



МИНИСТЕРСТВО НА ЗДРАВЕОПАЗВАНЕТО  
**НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР ПО ОПАЗВАНЕ НА ОБЩЕСТВЕННОТО ЗДРАВЕ**

Директор на НЦООЗ  
Доц. д-р Стефка Петрова, дм

Бул. „Акад.Иван Гешов” №15  
1431 София

Тел: +359 2/ 8056 261  
Факс: +359 2/ 954 11 14  
E-mail: s.petrova@ncphp.government.bg



# МИКРОБИОЛОГИЧНИ ПРОЦЕСИ И БЕЗОПАСНОСТ НА БЪЛГАРСКОТО БЯЛО САЛАМУРЕНО СИРЕНЕ

## СТАНОВИЩЕ

От доц. д-р Росица Еникова, дм,  
зав.секция  
„Микробиология на храните” към НЦООЗ

София, 2010 г.

## **„МИКРОБИОЛОГИЧНИ ПРОЦЕСИ И БЕЗОПАСНОСТ НА БЪЛГАРСКОТО БЯЛО САЛАМУРЕНО СИРЕНЕ”**

Доц.д-р Р.Еникова, дм,  
Национален център по опазване на общественото здраве

Българското бяло саламурено сирене е традиционно за нашата страна и има неповторими вкусови качества, уникални сред другите произвеждани в отделни страни саламурени сирена. То е основна храна за населението и се използва както за директна консумация, така и в рецептите на разнообразни национални кулинарни изделия, в повечето от които не се подлага на допълнителна термична или друга, обезвреждаща микроорганизмите обработка.

Неотдавна с активна обществена подкрепа бе преработен Българският държавен стандарт за бялото саламурено сирене в традиционния му български вариант, като в новата редакция на документа бяха включени сирената от овче, краве, козе и биволско мляко и оригиналната технология на производство, проверена през десетилетията на промишлено производство. Това сирене не се произвежда от сурово мляко, както е било прието в далечното минало в домашни условия, а суровината за него задължително се пастеризира. Това гарантира в голяма степен микробиологичната безопасност от присъствие на бактериите на туберкулозата, бруцелозата, салмонелозата, листериозата и други инфекции от типа на зооантропонозите, свързани с консумацията на млечни продукти. Независимо от тази гаранция, в новия стандарт бе включен модерният за Европа и другите развити страни критерий за безопасност *Listeria monocytogenes*, макар че технологията изключва вероятността от нейното развитие в продукта, а именно – комбинацията от термична преработка на суровината и сериозен процес на биологично зреене, който води не само до натрупване на органични киселини в концентрации, несъвместими с развитието на микроба, но се явява и чисто биологичен феномен на конкуренцията на благородната сиренарска микрофлора с патогенни микроорганизми, включително и листерии. Тези микробиологични процеси са много сложни, недобре проучени, протичат под заплахата от първично и вторично микробно контаминиране на суровината с разнообразни микроби, идващи както от екосистемата, така и с антропогенен характер.

Настоящата студия е посветена на микробиологичните процеси и тяхната динамика в българското бяло саламурено сирене. Тази динамика е особено важна с оглед на това, че процесите на зреене или ферментация в сирената са основополагащи

биологични и ензимохимични предпоставки за обезвреждане на нежеланата микрофлора и особено на патогенните микроорганизми, на които могат да бъдат носители както суровините, така и производствените съоръжения и работещите, заети в процеса на производство на сирената. Технологичният процес при сиренарското производство е отворен във всички етапи до момента на херметичното затваряне на опаковките с прясното сирене, а това е предпоставка за вторично контаминиране. По-късно, в периода на ферментацията, специфичната микрофлора на закваската постепенно взема превес и се превръща в преобладаваща, но дотогава има период на логаритмично развитие на остатъчната пост-пастьоризационна микрофлора и на вторично попаднали нежелани микроорганизми и това може да опорочи процесите на биологичното зреене и да създаде опасности за човешкото здраве. Така е не само на теория, но е доказано от практиката на годините и от многочислени проучвания на старите български автори.

Преди всичко е редно да обозначим резултатите от мащабни проучвания върху микробиологията на бялото саламурено сирене, проведени в България в края на 60-те и началото на 70-те години на миналото столетие в порядък на хигиенно нормиране на неговото производство [1]. Тези изследвания имат за основна цел хигиенно-микробиологичното нормиране, но едновременно с това установяват по експериментален път преживяемостта в процеса на зреене на редица патогенни и потенциално-патогенни микроорганизми – *Escherichia coli*, *Proteus hauseri*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Oidium lactis*.

В горепосочените изследвания в много голям брой производствени партии са определяни : общият брой на мезофилните аеробни и факултативно анаеробни микроорганизми (TPC) при 30°C (72 h) върху агар с хидролизирано мляко и хинаблау; съдържанието на *Coliform* в титрационен метод с изчисление на MPN в лактозо-жлъчен бульон с брилянтгрюн (BRILA) и по директен метод върху агар на Endo; съдържание на патогенни стафилококи в 0,1 g, доказвани след обогатяване в бульон с 6,5 % NaCl, потвърждаване върху кръвен агар и чрез тестовете каталаза, фосфатаза и плазмокоагулаза; изброяване на плесени и дрожди върху бирен агар; изброяване на протеолитични микроорганизми върху млечен агар с култивиране до 6 дни; изброяване на липолитичните бактерии върху агар с млечна мазнина и виктория-блау; доказване на присъствие/отсъствие на анаеробни маслено-кисели бактерии в 0,1 g ; доказване на присъствие/отсъствие на *Salmonella species* в 10 g от продукта по метод, еквивалентен на ISO EN 6579.

Описаните микробиологични критерии са определяни в прясно сирене непосредствено след подсирването и заквасването и след периода на «зреене», т.е. 45-дневен класически биотехнологичен процес.

Резултатите показват следното (виж Таблица 1) :

**Таблица 1**

**МИКРОФЛОРА НА БЯЛО САЛАМУРЕНО СИРЕНЕ (1968-1969 г.) [1].**

Наблюдавани микробиологични показатели	Прясно сирене		Зряло сирене	
	n	$\bar{\chi} \pm \Delta$	n	$\bar{\chi} \pm \Delta$
Общ брой на мезофилните аеробни микроорганизми, CfU/g – lg	545	9,48 ± 8,74	588	7,71 ± 7,34
<i>Coliform</i> , MPN/g – lg	458	6,78 ± 5,83	533	2,88 ± 2,41
<i>Coliform</i> , CfU/g – lg	514	5,19 ± 4,61	613	3,14 ± 2,59
Протеолитични микроорганизми, CfU/g – lg	506	1,95 ± 2,34	460	1,64 ± 1,08
Плесени, CfU/g – lg	449	4,06 ± 3,07	444	3,85 ± 2,90
Дрожди, CfU/g – lg	330	3,71 ± 3,28	320	3,30 ± 2,59

Където :

n = брой на изследваните партии;

$\bar{\chi}$  = средна аритметична на броя на микроорганизмите (lg)

$\Delta$  = средната грешка на броя на микроорганизмите (lg)

Зреенето на сиренето е динамичен микробиологичен процес. Общият брой на мезофилните микроорганизми в зрялото сирене намалява с около 2 lg в сравнение с пряското. Изключително чувствителни, с голяма степен на намаление в периода на зреене, са лактозо-положителните *Enterobacteriaceae* (изразени чрез *Coliform* в MPN/g или CfU/g), които намаляват с около 4 lg. Не толкова чувствителни са микроскопичните гъбички, чието ниво след зреенето е почти колкото в началото на

процесите. Същото се отнася и за протеолитичните микроорганизми, които могат да служат като индикаторен показател в тази група храни. Въз основа на получените интегрални резултати се установява, че в общия брой на аеробните мезофилни микроорганизми настъпват съществени структурни промени – увеличаване на млечнокиселите представители за сметка на намаляването на Грам-отрицателните бактерии.

В рамките на това изследване в продукцията не са изолирани *Salmonella species* и *Staphylococcus aureus*. Партидите не са изследвани за *Listeria monocytogenes* - епидемичната ситуация в страната не е изисквала системни наблюдения по този показател.

Извършено е експериментално инфектиране на проби бяло саламурено сирене, получено с традиционната закваска от *Streptococcus lactis* и *Lactobacillus casei*, т.е. твърде различна от днешните стартери, състоящи се от *Streptococcus lactis subsp. lactis* и *Lactobacillus casei*, но и с добавяне на закваска за българско кисело мляко - *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus* – биотехнологичен компонент, широко прилаган през последните десетилетия.

От цитираните по-горе микроорганизми най-бърз бактерициден ефект на ферментацията е получен при *Staphylococcus aureus* и *Proteus Hauseri* - след 25 ден те не са открити в изследваните проби. *Salmonella species* и *Oidium lactis* не загиват до 50 ден след началото на зреенето, а *Escherichia coli* и *Shigella sonnei* преживяват до 60 ден. Подобни данни съобщават и други български автори по отношение на преживяемостта на патогенните микроорганизми в саламуреното сирене. Трябва да се има предвид обаче, че експериментите са проведени при бавна млечнокисела ферментация, при 10-14°C или 18-20°C, каквито режими на зреене днес не се прилагат. Днешните технологични параметри са коренно различни и като температура на ферментация, и като закваски. Освен това са използвани много големи инфекциозни дози на тест-микроорганизмите, което не съответства на естествените им количества при производството на сирене, а това неминуемо повишава вероятността в продукта да останат жизнеспособни клетки на патогенните бактерии. В описаните по-горе наблюдения в зрялото сирене се наблюдават непренебрежими количества остатъчни *Coliforms*, което подчертава умереността на бактерицидния ефект на класическата сиренарска закваска и оправдава добавянето на стартера за българско кисело мляко, който теоретично би имал значително по-силно изразени антимикробни свойства спрямо нежеланите в сиренето *Enterobacteriaceae*.

Още по-ранни научно-експериментални разработки на Йотов Й. и сътр. върху овче сирене, получено от непастьоризирано мляко, разработват проблема за преживяемостта на *Mycobacterium tuberculosis*. Авторите установяват, че туберкулозните бактерии се запазват жизнеспособни в сиренето през целия период на неговото зреене и по-късно, до 115 – 120 ден. В сирене, получено от пастьоризирано мляко, крайният срок на преживяване на туберкулозните бактерии е установен до 90 ден [2]. Днес рискът от преживяване на *Mycobacterium tuberculosis* е малък, почти нереален, поради задължителната пастьоризация на млякото, предназначено за преработка в сирене, ефективна за унищожаването на туберкулозните бактерии.

В резултат на задълбочения анализ на получените факти и на литературните данни от предходни години цитираните проучвания дават като резултат първите проектно-норми за микробиологичната чистота на бялото саламурено сирене (краве, овче и смес), както следва\* :

1. Титър на колиформите – над 0,1 g;
2. Най-вероятен брой колиформи (по Хоскинс) - <10 MPN/g;
3. Патогенни (коагулазоположителни) стафилококи – в 0,3 g - да не се установяват;
4. Салмонелни бактерии – в 10,0 g - да не се установяват;
5. Общ брой плесени – до 1000 CfU/g.

Препоръчани са също така и ориентировъчни числени стойности по два от индикаторните показатели :

1. Общ брой на микроорганизмите – не повече от 100 000 000 CfU/g;
2. Протеолитични микроорганизми – не повече от 100 CfU/g.

*\*Забележка : В това изложение използваме актуални към днешния ден мерни единици*

В по-късната практика на хигиенния контрол тези предложения са били нееднократно осъвременявани, без обаче метаморфозите да са променяли същината на предложените тогава норми.

Практиката е отхвърлила само последните два ориентировъчни показателя – общия брой на микроорганизмите и протеолитичните микроорганизми. Последната редакция на микробиологичните норми за бялото саламурено сирене е малко по-различна и е публикувана в Наредба № 31 на МЗ и МЗХ (2004 г.), където се посочва отсъствие на колиформи и *S.aureus* в 1,0 g от продукта и на *Salmonella* в 25,0 g [3].

Тези първи мащабни изследвания върху микрофлората и микробиологичната безопасност на бялото саламурено сирене са дали своите практически резултати, но днес те не могат да отразят цялата сложност на процесите и адекватно да отговорят на изискванията на съвременността поради коренните различия в мащабите на производството, прилаганата техника, технологията на производство, характера на закваските, условията на зреене на сирената, спазването на принципите на GMP и GHP. Поради назрялата необходимост от стандартизиране на производството на този национален за страната ни продукт неотдавна с усилията на голяма общност от специалисти бе издаден новият Български стандарт № 15-2010 «Българско бяло саламурено сирене» [4], който включи оптималната национална технология на производство; съвременните стартерни култури; съвременното качество на суровините и опаковките; входящ, технологичен и изходящ контрол.

И все-пак най-важното в случая е разкриването на закономерностите на биотехнологичния процес като основен регулатор на микрофлората на бялото саламурено сирене. Практиката в страната ни показва, че докато пряното саламурено сирене много често става причина за стафилококови и салмонелни хранителни заболявания, докато от зряло сирене у нас не е описан нито един взрив, нито един инцидент.

В настоящата студия по-нататък представяме непубликувани данни от края на 80-те години на XX век от производствени експерименти, проведени по повод важна дискусия в общността на специалистите в млекарската индустрия за вида на закваските и тогавашните проблеми с качеството, зреенето на сиренето, дефектите с подуване на тенекиите по време на ферментационните процеси и други специфични проблеми на биотехнологията на сиренето.

Производствените експерименти са проведени под ръководството на д-р Мария Стефанова-Кондратенко, всепризнат специалист в областта на закваските, създава националната колекция от чисти и симбиотични култури за класическите български млечни продукти – българско кисело мляко, бяло саламурено сирене, кашкавал.

Постановката на микробиологичните наблюдения върху сирената и анализите по микробиологични показатели са проведени в Научния Институт по гастроентерология и хранене, лаборатория „Микробиология на храненето” от д-р Росица Еникова и д-р Мария Козарева.

Пилотни проучвания с експериментално инфектиране и проследяване на динамиката на преживяване на патогенни и условно-патогенни микроорганизми в

пресни сирена са проведени от д-р Росица Еникова и д-р Здравко Николов в Научния институт по млечна промишленост, гр. Видин.

Горепосочените изследвания дават много допълнителна фактология около поставения проблем за микрофлората и микробиологичната безопасност на традиционното за страната ни бяло саламурено сирене. Изложението на обективните факти представяме в настоящето становище.

Формалният повод за поставянето на експериментите бе главно неприятният проблем с подуването на металните, херметично затворени контейнери (тенекии) по време на зреенето на бялото саламурено сирене, а това е най-широко прилаганият в България метод за опаковане. Бомбажът на тенекиите в този период се е очертал като упорит, продължителен процес, нанасящ вреди върху продажбата на вътрешния и външен пазар. У нас не е имало резултатни и задълбочени проучвания на съответните причини, само се е предполагало влиянието на микробиологичните процеси. Друга, подискретна цел на експеримента, бе сравнението на процесите при използването на класическата сиренарска закваска и на стартерна култура за българско кисело мляко. С оглед на това експериментът си бе поставил за цел да проучи следните хипотези :

- влияние на микробното замърсяване на суровината;
- влияние на вида на използваните закваски;
- динамика на водното съдържание на бялото саламурено сирене;
- различия в условията на зреене;
- микробиологично състояние на саламурата.

Експериментите бяха проведени в период, когато към суровото изкупуваемо мляко не се предявяваха особени претенции за микробна чистота. Бе избран пролетният сезон – април, май, когато все още няма екстремни летни температури, отразяващи се косвено върху микробиологичното състояние на суровите млека. Партидите суровина бяха сборни млека от обедно, вечерно и сутрешно доене, приемаха се едновременно и се съхраняваха в продължение на 18 – 24 часа в специални контейнери (силози), охладени до +10°C - +12°C. Така общата продължителност на съхранението преди старта на производството достигаше до 40 – 48 часа и повече. Това е изключително неблагоприятен момент, обуславящ постоянната заплаха от неовладяеми микробиологични процеси. За микробиологичното състояние на суровините на експериментални партии представа дават данните от Таблица 2.



Таблица 2

## МИКРОФЛОРА НА СУРОВИНИ ЗА БЯЛО САЛАМУРЕНО СИРЕНЕ

Дата	Вид на млякото	Общ брой на мезофилните аеробни и факултативно анаеробни микроорганизми (lg CfU/g)	Общ брой на психротрофните микроорганизми (lg CfU/g)	Протеолитични микроорганизми (lg CfU/g)	Общ брой на спорообразуващите аеробни микроорганизми от рода <i>Bacillus</i> (lg CfU/g)	<i>Coliforms</i> (lg CfU/g)	Дрожди (lg CfU/g)	Плесени (lg CfU/g)
9 април	Овче мляко – сурово	7,26	6,75	3,43	3,41	7,65	3,30	3,30
9 април	Овче мляко – пастеризирано в танк	3,96	< 1	1,63	1,95	< 1	2,00	< 1
9 април	Овче мляко – пастеризирано в саламурник	3,97	-	1,59	2,70	< 1	2,08	< 1
9 април	Краве мляко – сурово	6,50	6,23	3,96	2,08	5,40	3,60	3,0
9 април	Краве мляко – пастеризирано в танк	3,43	< 1	1,45	2,97	< 1	1,90	< 1
9 април	Краве мляко – пастеризирано в саламурник	3,23	-	1,59	2,70	< 1	2.25	< 1

Дата	Вид на млякото	Общ брой на мезофилните аеробни и факултативно анаеробни микроорганизми (lg CfU/g)	Общ брой на психротрофните микроорганизми (lg CfU/g)	Протеолитични микроорганизми (lg CfU/g)	Общ брой на спорообразуващите аеробни микроорганизми от рода <i>Bacillus</i> (lg CfU/g)	<i>Coliforms</i> (lg CfU/g)	Дрожди (lg CfU/g)	Плесени (lg CfU/g)
28 май	Краве мляко – сурово	6,77	4,34	-	2,90	6,04	4,25	-
28 май	Краве мляко – пастеризирано	5,48	< 1	-	2,18	< 1	< 1	-
28 май	Краве мляко – пастеризирано в саламурник	6,20	< 1	-	2,28	2,70	2,08	-
28 май	Овче мляко - сурово	7,74	4,50	-	3,53	6,18	3,95	-
28 май	Овче мляко – пастеризирано	4,43	< 1	-	2,83	< 1	1,90	-
28 май	Овче мляко – пастеризирано – от маркуч	6,15	2,18	-	2,76	< 1	2,25	-

Описаните неблагоприятни обстоятелства бяха естествената причина за високото общо контаминиране на млеката с мезофилни микроорганизми. При сборното краве мляко то достигаше милиони, а при овчето – десетки милиони. Психротрофите в априлските партии бяха от порядъка на милиони, много по-малко се съдържаха в майските партии овче и краве мляко.

Пастьоризацията оказваше ефект, но по хода на технологичната линия наблюдавахме вторично реконтаминиране на млеката, предназначени за производство на сирене. Протеолитични микроорганизми бяха изследвани само в априлските партии. Тяхното съдържание не е високо и се влияе положително от пастьоризацията. Термичният процес е най-неефективен за аеробите от рода *Bacillus*.

Извънредно висока е степента на контаминиране на суровите млека с лактозо-позитивни *Enterobacteriaceae (Coliforms)*, но пастьоризацията надеждно ги обезврежда. Това не пречи в отделни случаи при подсирването, заквасването и съпътстващите ги производствени процедури те вторично да попадат в пастьоризираното мляко с произтичащите от това вредни за сиренето последствия. Много активна е реконтаминацията на суровите млека с дрожди, неизменен спътник на биотехнологичния по-нататъшен процес. Плесените (проследени само в априлската серия) са по-зависими и чувствителни към пастьоризационния режим и играят по-нататък по-незначителна роля.

Обобщено, в производството на сирене се е влагала и се влага суровина, богата на аеробни бактерии, много от които са психротрофни, *Enterobacteriaceae*, аеробни спорообразуващи бацили, протеолитични микроорганизми, дрожди. Голяма част от тях са остатъчна микрофлора след пастьоризацията, но в хода на технологичния процес има вторично контаминиране от работните съоръжения, което не е за подценяване.

За целите на експеримента бяха приготвени 16 партии краве и овче бяло саламурено сирене, различаващи се по вида на млякото (краве, овче), по вида на закваските (класическа сиренарска и закваска за българско кисело мляко); по водното съдържание; по чистотата на саламурата ; по условията на зреене – представени в Таблица 3. Както се вижда от таблицата, експериментът е обхванал комбинациите от фактори, решаващи за качеството и динамиката на биотехнологичния процес, както и за качеството на самото сирене.

За контролни бяха приети партидите, заквасени със стартерна култура за българско кисело мляко (БКМ), а за опитни – тези, заквасени със стартер за сирене. Количеството на закваската при контролните партии бе 0,1 %, а при опитните – 0,8 – 1,0 %.

Таблица 3

## ОПИСАНИЕ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИТЕ ПАРТИДИ БЯЛО САЛАМУРЕНО СИРЕНЕ

ПАРТИДА №	Вид на закваската	Вид на млякото	Водно съдържание %	Вид на саламурата	Условия на зреене
1к; 1о	<i>K Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> и <i>Streptococcus thermophilus</i> (за БКМ) <i>O Streptococcus lactis subsp. lactis</i> и <i>Lactobacillus casei</i> (сиренарска)	Краве	55 – 56 %	Нестерилна	8 – 10°C (45 дни) → 4°C
2к; 2о	<i>K Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> и <i>Streptococcus thermophilus</i> (за БКМ) <i>O Streptococcus lactis subsp. lactis</i> и <i>Lactobacillus casei</i> (сиренарска)	Краве	59 – 60 %	Нестерилна	8 – 10°C (45 дни) → 4°C
3к; 3о	<i>K Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> и <i>Streptococcus thermophilus</i> (за БКМ) <i>O Streptococcus lactis subsp. lactis</i> и <i>Lactobacillus casei</i> (сиренарска)	Овче	55 – 56 %	Нестерилна	8 – 10°C (45 дни) → 4°C

ПАРТИДА №	Вид на закваската	Вид на млякото	Водно съдържание %	Вид на саламурата	Условия на зреене
4к;4о	<i>K Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> и <i>Streptococcus thermophilus</i> (за БКМ) <i>O Streptococcus lactis subsp. lactis</i> и <i>Lactobacillus casei</i> (сиренарска)	Овче	59 – 60 %	Нестерилна	8 – 10°C (45 дни) → 4°C
5к; 5о	<i>K Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> и <i>Streptococcus thermophilus</i> (за БКМ) <i>O Streptococcus lactis subsp. lactis</i> и <i>Lactobacillus casei</i> (сиренарска)	Овче	59 – 60 %	Стерилна	8 – 10°C (45 дни) → 4°C
6к; 6о	<i>K Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> и <i>Streptococcus thermophilus</i> (за БКМ) <i>O Streptococcus lactis subsp. lactis</i> и <i>Lactobacillus casei</i> (сиренарска)	Краве	59 – 60 %	Стерилна	8 – 10°C (45 дни) → 4°C
7к; 6о	<i>K Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> и <i>Streptococcus thermophilus</i> (за БКМ) <i>O Streptococcus lactis subsp. lactis</i> и <i>Lactobacillus casei</i> (сиренарска)	Овче	56 – 60 %	Нестерилна	14°C (14 дни) → 8 – 10°C

ПАРТИДА №	Вид на закваската	Вид на млякото	Водно съдържание %	Вид на саламурата	Условия на зреене
8к; 8о	<i>K Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> и <i>Streptococcus thermophilus</i> (за БКМ)  <i>O Streptococcus lactis subsp. lactis</i> и <i>Lactobacillus casei</i> (сиренарска)	Краве	56 – 60 %	Нестерилна	14°C (14 дни) → 8 – 10°C

Производствените закваски от двете стартерни култури се приготвяха в заквасочници. Културата за българско кисело мляко се култивираше при +45°C, а тази за сирене – при +32°C. Контейнерите (тенекиите) се затваряха херметично на 48 до 72 час от подсирването и се поставяха при съответните температури за зреене.

На 24 час, 14 ден, 45 ден, 4 месец, 5 месец и 6 месец от контролната и опитна партиди се вземаха проби за изследване. Проби за микробиологични изследвания се вземаха на 24 час след подсирването, на 45 ден и 5 месец. В моментите на вземане на проби тенекиите се проверяваха за степен на бомбаж. Паралелно се вземаха и проби за дегустация. Изследванията по физико-химични показатели обхващаха сухото вещество, киселинността, респ. рН; разтворимия белтък. Микробиологичните анализи обхващаха психротрофните, протеолитичните, млечнокиселите, спорообразуващите бактерии, *Coliforms* и дрождите. Психротрофите се изброяваха след 10-дневно култивиране в агар с хидролизирано мляко при 6,5°C; протеолитичните – в млечен агар; спорообразуващите бактерии – в глюкозов агар; млечнокиселите – в MRS-агар; по общоприетите микробиологични методи, по същество еквивалентни на съвременните.

В Таблица 4 са представени количествата на специфичните млечнокисели микроорганизми, изброени в сирената 24 часа след подсирването, след 45 дни и след 5-месеца. Стартовите концентрации на бактериите в партидите със закваска за сирене са почти навсякъде десетократно по-високи, отколкото в партидите със закваска за българско кисело мляко. Това е естествено поради различията в количествата на влаганите закваски, отразени по-горе (съответно 0,1 % и 0,8 - 1,0 %).

За периода от 45-дневно зреене при +8°C до +10°C количествата на микробите на закваската за българско кисело мляко намаляват с 1,42 до 1,88 lg. При сиренарската закваска това намаление е по-ярко изразено – с 2,22 до 3,48 lg. При по-високата температура на зреене - +14°C, намалението на млечнокиселите бактерии в овчето сирене е с 2,22 lg за контролната и с 0,82 lg в опитната партида; за кравето сирене съответните стойности са 1,22 и 1,48 lg. В крайна сметка при по-високата температура на зреене сиренарската закваска към 45 ден в сирената се установява в по-голямо количество в сравнение със закваската за кисело мляко, с разлика от около 1,0 lg. Към 5 месец след подсирването количествата на млечнокиселите бактерии на закваската за кисело мляко намаляват с още 1 lg при +8°C - +10°C, докато тези на сиренарската се запазват в количества, равностойни на достигнатите на 45 ден и дори по-високи от тях, т.е. можем да предполагаме един продължаващ и активен млечнокисел процес. Във

Таблица 4

**МЛЕЧНОКИСЕЛИ МИКРООРГАНИЗМИ  
В ПРОЦЕСА НА ЗРЕЕНЕ НА БЕЛИ САЛАМУРЕНИ СИРЕНА  
lg CfU/g**

Партида	Описание на партидата	24 час		45 ден		5 месец	
		Контрола (БКМ)	Опитна (БСС)	Контрола (БКМ)	Опитна (БСС)	Контрола (БКМ)	Опитна (БСС)
1	Краве сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	<b>8,30</b>	<b>9,30</b>	<b>6,70</b>	<b>6,30</b>	<b>5,78</b>	<b>5,60</b>
2	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	<b>8,48</b>	<b>9,48</b>	<b>6,60</b>	<b>6,00</b>	<b>5,84</b>	<b>6,48</b>
3	Овче сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	<b>7,90</b>	<b>8,70</b>	<b>6,48</b>	<b>6,48</b>	<b>5,78</b>	<b>6,95</b>
4	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	<b>7,84</b>	<b>8,84</b>	<b>6,48</b>	<b>6,00</b>	<b>5,78</b>	<b>6,95</b>
5	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	<b>8,30</b>	-	<b>6,30</b>	-	<b>6,90</b>
6	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	<b>8,60</b>	-	<b>5,30</b>	-	<b>6,30</b>
7	Овче сирене 56-60 % Зреене при 14°C	<b>8,70</b>	<b>8,30</b>	<b>6,48</b>	<b>7,48</b>	<b>6,30</b>	<b>6,78</b>
8	Краве сирене 56-60 % Зреене при 14°C	<b>7,70</b>	<b>8,78</b>	<b>6,48</b>	<b>7,30</b>	<b>6,30</b>	<b>5,95</b>



Таблица 5

**ПСИХРОТРОФНИ МИКРООРГАНИЗМИ  
В ПРОЦЕСА НА ЗРЕЕНЕ НА БЕЛИ САЛАМУРЕНИ СИРЕНА  
lg CfU/g**

Партида	Описание на партидата	24 час		45 ден		5 месец	
		Контрола (БКМ)	Опитна (БСС)	Контрола (БКМ)	Опитна (БСС)	Контрола (БКМ)	Опитна (БСС)
1	Краве сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	-	<b>2,48</b>	<b>6,00</b>	<b>6,48</b>	<b>4,70</b>	<b>4,90</b>
2	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	<b>2,00</b>	<b>3,00</b>	<b>5,90</b>	<b>6,00</b>	<b>4,90</b>	<b>5,00</b>
3	Овче сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	-	-	<b>4,90</b>	<b>6,30</b>	<b>4,95</b>	<b>4,60</b>
4	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	-	<b>2,70</b>	<b>5,84</b>	<b>6,48</b>	-	<b>4,30</b>
5	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	-	-	<b>5,90</b>	-	<b>4,30</b>
6	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	<b>2,95</b>	-	<b>5,90</b>	-	<b>4,30</b>
7	Овче сирене 56-60 % Зреене при 14°C	-	<b>4,70</b>	<b>5,90</b>	<b>6,30</b>	<b>4,00</b>	<b>4,70</b>
8	Краве сирене 56-60 % Зреене при 14°C	<b>2,70</b>	<b>2,70</b>	<b>6,30</b>	<b>6,30</b>	<b>4,00</b>	<b>4,90</b>

Таблица 6

**МИКРООРГАНИЗМИ ОТ РОДА *VACILLUS*  
В ПРОЦЕСА НА ЗРЕЕНЕ НА БЕЛИ САЛАМУРЕНИ СИРЕНА**

Партида	Описание на партидата	24 час		45 ден		5 месец	
		Контрола (БКМ)	Опитна (БСС)	Контрола (БКМ)	Опитна (БСС)	Контрола (БКМ)	Опитна (БСС)
1	Краве сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	<b>2,84</b>	<b>2,84</b>	<b>3,78</b>	<b>3,00</b>	<b>2,78</b>	<b>1,95</b>
2	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	<b>2,84</b>	<b>2,60</b>	<b>3,78</b>	<b>3,48</b>	<b>1,95</b>	<b>1,95</b>
3	Овче сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	<b>2,78</b>	<b>2,84</b>	<b>2,84</b>	<b>3,48</b>	<b>1,95</b>	<b>3,78</b>
4	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	<b>2,90</b>	<b>2,95</b>	<b>2,84</b>	<b>3,84</b>	<b>2,0</b>	<b>2,84</b>
5	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	<b>2,84</b>	-	<b>2,95</b>	-	<b>2,70</b>
6	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	<b>2,78</b>	-	<b>3,30</b>	-	<b>2,90</b>
7	Овче сирене 56-60 % Зреене при 14°C	<b>2,95</b>	<b>2,78</b>	<b>3,48</b>	<b>3,84</b>	<b>3,0</b>	<b>1,78</b>
8	Краве сирене 56-60 % Зреене при 14°C	<b>2,30</b>	<b>2,84</b>	<b>3,30</b>	<b>3,30</b>	<b>2,70</b>	<b>2,90</b>

вариантите с овче мляко редуцията на млечнокиселите бактерии е много по-слабо изразена, отколкото при кравето сирене. В опитите със сирене, приготвено със стерилна саламура (те са само със сиренарска закваска), към 45 ден се наблюдава много силно изразено намаляване на количеството на млечните бактерии на сиренарската закваска – с 3,0 и повече lg, но към 5 месец отбелязваме сигнификантното им нарастване до стойностите, получени при другите експерименти. Това е резултат от намаляването на влиянието на страничната микрофлора върху хода на млечнокиселия процес. Като правило в овчето сирене към 5 месец на съхранението количеството на микроорганизмите на сиренарската закваска е много по-високо и по-стабилно, отколкото във вариантите на сирене от краве мляко.

Горното се отнася за специфичната благородна микрофлора на бялото саламурено сирене. Много важно е да разгледаме и количествата и динамиката на неспецифичната, нежелана микрофлора на сирената. Първият и най-важен факт е, че към 45 ден и по-късно в сиренето не се установяват *Coliforms*, което е надежден индикатор за ефективност на процесите на зреене върху най-рисковата група индикаторни и патогенни бактерии – *Enterobacteriaceae*, независимо от крайно неблагоприятното състояние на суровините, с които са проведени експериментите, и от неизбежното реконтаминиране след пастьоризацията на млякото. Това е така и за кравето, и за овчето сирене, и при едната, и при другата закваска, и при двете температури на зреене.

Интегралната група на психротрофните микроорганизми очевидно включва в себе си и част от млечнокиселите бактерии на закваските. По тази причина нейното количество не може да бъде надежден индикатор на хигиената на биотехнологичния процес. Психротрофите в началото са малко – до 3,0 lg, с изключение при овчето сирене, предназначено за зреене при по-висока температура. Броят им към 45 ден нараства паралелно с размножаването на микроорганизмите на закваските до стойности в порядъка на около 6,0 lg. На 5 месец психротрофите са по-малко – в диапазона от 4,0 до 5,0 lg (Таблица 5). Хетерогенният характер на този критерий, както казахме, е пречка за диференцирането на желаните млечнокисели от нежеланите психротрофи. Ето защо не бихме препоръчали този микробиологичен критерий за вътрешен контрол на процесите при бялото саламурено сирене.

В Таблица 6 са отразени стойностите на аеробните спороносни бактерии от рода *Bacillus*. Тази група микроорганизми представлява най-вече остатъчна пост-пастьоризационна микрофлора в сиренето, но не е изключено и допълнително

реконтаминиране от работните съоръжения. Противно на всеприетото становище, че в зрелите и зреещи сирена представителите на род *Bacillus* естествено загиват, при настоящата серия от експерименти се доказва, че те успешно преодоляват ензимнохимичния прозец на зреене и остават, макар и в малки количества, не само до края на периода на зреенето, но и по-нататък, откривайки се и след 5-месечно съхранение. Овчето сирене се оказва по-благоприятна среда за оцеляване на аеробните спорообразуващи бацили в сравнение с кравето. Стерилизирането на саламурата не е процес, ефективен за деконтаминирането от тях. Закваската за българско кисело мляко не превъзхожда сиренарската за отстраняване на аеробните бацили. Експериментът обаче не може да отговори на въпроса каква е тяхната роля в хетерогенния ензимохимичен процес в сиренето. Известни като активни продуценти на ензими и в най-голяма степен на протеази, микробите от рода *Bacillus* биха могли да оказват влияние върху качеството на сиренето. Но това изисква допълнителни проучвания по по-различна и по-целенасочена постановка.

Много интересен е проблемът с дрождите – неизменна остатъчна микрофлора на бялото саламурено сирене (Таблицы 1 и 7). Практиката е показала, че след изваждането на продукта от саламурата при по-продължителен престой в хладилни условия обичайно повърхността на сиренето се покрива с нежна пелена от колонизирани дрожди. Това явление днес е намерило своето успешно практическо решение чрез вакуум-опаковане на сиренето, предлагано в търговската мрежа. Отсъствието на кислород ограничава тяхното развитие и удължава в рамките на 20-30 дни пребиваването на продукта извън саламурата.

Присъствието на дрожди в сиренето е резултат главно от вторично контаминиране след пастьоризацията, което настъпва изключително бързо от работните съоръжения и е непредотвратимо за производствените условия, в които е осъществяван експериментът. Приложението на стерилна саламура в много голяма степен ограничава степента на контаминиране с дрожди в началото на биотехнологичния процес, но не го предотвратява тотално. Процесът на зреене в херметично затворените контейнери обаче води до съществена редукция на дрождите в сиренето, като, с две малки изключения, в експерименталните партии тези микроорганизми не се откриват. В сиренето, приготвено със starter за българско кисело мляко дрождите оцеляват до 5 месец само в една от партидите овче сирене и не присъстват в останалите партии. В опитните експериментални партии, приготвени

Таблица 7

**ДРОЖДИ**  
**В ПРОЦЕСА НА ЗРЕЕНЕ НА БЕЛИ САЛАМУРЕНИ СИРЕНА**  
*lg CfU/g*

Партида	Описание на партидата	24 час		45 ден		5 месец	
		Контрола (БКМ)	Опитна (БСС)	Контрола (БКМ)	Опитна (БСС)	Контрола (БКМ)	Опитна (БСС)
1	Краве сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	<b>2,90</b>	<b>5,48</b>	< 1	< 1	< 10	< 1
2	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	<b>3,48</b>	<b>4,78</b>	< 1	< 1	< 10	< 1
3	Овче сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	<b>3,60</b>	<b>4,48</b>	<b>1,78</b>	< 1	< 10	< 1
4	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	<b>3,70</b>	<b>3,90</b>	< 1	< 1	<b>2,48</b>	<b>2,78</b>
5	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	<b>2,70</b>	-	< 1	-	<b>2,30</b>
6	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	<b>2,0</b>	-	< 1	-	<b>2,48</b>
7	Овче сирене 56-60 % Зреене при 14°C	<b>2,95</b>	<b>5,0</b>	< 1	< 1	< 10	< 1
8	Краве сирене 56-60 % Зреене при 14°C	<b>3,70</b>	<b>3,84</b>	< 1	<b>1,70</b>	< 10	<b>2,70</b>

със закваска за сирене, картината е по-различна – даже в сирената със стерилна саламура се откриват дрожди в малки количества - под  $10^3$  CfU/g.

Изложените факти за съдържанието на дрожди в готовия продукт и по-точно – тяхното съществено намаление в процеса на зреене са в разрез с широко приетото мнение, че те са една от главните причини за бомбажа на контейнерите. Съпоставено и с факта за отсъствие на *Enterobacteriaceae* и по-специално – на *Coliforms* в края на технологичното зреене поставят под съмнение достоверността на приетата като аксиоматична „истина”, че те са в основата на газообразуването от нежеланата микрофлора, респ. причинители на промишления бомбаж. Оказва се, това не е вярно.

Така става ясно, че в края на биотехнологичния процес на зреене и 5 месеца след това в хладилни условия бялото саламурено сирене съдържа както специфична, така и неспецифична, нежелана микрофлора, състояща се от психротрофни бактерии, аеробни бацили и дрожди в малки количества и вероятно с ограничено значение за хода на ензимохимичните процеси. Отсъстват Патогенните *Salmonella* и *Staphylococcus aureus* в суровините и в готовите за консумация сирена в тези случаи не бяха открити, така че експериментът само потвърждава информацията за епидемичната безопасност на зрелия продукт.

Малко трудно е да съпоставим фактите за микрофлората с тези за биохимичните промени в сирената поради различията в сроковете на наблюдение. В Таблица 8 е показана динамиката на активната киселинност (рН) на партидите, определяна след 2 и 6 месеца след подсирването и заквасването, само за отделни партиди и по-рано - на 14 ден. Там, където рН е определяна на 14 ден, стойностите ѝ варират между 4,42 до 5,00, независимо от вида на стартерната култура. След 2-месечен срок на зреене и съхранение в опитните партиди, заквасени със сиренарска закваска, като правило рН е по-ниска, отколкото в сиренето, приготвено със закваска за българско кисело мляко, с малки изключения при овчето сирене. Различията, обаче, не са съществени. След 6-месеца тази тенденция е по-силно изразена, т.е. в сиренето с класически сиренарски starter са натрупани повече органични киселини. Активната киселинност към днешния ден е много важен критерий за микробиологична безопасност. Според Регламент ЕС № 2073/2005 развитието на *Listeria monocytogenes* е практически невъзможно при рН под 4,4, което изключва сиренето от листата на рисковите храни [9]. В това отношение бялото саламурено сирене, приготвено със сиренарска закваска, дава повече гаранции по отношение на безопасността, свързана с листериозата.

Таблица 8

**ДИНАМИКА НА pH  
В ПРОЦЕСА НА ЗРЕЕНЕ НА БЕЛИ САЛАМУРЕНИ СИРЕНА**

Партида	Описание на партидата	Бяло саламурено сирене – контрола (закваска от <i>L.delbrueckii</i> , <i>spp. bulgaricus</i> и <i>Streptococcus thermophilus</i> )			Бяло саламурено сирене – опитно (закваска от <i>Streptococcus lactis</i> и <i>Lactobacillus casei</i> )		
		14 ден	2 месеца	6 месеца	14 ден	2 месеца	6 месеца
1	Краве сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	-	4,88	4,48	-	4,28	4,15
2	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	-	4,44	4,45	-	4,33	4,48
3	Овче сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	5,00	4,44	4,25	-	4,45	4,14
4	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	-	4,53	4,27	-	4,35	4,15
5	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	4,44	4,44	-	4,50	4,38
6	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	-	-	4,64	4,32	4,22
7	Овче сирене 56-60 % Зреене при 14°C	4,45	4,64	4,25	4,42	4,42	4,25
8	Краве сирене 56-60 % Зреене при 14°C	4,54	4,48	4,48	4,48	4,22	4,27

Таблица 9

## ДИНАМИКА НА СУХОТО ВЕЩЕСТВО/ВОДНОТО СЪДЪРЖАНИЕ (%) В ПРОЦЕСА НА ЗРЕЕНЕ НА БЕЛИ САЛАМУРЕНИ СИРЕНА

Партида	Описание на партидата	Бяло саламурено сирене – контрола (закваска от <i>L.delbrueckii</i> , <i>spp. bulgaricus</i> и <i>Streptococcus thermophilus</i> )			Бяло саламурено сирене – опитно (закваска от <i>Streptococcus lactis</i> и <i>Lactobacillus casei</i> )		
		14 ден	2 месеца	6 месеца	14 ден	2 месеца	6 месеца
1	Краве сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	-	49,4/50,6	50,2/49,8	-	48,2/51,8	49,2/50,8
2	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	-	44,7/55,3	48,8/51,2	50,2/49,8	48,7/51,3	51,0/49,0
3	Овче сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	44,3/55,7	44,5/55,5	46,2/53,8	-	51,4/48,6	50,5/49,5
4	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	-	45,7/54,3	45,8/54,2	-	49,1/50,9	48,3/51,7
5	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	-	-	-	54,2/45,8	53,7/46,3
6	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	-	-	-	48,1/51,9	50,5/49,5
7	Овче сирене 56-60 % Зреене при 14°C	44,5/55,5	45,7/54,3	45,5/54,5	51,1/48,9	52,5/47,5	50,2/49,8
8	Краве сирене 56-60 % Зреене при 14°C	45,3/54,7	44,6/55,4	44,6/55,4	49,2/50,8	51,2/48,8	51,5/48,5



Друг фактор, влияещ върху развитието на *Listeria monocytogenes*, е водната активност ( $a_w$ ). У нас и до днес не е прието инструменталното измерване на този показател в текущата практика, поради което нямаме информация за действителната водна активност на саламурените сирена. По цитирани чужди автори тя трябва да бъде в диапазона от 0,90 до 0,93. Имаме обаче голям опит в наблюденията върху водното съдържание (респ. сухото вещество) на продукта, който в зрелите сирена с високо качество варира между 40 до 45 % и не е фактор-ограничител на микробиологичните процеси, включително за някои патогенни бактерии като *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* и *Listeria monocytogenes*.

В Таблица 9 представяме данните за сухото вещество, респ. водното съдържание на експерименталните партии, измервани аналогично на 14 ден, 2 и 6 месец след подсирването.

В Таблица 9 са отразени реално постигнатите стойности на сухото вещество, респ. на водното съдържание, които много слабо се динамизират между 2 и 6 месец след подсирването. Както изтъкнахме по-горе, тези параметри не са фактор-ограничител за развитието както на специфичната, така и на неспецифичната, нежелана и дори патогенна микрофлора, но отразяват физико-химичното състояние на продукта, на фона на което продължават ензимо-химичните процеси на хидролиза на казеина, натрупване на водоразтворими пептиди, слабата динамика в киселинността на продукта. По-изразено натрупване на органични киселини не се очаква поради това, че лактозата на млякото е изчерпана в много по-ранните фази на зреенето на сиренето, като свидетелство за това е и устойчивостта на активната киселинност на експерименталните партии, отразена в Таблица 8.

За дълбочината на зреенето на бялото саламурено сирене съдим най-вече по количествата на разтворимите белтъци, резултат от хидролизата на казеина под влияние на протеазите най-вече на млечнокиселите бактерии на закваските. Данните за съдържанието на разтворими белтъци в експерименталните партии сирена са представени в Таблица 10. Очевидно е, че процесът не се прекратява в зрялото вече сирене, а продължава и към 6 месец продължава да е активен. При по-висока температура на зреене хидролизата е по-дълбока – и при кравето, и при овчето сирена. За повечето партии класическата сиренарска закваска е с по-активни протеолитични свойства. Преизчислено е, например, за овчето сирене, преминало процес на зреене при 14°C, че съотношението общ белтък / разтворим белтък достига около 30 %, което е

признак за високо качество и отлична органолептика на продукта. Най-ниската стойност на това съотношение в опитните партии към 6 месец е около 17,2 % и се наблюдава при използването на стерилна саламура. Това са високи цифри, надхвърлящи изискванията на новия БС 12-2010, където минималното съотношение е ограничено до 14,0 %.

**Таблица 10**

**ДИНАМИКА НА РАЗТВОРИМИЯ БЕЛТЪК (%)  
В ПРОЦЕСА НА ЗРЕЕНЕ НА БЕЛИ САЛАМУРЕНИ СИРЕНА**

Партида	Описание на партидата	Бяло саламурено сирене – контрола (закваска от <i>L.delbrueckii, spp. bulgaricus</i> и <i>Streptococcus thermophilus</i> )		Бяло саламурено сирене – опитно (закваска от <i>Streptococcus lactis</i> и <i>Lactobacillus casei</i> )	
		2 месеца	6 месеца	2 месеца	6 месеца
<b>1</b>	Краве сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	<b>4,4</b>	<b>3,9</b>	<b>4,8</b>	<b>6,2</b>
<b>2</b>	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	<b>2,6</b>	<b>3,2</b>	<b>5,4</b>	<b>5,5</b>
<b>3</b>	Овче сирене 55-56 % Зреене при 8-10°C	<b>3,9</b>	<b>5,6</b>	<b>3,7</b>	<b>4,7</b>
<b>4</b>	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C	<b>4,1</b>	<b>6,2</b>	<b>4,9</b>	<b>5,1</b>
<b>5</b>	Овче сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	-	<b>3,7</b>	<b>4,3</b>
<b>6</b>	Краве сирене 59-60 % Зреене при 8-10°C Стерилна саламура	-	-	<b>5,2</b>	<b>5,4</b>
<b>7</b>	Овче сирене 56-60 % Зреене при 14°C	<b>5,4</b>	<b>7,2</b>	<b>6,7</b>	<b>7,5</b>
<b>8</b>	Краве сирене 56-60 % Зреене при 14°C	<b>6,7</b>	<b>7,1</b>	<b>4,2</b>	<b>5,3</b>

Извършените наблюдения върху органолептиката на сирената и бомбажа на контейнерите са дали основание на специалистите-технолози за интересни констатации и заключения :

- нивата на дрождите и колиформите в процеса на зреене на сирената нямат отношение към бомбажа;
- бомбажът е свързан с нивото на психротрофните бактерии, идващи от силно замърсени суровини;
- бомбират контейнерите със сирене, приготвено със закваска за българско кисело мляко, но не и тези със сиренарска закваска;
- приложението на стерилна саламура ограничава бомбажа на контейнерите.

До тук ние разгледахме класическото бяло саламурено сирене, преминало през пълноценен процес на зреене под влиянието на различни стартерни култури, по-ниска и по-висока температури, прогнозно водно съдържание, приложение на стерилизирана или не саламура. Данните за микрофлората, обаче, са за сирената в началото - непосредствено след подсирването, в края на процеса на зреене – към 45 ден и по-късно, към 5 месец. Най-сложният период, през който динамиката на процесите е твърде активна, е в първите 10 – 20 дни на зреенето на сирената. Това е периодът на т.н. «прясно сирене», неправомерно препоръчвано от някои диетолози като продукт-хепатопротектор, а в същото време криещо доказан епидемичен риск от инфекциозен характер – салмонелози, стафилококови интоксикации, ентероколити от *Escherichia coli*. В този период микрофлората е смесена, очаква се нежеланите микроорганизми да бъдат във фазата на логаритмичното си развитие, но като правило изследванията са твърде трудоемки, изискват наблюдения по много микробиологични показатели едновременно, поради това и не се правят в рутинната практика. Състоянието на специфичната микрофлора на закваските в този период, както и очакваните микробиологични рискове, остават енигматични. В последните години стана практика изнасянето на пазара на незрели партиди бяло саламурено сирене за широка консумация, с по-високо водно съдържание и неустойчива консистенция, лоша органолептика и други дефекти. Това сериозно разклати доверието на потребителя и в крайна сметка доведе до обществената необходимост да бъдат възстановени Българските държавни стандарти. От друга страна легализирането на подобна практика би довело до риск и от хранителни заболявания, причинявани от бактерии в незрелите сирена.

Обект на този енигматичен период от зреенето на сиренето бяха изследванията, проведени в полупромишлени условия в Института по млечна промишленост – гр. Видин, в края на 80-те години, както и лабораторни проучвания с експериментално инфектиране на суровина за сирене, моделиране на технологичния процес и изброяване на микроорганизмите в хода на процеса на зреене. Резултатите са частично публикувани и отразяването им в детайли представяме едва сега.

В лабораторни условия бяха подготвени четири партии бяло саламурено сирене, заквасени с четири различни закваски, подходящи за производството продукта, но без добавянето на сирищен ензим. Останалите фрагменти от технологията бяха традиционни.

В момента на заквасването към подготвената суровина за всяка една от партидите бяха внесени експериментално 24-часови култури на тест-щамове *Escherichia coli* 0119(ентеропатогенен щам), *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* тип А. Щамовете са от колекцията, която се поддържа в лаборатория «Микробиология на храните», с известен произход и добре проучени морфологични, културални и ензимохимични свойства и експериментално изследвана преживяемост при различни хранителни технологии. Количествата на експериментално внесените бактерии бяха изследвани по директни посевни методи с използването на селективни и диференциращи хранителни среди с изброяване на колониите след подходящо култивиране за всеки тест-микроорганизъм и изразяване на резултатите в **Ig CfU/g**. В началото и в края на експерименталния период бяха измервани активната киселинност (рН) и титруемата киселинност в °Т.

Резултатите от тези експерименти са представени в таблици 11- 14. В първия експеримент (Таблица 11) е използвана класическа закваска за саламурено сирене, традиционно използвана в България. В останалите три случая са приложени модификации на закваските с обогатяване с *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus diacetylactis* и *Streptococcus thermophilus*.

Проблемът със стартерните култури в бялото саламурено сирене продължава да е дискуссионен сред специалистите-технолози. Оформени са две диаметрално противоположни мнения – ползването само на сиренарска закваска (М.Стефанова-Кондратенко) или само на закваска за българско кисело мляко (Хр.Чомаков). Практиката е наложила смесения вариант – комбинацията от двата стартера в различни съотношения. Технологичните инструкции на Обединение „Млечна промишленост” (1983 г.) препоръчват съотношения от 1:9 до 9:1 и по този начин дават свобода на

технолозите да комбинират в количествено отношение двата стартера. Балтаджиева М. (2004 г.), препоръчва комбинация от двете закваски в съотношение 9:1 в полза на сиренарската [8]. Тази комбинация е приета в новия Български стандарт 15:2010 [4].

В нашия експеримент закваските са комбинирани от Института по млечна промишленост – гр. Видин, въз основа на технологичния опит на неговите специалисти, а една от целите на експеримента е да сравни антимикробната активност на предлаганите комбинации от щамове млечнокисели бактерии, подходящи при производството на сирене, с цел набирането на необходимите база-данни. Нашата цел бе свързана с оценката на експозицията на риска от горепосочените патогенни и условно-патогенни микроорганизми в прясното сирене.

Както се вижда от Таблица 11, представяща резултатите от наблюдението върху антагонизма на класическата закваска за бяло саламурено сирене, 20-дневният период на зреене не е достатъчен за постигането на бактерициден ефект спрямо патогенните чревни микроорганизми и стафилококите. Единствено анаеробният *C.perfringens* загива в сиренето към 48 час, а *Shigella flexneri* бързо редуцира количествата си и към 15 ден не се изолира от продукта. Ентеропатогенните *Escherichia coli* нарастват в геометрична прогресия до 10 ден и съвсем леко намаляват към края на 20-дневното зреене. По-умерена е динамиката на *Salmonella*, но към 7 ден количествата на микроба са достатъчно масивни инфекциозни дози за предизвикване на тежки клинични прояви. Учудващо активна е динамиката на *Proteus mirabilis*. Стафилококите до края на наблюдавания период са във възходяща тенденция към размножаване, респ. рискът от натрупване на ентеротоксини е много висок. Тези данни категорично потвърждават известното от епидемиологичните анализи правило за високата степен на риск от чревни инфекции, предавани чрез прясното сирене. В този период на зреене в продукта не са натрупани достатъчно органични киселини, рН е във високи стойности. Млечнокиселите бактерии вълнообразно увеличават и намаляват броя си, достигат високи концентрации в продукта, но не могат да бъдат пълноценни антагонисти на нежеланата патогенна микрофлора.

Подобни са резултатите от експериментите и от другите закваски.

Втората експериментална стартерна култура се развива в млякото в по-умерени в количествено отношение темпове, също има вълнообразен характер, но е с по-изразен антагонистичен ефект към тест-щамовете *Enterobacteriaceae* и към стафилококите и кластридиите, като в никакъв случай не може да се определи като успешен антагонист.

Таблица 11

**ДИНАМИКА НА МЛЕЧНОКИСЕЛАТА МИКРОФЛОРА И ЕКСПЕРИМЕНТАЛНО ВНЕСЕНИ ПАТОГЕННИ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННИ МИКРООРГАНИЗМИ В БЯЛО САЛАМУРЕНО СИРЕНЕ В ПЪРВИТЕ 20 ДНИ ОТ ПЕРИОДА НА ЗРЕЕНЕ**

Закваска : *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus casei*

№	Изпитвани микроорганизми	Брой на изпитваните микроорганизми – lg CfU/g								
		0 час	3 час	24 час	48 час	72 час	144 час	10 ден	15 ден	20 ден
1.	<i>Lactobacillus</i>	6,30	8,00	8,40	9,30	9,00	9,00	10,90	8,48	8,30
2.	<i>Lactococcus</i>	6,00	6,30	8,30	7,30	7,60	9,48	10,90	8,48	8,30
3.	<i>Escherichia coli</i> <i>0119</i>	3,70	4,78	5,78	6,60	6,78	6,70	7,00	6,30	5,74
4.	<i>Proteus mirabilis</i>	3,60	4,70	4,30	5,48	5,78	5,70	5,70	5,48	5,48
5.	<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i>	3,84	4,84	5,18	4,90	5,78	5,30	4,30	4,70	3,70
6.	<i>Shigella flexneri</i>	3,78	4,78	3,90	3,70	2,84	2,30	1,90	< 10	< 10
7.	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,70	4,40	4,30	4,90	4,95	5,60	5,70	6,78	6,00
8.	<i>Clostridium perfringens</i>	5,00	5,00	5,90	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
	<i>pH</i>	6,0	-	-	-	-	-	-	-	5,7
	<i>Титруема киселинност, °Т</i>	23	-	-	-	-	-	-	-	62

Таблица 12

**ДИНАМИКА НА МЛЕЧНОКИСЕЛАТА МИКРОФЛОРА И ЕКСПЕРИМЕНТАЛНО ВНЕСЕНИ ПАТОГЕННИ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННИ МИКРООРГАНИЗМИ В БЯЛО САЛАМУРЕНО СИРЕНЕ В ПЪРВИТЕ 20 ДНИ ОТ ПЕРИОДА НА ЗРЕЕНЕ**

Закваска : *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*

№	Изпитвани микроорганизми	Брой на изпитваните микроорганизми – lg CfU/g								
		0 час	3 час	24 час	48 час	72 час	144 час	10 ден	15 ден	20 ден
1.	<i>Lactobacillus</i>	7,90	9,30	9,18	9,18	7,48	7,30	6,30	7,48	3,78
2.	<i>Lactococcus</i>	8,60	9,30	9,30	6,60	8,30	6,30	6,30	8,95	3,78
3.	<i>Escherichia coli</i> <i>0119</i>	3,48	4,60	5,18	5,40	4,60	4,30	4,30	3,48	< 10
4.	<i>Proteus mirabilis</i>	4,00	3,48	2,54	2,60	2,30	< 10	< 10	< 10	< 10
5.	<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i>	3,60	4,60	4,48	4,78	4,95	4,84	3,78	2,88	< 10
6.	<i>Shigella flexneri</i>	4,00	3,18	4,60	4,48	3,48	3,30	< 10	< 10	< 10
7.	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,70	4,95	3,90	5,74	3,54	4,60	3,60	1,90	< 10
8.	<i>Clostridium perfringens</i>	1,78	3,60	2,30	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
	<i>pH</i>	6,0	-	-	-	-	-	-	-	5,3
	<i>Титруема киселинност, °Т</i>	22	-	-	-	-	-	-	-	54

Таблица 13

**ДИНАМИКА НА МЛЕЧНОКИСЕЛАТА МИКРОФЛОРА И ЕКСПЕРИМЕНТАЛНО ВНЕСЕНИ ПАТОГЕННИ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННИ МИКРООРГАНИЗМИ В БЯЛО САЛАМУРЕНО СИРЕНЕ В ПЪРВИТЕ 20 ДНИ ОТ ПЕРИОДА НА ЗРЕЕНЕ**

Закваска : *Streptococcus diacetylactis*, *Streptococcus cremoris*, *Lactobacillus casei*

№	Изпитвани микроорганизми	Брой на изпитваните микроорганизми – lg CFU/g								
		0 час	3 час	24 час	48 час	72 час	144 час	10 ден	15 ден	20 ден
1.	<i>Lactobacillus</i>	8,18	8,00	6,90	6,60	8,70	7,00	-	9,90	7,00
2.	<i>Lactococcus</i>	8,18	7,30	8,00	6,90	-	7,70	-	9,90	7,30
3.	<i>Escherichia coli</i> <i>0119</i>	3,54	3,60	5,48	-	-	6,48	8,00	7,40	7,30
4.	<i>Proteus mirabilis</i>	3,60	4,30	5,48	5,00	6,60	4,30	-	4,84	5,84
5.	<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i>	3,48	3,59	4,00	4,30	4,30	4,48	4,30	3,48	2,48
6.	<i>Shigella flexneri</i>	3,30	3,48	3,40	2,60	3,48	2,18	< 10	< 10	< 10
7.	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	3,00	4,30	4,30	4,30	4,40	3,90	3,00	3,90	3,00
8.	<i>Clostridium</i> <i>perfringens</i>	2,65	2,70	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
	<i>pH</i>	6,4	-	-	-	-	-	-	-	4,7
	<i>Титруема</i> <i>киселинност, °Т</i>	16	-	-	-	-	-	-	-	74



Таблица 14

**ДИНАМИКА НА МЛЕЧНОКИСЕЛАТА МИКРОФЛОРА И ЕКСПЕРИМЕНТАЛНО ВНЕСЕНИ ПАТОГЕННИ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННИ МИКРООРГАНИЗМИ В БЯЛО САЛАМУРЕНО СИРЕНЕ В ПЪРВИТЕ 20 ДНИ ОТ ПЕРИОДА НА ЗРЕЕНЕ**

Закваска : *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*

№	Изпитвани микроорганизми	Брой на изпитваните микроорганизми – lg CfU/g								
		0 час	3 час	24 час	48 час	72 час	144 час	10 ден	15 ден	20 ден
1.	<i>Lactobacillus</i>	8,54	8,60	8,95	9,95	10,18	10,81	11,78	10,60	10,84
2.	<i>Lactococcus</i>	9,30	9,18	8,95	9,95	10,18	10,81	11,78	10,60	10,84
3.	<i>Escherichia coli</i> <i>0119</i>	3,54	5,74	6,48	5,90	6,00	5,78	3,70	5,78	5,65
4.	<i>Proteus mirabilis</i>	3,78	5,88	5,48	5,60	4,48	5,60	5,60	5,30	5,65
5.	<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i>	3,60	4,48	5,74	5,60	4,93	4,60	4,48	4,84	4,78
6.	<i>Shigella flexneri</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7.	<i>Staphylococcus aureus</i>	3,95	5,18	5,65	5,30	4,40	4,40	3,48	3,65	2,95
8.	<i>Clostridium perfringens</i>	0,90	0,78	1,00	0,90	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
	<i>pH</i>	6,5	-	-	-	-	-	-	-	4,3
	<i>Титруема киселинност, °Т</i>	16	-	-	-	-	-	-	-	84

Данните от Таблица 13 показват, че комбинацията на двата мезофилни стрептокока – *S.diacetylactis* и *S.cremoris* с *Lactobacillus casei* също не дава активен антимикробен ефект. Развитието на *E.coli* и *P.mirabilis* е бурно, на *Salmonella* и *S.aureus* – по-умерено; по-чувствителни са дизентерийните бактерии и клостридите.

Стартерната култура, комбинация от *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* и *Lactobacillus casei* (Таблица 14), не е в състояние да ограничи размножаването на *E.coli*, *P.mirabilis* и *Salmonella* (за съжаление този експеримент не е поставен и с *Shigella*). Ефектът към стафилокока е умерен, клостридите бързо отмират, но в случая първоначалната доза е много ниска в сравнение с другите експерименти. Тази закваска най-бързо натрупва органични киселини и понижава към 20 ден рН на сиренето до стойности, критични за развитието на патогенните бактерии, включително за салмонелите, шигелите и листерииите [9,10].

Полупромишлен експеримент бе посветен на динамиката на съдържанието на *Coliforms* и на експериментално внесени в бяло саламурено сирене *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium* в първоначалните етапи на производство и съхранение на диетично бяло саламурено сирене, получено чрез ултрафилтрация на млякото. Резултатите за този диетичен вариант на прясното бяло саламурено саламурено сирене са отразени в Таблица 15. Оказа се, че при полупромишлените условия на пилотния цех контролната партида сирене бе вторично контаминирана с колиформи, които по-нататък демонстрираха бурно развитие. Експериментално внесените в опитната партида *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium* показаха също много активна динамика и едва към 10 ден – лека тенденция към снижаване на броя, който достигна милиони CfU/g, достатъчни за масивни инфекциозни дози.

В полупромишлен експеримент в пилотния цех на Института по млечна промишленост – гр. Видин бе извършен още един опит с експериментално инфектиране на пастьоризиран концентрат от ултрафилтрация на мляко с последващо производство на диетично бяло саламурено сирене с три патогенни микроорганизма - *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* 0119 и *Staphylococcus aureus*, ентеротоксигенен щам. Резултатите са отразени в Таблица 16 .

И този експеримент показва същите закономерности – в периода на активно „зреене” количествата на експериментално внесените патогенни микроорганизми нараства, след поставянето на продукта в хладилни условия се наблюдава тенденция към намаляването на броя на жизнеспособните клетки, но за антибактериална активност не може да се говори.

**Преживяемост на патогенни микроорганизми,  
експериментално внесени в мляко след ултрафилтрация,  
предназначено за производство на прясно сирене**

№	Технологичен етап на производството	Общ брой на мезофилните микроорганизми lg CfU/g	<i>Salmonella typhimurium</i> lg CfU/g	<i>Staphylococcus aureus</i> lg CfU/g	<i>Escherichia coli</i> lg CfU/g
1	Сурово мляко	6,96	< 10	< 10	< 10
2	Пастеризирано мляко	5,70	< 10	< 10	< 10
3	УФ-концентрат	6,83	< 10	< 10	< 10
4	Пастеризиран УФ-концентрат	4,78	< 10	< 10	< 10
5	След заквасване и подсирване	6,81	2,57	2,28	2,83
6	Два часа след осоляването	8,73	3,23	2,90	4,01
7	След 6-7 часа зреене	8,76	3,30	3,00	4,26
8	След 48 часа съхранение	9,11	3,99	2,78	4,24
9	След 72 часа съхранение	8,08	3,87	2,30	4,00
10	След 5 дни съхранение	8,87	2,76	1,99	3,92
11	След 20 дни съхранение	8,76	2,97	2,51	1,45

Тези резултати убедително доказват тезата не само за отсъствието на антимикробен ефект на сиренето в началните етапи на неговото зреене, но и за активното размножаване на много от патогенните бактерии в периода до 20 ден, следователно за високата степен на риск от консумацията на прясно сирене. Такъв риск възниква главно при вторично контаминиране на млякото след пастеризацията - от работните съоръжения, от антропогенни източници, във всеки случай при груби нарушения на хигиената на производството.

Обобщавайки представените данни от проучването на нормалната микрофлора на българското бяло саламурено сирене и от многобройните разнопосочни експериментални проучвания на преживяемостта на патогенни микроорганизми, става ясно, че емпиричният технологичен опит в България не случайно е достигнал до мъдрото решение за сроковете на зреене на този национален продукт. За зрелостта са решаващи не само вкусовите и други органолептични качества, дълбоката хидролиза на млечния казеин, натрупването на ароматни вещества. Микробиологичната безопасност е един от нейните елементи и тя се постига след 45 до 60-дневно зреене. Така от зряло българско сирене в научната литература няма нито едно описание на чревно инфекциозно заболяване – не само салмонелози, стафилококови интоксикации и ентероколити от *Escherichia coli*, но и листериози, туберкулоза, бруцелоза и други тежки инфекции с възможно предаване по хранителен път.

С развитието на лабораторната база в страната ни ще бъде възможно по-детайлно да бъде проучени и допълнителни въпроси, свързани с микробиологичната безопасност и не намерили още подходящо експериментални доказателства:

- динамиката на развитие на *Listeria monocytogenes* в пресните сирена и моментът, в който зреещият продукт става безопасен от гледна точка на присъствие на патогенни листерии;

- възможностите, времето и концентрациите на патогенни стафилококи, при които би могло да се очаква отделянето на стафилококови ентеротоксини.

Тези проучвания ще отговорят на въпроса мотивирани ли са микробиологичните критерии, заложи в съвременния Български стандарт 15-2010, или ще продължим практиката на безрезервно придържане към европейските норми, независимо от това, че Регламентите дават свобода да мотивираме научно приложението им към готовите за консумация храни.

От друга страна в новите изисквания не присъстват важните за оценката на хигиената на производство и за степента на зрелост на процесите индикаторни микроорганизми – такива като *Enterobacteriaceae* например. Приложението им в текущия вътрешен контрол на предприятията на млечната промишленост би било важен коректив за целите на добрата производствена и хигиенна практики.

В ЗАКЛЮЧЕНИЕ следва да отбележим, че изложените в тази студия научно-експериментални факти за автентичната микрофлора на българското бяло саламурено сирене и за нейната динамика потвърждават биологичния феномен на зреенето като устойчив в оригиналността си микробиологичен и ензимо-химичен процес. Това е

доказано от националните традиции и от технологичния опит на българските специалисти и мотивира микробиологичната безопасност на продукта, който е много важен за ежедневната трапеза на българския народ и е с високи биологична стойност и вкусови качества. Можем да бъдем удовлетворени от факта, че специалистите възродиха и Българския стандарт за бялото саламурено сирене и това е крачка към по-широкото му разпространение в света като оригинален и традиционен български продукт с неповторимо естество.

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. *Козарева М., В.Шаламанова, Н.Каменова, Д.Раикова, К.Джевизова, Х.Попов, Й.Клисурова, И.Братков, С.Татарова, Г.Янкулов, Г.Върбанова, Й.Величков, Д.Митов, М.Митова, Ц.Бошнякова, Н.Маринов, Б.Кирячков.* Микрофлора на бялото саламурено сирене и хигиенна характеристика на производството от различни окръзи. Летописи ХЕИ, год.VI, 1972, бр. 38, с.173-180.
2. *Йотов Й., Л.Икономов, Д.Тодоров.* Недостатъци и патогенни бактерии в бялото саламурено сирене. АСН, София, 1963.
3. **Наредба № 31 на МЗ и МЗГ за максимално допустимите количества на замърсители в храните,** ДВ, бр. 88 от 8 октомври 2004 г.
4. **БС 15-2010 „Българско бяло саламурено сирене”**
5. **БДС 15-88 “Сирене бяло саламурено овче”**
6. **БДС 2651-88 “Сирене бяло саламурено от краве мляко”**
7. **БДС 3370-88 “Сирене бяло саламурено смесено (от овче и краве мляко)”**
8. *Балтаджиева М., Г.Славчев.* Книга за саламуреното сирене. АМЛП, София, 2004
9. *Commission Regulation (EC) No 2073/2005 (15.11.2005) on microbiological criteria for foodstuffs.* Off. Journal of European Union, L338/1-26
10. *Commission Regulation (EC) No 1441/2007(5 December 2007), amending Regulation (EC) on microbiological criteria for foodstuffs.* Off. Journal of European Union, L322/12-29
11. *Codex Group Standards 208-2001 for Cheeses in Brine .WHO/FAO, Rome, 2007*