Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (3), 1-26 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Тулумско сирене – технология на производство и основни характеристики

Катя Димитрова[1]*, Атанас Вучков[2]

[1]Аграрарен университет, кат. Микробиология и екологични биотехнологии, 4000 Пловдив, България
[2]Аграрарен университет, кат. Животновъдство, 4000 Пловдив, България

Tulum cheese – cheese making technology and main characteristics

Katya Dimitrova[1]*, Atanas Vuchkov[2]

[1]Agricultural University, Department of microbiology and ecological biotechnologies, 4000 Plovdiv, Bulgaria
[2]Agricultural University, Department of animal science, 4000 Plovdiv, Bulgaria

**E-mail: katia_dimitrova@yahoo.com*

Received: 06.07.2018 *Accepted:* 17.09.2018 *Published:* 11.10.2018

РЕЗЮМЕ

Тулумското сирене е вид сирене, характерно предимно за страните от Балканския полуостров, но негови разновидности се произвеждат също в Алжир и Ливан. В различните страни сиренето има различни наименования. В Румъния е познато като *brânzâ de burduf*, в Босна и Херцеговина се нарича *mjeh*, в Хърватия – *mišina* или *sir iz miŝine*. В Алжир е познато под наименованието *bouhezza*, а в Ливан като *darfiyeh*. В Турция и в България се означава като тулумско сирене. На различните езици в наименованието на сиренето се съдържа понятието „животинска кожа", което е свързано със специфичната технология на получаване на този тип сирене. Съгласно оригиналната технология приготвената сиренина се поставя да

SUMMARY

Tulum cheese is a specific kind of cheese which is typical of the countries of the Balkan Peninsula, but some of its varieties are also produced in Algeria and Lebanon. In the different countries the cheese is designated with different names. In Romania it is known as *brânzâ de burduf*, in Bosnia and Hezegovina its name is *mjeh*, in Croatia it is called *mišina* or *sir iz miŝine*. In Algeria it is known as bouhezza and in Lebanon as darfiyeh. In Turkey and Bulgaria it is designated as tulum cheese. In fact, the variety of names for this kind of cheese in the different languages is related to the specific step of technology which is applied in the production of the cheese.

The unique traditional technology is characterized by ripening of the cheese curd in an animal skin bag (tulum), which

зрее в предварително обработена животинска кожа (тулум). Традиционно сиренето се произвежда от сурово овче или козе мляко, но е възможно използването и на краве мляко или на смес. Съществува също и известно разнообразие в технологичните етапи, които се използват при производството на сиренето. Микрофлората на тулумското сирене се състои предимно от млечнокисели бактерии, но в някои разновидности се откриват също дрожди и плесени. Специфичният и интензивен вкус и аромат на сиренето се формират от протеолитичната и липолитична активност на специфичната микрофлора, която участва при обработването на сиренината и по време на зреенето на сиренето.

Ключови думи: тулумско сирене, технология на производство, основни характеристики

has been prepared for this purpose in advance. Traditionally, the cheese is made from raw sheep's or goat's milk, but it is also possible to use cow's milk or a mixture of these kinds of milk. There is also some variety in the technological processes in the cheese production.

The lactic acid bacteria are the main microflora of the cheese, but in some cheese varieties yeast and moulds are also found. The specific and strong taste and flavour of the cheese is due to the proteolytic and lypolytic activity of its specific microflora which takes part in the processing of the cheese curd and during the cheese ripening.

Key words: tulum cheese, cheese making technology, main characteristics

УВОД

Глобализацията на пазара на храни застрашава съществуването на местните производства, традиции и знания, които исторически са обвързани с определени географски, етнически и социални групи. Домашно приготвената храна, за която се използвани само суровини от типични местни породи животни, които също така се отглеждат и изхранват с традиционно използвани растителни видове е непосредствено свързано със съхраняване на биоразнообразието в определена географска зона или област (Scintu and Piredda, 2007). В последните години интересът към специфичните видове сирена, приготвени в домашни условия или в малки млекопреработвателни предприятия чрез традиционни методи значително нарастна (Paxson, 2010; González-Córdova et al., 2015; Blazic et al., 2017). Тулумското сирене се отнася към тази група сирена приготвени по традиционен начин. Публикувани са подробни научни обзори (Hayaloglu et al., 2007, Kamber and Terzi, 2008, Kalit et

INTRODUCTION

The global market expansion has threatened existence of local practices, traditions and knowledge, which are historically associated with certain geographic, socio-cultural and ethnic groups of people. The homemade food prepared only from raw materials obtained from local animal breeds which are feed with traditionally used plant species in a particular geographical region or area, is connected with preservation of biodiversity (Scintu and Piredda, 2007).

Recently, the interest towards specific kind of cheeses prepared in a traditional homemade manner or in small dairy plants according to the traditional technology has grown (Paxson, 2010; González-Córdova et al., 2015; Blazic et al., 2017). Tulum cheese belongs to this specific group of artisan cheeses.

Detailed scientific review articles have been published (Hayaloglu et al., 2007), Kamber and Terzi, 2008) and Kalit et al., 2010) which dealt with the main

al., 2010), които разглеждат основните технологични, микробиологични и органолептични характеристики на сиренето, а интересът към тулумското сирене значително нарастна през последните години. Непрекъснато се публикуват нови изследователски данни свързани с опитите за запазването на типичните характеристики на продукта (Cakmakci et al., 2011; Tarakci and Durmu, 2016), изследване на разнообразието от ароматни и вкусови съединения в сиренето (Serhana et al., 2015; Medjoudj et al., 2017), установяването на патогенни микроорганизми и токсини (Ertas et al., 2011; Can and Celik, 2012). Продължават изследванията върху естествената микрофлора на произведеното по традиционен начин сирене, както и опитите по съставянето и използването на подходяща стартерна култура (Kunduhoglu et al., 2012; Frece et al., 2016).

Целта на настоящия обзор е да представи част от новите изследователски данни по отношение разнообразието свързано с основните технологични етапи при получаването на тулумското сирене, изследванията насочени към установяване видовете микроорганизми и количественото им съотношение в микрофлората на сиренето, както и наличието на някои нежелани микроорганизми и токсини.

technological, microbiological and sensory characteristics of the cheese, but as a matter of fact, the cheese has gained a lot of interest during the last years. The constantly published new researches have revealed the attempts for preserving the typical characteristics of the product (Cakmakci et al., 2011; Tarakci and Durmu, 2016), have showed the different components involved in the cheese flavor and taste (Serhana et al., 2015; Medjoudj et al., 2017), and have detected the presence of some pathogens and toxins (Ertas et al., 2011; Can and Celik, 2012). The experiments on the natural microflora of the cheese made by artisanal technology are coupled with the attempts to compose and apply a proper starter culture for cheese production (Kunduhoglu et al., 2012; Frece et al., 2016).

The aim of the current review is to present a part of the new data concerning the main technological steps of the tulum cheese making technology; the participating species and their scale quantity proportion in the cheese microflora and discuss briefly the presence of some undesirable microorganisms and toxins in the cheese.

Разновидности на тулумското сирене и основни физикохимични характеристики

Разновидностите на тулумското сирене се откриват под различни наименования не само в различните страни, но и в отделните географски райони на държавата, в която се произвежда. Според Cakmakci et al. (2008) както и Tuncer (2009) сред произвежданите в Турция над 50 вида сирена най-популярните са тулумското сирене и сирената *beyaz* и *kasar*. Hayaloglu et al. (2007) цитират Турския статистически институт (Анкара, Турция), според чиито данни годишното производство на тулумско сирене достига 10 000 тона (2004г) и авторите подчертават, че обемът на производ-

Tulum cheese varieties and main physicochemical characteristics

Tulum cheese varieties can be found under different names not only in different countries but also in different geographical regions of one country. According to Cakmakci et al., (2008) and Tuncer (2009), through more than 50 varieties of cheeses produced in Turkey *tulum cheese*, *beyaz* and *kasar cheese* are the most popular. Hayaloglu et al., (2007) have cited the data of the Turkish statistical institute (Ankara, Turkey) about the annual tulum cheese production which was estimated at 10 000 tons per year in 2004 and the researchers marked that the amount of production volume and the numbers of dairy plants which

ство и броя на предприятията, които произвеждат тулумско сирене непрекъснато нараства.

Според Kirdar et al. (2015) тулумското сирене има различни наименования и разновидности сред които: *savak tulum* (Erzincan), *divle tulum* (Karaman), *cimi tulum* (Antalya), *kargi tulum cheese* (Corum) и *brined tulum cheese* (Izmir). Допълнителна информация за тулумското сирене е представена в публикацията на Kamber и Terzi (2008), а още по-подробна характеристика на различните видове сирене може да се открие в публикацията на Hayaloglu и Karagul-Yuceer (2011). Като разновидност на тулумското сирене може да се приеме и сиренето *akcakatik*, което зрее в стомах от коза (Kirdar et al., 2017).

Обзорната статия на Kalit et al. (2010) представя основните разновидности на тулумското сирене, които се произвеждат в Хърватия, Босна и Херцеговина и Черна гора.

Изследванията на Zitoin et al. (2012; 2017) обстойно се занимават с *bouhezza*, традиционно за източните части на Алжир сирене, което зрее в обработена козя кожа. Според Zitoin et al. (2011) сирене *bouhezza* е единственото сред националните сирена в страната им, при приготвянето на което има период на зреене. В северните планински райони на Ливан тулумското сирене е известно под наименованието *darfiyeh*. Serhan et al. (2009) отбелязват ръчното производство на сиренето *darfiyeh*, използването на сурово козе мляко без добавянето на стартерна култура и зреенето в козя кожа.

Сиренатa, които зреят в животинска кожа в зависимост от съдържанието на вода в безмасления остатък се класифицират като твърди или полутвърди, а в зависимост от съдържанието на мазнина в сухото вещество като пълномаслени или нискомаслени (Kalit et al., 2010). В Таблица 1 са

produced tulum cheese continued to grow.

According to Kirdar et al., (2015) some of the designation of the tulum cheese varieties are as follows: *savak tulum* (Erzincan), *divle tulum* (Karaman), *cimi tulum* (Antalya), *kargi tulum cheese* (Corum) and *brined tulum cheese* (Izmir). Additional information about tulum cheese is presented in the article of Kamber and Terzi (2008), and more of the characteristic details of the cheese varieties can be found in the publication of Hayaloglu and Karagul-Yuceer (2011). The *akcakatik* cheese can be referred also as a kind of tulum cheese, because it ripened in a goat‘s stomach (Kirdar et al., 2017).

The review article of Kalit at al., (2010) presented the main varieties of tulum cheese which are produced in Croatia, Bosnia and Herzegovina and Monte Negro.

The research of Zitoin et al., (2012; 2017) studied in details the *bouhezza* cheese, which is a cheese typical for the East regions of Algeria and which also ripens in prepared goat‘s skin bag. According to the opinion of Zitoin et al., (2011) the *bouhezza* cheese turns out to be the only one of their national cheeses which undergoes a period of ripening. In the North mountain region of Lebanon the tulum cheese is designated as *darfiyeh*. Describing the *darfiyeh* cheese Serhan at al., (2009) point up the handmade manner in cheese technology, the usage of raw goat‘s milk without addition of starter culture and ripening in the animal skin bag.

Depending on the content of water in the solids non-fat the cheese varieties which ripened in the animal skin bag can be classified as hard or semi-hard and according to the contents of fat in solids as full fat or low-fat cheeses (Kalit et al., 2010). In Table 1 are shown the main physicochemical characteristics of tulum

показани основните физикохимични характеристики на тулумско сирене произведено от краве, козе, овче или смес и преминало период на зреене в животинска кожа или в друг вид опаковки. От направения преглед на изследователските данни се вижда, че сухото вещество на тулумското сирене варира от 50.72% (Cakmakci et al., 2011) до 69.13% (Kalit et al., 2012). Изключение прави сирене *bouhezza,* произведено от краве мляко, което се характеризира с много ниско сухо вещество – 35.98% (Zitoin et al., 2012), както и три проби тулумско сирене чието сухо вещество достига 71 и 75% съгласно данните на Kunduhoglu et al. (2012) и дори още по-високо в разновидността на тулумското сирене *akcakatik* - 79.71% (Kirdar et al., 2017). По отношение на маслеността най-ниско е нейното съдържанието в сиренето изследвано от Dinkci et al. (2012) – 20.53%, а най-високо – 39.5% при Kunduhoglu et al., (2012). Изключение от средната норма са няколко проби сирене. Изследваното от Zitoin et al. (2012) сирене *bouhezza* е с маслеността 14.50%, чиято стойност е дори по-ниска от маслеността на призведеното нискомаслено тулумско сирене, изследвано от Celik and Tarakci (2017) – 16.25%. При проба тулумско сирене изследвано от Kunduhoglu et al., (2012) маслеността достига до 44.3%. Съдържание на белтък в тулумското сирене варира в по-тесни граници - минималната стойност съгласно изследователските данни е 16.8% (Zitoin et al., 2012), а максималната - 26% (Kunduhoglu et al., 2012). По отношение съдържанието на сол минималното установено количество е 2.46% (Celik and Tarakci, 2017), а максималното - 6.31% (Akpinar et al., 2017). По отношение на активната киселинност на сиренето най-ниската стойност на активната киселинност е pH=3.69 (Kirdar et al., 2017), а най-високата - 5.48 (Hayaloglu et al., 2007).

cheese made from cow‘s, goat‘s, ewe‘s milk or mixture of these kinds of milk which undergo the ripening period in the animal skin bag or in the other kinds of packaging. It can be seen from the reviewed scientific data that the average total solids of tulum cheese vary between 50.72% (Cakmakci et al., 2011) and 69.13% (Kalit et al., 2012).

Some exceptions are the *bouhezza* cheese made from cow‘s milk which has a low value of total solids – 35.98% (Zitoin et al., 2012), and also three samples of tulum cheese which dry solids matter reaches 71 and 75% according to the data of Kunduhoglu et al., (2012) or even higher in the tulum cheese variety *akcakatic cheese* - 79.71% (Kirdar et al., 2017). Depending on fat, the lowest estimated value is 20.53% (Dinkci et al., 2012), and the highest – 39.5% is in the research of Kunduhoglu et al., (2012).The shifts from the average value are several cheese samples. The cited from Zitoin et al., (2012) *bouhezza* cheese had a fat content of 14.50%, and this particular fat content was even lower than the fat of the examined by Celik and Tarakci (2017) the low-fat tulum cheese with a fat content 16.25%. On the contrary, in the examined by Kunduhoglu et al., (2012) tulum cheese sample fat content reaches 44.3%. Protein contents of the tulum cheese vary in a comparatively narrow range and the experimentally estimated minimal value was 16.8% (Zitoin et al., 2012) and the maximum value was 26% (Kunduhoglu et al., 2012). With regard of the salt content the minimum content is 2.46% (Celik and Tarakci, 2017), and the maximum - 6.31% (Akpinar et al., 2017). According to the measured active acidity of the cheese the lowest estimated value is pH=3.69 (Kirdar et al., 2017), and the highest pH is 5.48 (Hayaloglu et al., 2007).

Таблица 1. Основни физикохимични показатели на тулумското сирене
Table 1. Main physicochemical characteristics of tulum cheese

№	Вид сирене Cheese varieties	Показатели на сиренето/ Physicochemical characteristics of cheese									Източник References
		Сухо вещество % Total Solids, %	Масленост, % Fat ,%	Масленост в сухото вещество Fat in solids dry matter, %	Сол Salt, %	Сол в сухото вещество Salt in solids dry matter, %	Белтък Protein, %	Киселинност % млечна киселина Acidity, % lactic acid	Общ азот Total nitrogen, %	pH	
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
1	Тулумско сирене (краве мляко) Tulum cheese (cow's milk)	56.077	26.87		3.276		24.77				Gor et al., 1991
2	Тулумско сирене (проба T1) Tulum cheese (sample 1)	62.83		60.49 ±0.50			19.78 ±0.50	0.72 ±0.01		5.48 ±0.03	Hayaloglu et al., 2007
3	Тулумско сирене (проба T2) Tulum cheese (sample 2)	68.4		59.21 ±0.06			21.31 ±0.14	0.59 ±0.07		5.32 ±0.01	Hayaloglu et al., 2007
4	Тулумско сирене Tulum cheese	66.52	36.3	54.30	4.29		24.92	1.25		5.35	Tudor et al., 2008
5	Тулумско сирене - *cimi tulum*, (козе мляко) Tulum cheese - *cimi tulum* (goat's milk)	57.73	30.01		3.51		22.27	1.75	2.92		Karagozlu et al., 2009
6	Тулумско сирене (проба C) Tulum cheese (sapmle C)	54.00	28.50			3.57		1.22		4.82	Cakmakci et al., 2011
7	Тулумско сирене (проба D) Tulum cheese (sample D)	50.72	28.75			4.49		1.35		4.88	Cakmakci et al., 2011
8	Тулумско сирене - *divle tulum,* (козе мляко) Tulum cheese - *divle tulum* (goat's milk)	56.27 ±7.59	23.46 ±4.48		3.99 ±0.75		25.90 ±3.40	1.074 ±0.425		5.42 ±0.61	Morul at Isleyici, 2012
9	Тулумско сирене - *kargi tulum* Tulum cheese - *kargi tulum*		20.53 ±1.93	31.37 ±1.43	3.69 ±0.56		21.37 ±0.43	0.62 ±0.13	3.35 ±0.07		Dinkci et al., 2012
10	Тулумско сирене - *bouhezza* (краве мляко) Tulum cheese - *bouhezza* (cow's milk)	35.98 ±2.16	14.50 ±1.64		2.98 ±0.24		16.8	1.82 ±0.03		4.19 ±0.23	Zitoun et al., 2012
11	Тулумско сирене Tulum cheese	69.13 ±6.46	37.12 ±6.01		2.68 ±1.11		25.60 ±2.70	1.56 ±0.33		5.20 ±0.14	Kalit et al., 2012
12	Тулумско сирене - *kargi tulum* (проба №6) Tulum cheese - *kargi tulum* (sample №6)	71	39.5	55.6		3.1	26.0	2.9 SH	4.1	5.20	Kunduhoglu et al., 2012
13	Тулумско сирене - *kargi tulum* (проба №7) Tulum cheese - *kargi tulum* (sample №7)	75	44.3	59.1		3.6	25.1	2.8 SH	3.9	5.25	Kunduhoglu et al., 2012
14	Тулумско сирене (овче мляко) Tulum cheese (ewe's milk)	59.20	31.06	52.47	3.95	6.67		1.005		5.153	Arslaner and Bakirci, 2016

15	Тулумско сирене Tulum cheese	61.96 ±1.31	33.25 ±0.63		3.83 ±0.13	6.20 ±0.32	23.16 ±2.15	1.62 ±0.07		5.09 ±0.03	Tarakci and Durmus, 2016
16	Тулумско сирене - *Izmir tulum* (краве мляко) Tulum cheese - *Izmir tulum* (cow's milk)	56.528		43.21	6.31		24.48	0.989	3.84	4.36	Akpinar et al., 2017
17	Тулумско сирене - *Izmir tulum* (краве, козе и овче мляко) Tulum cheese - *Izmir tulum* (cow's, goat's and ewe's milk)	60.157		46.24	5.97		24.65	1.069	3.86	4.40	Akpinar et al., 2017
18	Сирене Akçakatık (краве, козе и смес) Akçakatık cheese (cow's, goat's milk and mixture)	79.71 ±4.92	21.00 ±3.96	32.18 ±4.42	6.16 ±1.63	4.27 ±1.14		2.40 ±0.5		3.69 ±0.26	Kirdar et al., 2017
19	Тулумско сирене – ниско маслено (краве мяко) Tulum cheese – low-fat (cow's milk)	58.38 ±0.74	16.25 ±0.35		2.46		18.83 ±0.32				Celik and Tarakci, 2017
21	Тулумско сирене Tulum cheese	54.94 ±5.13	27.35 ±6.85	49.15 ±10.53	3.29 ±0.60	7.19 ±2.83	20.76 ±1.934	1.80 ±0.38	3.25 ±0.299	5.10 ±0.40	Erdem and Patir, 2017
21	Тулумско сирене - *Erzincan Tulum cheese* Tulum cheese – *Erzincan tulum cheese*	62.13 ±0.03		57.94 ±0.03	3.11 ±0.10	5.01 ±0.16	21.14 ±0.01	1.05 ±0.09		4.69 ±0.01	Cakir and Cakmakci, 2018

Технология на производство

Производството на сирене е сложен, многоетапен процес, с който се цели превръщането на млякото и свежата сиренина в специфичен по своите структурно-механични и органолептични характеристики краен продукт (Kindtedt, 2014). При производството на полутвърдите и твърди сирена освен технологичните етапи свързани с получаването на коагулум (подсирка) и частичното му обезводняване и формуване задължително присъства и определен период на зреене на получената сиренина. Разнообразието от над 1000 вида сирена, приготвяни по традиционен начин, се дължи на разнообразието по отношение на: прилаганата температура и време на за-дръжка при подгряването или пастьоризацията на млякото, вида и режима на подсирване, както и нарязване, а също така самопресуване и пресуване на сиренината (Blazic et

Cheese making technology

The cheese technology is a sophisticated multileveled process, which aims at transforming milk and curd into a specific final product, with its own structure-texture and sensory characteristics (Kindtedt, 2014).

Production of semi-hard and hard cheese varieties includes production steps as milk coagulation, partial drainage of the curd and molding as well as an appropriate ripening period.

The variety of more than 1 000 artisan cheeses is due to variety of the heating temperature or the regime of milk pasteurization, the different types and combinations of milk rennet coagulation, cutting, self-pressing or pressing with additional weights (Blazic et al., 2017).

Raw milk is a primary source for artisan

al., 2017). Като суровина за традиционното тулумско сирене се използва сурово мляко, предимно овче и козе заради вида на отглежданите млекодайни животни в селските райони и особено в райони с неблагоприятни географски и климатични условия (Boyazoglu and Morand-Fehr, 2001; Alichanidis and Polychroniadou, 2008). Специфичният състав и характерни свойства на овчето и козето мляко, които са обект на редица изследвания (Jandal 1996, Park et al., 2007; Raynal-Ljutovac et al., 2008) без съмнение оказват влияние върху качеството на получаваното сирене и са решаващи за специфичния му вкус и аромат (Albenzio and Santillo, 2011).

В началните етапи от производствения процес на тулумското сирене Kirdar et al. (2015) отбелязват, че суровото мляко (15-20kg), което се използва при получаването на сирене *Kargi tulum* се филтрира за да се отстранят механичните замърсявания, а Oksuztepe et al. (2005) отбелязват, че изходната суровина не трябва да съдържа чужди химични вещества или инхибиторни субстанции. Суровото мляко се подгрява до температурата на подсирване, която варира в сравнително тесни граници - 31°C (Yilmaz et al., 2005, Colak et al., 2007) или малко по-висока - 35°C (Cakir and Cakmakci, 2018). При използването на краве мляко температурата на подсирване, която посочват Gurses и Erdogan (2006) е дори още по-ниска - 30°C. Сред литературните данни се откриват и варианти, при които се използва краве мляко и пастьоризация при 65°C за 30 min (Gurses and Erdogan, 2006). В изследването на Celik и Tarakci (2017), при производството на нискомаслено тулумско сирене от краве мляко температурата на проведената пастьоризацията е дори още по-висока - 85°C за 10 min. За подсирването на млякото изследователите посочват разнообразна по произход и сила сирищна мая. В

tulum cheese production, predominantly sheep‘s or goat‘s milk because these small ruminants are preferably bred in the rural area and especially in the area with unfavorable geographical and climatic conditions (Boyazoglu and Morand-Fehr, 2001; Alichanidis and Polychroniadou, 2008).

The specific content of components and distinctive properties of sheep‘s and goat‘s milk are objects of many scientific researches (Jandal 1996, Park et al., 2007; Raynal-Ljutovac et al., 2008) and undoubtedly have an influence on the quality of produced cheese and also are decisively important for its taste and flavor (Albenzio and Santillo, 2011).

In the early stages of tulum cheese production Kirdar et al., (2015) stated that the raw milk (15-20kg), used for production of *Kargi tulum* was filtered in order to remove the solid contamination of milk, and Oksuztepe et al., (2005) noted that the source milk must be free from any foreign chemicals or inhibitory substances.

The raw milk is heated to the proper temperature for addition of rennet which vary in a narrow range - 31°C (Yilmaz et al., 2005, Colak et al., 2007) or a higher with several degrees - 35°C (Cakir and Cakmakci, 2018). The milk heating temperature for cow‘s milk used by Gurses and Erdogan (2006) was even lower - 30°C.

Among the research data can be found some variants which use the cow‘s milk and pasteurization of 65°C for a 30 min (Gurses and Erdogan, 2006), and in the study of Celik and Tarakci (2017), during the production process of a low-fat tulum cheese the pasteurization temperature is even higher - 85°C for 10 min.

The researchers use rennet of different kinds and strength. In the technology process sited by Cakir and Cakmakci,

цитираната от Cakir и Cakmakci (2018) технология е използвана домашно приготвена телешка сирищна мая, докато останалите източници посочват промишлена мая с различна сила - сирищна мая с телешки произход и сила 1:16 000 (Celik and Tarakci, 2017), мая със сила 1:15 000 (Gurses and Erdogan, 2006), мая с микробиален произход (*Mucor miehei*) и сила 1:150 000 (Serhan et al., 2009), мая със сила 1:6000 (Yilmaz et al., 2005), мая със сила 1:8000 (Kirdar et al., 2015). Съгласно традиционният метод стартерна култура и калциев двухлорид не се добавят, но са използвани в изследването на Celik и Tarakci (2017), а Yilmaz et al., (2005) добавят и липазен ензим. Повечето изследователи са единодушни, че за уплътняването на коагулума са необходими от 60 до 90 min с изключение на Yilmaz et al. (2005), които започват обработката на коагулума след 30-тата минута от поставянето на сирищната мая. Получената сиренина се нарязва или надробява на парченца с размер от 1x1x1cm (Yilmaz et al., 2005, Cakir and Cakmakci, 2018), 2x2x2cm (Gurses and Erdogan, 2006), 3-4cm^3 (Celik and Tarakci, 2017) или 5x5cm (Oksuztepe et al., 2005). Допълнителна термична обработка (до 50°C за 12-15 min) на получените сиренни кубчета, с което се цели по-съществено обезводняване на сиренината е посочено единствено в технологията цитирана от Colak et al. (2007). Във всички разгледани технологии сиренните кубчета се пресуват чрез прилагането на тежести с различно тегло и с различна продължителност – 60 kg за 12 часа (Gurses and Erdogan, 2006), пресуване с продължителност 3.5-4 часа (Karagozlu et al., 2009), 2-kg тежест на всеки 10 kg сиренина за 2 часа (Celik and Tarakci, 2017). В някои случаи сиренината се поставя в платнени торби и се пресува под собствената си тежест при температура 20°C за период от 24 часа (Cakir and

(2018) the home made calf rennet is used, but the other researches indicated the use of rennet with different strength - calf rennet with strength 1:16 000 (Celik and Tarakci, 2017), rennet with strength 1:15 000 (Gurses and Erdogan, 2006), rennet microbial powder (*Mucor miehei*) and strength 1:150 000 (Serhan et al., 2009), rennet with strength 1:6000 (Yilmaz et al., 2005), rennet with strength 1:8000 (Kirdar et al., 2015).

According to the artisan technology starter culture and calcium chloride are not used, but they are included in the experiment of Celik and Tarakci (2017), and Yilmaz et al., (2005) additionally applied a microbial lipase. Most of the scientists share the common opinion that obtaining the firm curd takes from 60 to 90 min except Yilmaz et al., (2005), who started curd cutting on 30th minutes after addition of rennet.

The curd is cut or manually broke up to pieces with a size of 1x1x1cm (Yilmaz et al., 2005, Cakir and Cakmakci, 2018), 2x2x2cm (Gurses and Erdogan, 2006), 3-4cm^3 (Celik and Tarakci, 2017) or 5x5cm (Oksuztepe et al., 2005). Additional heating (up to 50°C for 12-15 min) of the cheese curd pieces, in order to expel more whey from curd is mentioned only in the technological scheme sited from Colak et al., (2007).

As a rule, in all reviewed in this paper technologies, the drainage of cheese curd is done by pressing with different weights and with different time duration – as a example 60 kg for 12 hours (Gurses and Erdogan, 2006), a press operation with duration 3.5-4 hours (Karagozlu et al., 2009), 2-kg weights on every 10 kg curd for 2 hours (Celik and Tarakci, 2017). In some cases the press operation is performed by the weight of filled with curd cotton bags at the temperature of 20°C for a period of 24 h (Cakir and

Cakmakci, 2018). След първоначалното пресуване сиренината се надробява на парченца с размер на грахово зърно и се осолява до 2% (Oksuztepe et al., 2005), до 2.5% (Celik and Tarakci, 2017), до 3% (Cakir and Cakmakci, 2018), до 3.5% (Gurses and Erdogan, 2006). Допълнително пресуване на осолената сиренина споменават Gurses и Erdogan, 2006 – с тежести от 30kg и период от 3-4 часа, отцеждане за два дни се открива в технологията на Celik и Tarakci (2017), за период от 24 часа при стайна температура и прилагането на тежести се отцежда сиренината в технологията на Oksuztepe et al. (2005). Yilmaz et al. (2005) споменават пресуване с тежести от 25 kg/m^2 за 16 h. Аналогично пресуване, но под собствената тежест на напълнени платнени торби, чието тегло може да достигне 50 kg се открива в технологията на Kirdar et al. (2015). Yilmaz et al. (2005) посочват и период на преферментация при обработването на сиренината и достигането на определени стойности на активната киселинност - pH 5.10, като показател за протичащия млечнокисел процес. При някои варианти осолената сиренина зрее в стъклени съдове при температура 10±2°C за 3 месеца (Gurses and Erdogan, 2006), при 4±1°C за 120 дни (Celik and Tarakci, 2017) или при 4±1°C за 90 дни в пластмасови кутии съгласно Cakir и Cakmakci (2018). Напълнената в животинска кожа сиренина може да зрее при 2-4°C (Karagozlu et al., 2009), при 6±1°C (Kirdar et al., 2015) или малко по-висока 7-8°C за 90 дни (Colak et al., 2007, Yilmaz et al., 2005), но също така и при температура от 10-12°C (Serhan et al., 2009). Съгласно Serhan et al. (2009) при производството на сирене *darfiyeh* тулума се пълни с ръчно оформени късове с размер от 12x9x9cm, а отделената по време на обработката на сиренината суроватка се събира, загрява, а чрез добавянето на сурово козе мляко се постига коагу-

Cakmakci, 2018). After the initial press operation the curd is further cut to pieces with size of pea and salted to 2% (Oksuztepe et al., 2005), to 2.5% (Celik and Tarakci, 2017), to 3% (Cakir and Cakmakci, 2018), to 3.5% (Gurses and Erdogan, 2006). Additional press operation was applied in the work of Gurses and Erdogan, (2006) – as a weight of 30kg for a period of 3-4 hours, the drainage of salted curd can be found in the technology of Celik Tarakci (2017), for a period of 24 hours at room temperature and applying the weights on the cheese curd is seen also in the technology of Oksuztepe et al., (2005). Yilmaz et al., (2005) defined the pressing with weights of 25 kg/m^2 for 16 h. A very similar press operation but using the weight of full cotton bags which can reach 50 kg can be found in the work of Kirdar et al., (2015). Yilmaz et al., (2005) mentioned also the period of prefermentation during the curd processing and a decrease in the active acidity to the particular value - pH 5.10, as a result of ongoing lactic acid fermentation. In some particular technologies the salted curd ripens in glass packaging at the temperature of 10±2°C for 3 months (Gurses and Erdogan, 2006) or at 4±1°C for 120 days (Celik and Tarakci, 2017), it can ripen also at 4±1°C for 90 days in plastic containers according to Cakir and Cakmakci (2018). Filled in a skin bag curd can ripen at 2-4°C (Karagozlu et al., 2009), at 6±1°C (Kirdar et al., 2015) or even higher 7-8°C for 90 days (Colak et al., 2007, Yilmaz et al., 2005), but also at temperature of 10-12°C (Serhan et al., 2009). According to Serhan et al., (2009) during the production process of the *darfiyeh* cheese the skin bag was filled with a hand shaped cheese pieces with an average size of 12x9x9cm, and the expelled whey was collected, subjected to heating and by addition of some quantity of raw ewe‘s milk the whey proteins have been coagulated. Obtained

лация на суроватъчните белтъци. Така получената извара се смесва с обработената сиренина и се пълни през отвора на шията в обработената кожа (козя кожа). Според Erdogan и Gurses (2005) в производството на тулумското сирене се използва обезмаслено мляко, сирищна мая и нагряване, при което се получава сиренина, която изследователите обозначават като *civil cheese*, а определените опаковки (животинска кожа или пластмасови торби) се пълнят със сиренината размесена с получената от суроватката извара (*lor*). Стегнато защитата кожа предотвратява достъпът на въздух и при домашни условия може да се съхранява и в помещения с естествено охлаждане. Guven и Konar (1994) изследват вариантите, когато козината на обработената кожа е обърната навън или обратно – е насочена към сиренината. При втория вариант установяват, че броя на колиформите, дрождите и плесеновите гъби е значително по-висок поради което считат, че тулумът с космена покривка обърната към сиренината е неподходящ за използване при получаването на сиренето. При цитираната от Zitoin et al. (2011) технология за получаването на сирене *bouhezza* космената покрив-ка на обработената кожа е обърната към сиренината. В технологията на Cakir и Cakmakci (2018) преди поставянето на сиренината в опаковките към нея се добавя и кимион.

Съвсем различно е мнението на Litopoulou-Tzanetaki и Tzanetakis (2011), които считат че технологията на получаване на *touloumissio cheese* (*touloumotyri*), което е гръцкото наименование на тулумското сирене (*touloumia*) е същата като при сирене *Фета*, макар че се допускат някои модификации. Авторите споменават, че сиренето се произвежда от сурово овче или козе мляко или от тяхна смес, но считат че след осоляване и

by this manner, whey cheese was mixed with the cheese curd and was introduced inside the ewe‘s skin bag through the neck.

According to Erdogan and Gurses (2005) the tulum cheese technology includes the usage of raw skim milk, rennet and by heating the curd is obtained so called *civil cheese* and the previously prepared packages (which can be animal skin bags or plastic bags) are filled with the mixture of the processed curd and the whey cheese (*lor*).

Tightly sewed animal skin prevents air entering inside the bag and in a homemade technology skin bag can be stored in rooms with natural cooling. Guven and Konar (1994) have studied the samples in which the hairy surface of prepared skin was directed inwards or outwards of the inside space of animal skin and the cheese curd. Because of a higher number of coliform bacteria yeast and mould in the samples with the hairy surface inside, in comparison to the others samples, authors have drawn the conclusion that the goat‘s skin bag with the hairy surface inside is not suitable for tulum cheese packaging. The technology sited by Zitoin et al., (2011) for *bouhezza* cheese the hairy surface of the skin was inwards. According to the technology of Cakir and Cakmakci (2018) before the filling the packages the curd was mixed with a black cumin.

Comparatively different is opinion of Litopoulou-Tzanetaki and Tzanetakis (2011), who concluded that the technology of a *touloumissio cheese* (*touloumotyri*), which is a Greek designation of tulum cheese (*touloumia*), is pretty much the same as the technology of *Feta* cheese, despite existence of some modification in the technology process. The researchers mentioned that the cheese is produced from raw sheep‘s or goat‘s milk or from

узряването му сиренето се нарязва на малки парченца и се пълни в приготвената животинска кожа. Изследователите отбелязват също така високо съдържание на сол в сиренето и използването на саламура за осоляването му като съдържанието на сол в саламурата достига 5.56–7.35%.

Изключително интересен е начинът на производство на сирене *bouhezza* посочен в публикацията на Zitoin et al. (2011) и Medjoudj et al., (2017). Суровина за произведеното по оригиналната технология сирене са сурово козе, овче, краве мляко или смес. Спонтанната коагулация, отцеждане и зреене на сиренето протичат в обработената животинска кожа (с вместимост от около 10 до 15 литра). За производството на сиренето се използва т.нар. *lben*, който представлява млечнокисел продукт, получен чрез спонтанна ферментация на млякото при температура 20-25°C за 24 до 48 часа, без добавянето на стартерна култура. Преди да се използва за приготвянето на сиренето *bouhezza* ферментиралото мляко частично се отсметанява. Обработената животинска кожа *chekoua*, предварително се пълни с 2-3 литра *lben*, който спомага за подготовката на кожата и отстраняването на неприятните миризми от нея. Производствения процес започва с пълнене на кожата с порция *lben* и добавянето на сол в количество 0.25g/L, което в рамките на 3-4 дни осигурява първоначалните биохимични изменения. Добавянето на порции *lben* и сол се повтаря през интервали от около 4 дни до напълването на кожата, което отнема около 7 седмици. Успоредно с измененията на сиренината протича и нейното зреене и към края на зреенето на сиренето (около 10-тата седмица) към сместа, отново на малки порции в продължение на няколко дни се добавя пълномаслено сурово мляко (около 2 до 3L за всяка *chekoua*). С него се постига необходи-

the mixture of these milks, but consider that after salting and ripening the matured cheese is cut into small pieces and filled in the prepared animal skin bag. The researchers noted the high salt content of cheese and also the use of brine which in turn can reach the salt content of 5.56–7.35%.

Very interesting is the manner of *bouhezza* cheese production explained in the publication Zitoin et al., (2011) and also in the work of Medjoudj et al., (2017). The original technology of cheese is based on the use of raw goat‘s, ewe‘s, cow‘s milk or from a mixture of these. The technological steps involved a spontaneous fermentation, drainage and ripening of the cheese inside the prepared skin bag (which has an inside volume of about 10 to 15L). The cheese is produced by using so called *lben*, which is fermented milk obtained by a spontaneous fermentation of raw milk at the temperature of 20-25°C for a period of 24 to 48h without addition of starter culture. The fermented milk is partially skimmed before use in the *bouhezza* cheese technology. The prepared animal skin *chekoua*, firstly is filled with 2-3L *lben*, which helps for the proper treatment of skin and removes undesirable smell.

The technology process starts with filling the animal skin with a small portion of fermented *lben* and salt in quantity of 0.25g/L, this provides the initial biochemical changes of milk for 3-4 days.

The successive addition of portions salted *lben* is repeated every 4 days until the skin bag is completely filled, the whole process continues almost 7 weeks. The changes of cheese curd have happened simultaneously with its ripening and at the end of the ripening period (around 10^{th} week), in the same manner, raw full fat milk is added into the cheese mixture (the quantity of a raw milk is 2 to 3L for each *chekoua*).

мата масленост на сиренето, а добавеното количество коригира съдържанието на сол и киселинността на готовия продукт. Обработката на сиренето може да завърши с добавянето на лютив червен пипер.

Микрофлора на сиренето

Повишаването на киселинността и първоначалната частична протеолиза на млякото са ключови процеси в началните етапи от производството на сирене. Киселинообразуването е важно за улесняване на коагулацията и за потискане развитието на патогени (Fox, 1989; McSweeney, 2004; Fernandes ed., 2009). При производството на традиционни сирена, без добавяне на стартерна култура, основния фактор за киселинообразуването, а след това и за протичащите процеси на протеолиза и липолизата е естествено присъстващата в суровото мляко микрофлора и микроорганизмите, които попадат в сиренината по време на обработването й (Montel et al., 2014; Gobbetii et al., 2015). Специфичните физикохимични и органолептични свойства на готовото сирене са непосредствен резултат от типовете обработка на сиренината и активността на микрофлората му (Poznanski et al., 2004; Widyastuti et al., 2014).

В произведеното по традиционен начин тулумско сирене се открива разнообразие от млечнокисели бактерии от родовете *Lactobacillus, Enterococcus*, *Lactococcus, Leuconostoc* и *Pediococcu*s. Kunduhoglu et al. (2012) изследват микрофлората на тулумско сирене (*kargi tulum*), произведено от сурово мляко и преминало период на зреене в животинска кожа. Чрез генотипно характеризиране изследователите установяват наличие на *Lactobacillus paracasei* (43.3%)*, Lactobacillus plantarum* (23.7%)*, Streptococcus thermophilus* (6.2%), *Enterococcus durans* (6.2%), *Lactobacillus brevis* (5.2%)*, Enterococcus faecium* (5.2%), *Lactobacillus fermentum* (4.1%) и *Lactobacillus pentosus* (1%)*.* В Ливанското сирене *darfiyeh,* с използването

The applied raw milk adjusts the fat content of cheese, salt contents and acidity of the final product. Addition of red hot pepper into cheese is optional.

Cheese microflora

Acidity increase and primary partial proteolysis are key processes in the early stages of cheese making technology. The acid production is important because promotes milk coagulation and suppresses the growth of pathogens (Fox, 1989; McSweeney, 2004; Fernandes ed., 2009). In the technology process of artisan cheeses, without starter culture, the naturally present in raw milk microflora and the microorganisms which enter the curd during its processing are the main cause for acid production, and consequently for the proteolysis and lipolysis in the cheese (Montel et al., 2014; Gobbetii et al., 2015). That‘s way the specific physicochemical and sensory characteristics of the cheese are direct result of the types of cheese processing and the activity of its microflora (Poznanski et al., 2004; Widyastuti et al., 2014).

In the tulum cheese made by artisan technology is found a great diversity of lactic acid bacteria, which belongs to genera *Lactobacillus, Enterococcus*, *Lactococcus, Leuconostoc* и *Pediococcu*s. Kunduhoglu et al., (2012) studied the microflora of artisan tulum cheese (*kargi tulum*), which was made from raw milk and ripened in animal skin bag. By genotyping the researchers detected the presence of *Lactobacillus paracasei* (43.3%)*, Lactobacillus plantarum* (23.7%)*, Streptococcus thermophilus* (6.2%), *Enterococcus durans* (6.2%), *Lactobacillus brevis* (5.2%)*, Enterococcus faecium* (5.2%), *Lactobacillus fermentum* (4.1%) and *Lactobacillus pentosus* (1%)*.*

Into Lebanon‘s tulum cheese *darfiyeh,* by

на молекулярни методи, заедно с наличието на *Lactobacillus plantarum* Serhan et al. (2009) установяват също и *Lactobacillus curvatus.* Освен *Streptococcus thermophilus* и някои други представители на група D от род *Streptococcus* изследователите установяват и по-голямо разнообразие сред изолираните ентерококи, като освен *Enterococcus faecium* изолират още *E. durans*, *E. faecalis* и *E. malodoratus.* Установяват се и лактококи от видовете *Lactococcus lactis subsp. lactis* и *L. lactis subsp. cremoris.*

По-висок брой на кълбовидните бактерии (*S. faecalis*) в ранните етапи на зреене на сиренето посочват Bostan et al. (1992), както и наличието на щамове *Lactobacillus casei* и *Lactabacillus plantarum.* В тулумското сирене промишлено производство наред със споменатите видове, авторите откриват също *S. faecium* и *S. lactis.* Сравнително ниско е количеството на представителите от род *Leuconostoc* и *Pediococcus.* Според изследвателите, като видове с важно значение, трябва да се отбележи присъствието на дрожди от вида *Geotrichum candidum*, както и от установените от Erdogan et al. (2003) плесени от вида *Penicillium requeforti*.

Екип изследователи изследват микрофлората на два вида тулумско сирене от краве мляко. Единият вид е инокулиран с *Penicillium requeforti* и зреето протича в пластмасова опаковка за период от 4 месеца (Erdogan and Gurses, 2005). Вторият вид не съдържа плесени и зрее в стъклени съдове за период от 3 месеца (Gurses and Erdogan, 2006). От сиренето с плесен изследователите изолират общо 228 млечнокисели бактерии за идентификацията на които използват *API тест,* а от сиренето без плесени изолират 253 млечнокисели бактерии. Получените резултати посочват, че в края на зреенето на сиренето с плесен преобладаващите щамове (53.3%)

molecular methods, along with the presence of *Lactobacillus plantarum* Serhan et al., (2009) detected also *Lactobacillus curvatus.* Additionally to *Streptococcus thermophilus* and some others species of group D of the genus *Streptococcus,* the researchers detected also more diversity among the isolated enterococci and besides *Enterococcus faecium* they isolated also *E. durans*, *E. faecalis* и *E. malodoratus.* They found also lactococci of the species *Lactococcus lactis subsp. lactis* and *L. lactis subsp. cremoris.*

The number of round shaped bacteria (*S. faecalis*) in the early stages of cheese ripening was noticed by Bostan et al., (1992), and also the presence of strains *Lactobacillus casei* and *Lactabacillus plantarum.* In the dairy plant produced the tulum cheese, along with the aforementioned species, the authors isolated also *S. faecium* and *S. lactis.* Comparatively low was the quantity of bacteria of the genera *Leuconostoc* and *Pediococcus.* According to the researchers, the species of a great importance are yeast of genus *Geotrichum candidum*, and also as detected by Erdogan et al., (2003) blue moulds *Penicillium requeforti*.

A team of researchers studied the microflora of two kinds of tulum cheese from cow‘s milk. One sample was inoculated with *Penicillium requeforti* and ripened in the plastic package for 4 months (Erdogan and Gurses, 2005). The other sample didn‘t contain moulds and ripened in a glass vessels for 3 months (Gurses and Erdogan, 2006). The researchers isolated 228 strains of lactic acid bacteria from the mould cheese and for its identification used *API strip,* and isolated 253 strains lactic acid bacteria from cheese without moulds. The final results showed that at the end of the cheese ripening in cheese with moulds the most abundant strains (53.3%) belongs to the genus *Enterococcus ssp.,*

принадлежат към род *Enterococcus sp.,* а 26.7% се отнасят към род *Lactobacillus ssp.* И в двата типа сирене изследователите установяват *Enterobacter faecalis*, който е в по-голямо количество в сиренето с плесен (40.0%), а в сиренето без плесен достига 13.6% и намалява до 3% през периода на зреене. Аналогична е тенденцията за *L. lactis,* който в свежото сирене без плесен представлява 4.5% от микрофлората и количествено намалява през периода на съхранение. Противоположно е изменение на *Leuconostoc mesenteroides,* който е 9.1% в свежото сирене без плесени и нараства през изследвания период до 14.7%. В сиренето с плесен изследователите установяват още *Lactobacillus parabuhneri* (13.3%) и *Lactobacillus bifermentans* (6.7%), а в сиренето без плесени е висок също броя на *L. paracasei*, но се откриват още *L. brevis, L. curvatus* и *L. casei*. В сиренето с плесен *Pediococcus acetilactici* достига 6.7%, а в сиренето без плесен - 18.2%, като общо изолирани са 44 щама от род *Pediococcus.*

Аналогични данни по отношение наличието на *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis, Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus brevis* установяват Frece et al. (2016) в млякото, сиренината и готовото тулумско сирене с помощта на биохимични анализи. Изследователите отбелязват, че в сиренето от краве мляко преобладават *Lactococcus lactis* и *Lactobacillus paracasei*, а в сиренето от овче мляко и при зреене в животинска кожа - *Leuconostoc mesenteroides* и *Lactobacillus plantarum*. Изследователите изказват предположението, че някои щамове стафилококи (*S. xylosus*) могат да имат участие във формирането на желания и разпознаваем вкус и аромат на сиренето.

Динамика на изменението на млечнокиселите бактерии, които участ-

and 26.7% belongs to the genus *Lactobacillus ssp.* In the two mentioned cheeses researchers found *Enterobacter faecalis*, which was in a higher count in the cheese with moulds (40.0%), and in the cheese without mould has reached 13.6%, but consequently during the ripening period decreased to 3%. Very similar was the trend of *L. lactis,* which in immature cheese without moulds reached 4.5% of microflora, but its quantity decreased during the storage time. At the contrary, *Leuconostoc mesenteroides* reached 9.1% in immature cheese without moulds but its number increased during the examined period up to 14.7%. In the cheese with moulds researchers found also *Lactobacillus parabuhneri* (13.3%) and *Lactobacillus bifermentans* (6.7%), and in the cheese with moulds the number of *L. paracasei* was also higher, and *L. brevis, L. curvatus* and *L. casei* were also found. In the cheese with moulds *Pediococcus acetilactici* reached 6.7%, and in the cheese without moulds - 18.2%, and the total number of strains which belongs to the genus *Pediococcus* reached 44 strains.

The presence of *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis, Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus brevis* was detected by biochemical analysis from Frece et al., (2016) in the milk, curd and the cheese. The same researchers marked that in the cheese made from cow‘s milk *Lactococcus lactis* and *Lactobacillus paracasei*, and in the cheese of ewe‘s milk and after ripening in animal skin bag - the predominant were *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum*. The researchers made an assumption that some strains of staphylococci (*S. xylosus*) may have a role in formation of the desirable and distinctive taste and flavor of cheese.

The changes in the trends of lactic acid bacteria which participate in the

ват в микрофлората на тулумско сирене се открива в изследването на Oksuztepe et al. (2005) и Cakmakci et al., (2008). Cakmakci et al., (2008) установяват в свежото сирене представители на род *Enteroccocus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* и *Pediococcus*. Според изследователите през периода на зреене представителите на родовете *Streptococcus* и *Lactococcus* изчезват, докато според данните на Karagozlu et al. (2009) представители на род *Lactococcus* се откриват и по време на зреене на сиренето, а броят на представителите на род *Streptococcus* дори нараства в периода на зреене ($p<0.01$). Данните на Cakmakci et al. (2008) показват, че процентът на видовете от род *Enterococcus* не се изменя, независимо дали сиренето зрее в животинска кожа или в пластмасова опаковка и е преобладаваща микрофлора наред с представители на род *Lactobacillus*. Аналогични са данните на Tuncer (2009), който изолира 39 щама, от които почти половината (43.58%) са представители на *Enterococcus faecium*, а щамове на *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus durans* се откриват в еднакво количество - 28.21%. Cakmakci et al. (2008) отбелязват, че някои видове като *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*, *Pediococcus damnosus* и *Enterococcus mundtii* се изолират само от сирене, което е зряло в пластмасови опаковки, а щамове на *Lactobacillus coryniformis* и *Lactobacillus malafermentans* се изолират само зряло в козя кожа сирене за период от 6 до 9 месеца. Интересно заключение на изследователите е, че броя на изолираните щамове *Enterococcus faecalis* е по-висок в сиренето, което зрее в пластмасовите опаковки, отколкото в животинската кожа.

Изключително обширно е и изследването на Oksuztepe et al.

microflora of tulum cheese can be viewed from the study of Oksuztepe et al., (2005) and Cakmakci et al., (2008). Cakmakci et al., (2008) found in immature cheese bacteria of genera *Enteroccocus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* and *Pediococcus*.

According to their data, during the ripening, the cells of *Streptococcus* and *Lactococcus* disappeared, but these data are not supported by Karagozlu et al., (2009) which results revealed that the cells of genus *Lactococcus* can be found at the time of cheese ripening, and the number of *Streptococcus* has even increased during the ripening period ($p<0.01$). The data of Cakmakci et al., (2008) showed that the number of species belonging to the genus *Enterococcus* stayed constant independently of the type of package which could be animal skin bag or plastics and its quantity is as much abundant as the quantity of species of genus *Lactobacillus*. Similar was the data of Tuncer (2009), who isolated 39 strains and almost half of them (43.58%) were *Enterococcus faecium*, and in the same quantity - 28.21% were strains of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus durans*. Cakmakci et al., (2008) have noticed, that some particular species as *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*, *Pediococcus damnosus* and *Enterococcus mundtii* can be isolated only from cheese ripened in plastics, and the strains of *Lactobacillus coryniformis* and *Lactobacillus malafermentans* were isolated only from cheese ripened in goat's skin bag for a period of 6 to 9 months. The interesting observation of the authors is that the numbers of strains Enterococcus faecalis in cheese ripened in plastics were higher than in the cheese ripened in animal skin bag.

Oksuztepe et al., (2005) have published very detailed study which

(2005), които проследяват изменението на микрофлората на *savak tulum cheese*, произведено от сурово овче мляко и период на зреене от 90 дни в пластмасова опаковка. Изследователите изолират общо 851 щама, от които 783 са млечнокисели бактерии като установяват, че през първите месеци на зреене преобладават млечнокиселите кълбовидни бактерии, а след това е по-голям броя на пръчковидните представители. От кълбовидните млечнокисели бактерии най-голям е броя на представители от род *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, и *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*. Ентерококите са също в много висок брой – от 19 до 34% от всички изолати по време на периода на зреене.

Относно количественото съотношение между различни групи микроорганизми в сиренето Karagozlu et al., (2009) посочват еднакво висок брой на лактобацилите (7.301 log cfu/g) и стрептококите (7.278 log cfu/g), при съществено по-нисък брой на ентерококите (0.176 log cfu/g), както и значително присъствие на дрожди (1.623 log cfu/g). Изследователите посочват висок брой колиформи (5.716 log cfu/g) и още по-висок брой съответно на психротрофните бактерии и липолитичните бактерии (7.000 log cfu/g). Аналогични са данните получени от Dinkci et al. (2012), при които броят на стрептоките (7.28 ±0.20 log cfu/g) и лактобацилите (7.39±0.12 log cfu/g) е почти еднакъв, въпреки че изследователите посочват значително повисок брой на дрождите и плесените - 6.10 log cfu/g, както и нисък брой колиформите (по-малко от 10 на грам продукт). При изследването на микрофлората на сирене *bouhezza* Zitoin et al. (2011) също установяват наличието на дрожди и плесени (4-5 log cfu/g^{-1}) и на липолитични микроорганизми (3 - 4 log cfu/g^{-1}). Според изследователите и двете групи микроорганизми имат зна-

examined the changes of microflora of *savak tulum cheese*, made from raw ewe‘s milk and 90 days ripening period in plastic package.

The researchers isolated in all 851 strains and 783 of it were lactic acid bacteria. Researchers also found that during the first months of cheese ripening the predominant were round shaped bacteria and lately rod shaped bacteria prevailed. Among round shaped bacteria the most abundant were strains of *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, and *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*. Enterococci also was found in very high number – from 19 up to 34% from all of the isolated strains during the ripening.

According to the quantitatively proportion among the different groups of microorganisms in the cheese Karagozlu et al., (2009) estimated equally high number of lactobacilli (7.301 log cfu/g) and streptococci (7.278 log cfu/g), along with a substantially lower number of enterococci (0.176 log cfu/g), but a comparatively high number of yeast (1.623 log cfu/g). The same researches noticed high number of coliform bacteria (5.716 log cfu/g) and even higher count of psychrophilic and lypolitic bacteria (7.000 log cfu/g). Similar were the results of Dinkci et al., (2012) in whose study the number of streptococci (7.28 ±0.20 log cfu/g) and lactobacilli (7.39±0.12 log cfu/g) was almost equal, but on the contrary the researchers found a higher number of yeast and moulds - 6.10 log cfu/g, but a low number coliform bacteria (less than 10 in the gram of the product).

In microflora of *bouhezza* cheese Zitoin et al., (2011) also found the presence of yeast and moulds (4-5 log cfu/g^{-1}) and lypolitic bacteria (3 - 4 log cfu/g^{-1}). According to the opinion of researches the aforementioned two groups of microorganisms had little effect on the

чително по-малко влияние върху сиренето, но Sengül et al. (2001) отбелязват, че турския стандарт за тулумско сирене TS 3001 определя лимит за дрожди и плесени от не повече от 100 cfu/g в готовото сирене. Oksuztepe et al. (2005) установяват $2.7x10^4$ CFU/ml дрожди и плесени в суровото мляко използвано като суровина за производството на сиренето, но не и в сиренето през периода на зреене му.

Основният патоген, които се асоциира с тулумското сирене според Samelis и Kakiuri (2007) е *Listeria monocytogenes*, установена в 25% от партидите сирене, които изследват. Резултатите посочват, че при директното изброяване, броят на жизнеспособните клетки е под прага от 10 CFU/g като една част от тях са клетки на вида *L. innocua*. Обширно изследване върху наличието на *L. monocytogenes* и *Salmonella spp*. в проби тулумско сирена провеждат Colak et al. (2007), които анализират общо 250 образци закупени от търговската мрежа на Истанбул. Данните от проведените тестове установяват наличие на *L. monocytogenes* в 12 от пробите (4.8%) и *Salmonella spp*. в 6 проби (2.4%) от анализираните сирена. Изследването на Binöl et al. (2012) е насочено към установяването не само на патогенни бактерии, но и на ентеротоксини и веротоксини в различни местни сирена, продавани в търговската мрежа в Истанбул. От изследваните 25 проби тулумско сирене положителен резултат за наличие на *Staphylococcus aureus* дават 8 проби, *E.coli* е открита в 12 от тях, 1 проба е с положителен резултат включително и за наличието на *E. coli O157*, а 6 проби са показали наличие на ентеротоксин и една на веротоксин. Kunduhoglu et al. (2012) също откриват в проби тулумско сирене *Staphylococcus haemolyticus*, *E. coli*, *Clostridium ssp./Eubacterium tenue*. Frece et al. (2016) установяват в тулумско сирене наличие на видове стафи-

cheese, but in the publication of Sengül et al., (2001) was mentioned, that the Turkish standard for tulum cheese TS 3001 specify a limit amount of 100 cfu/g of yeast and moulds in the ripened cheese. Oksuztepe et al., (2005) also found $2.7x10^4$ CFU/ml yeast and moulds in raw milk used for cheese production, but didn‘t find these microorganisms during the cheese ripening.

The main pathogen which can be associated with tulum cheese according to Samelis and Kakiuri (2007) is *Listeria monocytogenes*, which was detected in 25% of the samples in their study. The results showed that by direct counting, the quantities of some live cells were lower than 10 CFU/g and some of them were identified as *L.innocua*. The very detailed and expanded study on the presence of *L. monocytogenes* and *Salmonella spp*. in samples of different tulum cheeses was done by Colak et al., (2007), who analyzed 250 samples which have been bought from the markets in Istanbul. The laboratory tests revealed the presence of *L. monocytogenes* in 12 samples (4.8%) and *Salmonella spp*. in 6 (2.4%) samples. The scientific work of Binöl et al., (2012) was aimed not only in detection of pathogens, but also in the detection of some enterotoxins and verotoxins in different local cheeses sold in the Turkey‘s markets. Among 25 tulum cheese samples positive for the presence of *Staphylococcus aureus* were 8 samples. *E.coli* was found in 12 of these samples, 1 sample gave positive results even for the presence of *E. coli O157*, 6 of the samples showed the presence of enterotoxin and one sample was positive for verotoxin. Kunduhoglu et al., (2012) also found in tulum cheese *Staphylococcus haemolyticus*, *E. coli*, *Clostridium ssp*. and *Eubacterium tenue*. Frece et al., (2016) detected in the tulum cheese staphylococci as *S. xylosus*, *S. aureus* and *S. epidermidis*. Comparatively high number staphylococci were found

лококи като *S. xylosus*, *S. aureus* и *S. epidermidis*. Висок брой стафилококи установяват също Karagozlu et al., (2009) - 4.173 log cfu/g. След като установяват по-висок брой на *S. aureus* (над 2 log CFU/g) в две трети от изследваните млека, сиренина и готово сирене Frece et al. (2016) изследват същите проби за наличие на стафилококов ентеротоксин (SE) и откриват в две от пробите овче сирене ентеротоксин C (SEC).

Поради наличието на нежелани микрорганизми Karagozlu et al. (2009) правят извода, че производството на тулумско сирене е изправено пред редица затруднения по отношение спазване на изискванията за получаването на стандартен краен продукт, а някои от микроорганизмите, които се установяват в сиренето могат да представляват и значителен здравен риск. Същите изследователи считат, че подобни негарантирани в микробиологичен аспект продукти не би трябвало да се пропоръчват за консумация, но отчитайки популярността на този вид сирене отбелязват необходимостта от повишаване качеството на продукта и въвеждането на стандартизирана производствена схема. Необходимостта от допълнителни изследвания върху микрофлората на тулумското сирене отбелязват и други изследователи (Erdogan and Gurses, 2005; Frece et al., 2016).

Изследванията свързани с естествената микрофлора на традиционното тулумско сирене показват, че в състава на стартерната култура, която може да се използва при производството на сиренето е необходимо да участват, както кълбовидни, така и пръчковидни представители от млечнокиселите бактерии. Категорично заключение за участващите видове или тяхното количествено съотношение, както и каквато и да била точна формулировка на стартерната култура все още липсват, но са налице редица

from Karagozlu et al., (2009) - 4.173 log cfu/g. After the detection of higher number *S. aureus* (over 2 log CFU/g) in the two third of the tested samples of milk, curd and ripened cheese Frece et al., (2016) broadened the examination of the same samples and made tests for the presence of staphylococcal enterotoxins (SE). Two of the ewe‘s cheese samples turned out to be positive for enterotoxin C (SEC).

Because of the presence of some unwanted microorganisms Karagozlu et al., (2009) drew a conclusion that the production of tulum cheese still faced some difficulties in order to produce final standard product, and some of the microorganisms which are found in it can be serious threat to health.

The same researchers thought that such unsafe in microbiological aspects food products shouldn‘t be recommended for consumption, but bearing in mind the great popularity of this kind of cheese they expressed the necessity of measures aimed of increasing quality of the product and acceptance of standard technology scheme.

Others researches also expressed the necessity of further experiments on the cheese microflora (Erdogan and Gurses, 2005; Frece et al., 2016).

The scientific researches on the natural microflora of artisan tulum cheese have indicated that starter culture, which can be applied in cheese making technology, should combine both round and rod shaped lactic acid bacteria.

The concluding opinion about the participating species or their exactly quantitative proportion or even any kind of precise composition of the starter culture are still missing, but there are several suggestions about the species which should participate in the starter

предложения за видовете, които трябва да участват. Изследователските данни посочват, че стартерната култура за тулумското сирене трябва да съдържа *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei subsp. casei* и *L. paracasei* (Oksuztepe et al., 2005; Kunduhoglu et al., 2012), а също така и *Lb. parabuhneri* (Erdogan and Gurses, 2005). Поради наличието на висок брой ентерококи в тулумското сирене Erdogan и Gurses, (2005), Cakmakci et al. (2008) и Kunduhoglu et al. (2012) считат, че ентерококи от видовете *E.faecalis*, *E.faecium* и *E.durans* също могат да участват в комбинацията. Kunduhoglu et al. (2012) посочват необходимостта от включването в състава на стартерната култура и на други хомоферментативни щамове като *L. plantarum* и *S. thermophilus*, а Oksuztepe et al. (2005) и на *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* и *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*.

Органолептична характеристика на сиренето

Тулумското сирене, поради начина на обработване на сиренината и зреене се характеризира с надробена, трошлива или зърнеста текстура, без наличие на еднакво оформени сирищни парчета. Според Hayloglu et al. (2011) сиренето има бял до леко кремав цвят, високо маслено съдържание и трошлива полутвърда консистенция, която лесно се хомогенизира при консумацията му. Сиренето има интензивен вкус и аромат с леко горчив привкус. Цветът на сиренето, съхранявано в животинска кожа е жълтеникав по допирната с кожата повърхност, но вътрешността запазва белия си цвят (Durlu-Ozkaya and Gun, 2014). Karagozlu et al. (2009) определят количеството на свободните мастни киселини в сирене *cimi tulum* и установяват, че най-високо е съдържанието на олеиновата киселина (31.73%), след-

culture. The research data clearly indicates that *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei subsp. casei* and *L. paracasei* should participate in the starter culture for tulum cheese production (Oksuztepe et al., 2005; Kunduhoglu et al., 2012), and also *Lb. parabuhneri* (Erdogan and Gurses, 2005). Because of the presence of an abundant quantity of enterococci in the tulum cheese Erdogan and Gurses (2005), Cakmakci et al., (2008) and Kunduhoglu et al., (2012) have suggested that enterococci species as *E.faecalis*, *E.faecium* and *E.durans* also can take part in the starter culture combinations. Kunduhoglu et al., (2012) contemplated the necessity of inclusion in the starter culture some additional homofermentative strains as *L. plantarum* and *S. thermophilus*, and Oksuztepe et al., (2005) have added also *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* and *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*.

Sensory characteristics

Due to specific cheese making process and ripening, tulum cheese has a crumbly texture and doesn‘t possess a regular shape or particular size.

According to Hayloglu et al., (2011) the cheese has a white to lightly cream color, high fat contents and a crumbly and semihard texture.

The cheese is dispersible in the mouth and has a buttery and pungent flavor. The color of cheese put in an animal skin bag obtains yellowish color when it comes into contact with the inner surface of the skin, but the inner parts of the cheese retained its white color (Durlu-Özkaya and Gün, 2014). Karagozlu et al., (2009) estimated the quantity of the free fatty acids in *cimi tulum* cheese and found that the most abundant was the quantity of oleic acid (31.73%), followed

вана от палмитиновата (24.19%) и миристиновата (9.32%). Органолептичната характеристика на сиренето *divle tulum* се обуславя от летливи субстанции като кетони, алкохоли (предимно 2-бутанол и 3-метил-1-бутанол) и различни терпени (Hayloglu and Karagul-Yuseer, 2011). Hayaloglu et al. (2007) установяват над 100 летливи съединения в тулумско сирене. Сред тези съединения има 11 органични киселини, 16 естера, 12 метилкетона, 7 алдехида, 22 алкохола, 7 сяросъдържащи съединения, 6 терпена и 19 други компонента. Основните съставки на сиренето са късоверижни мастни киселини, 2-бутанон, диацетил и етанол.

Чрез използването на рангов тест с оценъчна скала от 1 до 7 по показателите – аромат, текстура, интензивност и др. Zitoin et al. (2011) изследват сензорните характеристики на сирене *bouhezza* и определят две принципни сензорни групи – едната е свързана с млечнокиселите, а втората - с животинските аромати. Чрез използването на хроматографски методи Medjoudj et al. (2017) определят над 109 различни компонента, които формират специфичния вкус и аромат на сирене *bouhezza*, като преобладаващи са карбоксиловите киселини, различни естери и алкохоли.

by palmitic acid with 24.19% and myristic acid with 9.32%. The sensory characteristic of cheese variety *divle tulum* depends on the volatile components as kethons, alcohols (mostly 2-butanol and 3-methyl-1butanol) and different terpenes (Hayloglu and Karagul-Yuseer, 2011). Hayaloglu et al., (2007) found more than 100 volatile components in the tulum cheese. Among them are 11 organic acids, 16 esters, 12 methylketons, 7 aldehides, 22 alcohols, 7 sulfur components, 6 terpens and other 19 components. The main cheese components are short chain fatty acids, 2-butanone and ethanol.

By applying the tests on a point scale from 1 to 7 points about flavor, texture and intensity Zitoin et al., (2011) examined the sensory characteristics of *bouhezza* cheese and defined two major families of odours and aroma characteristics: lactic and animals. The chromatographic examination of *bouhezza* cheese done by Medjoudj et al., (2017) found more than 109 different components and the carboxylic acids, esters, and alcohols are the main classes of the volatile components in the cheese.

ИЗВОДИ

Нарастващият брой на публикациите и изследователските данни свързани с тулумското сирене показват повишаване на интереса към традиционния начин за получаване на сиренето и ролята на естествените суровини, материали и методи, които се прилагат. Разнообразните суровини и методи обуславят участието и на разнообразна в качествено и количествено отношение микрофлора, която има важна роля във формирането на отличителния и характерен вкус и аромат на сиренето. Специфичният вид на сиренето, подчертан от сложна комбинация от вкусови и ароматни съединения е реална предпоставка за успешна-

CONCLUSIONS

The growing number of scientific articles and available data about tulum cheese are the indicators for increasing interest towards artisan technology and the influence of entirely natural raw materials and methods which are used in the homemade production. The diversity of materials and methods have an impact on the presence of heterogeneous microflora in both aspects - quantitatively and qualitatively and this microflora has a paramount influence over unique and distinctive taste and flavor of the cheese. The specific cheese appearance, accompanied by a sophisticated combination of aroma and taste substances, is a real prerequisite for

та търговска реализация на продукта на гарантирана цена, както и възможността да получи обособена пазарна ниша с определена целева група консуматори. По-добрата пазарна реализация на сиренето, въпреки по-ограничения обем поради домашния начин на производство ще способства за по-добрата икономическа стабилност на производителите и за съхраняването на традиционния метод за получаването му. Трябва да се отчете обаче, че при производството на сиренето в домашни или полупромишлени условия влиянието на множество вариабилни фактори е свързано с получаването на разнородни по своите характеристики и качество партиди сирене. Това в някои случаи може и да е съчетано с повишаване на риска от попадането и развитието на неблагоприятни или дори патогенни микроорганизми. Адаптирането на домашният метод за получаване на сиренето към изискванията на промишленото производство, въвеждане на стандартна схема за производството му и използването на други опаковки различни от естествената животинска кожа вероятно ще доведат до изменения в типичните му характеристики. За да се запазят уникалният вкус и аромат на сиренето получено в промишлени условия определяща роля ще има използването на подходяща стартерна култура, каквато за момента все още не е формулирана. Едно възможно решение, което би позволило съхраняване на традиционното производство и в същото време по-широкото популяризиране на продукта и по-добра икономическа стабилност на производителите е получаването на статут в някои от категориите, които предлага Европейския съюз като: защитено наименование за произход - PDO (Protected Designation of Origin), защитено географско указание - PGI (Protected Geographical Indication) или статут на храна с традиционно специфичен характер - TSG статут

successful marketing at guaranteed price, along with the possibilities of gaining a specific market share and particular group of devoted consumers.

The successful retail, despite the limited volume of cheese production, will facilitate the economic stability of cheese producers and will guarantee preservation of the original artisan cheese technology.

It has to be taken into account that not only the homemade production of cheese but also in small dairy plants can be under the influence of variable and unfixed factors, which can lead to the production of cheese bathes with uneven quality and characteristics. This trend sometimes can be accompanied by an elevated thread of presence or development of undesirable microorganisms and pathogens.

Remodeling the homemade methods, in order to meet the requirements of industrial plant scale production will include the introduction of standard processing system and different kind of packaging instead of an animal skin which probably will change the typical characteristics of cheese.

During industrial manufacturing process the unique taste and flavor of cheese can be preserved by suitable starter culture which till now is not composed.

The existing controversial trends, one of which is towards preservation of artisan technology, and the other is towards increasing the product popularity and good economic profit for the producers, can be attenuated by receiving a status according to the European Union scheme: Protected Designation of Origin (PDO), Protected Geographical Indication (PGI) or Traditional Speciality Guaranteed (TSG).

(Traditional Speciality Guaranteed). В Турция, като страна където сиренето се ползва с по-голяма известност, са изготвени съответните стандартизационни документи относно производството на тулумското сирене. Организацията *Slow food* е включила тулумското сирене в колекцията си на ценни и интересни местни храни (*the Ark of taste*). Това са без съмнение индикатори за продължаващия научен и икономически интерес към производството на тулумското сирене, както и все по-широкото му популяризиране.

In Turkey, as a country where the cheese is comparatively well-known, the appropriate standard documents about cheese production already exist.

Slow food organization have included the tulum cheese in its collection (*the Ark of taste*) of interesting and valuable local food products. All aforementioned facts undoubtedly indicate the growing interest, both scientific and economic, towards production of tulum cheese, as well as its spreading popularity.

БЛАГОДАРНОСТИ

Представеният обзор е част от дейностите, извършени по проект реализиран с финансовата подкрепа на Центъра за научни изследвания, трансфер на технологии и защита на интелектуалната собственост към Аграрен университет - Пловдив.

ACKNOWLEDGEMENTS

The current review article is a part of activities done in the scope of the project which was financially supported by the Science Research and Technology Transfer Centre of Agricultural University-Plovdiv.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Akpinar, A., O. Yerlikaya, O. Kinik, F. Korel, C. Kahraman and H.R. Uysal**, 2017. Some physicochemical characteristics and aroma compounds of izmir tulum cheese produced with different milk types. *Ege Univ. Ziraat Fak. Derg*., 54(1), 27-35.
2. **Albenzio, M. and A. Santillo**, 2011. Biochemical characteristics of ewe and goat milk: Effect on the quality of dairy products. *Small Ruminant Research*, 101, 33-40.
3. **Alichanidis, E. and A. Polychroniadou**, 2008. Characteristics of major traditional regional cheese varieties of East-Mediterranean countries: a review. *Dairy Sci. Technol*., 88, 495-510.
4. **Arslaner, A. and I. Bakirci**, 2016. Effect of milk type, pasteurization and packaging materials on some physicochemical properties and free fatty acid profiles of tulum cheese. *Akademik Gida,* 14(2), 98-104.
5. **Bingol, E., O. Cetin, H. Colak and H. Hampikyan**, 2012. Presence of enterotoxin and verotoxin in Turkish cheeses sold in Istanbul. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*., 36(4), 424-432
6. **Blazic, M, K. Pavic, S. Zavadlav and N. Marcac**, 2017. The impact of traditional cheeses and whey on health. *Croat. J. Food Sci. Technol*, 9(2), 198-203.
7. **Bostan, K., Ugur M., and G. Ciftcioglu**, 1992. Lactic acid bacteria and moulds in tulum cheese. *J. Fac. Vet. Univ. Istanbul.*, 17(2), 111-118. (Tr)
8. **Boyazoglu, J. and P. Morand-Fehr**, 2001. Mediterranean dairy sheep and goat products and their quality. A critical review. *Small Ruminant Research*, 40, 1-11.
9. **Cakir, Y. and S. Cakmaksi**, 2018. Some microbiological, physicochemical and ripening properties of Erzincan Tulum cheese produced with added black cumin (*Nigella sativa L*.). *J Food Sci Technol*., 55(4), 1435-1443.

10. **Cakmakci, S., E. Dagdemir, A. A. Hayaloglu, M. Gurses and E. Gundogdu**, 2008. Influence of ripening container on the lactic acid bacteria population in Tulum cheese. *World J Microbiol Biotechnol*, 24, 293-299.
11. **Cakmakci, S., M. Gurses and E. Gundogdu**, 2011. The effect of different packaging materials on proteolysis, sensory scores and gross composition of tulum cheese. *African Journal of Biotechnology*, 10(21), 4444-4449,
12. **Can, H.Y and T. H. Celik**, 2012. Detection of enterotoxigenic and antimicrobial resistant *S. aureus* in Turkish cheeses. *Food Control*, 24, 100-103.
13. **Colak, H., H. Hampikyan, E. B. Bingol and B. Ulusoy**, 2007. Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella spp*. in Tulum cheese*, Food Control,* 18, 576-579.
14. **Dinkci, N., G. Unal, A.S. Akalin, S. Varol and S. Gonc**, 2012. Chemical and microbiological properties of Kargi Tulum Cheese. *Ege Univ. Ziraat Fak. Derg*., 49 (3), 287-292 (Tr).
15. **Durlu-Ozkaya, F. and I. Gun**, 2014. Aroma compounds of some traditional Turkish cheeses and their importance for Turkish cuisine. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 425-434.
16. **Erdem, G. and B. Patir**, 2017. Investigations of Histamine Levels and Some Chemical Quality Parameters on Tulum Cheeses Consumed in Elazığ. *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg*., 31(3), 235-241 (Tr).
17. **Erdogan, A. and M. Gurses**, 2005. Lactic acid bacteria isolating from blue mouldy tulum cheese produced with *Penicillium roqueforti*. *International Journal of Food Properties*, 8: 405-411.
18. **Erdogan, A., M. Gurses and S. Sert**, 2003. Isolation of moulds capable of producing mycotoxins from blue mouldy Tulum cheeses produced in Turkey. *International Journal of Food Microbiology*, 85, 83-85.
19. **Ertas, N., Z. Gonulalan, Y. Yildirim and F. Karadal**, 2011. A survey of concentration of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Turkey. *Food Control*, 22, 1956-1959.
20. **Fernandes, R.**, 2009. Chapter 5 – Cheese. In: Microbiology handbook dairy products. Leatherhead Food International Ltd. pp.61-67.
21. **Fox P.F.**, 1989. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *J Dairy Sci*, 72:1379-1400.
22. **Frece, J., M. Vrdoljak, M. Filipcic, M. Jelic, I. Canak, Z. Jakopovic, J. Pleadin, I. Gobin, T. L. Dragicevic and K. Markov**. 2016. Mcrobiological quality and variability of natural microbiota in Croatian cheese maturing in lambskin sacks. *Food Technol. Biotechnol*., 54(2), 129-134.
23. **Gobbetti M., M. De Angelis, R. Di Cagno, L. Mancini and P. F. Fox**, 2015. Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening. *Trends in Food Science & Technology*, 45,167-178.
24. **González-Córdova, A. F., C. Yescas, Á. M. Ortiz-Estrada, M.de los Ángeles De la Rosa-Alcaraz, A. Hernández-Mendoza and B. Vallejo-Cordoba**, 2015. Invited review: Artisanal Mexican cheeses. *J. Dairy Sci*., 99, 3250-3262.
25. **Gor, A., Arici M. and Simsek O.** 1991. The effect of using the bacterial starter cultures on organoleptic, physical, chemical and microbiological properties of the tulum cheese. *GIDA*, 16 (1), 53-62.
26. **Gurses, M. and A. Erdogan**, 2006. Identification of lactic acid bacteria isolated from tulum cheese during ripening period. *Int. J. of Food Properties*, 9, 551-557.

27. **Guven, M. and A. Konar**, 1994. The microbiological qualities of tulum cheeses which were made from cow's milk and packed and ripened in different packing materials, *GIDA*, 19(3), 179-185 (Tr).
28. **Hayaloglu, A. A. and Y. Karagul-Yuceer**, 2011. Utilization and characterization of small ruminants' milk and milk products in Turkey: Current status and new perspectives. *Small Ruminant Research* 101, 73-83.
29. **Hayaloglu, A.A., P.E. Fox, M. and S. Cakmakci**, 2007. Cheeses of Turkey: 1. Varieties ripened in goat-skin bag, *Lait* 87, 79-95.
30. **Hayaloglu, A.A., S. Cakmakci, E.Y. Brechany, K.C. Deegan and P.L.H. McSweeney**, 2007. Microbiology, biochemistry, and volatile composition of tulum cheese ripened in goat's skin or plastic bags. *Journal of Dairy Science,* 90, 1102-1121.
31. **Jandal J.M.**, 1996. Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 22, 177-185.
32. **Kalit M.T., S. Kalit and J. Havranec**. 2010. An overview of researches on cheeses ripening in animal skin. *Mljekarstvo,* 60(3), 149-155.
33. **Kamber, U. and G. Terzi**, 2008. The Traditional Cheeses of Turkey: Middle and Eastern Black Sea Region. *Food Reviews International*, 25, 95-118.
34. **Karagozlu, C., S. Kilic and N. Akbulut**, 2009. Some characteristics of cimi tulum cheese from producing goat milk. *Bulg. J. Agric. Sci*., 15, 292-297.
35. **Kindstedt, P.S.**, 2014. The basics of cheesemaking. In: Cheese and microbes (C. W. Donnelly, ed.). ASM Press, Washington, DC. pp. 17-38.
36. **Kirdar, S.S., Ş. Köse, Ö. Yurdakul and E. Ocak**, 2017. A survey on the microbiological and chemical characteristics of akçakatik cheese in the west mediterranean region. *European International Journal of Science and Technolog,* 6(7), 25-35.
37. **Kunduhoglu, B., O. Elcioglu, Y. Gezginc., I. Akyol, S. Pilatin and A. Cetinkaya**, 2012. Genotypic identification and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional Turkish Kargi tulum cheese. *African Journal of Biotechnology*, 11(28), 7218-7226.
38. **Litopoulou-Tzanetaki, E. and N. Tzanetakis**, 2011. Microbiological characteristics of Greek traditional cheeses. *Small Ruminant Research*, 101,17-32.
39. **McSweeney, P. L. H.**, 2004. Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2/3), 127-144.
40. **Medjoudj, H., M. N. Zidoune, and A. A. Hayaloglu**, 2017. Proteolysis and volatile profile in the Algerian traditional Bouhezza cheese made using raw goat's milk. *International Journal of Food properties*, 20(8), 1876–1893.
41. **Montel, M. C., S. Buchin, A. Mallet, C. Delbes-Paus, D. Vuitton, N. Desmasures et al.**, 2014. Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 136-154.
42. **Morul, F., Isleyici O.**, 2012. Chemical and microbiological properties of divle tulum cheese. *YYU Veteriner Fakultesi Dergisi*, 23 (2). 71-76 (Tr).
43. **Ozdemir, S., F. Yangilar and C. Ozdemir**, 2010. Determination of microbiological characteristics of Turkish Karin Kaymagi cheeses packed in different materials, *African Journal of Microbiological Research,* 4(9), 716-721.
44. **Panagou, E.Z., G.E. Nychas and J.N. Sofos**. 2013. Types of traditional Greek foods and their safety. *Food Control* 29, 32-41.
45. **Park, Y.W., M. Juarez, M. Ramos and G.F.W. Haenlein**, 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68, 88-113.

46. **Paxson, H.**, 2010. Locating value in artisan cheese: reverse engineering terroir for new-world landscapes. *American anthropologist*, 112(3), 444-457.
47. **Poznanski, E., A. Cavazzaa, F. Cappa and P.S. Cocconcelli**, 2004. Indigenous raw milk microbiota influences the bacterial development in traditional cheese from an alpine natural park. *International Journal of Food Microbiology*, 92, 141-151.
48. **Raynal-Ljutovac, K, G. Lagriffoul, P. Paccard, I. Guillet, Y. Chilliard**, 2008. Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research*, 79, 57-72.
49. **Scintu, M.F. and Piredda G.** 2007. Typicity and biodiversity of goat and sheep milk products. *Small Ruminant Research*, 68, 221-231.
50. **Sengul M., H. Turkoglu, S. Cakmakci and A.H. Con**, 2001. Effect of casing materials and ripening period on some microbiological properties of tulum cheese, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4(7), 854-857.
51. **Serhan, M., C. Cailliez-Grimal, F. Borges, A. Revol-Junelles, C. Hosri and J. Fanni**, 2009. Bacterial diversity of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Food Microbiology*, 26, 645-652.
52. **Serhana, M., E. Arab-Tehrany, M. Linder, C. Hosri and J. Fanni**, 2015. Transfer across goatskin barrier of 2-butanone, 2,3-butanedione and2-butanol during maturation of traditional Lebanese cheese, Darfiyeh: Comparison between experimental aqueous model solution and goatskin system. *Small Ruminant Research*, 133, 36-42.
53. **Tarakci, Z., and Y. Durmus**, 2016. Effects of packaging materials on some ripening characteristics of Tulum cheese*. Mljekarstvo*, 66(4), 293-303.
54. **Tuncer, Y.**, 2009. Some technological properties of phenotypically identified enterococci strains isolated from Turkish tulum cheese. *African Journal of Biotechnology*, 8(24), 7008-7016.
55. **Widyastuti, Y., Rohmatussolihat and A. Febrisiantosa**, 2014. The role of lactic acid bacteria in milk fermentation. *Food and nutrition sciences*, 5, 435-442.
56. **Zitoun, O. A., L. Benatallah, El. H. Ghennam and M. N. Zidoune**, 2011. Manufacture and characteristics of the traditional Algerian ripened bouhezza cheese. *Journal of Food, Agriculture and Environmen*t, 9(2), 96-100.
57. **Zitoun, O.A., C. Pediliggieri, L. Benatallah, S. Lortal, G. Licitra, M.N. Zidoune and S. Carpino**, 2012. Bouhezza, a traditional Algerian raw milk cheese, made and ripened in goatskin bags. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10(2), 289-295.
58. **Zitoun,-Hamama O. A., S. Carpino, T. Rapisarda, G. Belvedere, G. Licitra and M. N. E. Zidoune**, 2016. Use of smart nose and GC/MS/O analysis to define volatile fingerprint of a goatskin bag cheese "Bouhezza". *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(11), 746-754.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (3), 27-36
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Биологичен ефект от добавка на селен при пасищното отглеждане на овце в някои ендемични райони на Западните Родопи върху съдържанието на селен в млякото

Борислав Блажев[1]*, Любомир Ангелов[2], Димитър Гаджев[3]

[1]Централна Лаборатория за Химични Изпитвания и Контрол, 1330 София, България
[2]Институт по криобиология и хранителни технологии, 1407 София, България
[3]Експериментална станция по животновъдство и земеделие, 4700 Смолян, България

Biological effect of selenium supplementation during the pasture period of sheep, reared in some endemic areas of the Western Rhodope Mountain on selenium content in the milk

Borislav Blazhev[1]*, Ljubomir Angelov[2], Dimitar Gadjev[3]

[1]Central laboratory for chemical testing and control, 1330 Sofia, Bulgaria
[2]Institute of Cryobiology and Food Technologies, 1407 Sofia, Bulgaria
[2]Experimental Station of Stockbreeding and Agriculture, 4700 Smolyan, Bulgaria
**E-mail: B_Blazhev@bfsa.bg*

Received: 14.05.2018 *Accepted:* 23.08.2018 *Published:* 11.10.2018

РЕЗЮМЕ

Големият брой породни различия при овцете, тяхната широка адаптивност към качество на фуража и високият генетичен потенциал прави възможно тяхното широко разпространение. Въпреки това, установените дисбаланси на основните биогенни компоненти (селен, йод) в планинските райони биха могли да повлияят негативно млечната продуктивност и дневната секреция на есенциални микро- и макроелементи през време на лактацията.

Настоящото проучване е проведено с 16 лактиращи овце от порода Родопски Цигай отглеждани в

SUMMARY

The large number of different sheep species, their wide adaptability to forage quality and high genetic potential, makes possible their widespread dissemination. However, an imbalance of the main biogenic components (selenium, iodine) in mountainous areas could adversely affect the milk production and the daily secretion of essential macro and trace elements through the milk produced during lactation.

This study was conducted with 16 lactating ewe's from Rhodope Tsigay breed, grown in endemic region of the

района на Западните Родопите – с. Борино. Животните бяха разделени в две групи – дефицитна и суплементирана. Овцете получават съгласно ARC-нормите различни количества селен по време на експерименталния период. През дойния период овцете от едната група бяха допълнително суплементирани "*per os*" с 0.25 mg селен/ден под формата на $NaHSe0_3$. Млечните проби от двете породи бяха взети на 30-ия и 60-ия ден след добавката и сравнени със съдържанията на селен в началото на експеримента. Ниските концентрации на селен в растителните видове (Se<60-70µg/kg фураж) по време на лактацията (април-юни) се отразяват негативно върху концентрацията на Se в овчето мляко. Количеството му в овчето мляко нараства достоверно в резултат на суплементацията. В рамките на 60 дни нивата на елемента достигат нормални стойности при суплементираната група, докато при дефицитните животни са установени критични стойности (20-30 µg Se/l). Проучено е и влиянието на суплементацията върху средно-дневната секреция на някой макро- и микроелементи, както и промените в млечната продуктивност през изследвания период. Предложени са препоръки за включването на селенови добавки за дребни преживни животни, отглеждани през пасищния период в ендемични райони.

Ключови думи: селенов дефицит, суплементация, овче мляко, Se-минерални добавки

Western Rhodope Mountain – village Borino. The animals were divided into two groups - control and deficient group. Feed was prepared according ARC-norms with different amounts of selenium during the experimental period. During the lactating period, the sheep in the control group were additionally supplemented "*per os*" with 0.25 mg selenium / day in form of $NaHSe0_3$. Milk samples from both breeds were taken on the 30^{th} and 60^{th} day after the addition of selenium and were compared with the content of selenium at the beginning of the experiment. Low concentrations of selenium in the plant species (Se <60-70µg / kg fodder) during lactation (April-June) affect negatively the concentration of Se in sheep milk. Its amount in the ewe's milk increased reliably as a result of supplementation. Within 60 days, the levels of the element reached a normal values in the control group, while in the deficient animals critical values in the milk (20-30 µgSe / l) had been established. The effect of Se-supplementation on average daily secretion of macro- and trace elements was studied, as well as the changes in the milk production during the survey period. Recommendations for the inclusion of selenium supplements for small ruminants, bred in the endemic areas during the grazing period have been proposed.

Key words: selenium deficiency, supplementation, ewe's milk, Se-mineral supplements

УВОД

През последните няколко години нараства интересът към овчите млечни продукти. Тяхното качество е силно зависимо от състава на суровото мляко. Ефектът от добавянето на микроелементи в хранителната дажба при различни породи овце върху добива на мляко и качеството на млякото по време на лактационния период все още не е напълно проучен.

INTRODUCTION

There has been increasing interest in the ewe's milk products in the last several years. Their quality highly depends on the milk performance of the raw milk. The effect of trace element supplementation in the feed ration of different sheep breeds on the milk yield and milk quality during the lactation period has not yet been thoroughly investigated.

Специфичното за различните породи овце микроелементно предлагане и усвояването им по време на суплементация показва, че резултатите, получени при един генотип не могат да бъдат трансферирани на друг, без експериментално тестване (Angelow et al., 1998; Petrova et al., 1999; Todorova et al., 1993, 1996, 1997). В планинските райони установеният дефицит на основни микроелементи (селен, йод, цинк, кобалт, желязо) в хранителната дажба се отразява върху продуктивността и биологичния статус на овцете (Angelov and Todorova, 1998). Дефицитът на селен оказва негативно влияние върху трансфера на елемента в козето и овчето мляко (Angelow et al., 1993; Anke et al., 1989; Todorova et al., 1993, 1997). От друга страна при високи нива на някой макро- и микроелементи (Ca, S, Cu) те могат да повлияят на акумулацията на селен и да доведат до вторичен Se-дефицит в организма на преживните животни (Angelow, 1995; Dragnev et al., 1991). Синергичният ефект между Se и I беше изследван при плъхове и овце (Angelow, 1997; Arthur et al., 1991; Burk, 1994; Delange et al., 1993). Селеновия дефицит влошава метаболизма на тиреоидния хормон чрез инхибиране на активността на дейодиназите, които превръщат тироксина (Т4) в метаболитно по-активния 3, 3'-5 триодтитронин (Т3). Дефицитът на Se води до намаляване съдържанието на йод в млякото (27-50%) и кръвния серум (Angelow, 2008).

Целта на настоящето изследване беше да се установи влиянието от суплементацията на селен в дажбата на лактиращи овце (Родопски Цигай) върху добива и свойствата на млякото, съдържанието на селен и йод в суровото мляко и дневната секреция на селен и йод през на лактационния период (60 дни).

The species-specific trace element supply to different sheep breeds and its reaction during the supplementation showed that the results obtained in one genotype cannot be transferred to another, without experimental testing (Angelow et al., 1998; Groppel, 1987; Odjakova et al., 1998; Petrova et al., 1999; Todorova et al., 1993; 1996; 1997). In mountainous areas the established deficiency of basic essential trace elements (selenium, iodine, zinc, cobalt, iron) in the feed ration reflects on the productivity and biological status of sheep (Angelow and Todorova, 1998). Se deficiency influenced negatively the Se transfer in goat and sheep milk (Angelow et al., 1993; Anke et al., 1989; Todorova et al., 1993, 1997). On the other hand, high levels of some macro- and trace elements (Ca, S, Cu) might influence the Se accumulation and led to secondary Se-deficiency in the organism of ruminants (Angelow, 1995; Dragnev et al., 1991). Synergistic effect between Se and I was investigated in rats and sheep (Angelow, 1997; Arthur et al., 1991; Burk, 1994; Delange et al., 1993). Se-deficiency impairs thyroid hormone metabolism by inhibiting the activity of the deiodinases, which convert thyroxine (T4) to the more metabolically active 3, 3'-5 triiodthironine (T3). Se deficiency led to a decrease of the I-contents (27-50%) in the milk and blood serum (Angelow, 2008).

The objective of present study was to establish the effect of Se supplementation to the feed of lactating sheep (Rhodope Tsigai) on the milk yield and properties, Se- and I-content in raw milk and daily Se-I production during the lactation period (60 days).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експериментите бяха проведени с 16 овце от порода Родопски Цигай, разделени на две групи. По време на периода на паша, в зависимост от типа

MATERIAL AND METHODS

The experiments were carried out with 16 ewes of Rhodope Tsigai breed, divided into two groups. During the grazing period, in depends on vegetation

на флората, животните са извеждани на пасища с различни количества селен. През периода на доене (на пасище) половината овце са допълнително суплементирани "per os" с 0.25mg Se под формата на $NaHSe0_3$ дневно. Пробите от мляко бяха взети на 30-ия и 60-ия ден след допълването. Съдържанието на селен в млякото се определя като се използва Атомно-абсорбционна система с хидридно генериране (Varian Spectr-AA 55B, AAS-HG) и Масспектрометър с индуктивно-свързана плазма (AGILENT 7500c ICP-MS). За определяне на йода в млякото се взема 1 g сухо вещество от лиофилизирано мляко и се разтваря в 10 ml - 0,07 n разтвор на TMAX, последвано от хомогенизиране за 2 min чрез ултразвуков хомогенизатор. Пробите се разреждат до 25 ml и се измерват директно чрез ICP-MS (Agilent-7500c), като се използва телур (Te) като вътрешен стандарт. Статистическите анализи бяха извършени с помощта на "General Statistical Pack" на Hewlett Packard.

stage of the flora, the animals were grazed on pasture with different amounts of selenium. Through the milking periods (on pasture) the control ewes were additionally supplemented “per os” with 0.25mg Se in the form of $NaHSe0_3$ daily. The milk samples were taken on the 30^{th} and the 60^{th} day after supplementation. The selenium content in milk was determined using Varian AAS-HG and AGILENT ICP-MS analysis.

For determination of iodine in the milk - 1g dry substance of lyophilized milk had been taken and in 10 ml - 0,07 n TMAH solution was dissolved and 2 min by ultraturax homogenized.

The samples are diluted to 25 ml and directly measured by ICP-MS (Agilent-7500c) using Te as an internal standard. Statistical analyses were performed using “General Statistic Pack” of Hewlett Packard.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Проучванията през последните 10 години, проведени в различни планински райони на България, доказват, че неорганични добавки към храната на животните (селен, йод и цинк) водят до промени в млечната продуктивност, маслеността и съдържанието на белтъци в млякото (Odjakova et al., 1998). Като цяло използването на органоселенови добавки е по-ефективно от неорганичните съединения на селен, тъй като те са биологично полесно усвоими (Lyons et al., 2007; Rayman et al., 2008). Значително по-ниската цена и лесна достъпност на неорганичните селенови съединения ги прави основен източник за суплементация. Все още са направени твърде малко изследвания за трансфера на различните форми на селен по хранителната верига, както и за химичните форми на селен в храната на човека и животните.

Ефектът на добавяне на селен върху млечността беше изследван през първите 60 дни след периода на

RESULTS AND DISCUSSION

The studies in the last 10 years conducted in various mountain regions of Bulgaria have shown that inorganic feed additives (selenium, iodine and zinc) lead to changes in milk yield, fat content and protein content in milk (Odjakova et al., 1998). Generally, the use of organic form of selenium as additives is more effective than inorganic compounds of selenium, as they are biologically more easily digestible (Lyons et al., 2007; Rayman et al., 2008). The significantly lower cost and easy accessibility of inorganic selenium compounds makes them a major source of supplementation. There are little researches into the transfer of the various forms of selenium along the food chain as well as on chemical forms of selenium in human and animal food.

The effect of selenium supplementation on the milk production was investigated during the first 60 days

отбиване. Добивът на мляко беше тестван чрез индивидуални проби мляко, събрани по време на активния пасищен период. Данните за динамиката за добива на овче мляко на 30-ия и 60-ия ден след началото на суплементацията са представени на Таблица 1. Количеството на млякото, издоено от овцете на контролната и несуплементираната група, се различава значително. Контролната група произвежда по всяко време повече мляко (209 - 56 ml/ден) с естествена млечна мазнина в сравнение с дефицитната (220% респ. 120%). С напредване на лактацията добивът на мляко при двете групи намалява с 54,4% (342 ± 59 ml/ден) и с 16,1% (286 ± 192 ml/ден). В този случай е очевидна специфичната реакция на организма в зависимост от първоначалния биологичен статус на отделните животни.

after the weaning period. Milk yield was tested through individual milk samples, collected during the active pasture period. Data on the milk yield dynamics at the 30^{th} and 60^{th} day after supplementation are presented on Table 1. The amount of milk produced by control and deficient ewe's differed significantly. The control group produced at any time more milk (209 - 56 ml/day) with natural fat content in comparison to the deficient one (220% and 120%). With advance of lactation the milk yield of both groups had been reduced by 54,4% (342 ± 59 ml/day) and by 16,1% (286 ± 192 ml/day). In this case a specific reaction of the organism depending from the initial biological status of different species is obvious.

Таблица 1. Ефект от добавката на селен върху добива на мляко при овце от породата Родопски Цигай през дойния период (n_1= 8; 8; n_2= 8; 8)
Table 1. Effect of selenium supplementation on the daily milk yield of Rhodope Tsigai ewes during the milking period (n_1= 8; 8; n_2= 8; 8)

Дневна млечност, ml/ден **Daily milk yeild**, ml/day	**30^{th} day** (06.May 2013)	**60^{th} day** (06.June 2013)	**Average milk yield during the whole period**
Суплементирана група **Supplemented group**	750 ± 241	342 ± 59	**527 ± 258**
Дефицитна група **Deficient group**	341 ± 157	286 ± 192	**366 ± 182**
%	220	120	**144**
t - test	P<0,05	P>0,05	**P < 0,05**

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X% /
**Deficient group=100%; Supplemented group=X%*

Дефицитът на селен не оказва влияние върху съдържанието на мазнините, протеина и лактозата в овчето мляко по време на пашата (Таблица 2).

Въз основа на добива на мляко и състава на овчето мляко на 30 и 60-ия ден от експеримента, може да се изчисли дневната секреция на протеин, мазнини и лактоза при двете групи през целия период. Средно-дневната секреция намалява с напредването на лактацията, което се дължи на намаления добив на мляко и промените в състава на млякото. При суплементираната група овце от породата Родопски Цигай се установява значително по-висок средно-дневен добив на мляко по време на експеримента - 152% (Таблица 2).

Selenium deficiency hadn't any effect on the fat, protein and lactose content of sheep milk during the grazing period (Table 2).

Based on the milk yield and properties of sheep milk at the 30^{th} and 60^{th} day of experiment, it could be calculating the daily secretion of protein, fat and lactose of both group during the whole period. The average daily secretion decreased with the advance of lactation, what reflected on the reduction of milk yield and the alterations in the milk composition? In the supplemented group of the Rhodope Tsygai breed there was a significantly higher average milk yield during the experiment - 152% (Table 2).

Таблица 2. Ефект от добавката на селен върху показателите и състава на суровото мляко през пасищния период (n_1=16; n_2=16)
Table 2. Effect of selenium supplementation on the milk performance and composition of raw milk during the pasture period (n_1=16; n_2=16)

	Дефицитна гр. Deficient group		Суплементирана гр. Supplemented group		%	p
	Average	SD	Average	SD		
дневна млечност, ml/ден **daily milk yeild,** ml/day	**371**	190	**565**	252	**152**	**< 0,05**
млечни мазнини, % fat content, %	**8,11**	1,28	**7,80**	1,17	96	> 0,05
млечен протеин protein content, %	**6,32**	0,38	**6,24**	0,57	99	> 0,05
млечна захар, % lactose, %	**4,56**	0,27	**4,57**	0,17	100	> 0,05
секреция на мл. мазнини daily fat secretion, g/day	**30,1**	14,3	**44,1**	16,4	**146**	**< 0,05**
секреция на мл. протеин daily protein secretion, g/day	**23,4**	11,6	**35,3**	14,2	**151**	**< 0,05**
секреция на млечна захар daily lactose secretion, g/day	**16,9**	9,4	**25,8**	11,9	**153**	**< 0,05**
СВ, % total solids, %	**19,9**	1,5	**19,6**	1,6	98	> 0,05
СБО, % solids-non-fats, %	**12,0**	0,4	**11,9**	0,5	99	> 0,05

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X%
**Deficient group=100%; Supplemented group=X%*

Суплементираните овце секретират ежедневно 146% повече мазнини в млякото. Дневната секреция на протеин и лактоза в млякото при суплементираната група също е положително повлияна, съответно със 151% и 153%. Общото количество на сухо вещество при двете групи варира в малък диапазон от 19.6% до 19.9%. Не са установени достоверни разлики между групите през пасищния период. Съдържанието на сух безмаслен остатък е около 12% и остава постоянно по време на дойния период.

Ефект от добавката на селен върху микроелементното съдържание в суровото овче мляко

Дефицитът на селен оказва негативно влияние върху съдържанието на селен в овчето мляко (Таблица 3).

The supplemented ewes secreted daily 146% more fat into milk. The daily secretion of protein and lactose into milk in the supplemented group had been also positively influenced by 151 and 153%

The total solids in both group varied in small range from 19.6% to 19.9%. No significant differences between the groups and through the pasture period were found. The solids-non-fat content was about 12% and remained constant during the milking period.

Effect of selenium supplementation on the trace element content in raw milk

Selenium deficiency influenced negatively the selenium content in the sheep milk (Table 3).

Таблица 3. Ефект от суплиментацията върху съдържанието на селен в млякото на овце от породата Родопски Цигай през време на пасищния период (µg/l)

Table 3. Effect of supplementation on the selenium content in the milk of Rhodope Tsigay breed during the pasture period (µg/l)

Групи / Период Group / Period	30th day (06. May 2013)	60th day (06. June 2013)	Съдържание на селен в млякото през целия период Se-content in milk during the whole period
Суплементирана *Supplemented*	47,4 ± 4,7	58,4 ± 3,7	**52,5 ± 7,0**
Дефицитна *Deficient*	23,1 ± 7.0	18,3 ± 3.3	**20,6 ± 5,8**
*%**	205	320	**255**
t - test	P<0,001	P<0,001	**P<0,001**

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X%
**Deficient group=100%; Supplemented group=X%*

Разликата в концентрацията на селен в млякото между двете групи нараства от 30-ти до 60-ти ден от 205% на 320%. Средно през целия период дефицитните животни произ-веждат мляко, съдържащо 2,55 пъти по-малко селен.

Подобни резултати са получени чрез изчисляване на ежедневната селенова секреция през различните подпериоди (Таблица 4).

The difference in selenium concentration in the milk between the two groups increased from day 30th to day 60th from 205% to 320%. On the average during the whole period, the deficient animals secreted milk containing 2.55 times less selenium.

Similar results were obtained by calculating the daily Se-secretion during the different sub-periods (Table 4).

Таблица 4. Ефект от суплиментацията върху дневната секреция на селен чрез овчето мляко на породата Родопски Цигай през време на пасищния период

Table 4. Effect of supplementation on the daily selenium secretion via ewe's milk of Rhodope Tsigay breed during the pasture period (µg/day)

Групи / Период Group / Period	30th day (06. May 2013)	60th day (06. June 2013)	дневна секреция на селен през целия период daily Se-secretion during the whole period
Суплементирана Supplemented	34,8 ± 9,8	21,2 ± 4,6	**28,3 ± 10,5**
Дефицитна Deficient	9,0 ± 4,6	6,1 ± 2,8	**7,4 ± 4,0**
%*	388	350	**382**
t - test	P<0,001	P<0,001	**P<0,001**

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X%
**Deficient group=100%; Supplemented group=X%*

Суплементираните със селен животни, секретират по време на различните подпериоди от 3,88 до 3,50 пъти повече селен в сравнение с

Se-supplemented animals secreted during the different sub-periods from 3,88 to 3,50 told more selenium in comparison to the deficient ewes. The average Se-

несуплементираните овце. Средната секреция на селен през целия период достига 382%.

В сравнение със селена, няма значително понижаване на концентрацията на йод в овчето мляко (Таблица 5).

secretion during the whole period reached 382%.

In comparison to the trace element selenium, there was no significant decrease in the iodine concentration of ewe's milk (Table 5).

Таблица 5. Ефект от суплиментацията върху съдържанието на йод в млякото на овце от Родопски Цигай през време на пасищния период (µg/l)
Table 5. Effect of supplementation on the iodine content in the milk of Rhodope Tsigay ewe's during the pasture period (µg/l)

Групи / Период **Group / Period**	**30th day** (06. May 2013)	**60th day** (06. June 2013)	**съдържание на йод в млякото през целия период** **I-content in milk during the whole period**
Суплементирана **Supplemented**	70,7 ± 8,4	60,6 ± 14,6	**65,2 ± 12,7**
Дефицитна **Deficient**	72,9 ± 4,3	48,0 ± 6.8	**61,6 ± 14,0**
%*	97	126	**106**
t - test	P>0,05	P>0,05	**P> 0,05**

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X%
Deficient group=100%; Supplemented group=X%*

Разликите между двете групи достигат на 60-ия ден след началото на суплиментацията около 26% (p> 0.05). Въз основа на добива на млякото при двете групи са установени различни нива в средно-дневната секреция на йод (µg/ден) чрез мляко през двата подпериода (Таблица 6).

The differences between the two groups reached at the 60th day after the start of the supplementation about 26% (p> 0.05). Based on the milk yield of the two groups during the two sub periods, different values in the daily iodine production via milk have been established (Table 6).

Таблица 6. Ефект от суплиментацията върху дневната секреция на йод чрез овчето мляко на Родопски Цигай през време на пасищния период (µg/ден)
Table 6. Effect of supplementation on the daily iodine secretion via ewe's milk of Rhodope Tsigay breed during the pasture period (µg/day)

Групи / Период **Group / Period**	**30th day** (06. May 2013)	**60th day** (06. June 2013)	**дневна секреция на йод през целия период** **daily I-secretion during the whole period**
Суплементирана **Supplemented**	53,5 ± 18,6	21,2 ± 7,6	**35,9 ± 20,7**
Дефицитна **Deficient**	32,1 ± 13,1	14,0 ± 10,2	**23,9 ± 14,7**
%*	167	151	**150**
t - test	P<0,05	P>0,05	**P>0,05**

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X%
Deficient group=100%; Supplemented group=X%*

Разликите между суплементираната и несуплементирана групи варират от 151% до 167%. Овцете получа-

The differences between the supplemented and non-supplemented group varied from 151% to 167%. The

вали допълнително селен през целия период, секретират 150% повече йод, отколкото животните в несуплементираната група.

ewes received additionally selenium during the whole period, secreted 150% more iodine than animals in the deficient group.

ИЗВОДИ

Проучването с лактиращи овце показва влиянието на силно изразен микроелементен дефицит (хроничен селенов и субоптимален йоден дефицит) върху добива и състава на млякото, както и съдържанието на селен и йод в суровото мляко и селеново-йодната секреция. Дисбаланса в съдържанието на селен по време на пасищното отглеждане са в сравнение с други проучвания приложими и показват значителни динамични промени в концентрациите на селен и йод в млякото. Получените резултати показват, че е необходима корекция в предлаганото към дажбите на лактиращите овце.

CONCLUSIONS

The investigation with lactating ewe's showed the influence of multi-element deficiency (chronic selenium and suboptimal iodine deficiency) on the milk yield and milk properties, as well as the Se-I content of raw milk and Se- and I-secretion. The imbalance in the Se content during the pasture feeding was in comparison to the other studies relevant and showed the dynamic changes of selenium and iodine in milk significant. The results obtained showed that a correction of Se offer to the rations of lactating sheep was needed.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Angelow, L**., 1995. Spurenelementgehalt der Flora. Forschungsbericht, AvH-Stiftung, Bonn, Deutschland, pp. 1-28.
2. **Angelow, L**., 1997. Die Auswirkungen geologisch bedingten Zink-, Selen- und Iodmangels bei Tier und Mensch in Bulgarien (endemische Spurenelementregionen) Forschungsstudie, Bonn, pp. 1-32.
3. **Angelow, L.,** 2008. Der Einfluss des geologisch bedingten Iodmangels während der Weideperiode des Schafes auf die Milchleistung und den Iodgehalt der Milch und der Milcherzeugnisse (Jogurt, Käse), DAAD-Projekt, pp. 1-26.
4. **Angelow, L. and D. Todorova**, 1998. Influence of marginal iodine and chronic selenium deficiency on milk performance of ewe's. In: Mengen- und Spurenelemente, "18. Arbeitstagung" (M. Anke, W. Arnhold, R. Bergmann, W. Dorn, eds.). Verlag Harald Schubert, Leipzig, pp. 128-133.
5. **Angelow, L., S. Drusch, I. Petrova, D. Todorova and D. Dochevski,** 1993. The influence of Se- and I-supplementation on milk performance and composition of milk in a Se-deficiency region. In: Trace Elements in Man and Animals "TEMA 8" (M. Anke, D. Meissner, F. Mills (eds.). Verlag Media Touristik, Gersdorf, pp. 319-320.
6. **Anke, M., L. Angelow, B. Groppel, T. Kosla and M. Langer**, 1989. The effect of selenium deficiency on the feed consumption and growth of goats. *Arch. Anim. Nutr*., 39: 473-481.
7. **Arthur, J. R., F Nicol, G. and J. Beckett,** 1991. The role of selenium in thyroid hormone metabolism and effects of selenium deficiency on thyroid hormone and iodine metabolism. International Symposium on Selenium, 12-15 May, Belgrade, Yugoslavia, Abstracts, pp. 24.
8. **Burk, R.,** 1994. Selenium in Biology and Human Health. New York
9. **Delange, F., J. T. Dunn and D. Glinoer,** 1993. Iodine Deficiency in Europe. Plenum Press, New York and London.

10. **Dragnev, C., I. Yanchev and L. Angelow,** 1991. Possibilities to use some indicative fodder plants and animal organs as a criterion for valuation on the grade of pollution with copper and zinc in industrial regions. In: Meat Science and Technology "37th International Congress" (L. Leistner, ed.). Kulmbach, Germany, pp. 1244-1247.
11. **Lyons, M. P., T. T. Papazyan and P. F., Surai**, 2007. Selenium in food chain and animal nutrition: Lessons from Nature. Asian-Aust. *J. Anim. Sci*., 20 (7), 1135-1155.
12. **Odjakova, Z., L. Angelow, V. Kafedjiev**, 1998. Effect of additive of selenium and jodine during pregnancy and lactation on milk yield, butter fat and milk protein secretion at ewes of Karakachan breed. *Animal Science*, supplement (2): 49-52 (Bg).
13. **Petrova, N., L. Angelow, D. Dochevski and D. Todorova,** 1999. Influence of iodine and selenium deficiency on macro and trace element content of ewe's milk (Blackhead dairy breed). *Bulg. J. Agric. Sci.,* 5, 907-910.
14. **Rayman, M., I. H. Goengana and M**. **Sargent**, 2008. Food-chain Selenium and human health: Spotlight on Speciation. *Br. J. Nutr*., 100, 238-253.
15. **Todorova, D., L. Angelow, S. Drusch, D. Dotshevski and I. Petrova,** 1993. The influence of selenium deficiency on trace element content and coagulation ability in ewe's milk. In: Trace Elements in Man and Animals "TEMA-8", (M. Anke, D. Meissner, C. F. Mills, eds.). Verlag Media Touristik, Germany, pp. 605-606.
16. **Todorova, D., L. Angelow, D. Dochevski and N. Petrova,** 1997. Der Einfluß der marginalen Iod- und Selenversorgung auf die Milchleistung und Milchzusammensetzung beim Schaf. In: Mengen- und Spurenelemente "17. Arbeitstagung" (M. Anke, W. Arnhold, H. Bergmann, W. Dorn, H. -J. Schneider Hrsg.). Verlag Harald Schubert, Leipzig, Germany, pp. 765-770.
17. **Todorova, D., L. Angelow and N. Petrova**, 1996. Influence of selenium deficiency on the daily milk, fat and protein production during the sucking period of lambs In: Mengen- und Spurenelemente "16. Arbeitstagung" (M. Anke, W. Arnhold, H. Bergmann, W. Dorn, H. -J. Schneider Hrsg.). Verlag Harald Schubert, Leipzig, Germany, pp. 387-392.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (3), 37-47 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Влияние на селеново-йодната суплементация върху млечността и съдържанието на селен и йод в млякото през пасищния период на овце отглеждани в Средните Родопи

Димитър Гаджев[1], Борислав Блажев[2], Цонка Оджакова[1], Любомир Ангелов[3]

[1]Експериментална станция по животновъдство и земеделие,4700 Смолян, България
[2]Централна Лаборатория за Химични Изпитвания и Контрол, 1330 София, България
[3]Институт по криобиология и хранителни технологии,1407 София, България

Influence of selenium and iodine supplementation on the milk yield and selenium and iodine content in the milk during the grazing period of sheep reared in Middle Rhodope Mountain

Dimitar Gadjev[1], Borislav Blazhev[2], Tsonka Odjakova[1], Ljubomir Angelow[3]

[1]Experimental Station of Stockbreeding and Agriculture, 4700 SmolyanBulgaria
[2]Central laboratory for chemical testing and control, 1330 Sofia, Bulgaria
[3]Institute of Cryobiology and Food Technologies, 1407 Sofia, Bulgaria
**E-mail: B_Blazhev@bfsa.bg*

Received: 15.05.2018 *Accepted:* 23.08.2018 *Published:* 11.10.2018

РЕЗЮМЕ

Експериментите са проведени с 20 овце от Каракачанската порода, разделени в две групи (2x10). Животните се хранят ad libitum на пасища с различни количества на селен и йод. Пълната диета съдържа ниски нива на селен (0,065 mg Se/kg DM) и субоптимално съдържание на йод (0,096 mg I/kg DM). Контролната група получава допълнително по 0,25 mg Se / ден под формата на NaHSeO3 и 0,10 mg I/ден като KI през целия изследван период (90 дни). Незадоволителното Se и маргинално йодно предлагане по време на пашата води до намаляване на млечната продуктивност, протеина и секре-

SUMMARY

The experiments were carried out with 20 ewes of the Karakachan breed, divided into two groups (2x10). The animals were fed *ad libitum* on pasture areas with different amounts of selenium and iodine during the grazing period. Complete diet contained low levels of selenium (0.065 mg Se/kg DM) and sub optimal content of iodine (0.096 mg I/kg DM). The control group received additionally 0.25 mg Se/day as $NaHSeO_3$ and 0.10 mg I/day as KI during the whole investigated period (90 days). The insufficient Se and marginal iodine offer during lactation period led to decrease of milk production, daily protein and trace

цията на микроелементи. От 30 април до 30 юни пасищната трева предлага около 50% от нуждите на селен и 70% от йода на животното. Дефицитните овце продуцират средно с 19% по-малко мляко с естествено съдържание на мазнини. Протеиновата секреция чрез млякото намалява с 32% в сравнение с суплементираната група. Освен това съдържанието на Se в дефицитното мляко и ежедневната Se-секреция са достоверно намалени с 178% и 401% през време на пасищния период (май-юни). За постигане на максимална млечност е необходима задължителна корекция на селеново-йодното предлагане в дажбата на лактиращи овце, отглеждани в района на Средните Родопи (България).

Ключови думи: овце, Se-дефицит, млечност, Se- и I-съдържание на млякото, средно-дневна Se I-секреция

element secretion. From 30.April to 30.June the pasture grass offer about 50% from selenium and 70% from iodine of the animal needs. Deficient ewe's produced on the average 19% less milk with natural fat content. The protein secretion via milk was reduced by 32% in comparison to the supplemented group. Furthermore, the Se content in the deficient milk and daily Se-secretion were significantly decreased by 178% and 401% during the grazing period. In order to achieve maximum milk production, a mandatory correction of selenium-iodine supply in the lactating sheep farmed in the region of the Middle Rhodopes (Bulgaria) is necessary.

Key words: sheep, Se-deficiency, milk yield, Se-, Zn-, I-content of milk, daily Se-I-secretion

УВОД

Специфичното предлагане на микроелементи за различните породи овце и тяхното взаимодействие по време на суплементацията показва, че резултатите, получени при определен генотип, не могат да бъдат прехвърлени на друг, без експериментално тестване (Anke et al., 1993; Groppel, 1987, 2001; Odjakova et al., 1998; Todorova et al., 1993, 1995; Arthur et al.1991).

Комплексна оценка и анализ на растителните ресурси в планинския район на Средните Родопи са първият етап за получаване на информация за протеиново-минералното предлагане чрез естествените пасища при хранене на овце от местната Каракачанска порода. Данните за минералния състав на естествената пасищна растителност показват неравномерно разпределение на основните неорганични хранителни вещества в зависимост от типа на местообитанието, ботаническия състав на фитоценозите и вегетационния стадии на растителността.

INTRODUCTION

The species-specific trace element supply to different sheep breeds and its reaction during the supplementation showed that the results obtained in one genotype can not be transferred to another, without experimental testing (Anke et al. 1993; Groppel, 1987, 2001; Odjakova et al. 1998; Todorova et al., 1993, 1995; Arthur et al.1991).

A complex evaluation and analyses of plant resources in the mountain area of the Middle Rhodope are the first stage to obtain information about protein and mineral offer through the permanent grassland to ewe populations of the local Karakachan breed.

Data on the mineral composition of the natural pasture vegetation indicated irregular distribution of essential inorganic nutrients, depending on the type of sites, botanical composition of phytocenoses and vegetation stage.

Създадената база данни за локалното разпределение на минералните вещества, свързано със специфичните екологични особености на района, показва ограничаващо влияние на определени елементи по отношение на хранителните потребности на дребните преживни животни. Извършените изследвания по хранителната верига на животните очертават района като ендемичен по отношение на някои основни елементи: селен и йод. Наблюдава се недостатъчното предлагане на минерални компоненти при отглеждане на селскостопанските животни в планинските агроекосистеми, необходими за постигане на балансирано хранене.

Много автори съобщават за необходимостта от систематичен контрол на хранителната стойност на тревите по време на пасищния период (април-юни) и дават отговор за биологичния ефект от суплементирането (Angelow et al., 2004, 2004a; Arnhold et al., 1993; Chanoine et al., 1993; George and Haenlein, 2006). Добавката на жизнено необходимите микроелементи по цялата хранителната верига води до промени в свойствата на млякото, някои макро параметри и минералния състав на млякото и млечните продукти (Angelow et al., 1993; Angelow and Todorova, 1998; Petrova et al., 1999).

Целта на настоящето проучване е да се проследи ефекта от добавката на селен и йод при пасищното отглеждане на овцете от Каракачанската порода върху млечността, физикохимичните показатели на млякото и промените в нивата на селен и йод в овчето мляко през дойния период.

The established database on the local distribution of mineral components related to the specific ecological features of the region, identified the limiting influence of particular elements regarding the nutritional requirements of small ruminants. The implemented research along the nutrient chain of the animals outlined the area as endemic, regarding to some essential elements: selenium and iodine. The insufficient mineral supply to the farm animals reared in the mountain agro-ecosystems required to achieve a balanced nutrition.

Many authors report the need on the systematic control of the nutritional value of grasses during pasture period (April-June) and gave the answer on the biological effect of supplementation (Angelow et al., 2004, 2004a; Arnhold et al., 1993; Chanoine et al., 1993; George and Haenlein, 2006). The addition of necessary essential trace elements along the food chain led to changes in milk properties, some macro parameters and mineral composition of milk and dairy products (Angelow et al., 1993; Angelow and Todorova, 1998; Makaveeva et al., 2004; Petrova et al., 1999).

The aim of the present study is to investigate the effect of selenium and iodine addition in the pasture of Karakachan sheep on milk yield, physicochemical parameters of milk and changes in selenium and iodine levels in the ewe's milk during the milking period.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експериментите са проведени с 20 овце от Каракачанска порода, разделени на две групи (2x10). Животните се хранят „ad libitum“ с ливадна трева, с различни количества селен и йод през време на пашата. Хранителната диета съдържа ниски нива на селен (0,065 mg Se/kg DM) и оптимално съдържание на йод (0,096 mg I/kg DM). Контролната група получава допълнително 0,25 mg Se/ден под формата на $NaHSeO_3$ и 0,10

MATERIAL AND METHODS

The experiments were carried out with 20 ewes of the Karakachan breed, divided into two groups (2x10). The animals were fed *ad libitum* on pasture areas with different amounts of selenium and iodine during the grazing period. Complete diet contained low levels of selenium (0.065 mg Se/kg DM) and sub optimal content of iodine (0.096 mg I/kg DM). The control group received additionally 0.25 mg Se/day as $NaHSeO_3$

mg I/ден като KI през целия изследван период (90 дни). Пробите от мляко са събирани на 30-ти, 60-и и 90-и ден по време на пасищния период. Съдържанието на селен в млякото е определено като се използва Атомно-абсорбционна система с хидридно генериране (Varian SpectrAA 55B AAS-HG) и Масспектрометър с индуктивно-свързана плазма (AGILENT 7500c ICP-MS). За определяне на йода в млякото се взема 1 g сухо вещество от лиофилизирано мляко и се разтваря в 10 ml - 0,07 n разтвор на TMAX, последващо хомогенизиране за 2 min чрез ултразвуков хомогенизатор. Пробите се разреждат до 25 ml и се измерват директно чрез ICP-MS (Agilent-7500c), като се използва телур (Te) като вътрешен стандарт. Всички резултати се изразяват като средна стойност ± стандартно отклонение и се сравняват чрез стандатрен t-тест.

and 0.10 mg I/day as KI during the whole investigated period (90 days). The milk samples were collected at 30th, 60th and 90th day during the pasture period. The selenium content in milk was determined using Varian AAS-HG and AGILENT ICP-MS analysis.

For determination of iodine in the milk - 1g dry substance of lyophilized milk had been taken and in 10 ml - 0,07 n TMAH solution was dissolved and 2 min by ultraturax homogenized.

The samples are diluted to 25 ml and directly measured by ICP-MS (Agilent-7500c) using Te as an internal standard. All results were expressed as mean ± standard deviation and compared through standard t-test procedure.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Установените дисбаланси на основните хранителни елементи (Se и I) във флората в изследваната област могат да повлияят отрицателно върху производството на мляко по време на пасищния период. Влиянието на добавките Se и I състава на суровото мляко по време на пасищния период беше тествано чрез индивидуални и сборни млечни проби, събрани по време на активния пасищен период. Данните за динамиката на млечността по време на дойния период са представени на Таблица 1.

RESULTS AND DISCUSSION

The established imbalances of basic essential elements (Se and I) in the flora in the investigated area could affect negatively the milk production during the pasture period. Influence of the Se- and I-supplementation on the milk performance and composition of raw milk during pasture period was tested through individual and average milk samples, collected during the active pasture period. Data on the milk yield dynamics during milking period on the pasture are presented on Table 1.

Таблица 1. Ефект от суплементацията на селен и йод върху дневната млечност при Каракачанската овца през време на пашата
Table 1. Effect of selenium and iodine supplementation on the daily milk yeild of Karakachan ewe's during the pasture period

Дневна млечност, ml/ден **Daily milk yeild**, ml/day	**30th day** (30.April 2013)	**60th day** (30.May 2013)	**90th day** (30.June 2013)	**Average milk yield during the whole period**
Суплементирана група Supplemented group	991 ± 125	796 ± 122	499 ± 165	**771 ± 243**
Дефицитна група Deficient group	838 ± 99	651 ± 101	374 ± 129	**649 ± 212**
%	118	122	133	**119**
t - test	P>0,05	P<0,05	P<0,05	**P < 0,05**

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X%
Deficient group=100%; Supplemented group=X%

В началото на пасищния период средният дневен добив на мляко при суплементираната група е 991±125 ml. В края на лактацията добива на мляко намалява до 499±165 ml (с около 50%). При несуплементираните овце добивът на мляко намалява от 838±99 ml до 374±129 ml (55%) в края на дойния период. Най-големи разлики са наблюдавани в края на изследвания период (33%). Суплементираните овце имат по-висока млечност през целия изследван период и разликата между двете групи достига 19% ($p<0,05$). Подобни резултати са получени при опити с овце от Angelow et al. (2004, 2004a) и Makaveeva et al. (2004).

At the beginning of pasture, the average daily milk yield of the supplemented group was 991±125 ml. At the end of lactation, the milk production has been reduced to 499±165 ml by 50%. In non-supplemented ewes milk yield has decreased from 838±99 ml to 374±129 ml (55%) by the end of milking period. The biggest differences from 33% have been observed at the end of the investigated period. The supplemented ewes had higher milk production during the whole period and the difference between the both groups reached 19%. Similar results were obtained in sheep tests by Angelow et al. (2004, 2004a) and Makaveeva et al. (2004).

Таблица 2. Ефект от добавката на селен и йод върху показателите и състава на суровото мляко през пасищния период (n_1=30; n_2=30)
Table 2. Effect of Se- and I-supplementation on the milk performance and composition of raw milk during the pasture period (n_1=30; n_2=30)

Показатели Parameter	Дефицитна гр. Deficient group		Суплементирана гр. Supplemented group		p	%
	X	SD	X	SD		
дневна млечност, ml/ден **daily milk yeild,** ml/day	**649**	212	**771**	243	**< 0,05**	**119**
млечни мазнини, % **fat content, %**	**6,55**	1,52	**5,85**	2,18	> 0,05	**90**
млечен протеин **protein content, %**	**5,79**	0,79	**5,71**	1,14	> 0,05	**100**
млечна захар, % **lactose, %**	**4,52**	0,73	**4,36**	0,75	> 0,05	**94**
секреция на мл. мазнини **daily fat secretion,** g/day	**41,8**	14,6	**42,5**	17,9	> 0,05	**103**
секреция на мл. протеин **daily protein secretion,** g/day	**34,9**	17,2	**43,7**	16,6	**< 0,05**	**132**
секреция на млечна захар **daily lactose secretion,** g/day	**27,4**	12,6	**33,9**	12,8	**< 0,05**	**127**
СВ, % **total solids, %**	**17,8**	1,9	**16,9**	2,9	> 0,05	**95**
СБО, % **solids-non-fats, %**	**11,4**	0,7	**11,1**	1,1	> 0,05	**98**

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X%
**Deficient group=100%; Supplemented group=X%*

Що се отнася до мастния състав на суровото мляко, характерното увеличение на съдържанието на мазнини се наблюдава в края на лактацията и достига 23% при суплементираната

Regarding the fat composition of raw milk, the characteristic increase in the fat content by the end of lactation reached 23% in the supplemented group and 17% in the Se-I deficient one and

група и 17% при дефицитната на Se и I група и е свързано с редуциране обема на секретираното мляко (Таблица 3). Този феномен е констатиран и от други проучвания при условия на микроелементен дефицит. В случаите на дефицитен микроелементен статус на организма се наблюдава по-високо съдържание на млечни мазнини в продукта, което се обяснява с мобилизирането на мастните депа и дегенерацията на мастните тъкани (Angelow et al., 2000, Petrova et al., 1999).

was related to the reduction of milk secreted volume (Table 3). These phenomena have been reported by other studies under conditions of trace element deficiency. In cases of the deficient trace element status of organism the observed higher milk fat contents has been explained due to the mobilization of fat depots and degeneration of fat tissues (Angelow et al., 2004, Petrova et al. 1999).

Таблица 3. Ефект от суплиментацията на селен и йод върху съдържанието на млечни мазнини в млякото на Каракачански овце през време на пашата (%)
Table 3. Effect of Se-I supplementation on the milk fat content of Karakachan ewe's during the pasture period (%)

Milk fat, %	30th day (30.April 2013)	60th day (30.May 2013)	90th day (30.June 2013)	Average milk fat during the whole period
Supplemented group	5,51 ± 2,56	5,05 ± 0,87	7,10 ± 2,38	5,85 ± 2,18
Deficient group	6,51 ± 1,20	5,82 ± 1,22	7,65 ± 1,83	6,55 ± 1,52
%	85	87	93	89
t - test	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P > 0,05

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X%
**Deficient group=100%; Supplemented group=X%*

Средно-дневната секреция на белтъчини, мазнини и лактоза следва лактационната крива. През пасищния период суплементираните / несуплементираните овце секретират средно 43,7/34,9 g протеин, 42,5/41,8 g мазнина и 33,9/27,4 g лактоза дневно.

По време на всеки подпериод секрецията на млечния протеин и лактозата е съответно по-висока средно с 32% и 27% (P<0,05). Независимо от по-ниския добив на мляко и поради по-високия процент на млечни мазнини в групата с дефицит на Se-I, не са установени разлики в секрецията на мазнините между групите. През целия период (90 дни) мастната секреция при суплементираните овце е по-висока с 3% (P>0.05). В суплементираната със селен и йод група сухото вещество варира от 16,09% до 17,84%, а в дефицитната – от 16,92% до 18,94%. Не са установени значителни разлики между групите през пасищния период.

The daily secretion of protein, fat and lactose was following the lactation curves. During pasture period the supplemented / non-supplemented ewes secreted on the average 43,7/ 34,9 g protein, 42,5 / 41,8 g fat and 33,9 / 27,4 g lactose daily.

During each sub-period the secretion of milk protein and lactose were higher, on the average by 32% and 27% (P<0.05), respectively. Regardless to the lower milk yield and due to the higher milk fat percentage of the Se-I deficient group, differences in fat secretion between the groups were not established. During the whole period (90 days) the fat secretion in the supplemented ewes was higher by 3% (P>0.05). In the Se-I supplemented group the total solids varied from 16.09% to 17.84%, in the deficient group – from 16.92% to 18.94%. No significant differences between the groups and through the pasture period were found. In both groups the solids-

И в двете групи съдържанието на сух безмаслен остатък е около 11% и остава постоянно по време на дойния период.

Ефект на суплементацията върху съдържанието на микроелементи в суровото мляко

Селеновият и йодният дефицит оказват негативно влияние върху съдържанието на селен в овчето мляко (Таблица 4).

non-fat content was about 11% and remained constant during the milking period.

Effect of supplementation on the trace element content in raw milk

Selenium and iodine deficiency influenced negatively the selenium content in the sheep milk (Table 4).

Таблица 4. Ефект от суплиментацията върху съдържанието на селен в млякото на Каракачански овце през време на пасищния период (µg/l)
Table 4. Effect of supplementation on the selenium content in the milk of Karakachan ewe's during the pasture period (µg/l)

Групи / Период Group / Period	**30th day** (30.April 2013)	**60th day** (30.May 2013)	**90th day** (30.June 2013)	**съдържание на Se през целия период Se-content in milk during the whole period**
Суплементирана *Supplemented*	46,6 ± 6,0	68,1 ± 7,9	86,0 ± 7,9	**66,2 ± 17,7**
Дефицитна Deficient	25,7 ± 2.5	18,3 ± 2.6	14,4 ±1,8	**17,3 ± 2,9**
%*	181	372	597	**383**
t - test	P<0,001	P<0,001	P<0,001	**P<0,001**

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X%
**Deficient group=100%; Supplemented group=X%*

Разликата в концентрацията на селен в млякото между двете групи нараства от 30-ия ден до 90-ия ден от 181% на 597%. Средно през целия период, дефицитните животни секретират мляко, съдържащо 3.8 пъти по-малко селен.

Подобни резултати са получени при изчисляване на дневната секреция по време на различните подпериоди (Таблица 5).

The difference in selenium concentration in the milk between the two groups increased from day 30th to day 90th from 181% to 597%. On the average during the whole period, the deficient animals secreted milk containing 3.8 times less selenium.

Similar results are obtained by calculating the mean daily secretion during the different sub-periods (Table 5).

Таблица 5. Ефект от суплиментацията върху дневната секреция на селен с овчето мляко на Каракачанската порода през време на пасищния период (µg/ден)
Table 5. Effect of supplementation on the daily selenium secretion via ewe's milk of Karakachan breed during the pasture period (µg/day)

Групи / Период Group / Period	**30th day** (30.April 2013)	**60th day** (30.May 2013)	**90th day** (30.June 2013)	**дневна секреция на Se през целия период daily Se-secretion during the whole period**
Суплементирана Supplemented	46,4 ± 9,8	54,4 ± 11,8	43,7 ± 17,8	**48,3 ± 13,7**
Дефицитна Deficient	21,7 ± 6,0	11,8 ± 2,0	5,4 ±2,2	**13,8 ± 7,1**
%*	214	461	809	**350**
t - test	P<0,001	P<0,001	P<0,001	**P<0,001**

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X%
Deficient group=100%; Supplemented group=X%*

Суплементираните със селен и йод животни секретират по време на различните подпериоди от 2,14 до 8,09 пъти повече селен в сравнение с несуплементираните овце. Разликите в средната секреция на селен през целия период достига 350%.

Se-I supplemented animals secreted during the different sub-periods from 2,14 to 8,09 told more selenium in comparison to the deficient ewes. The differences between two groups on the Se-secretion during the whole period reached 350%.

Таблица 6. Ефект от суплиментацията върху съдържанието на йод в млякото на Каракачански овце през време на пасищния период (µg/l)
Table 6. Effect of supplementation on the iodine content in the milk of Karakachan ewe's during the pasture period (µg/l)

Групи / Период Group / Period	**30th day** (30.April 2013)	**60th day** (30.May 2013)	**90th day** (30.June 2013)	**съдържание на I през целия период I-content in milk during the whole period**
Суплементирана Supplemented	139,2 ± 67,5	109,9 ± 25,4	155,5 ± 41,4	**134 ± 50**
Дефицитна Deficient	151,4 ± 37,4	107,4 ± 31.5	142,0 ± 31,5	**133 ± 38**
%*	92	102	110	**99**
t - test	P>0,05	P>0,05	P>0,05	**P> 0,05**

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X%
Deficient group=100%; Supplemented group=X%*

В сравнение със селена няма достоверно увеличение на концентрацията на йод в овчето мляко (Таблица 6). Разликите между двете групи достигат на 90-ия ден след началото на добавката около 10% (p>0.05).

Въз основа на добива на мляко

Compared to selenium, there was no significant increase in the iodine concentration of ewe's milk (Table 6). The differences between the two groups reached at the 90th day after the start of the supplementation about 10% (p>0.05).

Based on the milk yield of the two

при двете групи през трите подпериода бяха установени различни нива в средно дневната секреция на йод чрез мляко (Таблица 7).

groups during the three sub periods, different values in the daily iodine secretion via milk have been established (Table 7).

Таблица 7. Ефект от суплиментацията върху дневната секреция на йод чрез овчето мляко на Каракачанската порода през време на пасищния период
Table 7. Effect of supplementation on the daily iodine secretion via ewe's milk of Karakachan breed during the pasture period (µg/day)

Групи / Период Group / Period	**30th day** (30.April 2013)	**60th day** (30.May 2013)	**90th day** (30.June 2013)	**дневна секреция на I през целия период daily I-secretion during the whole period**
Суплементирана Supplemented	133,6 ± 58,5	89,1 ± 31,7	76,7 ± 27,4	**101 ± 48**
Дефицитна Deficient	124,9 ± 25,0	69,6 ± 21,7	51,5 ±18,4	**85 ± 38**
%*	107	128	149	**118**
t - test	P>0,05	P>0,05	P<0,05	**P>0,05**

Дефицитна група=100%; Суплементирана група=X%
Deficient group=100%; Supplemented group=X%*

Разликите между суплементираната и несуплементираната група варират от 7 до 49%. Овцете получавали допълнително Se- и I през целия период, са секретирали с 18% повече йод, отколкото животните от несуплементираната група.

The differences between the supplemented and non-supplemented group varied from 7 to 49%. The ewes received additionally Se- and I during the whole period, secreted 18% more iodine than animals in the deficient group.

ИЗВОДИ

Проучването с лактиращи овце показва влиянието на мултиелементния дефицит върху добива на мляко и неговия състав, както и съдържанието на селен и йод в суровото мляко и селеново-йодната секреция. Динамиката на основните неорганични хранителни вещества в овчето мляко и дисбаланса в съдържанието на Se и I при храненето на паша са по-високи в сравнение с някои референтни стойности на различни автори при опити с овце, кози и крави (Anke and Groppel, 1987; Beate Heseker and Heseker, 1999; Council Directive 92/46/EEC, 1992; Davis and Mertz, 1986; Drobner, 1997; Hurley and Keen, 1987; Heeschen, 1998)

CONCLUSIONS

The investigation with lactating ewe's showed the influence of multi-element deficiency on the milk yield and milk properties, as well as the Se-I content of raw milk and Se- and I-secretion. The dynamic of the essential inorganic nutrients of ewes' milk and the imbalances in the Se and I content during the pasture feeding was higher than some reference values of different authors in experiments with sheep, goats and cows (Anke and Groppel, 1987; Beate Heseker and Heseker, 1999; Council Directive 92/46/EEC, 1992; Davis and Mertz, 1986; Drobner, 1997; Hurley and Keen, 1987; Heeschen, 1998).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Angelow, L., I. Petrova and M. Makaveeva**, 2004. Influence of marginal iodine and chronic selenium deficiency on milk performance of ewe's., *Bul. J. Ecol. Sci*., 3(1), 16-19.
2. **Angelow L., A. Neagoe, I. Petrova and B. Kashamov**, 2004a. Effect of multi-element supplementation (Se-Zn-I) to the diet of ewes during the suckling period on the milk performance and trace element content. In: Mengen- und Spurenelemente "22. Workshop" (M. Anke, G. Flachowsky, K. Kirsters, R. Müller, U. Schäfer, M. Seifert, M. Stöppler, eds.), Mugler Druck-Service GmbH, Hohenstein-Ernstthal, pp. 417-423.
3. **Angelow, L., S. Drusch, I. Petrova, D. Todorova and D. Dotshevski**, 1993. The influence of selenium and iodine supplementation on milk performance and composition of milk in a selenium deficiency region. In: Trace Elements in Man and Animals "TEMA-8" (M. Anke, G. Meissner, C. F. Mills, eds.), Verlag Media Touristik, Germany, pp. 319-320.
4. **Angelow, L. and D. Todorova**, 1998. Influence of marginal iodine and chronic selenium deficiency on milk performance of ewe's. In: Mengen- und Spurenelemente "18. Arbeitstagung" *(*M. Anke, W. Arnhold, H. Bergmann, W. Dorn, Hrsg.), Verlag Harald Schubert, Leipzig, pp. 128 -133.
5. **Anke M. and B. Groppel**, 1987. Iodine. Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology, 4, 201-209.
6. **Anke M., B. Groppel, H. Gürtler and M. Müller**, 1993. Spuernelementmangel- erscheinungen bei Tier und Mensch. In: Mineralstoffe und Spurenelemente in der Ernährung (M. Anke, H. Gürtler, eds.), Media Touristik Verlag, Gersdorf, pp. 157-195.
7. **Arnhold W., M. Anke and B. Groppel**, 1993. Die Artspezifität des Spurenelementgehaltes von Tier und Mensch. In: Mineralstoffe und Spurenelemente in der Ernährung (M. Anke, H. Gürtler, eds.) Verlag Media Touristik, Gersdorf, pp. 196-210.
8. **Arthur, J. R., F. Nicol and G. J. Beckett**, 1991. The role of selenium in thyroid hormone metabolism and effects of selenium deficiency on thyroid hormone and iodine metabolism. International Symposium on Selenium, 12-15 May, Belgrade, Yugoslavia, Abstracts, pp. 24.
9. **Heseker, B. and H. Heseker**, 1999. Nährstoffe in Lebensmitteln. Umschau Zeitschriften Verlag GmbH, Frankfurt am Main, pp. 142-158.
10. **Chanoine, J-P., J. L. Leonard and L. E. Braverman**, 1993. Selenium, iodine and thyroid. In: Iodine Deficiency in Europe (F. Delange, J. T. Dunn, D. Glinoer, eds.). Plenum Press New York and London, pp. 71-78.
11. **Council Directive 92/46/EEC,** 1992. Laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat treated milk and milk-based products. *Official J. Europ. Comm. No 6* L268/1, pp.1-25.
12. **Davis G. and W. Mertz**, 1986. Copper. In: Trace Elements in Human and Animal Nutrition (W. Mertz ed.). Academic Press, Inc., pp. 301-364.
13. **Drobner, C**,1997. Selen in der Nahrungskette. Dissertation, FSU-Jena, Germany.
14. **George, F. and W. Haenlein**, 2006. The nutritional value of sheep milk, British Sheep Diary Association, Review.
15. **Groppel, B.**, 1987. Jodmangelerscheinungen, Jodversorgung und Jodstatus des Wiederkäuers, Habilitationsschrift, KMU-Leipzig, 115-132.
16. **Groppel B.**, 2001. Mineralstoffe, Vitamine, Leistungsförderer (Bedeutung, Stoffwechsel, Bedarf, Einsatz), REKASAN GmbH, Deutschland

17. **Heeschen W.**, 1998. Milk hygiene and milk safety in the European and International Markets, Kiel, Forschungsberichte, *Milchwirtschaft,* 50 (1): 53-77.
18. **Hurley L. and C. Keen**, 1987. Manganese. In: Trace Elements in Human and Animal Nutrition (W. Mertz ed.), Academic Press, Inc., 185-223.
19. **Makaveeva M., I. Petrova and L. Angelow**, 2004. Influence of different zinc-iodine-selenium offer to the diet of ewes during pregnancy and lactation on the milk performance and trace element content. *Bul. J. Ecol. Sci*., 3(1), 11-15.
20. Odjakova, Z., L. Angelow and V. Kafedjiev, 1998. Effect of additive of selenium and iodine during pregnancy and lactation on milk yield, butterfat and milk protein secretion at ewes of Karakachan breed*. Animal Science, supplement, (2):* 49-52. (Bg)
21. **Petrova, N., L. Angelow, D. Dochevski and D. Todorova**, 1999. Influence of iodine and selenium deficiency on macro and trace element content of ewe's milk (Blackhead dairy breed). *Bulg. J. Agric. Sci., 5*, 907-910.
22. **Todorova, D., L. Angelow, S. Drusch, D. Dotshevski and I. Petrova**, 1993. The influence of selenium deficiency on trace element content and coagulation ability in ewe's milk. In: Trace Elements in Man and Animals "TEMA-8", (M. Anke, D. Meissner, C. F. Mills, eds.), Verlag Media Touristik, Germany, pp. 605-606.
23. **Todorova, D., L. Angelow, N. Petrova and I. Petrova**, 1995. Influence of selenium and iodine deficiency on the daily milk, fat and protein production during the suckling period of lambs. In: Mengen- und Spurenelemente "15. Arbeitstagung" *(*M. Anke, H. Bergmann, R. Bitsch, W. Dorn, Hrsg.), pp. 725-728.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (3), 48-56 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Влияние на сезона на получаване върху качеството на спермата от нерези

Христо Христев*, Ивелина Запрянова

Аграрен университет, бул. Менделеев 12, 4000 Пловдив, България

Influence of the season of obtaining on the quality of boar semen

Hristo Hristev*, Ivelina Zapryanova

Agricultural University, 12 Mendeleev Blvd., 4000 Plovdiv, Bulgaria

**E-mail: hrh.1234@abv.bg*

Received: 13.04.2018 *Accepted:* 31.08.2018 *Published:* 11.10.2018

РЕЗЮМЕ

Проучено е влиянието на сезона върху обема на еякулата (cm^3), броя на сперматозоидите (х $10^6/cm^3$), подвижността на сперматоидите (%) и pH на сперма от хибридни нерези отглеждани в масивна сграда, циментов под и свободен достъп до храна и вода. Изследвани са 52 еякулата, получени от 5 нереза на възраст 12 - 24 месеца през периода Март 2013 – Април 2014 г групирани по сезони: зима (Януари, Февруари, Март), пролет (Април, Май, Юни), лято (Юли, Август, Септември) и есен (Октомври, Ноември, Декември). Увеличаване на концентрацията на сперматозоиди се установява през зимата и пролетта (P≤0.001), а на обема – през лятото (P≤0.001). Най-активни са сперматозоидите в еякулатите, получени през зимата (P≤0.001). Различия по отношение на pH на спермата през различните сезони не бяха регистрирани. С увеличаването на обема на еякулата не винаги нараства и концентрацията на сперматозоидите.

SUMMARY

The effect of season on ejaculate volume (cm^3), concentration (x $10^6/cm^3$), motility (%) and pH of the semen of hybrid boars kept in a massive building, cement floor and free access to food and water was investigated.

Studied 52 ejaculates obtained from 5 of the male age 12 to 24 months during the period March 2013 - April 2014 grouped by seasons: winter (January, February, March), Spring (April, May, June), summer (July, August , September) and autumn (October, November, December). It is established increasing the concentration of sperm is established in the winter and spring (P≤0.001), and the volume - in the summer (P≤0.001). The most active spermatozoa in the ejaculate are those obtained in winter (P≤0.001). Differences with respect to the pH of the semen in different seasons have been recorded. By increasing the volume of sperm is not always increases and the concentration of spermatozoa. Temperature

По-голямо влияние върху изследваните показатели на спермата имат температурата и относителната влажност отколкото продължителността на светлинния ден.

Ключови думи: нерези, сперма, сезон, температура, влажност, продължителност на светлинния ден

and relative humidity have greater influence on the examined indicators of sperm than duration of light day.

Key words: boars, semen, season, temperature, humidity, duration of the light day

УВОД

Промишлените технологии на отглеждане в свиневъдството налагат използването на изкуствено осеменяване на свинете-майки. Това изисква отглеждане на здрави и с ценни генетични показатели нерези, които да се използват дълго време като спермопроизводители. Факторите на средата са неотменен и съпътстващ елемент от екологичния фон на животните, които много често могат да се превърнат в стресфактор. Затова и Kogan (1983) допълва, че живота на всеки организъм е непрекъснат процес на адаптация.

Влиянието на сезона, с комплекса си от взаимносвързани и взаимодействащи фактори, влияе непосредствено върху обмяната на веществата, топло- и газообмена, здравето, продуктивността, репродукцията и редица други функции на организма (Plyashtenko and Hohlova, 1976; Petkov et al., 1979; Bildirev et al., 1989; Kunavongkut et al., 2005; Tolon et al., 2008). Според Love (1981) температурата и интензивността на светлината влияят върху секрецията на FSH, а чрез него на тестостерона, в резултат на което се наблюдават промени в размерите на тестисите и качеството на спермата. Проучвайки сезонният ефект на светлината върху нерези авторът установява, че намаляването на дневната светлина през зимата и есента има стимулиращ ефект върху репродуктивната им функция.

Слабо развитите потни жлези и рехава космена покривка според Kelly and Curtis (1978) са причина за ниската устойчивост на нерезите към високите летни температури, особено в съчетание със силна слънчева радиация.

INTRODUCTION

The industrial breeding technologies in pig-breeding necessitate the use of artificial insemination of sows. This requires breeding of healthy boars with valuable indicators, which can be used as sperm producers for a long time. The factors of the environment are irrevocable and concomitant element of the ecologic background of animals, which factors can often turn into stress factors. That is why Kogan (1983) also adds that the life of each organism is a permanent process of adaptation.

The influence of the season, with its complex of interrelated and interactive factors, has a direct influence on metabolism, heat exchange, gas exchange, health, productivity, reproduction, and a number of other functions of the organism (Plyashtenko and Hohlova, 1976; Petkov et al., 1979; Bildirev et al., 1989; Kunavongkut et al., 2005; Tolon et al., 2008). According to Love (1981), the temperature and the intensity of light have influence on the secretion of FSH, and, through it, on the testosterone, as a result of which changes in the size of the testicles and the quality of sperm is observed. While studying the seasonal effect of the light on the boars the author deduces that the reduction of daylight in winter and autumn has a stimulating effect on their reproductive function.

According to Kelly and Curtis (1978), the poor development of sweat glands and the loose hair cover are the reason for the low tolerance of boars to the high summer temperatures, especially in combination with strong solar radiation.

Correa et al., (1999) установява, че ниските температури на средата не оказват влияние върху спермопродукцията или качеството на спермата. По данни на Petkov et al., (1979); Love (1981) и Silva et al., (2004) условията на преохлаждане и на прегряване са причина за преразход на фураж, нарушен растеж, нарушена спермоге-неза и качество на спермата. Други автори като Onegov et al., (1977) и Bildirev and Brachkova (1986) допълват, че когато амплитудата на влажността е по-висока с 30% над оптималната се наблюдава негативното ú влияние върху развитието, растежа и нормалната спермогенеза при нерезите. O'Brien et al. (1989) приемат, че степента на подобни стресови въздействия и тяхното влияние върху здравето и продуктивността на свинете се определя не само от стойностите на всеки хигиенен показател, но и от времето на тяхното въздействие.

Всичко казано до тук ни мотивира да проучим влиянието на сезона на получаване върху качеството на сперма от нерези.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследванията извършихме върху нерези, отглеждани в тухлена сграда с дървена покривна конструкция, с външна и вътрешна варо-пясъчна замазка и циментов под в района около град Пловдив през периода Март 2013 – Април 2014 година. Сградата е позиционирана в посока изток-запад, а прозорците й са монтирани на южната надлъжна стена. Температурата и относителната влажност вън и вътре в сградата измервахме със седмични термо-хигрографи и контролирахме с психрометър на Асман, а интензивността на осветеност – с луксиметър PU 320. Измерванията в сградата са извършвани в жизнената зона на животните.

Климатогеографската характеристика на района извършихме по данни на агрометеорологичния център,

Correa et al., (1999) establishes that the low temperatures of the environment do not have influence on sperm production or on the quality of the sperm. According to the data of Petkov et al., (1979); Love (1981), and Silva et al., (2004), the conditions of overcooling or overheating are a reason for over-expenditure of fodder, disturbed growth, disturbed sperm genesis and quality of the sperm. Other authors, like Onegov et al., (1977) and Bildirev and Brachkova (1986) add that when the amplitude of moisture is 30% over the optimal one, its negative influence is observed on the development, the growth, and the normal sperm genesis of boars. O'Brien et al. (1989) conclude that the level of such stressful influences and their effect on the health and productivity of pigs is defined not only by the values of each hygiene indicator but also by the time of their effect.

All of the above-mentioned statements motivate us to study the influence of the season of obtaining on the quality of boar semen.

MATERIAL AND METHODS

We conducted the studies on boars bred in a brick building with wooden roof structure, with internal and external lime and sand putty, and a cement floor, in the area around the town of Plovdiv, in the period between March 2013 and April 2014. The building is situated east-westwards, and its windows are mounted on the southern longitudinal wall. We measured the internal and external temperature and the relative humidity of the building with weekly thermo-hygrograph and controlled it with Assmann psychrometer; the intensity of lightness was measured with light meter PU 320. The measurements in the building were performed in the habitat of the animals.

We analyzed the features of climate and geography of the area in accordance to the data of the agrometeorological

град Пловдив.

Разплодниците се отглеждаха и хранеха при еднакъв режим, съгласно нормативните изисквания. По всяко време на денонощието нерезите имаха свободен достъп до дворчетата за разходка с обща площ за всеки по 17 m^2, а от сградата - по 6 m^2. Еякулатите получавахме от 5 нереза на възраст между 20 и 24 месеца по метода на „двойната ръкавица". При 52 от тях изследвахме показателите обем на еякулата (cm^3), концентрация на сперматозоидите (x $10^6/cm^3$), подвижност (%) и pH по съответните методи (Semkov et al., 1989; Dimitrov et al., 2000).

Резултатите обработихме вариационностатистически.

centre, the town of Plovdiv.

The breeding animals were bred and fed under identical regimen, according to the regulations. The boars had a 24-hour free access to the walking yards with a total area for each one of 17 m^2, and 6 m^2 each of the building area. We obtained the ejaculates from 5 boars aged between 20 and 24 months, under the 'the double glove' method. In 52 of them, we studied the volume indicator of the ejaculate (cm^3), the sperm concentration (x $10^6/cm^3$), the motility (%), and the pH, under the respective methods (Semkov et al., 1989; Dimitrov et al., 2000).

The results were processed with variation and statistical methods.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

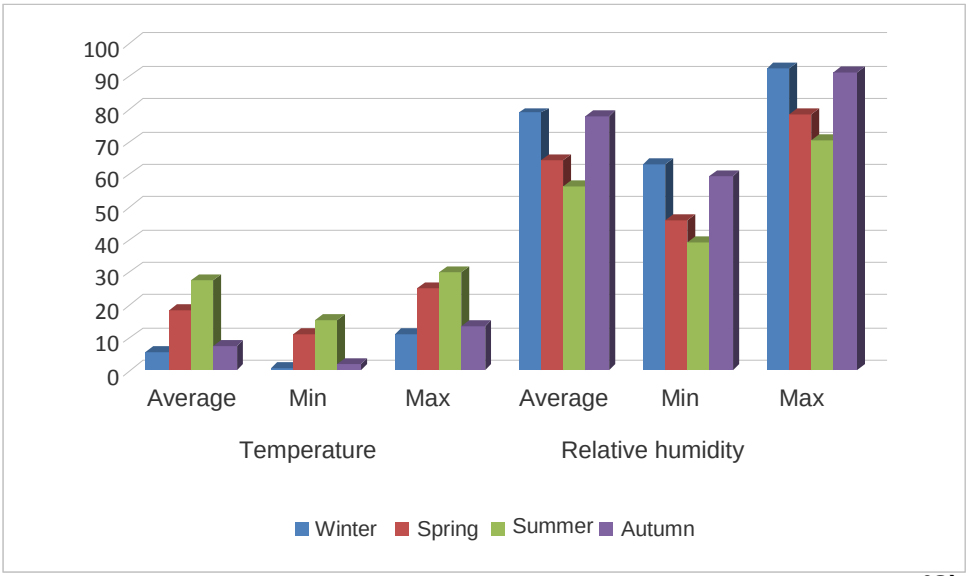
Използването на разплодници изисква добро познаване на техните физиологчини и биологични особености, както и възможността им да се повлияват от разнообразните фактори на заобикалящата ги среда. Ето защо, особено внимание при отглеждането на нерези трябва да се обръща на факторите на производствената среда, които чрез непрекъснатите си колебания действат стимулиращо на адаптационните им механизми и допринасят за запазване на тяхното здраве и продуктивност (Hristev, 2007).

Осреднените стойности на температурата и относителната влажност, съответстващи на четирите годишни сезони, представяме на Фигура 1, а на Таблица 1 – някои от биологичните параметри на спермата от нерези през същите сезони.

RESULTS AND DISCUSSION

The use of breeding animals requires knowledge of their physiological and biological features, and of their possibility to be influenced by the various factors of the environment. That is why, particular attention in boar breeding is to be paid to the factors of the production environment, which factors, through their permanent variation, have stimulating effect on their adaptation mechanisms and help for the preservation of their health and productivity (Hristev, 2007).

The average values of temperature and the relative humidity, corresponding to the four seasons of the year, are presented in Figure 1, while Table 1 shows some of the biological parameters of the sperm of the boars in the same seasons.



Фиг. 1. Средни стойности по сезони на външната температура (ºC) и относителна влажност (%) за периода Март 2013 – Април 2014 година
Fig. 1. Mean seasonal outdoor temperature (° C) and relative humidity (%) for the period March 2013 - April 2014

Таблица 1. Показатели на спермата при терминални нерези, получена през различните сезони
Table 1. Seminal characteristics of terminal boars obtained in different seasons

Сезон Season	Показатели на спермата/ Semen traits			
	Обем Volume, cm^3	Концентрация Concentration, x $10^6/cm^3$	Подвижност Motility,%	pH
Лято/Summer	422,73±19,5	277,3±20,0	71,4±0,8	8,0
Есен/Autumn	270,0±28,9	400,0±29,7	71,0±1,1	8,0
Зима/Winter	344,6±17,9	492,3±18,4	82,3±0,7	8,0
Пролет/Spring	313,0±13,5	463,0±13,8	81,9±0,5	8,0
P ≤	0,001	0,001	0,001	

Едногодишният контрол на микроклиматичните фактори установи, че средната температура на въздуха в сградата през зимата е 5,7 º С (при *min* - 2^0 и *max* 15^0C), през пролетта е 11,2 ºС, лятото е 28,8^0C (при *min* 15,4 и *max* 32,7^0C) и 7,7^0C през есента. Средната относителна влажност е около 70% (при *min* 45% и *max* 100%). Скоростта на движение на въздуха през лятото е най-ниска – 0,18 m/s, а през зимата най-висока – 0,31 m/s. През преходни-

The one-year control of the microclimatic factors deduced that the average temperature of the air within the building is 5,7 º С in winter (with *min* - 2^0 and *max* 15^0C), in spring it is 11,2º С, in summer – 28,8^0C (with *min* 15,4 and *max* 32,7^0C), and in autumn – 7,7^0C. The average relative humidity is around 70% (with *min* 45% and *max* 100%). The airflow is the lowest in summer – 0,18 m/s and it is highest in winter – 0,31 m/s. It has an intermediate value during the

те периоди тя заема междинни стойности – 0,25 m/s.

Извършената хигиенно-енергетична оценка на сградата от Hristev and Zapryanova (2014) доказа, че без допълнително отопление през зимата и без механична вентилация през зимата и лятото, се очакват преразход на фураж и занижени репродуктивни показатели при нерезите.

Средната продължителност на светлинния ден през зимата бе около 10 h, през пролетта 12,5 h, през лятото 14,5 h и през есента 12,3 h. Измерената интензивност на естествено осветление в сградата се колебае между 6 и 60 lux, което е под хигиенно допустимата граница (75 lux). Според Love (1981) намалението на интензивността на осветление през зимата и есента има стимулиращо влияние върху репродуктивната функция на нерезите. При нашите изследвания не открихме съществена зависимост между изследваните биологични качества на спермата от нерези и продължителността на светлинния ден. При комплексното представяне на температурата, относителната влажност и продължителността на светлинния ден, обединени в „Сезон", показаха силно подчертан ефект върху изследваните показатели на спермата.

Резултатите от нашите изследвания показаха, че между организма на нерезите и средата се индуцира успешна адаптация към променящите се фактори на външната среда. Независимо от това, през периодите с по-резки промени на температурния и светлинния фактор, когато протичат процесите за постигане на устойчиво хомеостатично състояние на организма, се наблюдават промени в някои от биологичните качества на спермата (Таблица 1). Редица автори като Love (1981), Claus and Weiler (1985), Kozdrowski and Dubiel (2004), Rivera et al. (2005), Tolon et al. (2008), Knecht et al. (2014) също съобщават за подобни

transitional periods – 0,25 m/s.

The hygiene and energy assessment of the building, conducted by Hristev and Zapryanova (2014) proved that without additional heating in winter and mechanical ventilation in winter and summer, boars are expected to have over-expenditure of fodder and reduced reproduction indicators.

The average duration of daylight in winter was around 10 hours, in spring – 12,5h, in summer – 14,5h, and in autumn – 12,3h. The measured intensity of natural light within the building fluctuates between 6 and 60 lux, which is lower than the permissible hygiene limit (75 lux). According to Love (1981), the reduced intensity of light in winter and autumn has a stimulating effect on the reproductive function of boars.

Our studies did not find any significant dependence between the studied biological features of the sperm from boars and the duration of the daylight. In the complex presentation of the temperature, the respective humidity, and the duration of the daylight, combined in 'Season', showed a strongly expressed effect on the studied indicators of the sperm.

The results of our studies showed that successful adaptation is induced between the organism of the boars and the environment.

However, during the periods with sharper changes of the temperature and light factor, at the time of the processes of permanent homeostatic condition of the organism, changes are observed in some of the biological features of the sperm (Table 1). A number of authors, like Love (1981), Claus and Weiler (1985), Kozdrowski and Dubiel (2004), Rivera et al. (2005), Tolon et al. (2008), Knecht et al. (2014) also state of similar changes in the volume, concentration, and

промени в обема, концентрацията и патологичните форми на спермата в зависимост от сезона. За вземане на окончателно решение при подобни случаи не трябва да се изключва и факта, че съществуват и индивидуални различия в спермогенезата и спермопродукцията.

Намерените разлики в концентрацията на сперматозоиди през различните сезони бяха значителни, особено добре подчертани през зимата и лятото (P ≤ 0,01). Най-голям брой на сперматозоиди установихме през зимата (P≤0,001), а най-малък през лятото. Подобна констатация правят Malinova and Nikolov (2015) при бици. По отношение на обема на еякулата констатирахме, че той е най-малък през пролетта и най-вече през есента, а най-голям през лятото (P ≤0,001). Статистически значими разлики между общия брой на сперматозоидите и броя на живите сперматозоиди в еякулата през отделните сезони не открихме.

Според Rivera et al. (2005) и Knecht et al. (2014) температурата и относителната влажност на въздуха имат по-голямо влияние върху изследваните показатели отколкото продължителността на светлинния ден. Тази констатация на авторите бе потвърдена и от нашите изследвания, които установиха най-нисък брой и слаба подвижност на сперматозоидите през лятото. Заключенията, направени от Bildirev et al., (1989); Tolon et al., (2008) и Flowers (2008) също потвърждават становището, че температурният стрес, предизвикан от високите темпера-тури през лятото, оказва негативно влияние върху качеството на спермата от нерези. Същото е наблюдавано и от Kozdrowski and Dubiel (2004) при диви свине, които целогодишно обитават една постоянно променяща се външна среда.

Сезонът е констелация от множество променящи се физични фактори на околната среда като температу-

pathological forms of the sperm depending on the season. In order to take a final solution in such cases, the fact that there are individual differences in the sperm genesis and sperm production is not to be excluded.

Significant differences in the concentration of sperm in the different seasons were found, as they are well expressed in winter and summer (P ≤ 0,01). We found the highest number of sperms in winter (P≤0,001), and the lowest – in summer. Malinova and Nikolov (2015) came to a similar conclusion with bulls. Regarding the volume of the ejaculate, we established that it is the lowest in spring, and mostly in autumn, and it is the highest in summer (P ≤0,001). We did not find any significant differences between the total number of sperms and the number of living sperms in the ejaculate during the different seasons.

According to Rivera et al. (2005) and Knecht et al. (2014), the temperature and the relative humidity of the air have a greater influence on the examined indicators than the duration of the daylight. This conclusion of the authors was also confirmed by our studies, which established the lowest number and poor motility of the sperms in summer. The conclusion made by Bildirev et al., (1989); Tolon et al., (2008) и Flowers (2008) also confirm the opinion that the temperature stress resulting from the high temperatures in summer, has a negative effect on the quality of boar sperm. The same result was observed by Kozdrowski and Dubiel (2004) with wild boars which inhabit a permanently changing environment during the whole year.

The season is a constellation of multiple changes of physical environmental changes like temperature,

ра, влажност, светлина, движение на въздуха и други. Те са в състояние да проявят както своето комплексно (на сезона), така и индивидуално влияние върху качеството и количеството на получаваната от нерезите сперма. Опознаването на тези зависимости ще даде основа за създаване и прилагане на подходящи грижи с оглед запазване на тяхната репродуктивна способност за по-дълъг период от време.

humidity, light, airflow, etc. They are able to show both their complex (seasonal) and their individual influence on the quality and quantity of the sperm obtained by boars. Learning about these dependencies will give a basis for the establishment and application of appropriate care with view to preserving their reproductive ability for a longer period of time.

ИЗВОДИ

1. Ниските температури и високата влажност на въздуха през зимата и есента оказват стимулиращ ефект върху концентрацията и подвижността на сперматозоидите (P≤0,001).

2. Високите летни температури създават условия за прегряване и топлинен стрес у нерезите, в резултат на което се намалява броя на сперматозоидите и тяхната подвижност независимо, че общия обем на спермата нараства (P≤0,001).

CONCLUSIONS

1. The low temperatures and high humidity of air in winter and autumn have a stimulating effect on the concentration and motility of sperms (P≤0,001).

2. The high summer temperatures create conditions of overheating and thermal stress in boars, which results in the reduction of the number of sperms and of their motility, regardless of the fact that the total volume of sperm increases (P≤0,001).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bildirev, N. and Iv. Brachkova, 1986. Impact of building'architectural performance on the abiotic indicators of the microclimate, health and productivity of pigs. "III International Symposium on the greening of livestock technologies in the field of animal husbandry- Belogradchik 1985", pp. 257-265 (Bg).

2. Bildirev, N., Hr. Hristev, Iv. Brachkova, R. Raykov and U. Gesheva, 1989. The state and dynamics of the harmful gases in the premises for sows. STC "Problems on industrial and semiindustrial livestock", V. Tarnovo, pp. 270-280 (Bg).

3. Claus, R. and U. Weiler, 1985. Influence of light and photoperiodicity on pig prolificacy. *J. Reprod. Fertil.* Suppl., 33, 185-197.

4. Correa, M. N., J. C.Vivan, E. G. Xavier, V. E. Roll, E. Correa and J. Deschamps, 1999. Manejo Reprodutivo do Macho Suino. Noticiário Técnico Científico, Porto Alegre- RS, v. 1, p. 1-8.

5. Dimitrov, S., G. Bonev, St. Georgiev and V. Atanasov, 2000. Methods for evaluation and control of the fertility of semen. St. Zagora (Bg).

6. Flowers, W. L., 2008. Genetic and phenotypic variation in reproductive traits of Al boars. *Theriogenology* 70, 1297-1303.

7. Hristev, Hr., 2007. Natural resistance of animals. Publishing AU Plovdiv, pp. 128 (Bg).

8. Hristev, Hr. and I. Zapryanova, 2014. Study of the microclimate in a building for boars. *Agricultural Sciences*, 6 (16), 137-142 (Bg).

9. Kelly, K. W. and St. Curtis, 1978. Effect of heat stress on pigs reared under varions degrees of confinement. *J. Anim. Sci*., 39, 117-124.

10. Knecht, D., S. Srodon and K. Duzinski, 2014. The influence of boar breed and season on semen parameters. *South African Journal of Animal Science*, 44 (1), 1-9.
11. Kogan, V., 1983. Stress and adaptation. Medicine and gymnastics, Sofia, pp. 92 (Bg).
12. Kozdrowski, R. and A. Dubiel, 2004. The effect of season on the properties of wild boar (Sus scrofa L.) semen. *Anim. Reprod. Sci.*, 80, 281-289.
13. Kunavongkrit, A., A. Suriyasomboon, N. Lundehein, T. W. Heard and S. Einarsson, 2005. Management and sperm production of boars under differing environmental conditions. *Theriogenology*, vol. 63, 657-667.
14. Love, R. J., 1981, Seasonal infertility in pigs. The veterinary record 109:407-409
15. Malinova, R. and V. Nikolov, 2015. Study on the reproductive capacity of bulls of the autochthonous Rhodope Shorthorn cattle breed. *Journal of Central European Agriculture*, 16(2), 47-53
16. O'Brien, P. Y., B. I. Kalow, B. D. Brwn and J. H. Lumsden, 1989. Environmental effects on swine reproduction. *American J. Vet. Res.*, 50, 19-23.
17. Onegov, A. P., I. Hrabostovski and V. I. Chernih, 1977. Hygiene of farm animals, "Kolos", 400 (Ru).
18. Petkov, G., P. Stoyanov, B. Baikov and L. Borisova, 1979. Veterinary Medicine reference book of ecology and hygiene. "Zemizdat", Sofia, pp. 312 (Bg).
19. Plyashchenko, S .I. and I. I. Khokhlova, 1976. Microclimate and productivity of animals. "Kolos", Leningrad, pp. 208 (Ru).
20. Rivera, M. M., A. Quintero-Moreno, X. Barrera, M. J. Palomo T. Rigau and J. E. Rodriguez-Gil, 2005. Natural Mediterranean photoperiod does not affect the main parameters of boar-semen quality analysis. *Theriogenology*, 64, 934-946.
21. Semkov, M. I. Nikolov and I. Manolov, 1989. A handbook of biology exercises for breeding and artificial insemination of farm animals. Zemizdat, Sofia (Bg).
22. Silva, E. F., R. C. Antunes, D. Leal and E. Paula, 2004. Treinamento de reprodutores para centrais de inseminacao e monta natural – www.suino.com
23. Tolon, Y. B., M. dos Santos, I. de A. Naas, D. J. de Moura and M. Rojas, 2008. Environmental variables ammonia and light intensity in boar housing. American Society of Agricultural and Biological Engineers, www.asabe.org.