüne bağlı olarak başta asit olmak üzere diasetil, hidrojen peroksit ve bakteriyosin gibi metabolitleri üretmesi istenir. Laktik asit bakterilerinin dışında sütte *Propionibacterium*, *Microbacterium* ve *Micrococcus* gibi diğer sporsuz Gram pozitif bakteriler de bulunur (Trmcic vd., 2015; Holzapfel vd., 2020; Techer vd., 2020).

Çiğ süt gibi, pastörize sütün de bakterilerle bulaşması sık karşılaşılan bir durumdur. Pastörizasyondan sonra olan bulaşmalarda az da olsa laktik asit bakterilerinin de yer aldığı ve sütün bozulmasında rol oynadığı belirlenmiştir. Örneğin ticari pastörizasyon veya laboratuvar pastörizasyonu olarak adlandırılan düşük sıcaklık-uzun süre (63°C/30 dk) uygulanmış sütlerden *Leuconostoc lactis*, *Lactococcus lactis* ve *Enterococcus* sp., düşük sıcaklık-kısa süre (72°C/25 s) uygulanmış sütlerden *Micrococcus* sp., *Streptococcus thermophilus* ve 77°C/25 s ısı işlem uygulanmış sütlerden *Staphylococcus pasteurii* izole edilmiştir (Caplan vd., 2013; Trmcic vd., 2015). Bu mikroorganizmalar içinde hücre dışına ekzopolisakarit salgılayan *Leuconostoc* türlerinin sütte sünme (ropy) kusuruna ve bu nedenle ekonomik kayba neden olduğu bildirilmiştir (Trmcic vd., 2015). Sünme kusuruna neden olan bakterilerin araştırıldığı bir çalışmada, laktik asit bakterileri içinde sadece *Leuconostoc lactis* ve *Lactococcus lactis*'in 6°C'de gelişme gösterdiği belirlenmiş, bu nedenle soğukta depolanan sütteki bozulmadan da (sünme) bu iki bakterinin sorumlu olabilecekleri bildirilmiştir (Trmcic vd., 2015).

### PSİKROTROFİK GRAM NEGATİF BAKTERİLER

Sütün sağımdan sonra soğutulması ve işleninceye kadar soğukta saklanması psikrotrofik bakterilerin baskın florayı oluşturmalarına neden olur. Sütün bozulmasına yol açan psikrotrofik Gram negatif bakteriler içinde en sık bulunan türler; *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* üyeleridir (Ribeiro vd., 2018; Fusco vd., 2020). Ayrıca *Brevundimonas*, *Flavobacterium* ve koliform üyeleri de daha az

rastlanan ve sütün bozulmasından sorumlu diğer psikrotrofik bakterilerdir (Trmcic vd., 2015; Koppenaal vd., 2017; Júnior vd., 2018). Bozulmaya neden olan bu bakteriler sütte, koku ve tat kusurlarına yol açabilen lipaz veya proteaz enzimlerini üretirler (Glantz vd., 2020; Fusco vd., 2020). Yapılan araştırmalarda süt ve süt ürünlerinden izole edilen *Pseudomonas* izolatlarının sırasıyla %33 ve %52'sinin proteaz aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Caldera vd., 2016; Machado vd., 2017). *Pseudomonas* türleri içinde *P. fragi*, *P. gessardii*, *P. fluorescens*, *P. rhodesiae*, *P. brenneri*, *P. proteolytica* sütün bozulmasına sıklıkla yol açan türlerdir (Jonghe vd., 2011; Trmcic vd., 2015; Caldera vd., 2016).

Psikrotrofik bakteriler, özellikle *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türleri tarafından üretilen ısıya dayanıklı, proteolitik ve lipolitik enzimler pastörizasyon aşamasından sonra sütün bozulmasına neden olur (von Neubeck vd., 2015; Yuan vd., 2018; Yuan vd., 2019). Lezzet kusurlarının yanında sütteki en önemli bozulma proteolize bağlı olarak oluşan pıhtılaşmadır. Bu tip bozulma UHT sütlerde karşılaşılan önemli bir sorundur (Zhang vd., 2019).

Sütte yüksek lipo-protein lipaz (LPL) miktarının yüksek bakteri sayısı ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Barbano vd., 2006). Lipo-protein lipaz, sığır sütündeki başlıca lipazdır ve sütte teknolojik açıdan en önemli enzim olarak kabul edilmektedir (O'Mahony vd., 1990). Lipolitik aktivite, serbest yağ asitleri (FFA) ve diğer yağ asitleri ile ilişkili olup, özellikle kısa zincirli yağ asitlerinin süt tadında bozulmaya neden olduğu belirlenmiştir (Glantz vd., 2020).

Sütte sünme kusurunun nedeni olan psikrotrofik koliform bakterilerin ayırımında minimum gelişme sıcaklığının önemli olduğu bildirilmiştir. Sütte bozulmaya yol açan *Hafnia paralvei*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Rahnella inusitata*, *Raoultella* ve *Klebsiella* gibi koliformlar arasında özellikle *Rahnella inusitata*'nın 6°C'de iyi gelişme gösterdiği ve sütteki sünme kusurundan sorumlu olduğu belirtilmiştir (Trmcic vd., 2015; Hahne vd., 2018).

## GRAM POZİTİF SPORLU BAKTERİLER

Sütün pastörizasyon sonrası proteolitik ve lipolitik enzimlerle bozulmasına hem spor oluşturan hem de spor oluşturmeyen Gram pozitif bakteriler neden olabilir. Psikrotolerant-termodurik (soğuga toleranslı-yüksek sıcaklığa dayanıklı) sporlu bakteriler sütün sağımını izleyen soğutma aşamasında çoğalır ve spor formunda daha sonraki ısıl işlemde canlı kalarak sütün bozulmasına yol açar (De Jonghe vd., 2010; Doyle vd., 2015; Ribeiro vd., 2020). Bu tür bir bozulmaya, spor oluşturan bakterilerden *Paenibacillus* cinsi ve *Bacillus weihenstephanensis* gibi soğuga toleranslı bazı *Bacillus* türleri neden olur (Ranieri vd., 2012; Trmcic vd., 2015). Bu organizmalardan kaynaklanan bozulma, sütün 6°C civarında depolanması durumunda tipik olarak 17 ila 21 gün raf ömründe meydana gelir (Trmcic vd., 2015; André vd., 2017). *Bacillus* ve *Paenibacillus* sütün bozulmasına yol açan en önemli sporlu bakterilerdir (Ranieri vd., 2012; Trmcic vd., 2015; Olajide vd., 2020). *Bacillus* türleri içinde sütün bozulmasına en sık yol açan türün *B. cereus* olduğu bildirilmiştir (De Jonghe vd., 2010; Porcellato vd., 2020). Ayrıca, *Bacillus cereus* ve *P. polymyxa* kuvvetli proteolitik ve lesitinaz aktivitesi ile hem proteinlerin parçalanmasından hem de sütte yağ zerreciklerinin kümelenmesinden kaynaklanan acı krema kusurlarından sorumludur (De Jonghe vd., 2010; Murphy vd., 2016). *Bacillus pumilus* sadece kuvvetli lipolitik aktivite gösterirken, *B. amyloliquefaciens* ve *B. subtilis*'in hem kuvvetli lipolitik hem de proteolitik aktiviteye sahip olmaları nedeniyle sütün bozulmasında önemli rol oynadıkları bildirilmiştir (Coorevits vd., 2008; De Jonghe vd., 2010). Bu türlere ilave olarak *B. clausii* ve *B. licheniformis* türlerinin de sütte bozulmaya yol açtığı belirlenmiştir (De Jonghe vd., 2010; Miller vd., 2016). Yeni türlerin ve soyların sık sık yeniden sınıflandırılıp tanımlanması nedeniyle *Bacillus* türlerinin isimlendirilmesinde önemli değişiklikler olduğunu vurgulayan araştırmacılar, *Bacillaceae* familyasına ait bir izolata tür adı atamanın zor olduğunu belirtmişler ve çözüm olarak farklı genotiplere güvenilir sınıflandırma sağlayan *rpoB* (RNA polimeraz beta subunit) geninin de kullanılmasını önermişlerdir (Trmcic vd., 2015).

## SONUÇ

Dünya genelinde çiğ süt üretimi 2018'de 842 milyon ton, Türkiye'deki süt üretimi ise 22 milyon tondur (İDF, 2019; FAO, 2019). Sütün yaklaşık %30'luk kısmı bozularak atılmaktadır. Diğer yandan hem çiğ hem de pastörize sütün ve süt ürünlerinin çok sayıda gıda kaynaklı hastalığa yol açtığı bilinmektedir (Guh vd., 2010; Weiler vd., 2011; Jones vd., 2019). Süt sağımının hijyenik koşullarda yapılmaması, barınakların temiz ve bakımlı olmaması, ekipmanların temizlik ve dezenfeksiyonuna dikkat edilmemesi, suyun temiz olmaması, süt hayvanlarında mastitis (meme iltihabı) gibi hastalıkların varlığı ve işletmenin sanitasyon kurallarına uygun üretim yapmaması gibi nedenler sütün bozulma yapan ve patojen bakterilerle bulaşmasına neden olur. Süte bulaşan mikroorganizmaların sayım ve tanımlanmasında kültüre bağlı ve kültürden bağımsız olmak üzere çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Çiğ süt mikrobiyotasının mikrobiyolojik analizlerinin çoğu kültüre bağlı yöntemlere dayanmaktadır (Kırdar 2017; Redrigues vd., 2017). Süt endüstrisindeki standart mikrobiyel testler, toplam mezofilik bakteri sayımına ve mikrobiyel bulaşmanın göstergesi olarak enterobakterilerin sayısını belirlemeye odaklanmıştır (Sadiq vd., 2016; Fusco vd., 2020). Mezofilik bakteri sayısının 200 bin KOB/mL'den fazla olması bulaşmanın yüksek, 200 bin KOB/mL'den az olması ise sütün tüketime uygun olduğunu göstermektedir (Rodrigues vd., 2017). Bununla birlikte, bilim insanları proteolitik ve lipolitik *Pseudomonas* veya *Acinetobacter* ve psikrotrofik *Bacillus*'un sütün bozulmasında daha önemli bir rol oynayabileceğini, bu bakterilerin sayım ve tayininde kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR), akış sitometrisi, döngü aracı izotermal amplifikasyon (LAMP) gibi kültürden bağımsız yöntemlerin kullanılmasının daha avantajlı olabileceğini bildirmişlerdir (Trmcic vd., 2015; Agrimonti vd., 2019; Fusco vd., 2020). Beslenmede çok önemli bir yere sahip olan sütte mikroorganizma bulaşma ve gelişmesinin önlenmesi ile süt ürünlerinde de istenilen kalite ve güvenliğin sağlanması mümkün olabilecektir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemektedir.

**YAZAR KATKILARI**

Cem Sezai BAŞAR, araştırma fikri ve hipotezini oluşturulması, yürütülmesi, kaynak taranması, çalışmanın yazılmasına katkı sağlamıştır. Zeynep Dilek Heperkan, araştırma yönteminin oluşturulması, denetlenmesi, kaynak taranması, eleştirel inceleme, yazım ve dil yönüyle düzenlenmesine katkı sağlamıştır

**KAYNAKLAR**

Addis, M. F., Tanca, A., Uzzau, S., Oikonomou, G., Bicalho, R. C., & Moroni, P. (2016). The bovine milk microbiota: Insights and perspectives from-omics studies. *Mol. Biosyst.*, 12, 2359–2372. <https://doi.org/10.1039/C6MB00217J>

Agrimonti, C., Bottari, B., Sardaro, M. L. S., & Marmiroli, N. (2019). Application of real-time PCR (qPCR) for characterization of microbial populations and type of milk in dairy food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(3), 423–442. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1375893>

Andre, S., Vallaeys, T., Planchon, S. (2017). Spore-forming bacteria responsible for food spoilage. *Res Microbiol*, 168(4), 379–387. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.10.003>

Anonymous (2019): FAO, Overview of global dairy market developments in 2018. Retrieved from <http://www.fao.org/3/ca3879en/ca3879en.pdf>

Anonymus. (2019): IFD Turkey Dairy Sector. Retrieved from <https://idfws2019.com/en/turkey-dairy-sector>.

Barbano, D.Mistanbulis., Ma, Y., Santos, M.V. (2006). Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life *J Dairy Sci* 2006 Mar;89 Suppl 1:E15-9. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72360-8.

Boor, K. J., Wiedmann, M., Murphy, S., Alcaine, S. (2017). A 100-Year Review: Microbiology and safety of milk handling. *J Dairy Sci*, 100(12), 9933–9951. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12969>

Caldera, L., Franzetti, L., Van Coillie, E., De Vos, P., Stragier, P., De Block, J., Heyndrickx, M. (2016). Identification, enzymatic spoilage characterization and proteolytic activity

quantification of *Pseudomonas* spp. isolated from different foods. *Food Microbiol* 54 (2016) 142-153.

Caplan, Z., C. Melilli, and D. M. Barbano. (2013). Gravity separation of fat, somatic cells, and bacteria in raw and pasteurized milks. *J. Dairy Sci.* 96:2011–2019.

De Jonghe, V., Coorevits, A., De Block, J., Van Coillie, E., Grijspeerdt, K., Herman, L., Heyndrickx, M. (2010). Toxinogenic and spoilage potential of aerobic spore-formers isolated from raw milk. *Int J Food Microbiol*, 136(3), 318–325. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.007>

Coorevits, A., De Jonghe, V., Vandroemme, J., Reekmans, R., Heyrman, J., Messens, W., De Vos, P., & Heyndrickx, M. (2008). Comparative analysis of the diversity of aerobic spore-forming bacteria in raw milk from organic and conventional dairy farms. *Sys. App. Microbiol.*, 31(2), 126–140. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2008.03.002>

Dortey, M. D., Aboagye, G., Tuah, B. (2020). Effect of storage methods and duration of storage on the bacteriological quality of processed liquid milk post-opening. *Sci Afr*, 10, e00555. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00555>

Dousset, X., Jaffrès, E., Zagorec, M. (2016). Spoilage: Bacterial Spoilage. *Enc of Food and Health*, 106–112. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384947-2.00649-8>

Doyle, C. J., Gleeson, D., Jordan, K., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Cotter, P. D. (2015). Anaerobic sporeformers and their significance with respect to milk and dairy products. *Int J Food Microbio*, 197, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.022>

Fusco, V., Reşfi, D., Fanelli, F., Logrieco, AF., Cho, GS., Kabisch, J., Böhnlein, C., Franz, CMAP. (2020) Microbial quality and safety of milk and milk products in the 21st century. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 19(4):2013-2049. doi: 10.1111/1541-4337.12568.

Glantz, M., Rosenlöw, M., Lindmark-Månsson, H., Buhelt Johansen, L., Hartmann, J., Höjer, A.,

- Paulsson, M. (2020). Impact of protease and lipase activities on quality of Swedish raw milk. *Int. Dairy J*, 107, 104724. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104724>
- Golan, E., Buzby, J.C. (2015). Innovating to meet the challenge of FOOD WASTE *Food Technol.*, 69: 21-25
- Guh, A., Phan, Q., Nelson, R., Purviance, K., Milardo, E., Kinney, S., ... Cartter, M. (2010). Outbreak of *Escherichia coli* O157 associated with raw milk, Connecticut, 2008. *Clinical Infectious Disease*, 51(12), 1411–1417. <https://doi.org/10.1086/657304>
- Hahne J, Isele D, Berning J, Lipski A. (2019). The contribution of fast growing, psychrotrophic microorganisms on biodiversity of refrigerated raw cow's milk with high bacterial counts and their food spoilage potential. *Food Microbiol.* doi: 0.1016/j.fm.2018.10.019.
- Holzappel, W. H., Todorov, S. D., Cogan, T. M. (2020). History of Dairy Bacteriology. *Ref Mod in Food Sci* 1–10. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.23031-x> <http://dx.doi.org/10.5772/55937>
- Jones, G., Lefèvre, S., Donguy, M. P., Nisavanh, A., Terpant, G., Fougère, E., Mariani-Kurkdjian, P. (2019). Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O26 paediatric haemolytic uraemic syndrome (HUS) cases associated with the consumption of soft raw cow's milk cheeses, France, March to May 2019. *Euro Surveillanc*, 24(22), 1900305. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.22.1900305>
- Jonghe, V., Coorevits, A., Van Hoorde, K., Messens, W., Van Landschoot, A., De Vos, P., Heyndrickx, M. (2011). Influence of storage conditions on the growth of *Pseudomonas* species in refrigerated raw milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 460-470.
- Júnior, JCR.,Oliveira, BMD., Silva, FD., Tamanini, R., Oliveira, BLMD., Beloti, V.(2018) The main spoilage-related psychrotrophic bacteria in refrigerated raw milk. *Milk Sci.* an;101(1):75-83. doi: 10.3168/jds.2017-13069.
- Kirdar, SS. (2017): An overview of the Turkish dairy sector. *Ind J Dairy Sci*, 70, 249-255.
- Koppenaar, H., Groenendiik, F., van den Berge, M., Verkade, E., Verduin, K., Zomer, A.L., Duim, B., Wagenaar, J.A., Tijmsa, A.S.L., Spierenburg, M.A.H., Wierik, M.J.M. (2017). Outbreak of *Campylobacter fetus* infection after consumption of unpasteurized sheep's milk cheeses: how to trace the source? *Ned. Tijdschr Geneesk* ;161:D1704
- Lu, M., Wang, N. S. (2017). Spoilage of Milk and Dairy Products. *The Microbiol Qua of Food*, 151–178. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100502-6.00010-8>
- Machado, SG., Baglinière, F., Marchand, S., Coillie, EV., Vanetti MCD., Blok, JD., Heyndrickx, M. (2017). The Biodiversity of the Microbiota Producing Heat-Resistant Enzymes Responsible for Spoilage in Processed Bovine Milk and Dairy Products, *On Mikrobiyol*, Mar 1;8:302.
- Martin NH, Kent DJ, Evanowski RL, Zuber Hrobuchak TJ, Wiedmann M. (2019) Bacterial spore levels in bulk tank raw milk are influenced by environmental and cow hygiene factors. *J Dairy Sci.* 2019 Nov; 102 (11) :9689-9701. doi: 10.3168/jds.2019-16304. Epub 2019 Aug 22.
- Martin, N. H., N. R. Carey, S. C. Murphy, M. Wiedmann, and K. J. Boor. (2012). A decade of improvement: New York State fluid milk quality. *J. Dairy Sci.* 95:7384–7390. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5767>.
- Martins, ML.,Pinto, UM.,Riedel, K.,Vanetti, MCD. (2018). Quorum Sensing and Spoilage Potential of Psychrotrophic *Enterobacteriaceae* Isolated from Milk. *Biomed Res Int.* 22;2018:2723157. doi: 10.1155/2018/2723157
- Miller RA., Beno SM, Kent DJ.,Carroll LM. Martin NH. Boor KJ. Kovac J. (2016). *Bacillus wiedmannii* sp. nov., a psychrotolerant and cytotoxic *Bacillus cereus* group species isolated from dairy foods and dairy environments. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*; 66: 4744-4753
- Murphy SC. Martin N. Barbano D. Wiedmann M. (2016). Influence of raw milk quality on processed

- dairy products: How do raw milk quality test results relate to product quality and yield? *J. Dairy Sci.*; 99 : 10128-10149 Doi:10.3168/jds.2016-11172
- Nieminen, T., Rintaluoma, N., Andersson, M., Taimisto, A. M., Ali-Vehmas, T., Seppälä, A., Priha, O., & Salkinoja-Salonen, M. (2007). Toxinogenic *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* from mastitic milk. *Vet. Microbiol.* 124(3-4), 329–339. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.05.015>
- Olajide A.M., LaPointe G. (2020). Detection of spore forming *Paenibacillus macerans* in raw milk. *J Microbiol Methods.* 2020. 177:106048. doi: 10.1016/j.mimet.2020.106048.
- O'Mahony, M., Mitchell, E., Gilbert, R., Hutchinson, D., Begg, N., Rodhouse, J., Morris, J., (1990). An outbreak of foodborne botulism associated with contaminated hazelnut yoghurt. *Epidemiol. Infect.* 104 (03), 389–395.
- Porcellato, D., Skeie, SB., Mellegård, H., Monshaugen, M., Göransson Aanrud, S., Lindstedt, BA., Aspholm, M. (2021). Characterization of *Bacillus cereus* sensu lato isolates from milk for consumption; phylogenetic identity, potential for spoilage and disease. *J Food Microbiol*, 93, 103604. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103604>
- Ranieri, ML., Ivy, RA., Mitchell, WR., Call, E., Masiello, SN., Wiedmann, M., Boor, KJ., (2012). Real-time PCR detection of *Paenibacillus spp.* in raw milk to predict shelf life performance of pasteurized fluid milk products. *Appl. Environ. Microbiol.* 78 (16), 5855–5863.
- Ribeiro Junior JC, de Oliveira AM, Silva FG, Tamanini R, de Oliveira ALM, Beloti V. (2018). The main spoilage-related psychrotrophic bacteria in refrigerated raw milk. *J Dairy Sci.* 2018; 101(1):75-83. doi: 10.3168/jds.2017-13069.
- Ribeiro-Júnior, JC., Tamanini, R., Alfieri, B., Beloti, V. (2020). Effect of milk bacto-fugation on the counts and diversity of thermotolerant bacteria. *J Sut Sci.* 103(10):8782-8790. doi: 10.3168/jds.2020-18591.
- Rodrigues, MX., Lima, SF., Canniatti-Brazaca, SG., Bicalho, RC. (2017). The microbiome of bulk tank milk: Characterization and associations with somatic cell count and bacterial count. *J Dairy Sci*, 100(4), 2536–2552. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11540>
- Ryser, ET. (2016). Pasteurization of Liquid Milk Products: Principles, Public Health Aspectsç R *Mod Food Sci*, 310–315. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.21367-x>
- Sadiq, FA., Li, Y., Liu, T., Flint, S., Zhang, G., Yuan, L., Pai, Z., He, GO. (2016). The heat resistance and spoilage potential of aerobic mesophilic and thermophilic spore forming bacteria isolated from Chinese milk powders *Int J Food Microbiol.* 2016. 5;238:193-201. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.09.009.
- Techer, C., Jan, S., Thierry, A., Maillard, MB., Grosset, N., Galet, O., Breton, V., Gautier, M., Baron, F. (2020). Identification of the bacteria and their metabolic activities associated with the microbial spoilage of custard cream desserts. *Food Microbiol*; 86:103317. doi: 10.1016/j.fm.2019.103317.
- Trmcic, A., Martin, NH., Boor, KJ., Wiedmann, M. (2015). A standard bacterial isolate set for research on contemporary dairy spoilage. *J Dairy Sci*, 98(8), 5806–5817. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9490>
- Von Neubeck, M., Baur, C., Krewinkel, M., Stoeckel, M., Kranz, B., Stressler, T., Wenning, M. (2015). Biodiversity of refrigerated raw milk microbiota and their enzymatic spoilage potential. *Int J Food Microbiol*, 211, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.001>
- Weiler, N., Leotta, G. A., Zuarate, M. N., Manfredi, E., Alvarez, M. E., & Rivas, M. (2011). Foodborne outbreak associated with consumption of ultrapasteurized milk in the Republic of Paraguay. *Rev Argentina de Microbiol*, 43(1), 33–36. <https://doi.org/10.1590/s0325-75412011000100007>
- Wyder, MTF., Roth, EA., Jakob, E. (2019). Cheese yeasts, *Wiley Yeast* Maya, 36(3):129-141. doi: 10.1002/yea.3368.



Young, W., Hine, B. C., Wallace, O. A. M., Callaghan, M., Bibiloni, R. (2015). Transfer of intestinal bacterial components to mammary secretions in the cow. *PeerJ*, 3, Article e888. <https://doi.org/10.7717/peerj.888>.

Yuan L, Sadiq FA, Burmølle M, Wang NI, He G. (2019). Insights into Psychrotrophic Bacteria in Raw Milk: A Review. *J Food Prot.* 82(7):1148-1159. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-19-032. PMID: 31225978.

Yuan, L., Sadık, F., Liu , TJ., Li, Y., Gu, JS., Yang, HY., Guo-Qing O. (2018). Spoilage potential of

psychrotrophic bacteria isolated from raw milk and the thermo-stability of their enzymes *Zhejiang Univ Sci B.* 19(8):630-642. doi: 10.1631/jzus. B1700352.

Zhang, C., Bijl, E., Svensson, B., Hettinga, K. (2019). The Extracellular Protease AprX from *Pseudomonas* and its Spoilage Potential for UHT Milk: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 18(4):834-852. doi: 10.1111/1541-4337.12452.