

Çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesi ve lipaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Özlem Pelin CAN¹, Bahri PATIR², Mehtap Erşan³, Nazlı ERCAN⁴, Feride Düğenci³, Elif BULUT³

¹ Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Sivas

² Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Elazığ

³ Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Sivas

⁴ Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Sivas

Geliş Tarihi / Received: 25.09.2013, Kabul Tarihi / Accepted: 22.12.2013

Özet: Sağımdan sonra sütler çoğu zaman büyük işletmeler tarafından hemen kullanılmamakta ve belli bir süre bekletilmektedir. Isı işlemi uygulanmamış sütlerde mikrobiyel aktivite yanında lipaz aktivitesi de artmakta ve kaliteyi olumsuz yönde etkilemektedir. Bu çalışmada yeni sağılmış taze çiğ süt örnekleri, soğuk zincir altında en kısa sürede laboratuvara getirilerek iki gruba (A: 4+ 1 °C' de muhafaza edilen grup, B: 21+ 1 °C' de muhafaza edilen grup) ayrılmıştır. Örnekler muhafaza öncesi (0. saat) ile muhafazanın 2., 4., 6., 8., 12., 24. 48. ve 56. saatlerinde mikrobiyolojik (toplam psikrofil aerob bakteri (TPAB), lipolitik bakteri (LB), laktik asit bakterileri (LAB) ve *Pseudomonas* spp.) ve kimyasal (lipaz enzim aktivitesi ve pH) açıdan incelenmiştir. Çalışma 6 tekrardan oluşmuştur. Sonuçta mikrobiyel yük her iki grupta (A ve B), 0. saat ile 8. saat arasında hızla artmıştır. Muhafazanın 8. saatinde A ve B grubu örneklerde Lipolitik bakteri sayısı sırasıyla 5 ve 7,7 kob / ml olarak tespit edilmiştir. *Pseudomonas* spp. sayısı ise muhafaza süresince artış göstermiş, ancak 0-10. saat arasındaki artış daha hızlı olmuştur. Toplam psikrofil aerob bakteri yükü ise A ve B grubu arasında istatistikî olarak en belirgin fark 10. saatte gözlenmiştir (p<0.05). Laktik asit bakteri sayısında A ve B grubu arasında 8. saatten sonra istatistikî olarak daha anlamlı artışlar görülmüştür (p<0.05).

Anahtar kelimeler: Çiğ süt, lipaz aktivitesi, mikrobiyolojik kalite.

The detection microbiological quality and lipase activity of raw milk

Summary: The milk is not immediately use by large enterprises, after milking and certain period of time on hold. The heat treatment not applied milk increase microbial activity also lipase and negative effect to the quality. In this study, the new milking of fresh raw milk samples divided in two groups (A: 4+ 1 °C, B: 21+ 1 °C at storage group) which brought under cold chain. The samples were investigated microbiological (total psychrophile aerobe bacteria (TPAB), lipolytic bacteria (LB), lactic acid bacteria (LAB) and *Pseudomonas* spp.) and chemical (lipase activity and pH) in storage at hours 2nd, 4th, 6th, 8th, 12th, 24th, 48th ve 56th with before storage (0. hours). The study were repeated at 6 times. The number of hours of group A and B samples, respectively 5 and 7.7 lipolytic bacteria cfu / ml, respectively at 8th hours. *Pseudomonas* spp. increased number of storage period, but 0-10th between the time the increase was more rapid. The total psychotropic bacterial load statistically most significant difference between groups A and B, at 10th hours (p <0.05). Lactic acid bacteria group A and B showed a statistically significant increase in after 8th hours (p <0.05).

Key words: Raw milk, lipase activity, microbiological quality.

Giriş

Süt, geniş anlamda, bütün memeli hayvanların yavrularından sonra meme bezlerinde oluşturdukları biyolojik sıvı olarak tanımlanır [13]. Süt teknolojisinde "çiğ süt" denildiği zaman; süt hayvanının memesinden muntazam aralıklarla ve tam olarak sağılan, sonra soğutulan, içerisinden herhangi bir bileşeni alınmayan veya içerisine herhangi bir madde ilave edilmeyen, işlenmek üzere süt fabrikalarına kabul edilen ve önceden herhangi bir işleme tabi tutulmamış süt anlaşılmaktadır [7].

Aseptik koşullarda sağılan ve hemen analiz edilen sütün mililitresinde birkaç yüz bakteri bulunurken, bir süre beklemiş ve asitliği artmış 1 ml sütteki bakteri sayısı yüz milyonları bulur. Bakteri sayısının artışı, sağılan sütün bekleme süresi ve muhafaza sıcaklığı da büyük rol oynar [7].

Çiğ sütün düşük sıcaklıkta depolanması ile mikrobiyal lipoliz önemli bir hale gelmiştir [10]. Çiğ sütün işleme tabi tutulmadan önce soğuk hava depolarında bekletilmesi gibi süt endüstrisindeki gelişmelerle beraber; yüksek pastörizasyon sıcak-

lıklarındaki uygulamalar ve uzun raf ömrü temodurik psikotrofların önemine odaklanılmıştır. Aynı organizma içinde thermodurik ve psikrofilik özelliklerin kombinasyonu süt ürünlerinde bozulmalar için büyük bir potansiyel gösterir [6].

Çiğ sütte gelişen Psikrotrofik bakteriler sıklıkla ısıya dirençli olan ekstraselüler lipazları üretme kabiliyetindedirler. Lipaz aktivitesi pastörizasyon ya da UHT sonrasında süt ve süt ürünlerinde süt dışı tatların gelişimine katkıda bulunurlar. Ekstraselüler lipaz sentezi mekanizması ve bu bakteri tipinin sekresyonu sıklıkla araştırılmaktadır. Büyüme fazındaki bazı kültür şartları çevresel faktörler (pH, ısı ve havalandırma) ve nütrisyonel faktörler lipaz aktivitesini uyarır [9].

Sağımdan sonra sütler çoğu zaman büyük işlemler tarafından hemen kullanılmamakta ve belli bir süre bekletilmektedir. Isı işlemi uygulanmamış sütlerde mikrobiyel aktivite yanında lipaz aktivitesi de artmakta ve kaliteyi olumsuz yönde etkilemektedir. Bu çalışma, çiğ süt örneklerinde mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesi ve çiğ sütte bulunan lipaz enzimi ile mikrobiyel gelişme arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, Sivas ilinden ulusal üretim yapan bir çiftlikten sağlıklı görünen 4 sağmal süt ineğine ait 4 adet çiğ süt örneği alınmıştır. Sütü alınan ineklerin meme başı derileri sağım öncesi yıkanmıştır. Süt örnekleri, aseptik koşullarda direkt el sağımı ile Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF)'nin önerdiği şekilde alınmıştır. Aseptik koşullar altında temin edilen yaklaşık 200 ml süt örnekleri soğuk zincir altında (Ice box, 32 l, Ice pack Frizet Mod. T350) laboratuara getirilmiş ve aynı gün içinde mikrobiyolojik ve kimyasal yönden analiz edilmiştir. Numuneler iki gruba ayrılmıştır. Birinci grup (A) 4+ 1°C'de muhafaza edilen grup, ikinci grup (B) ise 21+ 1°C'de muhafaza edilen gruptur. Örnekler muhafaza öncesi (0. saat) ile muhafazanın 2., 4., 6., 8., 12., 24., 48. ve 56. saatlerinde mikrobiyolojik ve kimyasal aktivite açısından incelenmiştir. Mikrobiyolojik olarak toplam psikrofil aerob bakteri (TPAB), lipolitik bakteri (LB), laktik asit bakterileri (LAB) ve *Pseudomonas* spp., kimyasal olarak lipaz enzim aktivitesi ve pH yönünden bakılmıştır. Çalışma 6 kez tekrar edilmiştir.

Mikrobiyolojik analizler: Mikrobiyolojik analizler için, süt örnekleri bir parçalayıcının (Stomacher 400) özel torbasında 25 mL konulmuş ve üzerine steril %0.1'lik peptonlu sudan 225 mL ilave edilerek homojen hale getirilmiştir. Böylece örneğin 10-1 (1/10)'lik dilüsyonu hazırlanmıştır. Örneklerin her seyreltisinden 1'er ml kullanılarak iki seri halinde plak dökme metoduyla ekimleri yapılarak inkübasyon süresi sonunda 30-300 koloni içeren plaklar değerlendirilmiştir. Toplam aerob psikrofil bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA) (7±1°C'de 7 gün), toplam lipolitik bakteri sayımı için Trybutyryn agar (TA) (30±1°C'de 3 gün), Laktik asit bakteri sayımı için M17 Agar (30±1°C'de 48-72 saat), *Pseudomonas* spp. sayımları için *Pseudomonas* Agar Base (PA) (25±1°C'de 72 saat) kullanılmıştır.

Kimyasal analizler: Örneklerin pH değerleri pH metre ile ölçülmüştür. Lipaz enzim aktivitesi ise kültür süzütüsünden substrat olarak p-nitrofenil-palmitat (pNPP) [16] kullanarak spektrofotometrik yöntemle belirlendi. Substrat solusyonu hazırlanırken B solusyonuna (90 ml damıtılmış su içinde eritilmiş, 0.1 g arap zamkı ve 0.4 g Triton X-100), A solusyonu (10 ml propan-2-ol içinde çözülmüş 30mg pNPP) damla damla eklenerek ve karıştırılarak oluşturulmuştur. Substrat solusyonunun pH'sı tris tampon kullanarak 8,5'a ayarlanmıştır. Karışım örnek 9 ml substrat solusyonundan ve 1 ml uygun şekilde seyreltilmiş enzim örneğinden (kültür süzütüsünden) oluşturulmuştur. Karışım örneği 150 rpm'de çalışan çalkalayıcıda 37°C'de 30 dakika boyunca inkübe edilmiş ve spektrofotometrede 410 nm'de p-nitrofenol salınımı ölçülmüştür. Bir birim lipaz aktivitesi standart koşullar altında dakikada 1mol p-nitrofenol enzim solusyonunu açığa çıkardığı bulunmuştur [1].

İstatistiksel Analizler: Bu çalışmada, verilerin değerlendirilmesinde varyans analizi (ANOVA) testinden yararlanılmıştır. Ortalamalar, Fisher'in Least Significance Difference (LSD) metoduna göre ayrıştırılmıştır. Analizlerde Linear Regresyon Mix Modeller kullanıldı. Tüm analizlerde önem derecesi $\alpha = 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Bütün analizler Statistical Analysis System (SAS) [11] programından yararlanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Çiğ süt örneklerinin mikrobiyolojik, kimyasal analiz sonuçları ve sonuçların istatistiksel değerlendirmeleri Tablo 1 ve Tablo 2’de çalışma tekrarlarının ortalama değerleri log10 kob/ml hesaplanarak verilmiştir.

Mikrobiyel yük her iki grupta (A ve B), 0. saat ile 8. saat arasında hızla artmıştır. Muhafazanın 8. saatinde A ve B grubu örneklerde Lipolitik bakteri

sayısı sırasıyla 5 ve 7,7 kob / ml olarak tespit edilmiştir. *Pseudomonas* spp. sayısı ise muhafaza süresince artış göstermiş, ancak 0-10. saat arasındaki artış daha hızlı olmuştur. Toplam psikrofil aerob bakteri yükü ise A ve B grubu arasında istatistikî olarak en belirgin fark 10. saatte gözlenmiştir ($p<0.05$). Laktik asit bakteri sayısı $+4^{\circ}\text{C}$ ve $+21^{\circ}\text{C}$ grubu arasında 8. saatten sonra istatistikî olarak daha anlamlı artışlar görülmüştür ($p<0.05$).

Tablo 1. Çiğ süt örneklerinin mikrobiyolojik analiz bulguları (log10 kob/ml)

Bakteri	Gruplar	0	2	4	Süre (saat) 6	8	10	12	24	48
Toplam Psikrofil Aerob Bakteri	A	2,6 ^y	3,1 ^y	3,4 ^y	3,9 ^y	4,3 ^{zy}	4,6 ^{a,z}	4,9 ^z	4,7 ^z	5,1 ^z
	B	2,6 ^y	2,8 ^y	3,2 ^{zy}	3,6 ^z	3,9 ^z	3,7 ^{b,z}	4,1 ^z	4,3 ^z	4,6 ^z
<i>Pseudomonas</i>	A	1,1	1,2	1,2	1,3	1,3	1,6	1,4	1,3	1,5
	B	1,1	1,3	1,5	1,4	1,8	2,1	2,3	1,9	2,1
Laktik Asit Bakteri	A	2,9	2,9 ^y	3,1 ^y	3,2 ^y	3,1 ^{b,y}	3,1 ^{b,y}	3,3 ^{b,y}	4,1 ^{b,z}	4,9 ^{b,z}
	B	2,9 ^y	3,1 ^y	3,3 ^y	3,8 ^y	4,1 ^{a,y}	4,4 ^{a,y}	4,3 ^{a,y}	5,6 ^{a,z}	6,3 ^{a,z}
Lipolitik Bakteri	A	2,3 ^x	2,6 ^x	3,2 ^{b,x}	4,6 ^{b,yx}	5 ^{b,y}	5,2 ^{b,y}	5,4 ^{b,y}	6,3 ^{b,z}	6,8 ^{b,z}
	B	2,3 ^x	2,9 ^x	4,6 ^{a,y}	6,1 ^{a,zy}	7,7 ^{a,z}	7,9 ^{a,z}	8,3 ^{a,z}	9,1 ^{a,z}	9,8 ^{a,z}

a,b: aynı sütunda farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiki açıdan farklıdır ($p<0.05$).

x,y,z: aynı satırda farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiki açıdan farklıdır ($p<0.05$).

Muhafaza süresince mikrobiyel aktivitenin seyri göz önüne alındığında, lipaz enziminin değişimi ile bir paralellik gösterdiği, özellikle lipolitik mikroorganizma sayıları ile lipaz aktivitesi arasındaki ilişkinin daha kuvvetli olduğu gözlemlenmiştir.

Kimyasal analizlerdeki lipaz enzim aktivitesi de 8. saate kadar yükselmiş ve bundan sonraki saatlerde iniş çıkışlar gözlenmiştir. Muhafazanın 8. saa-

tinde A ve B grubu örneklerde lipaz aktivitesi 130,3 U/L ve 248,4 U/L olarak tespit edilmiştir. 0, 2, 4, 6 ve 8. saatlerdeki lipaz aktivitesi $+21^{\circ}\text{C}$ de $+4^{\circ}\text{C}$ ye göre daha yüksek artışı istatistikî olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). pH değerleri ise 8. saate kadar gruplar arasında paralellik göstermiş bu saatten sonra yükselen değerler istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür ($p<0.05$).

Tablo 2. Çiğ sütte belirlenen mikroorganizmaların kimyasal analiz bulguları.

	Gruplar	0	2	4	Süre(saat)6-8	10	12	24	48	
Lipaz Aktivitesi (U/L)	A	13,6 ^{b,x}	58,4 ^{b,y}	98,73 ^{b,y}	112,2 ^{b,zy}	130,3 ^{b,z}	122,93 ^{b,z}	131,3 ^{b,z}	141,2 ^{b,z}	156,4 ^{b,z}
	B	35,6 ^{a,x}	77,06 ^{a,x}	132,4 ^{a,y}	198,4 ^{a,y}	248,4 ^{a,z}	250,2 ^{a,z}	256,4 ^{a,z}	248,4 ^{a,z}	256,6 ^{a,z}
pH	A	6,68 ^z	6,63 ^z	6,59 ^z	6,57 ^z	6,5 ^{a,z}	6,5 ^{a,z}	6,2 ^{a,zy}	6 ^{a,y}	5,8 ^{a,y}
	B	6,68 ^z	6,6 ^z	6,5 ^z	6,5 ^z	6,2 ^{b,z}	6 ^{b,zy}	6 ^{b,zy}	5,2 ^{b,y}	4,21 ^{b,y}

a,b: aynı sütunda farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiki açıdan farklıdır ($p<0.05$).

x,y,z: aynı satırda farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiki açıdan farklıdır ($p<0.05$).

Tartışma ve Sonuç

İşlenmiş çiğ sütün içerdiği mikroorganizma sayısı pastörizasyonun başarısı ve süt ürünleri için önemlidir. Yüksek bakteri yoğunluğuna sahip sütlerin işlenmesi güçleşmekte, elde edilen ürünlerin kalitesini de düşürmektedir [14,15]. Çiğ sütün ve sıvı mamullerin muhafaza edildikleri sıcaklık dikkate alındığında psikotrof bakterilerin süt teknolojisinde ne derece önemli oldukları daha iyi anlaşılır [7].

Albenzio ve arkadaşlarının 2001 yılında yapmış oldukları çalışmada peynir üretim aşamasında mezofilik laktobasil üremesinde hem çiğ süttten hem de pastörize sütte artış olduğu gözlenmiştir. Çiğ sütteki 1. gündeki üreme 5,2 bulunurken, yaptığımız çalışmada A grubunda 4,1 ve B grubunda 5,6 sonuçlarıyla paralellik göstermiştir.

Lipazlar gliserol ester hidrolazları [EC.3.1.1.3,] olarak bilinir ve esterlerin hidroliz ve sentezini katalizleyen hidrolaz enzim sınıfına aittirler. Hayvansal ve bitkisel yağların normal koşullar altında tersinir hidrolizini katalizleyen enzimlerdir [4,8,17]. Süt lipoprotein lipaz (mLPL) (EC 3.1.1.1.34) süt yağ trigliseritlerinin lipolizinden sorumlu en temel lipolitik enzimdir [3]. Süt ve ürünlerin depolanacağı süreyi belirleyen bu olay lipaz enziminin aktivitesi sonucu oluşmaktadır.

Çiğ sütte lipolitik ve psikotrofik bakteri izolasyonu ve identifikasyonu çalışmasında 59 izolattan lipaz üretimi titrimetrik metod ile bakılmış, lipaz aktivitesi 8,5- 42 U/ml seviyelerinde bulunmuş, 24 izolatta 21-25 U/ml ve 4 izolatta 30 U/ml'den fazla tespit edilmiştir [6]. Bu çalışmada ise lipaz enzim aktivitesinde 8. saate kadar yükselişi görülmüştür. A ve B grubu örneklerde lipaz aktivitesi 130,3 U/L ve 248,4 U/L olarak tespit edilmiştir.

Aynı çalışmada 20 örnekte 5-9/ml lipolitik psikotrofik aktivite bulunmuştur [6]. Bu çalışmada ise lipolitik bakteri sayısı A ve B grubunda 8. saate sırasıyla 5 ve 7,7 kob / mL olarak tespit edilmiştir.

Desmaures ve arkadaşlarının 1997 yılında yapmış oldukları çalışmada yaz ve kış aylarına göre karşılaştırmalı olarak 69 örnekte çiğ sütte toplam bakteri sayısına bakmışlardır. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarında lactobacilli 72. saate 30°C'de kış aylarında 39 örnekte ortalama değer olarak $1,8 \times 10^2 \pm 6,9 \times 10^2$ ml-1, yaz aylarında 28 örnekte $1,8 \times 10^2 \pm 3,0 \times 10^3$ ml-1 olarak bulunmuştur.

Lactococci 39 örnekte $1,8 \times 10^2 \pm 1,2 \times 10^3$ ml-1, 30 örnekte $6,9 \times 10^2 \pm 3,6 \times 10^3$ ml-1 ise kış ve yaz ayları olmak üzere bulunmuştur. Bu çalışmadaki laktik asit bakteri yükü ise 1. günde A ve B grupları sırasıyla 4,1 ve 5,6 log10 kob/ml, 2. günde ise 4,9 ve 6,3 log10 kob/ml bulunmuştur.

Süte karışan *Pseudomonas*'ların sütte hızla çoğalıp, çeşitli fermentasyonlara, parçalanmalara neden olduğunu ve bu faaliyetler sonucunda süttün renginde kokusunda, yapı ve kıvamında birçok değişiklikler olduğunu göstermektedir [12]. Desmaures ve arkadaşlarının çiğ sütün mikrobiyolojik içeriği ile ilgili olan çalışmasında *Pseudomonas* çiğ sütte 48-72. saate 22°C'de kış aylarında 27 örnekte $2,0 \times 10^3 \pm 1,2 \times 10^3$ ve yaz aylarında 18 örnekte $1,8 \times 10^3 \pm 1,6 \times 10^4$ ortalama değerleri tespit edilmiştir [5].

Sonuçlar çiğ sütteki mikrobiyolojik aktivite ile lipaz aktivitesi arasında ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Elde edilen bulgulara göre yapılan bu çalışmada muhafaza süresince mikrobiyel aktivitenin seyri göz önüne alındığında, lipaz enziminin değişimi ile bir paralellik gösterdiği, özellikle lipolitik mikroorganizma sayıları ile lipaz aktivitesi arasındaki ilişkinin daha kuvvetli olduğu gözlemlenmiştir.

Süt mikroorganizmaların yaşaması ve üremesi için uygun bir ortam oluşturduğundan bu ürünün gerek temin koşullarının gerekse muhafaza koşullarının ne kadar önemli olduğu düşünülemez. Süt ürünlerinin kalitesi, ısıl işlem öncesi çiğ sütteki psikotrofik flora tarafından salgılanan ısıya dirençli enzimlerden ve süt ürünlerinin soğukta depolanması boyunca gelişen psikotroflar tarafından üretilen diğer metabolitlerden etkilenir.

Sonuç olarak çiğ süt az sayıda bakteri içerse bile sağımdan sonra çevreden çeşitli yollarla bulaşan mikroorganizmaların etkisiyle oldukça kısa sürede bozulur ve insanlarda hastalıklara yol açan birçok patojenin potansiyel kaynağını oluşturur.

Kaynaklar

1. Açikel, Ü., Erşan, M., Sağ Açikel, Y (2011). *The effects of the composition of growth medium and fermentation conditions on the production of lipase by R. Delemar*. Turk J Biol. 35: 35-44.
2. Albenzio, M., Corbo, M.R., Rehman, S.U., Fox, P.F., De Angelis, M., Corsetti, A., Sevi, A., Gobetti, M (2001). *Microbiological and biochemical characteristics of*

- Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk by heating the curd in hot whey.* Int J of Food Microbiology. 67: 35-48.
3. **Azzara, D., Dimick, P.S** (1985). *Lipoprotein lipase activity of milk from cows with prolonged subclinical mastitis.* J Dairy Sci. 68:3171-3175.
 4. **Balcao, V.M., Malcata, F.X** (1998). *Lipase catalyzed modification of milkfat.* Biotechnology advances. 16(2):309-341.
 5. **Desmaures, N., Bazin, F., Gueguen, M** (1997). *Microbiological composition of raw milk from selected farms in the Camembert region of Normandy.* Journal of applied Microbiology. 83: 53-58.
 6. **Matta, H., Punj, V** (1999). *Isolation and identification of lipolytic, psychrotrophic, spore forming bacteria from raw milk.* Int J of Dairy Technology. 52(2):59-62.
 7. **Metin, Mustafa** (2010). *Süt teknolojisi. Sütün bileşimi ve işlenmesi Kitabı.* Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.9.baskı
 8. **Öztürk, Banu** (2002). *Lipaz enzimi: Yapısal özellikleri ve uygulama alanları.* Gıda Mühendisliği Dergisi. S:20-23.
 9. **Perez-Esteban, J., Sanjose, C., Jaspe, A** (1997). *Lipase activity of pseudomonas fluorescens in cold raw skim milk with different lipid supplements.* Folia Microbiol. 42(4): 345-348.
 10. **Ray, P.R., Chatterjee, K., Chakraborty, C., Ghatak, P.K** (2013). *Lipolysis of milk: a review.* Int. J. Agric.Sc Vet. Med.
 11. **Sas:** *SAS/STAT User's Guide.* Release 6.12. Cary, NC: Statistical Analysis System Institute, Inc. 1996.
 12. **Şen, A., Halkman, A.K** (2006). *Çiğ sütte Pseudomonas aeruginosa sayılması için yöntem modifikasyonları üzerine çalışmalar.* Ortaokul on-line Mikrobiyoloji Dergisi. 4(2):2-13.
 13. **Tekinşen, Cenap** (2000). *Süt ürünleri teknolojisi.* Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya..3. baskı.ISBN:975-95678-1-7.
 14. **Uraz, T** (1988). *Çiğ sütlerin bakteriyolojik niteliklerine göre sınıflandırılması.* Gıda dergisi. 13(6): 393-397.
 15. **Uraz, G., Yücel, N** (1998). *Çiğ sütlerde koliform grubu mikroorganizmaların dağılımı üzerine bir araştırma.* Gıda dergisi. 23(4): 241-245.
 16. **Wonderwulbecke, T., Kieslich, K., Erdman, H** (1992). *Comparison of lipases by different assays.* Enzyme Microb Technol, 14: 631-639.
 17. **Zarevucka, M.** *Olive oil as inductor of microbial lipase.* Erişim adresi: http://cdn.intechopen.com/pdfs/27040/InTechMicrobial_biotechnology_in_olive_oil_industry.pdf