



SOMATİK HÜCRELER VE ENDOJEN ENZİMLERİNİN SÜT TEKNOLOJİSİNDEKİ ÖNEMİ

Elif Özer*, Gülfem Ünal, Harun Kesenkaş, A. Sibel Akalın
Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 04.08.2017; Kabul / Accepted: 23.10.2017; Online baskı / Published online: 21.11.2017

Özer, E., Ünal, G., Kesenkaş, H., Akalın, A.S. (2017*). Somatik hücreler ve endojen enzimlerinin süt teknolojisindeki önemi. *GIDA* (2017) 42 (6): 763-772 doi: 10.15237/gida.GD17072

ÖZ

Çiğ sütte baskın hücre tipi olarak yer alan somatik hücreler makrofajlar, polimorfonükleer nötrofil hücreleri, lenfositler ve epitel hücreler olmak üzere dört temel hücre çeşidinden oluşurlar. Sütte bulunan somatik hücre sayısı meme sağlığı ve süt kalitesinin belirlenmesinde önemli bir gösterge olarak kullanılmaktadır. Yüksek somatik hücre sayısının peynir, yoğurt gibi süt ürünlerinde etkisi olumsuz olarak tanımlanmakta ve ürünlerin kalitesini düşürdüğü belirtilmektedir. Ancak son yıllarda somatik hücrelerin süt ürünlerinin özellikle peynirin teknolojik özelliklerine olumlu etkileri de olabileceği gösterilmiş, son ürün kalitesini endojen enzimleri aracılığıyla iyileştirdikleri belirlenmiştir. Katepsin B, D, G ve elastaz kazeine karşı aktivite gösteren somatik hücre kaynaklı önemli proteazlardır. Bu enzimlerin aktiviteleri somatik hücre sayısının artışına bağlı olarak artmaktadır. Bu hücrelerin ve endojen enzimlerinin süt ürünleri üzerindeki etkisini mastitis etmenlerinden bağımsız olarak araştırmak amacıyla somatik hücrelerin süttten izolasyonunu ve konsantrasyonunu sağlayan çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Sağlıklı hayvandan elde edilen süte katılan somatik hücrelerin peynirde teknolojik parametreleri olumsuz etkilemediği ve endojen enzimleri vastasıyla proteolizi artırdığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Somatik hücre, endojen enzimler, peynir, proteoliz

THE IMPORTANCE OF SOMATIC CELLS AND THEIR ENDOGENOUS ENZYMES IN DAIRY TECHNOLOGY

ABSTRACT

Somatic cells, which are predominant cell type in raw milk, consist of four main types as macrophages, polymorphonuclear neutrophils cells, leucocytes, and epithelial cells. Somatic cell count in milk is used as an indicator for mammary health and milk quality. High somatic cell count in milk is considered as a negative factor for some dairy products like yoghurt and cheese, so can reduce the quality of the end-product. But in recent years, it has been shown that they have positive effects on the technological properties of dairy products especially cheese and improve the final product quality by their endogenous enzymes. Cathepsin B, D, and G, and elastase are important somatic cell derived proteases that exhibit activity against casein. The activities of these enzymes increase due to the increase in the number of somatic cells. Some isolation and concentration methods have been developed in order to investigate the effects of somatic cells and their endogenous enzymes on dairy products independent from mastitis factors. It has been determined that somatic cells added to the milk obtained from healthy animals did not affect technological parameters negatively in cheese and increase proteolysis via their endogenous enzymes.

Keywords: Somatic cell, endogenous enzymes, cheese, proteolysis.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ elif.ozer@ege.edu.tr

☎ (+90) 232 311 4469

☎ (+90) 232 342 5713

GİRİŞ

Sütte doğal olarak bulunan somatik hücreler meme sağlığı ve süt kalitesinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Liu vd., 2012; Olechnowicz ve Jaskowski, 2012; Hunt vd., 2013). Çoğu ülkede sütün hijyenik kalitesinin belirlenmesinde ve çiğ süt fiyatının oluşumunda somatik hücre sayısı esas alınmaktadır (More vd., 2013). Somatik hücreler doğal savunma mekanizmasının bir parçası olup lenfositleri, makrofajları, polimorfonükleer (PMN) ve epitel hücreleri kapsamaktadır (Jimenez-Granado vd., 2014). Somatik hücrelerin süt ürünlerinin üretiminde ve son üründeki rolleri genellikle kötü tanımlanmış; bu da yüksek somatik hücre sayısının sütün fizikokimyasal değişimi, bakteri sayısı ve mastitis ile birlikte anılmasından kaynaklanmıştır. Mastitis süt endüstrisinde kalite ve verimi düşürerek en fazla ekonomik kayba yol açan meme iltihabı hastalığı olarak görülmektedir (Boland vd., 2013; Deb vd., 2013; Pilla vd., 2013; Nyman vd., 2014). Çoğunlukla patojen bakterilerin neden olduğu mastitiste, fiziksel travma ve tahriş nedeniyle memede süt salgılanmasında görev alan dokular zarar görmektedir (Tiwari vd., 2013; Reshi vd., 2015; Sserunkuma vd., 2017).

Somatik hücreler doğumdan itibaren bağışıklık sisteminin bir parçasını oluşturmakta ve meme bezlerinin enfeksiyonlara karşı korunmasında görev almaktadır. Somatik hücre sayısı; hayvanın türü, yaşı, laktasyon aşaması, sürü büyüklüğü, süt üretim düzeyi, beslenme, memenin enfeksiyon durumu ve çevresel faktörlere göre değişmektedir (Sundekilde vd., 2012). Örneğin inek sütünde somatik hücre sayısı $>2 \times 10^5$ hücre/mL düzeyinde olduğu zaman memenin enfekte olduğundan şüphe edilir. Somatik hücre sayısı $>4 \times 10^5$ hücre/mL olduğunda ise söz konusu inek sütleri Avrupa'da içme sütü üretiminde kullanılmamaktadır. Diğer yandan keçi sütlerinin içerdiği somatik hücre sayısının inek sütüne oranla genellikle daha fazla olduğu, geç laktasyon döneminde sağlıklı süt keçilerinde bile fizyolojilerinden dolayı fazla miktarda somatik hücreye rastlandığı bildirilmektedir (Jimenez-Granado vd., 2014; Albenzio vd., 2015; Leitner vd., 2016).

Günümüze kadar sütte somatik hücre varlığı olumsuz olarak kabul edilmiştir. Yüksek somatik hücre sayısı, yüksek enzim aktivitesi demektir ki bu da süt bileşenlerinin zarar görmesi ve üründe çeşitli kusurların meydana gelmesi anlamına gelmektedir (Murphy vd., 2016). Peynirde pıhtılaşma özellikleri ve somatik hücre sayısı arasında bir ilişki olmadığı (Bonfatti vd., 2014), ya da peynir veriminin somatik hücre sayısından etkilenmediği (Pretto vd., 2013) yönünde çeşitli görüşler olsa da, genel görüş yüksek somatik hücre sayısının sütün raf ömrünü kısaltarak çeşitli ürünlere özellikle peynire işlenmesinde olumsuz etkileri olduğu, bu sütlerden üretilen peynirlerde verimin düşük olduğu yönündedir (Albenzio vd., 2012; Rovai vd., 2015a-b; Troendle vd., 2016). Son yıllarda ise somatik hücrelerin ve endojen enzimlerinin süt ürünlerinin bileşimini ve teknolojik özelliklerini olumlu yönde etkileyebileceği, böylece son ürünün kalitesini arttırabileceği düşünülmektedir. Ancak mastitisle birlikte sütte bakteri popülasyonu, plazmin gibi kandan gelen enzimler ile makrofaj, PMN ve lenfosit gibi lökosit hücrelerinin artışı yanında laktoz sentezinde görev alan epitel hücrelerin zarar görmesine bağlı olarak laktoz miktarının düşüşü, ayrıca kalsiyum ve kazein miktarının azalması gibi çeşitli farklılıklar oluşmakta ve böylece sütün bileşiminde meydana gelen değişiklikler somatik hücrelerin süt ürünlerindeki rollerinin tam olarak tanımlanamamasına yol açmaktadır (Hachana vd., 2012; Oikonomou vd., 2014; Rovai vd., 2015b; Li vd., 2017). Mastitisli hayvandan elde edilen sütlerden üretilen ürünlere kaliteyi etkileyen asıl önemli nokta somatik hücre sayısının artışı değil buna zemin hazırlayan etmenlerdir (Leitner vd., 2016). Dolayısıyla mastitisli süttten izole edilip mastitise bağlı farklılıkları içermeyen süte eklenen somatik hücrelerin ürün kalitesine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı, hatta çeşitli ürünlerde özellikle peynirde olgunlaşma prosesine olumlu etkileri olabileceği belirlenmiştir.

MEMENİN KORUNMASINDA SOMATİK HÜCRELERİN ETKİLERİ

Somatik hücreleri oluşturan hücre tipleri, morfolojik-biyolojik özellikleri ve farklı hayvan türlerindeki oranları Çizelge 1'de görülmektedir.

Somatik hücrelerin memede bulunmasının iki amacı vardır: Enfeksiyona sebep olan mikroorganizmaları fagositoz ile ortadan kaldırmak ve hasara uğramış süt salgı dokularını onarmaya yardım etmek. Makrofajlar bakteri enfeksiyonuna karşı fagositoz yoluyla mücadele ederler. Ayrıca, bu hücreler işgalci patojenleri tanıyarak bağışıklık sisteminin tepki vermesini sağlarlar (Damm vd., 2017). Enfeksiyon sırasında kemoatraktan olarak da adlandırılan kimyasal uyarıcılar salgırlar. Bu kimyasal uyarıcıları algılayan PMN hücreler enfeksiyonlu bölgeye

ulaştığında oksidatif ve oksidatif olmayan mekanizmaları bir arada kullanarak mikroorganizmaları öldürürler. Lenfositler de bağışıklık sisteminde özel belirleyici bir role sahiptirler. Bunlar spesifik membran reseptörleri ile işgalci patojenlere yönelik antijenleri tanıyabilme özelliğine sahip hücrelerdir. Epitel hücreleri ise meme bezlerinin ilk savunma hattını oluştururlar ve farklı türlerde yavrunun bağışıklık sistemlerinde görev alırlar (Li vd., 2014).

Çizelge 1. Sağlıklı sütteki somatik hücre çeşitleri ve özellikleri (Li vd., 2014; Alhussien vd., 2015; Damm vd., 2017)

	Makrofajlar	PMN hücreler	Lenfositler	Epitel hücreler
Morfolojik özellikler	Büyük çekirdek	Değişken çekirdek	Yoğun ve yuvarlak çekirdek	Yuvarlak çekirdek
Biyolojik özellikler	-Fagositoz -Antijen salgılanma -Kemoatraktan salgılanma	-Fagositoz -Antibakteriyel özellikte salgı -Kemoatraktan algılama	-Belirli bağışıklık sistemi sitokinlerinin üretimi -Değiştirilmiş ya da hasar görmüş konakçı hücrelerin lizizi	-Kemoatraktan salgılanma
Farklı hayvan türlerine ait sütlerde somatik hücre tipi yüzdeleri				
	35-79 ^a	3-26	16-28	2-15
İnek	26	16	23	36 ^a
	40	10	50 ^a	-
	60 ^a	12	28	-
	13	28	29	45 ^a
	79	13	19	-
	66.92	18.5	14.58	-
Koyun	46-86 ^a	2-28	11-20	1-2
	57 ^a	31	8	2
Keçi	15-41	45-74 ^a	9-20	6
	11	79	10	-

^a Baskın hücre tipi

Süt içerisindeki somatik hücre tipleri ve toplam somatik hücre sayısındaki yüzdeleri birçok faktöre bağlı olarak değişebilir (Li vd., 2014). Örneğin her hücre tipinin spesifik bir fonksiyonu olduğundan lökositlerin normal ve mastitisli sütte dağılımları farklılık göstermektedir. Mastitisli bir inekten elde edilen sütte PMN hücre miktarı %90-95'e ulaşabilmektedir (Pilla vd., 2013; Damm vd., 2017). Enfekte olmamış inek sütünde ise somatik hücre sayısı düşük olup, büyük ölçüde lenfosit ve makrofajlardan oluşmaktadır (Pilla vd., 2012).

Somatik hücre sayısı ve somatik hücre tipleri tam olarak birbiriyle bağlantılı olmayıp, değişiklik gösterebilmektedir. Örneğin koyunlarda laktasyonun farklı dönemlerinde makrofaj ve PMN hücre yüzdeleri ters yönde değişmektedir. Erken laktasyon döneminde gözlemlenen en yüksek değer makrofajlara ait iken, geç laktasyon döneminde PMN hücreler baskın duruma geçmektedir (Albenzio vd., 2009). Makrofajlar sağlıklı inek ve koyun sütünde baskın hücre tipini oluştururken, PMN hücreler hem sağlıklı hem de

enfekte hayvandan sağılan keçi sütünde baskın olan hücre tipidir (Souza vd., 2012). Sadece inek sütlerinde yüksek PMN hücre sayısına bakılarak yüksek somatik hücre sayısı gözlemlenebilmektedir (Li vd., 2014).

SOMATİK HÜCRELERİN ENDOJEN ENZİMLERİ

Sütte bulunan en önemli enzimlerden biri olan plazmin sütün yapısında doğal olarak bulunan bir proteazdır. Aktif olarak α -kazeinleri ve β -kazeini hidrolize edebilen plazminin κ -kazein üzerinde etkisi tam olarak bilinmemektedir (Murphy vd., 2016). Sütte somatik hücrelerin lize olması ile birçok enzim süte salınır (Kelly ve Fox, 2006). Bu enzimler lipazlar (lipoprotein lipaz), oksidazlar (katalaz ve laktoperoksidaz), glikosidazlar (lizozim) ve proteazlardır (katepsin, elastaz, kollojenaz) (Lippolis ve Reinhardt, 2005). Plazmin sütte kazein degradasyonunda görev alan temel enzim olmasına rağmen, somatik hücre kaynaklı proteazlar da burada etkin rol oynamaktadır. Özellikle katepsin B, D, G ve elastaz kazeine karşı aktivite gösteren önemli proteazlardır (Le Marechal vd., 2011). Bu enzimlerin aktiviteleri somatik hücre sayısının artışına bağlı olarak artmaktadır. Somatik hücre endojen enzimlerinden katepsin B, katepsin G ve elastaz gibi proteazların α_{s1} ve β kazeinin hidrolizinden sorumlu oldukları düşünülmektedir (Olumee-Shabon vd., 2013). Katepsin D ise tüm kazein fraksiyonlarını (α_{s1} , α_{s2} , β , κ) hidrolize edebilmekte, özellikle α_{s1} üzerinde etki göstermektedir. Katepsin D peynir üretiminde kullanılan kimozine benzer bir aktivite göstermektedir. Ayrıca katepsin B ve katepsin D peynir olgunlaşmasında rol almaktadır. Proteolizin yanısıra lipolizde de somatik hücre endojen enzimleri etkili olmakta, muhtemelen lipoprotein lipaz aktivitesinden dolayı artan serbest yağ asitleri konsantrasyonu süt ve süt ürünlerini etkilemekte, ayrıca çeşitli tat ve koku kusurlarına da neden olabilmektedir (Murphy vd., 2016). Lipoprotein lipaz enzimi pastörizasyon sonrasında bile aktif kalarak depolama sırasında serbest yağ asidi üretimine katılmaktadır (Summer vd., 2015).

Somatik hücrelerin ilgili enzimleri arasında; süt ve farklı peynir tipleri açısından üzerinde en çok çalışılan endojen enzim katepsin D'dir. Lizozomal

bir asidik proteaz olan katepsin D miktarı; yağsız inek sütünde 0.4 $\mu\text{g/ml}$, peynir altı suyunda 0.3 $\mu\text{g/ml}$ düzeyinde tespit edilmiştir. Küçükbaş hayvanların sütlerinde ise yüksek miktarda (1.8-2.6 $\mu\text{g/ml}$) bulunmuştur (Albenzio vd., 2009). Katepsin D'nin inek sütündeki temel formu inaktif prokatepsin D'dir; ancak bu enzim süt ürünlerinin üretimi sırasında ve özellikle asidik koşullarda aktivite kazanmakta ve aktif preprokatepsin D formuna dönüşmektedir. Ayrıca katepsin D; peynir üretimi esnasında uygulanan ısı işlemlere karşı aktivitesini koruyabilmekte ve pH 3.5-7 aralığında etkili olabilmektedir. Diğer taraftan bu enzimin düşük pH değerlerinde sıcaklığa karşı daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir (Larsen vd., 2000).

Somatik hücrelerin ve endojen enzimlerinin tip, spesifiklik ve aktivite açısından farklı profillere sahip olmalarının sütün işlenmesine ve son ürünlerin kalitesine önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Bu endojen enzimlerin buldukları hücreler farklıdır. Örneğin katepsin B ve katepsin G makrofaj, PMN hücreler ve epitel hücrelerden salgılanabilmekte, katepsin D ise yalnızca makrofaj ve PMN hücreler kaynaklı olabilmektedir. Alveollerdeki makrofaj kaynaklı katepsin D'nin aktivitesi PMN hücrelerdekine göre 60 kat daha fazladır. Diğer bir somatik hücre endojen enzimi olan lipoprotein lipaz ise alveoler makrofaj ve PMN hücrelerde konumlanmıştır (Li vd., 2014).

Laktasyon süresince farklı somatik hücre sayıları ve tipleri nedeniyle aynı grup ineklerde katepsin D, katepsin B ve tanımlanmamış diğer süt proteinaz aktivitelerinde farklılıklar görülmektedir. Ayrıca sütteki somatik hücre kaynaklı endojen enzimlerin varlığı, diğer enzimlerin aktivitelerini değiştirebilmektedir. Örneğin somatik hücreler ile ilişkili olan plazminojen aktivatörleri, plazmin aktivitesini etkileyebilmektedir (Albenzio vd., 2004). Ürokinaz somatik hücrelerde bulunan plazminojen aktivatörlerinden biridir (Ubaldo vd., 2015; Murphy vd., 2016). Le Roux vd. (2003) sütte somatik hücre sayısı 1×10^5 hücre/mL'nin altında olduğunda plazmin aktivitesinde bir artış olduğunu, hücre sayısı 6×10^5 hücre/mL'nin

üzerine çıktığında ise ancak %42 oranında plazmin aktivitesi görülebildiğini belirtmişlerdir. Ancak hangi tip hücrenin plazmin aktivitesini hangi oranda etkilediği tam olarak bilinmemektedir. Albenzio vd. (2015) yaptıkları bir çalışmada makrofaj ve PMN hücrelerce zengin olan sütlerde daha yoğun plazmin aktivitesi görüldüğünü belirtmişlerdir.

SOMATİK HÜCRE SAYISI VE ÜRÜN KALİTESİ

Somatik hücre sayısının süt ürünlerinin özellikle de peynirin kalitesine etkisinin araştırıldığı birçok çalışma yapılmıştır. Artan somatik hücre sayısı nedeniyle peynir sütünde kazein miktarı ve kalsiyum iyonları azalmakta, kullanılan teknolojiler farklı bile olsa pıhtılaşma süresi uzamakta, kurumadde azalmakta ve buna bağlı olarak peynir verimi ve kalitesi düşmektedir (Ubaldo vd., 2015). Geary vd. (2013) ve Geary vd. (2014) çalışmalarında sütte somatik hücre sayısı artışının peynir verimine ve kalite özelliklerine etkisini incelemişlerdir. Peynir sütünde somatik hücre sayısı artışının peynirde verim üzerinde etkili protein ve yağ kazanımını önemli oranda düşürdüğünü belirtmişlerdir. Ayrıca somatik hücre sayısı 2×10^5 hücre/mL'nin altında olan sütlerden üretilen peynirlerin duyusal özelliklerinin daha iyi olduğunu ve tüketiciler tarafından daha çok beğenildiğini ifade etmişlerdir. Sütte somatik hücre sayısı 1×10^5 hücre/mL'den 4×10^5 hücre/mL'ye çıktığında ise peynir veriminde %2.05'lik bir düşme olduğunu, yıllık gelirden de %3.2'lik bir azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Bobbo vd. (2015) çok düşük (9×10^3 hücre/mL) ve çok yüksek (2.72×10^6 hücre/mL) somatik hücre sayısının süt verimi, bileşimi ve teknolojik özelliklerine, ayrıca peynir verimi ve süt bileşenlerinin pıhtıda kalma oranına etkisini incelemişlerdir. Araştırma bulgularında yüksek somatik hücre sayısının sütte kazein ve laktoz oranını olumsuz yönde etkilediğini, ayrıca süttün teknolojik özellikleri üzerine negatif etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Yüksek somatik hücre sayısına bağlı olarak pıhtılaşma süresinin uzadığı, pıhtının daha gevşek olduğu dolayısıyla peyniraltı suyundaki bileşenlerin kaybının fazla olduğu ve peynir veriminin düştüğü de belirtilmiştir.

Başka bir çalışmada düşük somatik hücre sayısına sahip ($< 2 \times 10^5$ hücre/mL) inek sütü ile yapılan Prato peynirinde bozulmaya neden olan maya ve küf sayısı daha az bulunmuştur. Somatik hücre sayısı söz konusu peynirde toplam protein ve tuz:nem oranını etkilememiştir. Yüksek somatik hücre sayısına sahip sütlerden üretilen peynirlerin pH ve su bağlama kapasitesi değerleri, düşük somatik hücre sayılı sütlerden üretilen peynirlere göre daha yüksek, pıhtılaşma süresi ise daha uzun olarak belirlenmiştir. Ayrıca depolama süresince yüksek somatik hücre sayısına sahip sütlerden üretilen peynirlerdeki laktik asit bakteri sayısı, düşük somatik hücre sayısına sahip sütlerden üretilenlere göre daha hızlı azalmıştır. Duyusal olarak düşük somatik hücre sayısına sahip sütlerden üretilen peynirler daha çok beğenilmiştir (Vianna vd., 2008).

Somatik hücre sayısının yoğurt üzerinde etkilerinin incelendiği çalışmalar az olmakla beraber bu çalışmalarda daha çok yoğurdun duyusal özellikleri incelenmiştir. Ayrıca yüksek somatik hücre sayısının süzme yoğurt yapımında peynir üretiminde olduğu gibi protein kaybindan dolayı verimi düşürebileceği belirtilmektedir. Yoğurt üretiminde raf ömrü boyunca ürünün kalite özelliklerini koruması amacıyla çiğ sütte somatik hücre sayısı için üst limit 4×10^5 olarak belirtilmiştir (Oliveira vd., 2002).

Sert vd. (2016) farklı somatik hücre sayılı sütlerden üretilen süt tozlarının kalite farklılıklarını araştırdıkları çalışmalarında somatik hücre sayısının süt tozlarının kalitesini olumsuz yönde etkilediğini belirlemişlerdir. Çalışmada süt tozlarının protein ve kül içeriğinin somatik hücre sayısındaki artışa paralel olarak düştüğü, hidrosimetilfurfurol miktarının ise arttığı belirlenmiştir. Süttozunun çözünürlük indeksinin de somatik hücre sayısının artışıyla olumsuz yönde etkilendiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu süt tozlarından üretilen yoğurtlarda tekstür ve somatik hücre sayısı arasında negatif bir korelasyon olduğu da belirtilmiştir.

SOMATİK HÜCRELERİN SÜT ÜRÜNLERİNE ETKİSİNDE YENİ YAKLAŞIMLAR

Son yıllarda konu ile ilgili yapılan araştırmalarda somatik hücrelerin ve salgıladıkları enzimlerin bazı koşullarda peynir kalitesini olumlu yönde etkileyebildikleri görülmüştür. Bu noktada somatik hücrelerin süttten izolasyonu ve ardından sağlıklı hayvandan elde edilen süte ilave edilmesi yeni bir yaklaşım olarak görülmektedir. Böyle bir uygulamada seçilecek somatik hücre tipinin ve endojen enzimlerinin orijinlerine göre seçilmesi önem taşımaktadır. Santrifüjleme gibi basit ya da akış sitometri ve manyetik ayırma gibi ileri yöntemler uygulanarak süttten somatik hücre izolasyonu yapılabilmektedir (Li vd., 2015). Santrifüjleme tekniğinde somatik hücreler toplu olarak elde edilmekte, süspansiyon olarak hazırlanmaktadır. Bu hücrelerden ancak çok az bir kısmı yoğunlaştırılıp ayrılmakta, bu nedenle sağlıklı hayvanlardan yeterli miktarlarda somatik hücre elde etmek için fazla miktarda süte gereksinim duyulabilmektedir (Li vd., 2017). Daha ileri bir teknik olan manyetik ayırma tekniğinde ise somatik hücreler hücre bazında elde edilmekte, ancak az miktarda somatik hücre eldesi kısıtlayıcı olabilmektedir. Bundan dolayı, yapılan bazı çalışmalarda somatik hücrelerin süt ürünleri üzerindeki etkileri yerine sadece süt proteinleri üzerindeki etkileri üzerinde yoğunlaşmıştır (Li vd., 2014). Caroprese vd. (2007) manyetik ayırma tekniğini kullanarak koyun sütünden makrofajları izole etmiş ve bunların çeşitli kazein fraksiyonlarına etkilerini araştırmıştır. Bu çalışma sonucuna göre makrofajların α_s kazeinlere %20 oranında, β kazeine %10, γ kazeine ise %1 oranında etki ettiği belirlenmiştir. Albenzio vd. (2009) da aynı ayırma tekniğini kullanarak koyun sütünden makrofajları ve PMN hücreleri izole etmiştir. PMN hücrelerden lizozomal enzimlerin salındığı ve bunların özellikle geç laktasyon döneminde kazein hidrolizini arttırdığı belirlenmiştir. Ayrıca bu endojen enzimlerle (ör. katepsin D) pıhtılaşma süresi arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Somatik hücre endojen enzimlerinden katepsin D'nin proteoliz sürecine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada aktif haldeki prokatepsin D'nin, rennet kullanılmadan ve ultrafiltrasyon yolu ile üretilen Feta peynirinde

proteolizi desteklediği bildirilmiştir. Peynirde süt proteinlerinin degradasyonunun bu proenzim sayesinde meydana geldiği ifade edilmiştir. Söz konusu enzimin pastörizasyon sonrasında bile aktivitesini büyük ölçüde devam ettirdiği bildirilmiştir (Larsen vd., 2000).

Son zamanlarda membran filtrasyon teknikleri ile somatik hücrelerin süttten ayrılması pratik bir şekilde sağlanabilmektedir. Membran filtrasyon tekniklerinin avantajı, diğer somatik hücre hazırlama teknolojilerine göre büyük miktarda ve iyi kalitede somatik hücrenin endüstriyel ölçekte elde edilebilmesidir. Böylece sağlıklı süttten yeterli miktarda somatik hücre eldesi kısıtlayıcı bir aşama olmaktan çıkmakta, düşük sayıda somatik hücre içeren süte ya da somatik hücre içermeyen süte ilave edilip üretilen ürünlerin özelliklerini incelemek mümkün hale gelmektedir. Ayrıca membran filtrasyon tekniği ile somatik hücrelerin membran bütünlüğü korunabilmekte, enzimlerin hücre içine hapsolmaları sağlanmakta ve bu sayede spesifik etkileri üzerinde de çalışılabilmektedir (Li vd., 2017). Süt bileşimi itibariyle membran filtrasyon için çok uygun bir madde olup bu teknik süt endüstrisinde uzun süredir kullanılmaktadır (Kumar vd., 2013). Membran filtrasyon sayesinde süttün ana özellikleri kaybedilmeden somatik hücre içermeyen sütler de elde edilebilmektedir. Peynir yapımı için bu sütler kontrol grubu olarak kullanılmakta ve diğer gruplara farklı miktarlarda somatik hücre ilavesi yapılmaktadır. Somatik hücreler, somatik hücre içermeyen süte farklı miktarlarda ilave edilebilir, hatta bu ilave oranı yüksek seviyelere bile çıkabilmektedir. Mastitise bağlı olarak sütte gelişen diğer faktörler de bu yeni yaklaşım sayesinde süt ürünlerinin kalitesini olumsuz yönde etkileyememektedirler. Ancak bu yaklaşım birçok açıdan dikkate alınmalıdır (Li vd., 2014).

Li vd. (2017), somatik hücrelerin peynir kalitesinde rollerini belirlemek amacıyla mikrofiltrasyon tekniğini kullanarak yüksek oranda somatik hücre elde etmişler ve farklı oranlarda somatik hücre sayısına sahip sütlerden (0 kontrol, 4×10^5 ve 9×10^5 hücre/mL) İsviçre tipi peynir üretimi gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak

peynirlerin teknolojik parametrelerinin somatik hücre sayılarından önemli oranda etkilenmediğini belirlemiştir. Olgunlaşmış İsviçre tipi peynirlerin temel bileşimleri de değişmemiştir. Kontrol peyniriyle karşılaştırıldığında somatik hücre ilave edilen peynirlerde lipoliz önemli oranda artmıştır. Somatik hücre içeren peynirlerin proteoliz indekslerinde ise artış gözlenmiştir. İsviçre tipi peynir prosesinde 50°C civarında olan haşlama sıcaklığı kimozeni inaktive etmekte, fakat katepsin B ve katepsin D aktivitelerini devam ettirebilmektedir. Sonuç olarak çalışmada somatik hücrelerin peynir yapımında negatif bir role sahip olmadığı, peynirlerin olgunlaşma aşamasında lipoliz ve proteoliz üzerinde ise zayıf da olsa olumlu etki gösterdikleri ifade edilmiştir.

Marino vd. (2005), somatik hücrelerin ve proteolitik enzimlerinin Cheddar tipi peynire katkılarını düşük sayıda somatik hücre içeren ($<15 \times 10^5$ hücre/mL) peynir sütüne farklı oranlarda konsantre edilmiş somatik hücreler ekleyerek incelemiştir. Gerekli miktarda somatik hücre elde etmek için $>10^6$ hücre/mL oranında somatik hücre içeren sütler toplanmıştır. Alınan sonuçlar ışığında somatik hücrelerin süt ve Cheddar tipi peynirlerde proteolize katkıda bulunduğu, ayrıca peynirin içerdiği nem oranını da direkt olarak etkilediği belirtilmiştir.

Başka bir çalışmada ise peynirin duysal kalitesini geliştirmek amacıyla sağlıklı keçi sütünden elde edilen konsantre edilmiş somatik hücreler kullanılarak az yağlı peynir üzerinde çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada santrifüjleme metoduyla sınırlı miktarda somatik hücre elde edilebildiği için küçük örnekler halinde taze keçi sütü peynirleri üretilmiştir. Olgunlaşma dönemi yalnızca 7 gün sürmesine rağmen eklenen somatik hücreler ile birlikte kazein fraksiyonlarında genel bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu verilere göre β -kazein %43'ten %26'ya, κ -kazein %37'den %23'e, α_2 -kazein %30'dan %20'ye ve α_{s1} -kazein %25'ten %14'e düşmüştür. Ayrıca, somatik hücre eklenerek üretilen peynirlerde yumuşama meydana gelmiş ve dolayısıyla tekstürün etkilendiği belirlenmiştir (Sanchez-Macias vd., 2013).

SONUÇ

Somatik hücreler sütte doğal olarak bulunan, meme sağlığının ve süt kalitesinin göstergesi olarak kullanılan önemli bileşenlerdir. Somatik hücrelerin süt işleme proseslerinde ve süt ürünlerindeki rolleri tam olarak belirlenmemektedir. Bunun nedeni bu hücrelerin sayılarındaki artışın aynı zamanda sütteki fizikokimyasal değişimlerin, bakteri sayısındaki artışın ve meme enfeksiyonunun bir göstergesi olmasıdır. Somatik hücrelerin rollerinin tam olarak tanımlanabilmesi yalnızca bu hücrelere ve endojen enzimlerine odaklanmak yoluyla mümkün olabilir. Son yıllarda geliştirilen yöntemler ile somatik hücrelerin süttten izolasyonu ve konsantrasyonu sağlanmıştır. Böylelikle somatik hücreler sağlıklı hayvandan elde edilen süte eklenebilmekte, mastitisin olumsuz etkileri devre dışı bırakılarak somatik hücrelerin süt ve süt ürünlerindeki etkileri araştırılabilmektedir. Bu yöntemlerden özellikle membran filtrasyon tekniği büyük miktarlarda somatik hücrenin eldesine imkân vermektedir. Somatik hücrelerin özellikle süt proteinleri üzerinde proteolitik etki gösterdikleri, peynirin olgunlaşma sürecinde de duysal kalitenin iyileştirilmesi ve proteolizin hızlandırılmasında istenilen etkiye sahip olabilecekleri belirlenmiştir. Ancak gerek peynirde gerek diğer süt ürünlerinde somatik hücrelerin sayısı ve bileşiminin süt ürünlerindeki etkin rolünü ortaya koymak için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır. Özellikle süt işleme sırasında somatik hücre tipleri ile endojen enzimleri arasındaki ilişkinin farklı koşullar altında belirlenerek ortaya konması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Albenzio, M., Caroprese, M., Santillo, A., Marino, R., Taibi, L., Sevi, A. (2004). Effects of somatic cell count and stage of lactation on the plasmin activity and cheese making properties of ewe milk. *J Dairy Sci*, 87(3): 533-542, doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73194-X
- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., D'Angelo F., Marino, R., Sevi, A. (2009). Role of endogenous enzymes in proteolysis of sheep milk. *J Dairy Sci*, 92(1): 79-86, doi: 10.3168/jds.2008-1439.

- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., Ruggieri, D., Ciliberti, M., Sevi, A. (2012). Immune competence of the mammary gland as affected by somatic cell and pathogenic bacteria in ewes with subclinical mastitis. *J Dairy Sci*, 95(7): 3877-3887. doi: 10.3168/jds.2012-5357.
- Albenzio, M., Santillo, A., Kelly, A.L., Caroprese, M., Marino, R., Sevi, A. (2015). Activities of indigenous proteolytic enzymes in caprine milk of different somatic cell counts. *J Dairy Sci*, 98: 7587-7594, doi: 10.3168/jds.2015-9762.
- Alhussien, M., Kaur, M., Manjari, P, Kimothi, S.P., Mohanty, A.K., Dang, A.K. (2015). A comparative study on the blood and milk cell counts of healthy, subclinical and clinical mastitis Karan fries cows. *Vet World*, 8(5): 685-689, doi: 10.14202/vetworld.2015.685-689.
- Bobbo, T., Cipolat-Gotet, C., Bitante, G., Ceccihinato, A. (2015). The nonlinear effect of somatic cell count on milk composition, coagulation properties, curd firmness modeling, cheese yield and curd nutrient recovery. *J Dairy Sci*, 99(7): 5104-5119, doi: 10.3168/jds.2015-10512.
- Boland, F., O'Grady, L., More, S.J. (2013). Investigating a dilution effect between somatic cell count and milk yield and estimating milk production losses in Irish Dairy Cattle. *J Dairy Sci*, 96(3): 1477-1484. doi: 10.3168/jds.2012-6025.
- Bonfatti, V., Tuzzato, M., Chiarot, G., Carnier, P. (2014). Variation in milk coagulation properties does not effect cheese yield and composition of model cheese. *Int Dairy J*, 39(1): 139-145. doi: 10.1016/j.idairyj.2014.06.004.
- Caroprese, M., Marzano, A., Schena, L., Marino, R., Santillo, A., Albenzio, M. (2007). Contribution of macrophages to proteolysis and plasmin activity in ewe bulk milk. *J Dairy Sci*, 90(6): 2767-2772. doi: 10.3168/jds.2006-691.
- Damm, M., Holm, C., Blaabjerg, M., Bro, N.M., Schwarz, D. (2017). Differential somatic cell count- A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd improvement testing programs. *J Dairy Sci*, 100(6): 4926-4940. doi: 10.3168/jds.2016-12409.
- Deb, R., Kumar, A., Chakraborty, S., Verma, A.K., Tiwari, R., Dhama, K. (2013). Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: A review, *Pak J Biol Sci*, 16(23): 1653-1661.
- Geary, U.N., Lopez-Villalobos, B., O'Brien, D., Garrick, J., Shalloo, L. (2013). Meta-analyses to investigate relationships between somatic cell count and raw milk composition, cheddar cheese processing characteristics and cheese composition. *Ir J Agric Food Res*, 52(2): 119-133. stable URL: <http://www.jstor.org/stable/23631025>
- Geary, U.N., Lopez-Villalobos, B., O'Brien, D., Garrick, J., Shalloo, L. (2014). Estimating the impact of somatic cell count on the value of milk utilising parameters obtained from the publishing literature. *J Dairy Res*, 81(2): 223-232. doi: 10.1017/S0022029914000053.
- Hachana, Y., Paape, M.J. (2012). Physical and chemical characteristics of yoghurt produced from whole milk with different level of somatic cell count. *Int J Food Sci Nutr*, 63(3): 303-309. doi: 10.3109/09637486.2011.627839.
- Hunt, K.M., Williams, J.E., Shafii, B., Hunt, M.K., Mehre, R., Ting, R., McGuire, M.K., McGuire, M.A. (2013). Mastitis is associated with increased free fatty acids, somatic cell count, and interleukin-8 concentrations in human milk. *Breastfeed Med*, 8(1): 105-110. doi: 10.1089/bfm.2011.0141.
- Jimenez-Granado, R., Sanchez-Rodriguez, M., Arce, C., Rodriguez-Estevéz, V. (2014). Factors affecting somatic cell count in dairy goats: a review. *Span J Agric Res*, 12(1): 133-150. doi: 10.5424/sjar/2014121-3803.
- Kelly, A.L., Fox, P.F. (2006). Indigenous enzymes in milk: a synopsis of future research requirements. *Int Dairy J*, 16(6): 707-715. doi: 10.1016/j.idairyj.2005.10.018.
- Kumar, P., Sharma, N., Ranjan, R., Kumar, S., Bhat, Z.F., Jeong, D.K. (2013). Perspective of membrane technology in dairy industry: a review. *Asian-Austral J Anim Sci*, 26(9): 1347-1358. doi: 10.5713/ajas.2013.13082.
- Larsen, L.B., Wium, H., Benfeldt, C., Heegaard, C.W., Ardo, Y., Qvist, K.B., Petersen, T.E.

- (2000). Bovine milk procathepsin D: presence and activity in heated milk and in extracts of rennet-free UF-Feta cheese. *Int Dairy J*, 10(1-2): 67–73. doi: 10.1016/S0958-6946(00)00020-0.
- Leitner, G., Lavon, Y., Matzrafi, Z., Benun, O., Bezman, D., Merin, U. (2016). Somatic cell counts, chemical composition and coagulation properties of goat and sheep bulk tank milk. *Int Dairy J*, 58: 9-13. doi: 10.1016/j.idairyj.2015.11.004
- Le Marechal, C., Thierry, R., Vautor, E., Le Loir, Y. (2011). Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products. A review. *Dairy Sci Technol*, 91(3): 247-282. doi: 10.1007/s13594-011-0009-6.
- Le Roux, Y., Francois, L., Fatima, M. (2003). Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. *Vet Res*, 34(5): 629–645. doi: 10.1051/vetres:2003021
- Li, N., Richoux, R., Boutinaud, M., Martin, P., Gagnaire, V. (2014). Role of somatic cells on dairy processes and products: a review. *Dairy Sci & Technol*, 94(6): 517-538. doi: 10.1007/s13594-014-0176-3.
- Li, N., Richoux, R., Perruchot, M.H., Boutinoud, M., Mayol, J.F., Gagnaire, V. (2015). Flow cytometry approach to quantify the viability of milk somatic cell counts after various physico-chemical treatments. *PLoS One* 10(12): e0146071. doi: 10.1371/journal.pone.0146071.
- Li, N., Richoux, R., Leconte, N., Bevilacqua, C., Maillard, M.B., Parayre, S., Frogearis, L.A., Warloulzel, J., Leclair, E.M., Denis, C., Martin, P., Gagnaire, V. (2017). Somatic cell recovery by microfiltration technologies: A novel strategy to study the actual impact of somatic cells on cheese matrix. *Int Dairy Sci*, 65: 5-13. doi: 10.1016/j.idairyj.2016.09.003.
- Lippolis, J.D., Reinhardt, T.A. (2005). Proteomic survey of bovine neutrophils. *Vet Immunol Immunopathol*, 103(1-2): 53-65. doi: 10.1016/j.vetimm.2004.08.019.
- Liu, H., Wei, F., Wei, Y., Dong, J., Cao, C. (2012). Effects of somatic cell count on low-fat Mozzarella cheese structure. *Adv Mater Res*, 393-395: 692-695. doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.393-395.692.
- Marino, R., Considine, T., Sevi, A., McSweeney, P.L.H., Kelly, A.L. (2005). Contribution of proteolytic activity associated with somatic cells in milk to cheese ripening. *Int Dairy J*, 15(10): 1026–1033. doi: 10.1016/j.idairyj.2004.10.006.
- Murphy, S.C., Martin, N.H., Barbano, D.M., Wiedmann, M. (2016). Influence of raw milk quality on processed dairy products: How do raw milk quality test results relate to product quality and yield? *J Dairy Sci*, 99(12): 10128-10149. doi: 10.3168/jds.2016-11172.
- Nyman, A.K., Persson Waller, K., Bennedsgaard, T.W., Larsen, T., Emanuelson, U. (2014). Associations of udder-health indicators with cow factors and with intramammary infection in dairy cows. *J Dairy Sci*, 97(9): 5459-5473. doi: 10.3168/jds.2013-7885.
- More, S.J., Clegg, T.A., Lynch, P.J., O’Grady, L. (2013). The effect of somatic cell count data adjustment and interpretation, as outlined in European Union legislation, on herd eligibility to supply raw milk for processing of dairy products. *J Dairy Sci*, 96(6): 3671-3681. doi: 10.3168/jds.2012-6182.
- Oikonomou, G., Bicalho, M.L., Meria, E., Rossi, R.E., Foditsch, C., Machado, V.S. (2014). Microbiota of cow’s milk; distinguishing healthy, sub-clinically and clinically diseased quarters. *PLoS One* 9(1): e85904. doi: 10.1371/journal.pone.0085904.
- Olechnowicz, J., Jaskowski, J.M. (2012). Somatic cell count in cow’s bulk tank milk. *J Vet Med Sci*, 74(6): 681-686. doi: 10.1292/jvms.11-0506.
- Oliveira, C.A.F., Fernandes, A.M., Neto, O.C.C., Fonseca, L.F.L., Silva, E.O.T., Balian, S.C. (2002). Composition and sensory evaluation of whole yogurt produced from milk of different somatic cell counts. *Aust J Dairy Technol*, 57(3): 192-196.
- Olumee-Shabon, Z., Swain, T., Smith, E.A., Tall, E., Boehmer, H. (2013). Proteomic analyses of differentially expressed proteins in caprine milk during experimentally induced endotoxin mastitis. *J Dairy Sci*, 96: 2903-2912. doi: 10.3168/jds.2012-5956.

- Pilla, R., Malvisi, M., Snel, G., Schwarz, G., König, S., Czerny, C.P., Piccinini, R. (2013). Differential cell count as an alternative method to diagnose dairy cow mastitis. *J Dairy Sci*, 96(3): 1653-1660. doi:10.3168/jds.2012-6298.
- Pilla, R., Schwarz, D., König, S., Piccinini, R. (2012). Microscopic differential cell counting to identify inflammatory reactions in dairy cow quarter milk samples. *J Dairy Sci*, 95(8): 4410-4420. doi: 10.3168/jds.2012-5331.
- Pretto, D., De Marchi, M., Penasa, M., Cassandro, M. (2013). Effect of milk composition and coagulation traits on Grana Padano cheese yield under field conditions. *J Dairy Res*, 80(1): 1-5. doi: 10.1017/S0022029912000453.
- Reshi, A.A., Husain, I., Bhat, S.A., Rehman, M.U., Razak, R., Bilal, S., Mir, M.R. (2015). Bovine mastitis as an evolving disease and its impact on the dairy industry. *Int J Curr Res Rev*, 7(5): 48-55.
- Rovai, M., Caja, G., Quevedo, J.M., Manuelien, C.L., Saldo, J., Salama, A.A.K. (2015a). Effect of subclinical intramammary infection in dairy sheep: II. Maturated pressed cheese (Manchego) produced from milk of uninfected and infected glands and from their blends. *Small Ruminant Res*, 126: 59-67. doi: 10.1016/j.smallrumres.2015.03.002
- Rovai, M., Rusek, N., Caja, G., Saldo, J., Leitner, G. (2015b). Effect of subclinical intramammary infection on milk quality in dairy sheep: I. Fresh-soft cheese produced from milk of uninfected and infected glands and from their blends. *Small Ruminant Res*. 125: 127-136. doi: 10.1016/j.smallrumres.2015.02.019.
- Sanchez-Macias, D., Morales-dela Nuez, A., Torres, A., Hernandez-Castellano, L.E., Jiménez-Flores, R., Castro, N., Arguello, A. (2013). Effects of addition of somatic cells to caprine milk on cheese quality. *Int Dairy J*, 29(2): 61-67. doi: 10.1016/j.idairyj.2012.10.010.
- Sert, D., Mercan, E., Aydemir, S., Civelek, M. (2016). Effects of milk somatic cell counts on some physicochemical and functional characteristics of skim and whole milk powders. *J Dairy Sci*, 99(7): 5254-5264. doi: 10.3168/jds.2016-10860.
- Souza, F.N., Blagitz, M.G., Penna, C.F.A.M., la Libera, A.M.M.P., Heinemann, M.B., Cerqueira, M.M.O.P. (2012). Somatic cell count in small ruminants: friend or foe? *Small Ruminant Res*, 107: 65-75. doi: 10.1016/j.smallrumres.2012.04.005.
- Sserunkuma, P., McGaw, L.J., Nsahlavi, I.V., Van Staden, J. (2017). Selected southern African medicinal plants with low cytotoxicity and good activity against bovine mastitis pathogens. *S Afr J Bot*, 111: 242-247. doi: 10.1016/j.sajb.2017.03.032.
- Sundekilde, U.K., Poulsen, N.A., Larsen, L.B., Bertram, H.C. (2012). Nuclear magnetic resonance metabonomics reveals strong association between milk metabolites and somatic cell count in bovine milk. *J Dairy Sci*, 96: 290-299. doi: 10.3168/jds.2012-5819.
- Summer, A., Franceschi, P., Formaggioni, P., Malacarne, M. (2015). Influence of milk somatic cell content on Parmigiano-Reggiano cheese yield. *J Dairy Res*, 82(2): 222-227. doi: 10.1017/S0022029915000102.
- Troendle, J.A., Tauer, L.W., Gröhn, Y.T. (2016). Optimally achieving milk bulk tank somatic cell count thresholds. *J Dairy Sci*, 100: 731-738. doi:10.3168/jds.2016-11578.
- Tiwari, J.G., Babra, C., Tiwari, H.K., Williams, V., De Wet, S., Gibson, J., Paxman, A., Morgan, E., Costantino, P., Sunagar, R., Isloor, S., Mukkur, T. (2013). Trends in therapeutic and prevention strategies for management of bovine mastitis : an overview. *J Vaccines Vaccin*, 4: 1000176.1.1-1000176.11.
- Ubaldo, J.C.S.R., Carvalho, A.H., Fonseca, L.M., Gloria, M.B.A. (2015). Bioactive amines in Mozzarella cheese from milk with varying somatic cell count. *Food Chem*, 178: 229-235. doi:2015.01.084.0308-8146.
- Vianna, P.C.B., Mazal, G., Santos, M.V., Bolini, H.M.A., Gigante, M.L. (2008). Microbial and sensory changes throughout the ripening period of Prato cheese made from milk with different levels of somatic cells. *J Dairy Sci*, 91(5): 1743-1750. doi: 10.3168/jds.2007-0639