

INFLUENCE OF STORAGE OF SEMI-HARD GOAT CHEESE IN OIL ON ITS PHYSICOCHEMICAL COMPOSITION, PROTEOLYSIS, TEXTURE, NUTRITIONAL AND SENSORY PROPERTIES

ABSTRACT

Traditional cheeses play a vital role in the modern diet, yet the seasonal nature of goat's milk production restricts their availability. Although storing cheese in oil is one of the oldest preservation methods, scientific data are limited. This thesis therefore investigated how different storage times of semi-hard goat cheese in a 50:50 mixture of Mljet's extra virgin olive oil and refined sunflower oil influence its physicochemical composition, proteolysis, texture, nutritional and sensory properties. Five batches of cheese were produced, and each was randomly divided into three groups according to the ripening method: (i) 60 days in air (group 1 – control), (ii) 10 days in air and 50 days in oil (group 2), and (iii) 20 days in air and 40 days in oil (group 3). The study hypothesised that immersion in oil would reduce moisture loss, increase pH, lower fat and salt content, intensify proteolysis, and improve textural, nutritional, and sensory properties, and aimed to quantify these effects in all ripening treatments.

Oil had a strong impact on moisture dynamics: the control group showed a continuous increase in dry matter ($p < 0.01$), early immersion in group 2 almost halted dehydration, and group 3 maintained intermediate moisture due to initial water loss during air ripening followed by oil protection. These patterns influenced protein and fat contents, with group 2 showing the lowest average values (protein: 22.73 %, fat: 30.27 %; $p < 0.01$), while the control and group 3 were similar. Group 3 had the highest average unsaturated fatty acids (UFAs; 9.38 g/100 g), including oleic acid (7.68 g/100 g), and a significantly higher final oleic acid content (8.70 g/100 g; $p < 0.01$) than group 2. After 60 days, group 3 had the highest total polyphenols (345.02 mg GAE/100 g; $p < 0.05$), flavonoids (1.73 mg QE/g; $p < 0.01$), and antioxidant activity measured by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (4.40 mmol L⁻¹ TE; $p < 0.01$).

Ripening conditions significantly influenced proteolysis ($p < 0.01$). Due to the highest moisture in the non-fat substance (58.27 %) and the lowest salt-in-moisture ratio (2.40 %), group 2 exhibited the most intensive proteolytic activity, resulting in the lowest residual caseins (α -CN: 72.24 %; β -CN: 82.35 %; para- κ -CN: 90.28 %) and the highest water-soluble (WSN %TN: 23.10) and trichloroacetic acid-soluble (TCA-SN %TN: 11.50) nitrogen. The control group, affected by strong dehydration, exhibited the slowest proteolysis, while group 3 had moderate proteolytic activity.

Texture and sensory analyses demonstrated the benefits of oil ripening. Control cheeses had the significantly ($p < 0.01$) highest hardness (50.25 N), lowest fracturability (45.50 N), and were least cohesive and elastic, due to greater moisture loss. Oil-ripened cheeses were softer, more elastic, and more cohesive, particularly in group 2. Sensory evaluation ranked group 3 highest overall (18.66; $p < 0.05$), with the best taste (9.52) and colour (0.98). Group 2 had the lowest odour score (1.65), while the control had the lowest taste (8.99) and texture scores (1.49).

This research highlights the key transformations during oil ripening, showing that oil is an effective medium that limits moisture loss, enriches cheese with phenolics and UFAs, and enhances sensory and textural quality. Later immersion in oil proved optimal, yielding the most balanced and desirable sensory profile. These findings may benefit traditional cheesemakers, as they show that storing cheese in oil can improve its quality and provide a solid basis for future research on different oil-ripening durations and the use of various types of oil for ripening, to better understand the underlying processes.

Keywords: semi-hard goat cheese, ripening in oil, physicochemical composition, proteolysis, texture, fatty acid profile, antioxidant activity, sensory properties

UTJECAJ ČUVANJA POLUTVRDOG KOZJEG SIRA U ULJU NA NJEGOV FIZIKALNO-KEMIJSKI SASTAV, PROTEOLIZU, TEKSTURU, NUTRITIVNA I SENZORNA SVOJSTVA

EXTENDED ABSTRACT IN CROATIAN

Utjecaj čuvanja polutvrđog kozjeg sira u ulju na njegov fizikalnokemijski sastav, proteolizu, teksturu, nutritivna i senzorna svojstva

Tradicijski sirevi imaju važnu ulogu u suvremenoj prehrani te pridonose očuvanju prirode, podrijetla sirovine i proizvoda te lokalnog gospodarstva, osobito u područjima s ograničenim resursima, poput otoka, gdje sezonalnost proizvodnje kozjeg mlijeka ograničava dostupnost sira. Iako je čuvanje sira u ulju jedna od najstarijih metoda produljenja trajnosti, znanstveni podaci o njezinu utjecaju na fizikalno-kemijska, nutritivna i senzorna svojstva sira te biokemijske procese tijekom zrenja su ograničeni. Stoga je cilj ovog doktorskog rada bio utvrditi utjecaj čuvanja polutvrđog kozjeg sira u ulju na njegov fizikalno-kemijski sastav, proteolizu, teksturu, nutritivna i senzorna svojstva.

Istraživanje je provedeno na pet šarži polutvrđog kozjeg sira, pri čemu je svaka šarža nasumično podijeljena u tri skupine prema načinu zrenja: (i) 60 dana na zraku (skupina 1 / kontrolna skupina), (ii) 10 dana na zraku i 50 dana u ulju (skupina 2), te (iii) 20 dana na zraku i 40 dana u ulju (skupina 3). Svaka šarža sadržavala je 13 sireva proizvedenih od 100 L svježeg punomasnog mlijeka Sanskih koza (prosječan sastav: mast 3,79 g/100 g; proteini 3,38 g/100 g; laktoza 4,08 g/100 g; kazein 2,55 g/100 g; suha tvar 12,29 g/100 g; bezmasna suha tvar 8,46 g/100 g; pH 6,62; ukupni broj bakterija $2,21 \times 10^5$ CFU/ml; broj somatskih stanica $1,58 \times 10^6$ stanica/ml). Kao medij za čuvanje korištena je mješavina ekstra djevičanskog maslinovog ulja (Mljet) i rafiniranog suncokretovog ulja (50:50). Cijeli koluti sira, pri čemu je svaki predstavljao pojedinačan uzorak, uzorkovani su 0. (gruš), 10., 20., 30., 45. i 60. dana zrenja te su provedene analize fizikalno-kemijskog sastava, proteolitičkih parametara, sadržaja polifenola i flavonoida, antioksidativne aktivnosti te teksturnih i senzornih svojstava.

Rezultati su pokazali značajan utjecaj ulja na dinamiku gubitka vode tijekom zrenja sira, pri čemu je kontrolna skupina imala kontinuirani porast suhe tvari ($p < 0,01$) tijekom cijelog trajanja zrenja, dok je polaganje sira u ulje gotovo potpuno zaustavilo dehidraciju. U skladu s time, sirevi uronjeni u ulje nakon 20 dana zrenja na zraku (skupina 3) imali su značajno viši ($p < 0,01$) prosječni sadržaj suhe tvari (61,10 %) od skupine 2 (58,31 %) radi većeg početnog gubitka vode tijekom dužeg zrenja na zraku, ali niži od kontrolne skupine (62,96 %) zbog zaštitne uloge ulja. Prosječni udio proteina i masti bio je značajno ($p < 0,01$) viši u kontrolnoj skupini (24,42 %; 32,68 %) i skupini 3 (24,22 %; 33,06 %) u odnosu na skupinu 2 (22,73 %; 30,27 %). U kontrolnoj skupini je zbog gubitka vode tijekom zrenja došlo do koncentriranja proteina i masti, kao i na početku zrenja sireva skupine 3 na zraku u kojoj se, zbog ulaska ulja (vidljiv i kao masne kapljice unutar sirnih očiju), tijekom kasnijeg zrenja u ulju povećao udio masti. Stoga je skupina 3 imala i najviši prosječni udio nezasićenih masnih kiselina (NMK: 9,38 g/100 g). Također, posljednjeg dana zrenja skupina 3 imala i značajno viši udio oleinske kiseline (8,70 g/100 g) od skupine 2 ($p < 0,01$; 7,41 g/100 g). Od 16 identificiranih ZMK, u svim tretmanima najzastupljenije su bile palmitinska, stearinska, miristinska, kaprinska i laurinska kiselina, dok je među 14 NMK, uz mononezasićenu oleinsku, dominirala polinezasićena linolna kiselina, povezana s povoljnim učincima na zdravlje.

Način zrenja značajno je ($p < 0,01$) utjecao na intenzitet proteolitičkih promjena u siru. Najizraženija proteoliza zabilježena je u skupini 2, što je posljedica duljeg čuvanja u ulju i najvećeg udjela vode u bezmasnoj tvari sira (MNFS: 58,27 %) te najnižeg udjela

soli u vodenoj fazi sira (S/M: 2,40 %). To potvrđuju i najniže vrijednosti rezidualnih kazeina (α -CN: 72,24 %; β -CN: 82,35 %; para- κ -CN: 90,28 %) te najviše vrijednosti u vodi topljivih frakcija dušika (WSN %TN: 23,10 %) i dušičnih frakcija topljivih u trikloroocenoj kiselini (TCA-SN %TN: 11,50 %). Suprotan obrazac uočen je u kontrolnoj skupini, koja je zbog najniže vrijednosti MNFS (47,94 %) te najvišeg udjela soli (1,15 g/100 g; S/M: 5,20 %), pokazala najslabiji intenzitet proteolize, rezultirajući najvišim udjelima rezidualnih kazeina (α -CN: 80,23 %; β -CN: 90,64 %; para- κ -CN: 93,96 %) te najnižim vrijednostima topljivih dušičnih frakcija (WSN %TN: 14,32; TCA-SN %TN: 8,50). U skupini 3 proteoliza je bila umjerenog intenziteta, što je vidljivo u vrijednostima proteolitičkih pokazatelja (α -CN: 76,81 %; β -CN: 87,36 %; para- κ -CN: 92,84 %; WSN %TN: 17,10; TCA-SN %TN: 9,80). Tijekom zrenja pH vrijednost se u svim skupinama smanjivala do približno 20. dana (s početnih 5,32), a zatim se postupno povećavala. Sirevi čuvani u ulju, zbog veće količine vode i intenzivnije proteolize koja oslobađa alkalne spojeve, imali su višu pH vrijednost tijekom cijelog razdoblja zrenja te nešto viši završni pH (5,38) u odnosu na kontrolnu skupinu (5,36).

Antioksidativni potencijal važan je nutritivni pokazatelj jer polifenoli i flavonoidi izravno doprinose zaštiti od oksidativnog stresa. Nakon 60 dana zrenja, njihovi su udjeli bili značajno viši u sirevima skupine 3 ($p < 0,05$; 345,02 mg GAE/100 g ukupnih polifenola; $p < 0,01$; 1,73 mg QE/g flavonoida) u odnosu na kontrolnu skupinu (301,97 mg GAE/100 g; 1,60 mg QE/g) i skupinu 2 (284,22 mg GAE/100 g; 1,62 mg QE/g). To je posljedica specifične strukture sira nastale dehidracijom tijekom dužeg perioda zrenja na zraku u odnosu na skupinu 2, koja je omogućila prodor ulja, a s njime i fenolnih spojeva. U skladu s time, antioksidativna aktivnost određena metodom 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) značajno ($p < 0,05$) je rasla tijekom zrenja sira skupine 3 te je na kraju zrenja bila značajno viša ($p < 0,01$; 4,40 mmol L⁻¹ TE) u odnosu na ostale skupine. Slijedi skupina 2 (4,04 mmol L⁻¹ TE), gdje je ranije polaganje u ulje zaštitilo sir od značajnog gubitka vode, čime je ograničen intenzivniji prodor ulja i pripadajućih antioksidansa u sir. Najniža vrijednost utvrđena je u kontrolnoj skupini, u kojoj je zbog dehidracije prevladao učinak koncentracije fenolnih spojeva podrijetlom iz krmiva (3,73 mmol L⁻¹ TE). U kontrolnoj skupini nakon 45. dana zrenja zabilježen je pad sadržaja fenolnih spojeva, vjerojatno zbog različitih uvjeta zrenja i posljedičnih biokemijskih promjena koje su dovele do oksidacije i hidrolize fenola. Antioksidativna aktivnost određena metodom 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) (ABTS) razlikovala se ($p < 0,01$) između kontrolne skupine i sireva koji se čuvaju u ulju te je pokazala obrnut obrazac u odnosu na DPPH, što je očekivano jer ABTS mjeri aktivnost hidrofилnih i lipofilnih spojeva, dok je DPPH izrazito osjetljiva na vrstu otapala i reakcijske uvjete, poput višeg udjela vode u uzorku.

Analiza senzornih i teksturnih karakteristika polutvrdog kozjeg sira jasno pokazuje da način i trajanje zrenja snažno utječu na njegovu ukupnu kvalitetu. Najvišu ($p < 0,05$) ukupnu senzornu ocjenu postigao je sir iz skupine 3 (18,66). Iako se sirevi iz pojedinih skupina nisu značajno razlikovali u vanjskom izgledu i presjeku, sirevi čuvani u ulju pokazali su prednost u ključnim senzornim svojstvima, osobito okusu ($p < 0,05$). Najvišu ocjenu okusa imao je sir iz skupine 3 (9,52), zatim iz skupine 2 (9,25), dok je kontrolni sir imao najnižu ocjenu (8,99). Čuvanje sira u ulju pozitivno je utjecalo na senzorne ocjene boje (kontrolna skupina: 0,85; skupina 2: 0,92; skupina 3: 0,98) i teksture (kontrolna skupina: 1,49; skupina 2: 1,82; skupina 3: 1,80). Zrenje na zraku uzrokovalo je veći gubitak vode, što je negativno utjecalo na teksturu kontrolnog sira. Suprotno tome, prethodno zrenje na zraku u skupinama 2 i 3 omogućilo je formiranje strukture pogodnije za penetraciju ulja, što je rezultiralo većom ocjenom teksture. Skupina 2 dobila je najnižu ocjenu mirisa (1,65) zbog veće količine vode i duljeg perioda zrenja u ulju, značajno nižu ($p < 0,05$) od kontrolne skupine (1,88) i skupine 3 (1,79).

Instrumentalna analiza teksture pokazala je da su kontrolni sirevi bili najveće čvrstoće (50,25 N) i najmanje lomljivosti (45,50 N), uz najnižu kohezivnost (0,05), elastičnost (6,94 mm), deformaciju u točki loma (31,47 %) i adhezivnost (-0,31 N), što je posljedica

najvećeg gubitka vode tijekom zrenja na zraku. Sirevi čuvani u ulju bili su mekši, elastičniji i kohezivniji, osobito skupina 2, koja je imala najmanju čvrstoću (27,18 N), najveću lomljivost (20,99 N), elastičnost (9,15 mm), kohezivnost (0,12), deformaciju u točki loma (37,06 %) i najnegativniju adhezivnost (-0,86 N), što se objašnjava najintenzivnijom proteolizom i najvećim udjelom vode. Skupina 3 imala je srednje vrijednosti čvrstoće (37,48 N), lomljivosti (31,39 N), elastičnosti (7,76 mm), kohezivnosti (0,09), deformacije u točki loma (34,70 %) i adhezivnosti (-0,54 N), što je posljedica većeg gubitka vode tijekom duljeg zrenja na zraku i većeg prodora ulja u sir. Kvantitativna deskriptivna analiza dodatno je potvrdila manje mrvičast dojam u ustima, veću ljepljivost i izraženiju elastičnost određenu prstima sireva čuvanih u ulju u odnosu na kontrolnu skupinu, uz značajne korelacije između instrumentalnih i senzornih parametara ($p < 0,01$ za skupine 1 i 2; $p < 0,05$ za skupinu 3). Sirevi u ulju dobili su više ocjene dopadljivosti teksture.

Istraživanje je pružilo sveobuhvatan uvid u specifične promjene koje nastaju tijekom čuvanja sira u ulju. Rezultati jasno potvrđuju da način i trajanje zrenja upravljaju biokemijskim procesima tijekom zrenja polutvrđog kozjeg sira te oblikuju njegova fizikalno-kemijska, teksturna, nutritivna i senzorna svojstva. Zrenje u ulju smanjuje gubitak vode, obogaćuje sir NMK i fenolnim spojevima te poboljšava teksturu, okus i ukupnu prihvatljivost. Posebno je važno što ulje prenosi bioaktivne spojeve u sir samo kada je njegova struktura dovoljno otvorena da omogući difuziju, što se postiže tek nakon određenog stupnja dehidracije, kao u siru koji se stavlja u ulje nakon 20 dana zrenja na zraku. Produljeno zrenje na zraku dovelo je do najpovoljnijeg masnokiselinskog i antioksidativnog profila, najuravnoteženije teksture i najbolje senzorne ocjene. Dobiveni rezultati predstavljaju temelj za standardizaciju tradicionalne tehnologije čuvanja sira u ulju te otvaraju nove mogućnosti za daljnja istraživanja usmjerena optimizaciji kvalitete.

Ključne riječi: polutvrđi kozji sir, zrenje u ulju, fizikalno-kemijski sastav, proteoliza, tekstura, profil masnih kiselina, antioksidativna aktivnost, senzorna svojstva