

PEF İŞLEMİNİN SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE UYGULANABİLİRLİĞİ

Filiz YANGILAR

Ardahan Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ardahan

Emre KABİL

Ardahan Üniversitesi Göle Meslek Yüksek Okulu, Ardahan

Firat YILMAZ

Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gümüşhane

Özet

Süt ve süt ürünlerinde mikroorganizmalar ile bunların kontrol altına alınması ürün güvenliği ve kalitesini artırmaya yönelik olarak gıda işlemenin temel amacını oluşturmaktadır. Gıdaların mikrobiyolojik güvenliğini sağlamak amacıyla; pastörizasyon, sterilizasyon, kurutma ve koyulaştırma gibi ısıl işlemlerin kullanımı oldukça yaygındır. Ancak gıdalarda ısı işleminin neden olduğu bazı olumsuzluklar (aroma, lezzet, vitamin kaybı, tekstürel yapıda bozukluk) gözlenebilmektedir. Bu problemler yeni uygulamaların geliştirilmesine ve kullanılmasına fırsat vermiştir. İsil işlem uygulamasına ilaveten elektromanyetik teknolojilerden biri olan vurgulu elektrik alan (PEF) yöntemi geliştirilmiştir. Geleneksel uygulamalarla karşılaştırıldığında daha az enerjiye ihtiyaç duyması ve zaman açısından verimli olmasından dolayı süt ve süt ürünlerinin üretiminde kullanılması mümkün bir yöntemdir. Bu derlemede, süt ve süt ürünlerinde mikroorganizmaların azaltılması ve böylece bu ürünlerin muhafazasının sağlanması için uygulanan işlemlerden, vurgulu elektrik alan (PEF) yöntemi ile mikrobiyolojik açıdan daha güvenilir ve daha kaliteli gıda üretiminin mümkün olabileceği vurgulanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Vurgulu elektrik alan (PEF), Kalite, Gıda güvenliği, Bakteri inaktivasyonu.

PRACTICABILITY OF PEF PROCESS IN DAIRY PRODUCTS

Abstract

The main aim of food process is to control microorganism in dairy products in terms of product safe and quality. Thermal processes for microbiological safety such as pasteurization, sterilisation, exsiccating and enriching are widespread. But because of heat heat processing in foods (aroma, taste, vitamin loss, damage in texturel structure) some negatiations are observed. These problems allow for using and improving of new applications. Besides thermal process application, pulse electric field (PEF) method, one of the electromagnetic technologies, was developed. Compared with the traditional applications, it is a possible method that can be used in dairy products, because of its need of less energy and being efficient in terms of time. In our rewiev, pulse electric field (PEF) method used in the reduction of microorganisms in dairy products and their protection discussed; also it was emphasized that with this method it is possible to produce more safe and qualified food productions.

Key words: Pulse electric field (PEF), Quality, Food safety, Bacteria inactivation.

1. Giriş

Hem üretici hem de tüketici açısından "güvenli gıda" ifadesi son derece önemlidir. Ancak güvenli gıda üretimi sırasında uygulanan geleneksel ısıl işlemler gıdanın besinsel ve kalite parametrelerinde arzulanmayan değişimlere neden olmaktadır. Bu olumsuzlukları gidermek amacıyla, son yıllarda gıdalarda başarıyla uygulanan tekniklerden birisi de vurgulu olarak (atımlı) elektrik alanı (PEF) vöntemidir. Vurgulu elektrik alan (Pulsed Electric Field-PEF), "atılımlı", "darbeli" elektrik alan, "yüksek voltaj elektrik alan" uygulamaları olarak da bilinmektedir [1]. Vurgulu elektrik alan (PEF) yöntemi uygulamalarında düşük sıcaklık derecelerinde gıdalardaki mikroorganizmaların ve enzimlerin inaktivasyonu gerçekleşmektedir [2–6]. PEF yönteminde 12–35 kV cm⁻¹ aralığındaki elektriksel alanda sıvı gıdalara kısa vurgularla (1–100 µs) atımlar uygulanırken, mikroorganizmalar üzerine ölümcül etki oluşturmaktadır [7, 8, 1]. Mikroorganizma türü, konsantrasyonu ve mikroorganizmanın gelişme aşamasında olup olmaması da PEF'i etkileyen faktörler arasında sayılabilmektedir [9].

PEF yöntemiyle gıdaların fizikokimyasal ve duyusal özellikleri daha iyi korunmakta ve daha az enerji harcanmaktadır. Bu yeni yöntemin avantajlarına ilaveten bazı dezavantajlarıda vardır. Bunlar, PEF yönteminin uygulandığı gıdaların genellikle sıvı özellikte olması ve viskoz gıdalar üzerinde henüz bir çalışma yapılmamasıdır [10–12]. Sıvı-katı ya da sıvı-gaz fazını birlikte içeren gıdalara uygulanması durumunda gıdanın fiziksel özelliklerinde bozulma olabilmektedir. Ayrıca ısıl işlem yerine tek başına bu tekniğin kullanımının günümüzde ve yakın gelecekte mümkün olmaması yeni teknikler içerisinde yer alan PEF teknolojisi için de en büyük dezavantajlardan bir tanesidir.

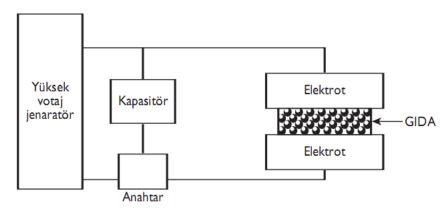
PEF teknolojisinde yüksek maliyet işleminden dolayı PEF ile ısıl işlem kombinasyonunun kullanımının daha etkili ve maliyeti azaltma açısından daha uygun olduğu tavsiye edilmiştir [13–17].

2. PEF Yöntem ve Mekanizması

Bu metotta sıvı gıda maddesi özel PEF odalarında iki elektrot arasında ön ısıtmaya tabi tutulurken (40 °C), yüksek voltaj elektrik alanına (20–80 kV/cm) maruz bırakılmaktadır [18, 19, 1]. Doğru akım güç kaynakları ile çalışan kapasitörlerde depolanan yüksek miktardaki enerjinin aniden boşaltılması ile elektrik alanları üretilir [20]. Yöntemin etkinliği; süreye, vurgu şiddeti ve sıklığına, uygulama sıcaklığına ve tabii ki gıdaya bağlıdır [21–23]. Bir gıda maddesine PEF uygulandığında ürünün yalıtkanlığı bozulmakta, hücre zarında deformasyon, gözenek çapında artış meydana gelmekte ve yeni gözenekler oluşmaktadır [19, 24]. Bunlara bağlı olarak çözünen madde geçişi artmaktadır. PEF uygulamasında mikro saniyeler ile ifade edilebilecek düzeyde kısa süreler uygulanmasına rağmen, oluşan gözenekler hücre zarından kütle transferini artırdığı için enerji kaybını azaltmaktadır [20]. Dielektrik parçalanma teorisine göre, dışarıdan uygulanan elektrik alan hücre membranı boyunca

transmembran potansiyel denilen bir elektrik potansiyel farkı oluşturur. Bu potansiyel kritik bir değere ulaştığında, hücre membranında por oluşumu veya elektroporasyon başlar, geçirgenliği artar. Hücre membranın koruyucu özelliği ortadan kalkar ve hücre içindeki yaşam materyalleri kaybolur. Bu geçirgenlikteki artış dışarıdan uygulanan elektrik alanın gücü kritik değere eşit ya da çok az aşmışsa geri dönülebilir düzeydedir [12, 25].

Darbeli elekrik alanı uygulaması Şekil 1'de verilmiştir [26].



Şekil 1. Darbeli elekrik alanı uygulaması

3. PEF' in Süt ve Süt Ürünlerinde Kullanımı ve Yapılan Çalışmalar

Araştırmalar PEF yönteminin sıvı gıdalar için özelliklede süt [27, 28] ve meyve sularında [29] başarıyla kullanıldığına işaret etmiştir. Süt ve süt ürünlerinin üretiminde PEF yöntemi, kazeinin koagülasyonu, kazein misellerinin büyüklüğü ve yapısı üzerinde etkili olmaktadır. Bu yöntemin, peynir üretiminde kullanılan sütün işlenmesinde uygun bir metot olduğu bildirilmektedir [30, 31]. Süt endüstrisindeki öneminden dolayı PEF yönteminin kullanılarak mikroorganizmaların inaktif hale getirilmesiyle ilgili birçok çalışma yapılmıştır

[32, 33]. PEF yöntemi uygulanan süt ve yağsız sütte, mikroorganizma sayısında 3–6 log'luk bir azalmanın olduğu bildirilmiştir [8, 34].

PEF yönteminin süt ürünlerindeki uygulamalarını daha çok yağsız süt, tam yağlı süt ve yoğurt gibi ürünler üzerindeki çalışmaları oluşturmaktadır. Genellikle bu yönteme mayalar, bakterilerden daha yüksek hassasiyet gösterirken, gram pozitif bakteriler gram negatif bakterilerden daha fazla direnç göstermektedirler. Yöntemin inaktivasyon etkinliği, nisin ve organik asitler gibi antimikrobiyal bileşenlerin varlığı, yüksek su aktivitesi ve pH, düşük ısı uygulamaları gibi diğer faktörlerle kombine edilerek artırılabilmektedir. Bu faktörlerin tümü, PEF'in inaktivasyonu üzerine sinerjist bir etkiye sahiptir [8, 35].

Birçok çalışmada PEF tekniği, sütte farklı mikroorganizmaların inaktivasyonunda kullanılmış ve sütteki patojen mikroorganizmaların (*E. coli*, *Listeria*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Sacharomyces* ve *Candida* türlerine ait bazı patojen suşlar) yüksek oranda inhibe edildiği bildirilmiştir [19, 36].

Sepulveda ve ark., [37] PEF ile ısıl işlem tekniğinin ortak kullanımı sonucunda sütün işlenmesinde daha etkin bir koruma yönteminin oluştuğunu ve sütün duyusal özellikleri üzerinde önemli bir değişiklik gözlenmeden raf ömrünün 4 haftaya kadar uzatılabildiğini bildirmişlerdir.

Jaeger ve ark., [38] *E. coli*'nin mikrobiyal inaktivasyonu açısından çiğ sütteki alkali fosfat aktivitesi üzerine (ALP) PEF'in etkisini incelemek amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Isıl inaktivasyona karşı duyarlı olan alkali fosfatın, PEF yönteminden sonra %98'den %72'ye kadar aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Bulunan bu bulgular ışığında, sıvı gıda sistemlerindeki enzim aktivitesinin sınırlandırılması ve mikroorganizma inaktivasyonu için PEF'in başarılı bir şekilde kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Guerrero-Beltran ve ark., [39] sütteki *Listeria innocua* bakterisinin inaktivasyonu için ısıl ve PEF yöntemlerini birlikte uygulamışlardır. 10 saniyeden daha kısa bir sürede 20–72 °C sıcaklıkta ve 1–30 atım sayısıyla 30 ve 40 kV/cm elektriksel alan kullanmışlardır. Sütün işlenmesinde 30 kV/cm elektriksel alan uygulamasında 10, 17.5, 20 ve 25 atım kullanarak sırasıyla 43, 33, 23 ve 13 °C'lerde 4.3 log'luk maksimum inaktivasyon görüldüğünü bildirmişlerdir. Süt ısıtılıp 40 kV/cm elektriksel alan uygulandığında ise, 3, 10, 12.5, 15 ve 20 atım kullanılarak *L. innocua* bakterisinin inaktivasyonunda yaklaşık 4.3 log'luk bir azalma gözlenmiştir. Sıcak süt, elektriksel alan yoğunluğunun 40 kV/cm olduğu, birkaç atımla ve ilk sıcaklık 55 °C'ye yakın olduğunda *L. innocua* ve enerji tüketimi arasında en iyi dengeyi sergilediği arastırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Sepulveda ve ark., [40] sütün raf ömrünün uzatılması amacıyla, ısıl işlemle beraber PEF işlemini uygulamışlardır. 35 kV/cm elektrik alan gücüyle ve 2.3 µs genişliği ile beş atımı 10 saniyeden daha kısa süreyle 65 °C'deki süte uygulamışlardır. Bu yöntemle sütün raf ömrünün 24 gün daha uzatıldığını bildirmişlerdir. Sütün raf ömrünün uzatılması için PEF işlemi ile ısıl uygulamaların başarılı bir şekilde kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Bermudez-Aquirre ve ark., [33] PEF yöntemiyle çilekli sütte Allura kırmızı renk ajanının degradasyonunun analizini yürütmüşlerdir. Allura kırmızı içeriğini, ticari iki süt ve iki model sistemi ile dört sistem kullanarak test etmişlerdir. PEF şartları 40 kV/cm, 48 atımlı (2.5 μs) ve 55 °C'de renk ajanını RP-HPLC yöntemiyle incelemişlerdir. İşlem sonrası, renkte, Allura kırmızı içeriğinde ve pH'da çok küçük değişimler gözlendiği bildirilmiştir. 32 gün süreyle buzdolabı şartlarında (4 °C) ve pH 6'nın üstünde örnekler depolanmıştır. Model sistemleri 10 günlük depolamadan sonra pH 6'nın altına düşmüştür.

Sütteki Allura kırmızı ajanının stabilitesi katkı maddeleri eklenmediği zaman PEF yönteminden zarar görmediği bildirilmiştir.

Yu ve ark., [41] tarafından yürütülen bir çalışma, ısı işlemiyle pastörize edilen ve PEF ile muamele edilen çiğ sütün özelliklerini karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır. PEF uygulamasında elektriksel alanın yoğunluğu (E) 30 kV/cm, 120 atımla 55 °C'de sıcaklık şartlarında çalışmışlardır. Sonuçlar sütün koagülasyonunu önemli derecede atım sayısının (N), sıcaklığın ve E'nin artırdığını göstermiştir. Ancak, deneylerde ısı ile pastörize edilen sütlerdense, PEF ile muamele edilen örneklerdeki pıhtılaşmanın daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma ile peynir üretiminde kullanılacak süte PEF uygulamasının güzel sonuçlar ortaya çıkaracağını sunmuşlardır.

4. Sonuç

Tüketicilerin raf ömrü uzun olan ve son tüketim tarihine kadar besinsel ve duyusal yönden tazeliğini koruyan ürünlere olan tercihleri, üreticileri bu alan üzerinde daha fazla araştırma yapmaya zorlamaktadır. Bu amaçla, oldukça yeni bir uygulama olan PEF yöntemi duyusal özelliklerin korunması ve mikrobiyolojik açıdan daha güvenilir ürünlerin tüketicilere kazandırılmasında başarılı bir şekilde gıda muhafaza metodu olarak geliştirilen bir yöntemdir. Ancak daha çok yeni bir uygulama olan bu yöntem üzerine çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Kaynaklar

- [1] Özcan T. and Kurtuldu O. Sütün Raf Ömrünün Uzatılmasında Alternatif Yöntemler. U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 25 (1) (2011), pp. 119-129.
- [2] Amiali M., Ngadi M.O., Smith J.P., Raghavan G.S.V. Synergistic effect of temperature and pulsed electric field on inactivation of *Escheria* coli O157:H7 and *Salmonella enteriditis* in liquid egg yolk. J. Food Eng., 79 (2) (2007), pp. 689-694.
- [3] Gerlach D., Alleborn N., Baars A., Delgado A., Moritz J., Knorr D. Numerical simulations of pulsed electric fields for food preservation: a review. Innovat. Food Sci. Emerg. Technol, 9 (4) (2008), pp. 408-417.
- [4] Riener J., Noci F., Cronin D., Morgan D., Lyng J. Combined effect of temperature and pulsed electric fields o pectin methyl esterase inactivation in red grapefruit juice (Citrus paradisi) Eur. Food Res. Technol. 228 (2009): 373-379.
- [5] Saldana G., Puertolas E., Monfort S., Raso J., Alvarez I., Defining treatment conditions for pulsed electric field pasteurization of apple juice. Inter J. Food Microbiol, 151 (1) (2011), pp. 29-35.
- [6] Huang K., Tian H., Gai L., Wang J. A review of kinetic models for inactivating microorganisms and enzymes by pulsed electric field processing. J. Food Eng, 111 (2012): 191-207.
- [7] Alvarez I., Raso J., Palop A., Sala F.J. Influence of different factors on the inactivation of *Salmonella senftenberg* by pulsed electric fields. Inter J. Food Microbiol, 55 (2000): 143-146.

- [8] Temiz H., Tarakcı Z. and Aykut U. Süt ve Ürünlerinde Mikroorganizmaları Azaltmada Alternatif Yöntemler. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Mayıs 21-23, 2008, Erzurum-Türkiye.
- [9] Toepfl S., Heinz V., Knorr D. High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. Chemical Engineering and Processingl. 46 (6) (2007), pp. 537-546.
- [10] Qin B., Zhang Q., Barbosa-Cánovas G.V., Swanson B., Pedrow P. Pulsed electric field treatment chamber design for liquid food pasteurization using a finite element method. Transactions of the ASAE, 38 (2) (1995), pp. 557-565.
- [11] Jeyamkondan S., Jayas D.S., Holley R.A. Pulsed electric field processing of foods: A review. J. Food Prot, 62 (1999): 1088-1096.
- [12] Karadag A., Omeroglu P.Y. and Saner S. (2008). Gıda muhafazasında yeni teknolojilerin kullanımı. http://www.ggd.org.tr/icerik.php?id=168 (Erişim tarihi 21.11.2012).
- [13] Hulsheger H., Pottel J., Niemann E. Killing of bacteria with electric pulses of high fields strength. Radiation and Environment Biophysics 20 (1) (1981), pp. 53-65.
- [14] Jayaram S., Castle G., Margaritis A. Effects of high electric field pulses on Lactobacillus brevis at elevated temperatures. IEEE Industrial Application Society 40 (11) (1991), pp. 674-681.
- [15] Jayaram S., Castle G.S.P., Margaritis A. Kinetics of sterilization of Lactobacillus brevis cells by the application of high voltage pulses.

 Biotechnology and Bioengineering 4 (11) (1992), pp. 1412-1420.
- [16] Zhang Q., Monsalve-González A., Barbosa-Cánovas G., Swanson B. Inactivation of *E. coli* and *S. cerevisiae* by pulsed electric fields

- under controlled temperature conditions. Transactions of the ASAE 37 (2) (1994), pp. 581-587.
- [17] Sepulveda D.R., Guerrero J.A., Barbosa-Cánovas G.V. Influence of electric density on the bactericidal effectiveness of pulsed electric field treatments. J. Food Eng, 76 (2006): 656-663.
- [18] Evrendilek G.A., Zhang Q.H., Richter E.R. Application of pulsed electric fields to skim milk inoculated with *Staphylococcus aureus*. Biosystem Engineering, 87 (2) (2004), pp. 137-144.
- [19] Kavas G., Kavas N., Gönç S. and Kınık Ö. Süt teknolojisinde pulse elektrik alan uygulamaları. Gıda Mühendisliği 5. Kongresi, Kasım 8-10, 2007, Ankara-Türkiye.
- [20] Ngadi M.O., Gachovska T.K., Simpson M.V., Raghavan G.S.V. Pulsed electric field treatment of carrots before drying and rehydration. J. Sci. Food Agric, 89 (2009): 2372-2376.
- [21] Wesierska E., Trziska T. Evaluation of the use of pulsed electrical field as a factor with antimicrobial activity. J. Food Eng, 78 (2007): 1320–1325.
- [22] Mittal G.S., Griffiths M.W. Pulsed Electric Field Processing of Liquid Foods and Beverages. Emer. Technol. Food Process, ed: Sun, D.W., Vol: 1, Elsevier- Academic Press, Italy, pp. 99-139, 2005.
- [23] Eroglu E., Yıldız H. Gıdaların Ozmotik Kurutulmasında Uygulanan Yeni Tekniklerin Enerji Verimliliği Bakımından Değerlendirilmesi. Electronic Journal of Food Technologies Vol:6 (2) (2011), pp. 41-48.
- [24] Sagdıc O., Ekici L. and Yetim H. Gıdaların muhafazasında yeni mikrobiyal inaktivasyon metotları. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Mayıs 21-23, 2008, Erzurum-Türkiye.

- [25] Alanyalı F.S., Sarıözlü N.Y., Güven A., Kıvanç M., Yılmaz M., Demirel R., Güven K. and Mutlu M.B. Gıda Muhafaza. Anadolu Üniversitesi Web-Ofset Tesisleri, Eskişehir, pp. 106-107, 2009.
- [26] Singh R.P. Technical elements of new and emerging non-thermal food Technologies, http: Erişim tarihi: 20 Şubat 2013.
- [27] Walking-Ribiero M., Noci F., Cronin D.A., Lyng J.G., Morgan D.J. Antimicrobial effect and shelf-life extension by combined thermal and pulsed electric field treatment of milk. Journal of Applied Microbiology, 106 (2009): 241-248.
- [28] Craven H.M., Swiergon P., Ng S., Midgely J., Versteeg C., Coventry M.J., Wan J. Evaluation of pulsed electric field and minimal heat treatments for inactivation of Pseudomonads and enhancement of milk shelf-life. Innovat. Food Sci. Emerg. Technol 9 (2) (2008), pp. 211-216.
- [29] Walking-Ribiero M., Noci F., Cronin D.A., Lyng J.G., Morgan D.J. Inactivation of *Escheria coli* in a tropical fruit smoothie by a combination of heat and pulsed electric fields. J. Food Sci, 73 (8) (2008), pp. 395-399.
- [30] Kelly A.L., Zeece M. Applications of novel technologies in processing of functional foods. Austrilian J. Dairy Technol, 64 (1) (2009), pp. 12-16.
- [31] Cruz A.G., Faria J.A.F., Saad S.M.I., Bolini H.M.A., Ana A.S.S., Cristianini M. High pressure processing and pulsed electric fields: potential use in probiotic dairy foods processing. Trends in Food Sci. and Technol, 21: (2010), 483-493.

- [32] Zhang Q., Qin B., Barbosa-Cánovas G.V., Swanson B.G., Inactivation of *E.coli* for food pasteurization by high-strenght pulsed electric fields. J. Food Process. Preserv, 19 (1995): 103-118.
- [33] Bermúdez-Aguirre D., Yáñez J.A., Patrick Dunne C., Davies N.M., Barbosa-Cánovas G.V. Study of strawberry flavored milk under pulsed electric field processing. Food Research International, 43 (2010): 2201-2207.
- [34] Michalac S., Alvarez V., Ji T., Zhang Q.H. Inactivation of selected microorganisms and properties of pulsed electric field processed milk. J. Food Process. Preserv, 27 (2003): 137-151.
- [35] Devlieghere F., Vermeiren L., Debevere J. New preservation technologies: Possibilities and limitations. Int. Dairy J, 14 (2004): 273-285.
- [36] Fernández-Molina J.J., Bermúdez-Aguirre D., Altunakar B., Swanson B.G., Barbosa-Cánovas G.V. Inactivation of Listeria innocua and Pseudomonas fluorescens by pulsed electric fields in skim milk: Energy requirements. J. Food Process Eng, 29 (6) (2006), pp. 561-573.
- [37] Sepulveda D.R., Gongora-Nieto M.M., Guerrero- Beltrán J.A., Barbosa-Cánovas G.V., Extension of milk shelf-life by a hurdle combination of pulsed electric fields and a mild thermal treatment. Institute of Food Technologists, Annual Meeting, Book of Abstracts, 2003.
- [38] Jaeger H., Schulz A., Kapetkov N., Knorr D. Protective effect of milk constituents and sublethal injuries limiting process effectiveness during PEF inactivation of Lb. rhamnosus. Inter. J. Food Microbiol, 134: 154-161, 2009.

- [39] Guerrero-Beltran J.A., Sepulveda D.R., Gongora-Nieto M.M., Swanson B., Barbosa-Canovas G.V. Milk thermization by pulsed electric fields (PEF) and electrically induced heat. J. Food Eng, 100 (2010): 56-60.
- [40] Sepulveda D.R., Go'ngora-Nieto M.M., Guerrero J.A., Barbosa-Ca'novas G.V. Shelf life of whole milk processed by pulsed electric fields in combination with PEF-generated heat. LWT-Food Science and Technology 42 (2009): 735-739.
- [41] Yu L.J., Ngadi M., Raghavan G.S.M. Effect of temperature and pulsed electric field treatment on rennet coagulation properties of milk. J. Food Eng, 95 (2009): 115-118.