



## *Clostridium spp.* Kaynaklı Peynir Kusurları: Geç Şişmenin Önlenmesine Yönelik Güncel Yaklaşımlar

### Cheese Defects Caused by *Clostridium spp.*: Current Approaches to Prevent Late Blowing

Damla ÖZİŞİK<sup>1\*</sup>, Nihat AKIN<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya

<sup>1</sup>ORCID: 0009-0006-9406-1518,  <sup>2</sup>ORCID: 0000-0002-0966-1126 

\*Sorumlu Yazar: damlaozisik29@gmail.com

Geliş Tarihi: 09.10.2025

Kabul Tarihi: 30.03.2026

#### ÖZET

Geç şişme kusuru, yarı sert ve sert peynirlerde önemli bir sorundur. Bu kusur bir kez meydana geldiğinde düzeltilemez olması, büyük üretim hacimlerini etkilemesi ve ekonomik açıdan ciddi kayıplara yol açması nedeniyle peynir üretim işletmeleri açısından kritik bir problem oluşturmaktadır. Bu kusur, bütirik asit fermantasyonu sonucu oluşan çatlaklar ve hoş olmayan tatlarla karakterizedir. Bu bozulmanın etkeni olarak çeşitli *Clostridium* türleri bildirilmiş olmakla birlikte, en sık izole edilen tür *Clostridium tyrobutyricum* olarak rapor edilmiştir. Bu durumun başlıca nedeni, *C. tyrobutyricum*'un diğer türlere göre daha yüksek tuz dayanıklılığına sahip olması ve peynirin tipik olgunlaşma sıcaklıklarında gelişim gösterebilmesidir. Geç şişme kusuruna neden olan minimum spor sayısını belirlemek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak, bu araştırmalar mikrobiyal suşa, peynire ve bakteri yükünü ölçmek için kullanılan yöntemlere bağlı olarak karmaşık hale gelmektedir. Peynirde geç şişme kusurunun oluşumunun önlenmesine yönelik birkaç strateji geliştirilmiştir. Bu çalışmada, bu üç strateji detaylı bir şekilde ele alınmaktadır; çiftlikte sütün kontaminasyonunu en aza indirmeye yönelik yaklaşımlar, sporların fiziksel yöntemlerle giderilmesi ve sporestatik veya sporisidal prosedürlerin uygulanması yer almaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Peynir, Geç şişme kusuru, *Clostridium tyrobutyricum*, Kontaminasyon kaynağı

#### ABSTRACT

Late blowing defect is a significant issue in semi-hard and hard cheeses. Once it occurs, it cannot be corrected; due to its impact on large production volumes and the substantial economic losses it causes, it represents a critical problem for cheese manufacturing plants. This defect is characterized by cracks and unpleasant flavors resulting from butyric acid fermentation. Although various *Clostridium* species have been reported as causative agents of this spoilage, *Clostridium tyrobutyricum* has been identified as the most frequently isolated species. The primary reason is *C. tyrobutyricum*'s higher salt tolerance compared to other species and its ability to grow at typical cheese ripening temperatures. Various studies have been conducted to determine the minimum spore count required to cause Late Blowing Defect. However, these studies are complex as they depend on the microbial strain, cheese type, and methods used to measure bacterial load. Several strategies have been developed to prevent Late Blowing Defect formation in cheese. This review discusses these three strategies in detail. These include approaches to minimize milk contamination on the farm, physical methods for spore removal, and the application of sporestatic or sporicidal procedures.

**Keywords:** Cheese, Late Blowing Defect, *Clostridium tyrobutyricum*, Source of contamination

## GİRİŞ

Peynir, mikrobiyal ve enzimatik süreçlerin karmaşık etkileşimleriyle oluşan dinamik bir süt ürünüdür. Ancak bu süreçlerin iyi yönetilememesi durumunda, çeşitli kalite kusurları ortaya çıkabilmekte ve ürünün duyuusal, mikrobiyolojik ve ticari değerlerini olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Peynirdeki bazı kusurlar, yetersiz tuz konsantrasyonu, düşük su aktivitesi, düşük kaliteli peynir mayası seçimi ile hijyen eksiklikleri gibi teknolojik hatalardan kaynaklansa da, ürün kalitesini tehdit eden başlıca unsurlar genellikle mikrobiyal kökenlidir (Mullan, 1986; Sheehan, 2022).

Süte kontaminasyon; sağım hijyenine uyulmaması, hava, yem, ekipman ve çevresel koşullar gibi birçok dış faktörler aracılığıyla gerçekleşebilir. Pastörizasyon, yaygın mikrobiyal yükü azaltarak peynirin raf ömrünü uzatmada etkili bir yöntem olsa da, üretim sonrası çevresel kontaminasyon veya uygulanan termal işleme dirençli mikroorganizmalar nedeniyle bozulmalar meydana gelebilir.

Yüzeyde küf oluşumu, miselyum gelişimi veya sümüksü maddelerin gözlenmesi gibi görünür anormalliklerin yanı sıra, peynirin iç yapısında gaz üretimine bağlı kusurlar da önemli kalite sorunları arasında yer alır. Peynirde gözlenen şişme kusurları, oluşum zamanına bağlı olarak genellikle erken şişme ve geç şişme olmak üzere iki ana kategoride değerlendirilir. Erken şişme, olgunlaşmanın ilk günlerinde, genellikle koliform bakteriler veya heterofermentatif laktik asit bakterilerinin neden olduğu karbondioksit ve hidrojen üretimiyle karakterize bir durumdur (Fox vd., 2017). Bu durum, genellikle düşük kaliteli çiğ süt kullanımı ve yetersiz hijyen uygulamalarıyla ilişkilendirilir.

Uygun sağım hijyeni, etkin pastörizasyon, starter kültürlerin doğru kullanımı ve üretim sonrası kontaminasyonun önlenmesiyle bu kusur büyük oranda kontrol altına alınabilmektedir (Mullan, 2000; Sheehan, 2022). Buna karşın, geç şişme kusuru, özellikle sert ve yarı sert peynirlerde, olgunlaşmanın ileri aşamalarında meydana gelen ciddi bir kalite problemidir. Bu kusur, peynirin iç dokusunda büyük ve düzensiz gaz boşluklarının oluşmasına, ambalajın şişmesine ve duyuusal özelliklerin bozulmasına neden olur.

Geç şişmenin temel nedeni, *C. tyrobutyricum* gibi anaerob, spor oluşturan bakterilerin laktatı butirik asit fermentasyonu

yoluyla parçalayarak butirik asit ve gaz (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>) üretmesidir. Bu bakteriler pastörizasyona dirençli sporları sayesinde üretim zincirinde canlı kalabilmekte ve elverişli koşullar oluştuğunda tekrar aktif hale gelerek kaliteyi tehdit etmektedir (Bintsis ve Papademas, 2024)

Bu derlemede, peynirde geç şişme kusuruna neden olan mikroorganizmalar, bu organizmaların kontaminasyon kaynakları, metabolik aktiviteleri ve endüstride bu kusuru önlemeye yönelik güncel teknolojik ve biyolojik stratejiler detaylı şekilde ele alınacaktır. Amaç, hem üretici hem de araştırmacılar için geç şişme kusurunun yönetimine yönelik uygulanabilir ve bilimsel temelli bir perspektif sunmaktır.

## GEÇ ŞİŞME KUSURU

Geç şişme kusuru, genellikle peynir üretimini takip eden 4 ila 6 haftalık dönemde, olgunlaşmanın ileri evrelerinde belirginleşen önemli bir kalite bozulmasıdır (D'Amico, 2017; Düsterhöft vd., 2017). Bu kusur, özellikle yarı sert ve sert peynirlerde, iç yapıda düzensiz büyük gaz boşlukları, yapısal yarıklar ve ambalaj şişmeleriyle karakterizedir. Kusurun mikrobiyal etiyojisi çok çeşitli olmakla birlikte, temel olarak gaz üretimi yoluyla peyniri destabilize eden mikroorganizmaların varlığına dayanır (D'Incecco vd., 2018).

Bazı heterofermentatif laktik asit bakterileri örneğin *Levilactobacillus brevis* ve *Limosilactobacillus fermentum* fosfoketolaz yolu üzerinden laktik asit ve karbondioksit üretimi yaparak bu kusurun oluşumuna katkıda bulunabilmektedir (Wang vd., 2021). Benzer şekilde, *Propionibacterium* spp. gibi organizmalarda, L-aspartat-4-dekarboksilaz enzimi aracılığıyla aspartik asidin dekarboksilasyonu ile alanin ve CO<sub>2</sub> üreterek geç şişmeye neden olabilir (Fröhlich-Wyder ve Bachmann, 2007). Ayrıca, bu bakteriler laktozun tükenmesi sonrasında serbest amino asitleri dekarboksile ederek amin ve CO<sub>2</sub> üretimi ile yapısal bozulmaları tetikleyebilir (Velasco vd., 2025).

Bununla birlikte, geç şişme kusuru vakalarının büyük çoğunluğu, *Clostridium* cinsine ait bütirik asit bakterilerinin faaliyetleriyle ilişkilendirilmektedir. Özellikle *C. tyrobutyricum* ve *C. butyricum*, peynir ortamında laktatın metabolizması sonucu bütirik asit, asetik asit, CO<sub>2</sub> ve hidrojen gazı üreterek kusurun ortaya çıkmasında baskın roller üstlenmektedir

(O’Sullivan vd., 2013; Sheehan, 2022). Bu türler, ısıya dirençli sporlar oluşturdıkları için pastörizasyon işlemlerinden sağ çıkabilir ve uygun çevresel koşullar sağlandığında aktif hale geçerek metabolik faaliyetlerini sürdürebilir.

Geç şişme kusuruna karşı özellikle duyarlılık gösteren ürünlerden biri de salamurada olgunlaştırılan peynirlerdir. Çünkü tuzun peynirin iç fazına difüzyonu zaman aldığından, olgunlaşmanın ilk dönemlerinde *C. tyrobutyricum*’un gelişimi üzerinde yeterli inhibisyon sağlanamayabilir. Ayrıca bu tür, diğer butirik asit bakterileri türlerine kıyasla daha yüksek tuz konsantrasyonlarına toleranslı olmasıyla da öne çıkmaktadır (D’Incecco vd., 2018; Garde vd., 2011). Bu nedenle *C. tyrobutyricum*, literatürde geç şişmenin başlıca sorumlusu olarak sıklıkla rapor edilmektedir (Klijn vd., 1995; Qian vd., 2022).

Öte yandan, geç şişme kusuru ile ilişkili mikrobiyal çeşitlilik yalnızca bu türlerle sınırlı değildir. Nitekim literatürde *C. beijerinckii*, *C. sporogenes* ve yakın zamanda tanımlanmış olan yeni tür *C. jeddahense* gibi diğer sporojenik anaerob bakteriler de geç şişme kusuruna neden olabilecek etkenler arasında yer almaktadır (Le Bourhis vd., 2007; Morandi vd., 2021; Kaya vd., 2023) (Tablo 1).

**Tablo 1.** Geç şişme kusuruyla ilişkili başlıca mikroorganizmalar ve özellikleri

Mikroorganizma	Tür Grubu	Ana Metabolitler	Termal Dayanıklılık	Tuz Toleransı	Geç şişme kusurundaki Rolü
<i>C. tyrobutyricum</i>	Butirik Asit Bakterisi	Bütirik asit, H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , Asetik asit	Yüksek (sporlu)	Yüksek	En yaygın ve etkili geç şişme kusuru etkeni
<i>C. butyricum</i>	Butirik Asit Bakterisi	Bütirik asit, gaz	Yüksek (sporlu)	Orta	Geç şişme kusuruna katkı sağlayan ikincil tür
<i>C. sporogenes</i>	Bütirik Asit Bakterisi	Gaz, çeşitli organik asitler	Yüksek (sporlu)	Belirsiz	Literatürde nadiren rapor edilmiştir
<i>C. beijerinckii</i>	Butirik Asit Bakterisi	Gaz, organik asitler	Yüksek (sporlu)	Düşük	Bazı geç şişme kusuru vakalarında izole edilmiştir

Mikroorganizma	Tür Grubu	Ana Metabolitler	Termal Dayanıklılık	Tuz Toleransı	Geç şişme kusurundaki Rolü
<i>C. jeddahense</i>	Butirik Asit Bakterisi (yeni tür)	Bilinmiyor	Yüksek (sporlu)	Belirsiz	Yeni tanımlanan, potansiyel geç şişme kusuru etkeni
<i>L. brevis</i>	Heterofermentatif laktik asit bakterisi	Laktat, CO <sub>2</sub>	Düşük	Orta	İkincil gaz üretici
<i>L. fermentum</i>	Heterofermentatif laktik asit bakterisi	Laktat, CO <sub>2</sub>	Düşük	Orta	Yapısal yarıklara neden olabilir
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	Propiyonik Bakteri	Alanin, CO <sub>2</sub> (asp. dekarboksilasyonu)	Düşük	Orta	Özellikle Emmental türlerinde etkili

Geç şişme kusurunun görülme olasılığı, özellikle peynir mayasıyla pıhtılaştırılan ve yüzey tuzlamasıyla olgunlaştırılan peynir türlerinde yüksektir. Gouda ve Edam gibi yarı sert Hollanda peynirleri (Walstra vd., 1999), Manchego gibi İspanyol menşeli çeşitler (Garde vd., 2011) ile Gruyère, Emmental (Daly vd., 2010) ve Grana tipi sert İtalyan peynirleri (Gobbetti, 2004) Geç şişme kusuruna duyarlılığı yüksek örneklerdendir. Bu peynirlerde bütirik fermentasyon sürecinde, her 2 gram laktik asitten yaklaşık 1 gram bütirik asit ve 1000 mL gaz (CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub> karışımı) oluşmaktadır (Fröhlich-Wyder ve Bachmann, 2007). Gövdesi elastik ve düşük geçirgenliğe sahip peynirlerde bu gazlar hapsolür, zamanla genişler ve düzensiz gözler, çatlaklar ve yapısal yırtılmalara neden olur. Özellikle hidrojen gazının sulu fazda düşük çözünürlüğe sahip olması, bu genişlemeyi daha da şiddetlendirir (Daly vd., 2010). Buna ek olarak, fermentasyonun yan ürünleri olan bütirik ve asetik asitlerin birikimi, istenmeyen tat ve koku kusurlarının oluşumuna yol açar (Bergère ve Favreau, 1987; Fröhlich-Wyder ve Bachmann, 2007).

Sürülebilir peynirlerde ise hem laktat mevcudiyeti hem de düşük pH, *Clostridium* sporlarının çimlenmesini kolaylaştırmaktadır

(Bassi vd., 2009). Olgunlaşma süreci boyunca uygun çevresel koşullar (pH, oksidasyon-redüksiyon potansiyeli, su aktivitesi) oluştuğunda, sporlar vejetatif hücrelere dönüşerek çoğalabilir. Eğer peynirin su aktivitesi, bu bakteriler için inhibitör seviyenin altına düşmezse, birkaç hafta içinde geç şişme kusuru gelişimi kaçınılmaz hale gelir (McSweeney ve Fox, 2004). Bu noktada su aktivitesi değerleri kritik rol oynar; örneğin, *C. butyricum* ve *C. tyrobutyricum* için sırasıyla 0,96 ve 0,956'nın altı gelişimi engelleyici sınırlar olarak bildirilmiştir (Ghoddusi vd., 2013). Bu değerler, genellikle %35-37 nem ve %3-6 NaCl içeriği barındıran Gouda, Gruyère, Emmental, Cheddar, Appenzeller ve Manchego gibi yarı sert ve sert peynirlerde sıklıkla gözlemlenir (Guinee ve Fox, 2017; Marcos vd., 1981). Ancak dikkat edilmesi gereken husus, tuz difüzyonunun zaman almasıdır. Olgunlaşmanın ilk haftalarında su aktivitesi genellikle 0.96'nın üzerindedir ve bu durum *Clostridium* sporlarının çimlenmesi için fırsat yaratır.

Örneğin, İspanya'ya özgü sert peynirlerden Los Pedroches'de olgunlaşmanın ikinci gününde su aktivitesi değeri 0.979 iken, bu oran 7. günde 0.974'e, 22. günde 0.962'e ve 43. günde ise 0.953'e kadar düşmektedir (Sanjuán vd., 2002). Bu düşüş, bakteriyel gelişimi kısıtlamaya başlasa da, erken dönemdeki yüksek su aktivitesi seviyesi, geç şişme kusurunun başlaması için yeterlidir. Benzer şekilde, Gouda peynirinde %3 tuz konsantrasyonu (100 g peynirde ~1.95 g NaCl), *Clostridium* sporlarının çimlenmesini engelleyebilmektedir (Düsterhöft ve Van den Berg, 2007). Ancak bu tuz seviyesine genellikle üretimin 8. haftası civarında ulaşılır, bu da olgunlaşmanın erken dönemlerinde bakterilerin gelişimi için yeterli bir pencere bırakır.

Buna karşılık, Cheddar peyniri gibi tuzun doğrudan pıhtıya karıştırıldığı peynirlerde, tuz kütleyle daha homojen dağılır ve geç şişme kusuru insidansı belirgin şekilde daha düşüktür (McSweeney ve Fox, 2004). Ayrıca, Cheddar'ın nispeten daha düşük pH'sı da *Clostridium* gelişimini baskılayan ilave bir etkidir. Aynı avantaj, Edam, Emmental, Gruyère ve Parma gibi diğer sert peynir çeşitlerinde bulunmamaktadır (Velasco vd., 2025).

Geç şişme kusurunun oluşumuna etki eden bir diğer kritik üretim parametresi, pıhtının pişirilme sıcaklığıdır. Örneğin, Grana Padano üretiminde pıhtının 54 °C'ye

kadar ısıtılması, *C. tyrobutyricum*'un vejetatif hücrelerini öldürmede etkili olmuştur. Ancak spor formları *Clostridium*'lar bu sıcaklıklarda hayatta kalabilir. Dolayısıyla uygun çevresel koşullar sağlandığında bu sporlar sonradan çimlenebilir ve geç şişme kusuru ilerleyen dönemlerde yeniden ortaya çıkabilir (D'Incecco vd., 2018).

## PEYNİRDE BÜTİRİK ASİT BAKTERİLERİNİN EKOLOJİK ROLÜ VE GEÇ ŞİŞME KUSURUNDAKİ ETKİSİ

Bütirik asit bakterileri, *Clostridium* sensu stricto olarak adlandırılan ve *Clostridium* cinsinin revize edilen taksonomik sistematığında Grup I içerisinde yer alan büyük ve heterojen bir gruptur (Cruz-Morales vd., 2019). Bu grupta yer alan başlıca türler arasında *C. sporogenes*, *C. beijerinckii*, *C. butyricum* ve *C. tyrobutyricum* bulunmaktadır (Tablo 2). Literatürde, bu türlerin tamamı geç şişme kusurunun görüldüğü peynirlerden ya tek başına ya da birlikte izole edilmiştir (Bacci vd., 2002; Bassi vd., 2015; Cocolin vd., 2004; Garde vd., 2011; Le Bourhis vd., 2005).

Örneğin, Grana Padano peynirinde *C. butyricum*, olgunlaşmanın erken evrelerinde (laktozun halen mevcut olduğu ve pH'nın henüz düşmediği koşullarda) gelişmeye başlarken, daha asidik ortam koşullarına toleranslı olan *C. tyrobutyricum* ilerleyen dönemlerde çoğalmakta ve laktatı etkin şekilde metabolize etmektedir (Driehuis, 2013; Gobbetti ve Di Cagno, 2007).

Emmental peyniri üzerine yapılan çalışmalar, *C. tyrobutyricum*'un erken gelişiminin ortamda çimlenmeyi destekleyici bir mikroekolojik yapı oluşturduğunu ve bunun da *C. sporogenes* ile *C. beijerinckii*'nin çoğalmasını artırdığını göstermektedir (Le Bourhis vd., 2007). Ayrıca, bu iki türün oluşturduğu asetat ve bazı amino asitlerin *C. tyrobutyricum*'un gelişimini desteklediği belirtilmiştir (Bergère ve Hermier, 1970).

Butirik asit bakterilerinin gelişimi, sadece kendi aralarındaki etkileşimle değil, aynı zamanda diğer mikroorganizmalarla olan ekolojik ilişkiler yoluyla da şekillenmektedir. Örneğin, bazı LAB suşlarının (örneğin *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*) yoğun olduğu peynirlerde baskın kontaminant olarak *C. tyrobutyricum* öne çıkarken; *Lactobacillus delbrueckii*'nin yoğun olduğu örneklerde *C. butyricum* daha baskın tür olarak izlenmiştir (Bassi

vd., 2015). Benzer şekilde, *Streptococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Lactobacilli* ve *Propionibacterium* türleriyle birlikte kültüre edilen *Clostridium* türlerinin gaz üretimi ve asit metabolizması anlamlı şekilde artmaktadır (Gómez-Torres vd., 2014). Bu türler arası etkileşimler, peynirin mikroflorası içindeki dengeyi doğrudan etkileyerek hem geç şişme kusuru oluşumunun zamanlamasını hem de şiddetini belirlemektedir. Bu nedenle, geç şişme kusurunun önlenmesinde sadece butirik asit bakterilerinin varlığı değil, aynı zamanda mikrobiyal topluluğun tüm dinamiklerinin dikkate alınması gerekmektedir.

**Tablo 2.** Peynirde geç şişmeye neden olan başlıca *Clostridium* türlerinin olgunlaşma evrelerine göre gelişim zamanlaması

Peynir Olgunlaşma Evresi	Baskın Türler	Ortam Özellikleri
Erken Olgunlaşma (ilk 2-4 hafta)	<i>C. butyricum</i> , <i>C. sporogenes</i>	Laktoz mevcut, pH daha yüksek
Orta Olgunlaşma (4-8 hafta)	<i>C. tyrobutyricum</i>	pH düşer, laktat artar
Geç Olgunlaşma (>8 hafta)	<i>C. tyrobutyricum</i> + diğer Butirik asit bakteriler	Asetat/amino asit etkisi belirgin

## GEÇ ŞİŞME KUSURUNU KONTROL ETMEYE YÖNELİK YAKLAŞIMLAR

Son yıllarda yapılan araştırmalar, peynir üretimi amacıyla kullanılan süt tanklarında butirik asit bakterilerinin önemli ölçüde bulunduğunu ortaya koymuştur. Bu oran bazı çalışmalarda %50'nin üzerinde (Coulon vd., 1991; Turchi vd., 2016; Zucali vd., 2015), bazı örneklerde ise %100'e yakın seviyelerde bildirilmiştir (Feligini vd., 2014; Garde vd., 2011). Farklı memeli türlerinden elde edilen sütlerde tespit edilen tipik butirik asit bakterisi spor düzeylerini göstermektedir (Tablo 3).

**Tablo 3.** Farklı memeli türlerine ait çiğ süt tanklarında tespit edilen tipik butirik asit bakterisi butirik asit bakterilerinin spor düzeyleri

Süt Kaynağı	Bütirik asit bakterilerinin Spor Konsantrasyonu (log <sub>10</sub> spor/L)	Referanslar
İnek	1,79-3,63	Borreani vd., 2019; Brändle vd., 2018; Burtscher vd., 2023; Coulon vd., 1991; Su ve Ingham, 2000
Koyun	2,56-5,38	Klijin vd., 1995; Salmerón vd., 2002; Scintu vd., 2004; Shi vd., 2023; Zucali vd., 2015
Keçi	2,40-3,70	Arias vd., 2013

Söz konusu sporlar pastörizasyona karşı dirençlidir (Ingham vd., 1998) ve bu nedenle pıhtı ve peynire geçerek daha sonra çimlenebilir. Ayrıca, üretim sürecinde tekrar tekrar kullanılan salamura solüsyonları, butirik asit bakteri sporlarının birikimi ve yayılımı açısından ikincil bir bulaşma kaynağı olabilir (Su ve Ingham, 2000). Yıllar boyunca, süt içerisindeki clostridial spor seviyelerini belirlemek için çeşitli kültür tabanlı analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Ancak bu yöntemlerin çoğu zaman alıcı, hassasiyeti düşük ve sıklıkla deneyime dayalı sonuçlara bağlıdır (Brändle vd., 2016; Burtscher vd., 2020). Örneğin, *C. tyrobutyricum*'un yalnızca 1 spor/mL gibi düşük bir konsantrasyonda bile sert peynirlerde geç şişme kusurunun gelişimine yol açabileceği bildirilmiştir (Fryer ve Halligan, 1976). Bu nedenle, özellikle Gouda gibi hassas peynir türlerinde, 10 mL'de 1'den az *C. tyrobutyricum* sporu bulunması önerilmektedir (Klijin vd., 1995). Borreani vd. (2019) tarafından bildirilen spor yüküne dayalı geç şişme kusurunun risk sınıflandırması Tablo 4'te özetlenmiştir.

**Tablo 4.** Borreani vd. (2019)'a göre spor yüküne bağlı geç şişme kusuru risk seviyeleri

Spor Yükü (log MPN/L)	Geç şişme kusurunun Risk Seviyesi
< 2,3	Düşük risk
2,3-3,0	Orta risk
≥ 3,0	Yüksek risk

Ancak, Carminati vd. (2023), süt tanklarında <2,3 log MPN/L seviyesindeki butirik asit bakteri sporlarının Grana Padano ve benzeri sert peynirlerde geç şişme kusurunun gelişimini önleyebileceğini bildirmiştir. Ne var ki bu seviyeler, özellikle yaz aylarında üretilen sütlerde yaygın olarak görülen tipik butirik asit bakteri yüklerinin altında kalmaktadır (Garde vd., 2011). Buna ek olarak, geç şişme kusurunun gelişiminde yalnızca spor yoğunluğu değil, aynı zamanda ortamda bulunan *C. tyrobutyricum* suşunun biyolojik özellikleri de etkili olmaktadır (Podrzaj vd., 2020).

Geç şişme kusuru oluşumunu önlemeye yönelik önlemler genel olarak üç temel strateji altında sınıflandırılabilir:

- 1. Çiftlik Kaynaklı Kontaminasyonun Azaltılması:** Çiğ sütle spor oluşumunu ve bulaşmayı önlemeye yönelik hijyenik sağım uygulamaları, yem kalitesi kontrolü ve tank temizliği gibi önlemleri içerir.
- 2. Fiziksel Arıtım Yöntemleri:** Mikrofiltrasyon, santrifüjleme veya baktöfugasyon gibi teknolojilerle çiğ süttten sporların uzaklaştırılması hedeflenir.
- 3. Sporostatik/Sporisidal Uygulamalar:** Laktat bakterileri, nitrat/nitrit, lizozim veya bakteriyofajlar gibi doğal ya da işlenmiş antimikrobiyal ajanlarla butirik asit bakteri sporlarının çimlenmesi ve çoğalması engellenmeye çalışılır (Velasco vd., 2025).

## ÇİFTLİK DÜZEYİNDE SÜT KONTAMİNASYONUNU ÖNLEMeye YÖNELİK ÖNLEMLER

*Clostridium* türleri, toprak mikrobiyotasının doğal bir parçasıdır ve bu nedenle hayvan yemlerine sıklıkla bulaşabilmektedir. Ruminantlar bu yemleri tükettiklerinde, dışkılarında bulunan spor konsantrasyonu, alınan spor miktarına göre yaklaşık 3 ila 10 kat daha yüksektir. (Stadhouders ve Jørgensen, 1990). Bu sporlar, doğrudan dışkıdan meme başına veya yataklık materyali aracılığıyla taşınarak sağım sırasında süttün kontaminasyonuna neden olabilir (Burtscher vd., 2023; Heyndrickx, 2011).

Sağım öncesi meme başı hijyeninin bu kontaminasyon düzeyini düşürebileceği gösterilmiştir. Burtscher, J. vd. (2023) çalışmasında, rutin meme başı temizliği ile sütteki butirik asit bakterisi sporlarının

ortalama 0,6 log birim (%76,2 azalma) oranında azaldığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada, süttün butirik asit bakteri kontaminasyonu ile ineklerin genel hijyen durumu arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Bu durum, kaba hijyen göstergelerinin sütteki klostridial spor düzeylerinin tahmininde kullanılabileceğini göstermektedir.

Fransa ve ABD’de, sütteki butirik asit bakteri miktarı peynir üretimine uygunluğun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Örneğin, Fransa’da inek süttünde  $10^3$  spor/L düzeyinin (Demarquilly, 2020; Vissers vd., 2007) ve koyun-keçisütlelerinde  $1,3 \times 10^3$  spor/L seviyesinin aşılması durumunda üreticilere ekonomik yaptırımlar uygulanmaktadır (Pirisi vd., 2007). ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ise peynir üretiminde kullanılacak A sınıfı süt için bu eşiği  $<10^4$  kob/mL olarak belirlemiştir (Alvenas, 2015; FDA, 2024).

Sporların başlıca taşıyıcısı dışkı olduğundan, ruminantların tükettiği yem doğrudan süttün mikrobiyal kalitesini etkileyebilmektedir. Bu bağlamda, silaj özellikle riskli bir kontaminasyon kaynağı olarak öne çıkmaktadır. Sütteki spor yoğunluğunun, hayvanın tükettiği silaj oranıyla doğru orantılı olduğu belirtilmiştir (Coulon vd., 1991). Bu nedenle, Emmental, Gruyère ve Parmigiano Reggiano gibi bazı geleneksel peynir çeşitlerinin üretiminde silajla beslenen ineklerden elde edilen sütlerin kullanımı yasaklanmıştır (Demarquilly, 2020; Di Cagno vd., 2001). Silaj kaynaklı kontaminasyonu azaltmak için önerilen başlıca yöntemler şunlardır:

- **Silaj fermantasyonunun hızlandırılması:** Yüksek karbonhidrat içeriğine sahip bitkisel materyal (ör. mısır) seçilerek fermantasyon süresi kısaltılabilir (Driehuis ve Elferink, 2000).
- **Kuru madde oranının artırılması:** Su aktivitesi düşürerek butirik asit bakteri sporlarının çoğalması engellenebilir (Wieringa, 1958).
- **Nitrat bazlı önleme:** Nitratın nitrit ve nitrik oksite dönüşümü, anaerobik ortamda spor çimlenmesini engelleyebilir (Van den Berg vd., 2004).
- **Laktik asit bakterileri ile biyolojik kontrol:** Özellikle aktif starter kültürlerin kullanımı, *Clostridium* türlerine karşı antogonistik etki oluşturabilir (Gómez-Torres vd., 2014; Martínez-Cuesta vd., 2010).

## FİZİKSEL YÖNTEMLERLE ÇİĞ SÜTTEN BÜTİRİK ASİT BAKTERİSİ SPORLARININ UZAKLAŞTIRILMASI

Guaita vd. (2024), Kuzey İtalya'daki çığ inek sütlerinde, geç şişme kusuruna yol açabilecek spor oluşturan Clostridia türlerinin prevalansını ve son 20 yıldaki eğilimlerini incelemişlerdir. Önceki araştırmalar, yüksek sıcaklık kısa süre pastörizasyonun (72 °C, 15 saniye) tüm sporları elimine edemeyeceğini göstermektedir (Ingham vd., 1998; Sheehan, 2022).

Geç şişme kusuruna neden olan Clostridium sporları tamamen ısıya dirençli olmasa da, yaygın olarak uygulanan pastörizasyon yöntemleri çoğu sporu yok etmekte yetersiz kalmaktadır (Velasco vd., 2025). Bu nedenle daha etkili termal yaklaşımlar geliştirilmiştir. Teorik olarak, orijinal spor yükünde 4-5 log azalma sağlamak için 115 °C'de 10 saniyelik flash bir ısıl işlem yeterli olabilir. Ancak bu işlem, süt bileşenlerinde belirgin değişikliklere yol açmaktadır.

Özellikle peynir altı suyu proteinlerinden  $\alpha$ -laktalbumin ( $\alpha$ -La) ve  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -Lg)'in denatürasyonu, yüksek sıcaklık uygulamalarıyla artar.

Açığa çıkan sülfidril grupları ve hidrofobik bölgeler, protein-protein etkileşimlerini tetikleyerek aşağıdaki agregatların oluşmasına neden olur:

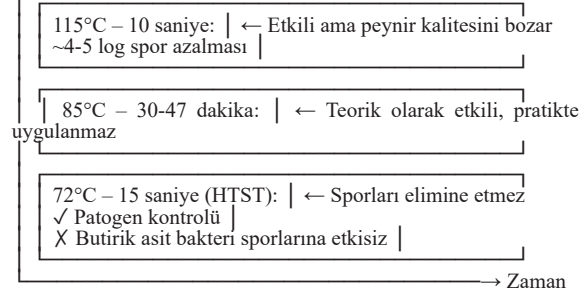
- $\beta$ -Lg- $\beta$ -Lg
- $\beta$ -Lg- $\alpha$ -La
- $\beta$ -Lg- $\kappa$ -kazein
- $\beta$ -Lg- $\alpha$ -La- $\kappa$ -kazein

Bu agregatlar, süt pıhtılaşmasını ve kazein mikellerinin çökmesini olumsuz etkileyerek peynir verimi ve kalitesini düşürür (Goulding vd., 2019; Wijayanti vd., 2014). Bu nedenle, yüksek sıcaklık uygulamaları pratikte sınırlı kullanılmaktadır.

Isıl işlem sınırlılıkları göz önüne alındığında, fiziksel yöntemler spor yükünü azaltmada umut verici bir strateji olarak öne çıkmaktadır.

Wente vd. (2024), santrifüj ve benzeri fiziksel ayırma yöntemlerinin sütün teknolojik özelliklerini koruyarak spore yükünü azaltabileceğini göstermiştir. Benzer şekilde mikrofiltrasyon ve baktöfugasyon da bu amaçla kullanılabilir yöntemler arasında yer almaktadır. Aşağıdaki alt başlıkta, bu fiziksel yöntemler ayrıntılı olarak incelenecektir.

Sıcaklık ↑



→ Zaman  
Yüksek sıcaklık, peynir altı suyu proteinlerini denatüre eder →  
Pıhtı oluşumu bozulur

## BAKTOFÜGASYON

Baktöfugasyon, yaklaşık 10.000 g'lık santrifüj kuvveti uygulanarak süttten sporların uzaklaştırılmasını sağlayan fiziksel bir işlemdir. Bu yöntem, ilk olarak 1950'li yılların başında Simonart ve De Beer tarafından geliştirilmiş olup (Simonart ve De Beer, 1953), başlangıçta içme sütlerinin raf ömrünü artırmak amacıyla uygulanmış, ancak esas kullanım alanını peynir endüstrisinde bulmuştur (Klantschitsch, 1999).

Baktöfugasyonun etkinliği, süt ile Clostridium sporları arasındaki özgül yoğunluk farkına dayanmaktadır. Sütün yoğunluğu 1,028-1,038 g/mL arasında değişirken, sporların yoğunluğu 1,30-1,32 g/mL düzeyindedir (Gésan-Guiziu, 2010). Bu yoğunluk farkı sayesinde sporlar, santrifüjleme sırasında ayrılan çamur fazında toplanmakta ve ortamdan uzaklaştırılmaktadır. Bu işlem sonucunda spor yükünde %80-90 azalma sağlanabileceği belirtilmiştir (Lembke ve Teuber, 1981); bazı çalışmalarda bu oran %86-98'e kadar çıkmakta ve yaklaşık 0.85 ile 1.7 log bir azalmaya karşılık gelmektedir (Waes ve Heddeghem, 1990).

Ancak, baktöfugasyon sonrası ortamda az sayıda da olsa canlı kalabilen sporların bulunması, özellikle olgunlaşma koşulları spor gelişimi için elverişliyse, geç şişme kusurunun tamamen önlenmesini engelleyebilir (Bylund, 2003). Bu nedenle, çift baktöfugasyon gibi daha ileri uygulamalarla spor konsantrasyonunda %99'a varan azalmalar elde edilebilir; ancak bu yöntem daha yüksek yatırım ve operasyon maliyeti gerektirir (Gésan-Guiziu, 2010).

Baktöfugasyon sırasında bazı süt proteinleri özellikle kazein fraksiyonları çamur fazında tutulabilir ve bu durum peynir verimini olumsuz etkileyebilir (Bylund, 2003). Ancak bu kaybın önüne geçmek adına, çamur fazı UHT işlemi (örneğin 130 °C'de 2-4 saniye) ile işlenip baktöfugasyondan

geçirilmiş süte yeniden eklenebilir (Brändle vd., 2016; Guinee ve O'Callaghan, 2010).

Uygulamanın başarısı yalnızca kullanılan teknolojiye değil, aynı zamanda süte ait başlangıç spor yüküne ve peynirin olgunlaşma sıcaklığına da bağlıdır. Örneğin, klostridial spor konsantrasyonunun 6 spor/mL'nin altında olduğu durumlarda, 100 litre baktofugasyon uygulanmış süte 2.5 g potasyum nitrat (KNO<sub>3</sub>) ilavesi ile kombine bir strateji etkili olabilir (Waes ve Heddeghem, 1990). Ancak geç şişme kusuru riskinin minimal olması için süt spor seviyesinin ideal olarak <0.05 spor/mL olması önerilmektedir (Qian vd., 2022). Bu hedef, Grana, Gruyère ve Emmental gibi uzun olgunlaşma süresi gerektiren peynir türlerinde, baktofugasyonla 0.02-0.04 spor/mL düzeyine kadar düşürülebilen spor yükü sayesinde gerçekleştirilebilir (Waes ve Heddeghem, 1990).

## MİKROFİLTRASYON

Çapraz akışlı mikrofiltrasyon, 37 °C-50 °C sıcaklık aralığında ve 0,05-0,2 MPa basınç altında, gözenek çapı 0,2-1,4 µm arasında değişen membranlar aracılığıyla sıvının teğetsel yönde akışını esas alır (Bargeman, 2003; Sheehan, 2022). Bu membranlar, süzülmeğe olan sıvıdan büyük partiküllerin geçişini engelleyerek sporların tutulmasını sağlar. Özellikle 1,4 µm'lik membranlar, *Clostridium* sporlarının (yaklaşık 1,5-3,0 µm) tutulmasında etkilidir ve bu sayede sporlar retentat kısmında yoğunlaşır (Piot vd., 1987). Nitekim, *C. tyrobutyricum* sporlarının %97,00-%99,98 oranında uzaklaştırılabildiği bildirilmiştir (Klantschitsch, 1999).

Ancak mikrofiltrasyonun temel sınırlılığı, uygulamanın esasen yağsız sütle kısıtlı olmasıdır; çünkü çapları 2–10 µm arasında değişen süt yağı kürecikleri de membran tarafından tutulmaktadır (Brändle vd., 2016). Bu durum, yöntemin tam yağlı sütlere doğrudan uygulanabilirliğini önemli ölçüde sınırlandırmaktadır. Bu kısıtın aşılmasına yönelik önerilen yaklaşımlardan biri, mikrofiltrasyon öncesinde süte çift aşamalı homojenizasyon uygulanarak yağ küreciklerinin çapının 1–2 µm'nin altına düşürülmesidir (Leconte vd., 2014). Alternatif bir strateji olarak ise, sporlar ile yağ fazını birlikte içeren retentatın yüksek sıcaklıkta (örneğin 115 °C'de 5–6 saniye) işleme tabi tutulmasının ardından permeat ile yeniden birleştirilmesi önerilmektedir (Klantschitsch, 1999).

## PEYNİRDE BUTİRİK ASİT BAKTERİ BÜYÜMESİNİ ÖNLEMENİN İÇİN SPORESTATİK/SPORİSİDAL EYLEMLER

Geç şişme kusuruna neden olan *Clostridium* spp. sporlarının çimlenmesini veya vejetatif hücrelerinin büyümesini engellemek amacıyla, peynir üretimi sürecinde çeşitli sporestatik veya sporisidal uygulamalar devreye alınabilmektedir. Bu yaklaşımlar, yalnızca süt bazlı stratejilerle sınırlı kalmayıp, işleme aşamasında doğrudan hedef mikroorganizmalara yönelik müdahaleleri de kapsar.

Peynirde *Clostridium* sporlarının kontrolü için en yaygın kullanılan kimyasal maddelerden bazıları nitratlar ve lizozimdir (Tablo 5). Nitratlar, özellikle Emmental ve benzeri gözlü peynir türlerinde, *C. tyrobutyricum* sporlarının çimlenmesini engelleyici etkisiyle uzun yıllardır kullanılmaktadır. Ancak nitratların yüksek dozda kullanımı sağlık açısından endişe yaratabileceğinden, Avrupa Birliği başta olmak üzere birçok ülkede kullanım miktarları yasal sınırlar içerisinde tutulmaktadır.

Lizozim, doğal olarak birçok canlıda bulunan bir enzimdir; özellikle tavuk yumurtası beyazında yüksek miktarda (albümenin yaklaşık %3-5'i kadar) bulunması nedeniyle endüstriyel üretimde ana kaynak olarak kullanılır. Bununla birlikte lizozim, gözyaşı, tükürük, süt ve mukus gibi biyolojik sıvılar ile bazı hayvansal, bitkisel ve mikrobiyal örneklerde de tespit edilmiştir. Bu enzim, gram-pozitif bakterilerin hücre duvarındaki peptidoglikan bağlarını keserek güçlü bir antimikrobiyal etki gösterir ve özellikle termofilik kültürlerle birlikte kullanıldığında peynir gibi fermente ürünlerde geç şişmeyi baskılamada etkili olabilmektedir (Khorshidian vd., 2022). Bunların dışında, gıda endüstrisinde giderek artan şekilde doğal antimikrobiyaller ve koruyucu kültürler üzerine odaklanılmıştır. Antagonistik mikroorganizmalar, yani *Clostridium* türlerine karşı inhibitör etki gösteren laktik asit bakterileri, bu kapsamda dikkat çeken biyolojik çözümlerden biridir. *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* gibi türler, üretim sırasında asitlik düşüşü ve bakteriyosin üretimi gibi mekanizmalarla *Clostridium* spp. gelişimini baskılayabilir (Darbandi vd., 2022).

Ayrıca bazı çalışmalarda, aromatik bitkiler ve uçucu bileşenler içeren ekstraktların *Clostridium* spp. üzerine

inhibitör etkileri test edilmiştir. Kekik, adaçayı ve defne gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağlar, hem antimikrobiyal etkileri hem de doğal kaynaklı olmaları nedeniyle potansiyel koruyucu ajanlar arasında gösterilmektedir (Librán vd., 2013).

**Tablo 5.** Peynirde *Clostridium* spp. sporlarının kontrolünde kullanılan başlıca maddeler ve etki mekanizmaları

Uygulama	Etken Madde	Etki Mekanizması	Kullanım Notu
Kimyasal	Sodyum/ Potasyum Nitrat	Spor çimlenmesini engeller	Avrupa Birliği mevzuatı kapsamında kullanım miktarı sınırlanmıştır.
Enzimatik	Lizozim	Hücre duvarını parçalayarak bakteriyi inaktive eder	Yumurtadan elde edilir
Biyolojik	Laktik Asit Bakterileri	Rekabet ve bakteriyosin üretimiyle baskılar	Koruyucu kültür olarak kullanılır
Doğal Antimikrobiyal	Kekik, Adaçayı vb. uçucu yağlar	Zararlı mikroorganizmaları inhibe eder	Aromatik bileşenlerin etkisi çalışılmakta

## NİTRATLAR

Nitratlar, kolay uygulanabilirliği, maliyet etkinliği ve mikrobiyolojik etkinliği nedeniyle, peynir üretiminde geç şişme kusuruna yol açan *Clostridium* türlerine karşı uzun yıllardır tercih edilen başlıca antimikrobiyal ajanlardan biridir (Klantschitsch, 1999). Avrupa Birliği'nde, süt başına 150 mg nitrat dozunun eklenmesine izin verilmiş olup [Regulation (EU) No. 1129/2011], bu dozun  $10^4$  kob/g düzeyindeki *Clostridium* sporlarının çimlenmesini engellemek için yeterli olduğu rapor edilmiştir (Düsterhöft ve Van den Berg, 2007).

Ancak, bazı ülkelerde nitrat kullanımı yasal olarak onaylanmamıştır. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri, İsviçre ve Yunanistan gibi ülkelerde, güvenlik ve kalite

açısından getirilen kısıtlamalar nedeniyle bu yaklaşım uygulanamamaktadır. Ayrıca, İsviçre tipi peynirlerde yaygın olarak kullanılan propiyonik asit bakterilerinin nitrit varlığında gelişimi inhibe olduğundan, bu bakterilerin göz oluşumundaki kritik rolü nedeniyle nitrat kullanımı bu tür peynirlerde önerilmemektedir (Beresford vd., 2001).

Olgunlaşma süreci boyunca, laktobasiller ve yüzey mikroflorası gibi doğal mikroorganizmalar ile süt yağ globülleri zarındaki ksantin oksidaz enzimi, nitratı nitrite indirger (Ávila vd., 2014; Brändle vd., 2016). Oluşan nitrit, *Clostridium* sporlarının çimlenmesini engelleyen aktif bir inhibitör olarak görev yapar. Bununla birlikte, bu dönüşüm sonrası oluşan nitritin bir kısmı salamura esnasında yıkanarak uzaklaştırılabilir ya da gaz fazına geçerek buharlaşabilir (Van den Berg vd., 2004). Bu nedenle, spor çimlenmesi tamamen engellenemese de, özellikle hamurdaki tuz konsantrasyonu homojenleşene kadar belirgin şekilde geciktirilmiş olur (Klantschitsch, 1999; Oliveira vd., 2016).

Nitrat kullanımına ilişkin bir diğer önemli tartışma ise, olası nitrozamin oluşumudur. Nitrozaminler, bazı koşullarda (özellikle düşük pH ve yüksek sıcaklıkta) nitritin sekonder aminlerle reaksiyona girmesi sonucu oluşabilen potansiyel karsinojenlerdir. Ancak, tipik peynir üretim koşullarında bu reaksiyonların gerçekleşmesi için gerekli pH aralığı sağlanmadığından, riskin düşük olduğu bildirilmiştir (Brändle vd., 2016). Nitekim, Hollanda peynirleri üzerine yapılan analizler, oluşabilecek nitrozamin düzeylerinin tespit edilemeyecek kadar düşük olduğunu göstermiştir (Beresford vd., 2001). Her şeye rağmen, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), potansiyel sağlık risklerini en aza indirmek amacıyla, gıda katkı maddesi olarak nitrat ve nitrit kullanımının mümkün olduğunca sınırlandırılmasını önermektedir (Beresford vd., 2001; Brändle vd., 2016).

## LİZOZİM

Lizozim, Gram pozitif bakterilerin hücre duvarındaki peptidoglikan tabakasını hedef alarak antimikrobiyal etki gösteren bir enzimdir. Bu etki, özellikle N-asetilmuramik asit ile N-asetilglukozamin arasında yer alan  $\beta$ -1,4-glikozidik bağların hidrolizi yoluyla gerçekleşir (Zhang vd., 2014). Peynir teknolojisinde, *Clostridium* türlerinin inhibisyonu amacıyla kullanımı, olgunlaştırılmış peynir üretimi için Avrupa

Birliği tarafından 25 mg/L (yaklaşık 500 birim/mL süt) dozunda izin verilmiştir [Regulation (EU) No. 1129/2011].

Lizozim uygulaması, laktik asit bakterileri gibi starter kültürlerin de Gram pozitif karakterde olması nedeniyle dikkatli bir denge gerektirir. Klantschitsch (1999), lizozimin starter kültür üzerindeki etkisinin, kullanılan LAB türüne ve lizozim konsantrasyonuna bağlı olduğunu bildirmiştir. Ancak, 20 mg/L düzeyinde uygulamanın, Grana Padano gibi olgunlaştırılmış peynirlerde başlıca LAB türlerinin teknolojik işlevselliğini olumsuz etkilemediği belirlenmiştir (D'Incecco vd., 2016).

Lizozimin etkinliğinin büyük bölümü (%90'a kadar) laktik fermantasyon sırasında korunur (Brändle vd., 2016). Bu nedenle, lizozim uygulaması yalnızca çiğ süte ait klostridial spor yükünün düşük olduğu (<500 spor/L) durumlarda geç şişmenin önlenmesinde etkili kabul edilmektedir. Spor yükünün daha yüksek olduğu koşullarda, daha fazla lizozim dozu gerekebilir; bu ise starter kültürlerin inhibisyonuna yol açarak fermantasyon kalitesini tehlikeye atabilir (Sheehan, 2022).

Ek olarak, *Clostridium* türlerinin lizozime olan duyarlılığı türler arasında farklılık göstermektedir. Özellikle geç şişme kusuruna oluşumuna katkıda bulunan *C. tyrobutyricum*, *C. sporogenes* ve *C. butyricum* gibi türlerin lizozime yanıtları birbirinden farklıdır (Ávila vd., 2014; Bassi vd., 2015; Wasserfall ve Teuber, 1979). Bu durum, lizozim uygulamasının etki düzeyinin peynir mikrobiyotasının türsel bileşimine göre değişebileceğini göstermektedir.

Sağlık açısından değerlendirildiğinde, lizozim genellikle yumurta beyazından izole edilmektedir (Silvetti vd., 2017). Bu nedenle, alerjen özelliğe sahiptir ve özellikle yumurta alerjisi bulunan bireyler için potansiyel bir risk oluşturur (EFSA, 2014). Avrupa Birliği mevzuatına göre (Regulation (EU) No. 1169/2011), bu katkı maddesinin varlığı ürün etiketinde açıkça belirtilmelidir.

## MİKROBİYAL KÜLTÜRLER

Mikroorganizmaların büyümesi yalnızca çevresel koşullara değil, aynı zamanda ortamdaki diğer mikroorganizmalarla olan rekabete de bağlıdır. Bu bağlamda, *Clostridium* spp.'nin gelişimini baskılayan veya spor çimlenmesini engelleyen antagonistik mikroorganizmaların kullanımı, geç şişme

kusurunu kontrol altına almak için umut vadeden bir biyolojik strateji olarak öne çıkmaktadır. Bu tür kültürlerin antimikrobiyal etkisi büyük ölçüde bakteriyosin üretimine atfedilmektedir.

Bakteriyosinler, genellikle Gıda için Genel Olarak Güvenli (GRAS) kabul edilen laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen ribozomal kökenli antimikrobiyal peptitlerdir (Silva vd., 2018). Bu moleküller, gastrointestinal sistemdeki enzimler tarafından kolayca parçalanabildikleri için güvenli kabul edilirler. Etki mekanizmaları çeşitlilik göstermekle birlikte, genellikle hücre zarında gözenek oluşturma (Egan vd., 2016) veya peptidoglikan sentezinin inhibisyonu (Breukink ve de Kruijff, 2006) gibi yollarla hedef bakterilere zarar verirler. Ayrıca bazı bakteriyosinlerin gen ekspresyonunu (Parks vd., 2007; Vincent ve Morero, 2009) ve protein sentezini (Metlitskaya vd., 2006) inhibe ettiği gösterilmiştir. Örneğin, nisin, spor formundaki hücrelerde bulunan protein sülfidril gruplarına bağlanarak sporestatik etki gösterebilir (Chen ve Hoover, 2003).

Düzenleyici açıdan bakıldığında, nisin, gıdalarda koruyucu olarak kullanımı yetkilendirilmiş tek bakteriyosindir. Avrupa Birliği düzenlemelerine göre (Regulation (EU) No. 1129/2011), olgunlaştırılmış ve işlenmiş peynirlerde maksimum 12,5 mg/kg düzeyinde kullanımına izin verilmiştir. Diğer bakteriyosinler için doğrudan kullanım izni bulunmamaktadır. Bu nedenle, bakteriyosin üreten LAB'lerin doğrudan üretici kültür olarak süte eklenmesiyle, bu antimikrobiyallerin peynir matrisine endojen olarak salınması önerilmektedir (Chen ve Hoover, 2003).

*Clostridium* sporlarının çimlenmesini engelleme potansiyeli gösteren pek çok bakteriyosin üreten laktik asit bakteri türü bildirilmiştir. Örneğin:

- *Streptococcus macedonicus* (Anastasiou vd., 2009),
- *Lactiplantibacillus plantarum* (González ve Zárata, 2015),
- *Limosilactobacillus reuteri* (Gómez-Torres vd., 2014),
- *Lactobacillus gasseri* (Bogovič Matijašić vd., 2007),
- *Streptococcus thermophilus* (Mathot vd., 2003),

gibi mikroorganizmaların geç şişme kusurunda rol oynayan *Clostridium* spp.'ye karşı antibakteriyel etkileri rapor edilmiştir (Ávila vd., 2020; Hassan vd., 2021).

Bunun yanı sıra bazı maya türlerinin de (*Debaryomyces hansenii* gibi) *C. butyricum* ve *C. tyrobutyricum*'a karşı antagonistik etkiler gösterebildiği gözlemlenmiştir. Bu etkinin muhtemelen organik asitlere (ör. laktat ve asetat) yönelik substrat rekabetinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Deiana vd., 1984).

Ancak, nisin üreten birçok LAB suşu, düşük asit üretimi ve sınırlı proteolitik aktivite nedeniyle teknolojik olarak yetersiz olabilir. Bu da, nisine dirençli veya nötralize etmeyen bir starter kültürle kombinasyon gerekliliğini doğurur (Brändle vd., 2016). Bu nedenle, kültür seçimi yapılırken hem teknolojik performans hem de antimikrobiyal etkinlik göz önünde bulundurulmalıdır.

## LİTİK BAKTERİYOFAJLAR

Litik bakteriyofajlar, özgül bakteriyel konakçılara saldırarak hücre lizisine neden olan virüslerdir ve bu özellikleri sayesinde gıda endüstrisinde biyokontrol ajanı olarak kullanım potansiyeli taşımaktadır. Gıda bozulmalarını ve patojenik mikroorganizmaları önlemeye yönelik doğal, hedefe yönelik ve kalıntı bırakmayan çözümler sunmaları nedeniyle son yıllarda dikkat çekmektedirler (Ramos-Vivas vd., 2021; Vikram vd., 2021).

Süte faj ilavesiyle yapılan çalışmalar daha çok *Salmonella enteritidis* (Modi vd., 2001), *Staphylococcus aureus* (El Haddad vd., 2016), *Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis* (del Rio vd., 2019) gibi spor oluşturmeyen bakterilerle sınırlı kalmıştır. Ancak *C. tyrobutyricum* gibi sporlu bakteriler üzerinde faj kullanımına dair veriler oldukça yenidir. Son dönemlerde yapılan araştırmalarda, süttten izole edilen litik fajların geç şişme kusurunun önlenmesine katkı sağladığı raporlanmıştır (Ávila vd., 2023).

Özellikle *C. tyrobutyricum* sporlarına karşı izole edilen FA67 adlı faj suşunun yarı sert peynir üretimi sürecinde kullanımı incelenmiş ve 60 günlük olgunlaşma süresince fajların yüksek stabilite gösterdiği tespit edilmiştir. Deneysel çalışmalar, FA67'nin 14. gün itibarıyla klostridial vejetatif hücre yoğunluğunda anlamlı bir azalma sağladığını, laktik asit tüketimini ve bütirik asit oluşumunu yavaşlattığını ve geç şişme kusurunun ortaya çıkışını kontrol gruplarına göre yaklaşık 2 hafta geciktirdiğini göstermiştir (Ávila vd., 2023). Faj uygulamasının peynirin laktokok popülasyonunu, pH değerini, kuru

madde içeriğini ve uçucu bileşik profilini etkilemediği bildirilmiştir (Ávila vd., 2023). Bu teknoloji;

- yüksek konakçı özgüllüğü,
- duyuşsal özelliklere etkisizliği,
- ekipman hasarına yol açmaması,
- doğal kaynaklardan elde edilebilirliği

ve düşük maliyeti gibi avantajlarıyla ön plana çıkmaktadır (Ramos-Vivas vd., 2021; D'Amico, 2014). Ayrıca fajların, insanlar tarafından gıdalar ve su yoluyla farkında olmadan yaygın olarak tüketilmesi ve patojenite taşımamaları, güvenlik açısından kabul edilebilir bir profil çizmelerini sağlamaktadır (D'Amico, 2014).

Ancak, litik fajların *Clostridium* sporları üzerindeki doğrudan etkilerinden ziyade, çoğunlukla vejetatif hücre formu üzerinden etkili olmaları ve olgunlaşma döneminde sporların çimlenmesine bağlı olarak gecikmeli etki göstermeleri, uygulama zamanlaması ve kombinasyon stratejilerini (örneğin lizozim veya kültür takviyesi ile birlikte) daha önemli hale getirmektedir. Dolayısıyla, ticari uygulamaya geçiş öncesinde üretim prosesine uygun faj seçimi, dozaj optimizasyonu ve stabilite analizlerinin dikkatle değerlendirilmesi gerekmektedir.

## CLOSTRIDIUM SPP'Yİ ORTADAN KALDIRMAK İÇİN FİZİKSEL TEKNOLOJİLER

### Yüksek Hidrostatik Basınç

Yüksek hidrostatik basınç, gıdalarda mikrobiyal yükü azaltmak veya ortadan kaldırmak amacıyla uygulanan, termal olmayan bir koruyucu teknolojidir. Bu yöntem, 200 ila 600 MPa arasında değişen izostatik basınçların gıdaya eşit ve anlık olarak iletilmesi prensibine dayanır (Mota vd., 2013; Wang vd., 2016). Özellikle ısı işlem uygulanamayan veya duyuşsal özelliklerinin korunması istenen hazır tüketime yönelik (RTE) ürünlerde, ambalajlama sonrası pastörizasyon amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır (Georget vd., 2015).

Literatürde, yüksek hidrostatik basıncının *Listeria monocytogenes* gibi patojenlerin eliminasyonunda; soğuk tütülenmiş somon (Gudbjornsdottir vd., 2010), pişmiş jambon (Myers vd., 2013), kuru kürlenmiş et ürünleri (Rubio vd., 2007) ve çeşitli peynir türlerinde (Carminati vd., 2004; Shao vd., 2007) başarılı sonuçlar verdiği belgelenmiştir. Peynir bağlamında ise yüksek hidrostatik basınç uygulamaları,

yalnızca mikrobiyal güvenliği sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda proteoliz hızını artırarak olgunlaşma süresini kısaltma potansiyeliyle de değerlendirilmektedir (O'Reilly vd., 2003).

*Clostridium* spp. sporları üzerinde yüksek hidrostatik basıncının doğrudan sporisidal etkisi sınırlı olmakla birlikte, iki aşamalı yüksek hidrostatik basınç stratejileri umut verici sonuçlar sunmaktadır. İlk uygulama sporların çimlenmesini teşvik ederken, ikinci uygulama bu çimlenmiş vejetatif hücreleri inaktive etmeyi hedeflemektedir (Georget vd., 2015). Örneğin, Ávila vd. (2016), 14 °C'de 300-500 MPa basınç altında 10 dakika süresince uygulanan tek bir yüksek hidrostatik basınç döngüsünün, olgunlaşmanın 7. gününde yarı sert koyun peyniri üzerinde uygulandığında, *C. tyrobutyricum* kaynaklı bütirik fermentasyonu engelleyebildiğini göstermiştir. Bu etkiler, doğrudan spor inaktivasyonuna değil, sporların çimlenmesinin ardından oluşan vejetatif hücrelerin öldürülmesine bağlanmıştır.

Yüksek hidrostatik basınç uygulanması yalnızca hedef mikroorganizmaları değil, starter ve yardımcı kültürler olan LAB popülasyonlarını da etkileyebilir. 500 MPa seviyesinde yapılan uygulamalarda, mezofilik LAB yükünde 2 ila 4 log düzeyinde azalma gözlemlenmiştir (Samelis vd., 2005; Munir ve Federighi, 2020). Bununla birlikte, hayatta kalan LAB'lerin zamanla yeniden çoğaldığı ve mikrobiyal dengeyi yeniden kurabildiği de raporlanmıştır (Velasco vd., 2011).

Endüstriyel ölçekte değerlendirildiğinde, yüksek hidrostatik basınç uygulaması ekipman maliyetleri ve işlem kapasitesi açısından değişkenlik göstermektedir. Yeni nesil yüksek hidrostatik basınç sistemleri, örneğin 420 L kapasiteli bir reaktör kullanılarak 2000 kg/saat'ten fazla ürün işleme kapasitesine ulaşmakta ve işlem maliyeti yaklaşık 0,066 €/kg olarak bildirilmektedir (Jung ve Tonello-Samson, 2018). Hiperbaric marka ekipmanlarla yapılan uygulamalarda, çelik hazne boyutuna göre 1000-5000 torba/saat üretim kapasitesine ulaşmakta ve torba başına 0,10-0,20 € maliyet bildirilmektedir. Bu teknolojinin büyük ölçekli ünitesi olan 525 L kapasiteli sistem, 600 MPa'da yaklaşık 3210 kg/saat işlem kapasitesine sahiptir.

Sonuç olarak, yüksek hidrostatik basınç teknolojisi, peynirlerde geç şişme kusuruna neden olan *Clostridium* sporlarının

vejetatif formlarının inaktivasyonunda etkili olabilecek alternatif bir yaklaşım sunmakta, ancak sporisidal etkisinin sınırlılığı nedeniyle başka tekniklerle kombine edilmesi gerekliliğini doğurmaktadır. Ayrıca, LAB üzerindeki etkisi göz önünde bulundurularak kültür seçimi ve uygulama zamanı dikkatlice optimize edilmelidir.

## İYONLAŞTIRICI RADYASYON

Yüksek hidrostatik basınca benzer şekilde iyonlaştırıcı radyasyon, mikrobiyal inaktivasyon amacıyla uygulanan fiziksel ve termal olmayan bir koruma teknolojisidir. Gıda ışınlamasında genellikle gama ışınları, elektron ışınları ve X ışınları kullanılır. Gıda güvenliği açısından iyonlaştırıcı radyasyon, ilk olarak FAO/IAEA/WHO Ortak Uzman Komitesi tarafından 10 kGy'ye kadar dozlarda güvenli bulunmuş (WHO, 1981) ve Codex Alimentarius tarafından da kabul edilmiştir (Codex, 1984). Daha sonraki yıllarda bu sınır kaldırılarak, duysal ve teknik kalite korunmak koşuluyla, herhangi bir dozun uygulanabileceği belirtilmiştir (WHO, 1999).

İyonlaştırıcı radyasyonun yüksek bakterisidal etkisine rağmen, "radyasyon" kavramının tüketiciler nezdindeki olumsuz algısı, bu teknolojinin gıda sektöründe geniş çapta benimsenmesini sınırlandırmıştır. Ancak özellikle hazır tüketim ürünlerindeki artış, termal olmayan teknolojilerin tekrar gündeme gelmesine neden olmuştur. İyonlaştırıcı radyasyon bu bağlamda, yüksek hidrostatik basınç gibi uygulamaların yanında alternatif bir mikrobiyal kontrol aracı olarak değerlendirilmektedir (Cabeza vd., 2009; Cambero vd., 2012).

İyonlaştırıcı radyasyonun etkinliği, başta sıcaklık, su aktivitesi, gıdanın bileşimi (özellikle yağ ve protein oranı) gibi faktörlerden etkilenir (EFSA, 2011). Clostridial sporlar, özellikle *C. botulinum*, ışınlamaya karşı yüksek dirençleriyle dikkat çekmekte olup, bu sporlar için D değerleri 1,3-5,9 kGy arasında bildirilmiştir. Geç şişme kusuruna yol açan *Clostridium* türlerinin D değerleri nispeten düşüktür; *C. butyricum* için 1,5 kGy, *C. tyrobutyricum* için 1,77 kGy ve *C. sporogenes* için 1,5-2,2 kGy olarak bildirilmiştir (Farkas, 2006; Velasco vd., 2011).

Peynirlerde iyonlaştırıcı radyasyon uygulamaları sınırlı olmakla birlikte, birkaç çalışmada olumlu sonuçlar bildirilmiştir (Arvanitoyannis ve Tserkezou, 2010; Nyamakwere vd., 2022). Ancak, endüstriyel

ölçekte iyonlaştırıcı radyasyon ile peynir işleme uygulamaları halen oldukça nadirdir. Velasco vd. (2011) yaptığı özgün çalışmada, yarı sert peynirde *C. tyrobutyricum* sporları 3 kGy'lik dozla %96 oranında azaltılmış ve bu uygulamanın ürünün raf ömrünü en az 5 ay uzattığı öngörülmüştür. Bununla birlikte, 3 kGy'lik dozlar kısa süreli hafif kötü koku ve tat oluşturmuş, ancak bu duyuşal değişimlerin depolama süreciyle birlikte ortadan kalktığı bildirilmiştir. Diğer çalışmalar da benzer şekilde, Feta ve Ras peyniri gibi ürünlerde iyonlaştırıcı radyasyon kaynaklı duyuşal bozulmaların zamanla kaybolduğunu göstermiştir (Konteles vd., 2009).

İyonlaştırıcı radyasyon uygulamasının peynirin doğal mikrobiyotası, özellikle LAB üzerinde geçici bir baskılayıcı etkisi bulunmaktadır. Uygulama sonrası 3-4 log birim azalma gözlemlenmiş, ancak olgunlaşma sürecinde bu kültürlerin yeniden eski seviyelere ulaştığı raporlanmıştır. Bu yönüyle iyonlaştırıcı radyasyon, olgunlaşma sonrası kontaminasyonu önlemek ve raf ömrü boyunca gaz oluşumunu baskılamak için etkili bir seçenek olabilir. Ayrıca, bu teknoloji, *Listeria monocytogenes* gibi spor oluşturmeyen patojenlerin inaktivasyonunda da yüksek başarı göstermektedir (Kim vd., 2017). İyonlaştırıcı radyasyonun ekonomik yönleri, yüksek hidrostatik basınca benzer şekilde değerlendirilmiştir. Örneğin, Rhodotron TT200 elektron hızlandırıcısı yaklaşık olarak saatte 7000 torba (200 g) ürün işleme kapasitesine sahiptir ve birim maliyet yaklaşık 0,08 €/torba olarak rapor edilmiştir (IONISOS IBERICA S.A.).

## SONUÇ

*Clostridial* sporlar, pastörizasyona karşı dayanıklı olup, özellikle yarı sert ve sert peynirlerde geç şişmeye yol açabilmektedir. Bu bozulmanın kontrolü, peynir endüstrisi için hâlâ büyük bir zorluk teşkil etmektedir. Geç şişme kusurunun önlenmesi veya en aza indirilmesi amacıyla, üç ana strateji benimsenmiştir: (a) süt kontaminasyonunun çiftlikte önlenmesi, (b) çiğ süttten klostridial sporların uzaklaştırılması ve (c) sporların büyümesini engellemek ya da öldürmek için sporestatik/sporisidal önlemler uygulanması. Bu önlemler, katkı maddeleri (nitrat, lizozim, antagonist mikroorganizmalar) ve termal olmayan koruma teknolojileri (yüksek hidrostatik basınç ve iyonlaştırıcı radyasyon) ile sağlanmaktadır.

Özellikle, modern gıda teknolojileri

sayesinde, bu yöntemler sinerjik etkiler yaratacak şekilde birleştirilebilir ve geç şişme kusurunun önlenmesine yönelik etkin çözümler sunabilir. Bununla birlikte, peynir üretiminde üfleme kusurlarının ortadan kaldırılması, gıda güvenliği ve kalite açısından hâlâ önemli bir meydan okuma olmayı sürdürmektedir. Ancak, mevcut teknolojilerle yapılan iyileştirmeler ve bu alanda yapılan sürekli araştırmalar sayesinde, peynirdeki geç şişme bozulması büyük ölçüde kontrol altına alınabilir.

## KAYNAKLAR

- Alvenas, A. (2015). *Cheese with blowing defect-problematic and preventable methods* [Bachelor Thesis]. *Swedish University of Agricultural Sciences*.
- Anastasiou, R., Aktypis, A., Georgalaki, M., Papadelli, M., de Vuyst, L. ve Tsakalidou, E. (2009). Inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* by *Streptococcus macedonicus* ACA-DC 198 under conditions mimicking kasseri cheese production and ripening. *International Dairy Journal*, 19(5), 330–335. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.12.001>
- Arias, C., Oliete, B., Seseña, S., Jimenez, L., Pérez-Guzmán, M. D. ve Arias, R. (2013). Importance of on-farm management practices on lactate-fermenting *Clostridium* spp. spore contamination of Manchega Ewe milk: Determination of risk factors and characterization of *Clostridium* population. *Small Ruminant Research*, 111(1-3), 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.11.030>
- Arvanitoyannis, I. S. ve Tserkezou, P. (2010). Application of irradiation on milk and dairy products. In I. Arvanitoyannis (Ed.), *Irradiation of Food Commodities* (pp. 265–285). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374718-1.10008-2>
- Ávila, M., Gómez-Torres, N., Hernández, M. ve Garde, S. (2014). Inhibitory activity of reuterin, nisin, lysozyme and nitrite against vegetative cells and spores of dairy related *Clostridium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 172, 70–75. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.002>
- Ávila, M., Sánchez, C., Calzada, J., Mayer,

- M. J., Berruga, M. I., López-Díaz, T. M., ... ve Garde, S. (2023). Isolation and characterization of new bacteriophages active against *Clostridium tyrobutyricum* and their role in preventing the late blowing defect of cheese. *Food Research International*, 163, 112222.
- Bacci, C., Paris, A. ve Brindani, F. (2002). Ruolo di *Clostridium* spp. in Alterazioni del Parmigiano Reggiano Riconducibili a Gonfiore Tardivo. *Annali Facoltà Medicina*, 22, 221–231.
- Bargeman, G. (2003). Separation technologies to produce dairy ingredients. In G. Smit (Ed.), *Dairy processing: Improving quality* (pp. 366–390). CRC Press.
- Bassi, D., Cappa, F. ve Cocconcelli, P. S. (2009). A combination of a SEM technique and X-ray microanalysis for studying the spore germination process of *Clostridium tyrobutyricum*. *Research in Microbiology*, 160(5), 322–329. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2009.04.003>
- Bassi, D., Puglisi, E. ve Cocconcelli, P. S. (2015). Understanding the bacterial communities of hard cheese with blowing defect. *Food Microbiology*, 52, 106–118. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.07.004>
- Beresford, T. P., Fitzsimons, N. A., Brennan, N. L. ve Cogan, T. M. (2001). Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*, 11(4–7), 259–274. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00056-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00056-5)
- Bergère, J. ve Favreau, B. (1987). Immuno-Détection des Spores de *Clostridium tyrobutyricum*, Agent du Gonflement Butyrique des Fromages. *Sci Des Aliments*, 7, 89–98.
- Bergère, J. ve Hermier, J. (1970). Spore properties of clostridia occurring in cheese. *The Journal of Applied Bacteriology*, 33(1), 167–179. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1970.tb05242.x>
- Bintsis, T. ve Papademas, P. (2024). The application of protective cultures in cheese: A review. *Fermentation*, 10(3), 117.
- Bogovič Matijašić, B., Koman Rajšp, M., Perko, B. ve Rogelj, I. (2007). Inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* in cheese by *Lactobacillus gasseri*. *International Dairy Journal*, 17(2), 157–166. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.01.011>
- Borreani, G., Ferrero, F., Nucera, D., Casale, M., Piano, S. ve Tabacco, E. (2019). Dairy farm management practices and the risk of contamination of tank milk from *Clostridium* spp. and *Paenibacillus* spp. spores in silage, total mixed ration, dairy cow feces, and raw milk. *Journal of Dairy Science*, 102(9), 8273–8289. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16462>
- Brändle, J., Domig, K. J. ve Kneifel, W. (2016). Relevance and analysis of butyric acid producing clostridia in milk and cheese. *Food Control*, 67, 96–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.02.038>
- Brändle, J., Heinzle, L., Fraberger, V., Berta, J., Zitz, U., Schinkinger, M., Stocker, W., Kneifel, W. ve Domig, K. J. (2018). Novel approach to enumerate clostridial endospores in milk. *Food Control*, 85, 318–326. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.10.017>
- Breukink, E. ve de Kruijff, B. (2006). Lipid II as a target for antibiotics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(4), 321–332. <https://doi.org/10.1038/nrd2004>
- Brown, K. L. (1990). The problems of heat resistant spores in food production. In S. P. Borriello (Ed.), *Clinical and Molecular Aspects of Anaerobes* (pp. 91–101). Wrightson Biomedical.
- Burtscher, J., Hobl, L., Kneifel, W. ve Domig, K. J. (2020). Clostridial spore counts in vat milk of alpine dairies. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2111–2116. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17559>
- Burtscher, J., Rudavsky, T., Zitz, U., Neubauer, V. ve Domig, K. J. (2023). Importance of pre-milking udder hygiene to reduce transfer of clostridial spores from teat skin to raw milk. *Microorganisms*, 11(5), 1337. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051337>
- Bylund, G. (2003). *Dairy processing handbook*. Tetra Pak Processing Systems AB.
- Cabeza, M. C., de la Hoz, L., Velasco, R., Cambero, M. I. ve Ordóñez, J. A. (2009). Safety and quality of ready-to-eat dry fermented sausages subjected to E-beam radiation. *Meat*

- Science*, 83(2), 320–327. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.05.019>
- Cambero, M. I., Cabeza, M. C., Escudero, R., Manzano, S., Garcia-Márquez, I., Velasco, R., ve Ordóñez, J. A. (2012). Sanitation of selected ready-to-eat intermediate-moisture foods of animal origin by E-beam irradiation. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(7), 594–599. <https://doi.org/10.1089/fpd.2011.1111>
- Carminati, D., Bonvini, B., Francolino, S., Ghiglietti, R., Locci, F., Tidona, F., Mariut, M., Abeni, F., Zago, M. ve Giraffa, G. (2023). Low-level clostridial spores' milk to limit the onset of late blowing defect in lysozyme-free, grana-type cheese. *Foods*, 12(9), 1880. <https://doi.org/10.3390/foods12091880>
- Carminati, D., Gatti, M., Bonvini, B., Neviani, E. ve Mucchetti, G. (2004). High-pressure processing of gorgonzola cheese: Influence on *Listeria monocytogenes* inactivation and on sensory characteristics. *Journal of Food Protection*, 67(8), 1671–1675. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-67.8.1671>
- Cerf, O., Bergere, J.-L. ve Hermier, J. (1967). Thermorésistance des Spores de *Clostridium tyrobutyricum* et *Clostridium butyricum*. *Journal of Dairy Research*, 34(3), 221–229. <https://doi.org/10.1017/S0022029900012395>
- Chen, H. ve Hoover, D. (2003). Bacteriocins and their food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(3), 82–100. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00016.x>
- Cocolin, L., Innocente, N., Biasutti, M. ve Comi, G. (2004). The late blowing in cheese: A new molecular approach based on PCR and DGGE to study the microbial ecology of the alteration process. *International Journal of Food Microbiology*, 90(1), 83–91. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00296-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00296-4)
- Coulon, J. B., Varignier, M. ve Darne, D. (1991). Contamination Butyrique du Lait de Vache: Étude dans les Exploitations de Haute-Loire. *INRAE Productions Animales*, 4(5), 369–372. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.1991.4.5.4350>
- Cruz-Morales, P., Orellana, C. A., Moutafis, G., Moonen, G., Rincon, G., Nielsen, L. K. ve Marcellin, E. (2019). Revisiting the evolution and taxonomy of clostridia, a phylogenomic update. *Genome Biology and Evolution*, 11(7), 2035–2044. <https://doi.org/10.1093/gbe/evz096>
- D'Amico, D. J. (2014). Microbiological quality and safety issues in cheesemaking. *Microbiology Spectrum*, 2(1), CM-0011-2012. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.CM-0011-2012>
- D'Amico, D. J. (2017). Recommendations and outcomes from the first artisan cheese food safety forum. *Food Protection Trends*, 37, 332–339.
- D'Incecco, P., Gatti, M., Hogenboom, J. A., Bottari, B., Rosi, V., Neviani, E. ve Pellegrino, L. (2016). Lysozyme affects the microbial catabolism of free arginine in raw milk hard cheeses. *Food Microbiology*, 57, 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.11.020>
- D'Incecco, P., Pellegrino, L., Hogenboom, J. A., Sandro, P. ve Bassi, D. (2018). The Late Blowing defect of hard cheeses: Behaviour of cells and spores of *Clostridium tyrobutyricum* throughout the cheese manufacturing and ripening. *LWT*, 87, 134–141. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.083>
- Daly, D. F. M., McSweeney, P. L. H. ve Sheehan, J. J. (2010). Split defect and secondary fermentation in Swiss-type cheeses – A review. *Dairy Science & Technology*, 90(1), 3–26. <https://doi.org/10.1051/dst/2009036>
- Darbandi, A., Asadi, A., Mahdizade Ari, M., Ohadi, E., Talebi, M., Halaj Zadeh, M., ... ve Kakanj, M. (2022). Bacteriocins: properties and potential use as antimicrobials. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(1), e24093.
- Deiana, P., Fatichenti, F., Farris, G. A., Mocquot, P., Lodi, R., Todesco, R. ve Cecchi, L. (1984). Metabolization of lactic and acetic acids in pecorino romano cheese made with a combined starter of lactic acid bacteria and yeast. *Le Lait*, 64(640-642), 380–394. <https://doi.org/10.1051/>

- lait:1984640-64231
- Demarquilly, C. (2020). Ensilage et contamination du lait par les spores butyriques. *Inrae Productions Animales*, 11(5), 359–364. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.1998.11.5.3964>
- Driehuis, F. (2013). Silage and the safety and quality of dairy foods: A review. *Agricultural and Food Science*, 22(1), 16–34. <https://doi.org/10.23986/afsci.6699>
- Driehuis, F. ve Elferink, S. O. (2000). The impact of the quality of silage on animal health and food safety: A review. *Veterinary Quarterly*, 22(4), 212–216. <https://doi.org/10.1080/01652176.2000.9695061>
- Düsterhöft, E. M. ve Van den Berg, G. (2007). How may late blowing be avoided in gouda-type cheeses? In P. L. H. McSweeney (Ed.), *Cheese problems solved* (pp. 242–243). Woodhead.
- Düsterhöft, E. M., Engels, W., Huppertz, T., McSweeney, P. L. H., Fox, P. F. ve Cotter, P. D. (2017). Gouda and related cheeses. In D. W. Everett (Eds.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology* (pp. 103–140). Academic Press.
- Egan, K., Field, D., Rea, M. C., Ross, R. P., Hill, C. ve Cotte, P. D. (2016). Bacteriocins: Novel solutions to age old spore-related problems? *Frontiers in Microbiology*, 7, 461. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00461>
- El Haddad, L., Roy, J. P., Khalil, G. E., St-Gelais, D., Champagne, C. P., Labrie, S. ve Moineau, S. (2016). Efficacy of two *Staphylococcus aureus* phage cocktails in cheese production. *International Journal of Food Microbiology*, 217, 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.001>
- Farkas, J. (2006). Irradiation for better foods. *Trends in Food Science and Technology*, 17(4), 148–152. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.003>
- FDA. (2024). *Pasteurized milk ordinance centennial*. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/food/milk-guidance-documents-regulatoryinformation/pasteurized-milk-ordinance-centennial>
- Feliginini, M., Brambati, E., Panelli, S., Ghitti, M., Sacchi, R., Capelli, E. ve Bonacina, C. (2014). One-year investigation of *Clostridium* spp. occurrence in raw milk and curd of Grana Padano cheese by the automated ribosomal intergenic spacer analysis. *Food Control*, 42, 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.02.002>
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. ve McSweeney, P. L. H. (2017). Microbiology of cheese ripening. In P. F. Fox, T. P. Guinee, T. M. Cogan ve P. L. H. McSweeney, (Eds.), *Fundamentals of Cheese Science* (pp. 333–390). Springer.
- Fröhlich-Wyder, M. T. ve Bachmann, H. P. (2007). What causes irregular eye formation, splits or cracks in Emmental cheese? In P. L. H. McSweeney (Ed.), *Cheese Problems Solved* (pp. 252–253). Woodhead.
- Fryer, T. F. ve Halligan, A. C. (1976). The detection of *Clostridium tyrobutyricum* in milk. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 11(2), 132.
- Garde, S., Arias, R., Gaya, P. ve Nuñez, M. (2011). Occurrence of *Clostridium* spp. in ovine milk and Manchego cheese with late blowing defect: Identification and characterization of isolates. *International Dairy Journal*, 21(4), 272–278. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.11.003>
- Georget, E., Sevenich, R., Reineke, K., Mathys, A., Heinz, V., Callanan, M., Rauh, C. ve Knorr, D. (2015). Inactivation of microorganisms by high isostatic pressure processing in complex matrices: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 27, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.10.015>
- Gésan-Guiziu, G. (2010). Removal of bacteria, spores and somatic cells from milk by centrifugation and microfiltration techniques. In *Improving the safety and quality of milk* (pp. 349–372). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9781845699420.4.349>
- Ghoddusi, H. B., Sherburn, R. E. ve Aboaba, O. O. (2013). Growth limiting pH, water activity, and temperature for neurotoxic strains of *Clostridium butyricum*. *International Scholarly Research Notices*, 2013(1), 731430. <https://doi.org/10.1155/2013/731430>
- Gobbeti, M. (2004). Extra-hard varieties. In

- P. F. Fox, T. P. Guinee, T. M. Cogan ve P. L. H. McSweeney (Eds.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology* (3rd. ed., Vol. 2, pp. 51–70). Elsevier Academic Press.
- Gobbetti, M. ve Di Cagno, R. (2002). Hard Italian Cheese. In *Encyclopedia of dairy sciences* (pp. 378-385).
- Gobbetti, M. ve Di Cagno, R. (2007). What common problems are associated with grana-type cheeses? In P. L. H. McSweeney (Ed.), *Cheese problems solved* (pp. 210–211). Woodhead Publishing.
- Gómez-Torres, N., Ávila, M., Gaya, P. ve Garde, S. (2014). Prevention of late blowing defect by Reuterin produced in cheese by a *Lactobacillus reuteri* adjunct. *Food Microbiology*, 42, 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.02.018>
- González, L. ve Zárata, V. (2015). Inhibitory activity of *Lactobacillus plantarum* TF711 against *Clostridium sporogenes* when used as adjunct culture in cheese manufacture. *The Journal of Dairy Research*, 82(2), 236–241. <https://doi.org/10.1017/S0022029915000126>
- Goulding, D. A., Fox, P. F. ve O'Mahony, J. A. (2019). Milk proteins: An overview. In M. Boland ve H. Singh (Eds.), *Milk proteins: From expression to food* (pp. 21–98). Elsevier Applied Science. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815251-5.00002-5>
- Gudbjornsdottir, B., Jonsson, A., Hafsteinsson, H. ve Heinz, V. (2010). Effect of high pressure processing on *Listeria* spp. and on the textural and microstructural properties of cold smoked salmon. *LWT - Food Science and Technology*, 43(2), 366–374. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.08.015>
- Guaita, A., Gambi, L., Baresi, P., Paterlini, F., Bolzoni, G., Zanardi, G. ve Daminelli, P. (2024). Spore-Forming *Clostridia* in Raw Cow Milk from Northern Italy: A Trend Analysis over the Past 20 Years. *Foods*, 13(22), 3638.
- Guinee, T. P. ve Fox, P. F. (2017). Salt in cheese: Physical, chemical and biological aspects. In P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, P. D. Cotter ve D. W. Everett (Eds.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology* (pp. 317–375). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00013-2>
- Guinee, T. P. ve O'Callaghan, D. J. (2010). Control and prediction of quality characteristics in the manufacture and ripening of cheese. In B. A. Law, A. Y. Tamime (Eds.), *Technology of Cheesemaking* (2nd. ed., pp. 260–329). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781444323740.ch8>
- Hassan, H., St-Gelais, D., Goma, A. ve Fliss, I. (2021). Impact of nisin and nisin-producing *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* on *Clostridium tyrobutyricum* and bacterial ecosystem of cheese matrices. *Foods*, 10(4), 898. <https://doi.org/10.3390/foods10040898>
- Heyndrickx, M. (2011). The importance of endospore-forming bacteria originating from soil for contamination of industrial food processing. *Applied and Environmental Soil Science*, 2011, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2011/561975>
- Ingham, S. C., Hassler, J. R., Tsai, Y. W. ve Ingham, B. H. (1998). Differentiation of lactate-fermenting, gas-producing *Clostridium* spp. isolated from milk. *International Journal of Food Microbiology*, 43(3), 173–183. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00108-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00108-1)
- Khorshidian, N., Khanniri, E., Koushki, M. R., Sohrabvandi, S. ve Yousefi, M. (2022). An overview of antimicrobial activity of lysozyme and its functionality in cheese. *Frontiers in nutrition*, 9, 833618.
- Jung, S. ve Tonello-Samson, C. M. (2018). High hydrostatic pressure food processing: Potential and limitations. In A. Proctor (Ed.), *Alternatives to conventional food processing* (2nd ed., pp. 251–315). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781782626596-00251>
- Kaya, H. I., Simsek, O. ve Akgunoglu, O. (2023). Diversity of *Clostridium* spp. causing late blowing in Kaşar cheese and their behaviour against various antimicrobials. *International Dairy Journal*, 139, 105560. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105560>
- Klantschitsch, T. (1999). *Influence of microfiltration on the quality of semi-hard cheese from raw milk with particular emphasis on Clostridium*

- tyrobutyricum* spores [Doctoral Thesis]. Swiss Federal Institute of Technology (ETH).
- Klijn, N., Nieuwenhof, F. F. J., Hoolwerf, J. D., van der Waals, C. B. ve Weerkamp, A. H. (1995). Identification of *Clostridium tyrobutyricum* as the causative agent of late blowing in cheese by species-specific PCR amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(8), 2919–2924. <https://doi.org/10.1128/aem.61.8.2919-2924.1995>
- Konteles, S., Sinanoglou, V. J., Batrinou, A. ve Sflomos, K. (2009). Effects of g-irradiation on *Listeria monocytogenes* population, colour, texture and sensory properties of Feta cheese during cold storage. *Food Microbiology*, 26(2), 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.10.006>
- Le Bourhis, A. G., Doré, J., Carlier, J. P., Chamba, J. F., Popoff, M. R. ve Tholozan, J. L. (2007). Contribution of *C. beijerinckii* and *C. sporogenes* in Association with *C. tyrobutyricum* to the butyric fermentation in Emmental type cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 113(2), 154–163. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.027>
- Leconte, N., Fauquant, J., Robert, B., Beaucher, E., Rousseau, F., Sinet, C., Camier, B., Madec, M. N., Tanguy-Sai, G. ve Lopez, C. (2014). Procédé Combinant l'homogénéisation et la Microfiltration Tangentielle pour Réduire la Teneur Bactérienne de Lait Contenant de la Matière Grasse. Presented at the Mempro V, Toulouse, France. Lavoisier Technique et Documentation: Toulouse (p. 105).
- Librán, C. M., Moro, A., Zalacain, A., Molina, A., Carmona, M. ve Berruga, M. I. (2013). Potential application of aromatic plant extracts to prevent cheese blowing. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 29(7), 1179–1188. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1280-x>
- Marcos, A., Alcalá, M., León, F., Fernández-Salguero, J. ve Esteban, M. A. (1981). Water activity and chemical composition of cheese. *Journal of Dairy Science*, 64(4), 622–626. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(81\)82621-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(81)82621-5)
- Martínez-Cuesta, M. C., Bengoechea, J., Bustos, I., Rodríguez, B., Requena, T. ve Peláez, C. (2010). Control of late blowing in cheese by adding Lactacin 3147-producing *Lactococcus lactis* IFPL 3593 to the starter. *International Dairy Journal*, 20(1), 18–24. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.07.005>
- Mathot, A. G., Beliard, E. ve Thuault, D. (2003). *Streptococcus thermophilus* 580 produces a bacteriocin potentially suitable for inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* in hard cheese. *Journal of Dairy Science*, 86(10), 3068–3074. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73906-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73906-X)
- McSweeney, P. L. H. ve Fox, P. F. (2004). Metabolism of residual lactose and of lactate and citrate. In P. F. Fox, T. P. Guinee, T. M. Cogan ve P. L. H. McSweeney (Eds.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology* (3rd ed., Vol. 1, pp. 361–371). Elsevier Academic Press.
- Metlitskaya, A., Kazakov, T., Kommer, A., Pavlova, O., Praetorius-Ibba, M., Ibba, M., Krasheninnikov, I., Kolb, V., Khmel, I. ve Severinov, K. (2006). Aspartyl-tRNA synthetase is the target of peptide nucleotide antibiotic microcin C. *The Journal of Biological Chemistry*, 281(26), 18033–18042. <https://doi.org/10.1074/jbc.M513174200>
- Modi, R., Hirvi, Y., Hill, A. ve Griffiths, M. (2001). Effect of phage on survival of *Salmonella enteritidis* during manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. *Journal of Food Protection*, 64(7), 927–933. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.7.927>
- Morandi, S., Battelli, G., Silveti, T., Tringali, S., Nunziata, L., Villa, A., Acquistapace, A. ve Brasca, M. (2021). Impact of salting and ripening temperatures on late blowing defect in Valtellina Casera PDO cheese. *Food Control*, 120, 107508. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107508>
- Mota, M. J., Lopes, R. P., Delgadillo, I. ve Saraiva, J. A. (2013). Microorganisms under high pressure: Adaptation, growth and biotechnological potential. *Biotechnology*

- Advances*, 31(8), 1426–1434. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.06.007>
- Mullan, W. M. A. (1986). Bacteriophage induced starter problems. *Dairy Industries International*, 51(11), 39,41–42.
- Mullan, W. M. A. (2000). Causes and control of early gas production in cheddar cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 53(2), 63–68. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2000.tb02660.x>
- Munir, M. T. ve Federighi, M. (2020). Control of foodborne biological hazards by ionizing radiations. *Foods*, 9(7), 878. <https://doi.org/10.3390/foods9070878>
- Myers, K., Cannon, J., Montoya, D., Dickson, J., Lonergan, S. ve Sebranek, J. (2013). Effects of high hydrostatic pressure and varying concentrations of sodium nitrite from traditional and vegetable-based sources on the growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat (RTE) sliced ham. *Meat Science*, 94(1), 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.12.019>
- Nyamakwere, F., Esposito, G., Dzama, K., Gouws, P., Rapisarda, T., Belvedere, G., Masucci, F. ve Raffrenato, E. (2022). Application of gamma irradiation treatment on the physicochemical and microbiological quality of an artisanal hard cheese. *Applied Sciences*, 12(6), 3142. <https://doi.org/10.3390/app12063142>
- O'Reilly, C. E., Kelly, A. L., Oliveira, J. C., Murphy, P. M., Auty, M. A. E. ve Beresford, T. P. (2003). Effect of varying high-pressure treatment conditions on acceleration of ripening of cheddar cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 4(3), 277–284. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(03\)00037-7](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(03)00037-7)
- O'Sullivan, D. J., Giblin, L., Paul, L. H., McSweeney, P. L. H., Sheehan, J. J. ve Cotter, P. D. (2013). Nucleic Acid-based Approaches to Investigate Microbial-related Cheese Quality Defects. *Frontiers in Microbiology*, 4, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00001>
- Oliveira, R. B. A., Margalho, L. P., Nascimento, J. S., Costa, L. E. O., Portela, J. B., Cruz, A. G. ve Sant'Ana, A. S. (2016). Processed cheese contamination by spore-forming bacteria: A review of sources, routes, fate during processing and control. *Trends in Food Science and Technology*, 57, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.008>
- Parks, W., Bottrill, A. R., Pierrat, O. A., Durrant, M. C. ve Maxwell, A. (2007). The Action of the Bacterial Toxin, Microcin B17, on DNA Gyrase. *Biochimie*, 89(4), 500–507. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.12.005>
- Piot, M., Vachot, J. C., Veaux, M., Maubois, J. L. ve Brinkman, G. E. (1987). Ecrémage et Épuration Bactérienne du Lait Entier Cru par Microfiltration sur Membrane en Flux Tangentiel. *Tech. Lait. Mark*, 1016, 42–46.
- Podrzaj, L., Burtscher, J., Küller, F. ve Domig, K. J. (2020). Strain-dependent cheese spoilage potential of *Clostridium tyrobutyricum*. *Microorganisms*, 8(11), 1836. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111836>
- Qian, C., Martin, N. H., Wiedmann, M. ve Trmčić, A. (2022). Development of a risk assessment model to predict the occurrence of late blowing defect in gouda cheese and evaluate potential intervention strategies. *Journal of Dairy Science*, 105(4), 2880–2894. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21206>
- Ramos-Vivas, J., Elexpuru-Zabaleta, M., Samano, M. L., Barrera, A. P., Forbes-Hernández, T. Y., Giampieri, F. ve Battino, M. (2021). Phages and enzybiotics in food biopreservation. *Molecules*, 26(17), 5138. <https://doi.org/10.3390/molecules26175138>
- Rubio, B., Martínez, B., García-Cachán, M. D., Rovira, J. ve Jaime, I. (2007). Effect of high pressure preservation on the quality of dry cured beef “Cecina de Leon”. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(1), 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2006.08.004>
- Salmerón, J., de Vega, C., Pérez-Elortondo, F. J., Albisu, M. ve Barrón, L. J. R. (2002). Effect of pasteurization and seasonal variations in the microflora of Ewe's milk for cheesemaking. *Food Microbiology*, 19(2-3), 167–174. <https://doi.org/10.1006/fmic.2001.0475>

- Samelis, J., Kakouri, A., Savvaidis, I. N., Riganakos, K. ve Kontominas, M. G. (2005). Use of ionizing radiation doses of 2 and 4 kGy to control *Listeria* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 on frozen meat trimmings used for dry fermented sausage production. *Meat Science*, 70(1), 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.01.002>
- Sanjuán, E., Millán, R., Saavedra, P., Carmona, M. A., Gómez, R. ve Fernández-Salguero, J. (2002). Influence of animal and vegetable rennet on the physicochemical characteristics of los pedroches cheese during ripening. *Food Chemistry*, 78(3), 281–289. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00098-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00098-5)
- Scintu, M. F., Mannu, L. ve Caria, A. (2004). Presence of spores of *Clostridium* spp. in Ewes' raw milk. *International Dairy Federation*, 3, 187-188.
- Sheehan, J. J. C. (2022). Avoidance of gas blowing. In P. L. H. McSweeney ve J. P. McNamara (Eds.), *Encyclopedia of dairy science* (3rd ed., pp. 15–21). Academic Press.
- Shi, X., Qian, C., Murphy, S. I., Wiedmann, M. ve Martin, N. H. (2023). Butyric acid-producing bacterial spore levels in conventional raw milk vary by farm. *JDS Communications*, 4(1), 1–4. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2022-0252>
- Silva, C. C. G., Silva, S. P. M. ve Ribeiro, S. C. (2018). Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. *Frontiers in Microbiology*, 9, 594. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00594>
- Silvetti, T., Morandi, S., Hintersteiner, M. ve Brasca, M. (2017). Use of hen egg white lysozyme in the food industry. In P. Y. Hester (Ed.), *Egg innovations and strategies for improvements* (pp. 233–242). Elsevier Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800879-9.00022-6>
- Simonart, P. D. ve Beer, G. (1953). Recherches en vue d'améliorer la qualité microbiologique des laits par ultracentrifugation. *Netherland Milk and Dairy Journal*, 7, 117–128.
- Stadhouders, J. ve Jørgensen, K. (1990). Prevention of the contamination of raw milk by a hygienic milk production. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 251, 32–36.
- Su, Y. C. ve Ingham, S. C. (2000). Influence of milk centrifugation, brining and ripening conditions in preventing gas formation by *Clostridium* spp. in Gouda cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 54(3), 147–154. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00199-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00199-3)
- Turchi, B., Pero, S., Torracca, B., Fratini, F., Mancini, S., Galiero, A., Pedonese, F., Nuvoloni, R. ve Cerri, D. (2016). Occurrence of *Clostridium* spp. in Ewe's milk: Enumeration and identification of isolates. *Dairy Science & Technology*, 96(5), 693–701. <https://doi.org/10.1007/s13594-016-0298-x>
- Van den Berg, G., Meijer, W. C., Düsterhöft, E. M., Smit, G., Fox, P. F., Guinee, T. P. ve Cogan, T. M. (2004). Gouda and related cheeses. In P. L. H. McSweeney (Eds.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology* (3rd ed., Vol. 2, pp 103–140). Elsevier Academic Press.
- Velasco, R., Cabeza, M. C. ve Ordóñez, J. A. (2025). Current approaches to minimize the late blowing defect of cheese. *Cogent Food & Agriculture*, 11(1), 2460462.
- Velasco, R., Ordóñez, J. A., Cabeza, M. C., de la Hoz, L. ve Cambero, M. I. (2011). Use of the E-beam radiation to diminish the late blowing of cheese. *International Dairy Journal*, 21(7), 493–500. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.01.011>
- Vikram, A., Woolston, J. ve Sulakvelidze, A. (2021). Phage biocontrol applications in food production and processing. *Current Issues in Molecular Biology*, 40, 267–302. <https://doi.org/10.21775/cimb.040.267>
- Vincent, P. A. ve Morero, R. D. (2009). The structure and biological aspects of peptide antibiotic microcin J25. *Current Medicinal Chemistry*, 16(5), 538–549. <https://doi.org/10.2174/092986709787458461>
- Visser, M. M. M., Driehuis, F., Te Giffel, M. C., De Jong, P. ve Lankveld, J. M. G. (2007). Minimizing the level of butyric acid bacteria spores in farm tank milk. *Journal of Dairy Science*, 90(7), 3278–3285. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-798>

- Waes, G. ve Heddeghem, A. (1990). Prevention of butyric acid fermentation by bacterial centrifugation of the cheese milk. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 251, 47–50.
- Walstra, P., Noomen, A. ve Geurts, T. J. (1999). Dutch-type varieties. In P. F. Fox (Ed.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology* (2nd ed., Vol. 2, pp. 79–82). Aspen Publishers.
- Wang, C. Y., Huang, H. W., Hsu, C. P. ve Yang, B. B. (2016). Recent advances in food processing using high hydrostatic pressure technology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(4), 527–540. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.745479>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y. ve Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Wasserfall, F. ve Teuber, M. (1979). Action of egg white lysozyme on *Clostridium tyrobutyricum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 38(2), 197–199. <https://doi.org/10.1128/aem.38.2.197-199.1979>
- Wente, N., Zscherpe, C., Leimbach, S., Mallast, P., Tellen, A., Zhang, Y., ... ve Krömker, V. (2024). Bacterial Removal Separation with a Reduced Throughput Adapted for Artisan Cheese Dairies—Effect on Clostridial Spore Counts and Milk Quality. *Dairy*, 5(4), 644–654.
- Wieringa, G. W. (1958). The effect of wilting on butyric acid fermentation in silage. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 6(3), 204–210. <https://doi.org/10.18174/njas.v6i3.17706>
- Wijayanti, H. B., Bansal, N. ve Deeth, H. C. (2014). Stability of whey proteins during thermal processing: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1235–1251. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12105>
- Zhang, H., Fu, G. ve Zhang, D. (2014). Cloning, characterization, and production of a novel lysozyme by different expression hosts. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(10), 1405–1412. <https://doi.org/10.4014/jmb.1404.04039>
- Zucali, M., Bava, L., Colombini, S., Brasca, M., Decimo, M., Morandi, S., Tamburini, A. ve Crovetto, G. M. (2015). Management practices and forage quality affecting the contamination of milk with anaerobic spore-forming bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(6), 1294–1302. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6822>