



VURGULU ELEKTRİK ALAN (PEF) TEKNİĞİNİN ÇİĞ SÜTTE MİKROBİYAL LİPAZ ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Nurullah Zekeriya AKAR*

İstanbul Gelişim Üniversitesi, İstanbul Gelişim Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Teknolojisi Programı, İstanbul, Türkiye

Anahtar Kelimeler

Vurgulu Elektrik Alan,
Mikrobiyal Lipaz Aktivitesi,
Psikrotrof Bakteri,
Süt.

Öz

Süt ihtiva ettiği yüksek oranda su, nötr pH ve besleyici bileşenler ile mikroorganizmalar ve enzimler için ideal bir ortamdır. Çiğ sütü mikroorganizmalardan arındırmak ve istenmeyen kusurlara neden olan enzimleri inaktif etmek ve ayrıca sütün raf ömrünü uzatmada en bilinen muhafaza yöntemi ısı işlemidir. Süt içerisindeki doğal enzimler pastörizasyon sıcaklığında inaktif olmakta ancak bakteriyel kaynaklı enzimler ise bu sıcaklığa dayanıklıdır. Yüksek derecedeki ısı işlem normları sütün hem besin öğelerinde kayıplara hem de tekstür bozukluklarına neden olmaktadır. Aynı zamanda uzun süreli depolama ile ısı işleme dirençli psikrofilik ve mezofilik bakteri kaynaklı enzimlerin oluşumu meydana gelmektedir. Bu enzimlerin başında süt teknolojisinde çeşitli tekstürel ve teknolojik sorunlara sebep olan lipaz enzimi gelmektedir. Çalışmada bakteriyel kaynaklı lipaz enziminin, ısı işleme alternatif gıda muhafaza tekniklerinden biri olan vurgulu elektrik alan uygulaması ile etkinliği araştırılmıştır.

INVESTIGATION OF THE EFFECTIVENESS OF THE PULSED ELECTRIC FIELD (PEF) TECHNIQUE ON MICROBIAL LIPASE ENZYME ACTIVITY IN RAW MILK

Keywords

Pulsed Electric Field,
Microbial Lipase Activity,
Psychrotroph Bacteria,
Milk.

Abstract

Milk is an ideal food for microorganisms and enzymes with its high water content, neutral pH and nutritious ingredients. Heat treatment is the best known preservation method to purify raw milk from microorganisms and inactivate enzymes that cause undesirable defects and also to extend the shelf life of milk. Natural enzymes in milk are inactive at pasteurization temperature, but bacterial enzymes are resistant to this temperature. High degree of heat treatment norms cause both nutritional losses and texture disorders in milk. At the same time, the formation of psychrophilic and mesophilic bacteria-derived enzymes resistant to heat treatment occurs with long-term storage. Lipase enzyme, which causes various textural and technological problems in milk technology, comes first among these enzymes. In the study, the effectiveness of bacterial lipase enzyme with pulsed electric field application, which is one of the alternative food preservation techniques to heat treatment, was investigated.

Alıntı / Cite

Akar, N.Z., (2021). Vurgulu Elektrik Alan (PEF) Tekniğinin Çiğ Sütte Mikrobiyal Lipaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkinliğinin Araştırılması, Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi, 9(3), 1039-1044.

Yazar Kimliği / Author ID (ORCID Number)

N.Z. Akar, 0000-0003-2485-2382

Makale Süreci / Article Process

Başvuru Tarihi / Submission Date	07.02.2021
Kabul Tarihi / Accepted Date	04.04.2021
Yayın Tarihi / Published Date	21.09.2021

1. Giriş (Introduction)

Süt memeli hayvanların süt bezlerinden salgılanan içinde tüm gerekli gıda maddelerini bulunduran, tipik bir kokusu ve lezzeti olan sıvı bir gıda maddesidir. Diğer gıdalarla kıyaslandığında karbonhidrat, protein, yağ, kalsiyum ve fosfor gibi daha fazla yaşamsal öğeleri içerdiğinden besleyici niteliğe sahip olmasının yanı sıra

* İlgili yazar / Corresponding author: nzakar@gelisim.edu.tr, +90-212-422-7000

bileşimindeki maddeler ve özellikleri sebebiyle koruyucu bir gıda olma niteliğine sahiptir (Li vd., 2018). Bunlara ek olarak süt birbirinden farklı büyüklükteki taneciklerin oluşturduğu bileşim ve yapısal olarak karmaşık bir koloidal dispersiyondur (Ünal vd., 2008).

Süt tüm bu özellikleri nedeniyle mikroorganizmaların gelişimi için ideal bir ortamdır ve bozulmaya karşı çok hassastır (Scudino vd., 2020). İşlenmeden önce çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesi, süt ürünlerinin kalitesinin sağlanması açısından çok önemlidir. Bunun için çiğ sütün sağımının gerçekleştiği çiftlikten tank içerisinde soğutulmuş mikrobiyal gelişmeyi en aza indirmek için üretim tesisine en iyi şekilde naklinin gerçekleşmesi gerekir. Hijyenik ortamda yapılan sağımdan hemen sonra baskın mikrobiyal popülasyon, esas olarak *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* ve *Corynebacterium* cinslerine ait bakterilerden oluşur. Toplam bakteri sayısı ile karşılaştırıldığında, çiğ sütte psikrotrofik bakteri oluşumu % 10'dan azdır (Gehring, 1980). Mezofilik bakterilerin gelişmesini engellemek için çiğ süt işlenmeden önce düşük sıcaklıklarda depolanır ancak bu durum psikrofilik bakterilerin gelişmesi için uygun ortam yaratır (Salgado vd., 2020). Toplam mikrobiyal popülasyondaki psikrotrofik bakterilerin hakimiyeti, süt kötü hijyen koşullarında üretildiğinde veya artan sayıda somatik hücre içerdiğinde daha da belirginleşir. Bu nedenlerden dolayı, psikrotrofik bakteriler genellikle soğutulmuş çiğ sütün içindeki toplam mikrobiyal popülasyonun % 90'ından fazlasını oluşturur (Samaržija vd., 2012).

Bununla birlikte, uzun süreli soğutulmuş çiğ sütün depolanması, ısıya dayanıklı enzimler üretebilen psikrotrof bakterilerinin gelişmesine olanak sağlar (Zhang vd., 2020). Bu enzimler içerisinde süt ve süt ürünlerinin kalitesi ve raf ömrü üzerinde proteazlar ve lipazlar önemli bir etkiye sahiptir (Chen vd., 2003). Lipazlar bitkiler, hayvanlar ve mikroplar gibi çeşitli kaynaklar tarafından üretilir (Kumar vd., 2012). Sütteki lipaz enzimleri ise ya sütte hâlihazırda mevcut olan doğal enzimlerdir ya da bakteriler tarafından üretilen ekstrasellüler enzimlerdir (Glantz vd., 2020). Bakteriler tarafından üretilen lipazlar, doğal enzim olan lipoprotein lipaz (LPL)'dan farklı özellikler gösterir. Bakteriyel kaynaklı lipazlar pastörizasyon ve UHT sıcaklığına dayanıklıdır fakat LPL pastörizasyon sıcaklığında etkisini kaybeder. Ayrıca yağ globül membranları LPL enzimine bariyer olurken bakteriyel kaynaklı lipazlar bu bariyeri kolaylıkla aşarlar (Deeth ve Fitz-Gerald, 2006). *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter* ve *Acinetobacter* güçlü birer lipolitik aktiviteye sahip psikrotrof bakteri türleridir (Machado vd., 2017). Psikrotrofik bakteriler arasında *Pseudomonas* cinsi ise çiğ sütte kontamine olan en yaygın bakterilerden biridir (Salgado vd., 2020). Bakteriyel kaynaklı lipolitik enzimler, özellikleri ve substrat özgünlükleri bakımından nispeten çeşitlidir. *Pseudomonas* ve *Bacillus* bakterilerinin bazı türleri ve ürettikleri lipaz enzimlerinin bazı özellikleri Tablo 1'de listelenmiştir (Chen vd., 2003).

Tablo 1. *Pseudomonas* ve *Bacillus* Bakterilerinin Bazı Türleri ve Ürettikleri Lipaz Enzimlerinin Bazı Özellikleri (Some Properties of Lipase Enzymes From Some Types of *Pseudomonas* and *Bacillus* Bacteria)

Enzim kaynağı	Optimum pH	Stabilite
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 2D	8,5	4,2 dakika 120 °C
<i>Pseudomonas fluorescens</i> AFT36	8	0,2 dakika 65 °C
<i>Pseudomonas</i> Pf-lip1	9	56 dakika 62,5 °C
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 33	7,5-8,5	7,6 dakika 50-60 °C
<i>Bacillus thermocatenulatus</i> DSM 730	8-9	29 dakika 60 °C

2. Lipaz Enzim Aktivitesinin Tespiti (Detection of Lipase Enzyme Activity)

Psikrotrof bakterilerin büyük çoğunluğu sıcaklığa dirençli hidrolitik enzimler meydana getirme kabiliyetindedir. Bu enzimlerden biri olan lipazlar sütün başlıca lipid bileşenleri olan trigliseritlerin hidrolizini katalize eden enzimlerdir. Bu hidroliz, genellikle lipoliz olarak adlandırılır ve aktivite sonucu kötü tatlara ve diğer teknolojik sorunlara neden olur (De Jonghe vd., 2011; Deeth, 2006; Machado vd., 2017). Bu enzimlerin eser seviyeleri bile depolanan ürünlerde ciddi sorunlara neden olduğundan bakteriyel lipaz enzimlerinin analizlerine olan ilgi her geçen gün artmıştır. Sütte bakteriyel lipaz aktivitesinin kantitatif tespiti titrimetrik, kolorimetrik, enzimatik, florometrik ve kromatografik yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Deeth ve Touch, 2000). Yöntem seçimi, bazı kriterlere bağlıdır ve bu enzimler analiz edilirken duyarlılık, substratların kullanılabilirliği ve prosedürün kolaylığı dikkate alınmaktadır (Hasan vd., 2009). Titrimetrik yöntemler her zaman kontrol edilebilen koşullar altında dikkatlice yapılmalıdır (Jaeger vd., 1994). Kolorimetrik metotlar ise santrifüj işleminden yoksun olduğundan hızlı ve ucuzdur (Versaw vd., 1989). Lipaz enziminin aktivitesi sonucu oluşan ürünlerin HPLC ile analizi ise tekrarlanabilir ve nispeten hızlıdır. HPLC kolonuna enjeksiyondan önce örneklerin modifikasyonu gerekmediğinden, analiz daha basit bir şekilde gerçekleştirilmektedir. Titrimetrik yöntemler, HPLC ile karşılaştırıldığında lipaz aktivitesini büyük ölçüde olduğundan daha düşük tespit ettiği belirtilmiştir (Thomson vd., 1999). Lipaz aktivitesinin tespiti için florometrik analizler ise basit ve hızlıdır ve oldukça hassastır. Ayrıca titrimetrik ve kolorimetrik yöntemlerden daha hassas oldukları belirtilmiştir (Roy, 1980). Bununla birlikte, süt ve

süt ürünlerinde lipaz enzim aktivitesinin tespiti için uygun bir analiz yöntemi hala tasarlanamamıştır. Genellikle yöntemlerde ana sorun, süt lipidlerinin ve sütün bulanıklığının buna müdahale etmesidir (Chen vd., 2003). Bu nedenle hem santrifüj ile yağın uzaklaştırıldığı hem de özel florometrik substratlar kullanılarak doğrudan çiğ sütte lipaz aktivitesini daha hassas ve doğru ölçmenin mümkün olduğu yöntemler geliştirilmiştir (Krewinkel vd., 2016).

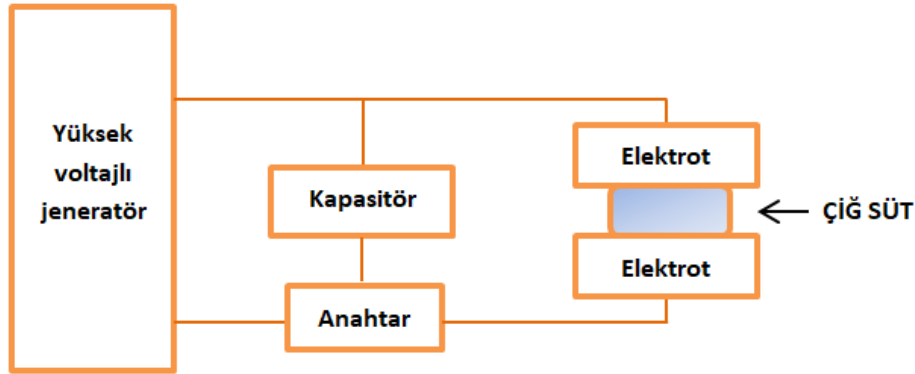
3. Isıl İşlemin Etkisi (Effect of Heat Treatment)

Psikrotrof aerobik veya fakültatif anaerob bakterilerin ısıya karşı dirençli sporları, süte ısıl işlem uygulamasından sonra hızlıca aktif bir özellik gösterebilmektedir. Aynı zamanda süte uygulanan pastörizasyon ve UHT gibi yüksek ısıl işlemlere de direnç göstermektedirler. Düşük sıcaklıkta depolanan kapalı paketlerdeki pastörize süt, psikrotrofik bakteriler veya gram pozitif spor oluşturan bakteriler tarafından bozulmaktadır (Eneroth vd., 2000). Saraç vd. (2008) gerçekleştirdiği çalışmada UHT yöntemi ile pastörize edilmiş süt örneğinden izole edilen *Staphylococcus spp.* suşunda en yüksek lipaz aktivitesi olduğu tespit edilmiştir.

Pastörizasyon ve UHT gibi ısıl işlemler sütün mikrobiyal güvenliğini sağlar ve raf ömrünü uzatır. Fakat çiğ sütün yüksek ısıya maruz kalması, süt içerisindeki bileşenleri etkiler ve ayrıca süt proteinlerinin işlevsel özelliklerini değiştirebilir. Sütün UHT işlemine maruz bırakılması ve ardından depolanması ile birlikte proteoliz ve lipoliz gibi çeşitli biyokimyasal değişiklikler meydana gelir (Ajmal vd., 2018). Ayrıca süte uygulanan yüksek sıcaklıktaki ısıl işlemler ile maillard reaksiyonu meydana gelir ve reaksiyon sonucu süt renginde değişimler görülür. Buna ek olarak yüksek ısıl işlemler sütün doğal yapısının bozulmasına neden olan hidroksimetil furfural (HMF) gibi bileşenlerin meydana gelmesine sebep olmaktadır (Yangılar, 2013). Bu gibi olumsuz durumlar, çiğ sütün bozulmasına neden olan mikroorganizmaların ve enzimlerin inaktivasyonu için vurgulu elektrik alanı (PEF) gibi ısıl olmayan gıda muhafaza tekniklerinin geliştirilmesine yol açmıştır (Sharma vd., 2014).

4. Vurgulu Elektrik Alan (PEF) Uygulaması (Pulsed Electric Field Application)

PEF işlemi, ısı ve kimyasal etkiler olmaksızın gıda ürünlerinin raf ömrünü arttırmak, mikroorganizmaları inaktive etmek ve enzimlerin aktivitesini azaltmak için iki elektrot arasında yerleştirilen sıvı gıdalara elektrik alanlı kısa atımların uygulanmasını içerir (Cserhalmi vd., 2006; Samaržija vd., 2012). Gıda örneğine uygulanan PEF işlemi, mikrobiyal hücrenin inaktivasyonuna yol açan hücre zarı işlevselliğinde geri dönüşü olmayan bir kayba neden olur. Bu işlem elektroporasyon olarak bilinir ve mikroorganizmaların inaktivasyonunda etkilidir (Zhang vd., 1994). Vurgulu elektrik alan uygulaması Şekil 1'de belirtilmiştir (Yangılar vd., 2013).



Şekil 1. Vurgulu Elektrik Alan Uygulaması (Pulsed Electric Field Application)

PEF sistemi esas olarak iki bölümden oluşur. Bunlardan biri yüksek voltajlı elektrik atım üretici diğeri ise gıdanın iki elektrot arasında elektrik akımına maruz bırakıldığı bir odadır. Yüksek voltajlı elektrik atım üretici, ekipmanın en önemli parçasıdır, çünkü bu parça üzerinde kısa sürede elektrik enerjisinin hızlı deşarjlarından elektrik atımları üretir (Alirezalu vd., 2020; Mosqueda-Melgar vd., 2008). Elektrik atımı gerçekleştirilen hücre membranının koruyucu niteliği kaybolur ve hücre içindeki yaşam materyalleri etkisini kaybeder (Evrendilek vd., 2004). Bu şekilde gıda örneklerinde mikroorganizmaların inaktivasyonuna ek olarak, gıdalarda bulunan enzimatik aktiviteye sahip proteinler, bazı PEF uygulama koşulları altında inaktive edilebilir. PEF uygulamasının bazı avantajları Tablo 2'de belirtilmiştir (Gómez vd., 2019; Sampedro vd., 2005). Vega-Mercado vd. (2001) *Pseudomonas fluorescens* kaynaklı proteaz enzim aktivitesinin, 6,2 kV/cm⁻¹ yoğunlukta ve 20 elektrik atımına maruz kaldıktan sonra %30 oranında azaldığını belirtmişlerdir. Farklı çalışmalardan elde edilen sonuçlar alan kuvveti, atım süresi ve atım sayısı enzim inaktivasyonunu etkileyen ana değişkenler olduğunu ve enzimlerin genellikle mikroorganizmalardan daha fazla PEF uygulamasına dirençli olduğunu göstermiştir (Ohshima vd., 2007).

Tablo 2. Vurgulu Elektrik Atım Uygulamasının Avantajları (Advantages of Pulsed Electric Field Application)

Avantajlar
Isıya duyarlı yiyecekleri işlemek için uygundur
Renk, tat ve besin maddeleri daha iyi korunur
Kısa işlem süresi ile gerçekleştirilebilir
Diğer işleme teknikleriyle kombinasyon imkanı sunar
Sağlığı tehdit eden kimyasal çözeltiler içermez
Birçok katı ve sıvı gıdaya uygulanabilir
Hücrelerin etkin bir şekilde inaktivasyonu gerçekleşir

Bu derlemede ise çiğ sütte istenmeyen kusurlara sebep olan bakteriyel kaynaklı lipaz enziminin inaktivasyonuna, yüksek derecedeki ısı işlemlerin çiğ sütte oluşturduğu olumsuz durumlar göz önüne alınarak alternatif olarak uygulanan vurgulu elektrik alan tekniğinin etkinliği araştırılmıştır.

5. Kaynak Araştırması (Literature Survey)

Yang vd. (2020) gerçekleştirdiği bir çalışmada vurgulu elektrik alan (PEF) tekniğinin uygulandığı çiğ sütün lipaz aktivitesi ölçümünü Krewinkel vd. (2016) tarafından belirtilen florometrik yöntemle ek olarak bazı modifikasyonlar uygulayarak gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada çiğ süt, 9 kV/cm⁻¹ ve 16 kV/cm⁻¹ yoğunlukta elektrik akımına maruz bırakılmış ve çalışma sonucunda ise herhangi bir işlem uygulanmamış olan çiğ süt ile kıyaslandığında 9 kV/cm⁻¹ yoğunlukta elektrik akımına maruz kalmış çiğ sütteki bakteriyel lipaz enzim aktivitesi değerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Bendicho vd. (2002) PEF işleminin *Pseudomonas fluorescens* bakterisi tarafından üretilen lipaz inaktivasyonunun işlem süresine ve elektrik alan gücünün yoğunluğuna bağlı olduğunu ve bu işlem sonunda lipazın yaklaşık %62'ini etkisiz hale getirdiğini belirtmişlerdir.

Sharma vd. (2014) gerçekleştirdiği bir çalışmada çiğ süte hem ısı işlem hem de PEF uygulaması ile sütte bulunan mikrobiyal kaynaklı lipaz enziminin aktivitelerini incelemişlerdir. Buna göre çiğ süte uygulanan 26 kV/cm⁻¹ yoğunluktaki PEF işlemi sütteki lipaz enziminin %82 oranında indirgediği ve bu oranın süte uygulanan 63-73 °C ısı işlem ile aynı oranda etki ettiğini ifade etmişlerdir.

Ho vd. (1997) PEF'in sürekli akış sistemiyle çiğ sütteki mikrobiyal kaynaklı bir enzim olan lipaz üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda 90 kV/cm⁻¹ yoğunluğu ile 30 elektrik atım uygulandıktan sonra lipaz enzim aktivitesinin %85 oranında indirgendini ifade etmişlerdir.

6. Sonuç ve Tartışma (Result and Discussion)

Süt insanlığın uzun yıllar boyunca hem içme sütü olarak hem de peynir, yoğurt gibi daha dayanıklı ürünlere işleyip tükettiği besleyici niteliğe sahip sıvı bir gıdadır. Çiğ sütün hijyenik açıdan uygun olmayan ortamlarda sağılması ve sağım sonrası işletmelere gelen tankların temizliğine önem verilmediğinde süt, çeşitli mikroorganizmalarla kontamine olmaktadır. Isıl işlemlere direnç gösteren proteaz ve lipaz enzimleri, kontamine olan psikrotrof bakterileri tarafından üretilir ve soğukta bekletilen sütlerde farklı problemlere neden olmaktadır. Lipaz enziminin aktivitesi sonucunda sütlerde duyuusal anlamda acılaşıma meydana gelmektedir. Ayrıca serbest yağ asitlerinin oranında artışa ve süt proteinlerinin pıhtılaşması ile uzun süre bekletilen paket sütlerinin dibinde bir sediment meydana gelebilmektedir.

Çalışma sonuçlarına bakıldığında ise, tüketici taleplerine uygun; taze, güvenilir ve besleyici niteliğe sahip sütlerin üretilmesinde yüksek ısı işlemlere maruz kalmadan geliştirilen ısı olmayan bir proses olan vurgulu elektrik alan tekniği bakteriyel kaynaklı lipaz enzimini yüksek oranda azalttığı görülmüştür. Ayrıca bu uygulamanın pastörizasyon sıcaklığının altında farklı sıcaklık değerleri ile kombine edilerek hem daha etkili sonuçlar alınacağı hem de çiğ sütün besin değeri açısından üzerinde farklı araştırmalar yapılabileceği düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması (Conflict of Interest)

Yazar tarafından herhangi bir çıkar çatışması beyan edilmemiştir. No conflict of interest was declared by the author.

Kaynaklar (References)

- Ajmal, M., Nadeem, M., Imran, M., & Junaid, M., 2018. Lipid compositional changes and oxidation status of ultra-high temperature treated Milk. *Lipids in health and disease*, 17(1), 1-11.
- Alirezalu, K., Munekata, P. E., Parniakov, O., Barba, F. J., Witt, J., Toepfl, S., Lorenzo, J. M., 2020. Pulsed electric field and mild heating for milk processing: a review on recent advances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(1), 16-24.
- Bendicho, S., Estela, C., Giner, J., Barbosa-Cánovas, G. V., & Martin, O., 2002. Effects of high intensity pulsed electric field and thermal treatments on a lipase from *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of dairy science*, 85(1), 19-27.
- Chen, L. D. R. M., Daniel, R. M., & Coolbear, T., 2003. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. *International dairy journal*, 13(4), 255-275.
- Cserhalmi, Z., Sass-Kiss, A., Tóth-Markus, M., & Lechner, N., 2006. Study of pulsed electric field treated citrus juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 7(1-2), 49-54.
- De 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.
- Deeth, H. C., & Fitz-Gerald, C. H., 2006. Lipolytic enzymes and hydrolytic rancidity. *Advanced Dairy Chemistry*, 2, 481-556.
- Deeth, H. C., 2006. Lipoprotein lipase and lipolysis in milk. *International Dairy Journal*, 16(6), 555-562.
- Deeth, H. C., Touch, V., 2000. Methods for detecting lipase activity in milk and milk products. *Methods*, 5(5), 555.
- Eneroth, Å., Ahrné, S., Molin, G., 2000. Contamination of milk with Gram-negative spoilage bacteria during filling of retail containers. *International Journal of Food Microbiology*, 57(1-2), 99-106.
- Evrendilek, G. A., Zhang, Q. H., Richter, E. R., 2004. Application of pulsed electric fields to skim milk inoculated with *Staphylococcus aureus*. *Biosystems Engineering*, 87(2), 137-144.
- Gehring, G., 1980. Multiplikation of bacteria during farm storage. In Factor influencing the bacteriological quality of raw milk. *International Dairy Federation Bulletin*, Document 120.
- Glantz, M., Rosenlöw, M., Lindmark-Månsson, H., Johansen, L. B., Hartmann, J., Höjer, A., ... & Paulsson, M., 2020. Impact of protease and lipase activities on quality of Swedish raw milk. *International Dairy Journal*, 107, 104724.
- Gómez, B., Munekata, P. E., Gavahian, M., Barba, F. J., Martí-Quijal, F. J., Bolumar, T., Lorenzo, J. M., 2019. Application of pulsed electric fields in meat and fish processing industries: An overview. *Food Research International*, 123, 95-105.
- Hasan, F., Shah, A. A., Hameed, A., 2009. Methods for detection and characterization of lipases: a comprehensive review. *Biotechnology advances*, 27(6), 782-798.
- Ho, S. Y., Mittal, G. S., Cross, J. D., 1997. Effects of high field electric pulses on the activity of selected enzymes. *Journal of food engineering*, 31(1), 69-84.
- Jaeger, K. E., Ransac, S., Dijkstra, B. W., Colson, C., van Heuvel, M., & Misset, O., 1994. Bacterial lipases. *FEMS microbiology reviews*, 15(1), 29-63.
- Krewinkel, M., Baur, C., Kranz, B., von Neubeck, M., Wenning, M., Scherer, S., ... & Fischer, L., 2016. A sensitive and robust method for direct determination of lipolytic activity in natural milk environment. *Food analytical methods*, 9(3), 646-655.
- Kumar, A., Parihar, S. S., Batra, N., 2012. Enrichment, isolation and optimization of lipase-producing *Staphylococcus* sp. from oil mill waste (Oil cake). *Journal of Experimental Sciences*, 3(8), 26-30.
- Li, N., Wang, Y., You, C., Ren, J., Chen, W., Zheng, H., & Liu, Z., 2018. Variation in raw milk microbiota throughout 12 months and the impact of weather conditions. *Scientific reports*, 8(1), 1-10.
- Machado, S. G., Baglinière, F., Marchand, S., Van Coillie, E., Vanetti, M. C., De Block, J., & Heyndrickx, M., 2017. The biodiversity of the microbiota producing heat-resistant enzymes responsible for spoilage in processed bovine milk and dairy products. *Frontiers in microbiology*, 8, 302.
- Mosqueda-Melgar, J., Elez-Martinez, P., Raybaudi-Massilia, R. M., Martin-Belloso, O., 2008. Effects of pulsed electric fields on pathogenic microorganisms of major concern in fluid foods: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(8), 747-759.
- Ohshima, T., Tamura, T., Sato, M., 2007. Influence of pulsed electric field on various enzyme activities. *Journal of Electrostatics*, 65(3), 156-161.
- Roy, R. N., 1980. Fluorimetric assay of the activity of extracellular lipases of *Pseudomonas fluorescens* and *Serratia marcescens*. *Journal of Applied Bacteriology*, 49(2), 265-271.
- Salgado, C. A., Baglinière, F., & Vanetti, M. C. D., 2020. Spoilage potential of a heat-stable lipase produced by *Serratia liquefaciens* isolated from cold raw milk. *LWT*, 126, 109289.
- Samaržija, D., Zamberlin, Š., & Pogačić, T., 2012. Psychrotrophic bacteria and their negative effects on milk and dairy products quality. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 62(2), 77-95.
- Sampedro, F., Rodrigo, M., Martinez, A., Rodrigo, D., & Barbosa-Cánovas, G. V., 2005. Quality and safety aspects of PEF application in milk and milk products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(1), 25-47.
- Saraç, N., Boran, R., Ökmen, G., & Aysel, U. G. U. R., 2008. Toprak ve Süt Kökenli Gram Pozitif Bakterilerde Lipaz Üretimi. *Research Journal of Biology Sciences*, 1(2), 23-28.
- Scudino, H., Silva, E. K., Gomes, A., Guimarães, J. T., Cunha, R. L., Sant'Ana, A. S., Cruz, A. G., 2020. Ultrasound stabilization of raw milk: Microbial and enzymatic inactivation, physicochemical properties and kinetic stability. *Ultrasonics sonochemistry*, 67, 105185.
- Sharma, P., Oey, I., & Everett, D. W. (2014). Effect of pulsed electric field processing on the functional properties of bovine milk. *Trends in food science & technology*, 35(2), 87-101.
- Sharma, P., Oey, I., Bremer, P., & Everett, D. W., 2014. Reduction of bacterial counts and inactivation of enzymes in bovine whole milk using pulsed electric fields. *International Dairy Journal*, 39(1), 146-156.
- Thomson, C. A., Delaquis, P. J., & Mazza, G., 1999. Detection and measurement of microbial lipase activity: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39(2), 165-187.
- Ünal, R. N., Besler, H. T., 2008. Beslenme sütün önemi. *Sağlık Bakanlığı Yayın*, 727.

- Vega-Mercado, H., Powers, J. R., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G., 2001. *Effect of added calcium and EDTA on the inactivation of a protease from Pseudomonas fluorescens M3/6 when exposed to pulsed electric fields* (pp. 121-134). Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc.
- Versaw, W. K., Cuppett, S. L., Winters, D. D., Williams, L. E., 1989. An improved colorimetric assay for bacterial lipase in nonfat dry milk. *Journal of Food Science*, 54(6), 1557-1558.
- Yang, S., Suwal, S., Andersen, U., Otte, J., Ahrné, L., 2020. Effects of pulsed electric field on fat globule structure, lipase activity, and fatty acid composition in raw milk and milk with different fat globule sizes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 102548.
- Yangilar, F., 2013. Süt ve Süt Ürünlerinde Hidroksimetilfurfural HMF. *Akademik Gıda*, 11(3), 70-76.
- Yangilar, F., Kabil, E., Yılmaz, F., 2013. Pef işleminin süt ve süt ürünlerinde uygulanabilirliği. *Manas Journal of Engineering*, 1(1), 43-50.
- Zhang, D., Palmer, J., Teh, K. H., Flint, S., 2020. Identification and selection of heat-stable protease and lipase-producing psychrotrophic bacteria from fresh and chilled raw milk during up to five days storage. *LWT*, 134, 110165.
- Zhang, Q., Chang, F. J., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. G., 1994. Inactivation of microorganisms in a semisolid model food using high voltage pulsed electric fields. *LWT-Food Science and Technology*, 27(6), 538-543.