

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Mirta KADIVEC

**SPREMEMBE BARVE, VSEBNOSTI
ANTOCIANINOV IN SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN
MED SKLADIŠČENJEM JAGODNEGA NAMAZA**

MAGISTRSKO DELO

Ljubljana, 2015

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Mirta KADIVEC

**SPREMEMBE BARVE, VSEBNOSTI ANTOCIANINOV IN SKUPNIH
FENOLNIH SPOJIN MED SKLADIŠČENJEM JAGODNEGA
NAMAZA**

MAGISTRSKO DELO

**CHANGES OF COLOR, ANTHOCYANINS AND TOTAL PHENOLIC
CONTENT IN STRAWBERRY SPREADS DURING STORAGE**

M. SC. THESIS

Ljubljana, 2015

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Senata Biotehniške fakultete z dne 5. 11. 2012 je bilo potrjeno, da kandidatka izpolnjuje pogoje za magistrski Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti ter opravljanje magisterija znanosti s področja živilstva. Za mentorja je imenovan doc. dr. Tomaž Požrl.

Delo je bilo opravljeno na Katedri za tehnologije, prehrano in vino Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Mentor: doc. dr. Tomaž Požrl

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Blaž CIGIĆ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Član: doc. dr. Tomaž POŽRL
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Članica: prof. dr. Mirela KOPJAR
Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek

Datum zagovora: 18.12.2015

Podpisana izjavljam, da je magistrsko delo rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravico shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Mirta Kadivec

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Md
- DK UDK 664.858.03:634.75:547.56:543.61(043)=163.6
- KG jagode/izdelki iz jagod/jagodni namaz/barva/spremembe barve/skladiščenje/antocianini/fenolne spojine
- AV KADIVEC, Mirta, univ. dipl. inž. živ. tehnol.
- SA POŽRL, Tomaž (mentor)
- KZ SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti, področje živilstva
- LI 2015
- IN SPREMENBE BARVE, VSEBNOSTI ANTOCIANINOV IN SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN MED SKLADIŠČENJEM JAGODNEGA NAMAZA
- TD Magistrsko delo
- OP IX, 76 str., 11 pregl., 20 sl., 108 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Pomemben senzorični dejavnik jagodnih izdelkov je značilna svetlo rdeča barva. Barva jagodnega namaza je ob proizvodnji svetlo rdeča, s časom pa se spreminja v odvisnosti od sestave in pogojev skladiščenja. Stabilnost barve jagodnih izdelkov je odvisna predvsem od vsebnosti antocianinov in drugih fenolnih spojin. Namen magistrskega dela je bil določiti tako sestavo in režim skladiščenja jagodnega namaza, ki bo zagotavljal čim manjše spremembe značilne svetlo rdeče barve med skladiščenjem. Pripravili smo sedem različic jagodnega namaza, ki so se med seboj razlikovale po sestavi (različna vsebnost sladkorja, pektina, dodanega barvila) in pogojih skladiščenja (svetloba, tema, temperatura skladiščenja 20 °C in 4 °C, dušikova atmosfera). Vzorce smo skladiščili 19 tednov, med tem časom smo merili barvo vzorcev ter določali vsebnost skupnih in posameznih antocianinov ter skupnih fenolnih spojin. Pridobljene rezultate smo statistično obdelali. Med skladiščenjem jagodnega namaza so se spreminjali vsi trije parametri, ki ovrednotijo barvo – vrednost L^* se je povečevala (vzorci so postajali svetlejši), vrednost a^* se je zmanjševala (vzorci so postajali manj rdeči), vrednost b^* pa povečevala (vzorci so postajali bolj rumeni). Barva se je najmanj spreminjala pri vzorcih, ki smo jih skladiščili v temnem prostoru pri 4 °C. Pri določanju skupnih antocianinov smo ugotovili, da je njihova vsebnost takoj po pripravi značilno največja ($p < 0,001$) in sicer okrog 23 mg ekvival. Pg – 3 – gluc / 100 g jagodnega namaza. Med skladiščenjem se je vsebnost skupnih antocianinov konstantno in značilno zmanjševala. Pri različici, ki smo jo skladiščili pri temperaturi 4 °C v temi, je bila vsebnost skupnih antocianinov na koncu skladiščenja trikrat večja kot pri ostalih. Vsebnost najbolj zastopanega pelargonidin 3- glukozi (67 % vseh antocianinov) je bila po skladiščenju v temnem prostoru pri 4 °C tudi več kot desetkrat večja kot pri ostalih različicah. Vsebnost cianidin 3 – glukozi, pelargonidin 3 – (6" – malonil glukozi) in pelargonidin 3 – rutinozi je pri večini različic na koncu skladiščenja padla pod mejo detekcije, 75 % cianidin 3 – (6" – malonil glukozi) je med skladiščenjem razpadlo, medtem ko se vsebnost cianidin 3 – (6" – sukcinil glukozi) ni značilno spreminjala. Vsebnost skupnih fenolnih spojin se med časom skladiščenja ni bistveno spreminjala. S skladiščenjem pri nižji temperaturi lahko vplivamo na ohranjanje značilne barve in velike vsebnosti antocianinov v jagodnem namazu.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Md
DC UDC 664.858.03:634.75:547.56:543.61(043)=163.6
CX strawberries/strawberry products/strawberry spread/color/changes of color/storage/anthocyanins/phenolics
AU KADIVEC, Mirta
AA POŽRL, Tomaž (supervisor)
PP SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Postgraduate Study of Biological and Biotechnical Sciences, Field: Food Science and Technology
PY 2015
TI CHANGES OF COLOR, ANTHOCYANINS AND TOTAL PHENOLIC CONTENT IN STRAWBERRY SPREADS DURING STORAGE
DT M. Sc. Thesis
NO IX, 76 p., 11 tab., 20 fig., 108 ref.
LA sl
AL sl/en
AB An important sensory factor in strawberry products is their distinctive bright red colour. During production the colour of strawberry spread is of bright red, which afterwards changes depending on the composition and storage conditions. Colour stability of strawberry products depends primarily on the content of anthocyanins and other phenolic compounds. The purpose of the master thesis was to determine both the composition and the storage regime of strawberry spread that will provide the least amount of colour modification of the distinctive bright red colour during storage. We prepared seven versions of strawberry spread, varying in composition (different quantities of sugar, pectin, colour additives) and storage conditions (light, darkness, temperatures of 20 °C and 4 °C, nitrogen atmosphere). The samples were stored for 19 weeks, during which time we measured the colour of the samples and determined the quantity of total and individual anthocyanins and total phenolic compounds. We statistically analysed the obtained results. During storage of strawberry spread, all three colour defining parameters were changing – parameter L^* was increasing (samples were becoming brighter), parameter a^* was decreasing (samples were turning less red), parameter b^* was increasing (samples were turning yellow). The smallest rate of colour modification was found in samples stored in the dark at 4 °C. In determining the total anthocyanins we found that their content is typically the highest immediately after preparation ($p < 0.001$), namely around 23 equiv. Pg – 3 – gluc / 100 g of strawberry spread. During storage the content of total anthocyanins was constantly and typically decreasing. In the sample that was stored in the dark at 4 °C, the content of total anthocyanins at the end of storage was three times higher than in the others. After storage in the dark at 4 °C, the content of the most represented pelargonidin 3 – glucoside (67% of total anthocyanins) was even more than ten times higher than in other samples. At the end of storage the content of cyanidin 3 – glucoside, pelargonidin 3 – (6'' – malonyl glucoside), and pelargonidin 3 – rutinoside in most samples dropped below the level of detection, 75 % of cyanidin 3 – (6'' – malonyl glucoside) decomposed during storage, while the content of cyanidin 3 – (6'' – succinyl glucoside) did not change significantly. The content of total phenolic compounds did not significantly change during storage. Storage at lower temperature can influence the preservation of its distinctive colour and the high content of anthocyanins in the strawberry spread.

KAZALO VSEBINE

	KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
	KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
	KAZALO VSEBINE	V
	KAZALO PREGLEDNIC	VII
	KAZALO SLIK	VIII
	OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	IX
1	UVOD	1
1.1	NAMEN DELA IN HIPOTEZE	2
2	PREGLED OBJAV	3
2.1	JAGODE	3
2.2	FENOLNE SPOJINE V RASTLINAH	7
2.2.1	Biosinteza rastlinskih fenolov	8
2.2.2	Pomen fenolnih spojin	10
2.3	FENOLNE SPOJINE V JAGODAH	11
2.3.1	Antocianini	11
2.3.1.1	Antocianini v jagodah	14
2.3.1.2	Antocianini v črnem korenu	15
2.3.1.3	Antocianini v hibiskusu	15
2.4	BARVA JAGOD	16
2.4.1	Vpliv vsebnosti pektina na obstojnost barve jagodnega namaza	17
2.4.2	Vpliv plinske faze na spremembo barve jagodnega namaza	18
2.4.3	Vpliv vsebnosti sladkorja na spremembo barve jagodnega namaza	18
2.4.4	Vpliv pogojev skladiščenja na barvo jagodnega namaza	18
2.5	TEHNOLOŠKI PROCES PRIPRAVE JAGODNEGA NAMAZA	20
2.5.1	Priprava sadja	22
2.5.2	Termična obdelava	22
3	MATERIAL IN METODE	24
3.1	MATERIAL	24
3.2	METODE DELA	24
3.2.1	Priprava jagodnega namaza	24
3.2.2	Merjenje barve	28
3.2.3	Spektrofotometrično določanje skupnih antocianinov	29
3.2.4	Analiza posameznih antocianinov z LC-MS/MS	31
3.2.5	Spektrofotometrično določanje skupnih fenolnih spojin	35
3.2.6	Statistična analiza	37
4	REZULTATI	38
4.1	INSTRUMENTALNO MEJENJE BARVE JAGODNEGA NAMAZA	38
4.1.1	Barvni parameter a^*	38
4.1.2	Barvni parameter b^*	40

4.1.3	Barvni parameter L^*	41
4.1.4	Spremembe barve ob koncu skladiščenja - slika	43
4.2	VSEBNOST SKUPNIH ANTOCIANINOV V JAGODNEM NAMAZU	44
4.3	VSEBNOST POSAMEZNIH ANTOCIANINOV V JAGODNEM NAMAZU	45
4.4	VSEBNOST SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN V JAGODNEM NAMAZU	48
4.5	MULTIVARIATNA ANALIZA	49
4.6	KORELACIJSKA ANALIZA	54
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	55
5.1	SPREMEMBA BARVE	56
5.2	SPREMEMBA VSEBNOSTI ANTOCIANINOV	58
5.3	SPREMEMBA VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN	62
5.4	SKLEPI	63
6	POVZETEK	64
6.1	SUMMARY	66
7	VIRI	68
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1:	Pridelava jagod v posameznih letih v Sloveniji (SURS, 2014)	5
Preglednica 2:	Povprečne hranilne vrednosti v 100 g jagod (Souci in sod., 2000)	6
Preglednica 3:	Različice jagodnega namaza in režimi skladiščenja	25
Preglednica 4:	Retencijski časi, molske mase in m/z vrednosti posameznih antocianinov	32
Preglednica 5:	Vpliv vrste recepture in časa meritve na instrumentalno izmerjene in izračunane parametre barve jagodnega namaza - vrednost parametra a^*	39
Preglednica 6:	Vpliv vrste recepture in časa meritve na instrumentalno izmerjene in izračunane parametre barve jagodnega namaza - vrednost parametra b^*	41
Preglednica 7:	Vpliv vrste recepture in časa meritve na instrumentalno izmerjene in izračunane parametre barve jagodnega namaza - vrednost parametra L^*	42
Preglednica 8:	Vsebnost skupnih antocianinov v sedmih različicah jagodnega namaza med skladiščenjem	44
Preglednica 9:	Vsebnost posameznih antocianinov v različicah jagodnega namaza med skladiščenjem	46
Preglednica 10:	Vsebnost skupnih fenolnih spojin v različicah jagodnega namaza med skladiščenjem	48
Preglednica 11:	Tesnost povezav med instrumentalno izmerjenimi parametri barve, skupnimi antocianini (SA) in skupnimi fenolnimi spojinami (SF) (Pearsonov korelacijski koeficient, r)	54

KAZALO SLIK

Slika 1:	List in cvet jagode sorte Senga sengana (INRA, 2015)	3
Slika 2:	Plod jagode sorte Senga sengana (INRA, 2015)	3
Slika 3:	Shematični prikaz biosinteze fenolnih spojin (Lee, 1992; Ibrahim, 1993; Stafford, 1993)	9
Slika 4:	Strukturna formula antocianina (Prior in Wu, 2006)	12
Slika 5:	Strukturne formule različnih oblik antocianinov v odvisnosti od pH in reakcija razgradnje (McGhire in Walton, 2007; Castañeda – Ovando in sod., 2009)	13
Slika 6:	Tehnološka shema proizvodnje jagodnega namaza (Zhao, 2012)	21
Slika 7:	Shema poskusa	26
Slika 8:	Tehnološka oprema za pripravo jagodnega namaza	27
Slika 9:	Vzorci jagodnega namaza takoj po pripravi	27
Slika 10:	Kromometer Minolta CR 400/41	28
Slika 11:	CIE – L^* , a^* , b^* barvni sistem (Echo productions, 1999)	29
Slika 12:	Umeritvena krivulja za določanje skupnih antocianinov	30
Slika 13:	Umeritvena krivulja s standardnim dodatkom pelargonidin 3-glukozida	33
Slika 14:	LC–MS/MS kromatogrami posameznih antocianinov	34
Slika 15:	Umeritvena krivulja za določanje skupnih fenolnih spojin	36
Slika 16:	Primerjava barve posameznih različic jagodnega namaza pri različnih režimih skladiščenja; fotografirano ob koncu skladiščenja	43
Slika 17:	Povezava med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) vseh različic jagodnih namazov takoj po pripravi	50
Slika 18:	Povezava med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) vseh različic jagodnih namazov po desetih tednih skladiščenja v primerjavi s kontrolno različico A	51
Slika 19:	Povezava med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) vseh različic jagodnih namazov po devetnajstih tednih skladiščenja v primerjavi s kontrolno različico A	52
Slika 20:	Povezava med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) vseh različic jagodnih namazov med skladiščenjem v primerjavi s kontrolno različico A	53

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ΔC^*	sprememba intenzivnosti barve
ΔL^*	sprememba svetlosti
GAE	ekvivalenti galne kisline
GLM	general linear model
p	statistična značilnost razlik
p_C	statistična verjetnost vpliva časa skladiščenja
Pg-3-gluc E	ekvivalent pelargonidin 3-glukozida
p_R	statistična verjetnost vpliva različice
r	Pearsonov korelacijski koeficient
SA	skupni antocianini
SEM	standardna napaka povprečja
SF	skupne fenolne spojine

1 UVOD

Barva svežega oziroma predelanega sadja je eden najpomembnejših senzoričnih dejavnikov, ki pri potrošnikih pomembno vpliva na percepcijo kakovosti.

Za značilno rdečo barvo jagod so odgovorna rdeča barvila – antocianini. Večina antocianinov v jagodah je monoglukozidov, prevladujoči antocianin pa je pelargonidin – 3 – glukozid.

Osnovni problem proizvajalcev izdelkov iz jagod je intenzivno spreminjanje barve izdelka med skladiščenjem iz značilne, svetlo rdeče, v skoraj rjavo.

Antocianini v izdelkih spreminjajo svojo barvo v odvisnosti od zrelosti jagod, intenzitete toplotne obdelave, pH vrednosti, vsebnosti različnih dodatkov in številnih drugih dejavnikov.

Sveže jagode in številni izdelki iz jagod so pomemben vir antocianinov in polifenolov v humani prehrani.

Med tehnološkim procesom predelave jagod lahko velik del antocianinov tudi razpade, koncentracija antocianinov v končnem izdelku pa je ravno tako odvisna od številnih parametrov med predelavo in skladiščenjem. Pomembno prehransko vlogo imajo tudi ostale fenolne spojine, ki prispevajo k antioksidativnemu potencialu tako sadja kot sadnih izdelkov in lahko vplivajo tudi na spremembe barve.

S spremljanjem intenzitete barvnih sprememb v jagodnih namazih, ki so bili pripravljani po različnih recepturah in skladiščeni pri različnih pogojih, smo pridobili informacije o najustreznejši sestavi namazov ter optimalnih pogojih skladiščenja, ki omogočajo ohranitev značilne barve in prehranske vrednosti jagodnih izdelkov.

1.1 NAMEN DELA IN HIPOTEZE

Namen magistrskega dela je bil poiskati najprimernejšo recepturo za industrijsko proizvodnjo jagodnega namaza in ustrezen režim skladiščenja, ki bi povečala obstojnost barve in ohranila optimalne prehranske lastnosti namaza po daljšem času skladiščenja.

Predvidevamo:

- da bo sestava jagodnega namaza vplivala na intenziteto spreminjanja barve med skladiščenjem;
- da bo režim skladiščenja vplival na intenziteto spreminjanja barve jagodnega namaza;
- da bo sestava jagodnega namaza vplivala na vsebnost skupnih antocianinov in spekter antocianinov ter vsebnost skupnih fenolnih spojin;
- da bo režim skladiščenja vplival na vsebnost skupnih antocianinov in spekter antocianinov ter vsebnost skupnih fenolnih spojin v jagodnem namazu.

2 PREGLED OBJAV

2.1 JAGODE

Jagode so izjemno priljubljeno sadje, saj jih uživamo poleg svežih tudi predelane v številne izdelke kot so sokovi, kompoti, namazi, sadni dodatki mlečnim izdelkom in drugo. Komercialno gojene jagode so kultivarji hibrida vrtno jagode (*Fragaria ananassa*). Za pripravo marmelad, džemov in namazov je zaradi svoje specifične arome še vedno najbolj primerna sorta Senga sengana, medtem ko se za ostale izdelke iz jagod lahko uporabljajo tudi druge sorte (Aaby in sod., 2012).



Slika 1: List in cvet jagode sorte Senga sengana (INRA, 2015)

Figure 1: Leaf and flower of strawberry variety Senga sengana (INRA, 2015)



Slika 2: Plod jagode sorte Senga sengana (INRA, 2015)

Figure 2: Strawberry fruit – variety Senga sengana (INRA, 2015)

Ko so v 18. stoletju iz Južne Amerike v Evropo prinesli jagodnjake, se je začelo načrtno gojenje jagod. Plodovi ameriških so bili bistveno večji od evropskih, posledica križanja s severnoameriško sorto pa so bili veliki, sočni in sladki sadeži (Hummer in Hancock, 2009).

Jagode sodijo med najokusnejše, ampak tudi hitro pokvarljivo sadje, ki je zelo občutljivo na mehanske in mikrobiološke poškodbe, izgubo vode in neprimerne skladiščne pogoje. Pri višjih temperaturah skladiščenja so jagode hitro podvržene staranju in izgubi kakovosti (Pkez in sod., 1998).

Jagode imajo zaradi svoje sestave številne pozitivne vplive na zdravje ljudi. So odlični vir antioksidantov, vitamina C in mangana ter pomemben vir vlaknin, joda, folatov, bakra, kalija, biotina, fosforja, magnezija, vitamina B6 in omega - 3 maščobnih kislin (Wu in sod., 2006).

Zaradi velike vsebnosti fenolnih spojin je redno uživanje jagod povezano s protivnetnimi učinki (znižanje C reaktivnega proteina CRP) (Ellis in sod., 2011). Številne raziskave so pokazale, da prehrana, bogata z jagodami, pozitivno vpliva na ožilje, saj zniža oksidacijo lipidov v celičnih membranah krvnih žil, kar vpliva na znižanje ravni maščob v krvnem obtoku (Sesso in sod., 2007).

Redno uživanje jagod (2 do 3 - krat na teden) zmanjšuje tudi tveganja povezana s sladkorno boleznijo tipa 2. Elagična kislina zavira aktivnost encima alfa - amilaza, ki je odgovoren za razgradnjo škroba in ob pomanjkanju encima ali nižji aktivnosti se v krvni obtok sprosti manj enostavnih sladkorjev (Sesso in sod., 2007).

Antikancerogene lastnosti jagod so najbolj raziskane v primeru raka dojke, materničnega vratu, debelega črevesja ter raka požiralnika (Szajdek in Borowska, 2008).

Ker jagode zaradi svoje specifične arome in privlačnega videza sodijo med najbolj priljubljeno sadje, je temu primerna tudi pridelava.

V letu 2012 so največ jagod pridelali v Združenih državah Amerike (1.366.850 ton), sledijo Mehika (360.426 ton), Turčija (353.173 ton), Španija (289.900 ton) in Egipt (242.297 ton) (FAOSTAT, 2013).

Pridelavo jagod v Sloveniji prikazuje preglednica 1.

Preglednica 1: Pridelava jagod v posameznih letih v Sloveniji (SURs, 2014)
Table 1: Strawberry production in Slovenia per year (SURs, 2014)

Leto	Pridelovalna površina (ha)	Količina pridelka (t)	Hektarski donos (t/ha)
2010	102	1790	17,6
2011	99	1993	20,1
2012	80	1505	18,9
2013	106	2144	20,2

Jagode so odlični vir naravnih antioksidantov, bogate so z vitamini in minerali ter antocianini, flavonoidi in fenolnimi kislinami (Ayala Zavala in sod., 2004).

Sveže jagode naj bi zaradi prehranskih lastnosti čim večkrat vključevali v našo prehrano, poleg tega pa poznamo celo vrsto jagodnih izdelkov, ki v večji meri ohranjajo pozitivne prehranske lastnosti, atraktivno rdečo barvo in odlično aromo.

Natančen pregled hranilnih vrednosti svežih jagod je prikazan v preglednici št. 2.

Preglednica 2: Povprečne hranilne vrednosti v 100 g jagod (Souci in sod., 2000)
Table 2: Average nutritional values for strawberries in 100 g (Souci et al., 2000)

Sestavina	Količina (na 100 g svežih jagod)
Voda	89,5 g
Beljakovine	0,8 g
Maščobe	0,1 g
Ogljikovi hidrati	6,0 g
Energijska vrednost	27 kcal, 113 kJ
Škrob	0
Skupni sladkorji	6,0 g
Glukoza	2,6 g
Fruktoza	3,0 g
Saharosa	0,3 g
Vlaknina	1,1 g
Na	6 mg
K	160 mg
Ca	16 mg
Mg	10 mg
P	24 mg
Fe	0,4 mg
Cu	0,07 mg
Zn	0,1 mg
Cl	18 mg
Mn	0,3 mg
Karoten	8 µg
Vitamin E	0,2 mg
Tiamin	0,03 mg
Riboflavin	0,03 mg
Niacin	0,6 mg
Vitamin B 6	0,06 mg
Folna kislina	20 µg
Pantotenska kislina	0,34 mg
Biotin	1,1 µg
Vitamin C	77 mg

Jagode so poznane predvsem po svoji tipični aromi, ki po obiranju hitro degradira, zato je analiza arom jagod od nekdaj zanimiva, še bolj pa njena ohranitev (Kopjar, 2007).

Biosinteza arome v jagodah je zelo kompleksen proces zaradi velikega števila različnih komponent arome. Kot pri vsem drugem sadju, so za aromo jagode odgovorne hlapne komponente. Aroma jagod je v veliki meri odvisna od komponent, v katere so vključeni estri, aldehidi, ketoni, alkoholi, terpeni, furanoni in žveplove spojine (Schreier, 1980; Dirinck in sod., 1981; Larsen in Poll, 1992; Larsen in sod., 1992; McFadden in sod., 2005). Estri in furanoni so glavne komponente arome jagode. Še vedno potekajo študije, kako bi prišli do dejavnikov, ki so odgovorni za biosintezo teh komponent. Eden od najbolj

pomembnih furanonov je 2,5 – dimetil – 4 – hidroksi – 3 (2H) – furanon, ki pri visokih koncentracijah daje aromo po karameli, pri nizkih pa sadno aromo (Larsen in Poll, 1992; Larsen in sod., 1992).

2.2 FENOLNE SPOJINE V RASTLINAH

Velika razširjenost fenolnih spojin v rastlinskem svetu je vzrok, da jih s hrano dnevno zaužijemo v izobilju. V razvitih zahodnih državah se dnevni vnosi fenolnih spojin s hrano gibljejo okoli 1000 mg/ dan ob predpostavki, da se oseba prehranjuje z dobro uravnoteženo mešano prehrano.

Fenolne spojine so sekundarni rastlinski metaboliti. V splošnem jih definiramo kot spojine z aromatskim obročem, na katerem je ena ali več hidroksilnih skupin. Morda je primernejša definicija ta, ki opredeljuje fenolne spojine kot tiste spojine, ki izhajajo iz šikimatne in fenilpropanoidne metabolne poti (Robards in sod., 1999).

Fenolne spojine se omenjajo tudi kot stresni metaboliti, saj njihov nastanek stimulirajo številni zunanji dejavniki kot so svetloba, kisik, temperatura, pomanjkanje vode in mehanske poškodbe (Swanson, 1993).

Fenolne spojine dajejo rastlinam karakterističen okus, prehransko vrednost, barvo, antioksidativni potencial ter delujejo antimikrobno. Danes je poznanih več kot 4000 različnih naravnih fenolnih spojin. V naravi so običajne spojine z več – OH skupinami in zato se je zanje uveljavilo tudi drugo ime – fenolne spojine (Lee, 1992).

Fenolne spojine lahko razvrstimo na več načinov, uveljavlja pa se klasifikacija po številu C – atomov (Abram in Simčič, 1997). V sadju in zelenjavi najpogosteje zasledimo naslednje skupine fenolnih spojin: benzojske kisline (p-hidroksibenzojska, protokatehinska, vanilinska kislina,...), cimetne kisline (p-kumarna, kavna, ferulna kislina), flavonole (kamferol, kvercetin, miricetin), antocianidine (cianidin, peonidin, delfinidin...), prekursorje taninov (katehin, epikatehin, galokatehin) (Bravo, 1998; Stevenson in Hurst, 2007).

Prisotnost fenolnih spojin v hrani ima pomemben vpliv na oksidativno in mikrobiološko stabilnost proizvoda, saj so nekatere fenolne komponente močni antioksidanti (Wang in sod., 1997).

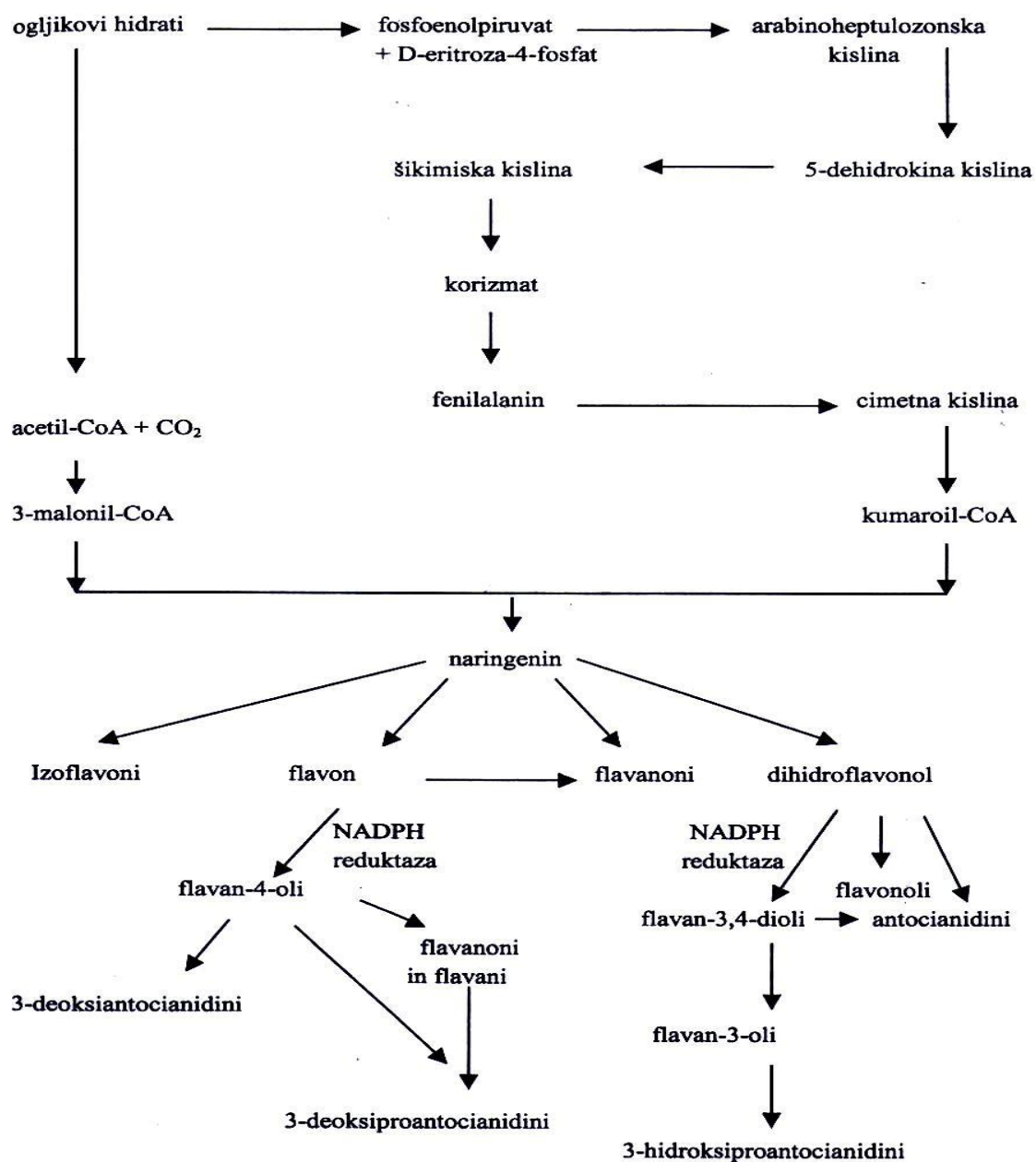
Abram in Simčič (1997) ter Robards in sod. (1999) so navedli, da se fenolne spojine v celicah v glavnem nahajajo v vakuolah, nekateri flavonoidi pa so v kromo - ali kloroplastih. V citoplazmi jih ne najdemo. V majhnih količinah jih zasledimo v

medceličnih prostorih. Fenoli so v celici prisotni v topni, suspendirani, koloidni obliki ali pa so vezani na celično steno (Robards in sod., 1999).

2.2.1 Biosinteza rastlinskih fenolov

Metabolizem fenolov v rastlinah je kompleksen proces in je rezultat interakcije med vsaj petimi različnimi metabolnimi potmi. Poti, ki so vpletene v biosintezo rastlinskih fenolov so:

- glikoliza (fosfoenolpiruvat),
- pentoza fosfatna pot (eritroza – 4 - fosfat),
- šikimatna pot (fenilalanin),
- fenilpropanoidni metabolizem (aktivirani derivati cimetine kisline, lignin),
- specifična flavonoidna pot (Lee, 1992).



Slika 3: Shematični prikaz biosinteze fenolnih spojin (Lee, 1992; Ibrahim, 1993; Stafford, 1993)
 Figure 3: Schematic diagram of biosynthesis of phenolic compounds (Lee, 1992; Ibrahim, 1993; Stafford, 1993)

2.2.2 Pomen fenolnih spojin

Značilne kemijske lastnosti fenolnih spojin so reaktivnost, kisel pH, tvorba intra - in intermolekularnih vodikovih vezi (če ni steričnih ovir), sposobnost vezave kovinskih ionov in tvorba kelatnih spojin ter oksidacija (Abram in Simčič, 1997).

Fenolne spojine kot so kumarini, stilbeni, flavonoidi imajo v rastlinah pomembno vlogo antibiotika in so tako sposobne zaščititi rastlino pred mikroorganizmi in drugimi rastlinskimi škodljivci. Sodelujejo pri zaščiti rastline pri delovanju stresnih dejavnikov iz okolja, kot so npr. ioni težkih kovin, visoka UV – B radiacija (Heller, 1994). So sestavina celičnih sten (lignin) in kot strukturni material omogočajo trdnost rastline. Skupaj z dolgotrajnimi karboksilnimi kislinami so sestavina suberina in kutina ter tako zagotavljajo celici propustnost za pline in vodo (Heldt, 1997).

Fenolne spojine dajejo okus, vonj in barvo rastlinskim živilom in tako izboljšujejo senzorično in prehransko kakovost živila (Abram in Simčič, 1997; Robards in sod., 1999). Uporabne so kot naravna barvila v živilski industriji (Hollman in Hertog, 1998).

Lee (1992) ter Chesson in sod. (1998) so navedli, da je sposobnost preprečevanja oksidativnih sprememb v živilih in preprečevanje oksidativnega kvara živila vse bolj pomembna lastnost fenolnih spojin, ki so naravni antioksidanti. V živilih so naravno prisotni ter ustrezajo sodobnim zahtevam po zmanjšanju uporabe sintetičnih antioksidantov v živilski industriji.

Poleg antioksidativnega delovanja fenolnih spojin v živilih lahko fenolne spojine opravljajo svojo vlogo tudi po zaužitju hrane v človeškem telesu, kjer zmanjšujejo učinek reaktivnih kisikovih spojin in drugih prostih radikalov (Chesson in sod., 1998). Zanimive so predvsem raziskave o povezavah med fenolnimi spojinami (najbolje so proučeni flavonoidi, ker so najbolj razširjeni) in inhibicijo razvoja rakastih obolenj, ter raziskave o zmanjšanju oksidacije LDL in zmanjšanem tveganju za nastanek kardiovaskularnih obolenj (Hollman in Hertog, 1998).

Čeprav so eksperimentalni rezultati večkrat obetavni, pa raziskave *in vivo* največkrat privedejo do zaključka, da sta intestinalna absorpcija fenolnih spojin in koncentracija v plazmi prenizki, da bi lahko fenolne spojine uspešno delovale v ciljnim tkivu (Johnson, 1998; Wiseman, 1998).

Negativni učinek fenolnih spojin se izraža predvsem pri skladiščenju in predelavi živil, ki vsebujejo fenolne spojine. Fenolne spojine so podvržene spremembi barve, ker so dober substrat za oksidacijo. Pomembne so tudi reakcije z drugimi sestavinami v hrani, kot so reducirajoči sladkorji in kovine (Lee, 1992). Prav tako prihaja tudi do medmolekulskih

interakcij fenolnih spojin in proteinov, ki se povezujejo z vodikovimi vezmi. Te interakcije vplivajo na kakovost proteinov, ki postanejo slabše prebavljivi, povzročajo pa tudi motnost in nastanek sedimenta pri skladiščenju nekaterih sokov (Lee, 1992).

2.3 FENOLNE SPOJINE V JAGODAH

Jagode kot najpogosteje zaužito jagodičevje predstavljajo pomemben vir vlaknin in bioaktivnih komponent v prehrani (Tulipani in sod., 2008).

Jagode vsebujejo bistveno več fenolnih spojin, ki imajo na zdravje koristne učinke, kot druge vrste sadja (Wojdlo in sod., 2009).

Rdeče, vijolične ter modre barve sadja in zelenjave so največkrat posledica antocianinov. Pripisujejo jim različne koristne učinke na zdravje – antikarcinogeno, antiinflamatorno in antiangiogeno delovanje (Hernanz in sod., 2008).

Prevladujoče fenolne spojine v jagodah so antocianini, ki dajejo jagodnemu mesu značilno rdečo barvo ter flavonoli, flavanoli, derivati hidroksicimetne in elagične kisline (Aaby in sod., 2007).

Espin in sodelavci (2000) ter Tulipani s sodelavci (2008) so ugotovili, da so prevladujoči antocianini v jagodah pelargonidin 3 – glukozid, pelargonidin 3 – rutinozid in cianidin 3 – glukozid.

Pelargonidin 3 – glukozid sta prva odkrila Robinson in Robinson (1931).

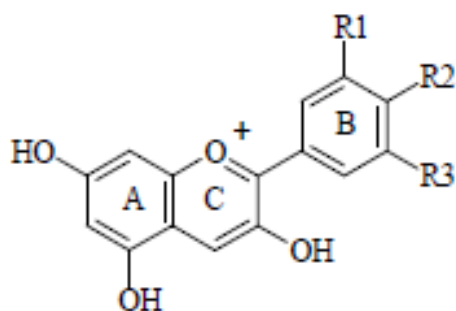
2.3.1 Antocianini

Antocianini, ki dajejo večini sadja in zelenjave značilno barvo, so prevladujoča komponenta v skupini flavonoidov (Xue in sod., 2003). So vodotopni rastlinski pigmenti, ki dajejo sadju rdečo, modro in vijolično barvo (Clifford, 2000).

V rastlinskih celicah so prisotni v vakuolah v različnih oblikah. Kemijsko antocianini spadajo v večjo skupino flavonoidov. Antocianidine sestavlja aromatski obroč A, vezan na heterociklični obroč C, ki vsebuje kisik, ki je prav tako s C - C vezjo vezan na tretji aromatski obroč B. Antocianidini so zelo nestabilni, zato se večinoma pojavljajo kot glikozidi. Glukoza, galaktoza, arabinoza, ramnoza in ksiloza so najpogostejši sladkorji, ki so vezani na antocianidine; v taki obliki jih potem poznamo kot antocianine. Do sedaj so odkrili več kot 500 različnih oblik antocianinov in 23 antocianidinov. Najpogostejši antocianini v naravi so pelargonidin, peonidin, cianidin, malvidin, petunidin in delphinidin,

medtem ko je najbolj razširjen antocianin cianidin 3- glukozyd (Manach in sod., 2004; Szajdek in Borowska, 2008; Castañeda – Ovando in sod., 2009).

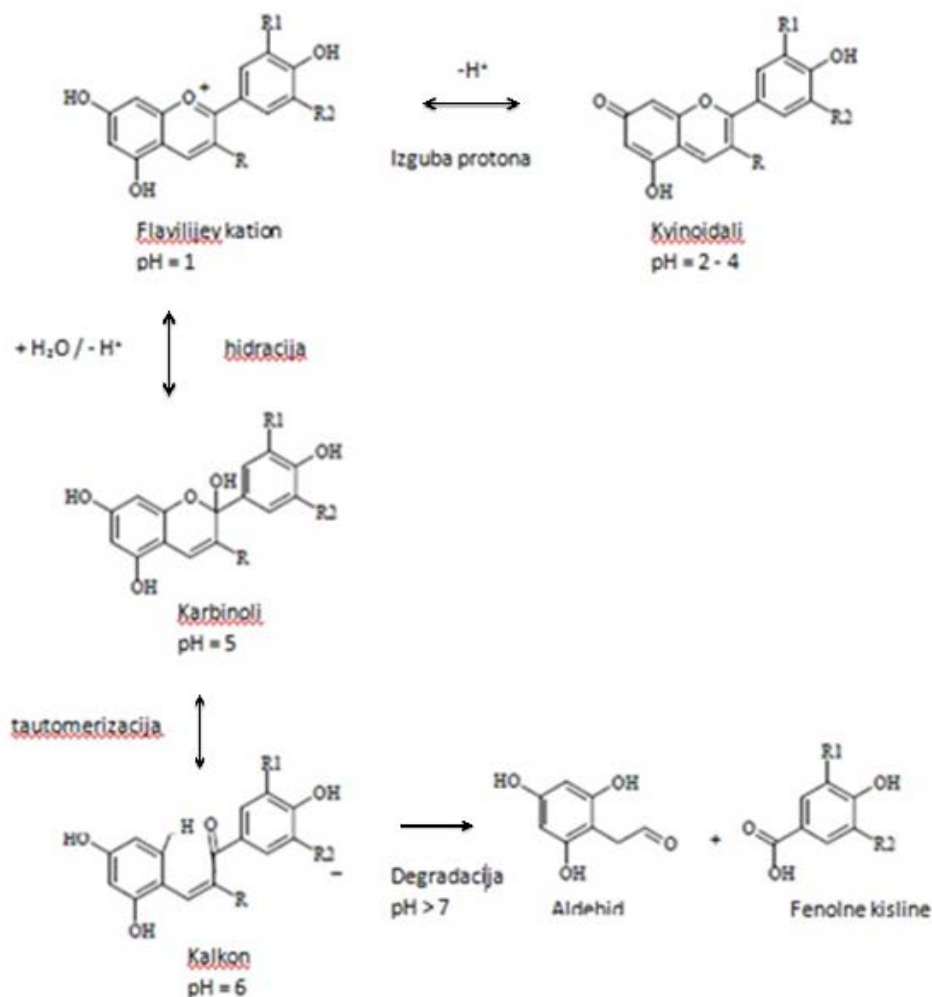
Antocianine poznamo kot nestabilne spojine. Med procesom predelave in skladiščenjem izdelkov so podvrženi velikemu številu kemijskih in encimatskih reakcij, ki vodijo v izgubo oz. spremembo kemijskih oblik antocianinov. Mehanizmi teh reakcij so zelo kompleksni in še vedno ne popolnoma raziskani, še posebno ne v prehranskih izdelkih. Za zdaj je znano, da pride do polimerizacije ali degradacije. Z ostalimi fenolnimi spojinami, kot so fenolne kisline, flavonoli, procianidini in antocianini oblikujejo obarvane polimerne komponente. Odvisno od encimske aktivnosti (polifenol oksidaze) ter fizikalnih in kemijskih faktorjev (temperatura, svetloba, pH, kisik, askorbinska kislina, sladkorji, proteini, sulfiti, kovinski ioni, koncentracija antocianinov), razpadejo na ustrezne fenolne kisline in aldehide (Cavalcanti in sod., 2011; Kay in sod., 2009; Patras in sod., 2010).



Antocianidin	R1	R2	R3
Pelargonidin	H	OH	H
Cianidin	OH	OH	H
Delfinidin	OH	OH	OH
Peonidin	OCH ₃	OH	H
Petunidin	OCH ₃	OH	OH
Malvidin	OCH ₃	OH	OCH ₃

Slika 4: Strukturna formula antocianina (Prior in Wu, 2006)
Figure 4: Structural formula of anthocyanin (Prior and Wu, 2006)

Antocianini se pojavljajo v rožnati, rdeči, modri ali vijolični barvi, odvisno od pH vrednosti. Pri pH 1 je prevladujoči flavilijev kation, ki je odgovoren za nastanek rdečih in vijoličnih odtenkov. Pri pH med 2 in 4 so prevladujoči modri kvinoidali. Pri pH med 5 in 6 opazimo brezbarvne karbinole in kalkone. Pri pH 7 in več se antocianini razgradijo. Antocianini so zelo nestabilni in se hitro razgradijo. Njihova stabilnost ni odvisna samo od pH vrednosti ampak tudi od medija, temperature, koncentracije, kisika, svetlobe in encimov. Kopigmentacija je pogost pojav v rastlinskem svetu. Molekule – flavonoidi, alkaloidi in organske kisline – so običajno brezbarvne, ampak ob dodatku k antocianinom izboljšajo njihovo barvo (Mazza in Boouillard, 1990). Maccarone in sod. (1985, 1987) so potrdili, da s kopigmentacijo povečamo obstojnost antocianinov. Kopigmentacija je posebnost antocianinov, ki se ob prisotnosti drugih organskih spojin (flavonoidi, alkaloidi, amino kisline, proteini, nukleotidi, polisaharidi) ali kovinskih ionov tvorijo kompleksne molekule z intenzivnejšo barvo (McGhire in Walton, 2007; Castañeda – Ovando in sod., 2009).



Slika 5: Strukturne formule različnih oblik antocianinov v odvisnosti od pH in reakcija razgradnje, kjer je R = glikozil, R1 in R2 = OH ali OCH₃ (McGhire in Walton, 2007; Castañeda – Ovando in sod., 2009).

Figure 5: Anthocyanin chemical forms depending on pH and degradation reaction, where R = glycosyl, R1 and R2 = H, OH or OCH OCH₃ (McGhire and Walton, 2007; Castañeda – Ovando et al., 2009).

2.3.1.1 Antocianini v jagodah

O vsebnosti antocianinov v jagodah je bilo narejenih veliko raziskav, različni avtorji pa navajajo različne rezultate. Vsebnost in vrsta antocianinov se razlikujejo med posameznimi sortami, kultivarji oz. hibridi jagod, okoljskih dejavnikov, načina pridelave (ekološko, konvencionalno), ...

Lopes da Silva in sodelavci (2007) so ugotovili, da 83 % vseh antocianinov v jagodah predstavlja pelargonidin 3 – glukozid, 8 % pelargonidin 3 – rutinozid in cianidin 3 – glukozid 3 %.

Da Silva Pinto s sodelavci (2008) so navedli naslednje vrednosti antocianinov za različne kultivarje: med 200 in 300 mg skupnih fenolov na 100 g jagod, od tega predstavljajo derivati pelargonidina med 12 in 43 mg na 100 g vzorca ter derivati cianidina med 0,3 in 2 mg na 100 g svežih jagod.

Lopes da Silva in sod. (2007) so prišli do vsebnosti 20 do 60 mg skupnih antocianinov na 100 g svežih plodov. Clifford (2000) je navedel podatke med 150 – 350 mg / 100 g jagod.

Tulipani s sodelavci (2008) je za različne kultivarje jagod navedel med 95,8 do 282,34 mg pelargonidin glukozida na 100 g svežih jagod, medtem ko so Lopes da Silva s sodelavci (2007) določili med 16,2 in 46,8 mg pelargonidin 3 – glukozida na 100 g svežih jagod. Pri Aabyju in sodelavcih (2007) smo zasledili povprečno vrednost 40 mg pelargonidin 3 – glukozida na 100 g svežih plodov.

Mnoge študije so dokazale, da imajo jagode visoko antioksidativno kapaciteto, kar je spet povezano z visoko vsebnostjo fenolnih spojin v plodovih (Sun in sod., 2002; Proteggente in sod., 2002; Rababah in sod., 2005; Aaby in sod., 2005).

Čeprav imajo nizko biorazpoložljivost, imajo antocianini intracelularno antioksidativno aktivnost (v koncentracijah nM) in s tem ustvarjajo veliko pozitivnih zdravstvenih učinkov na organizem, kljub neugodnim farmakokinetičnim lastnostim (Može Bornšek in sod., 2012).

V jagodah so antocianini najbolj raziskani in kvantitativno najpomembnejši fenoli (Giampieri in sod., 2012).

Lopes da Silva in sod. (2007) so v jagodah odkrili 25 različnih antocianinov, večina od njih vsebuje pelargonidin kot aglikon, nekaj je tudi derivatov cianidina. Glukoza in rutinoza sta najpogostejša sladkorja, ki sta vezana v strukturo jagodnih antocianinov, zasledimo pa tudi arabinozo in ramnozo.

Glede vsebnosti antocianinov je Clifford (2000) navedel podatke med 15 – 35 mg na 100 g svežih jagod. Lopes da Silva in sod. (2007) so prišli do vsebnosti 20 do 60 mg skupnih antocianinov na 100 g svežih plodov jagod. Od teh 77 – 90 % predstavlja pelargonidin 3 – glukozid, 6 – 11 % je pelargonidin 3 – rutinozida in 3 – 10 % cianidin 3 – glukozida.

Poleg rdečih antocianinov v jagodah pogosto najdemo tudi vijolične antocianin – flavanol komplekse, sestavljene iz pelargonidin 3 – glukozida (Fossen in sod., 2004).

2.3.1.2 Antocianini v črnem korenu

Črni koren je odličen vir antocianinov (Mazza in Miniati, 1993). Antocianini črnega korena dajejo tipičen jagodni svetlo rdeč odtенок pri kislih pH vrednostih, zato je odličen kot dodatno barvilo vsem sadnim napitkom, želejem in bombonom (Downham in Collins, 2000). Sok in koncentrat črnega korena se uporablja kot barvilo v pijačah, sirupih, marmeladah, bombonih in sladica (Kirca in sod., 2007).

Črni koren uspeva večinoma v Turčiji, Afganistanu, Egiptu, Pakistanu in Indiji. V Turčiji ga običajno predelajo v sok, koncentrat ali shalgam (tradicionalno mlečno fermentirano pijačo). Črni koren ima privlačno rdeče vijolično barvo in vsebuje visoke koncentracije antocianinov – 1750 mg / kg (Mazza in Miniati, 1993) oz. 17,4 g do 45,4 g / kg suhe teže (Kammerer in sod., 2004).

2.3.1.3 Antocianini v hibiskusu

Hibiscus sabdariffa L. (roselle) je grm, katerega plodove kot ekstrakte uporabljajo predvsem za pripravo rastlinskih napitkov. Vodna raztopina je transparentna, intenzivno rdeča, nizkega pH in z astringentno aromo (Aurelio in sod., 2008). Hibiskus je v prehrani pomemben predvsem zaradi visoke vsebnosti antocianinov – 2,52 g / 100 g (Wong in sod., 2002).

Ekstrakt hibiskusa običajno vsebuje dva prevladujoča antocianina: delfinidin – 3 sambubozid in cianidin 3 – sambubizid in dva, ki sta prisotna v manjših koncentracijah: delfinidin 3 – glukozid in cianidin 3 – glukozid (Aurelio in sod., 2008).

2.4 BARVA JAGOD

Sveže jagode in njihovi izdelki so zelo priljubljeni po vsej Evropi in širše. Potrošnike privlači predvsem tipična aroma jagod in njihova svetla rdeča barva (Gössinger in sod., 2008). Poleg značilne arome ima sveža rdeča barva jagodnega džema največji vpliv na potrošnika kot kriterij kvalitete (Kirca in sod., 2007).

Raziskave so pokazale, da je barva svežih jagod posledica genskih, klimatskih in agronomskih faktorjev, kasnejše spremembe barve (po obiranju) pa so povezane s spremembami antocianinov. Obarvanost jagod je odvisna od faktorjev, ki vplivajo na stabilnost pigmentov – pH, prisotnost encimov, svetloba, prisotnost kisika in temperatura (Hernanz in sod., 2008).

Barva vseh jagodnih izdelkov je neobstoja in se med procesom obdelave in skladiščenjem močno spreminja. Faktorji, ki vplivajo na stabilnost barve jagodnih izdelkov so temperatura skladiščenja, pH, prisotnosti askorbinske kisline in sladkorjev, struktura in koncentracija antocianinov in kultivar jagod (Garcia – Viguera in sod., 1998; Garzon in Wrolstad 2002; Özkan in sod., 2002; Wicklund in sod., 2005).

Hernanz in sod. (2008) so poiskali korelacije med parametri barve (L^* , a^* , b^*) in vsebnostjo antocianinov. Raziskali so pomembne povezave med vrednostmi L^* in b^* ter vsebnostjo pelargonidin 3 – glukozyda in vsebnostjo skupnih antocianinov. Negativna korelacija se je pokazala tudi med vrednostmi a^* in vsebnostjo pelargonidin 3 – rutinozyda.

Veliko raziskav je bilo narejenih na temo izboljšanja barve in obstojnosti antocianinov v jagodnih produktih. V večini teh študij so raziskovali predvsem izboljšanje stabilnosti antocianinov in dodajanje ostalih pigmentov. Dodajanje pelargonidin 3 – glukozyda v jagodni sirup na primer zmanjša stopnjo razgradnje antocianinov (Skrede in sod., 1992). Garzon in Wrolstad (2002) sta ugotovila, da dodajanje pelargonidinov dobro vpliva na obstojnost antocianinov med skladiščenjem. Poleg tega dodajanje različnih fenolnih kislin jagodnemu soku pripomore k boljši ohranitvi intenzivne barve (Rein in Heinonen, 2004).

Nasprotno pa dodajanje askorbinske kisline pospeši razgradnjo antocianinov v jagodnem soku, džemih in sirupih (Skrede in sod., 1992). Razlog za spremembo barve je najverjetneje razgradnja askorbinske kisline in polimerizacija antocianinov (Garcia – Viguera in sod., 1999).

Cavalcanti in sodelavci (2011) so dokazali, da askorbinska kislina v namazih, marmeladah in sokovih preprečuje razbarvanje teh izdelkov. Askorbinski kislini so dokazali pozitiven učinek proti reakcijam kondenzacije antocianinov.

Rezultati že objavljenih študij se glede dodajanja askorbinske kisline v džeme in namaze razlikujejo. Nekateri avtorji so dokazali pozitiven, drugi negativen učinek askorbinske kisline na spremembo barve in vsebnost antocianinov (Skrede in sod., 1992; Garcia – Viguera in sod., 1999; Cavalcanti in sod., 2011).

Za dodajanje askorbinske kisline v naše različice smo se odločili zato, ker je prisotna v večini industrijskih receptur za jagodni džem, marmelado ali namaz.

2.4.1 Vpliv vsebnosti pektina na obstojnost barve jagodnega namaza

Pektin se v živilski industriji uporablja predvsem kot želirno sredstvo (El Nawawi in Heinkel, 1997). Lewis in sod. (1995) so potrdili, da ima pektin pomembno vlogo pri spremembi barve jagodnih izdelkov.

Dervisi in sod. (2001) so dokazali, da je barva jagodnega džema odvisna od koncentracije uporabljenega pektina. Hitrejša sprememba barve je povezana z višjo koncentracijo pektina v džemu. Največjo spremembo barve so zaznali pri vzorcih s 7,5 % w/w in 10 % w/w pektina. Najverjetneje je razlog za to v polimerizaciji in / ali kopigmentaciji antocianinov med seboj oziroma z ostalimi barvili.

V nedavno objavljenih raziskavah so dokazali, da dodatek pektina v viskoznih izdelkih poveča stabilnost antocianinov (Buchweitz in sod., 2013). Prav tako pa nekateri avtorji navajajo, da je zmanjšanje vsebnosti antocianinov med skladiščenjem močno odvisno od vrste pektina (Buchweitz in sod., 2013; Holzwarth in sod., 2013; Hubbermann in sod. 2006).

Kopjar in sod. (2007) so raziskovali vpliv različnih vrst pektinov in njihove koncentracije na barvo malinovega džema. Vrste pektinov imajo različne vplive na obstojnost antocianinov. Pektini z višjo stopnjo esterifikacije imajo večji vpliv na razgradnjo antocianinov, prav tako koncentracija pektina. Med skladiščenjem malinovega džema je bila razgradnja antocianinov očitna.

2.4.2 Vpliv plinske faze na spremembo barve jagodnega namaza

Različni avtorji navajajo različne zaključke glede vpliva plinske faze na obstojnost barve jagodnega džema.

Patras in sod. (2010) ter Cavalcanti in sod. (2011) so dokazali, da prisotnost kisika lahko pospeši razgradnjo antocianinov, saj je povezana z direktno oksidacijo. Neugoden vpliv kisika na kakovost džema sta dokazala tudi Blom in Enersen (1983).

Nasprotno pa so Bakker in sod. (1993) ugotovili, da vsebnost dušika (odsotnost kisika) med skladiščenjem ne vpliva na stopnjo izgube oziroma razgradnje antocianinov.

Pri nekaterih izdelkih je v zadnjem času pakiranje v kontrolirano atmosfero oz. izpodrivanje kisika z inertnim plinom dušikom v velikem porastu. Pred zapiranjem se iz embalaže z dušikom izpodrine prisoten kisik.

2.4.3 Vpliv vsebnosti sladkorja na spremembo barve jagodnega namaza

Sladkorji vplivajo na zmanjšanje stabilnosti antocianinov (Cavalcanti in sod., 2011). Tudi različni sladkorji (saharoza, glukoza, fruktoza) ne vplivajo na boljšo stabilnost (Sadilova in sod., 2009). Kljub temu pa so nekatere raziskave pokazale, da so bila barvila med skladiščenjem bolj stabilna ob višji koncentraciji prisotnih sladkorjev, najverjetneje zaradi nižje vodne aktivnosti (Hubbermann in sod., 2006).

Sandulachi (2011) je dokazal, da so jagodni izdelki z nizko vsebnostjo saharoze podvrženi hitrejšemu porjavenju zaradi oksidacije fenolnih spojin in antocianinov.

2.4.4 Vpliv pogojev skladiščenja na barvo jagodnega namaza

Zaradi specifičnih lastnosti (večje vsebnosti sladkorjev, nizkega pH, toplotne obdelave - pasterizacije) lahko jagodne namaze skladiščimo, transportiramo in prodajamo pri sobni temperaturi.

Ochoa in sod. (1999) so dokazali ravno obratno – da je optimalna temperatura shranjevanja jagodnega džema 4 °C. García – Viguera in sod. (1998) so potrdili, da razgradnja barvil v džemu narašča s temperaturo skladiščenja. Tudi Haffner in sod. (2003) so priporočili skladiščenje jagodnih izdelkov pri nižji temperaturi in kot najustreznejšo temperaturo skladiščenja za obstoj barve navedli 4 °C. Wicklund in sod. (2005) ter Patras in sod. (2011) so v dveh neodvisnih študijah pri jagodnem džemu, ki so ga skladiščili pri 4 °C, izmerili večjo vrednost barvnih komponent a^* in b^* v primerjavi s skladiščenjem pri 20 °C.

Vpliv temperature skladiščenja pri višjih temperaturah (od 25 do 55 °C) jagodnega džema na vsebnost fenolnih spojin, antocianinov in antioksidativni potencial so raziskovali tudi Rababah in sod. (2011). Sveže jagode vsebujejo najvišje vrednosti vseh treh parametrov – L^* , a^* in b^* . Med skladiščenjem antioksidativni potencial ter vsebnost antocianinov padata z naraščanjem temperature skladiščenja, vsebnost skupnih fenolnih spojin pa ostaja visoka tudi med skladiščenjem pri višjih temperaturah. Sprememba barve oziroma razbarvanje je med skladiščenjem intenzivno.

Kombinacije različnih dejavnikov, ki vplivajo na obstojnost izdelkov iz jagod so raziskovali Garcia – Viguera in sod. (1998), Garzon in Wrolstad (2002), Özkan in sod. (2002), Wicklund in sod. (2005), Sadilova in sod. (2009), Wojdło in sod. (2009).

Preučevali so naslednje dejavnike: temperatura skladiščenja, dodatek askorbinske kisline, pH, razgradni produkti sladkorjev, kultivarji jagod ter struktura in koncentracija antocianinov. Vsi jagodni izdelki imajo neobstojno barvo, različni procesi med proizvodnjo (toplotna in mehanska obdelava) pa spremembo barve in razgradnjo antocianinov intenzivirajo.

Stabilnost barve jagodnega džema med skladiščenjem pri različnih temperaturah v odvisnosti od različnih kultivarjev jagod je raziskala Garcia - Viguera in sod. (1999). Visoka temperatura skladiščenja (37 °C) ima večji učinek na spremembo barve jagodnega namaza kot pa izbor kultivarja.

Holzwarth in sod. (2013) so poleg pomembnosti skladiščenja jagodnega džema pri nizki temperaturi skladiščenja izpostavili problem spreminjanja barve zaradi izpostavljenosti dnevni svetlobi.

Pri zagotavljanju ustrezne intenzivne barve jagodnih izdelkov ima pomembno vlogo tudi kakovost surovine. Optimalna tehnološka zrelost surovine je bistvenega pomena za stabilnost izdelka. Mazur in sod. (2013) so potrdili, da imajo optimalno zrele jagode večjo vsebnost antocianinov, kar je pomembno za intenzivnost barve med časom skladiščenja.

Zanimivo primerjavo so izvedli Crecente - Campo in sod. (2012), ki so ugotovili, da so imele organsko pridelane jagode v primerjavi s konvencionalno pridelanimi večje vsebnosti antocianinov ter askorbinske kisline, medtem ko za vsebnost skupnih fenolnih spojin tega niso potrdili. Džemi, pripravljene iz organsko pridelanih jagod, so imeli intenzivnejšo barvo.

Običajno se džem shranjuje v skladiščih in trgovinah pri sobni temperaturi. Shranjevanje pri nižjih temperaturah za obstojnost džema ni nujna, saj med proizvodnjo džema dodajamo sladkor in konzervanse, poleg tega je tudi pH izdelka nizek. Rok uporabe džema je med 6 in 12 mesecev. Raziskave glede razgradnje barvil v džemu med shranjevanjem pri

različnih temperaturah so pokazale, da stopnja razgradnje narašča s temperaturo skladiščenja (García – Viguera in sod., 1998). Optimalna temperatura za shranjevanje džema je 4 °C (Ochoa in sod., 1999).

Wicklund in sod. (2005) so prišli do rezultata, da imajo vzorci, skladiščeni pri 4 °C nižjo L^* vrednost, višji vrednosti a^* in b^* , večjo vsebnost antocianinov in skupno antioksidativno kapaciteto v primerjavi z vzorci, ki so bili skladiščeni pri 20 °C.

Kopjar in sod. (2009) so navedli, da je temperatura skladiščenja bistvenega pomena za razgradnjo antocianinov. Razgradnja antocianinov je potekala hitreje pri višjih temperaturah skladiščenja kot pri 4 °C. Vsebnost antocianinov v jagodnem džemu je odvisna od stopnje esterifikacije pektinov. Pri pektinih z višjo stopnjo esterifikacije je bila vsebnost antocianinov nižja. Ti trendi so se pokazali tudi pri skladiščenju pri različnih temperaturah (sobna in 4 °C).

2.5 TEHNOLOŠKI PROCES PRIPRAVE SADNIH NAMAZOV

V preteklosti je bilo konzerviranje sadja namenjeno predvsem premostitvi obdobja, ko svežega sadja v naravi ni bilo. Različni načini priprave in shranjevanja sadja in zelenjave so omogočili ljudem, da so v pozno jesenskih, zimskih in zgodnje pomladanskih dneh lahko zaužili različne snovi, kot so npr. vitamini, antioksidanti in druge snovi, ki so zelo pomembne tudi s prehranskega stališča.

Konzerviranje sadja z dodatkom sladkorja je samo ena od različnih možnosti podaljševanja trajnosti izdelkom iz sadja. Največkrat dodatku sladkorja sledi termična obdelava - pasterizacija. Na tak način pridobimo izdelke z zelo dolgim rokom trajanja, ki jo omogoča skupni učinek ozmotskega tlaka in termične inaktivacije mikroorganizmov. Tehnološki proces obsega več faz (slika 6), ki pomembno vplivajo na obstojnost in kakovost končnega izdelka.

Receptura, postopki izdelave, oblika kozarcev in pogoji skladiščenja so bistvenega pomena za kvaliteto džema. Pri modernejših postopkih priprave se džem pripravlja kontinuirano v nerjavnih duplikatorjih. Temperatura med postopkom je običajno okrog 90 °C, pri tej temperaturi džem zadržujemo 3 – 5 minut, da dosežemo zahtevano temperaturo v celotnem volumnu. Po segrevanju džem zadržimo v rezervoarju, da zagotovimo ustrezno konsistenco za polnjenje in enakomerno razporejenost delcev (Wicklund in sod., 2005).



Slika 6: Tehnološka shema proizvodnje jagodnega namaza (Zhao, 2012)
Figure 6: Technological scheme of strawberry spread production (Zhao, 2012)

2.5.1 Priprava sadja

Džemi, marmelade in namazi se lahko izdelujejo iz praktično vseh vrst sadja in njihovih kombinacij. Uporabimo lahko svežo, zmrznjeno ali delno predelano surovino. Faze prebiranja, sortiranja in pranja morajo zagotoviti ustrežno kakovost surovine, ustrezni tehnološki parametri pa morajo biti zagotovljeni že pri nabavi surovine.

Če je surovina sveže sadje, potem je potrebno sadje olupiti, narezati in odstraniti peščiče oz. plodove razkoščičiti. Za pripravo džemov, ki vsebujejo kose sadja, je potrebno izbrati sadje večjih dimenzij, da jih lahko narežemo na enako velike koščke. Do vkuhanja jih lahko hranimo v 0,5 % raztopini citronske kisline, da ne oksidirajo. Pri izdelkih iz pasiranega sadja najprej opravimo blanširanje pri 85 °C, nato pa sadje pasiramo skozi sita z različno perforacijo (Smith, 2003; Zhao, 2012).

2.5.2 Termična obdelava

Osnovni namen termične obdelave sadja je inaktivacija mikroorganizmov in encimov, doseganje daljše trajnosti in značilnih organoleptičnih lastnosti - konsistence, vonja in okusa izdelka. Značilno konsistenco dosežemo z odparevanjem določene količine vode, dodatkom sladkorja in pektina. Med termično obdelavo prihaja do intenzivnih sprememb sestavin, sploh pri domači predelavi, kjer je temperatura termične obdelave bistveno višja kot v industrijskih vakuumskih kotlih. Zaradi nižje temperature so spremembe vonja, okusa in barve manjše, zaradi podtlaka in hitrejšega izparevanja je čas kuhanja krajši, intenziteta sprememb pa bistveno nižja (Smith, 2003; Zhao, 2012).

Spremembe sestavin so posledica biokemijskih reakcij, ki so med seboj povezane. Intenzivno mešanje marmelade v odprtem loncu pri domači predelavi omogoča dostop kisika oz. zraka do različnih komponent, ki oksidirajo in spreminjajo barvo in okus izdelka. Produkti reakcij karamelizacije, ki poteka zaradi visoke vsebnosti sladkorjev in visokih temperatur, in v manjši meri Maillardove reakcije (nizka pH vrednost) so rjavi pigmenti melanoidini, ki ravno tako vplivajo na spremembo senzoričnih lastnosti izdelka. Visoka temperatura in prisotnost kisika vplivata tudi na vsebnost vitaminov, ki se med termično obdelavo znižuje (Zhao, 2012).

Dolžina termične obdelave je odvisna od vrste sadja, vrste in količine dodatkov (sladkor ali njegovi nadomestki, želirna sredstva), načina termične obdelave (vakuumski uparjalniki, odprti lonci...) in zelene končne konsistence. V industrijskih razmerah se dodatki dozirajo v kotle, v katerih se zmes intenzivno meša v različnih fazah procesa. Pektinski pripravki se zmešajo s sladkorjem in raztopijo v vodi. Del raztopine dodamo v prvi polovici vkuhanja sadja, del pa v drugi polovici. Pri domači pripravi je zelo podobno. Ko dosežemo zeleno sestavo in konsistenco, izdelek polnimo v kozarce in zapiramo. Pri termični obdelavi sadja

v vakuumskih kotlih je potrebno izdelke po zapiranju ponovno pasterizirati, saj zaradi nizke temperature v kotlu učinek inaktivacije mikroorganizmov ni bil zadosten (DeGregorio in Cante, 1992; Brown, 2011; Zhao, 2012).

Poleg sladkorja imajo pri tvorbi značilne konsistence zelo pomembno vlogo želirna sredstva. V industrijskih razmerah je najpogosteje uporabljeno želirno sredstvo pektin, ki ga pridobivajo iz agrumov in jabolk. Pri domači predelavi se poleg pektina uporablja tudi želatina ali agar. Pektin je polimerna snov, ki jo uvrščamo med topne vlaknine in je že prisotna v sadju. V kombinaciji s sladkorji in kislinami ima sposobnost tvorbe tridimenzionalne mreže, ki veže vodo in vzpostavlja strukturo gela. Gretje sadne zmesi pospeši raztapljanje pektina, njegovo enakomerno razporeditev in kasnejše želiranje pri ohlajevanju. Doziranje pektina je odvisno predvsem od vrste sadja, saj nekatere vrste vsebujejo bistveno več pektina (jagodičje) kot druge. Uporaba pektina lahko bistveno skrajša čas termične obdelave, saj je primerna konsistenca dosežena relativno hitro (DeGregorio in Cante, 1991; Brown, 2011; Zhao, 2012).

3 MATERIAL IN METODE

Eksperimentalni del magistrske naloge smo opravljali na Katedri za tehnologije, prehrano in vino na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete. Pripravili smo jagodne namaze različnih sestav, ki smo jih skladiščili pri različnih pogojih. Vzorce smo skladiščili v hladilniških celicah in termostahirani omari 4 mesece (19 tednov).

3.1 MATERIAL

Jagode (*Fragaria x ananasa* cv. Senga Sengana) so bile pridelane v Brčkem (Bosna in Hercegovina), na plantažah podjetja Bosnaplod D.D. Pred nakupom v lokalni trgovini so jih skladiščili pri temperaturi $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Za pripravo jagodnega namaza smo poleg zamrznjenih jagod uporabili še beli kristalni sladkor (saharozo), citronsko in askorbinsko kislino, pektin in naravno barvilo Višnjevo rdeče (komercialno ime) - koncentrat hibiskusa in črnega korena.

3.2 METODE DELA

3.2.1 Priprava jagodnega namaza

Jagodni namaz smo pripravljali po podobnem postopku, kot se uporablja pri industrijski pripravi sadnih namazov in je potekal po naslednjih stopnjah:

- jagode smo do začetka kuhanja shranjevali pri temperaturi $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- pred kuhanjem smo jih 3 minute segrevali v mikrovalovni pečici;
- po recepturi določeno količino odtaljenih jagod smo pretresli v kuter (Stephan UMC 5 electronic, Hameln, Nemčija) in jih sekljali 90 sekund (20 sekund pri 300 min^{-1} , 20 sekund pri 600 min^{-1} , 20 sekund pri 900 min^{-1} , 30 sekund pri 1200 min^{-1});
- zamenjali smo mešalo v posodi, dodali sladkor, askorbinsko in citronsko kislino v predpisanem razmerju; med mešanjem pri 300 min^{-1} vmešavali 30 sekund in nato mešali še 15 sekund pri enakih obratih;
- pričeli smo s kuhanjem pri podtlaku, nastavljena temperatura je bila $95\text{ }^{\circ}\text{C}$; kuhali smo 13 minut;
- po 13 minutah smo prenehali s kuhanjem pri podtlaku, naslednjih 10 minut smo kuhali brez podtlaka, vendar tlaka v posodi nismo izenačili, nastavitev temperature je bila $95\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- po 10 minutah smo med mešanjem dodali pektin s sladkorjem, vmešavali 30 sekund in nato še 30 sekund pri 300 min^{-1} ;
- z refraktometrom (Atago PAL – BX/RI, Tokyo, Japonska) smo izmerili suho snov namaza, ki je bila okrog $38\text{ }^{\circ}\text{Brix}$;

- namaz smo polnili v heksagonalne kozarčke volumna 160 ml, zaprli in pasterizirali v vodni kopeli pri 80 °C 20 minut.

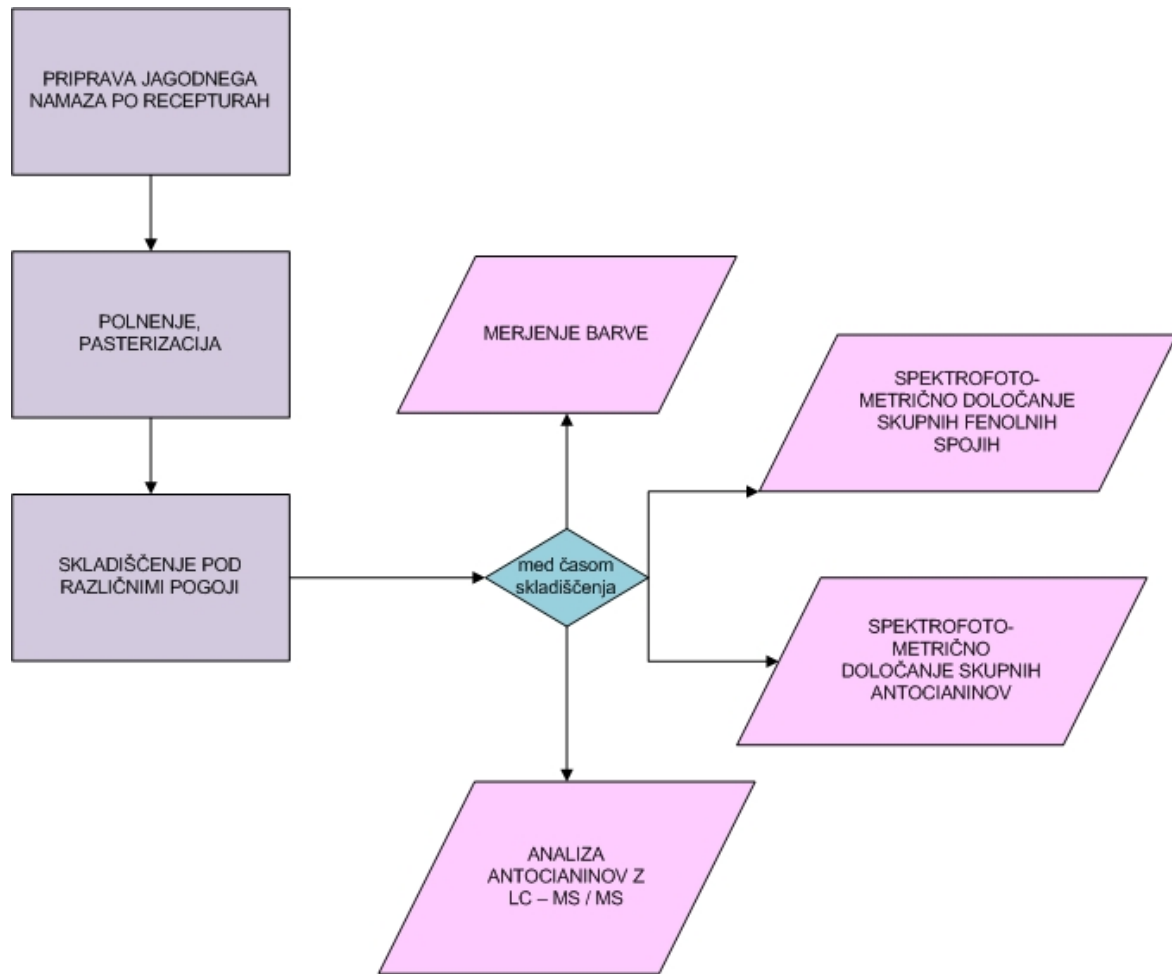
Različice pripravljenih jagodnih namazov:

- osnovna različica A (kontrola), ki je imela 38 % suhe snovi, dodanega 0,6 % pektina, skladiščili smo jo pri 20 °C v temnem prostoru;
- različica B, ki je imela 38 % suhe snovi, dodanega 1,2 % pektina, skladiščili smo jo pri 20 °C v temnem prostoru;
- različica C, ki je imela 43 % suhe snovi (dodanih 33 % saharoze), dodanega 0,6 % pektina, skladiščili smo jo pri 20 °C v temnem prostoru;
- različica D, ki je imela 38 % suhe snovi (dodanih 27 % saharoze), dodanega 0,6 % pektina, skladiščili smo jo pri 4 °C v temnem prostoru;
- različica E, ki je imela 38 % suhe snovi, dodanega 0,6 % pektina, skladiščili smo jo pri 20 °C v temnem prostoru, pri zapiranju kozarčkov smo z dodatkom tekočega dušika izpodrinili zrak iz praznega prostora nad namazom v kozarcu;
- različica F, ki je imela 38 % suhe snovi, dodanega 0,6 % pektina in dodanega 0,09 % naravnega barvila, skladiščili smo jo pri 20 °C v temnem prostoru;
- različica G, ki je imela 38 % suhe snovi, dodanega 0,6 % pektina, skladiščili smo jo pri 20 °C na dnevni svetlobi.

Namaz smo pripravili v 7 različicah, za vsako 6 paralelk. Razlike med posameznimi različicami so prikazane v spodnji preglednici.

Preglednica 3: Različice jagodnega namaza in režimi skladiščenja
Table 3: Strawberry spread versions and storage conditions

Vzorec	Opis vzorca	Suha snov (%-w/w)	Pektin (%-w/w)	Dušik	Naravno barvilo (%-w/w)	Temperatura (°C)	Svetloba
A	Osnovna receptura (kontrola)	38	0,6	/	/	20	/
B	Dodan pektin	38	1,2	/	/	20	/
C	Dodan sladkor	43	0,6	/	/	20	/
D	Skladiščenje pri nižji temperaturi	38	0,6	/	/	4	/
E	Skladiščenje z dušikom	38	0,6	+	/	20	/
F	Dodano naravno barvilo	38	0,6	/	0,09	20	/
G	Skladiščenje pri dnevni svetlobi	38	0,6	/	/	20	+



Slika 7: Shema poskusa
Figure 7: Experiment chart



Slika 8: Tehnološka oprema za pripravo jagodnega namaza
Figure 8: Technological equipment for strawberry spread production



Slika 9: Vzorci jagodnega namaza takoj po pripravi
Figure 9: Strawberry spread samples right after preparation

3.2.2 Merjenje barve

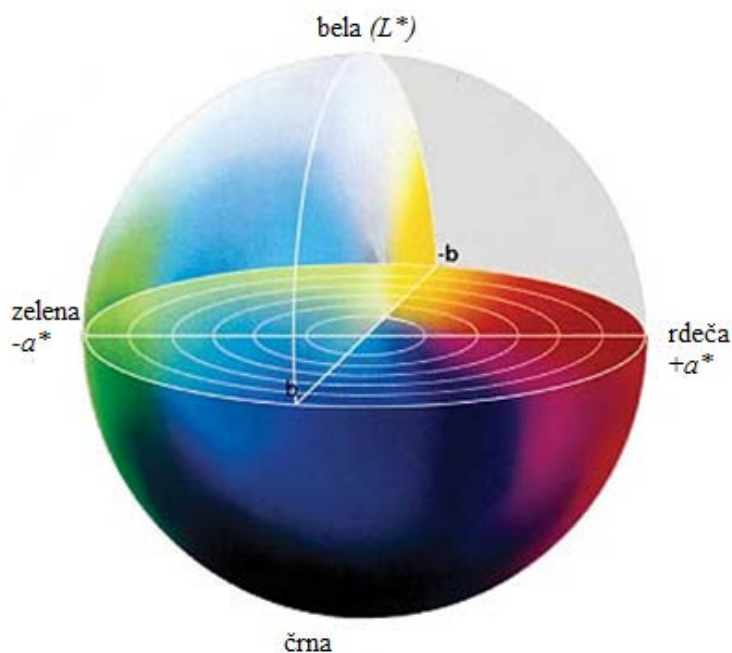
Barvo jagodnega namaza smo merili s Konica Minolta CR – 400 Chroma meter (Osaka, Japonska). Inštrument je bil kalibriran na standardizirano belo podlago. Meritve temeljijo na merjenju barve v izpeljanem L^* , a^* , b^* CIE (Commission Internationale de l'Éclairage) sistemu, kjer L^* vrednost opisuje svetlost vzorca ($+L^*$ svetlejši, $-L^*$ temnejši), parametra a^* in b^* pa določata odtenek barve ($+a^*$ bolj rdeč, $-a^*$ bolj zelen; $+b^*$ bolj rumen, $-b^*$ bolj moder). Spekter od vzorca odbite barve se analizira v detektorju in primerja z odbojem od bele površine ($L^* = 92,8$, $a^* = 0,3136$, $b^* = 0,3196$), s katero je pred meritvijo instrument potrebno umeriti. Rezultat meritve podamo v obliki treh parametrov L^* , a^* in b^* , s katerimi na osnovi spektra odbite svetlobe opišemo barvo površine (Simčič, 1995).

Pred vsako meritvijo je potrebno aparat umeriti na beli standard.

Barvo jagodnega namaza smo merili na šestih straneh steklenega kozarca v treh paralelkah; enkrat tedensko, 19 tednov zaporedoma.



Slika 10: Kromometer Minolta CR 400/41
Figure 10: Chromometer Minolta CR 400/41



Slika 11: CIE – L^* , a^* , b^* barvni sistem (Echo productions, 1999)
Figure 11: CIE – L^* , a^* , b^* color system (Echo productions, 1999)

3.2.3 Spektrofotometrično določanje skupnih antocianinov

Antocianini absorbirajo svetlobo vidnega spektra, zato lahko z merjenjem absorbance pri ustrezni valovni dolžini neposredno določimo njihovo koncentracijo v vzorcu.

Ekstrakcija antocianinov iz jagodnega namaza je enaka postopku ekstrakcije fenolnih spojin. V centrifugirko smo natehtali 5 g namaza in 10 ml ohlajenega metanola. Raztopino smo 90 minut stresali na stresalniku pri sobni temperaturi, sledilo je 10 min centrifugiranja pri 1700 g. Supernatant smo prenesli v 15 ml centrifugirko in ga do določanja vsebnosti antocianinov shranjevali v zamrzovalniku.

Priprava vzorca: v 1,5 ml kiveto smo odpipetirali 1000 μ l metanolnega ekstrakta jagodnega namaza (oz. 1000 μ l metanola za slepi vzorec) in 500 μ l pripravljene raztopine (metanol, bidestilirana voda MiliQ in HCl v razmerju 70:30:1). Kiveto smo pokrili s parafilmom ter dobro premešali. Absorbanco smo merili pri 500 nm proti slepemu vzorcu z metanolom. Koncentracijo skupnih antocianinov smo odčitali iz umeritvene krivulje in jo izrazili kot pelargonidin 3 - glukozid v mg/100 g jagodnega namaza.

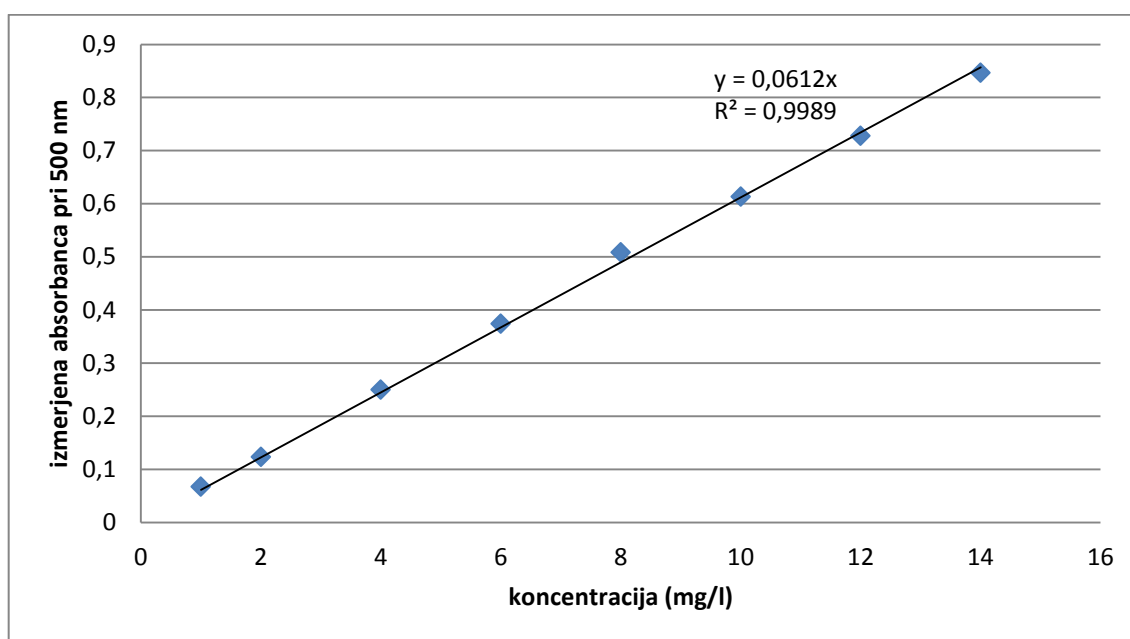
Umeritveno krivuljo za določanje skupnih antocianinov smo pripravili iz raztopin znanih koncentracij standarda za antocianine – pelargonidin 3 - glukozi. Pripravili smo raztopine pelargonidin 3 - glukozi s koncentracijo od 1 – 15 mg/l. Nato smo pripravili vzorce po enakem postopku kot realne vzorce, le da smo namesto metanolnega ekstrakta jagodnega namaza dodali raztopino pelargonidin 3 - glukozi znane koncentracije. Izmerili smo absorbanco pri 500 nm in izrisali umeritveno krivuljo.

Oprema in pribor:

- laboratorijska steklovina (čaše, bučke, centrifugirke, kivete – 1,5 ml)
- parafilm (Pechiney)
- filtri (Chromofil CA 45/25, Macherey-Nagel, 0,45 μm)
- štoparica
- avtomatske pipete (Transferpette 10 μl – 10 ml) in nastavki (Ratiolab)
- stresalnik (IKA HS 260 basic, Steufen)
- centrifuga (Centrifuge 5810, Eppendorf)
- spektrofotometer (OGB 80 EDD-UNI)

Reagenti in kemikalije:

- HCl (37 %, Carlo Erba)
- metanol (Merck)
- MiliQ (Milipore bidestilirana voda)
- standard pelargonidin 3 - glukozi (Calistephin chloride, Extrasynthese)



Slika 12: Umeritvena krivulja za določanje skupnih antocianinov
Figure 12: Calibration curve for total anthocyanins

3.2.4 Analiza posameznih antocianinov z LC-MS/MS

Ekstrakcija antocianinov iz jagodnega namaza

V 15 ml centrifugirko smo zatehtali 2 g vzorca jagodnega namaza in dodali 5 ml metanola. Centrifugirke so se stresale 90 min, nato smo centrifugirali pri 3000 g in prenesli celoten supernatant (1) v 10 ml merilno bučko. Sledila je druga ekstrakcija: sedimentu smo dodali še 5 ml metanola in stresali še 60 min. Po centrifugiranju smo supernatant (2) dodali supernatantu (1) v 10 ml bučki in dopolnili z metanolom do oznake.

Za analizo posameznih antocianov smo uporabili 2 ml metanolnega ekstrakta, ki smo ga predhodno odparili in ga raztopili v 3 ml vode.

Ekstrakcija s trdno fazo (SPE)

Čiščenje vzorcev (ekstraktov) smo opravili z metodo ekstrakcije s trdno fazo (SPE - solid phase extraction). Uporabili smo kolone Strata - X 100 mg (Phenomenex). Celoten vzorec (3 ml) smo injicirali na kolono, ki smo jo predhodno kondicionirali s 3 ml metanola (Merck) in uravnotežili s 3 ml vode. Na sorbent ujete antociane smo eluirali s 3 ml metanola (Merck). Dobljene vzorce smo nato do suhega evaporirali v zmernem toku dušika ter končni ekstrakt tik pred določevanjem na LC-MS/MS sistemu raztopili v 1 ml 50 % MeOH (Merck, 1.06007) in vse skupaj prenesli v vialo.

Reagenti:

- acetonitril, LC/MS grade (Merck)
- metanol (Merck)
- dvakrat destilirana voda Milli-Q (Millipore S.A.)
- mravljinčna kislina (Merck)
- standardi: pelargonidin 3 - glikozid (Extrasynthese)

Aparature:

HPLC sistem:	Agilent 1100
Binarna gradientna črpalka:	Agilent 1100, G1312A
Avtomatski podajalnik:	Agilent 1100, G1330B
Predkolona:	Gemini C18 (4,0 × 2,0 mm) (Phenomenex)
Kolona:	Gemini C18 (150 × 2,00 mm; 3 μm) (Phenomenex)
Detektor:	masni spektrometer (Micromass Quattro Micro mass API z elektro-razpršilno ionizacijo (ESI) (Waters)
Program za obdelavo podatkov:	MassLynx V4.1 (Micromass, 2004)

Kromatografski pogoji ločbe:

Mobilna faza A: 3 % mravljinčna kislina v vodi Milli-Q
Mobilna faza B: acetonitril
Volumen injiciranja: 10 µl
Temperatura kolone: 40 °C
Gradient: 0 - 2 min, 7 % - 9 % B; 2 - 4 min, 9 % - 11 % B; 4 - 12 min, 11 % - 12 % B; 12 - 13 min, 12 % B; 13 - 25 min, 12 % - 13 % B; 25 - 40 min, 13 % - 100 % B
Pretok: 0 - 4 min, 0,250 ml/min; 4 - 13 min, 0,225 ml/min; 13 - 40 min, 0,200 ml/min

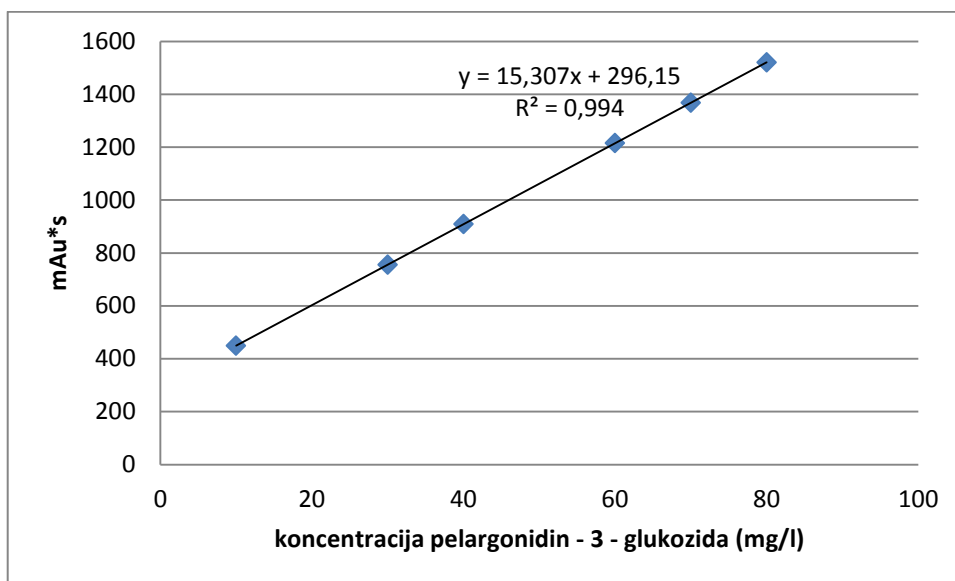
Pogoji MS/MS detekcije:

Ionizacija: pozitivna ionizacija (ESI+)
Pogoji ionizacije (ESI+): napetost kapilare: 3,0 kV
napetost vhodne leče: 20 V
ekstraktor: 5 V
temperatura izvora: 100 °C
temperatura razpršilnega plina dušika: 350 °C
pretok razpršilnega plina dušika: 400 l/h
pretok plina dušika vhodne leče: 40 l/h
energija trkalne celice: 30 V

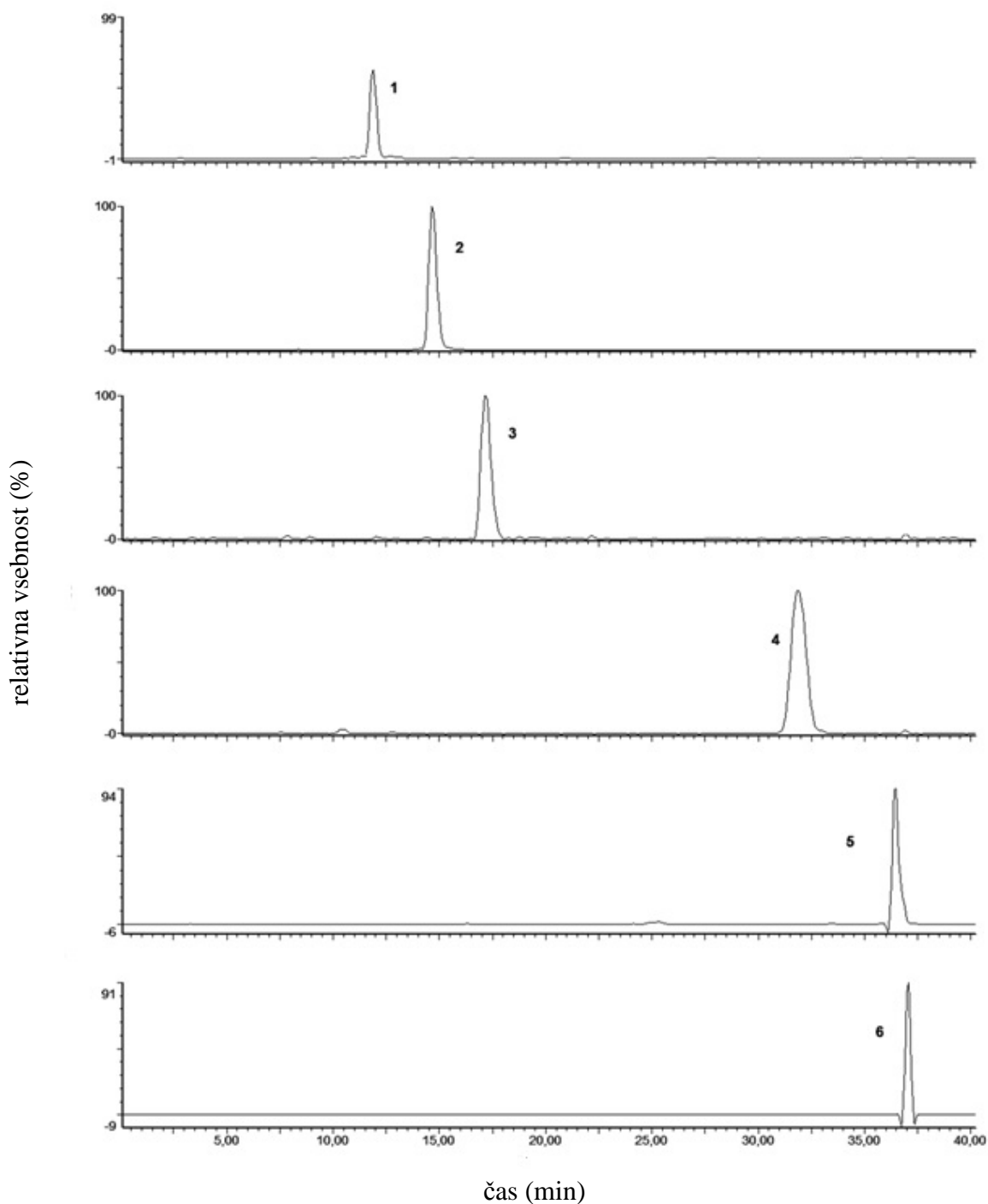
Posamezne antocianine smo določili s primerjavo njihovih molskih mas, m/z vrednosti in retencijskih časov (Preglednica 4). Kvantitativno smo jih določili iz umeritvene krivulje s standardnim dodatkom pelargonidin 3 - glukozi, ki je pokrivala koncentracije od 10 mg/l do 80 mg/l (Slika 13).

Preglednica 4: Retencijski časi, molske mase in m/z vrednosti posameznih antocianinov
Table 4: Mass spectrometric data and retention times of the individual anthocyanins

Antocianin	M _w (g/mol)	MS/MS (m/z)	Retencijski čas (min)
Cianidin 3 - glukozi	449	287	11.8
Pelargonidin 3 - glukozi	433	271	14.0
Pelargonidin 3 - rutinozi	579	271	16.2
Pelargonidin 3 - (6"-malonil glukozi)	519	271	29.9
Cianidin 3 - (6"-malonil glukozi)	535	287	36.4
Cianidin 3 - (6"-sukcinil glukozi)	550	287	37.0



Slika 13: Umeritvena krivulja s standardnim dodatkom pelargonidin 3 - glukozida
Figure 13: Calibration curve with standard supplement of pelargonidin 3 - glucoside



Slika 14: LC-MS/MS kromatogrami posameznih antocianinov: cianidin 3 – glukozid (1), pelargonidin 3 – glukozid (2), pelargonidin 3 – rutinozid (3), pelargonidin 3 – (6'' – malonil glukozid) (4), cianidin 3 – (6'' – malonil glukozid) (5), cianidin 3 – (6'' – sukcinil glukozid) (6)

Figure 14: LC-MS/MS chromatograms of individual anthocyanins: cyanidin 3 – glucoside (1), pelargonidin 3 – glucoside (2), pelargonidin 3 – rutinoside (3), pelargonidin 3 – (6'' – malonyl glucoside) (4), cyanidin 3 – (6'' – malonyl glucoside) (5) and cyanidin 3 – (6'' – succinyl glucoside) (6).

3.2.5 Spektrofotometrično določanje skupnih fenolnih spojin

Določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin temelji na tvorbi modro obarvanega kompleksa s Folin - Ciocalteujevim reagentom. Omenjeni kompleks smo kvantitativno ovrednotili z merjenjem absorbance.

Skupne fenolne spojine smo določali z redukcijo kislin oz. oksidacijo fenolov (Folin – Ciocalteu reagent) (Folin and Denis, 1912) v modre pigmente, ki jih tvorijo fenolne spojine v alkalnem mediju (Rigo in sod., 2000). Določene komponente F – C reagenta v reducirani obliki absorbirajo pri valovni dolžini okoli 700 nm. Njihova koncentracija je premosorazmerna s koncentracijo fenolnih spojin v vzorcu. Ker se absorbanca linearno spreminja s koncentracijo, saj velja Beer – Lambertov zakon, smo lahko s standardnimi raztopinami določene fenolne spojine pripravili umeritveno krivuljo, iz katere smo odčitali skupno koncentracijo fenolnih spojin v vzorcu.

Ekstrakcija: točno 5 g jagodnega namaza smo zatehtali v centrifugirko in dodali (zatehtanih) 10 ml ohlajenega metanola. Vzorec z metanolom smo stresali 1,5 ure na stresalniku (IKA HS 260 basic, Staufen, Nemčija). Ekstrakciji je sledilo centrifugiranje pri 1700 g, 10 minut (centrifuga Centrifuge 5810, Eppendorf, Nemčija). Supernatant smo po ekstrakciji in centrifugiranju prelili v novo centrifugirko in do nadaljnje analize shranjevali pri temperaturi - 20 °C.

Priprava vzorcev: v 5 ml centrifugirko smo odpipetirali 300 µl ekstrakta (vzorec smo 10 – krat redčili) oz. metanol (za slepi vzorec), dodali 250 µl Folin – Ciocalteu reagenta, 1000 µl 10 % Na₂CO₃ ter 3450 µl bidestilirane vode MiliQ. Reagente smo dobro premešali in pustili točno 60 min, po tem času pa filtrirali skozi 0,45 µm filter (minisart RC filter, Sartorius, Nemčija) in izmerili absorbanco pri 700 nm proti slepemu vzorcu. Koncentracijo skupnih fenolnih spojin smo odčitali iz umeritvene krivulje in je izražena kot ekvivalent galne kisline v mg/100 g jagodnega namaza.

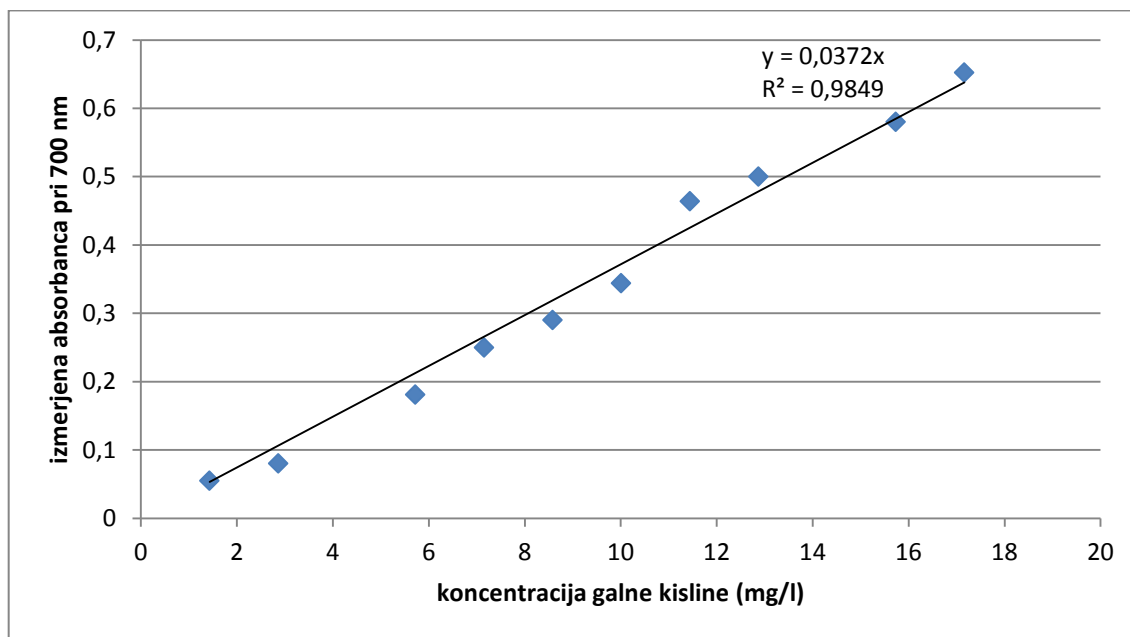
Priprava umeritvene krivulje: standard za umeritveno krivuljo nam predstavlja galna kislina. Umeritveno krivuljo za določanje skupnih fenolnih spojin smo pripravili iz raztopin znanih koncentracij galne kisline. Pripravili smo raztopine galne kisline s koncentracijo od 1 – 20 mg/l. V 5 ml centrifugirko smo odpipetirali 300 µl pripravljenih raztopin galne kisline znanih koncentracij, dodali 250 µl Folin – Ciocalteu reagenta, 1000 µl 10 % Na₂CO₃ ter 3450 µl bidestilirane vode MiliQ. Izmerili smo absorbanco pri 700 nm in izrisali umeritveno krivuljo.

Reagenti:

- Folin – Ciocalteaujev reagent (Sigma – Aldrich)
- metanol (Merck)
- standard galne kisline (Sigma Aldrich)
- 10 % raztopina Na_2CO_3 (Merck)
- destilirana voda (MiliQ – Milipore bidestilirana)

Oprema in pribor:

- laboratorijska steklovina (čaše, bučke, centrifugirke, kivete – 1,5 ml)
- filtri (Chromofil CA 45/25, Macherey-Nagel, 0,45 μm)
- štoparica
- avtomatske pipete (Transferpette 10 μl – 10 ml) in nastavki (Ratiolab)
- stresalnik (IKA HS 260 basic, Steufen),
- centrifuga (Centrifuge 5810, Eppendorf),
- spektrofotometer (OGB 80 EDD-UNI).



Slika 15: Umeritvena krivulja za določanje skupnih fenolnih spojin

Figure 15: Calibration curve for total phenols

3.2.6 Statistična analiza

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Osnovne statistične parametre smo izračunali s postopkom MEANS, s postopkom UNIVARIATE pa smo podatke testirali na normalnost porazdelitve (SAS Software, 1999). Rezultati poskusa so bili analizirani po metodi najmanjših kvadratov s postopkom GLM (General Linear Model).

Za analizo vpliva različne recepture in časa skladiščenja na instrumentalno merjenje parametre barve L^* , a^* , b^* , vsebnost skupnih in posameznih antocianinov ter skupnih fenolnih snovi v jagodnih namazih smo uporabili statistični model, v katerega smo vključili fiksen vpliv recepture (R: A – G), časa skladiščenja (C: 6, 9, 12, 16 in 19 tednov) in ponovitve (1 – 6) ter interakcijo recepture*časa skladiščenja

$$y_{ijkl} = \mu + R_i + C_j + R*C_{ij} + Pon_k + e_{ijk} \quad \dots(1)$$

Pričakovane povprečne vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane s testom LSM in primerjane pri 5 % tveganju. Pearsonovi korelacijski koeficienti med parametri jagodnih namazov so izračunani s postopkom CORR.

Na podlagi naslednjih enačb smo izračunali spremembo svetlosti (ΔL^*) in spremembo indeksa nasičenosti barve (ΔC^*), pri čemer smo za referenčni vzorec uporabljali kontrolni vzorec jagodnega namaza, izdelanega po recepturi A oz. kontrolni vzorec jagodnega namaza, izdelanega po recepturi A ob času skladiščenja 0 (A_0) (Moore, 1988).

$$\Delta L^* = L^*_{ref} - L^* \quad \dots(2)$$

$$\Delta C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} - (a^*_{ref}{}^2 + b^*_{ref}{}^2)^{1/2} \quad \dots(3)$$

4 REZULTATI

V poglavju Rezultati smo prikazali spremembe barve jagodnega namaza (vrednosti L^* , a^* in b^*), spremembo vsebnosti skupnih in posameznih antocianinov ter spremembe vrednosti skupnih fenolnih spojin v času skladiščenja za vse različice jagodnega namaza.

Vsi podatki so statistično obdelani, rezultati so prikazani v preglednicah.

4.1 INSTRUMENTALNO MERJENJE BARVE JAGODNEGA NAMAZA

V preglednicah 5, 6 in 7 so prikazane vrednosti barvnih parametrov L^* , a^* in b^* , ki smo jih izmerili s kromometrom Minolta. Med časom skladiščenja (19 tednov) smo vsak teden instrumentalno merili barvo vseh 7 različic jagodnega namaza, ki smo jih pripravili po različnih recepturah in skladiščili pri različnih pogojih. Izmerjene vrednosti smo statistično obdelali in primerjali vsakega od izmerjenih barvnih parametrov.

4.1.1 Barvni parameter a^*

V preglednici 5 so zbrane izmerjene vrednosti barvnega parametra a^* za vse različice jagodnega namaza, ki smo jih merili takoj po pripravi (ob času 0) in kasneje v tedenskih razmikih. Takoj po pripravi so se različice med seboj nekoliko razlikovale: najmanj rdeče oz. najmanjše vrednosti barvnega parametra a^* smo izmerili pri različici C (večja vsebnost sladkorja) in različici F (dodatek naravnega barvila), najbolj rdeči pa sta bili različici A in E.

Že po enem tednu skladiščenja smo pri različici D (skladiščenje pri 4 °C) izmerili statistično značilno največjo vrednost barvnega parametra a^* . Različica D je bila značilno najbolj rdeča v primerjavi z ostalimi različicami v vseh nadaljnjih meritvah do konca skladiščenja po devetnajstih tednih. Vrednosti barvnega parametra a^* so se praktično pri vseh ostalih različicah v vsakem od tedenskih intervalov različno statistično značilno spreminjale. Izstopala je različica C, ki je bila v vseh časovnih intervalih značilno najmanj rdeča med vsemi različicami jagodnega namaza.

Vrednosti barvnega parametra a^* posameznih različic jagodnega namaza so se v devetnajstih tednih skladiščenja različno intenzivno spreminjale. Za vse različice lahko trdimo, da so med skladiščenjem postajale manj rdeče. Pri vseh različicah, razen pri različici D, smo opazili zelo podoben trend zmanjševanja vrednosti barvnega parametra a^* . Po prvih dveh tednih se je začela vrednost barvnega parametra a^* statistično značilno zmanjševati v vsakem časovnem terminu pri vseh različicah jagodnega namaza. Pri različici D smo razen značilno manjše vrednosti barvnega parametra a^* takoj po pripravi opazili prve značilne spremembe rdeče barve šele po šestih tednih skladiščenja. Tudi v

nadaljevanju so vrednosti barvnega parametra a^* nekoliko nihale, pomembnejše spremembe pa smo opazili po petnajstih tednih skladiščenja.

Končna vrednost barvnega parametra a^* pri različici D je bila po zaključenem skladiščenju bistveno večja kot pri ostalih različicah jagodnega namaza, kar pomeni, da je bila različica D najbolj rdeča. Med ostalimi različicami jagodnega namaza je bila različica F (dodatek naravnega barvila) najbolj rdeča - kljub bistveno nižji vrednosti barvnega parametra a^* .

Preglednica 5: Vpliv različice jagodnega namaza in časa skladiščenja na instrumentalno izmerjene parametre barve jagodnega namaza - vrednost parametra a^*

Table 5: The influence of strawberry spread version and time of storage on instrumentally measured parameters – parameter a^* values

Čas sklad. (tedni)	Različica jagodnega namaza							p_R (SEM)
	A	B	C	D	E	F	G	
0	12,57Aa	12,23Ba	10,49Db	12,18Be	12,60Aa	11,81Cb	12,36Ba	*** (0,70)
1	12,65Ba	12,35Ca	10,66Ea	13,10Aa	12,66Ba	12,01Da	12,44Ca	*** (0,53)
2	12,28Bb	12,10Cb	10,48Eb	13,03Aba	12,42Bb	11,79Db	12,07Cb	*** (0,57)
3	12,04Bc	11,83Cc	10,30Ec	13,13Aa	12,13Bc	11,56Dc	11,80Cc	*** (0,55)
4	11,51Bd	11,36Cd	9,97Ed	13,12Aa	11,63Bd	11,15Dd	11,07Dd	*** (0,54)
5	10,84Ce	10,76DCe	9,58Fe	13,06Aba	11,01Be	10,68De	10,18Ee	*** (0,54)
6	10,21Cf	10,17Cf	9,20Df	13,03Aba	10,40Bf	10,19Cf	9,34Df	*** (0,55)
7	9,49Cg	9,53CBg	8,75Dg	12,77Adc	9,69Bg	9,67Bg	8,74Dg	*** (0,57)
8	8,91Dh	9,04CDh	8,44Eh	12,70Adc	9,18CBh	9,33Bh	8,27Fh	*** (0,58)
9	8,30Di	8,51Ci	8,01Ei	12,68Ad	8,60Ci	8,90Bi	7,85Fi	*** (0,60)
10	7,86Dj	8,06Cj	7,62Ej	12,79Adc	8,17Cj	8,58Bj	7,52Ej	*** (0,59)
11	7,48Dk	7,71Ck	7,27Ek	12,89Abc	7,81Ck	8,32Bk	7,24Ek	*** (0,57)
12	7,13Dl	7,42Cl	7,00Dl	13,00Aba	7,45Cl	8,00Bl	7,03Dl	*** (0,58)
13	6,85Dm	7,11Cm	6,70Dm	13,08Aba	7,16Cm	7,75Bm	6,80Dm	*** (0,59)
14	6,43EDn	6,70Cn	6,29En	12,76Adc	6,74Cn	7,37Bn	6,48Dn	*** (0,55)
15	6,15FEo	6,47Co	6,04Fo	12,34Ae	6,36DCo	7,13Bo	6,22DEo	*** (0,60)
16	5,95Dp	6,24Cp	5,80Ep	12,19Ae	6,20Cp	6,87Bp	5,98Dp	*** (0,57)
17	5,73Dq	6,00Cq	5,56Eq	11,87Af	6,00Cq	6,66Bq	5,81Dq	*** (0,55)
18	5,56Er	5,83Cr	5,36Fr	11,57Ag	5,77DCr	6,45Br	5,67DEr	*** (0,55)
19	5,20DEs	5,50Cs	5,08Es	10,68Ah	5,36DCs	6,09Bs	5,24DEs	*** (0,64)
P_T (SEM)	*** (0,55)	*** (0,47)	*** (0,39)	*** (0,66)	*** (0,50)	*** (0,49)	*** (0,46)	

Značilnost vpliva: *** $p < 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv, ** $p < 0,01$ statistično visoko značilen vpliv, * $p < 0,05$ statistično značilen vpliv, nz – $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv; p_R – statistična verjetnost vpliva recepture; p_T – statistična značilnost vpliva časa; SEM: standardna napaka povprečja; vrednosti z različno nadpisano črko (a – s) znotraj stolpca po parametru se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$; značilnost razlik med časi skladiščenja); srednje vrednosti z različno črko (A – F) znotraj vrstice po parametru se statistično razlikujejo (značilnost razlik med različicami).

4.1.2 Barvni parameter b^*

V preglednici 6 so zbrane izmerjene vrednosti barvnega parametra b^* za vse različice jagodnega namaza, ki smo jih merili takoj po pripravi (ob času 0) in kasneje v tedenskih razmikih. Absolutno gledano so se vrednosti barvnega parametra b^* med vsemi tremi barvnimi parametri, ki smo jih izmerili pri jagodnih namazih med skladiščenjem, najmanj spreminjali.

Takoj po pripravi smo podobno kot pri barvnem parametru a^* izmerili različne vrednosti barvnega parametra b^* ; najmanj rumena oz. najmanjše vrednosti barvnega parametra b^* smo izmerili pri različici C (večja vsebnost sladkorja) in različici F (dodatek naravnega barvila), najbolj rumeni pa sta bili različica A in E.

Pri izmerjenih vrednostih barvnega parametra b^* nismo opazili podobnega vzorca kot pri vrednostih barvnega parametra a^* pri primerjavah različic jagodnega namaza. Največje vrednosti barvnega parametra b^* so bile v različnih časovnih intervalih skladiščenja različno razporejene med različicami jagodnega namaza. Trdimo lahko, da sta bili ves čas najmanj rumeni različici C in F. Po zaključenem skladiščenju sta bili značilno najbolj rumeni različici A in B.

Vrednosti barvnega parametra b^* posameznih različic jagodnega namaza so se v devetnajstih tednih skladiščenja različno intenzivno spreminjale. Za vse različice lahko trdimo, da so med skladiščenjem postajale značilno bolj rumene oz. manj modre. Tudi pri spremembah barvnega parametra b^* v različnih časovnih intervalih pri posameznih različicah jagodnega namaza nismo opazili podobnega trenda kot pri vrednostih barvnega parametra a^* . V devetnajstih tednih skladiščenja se je vrednost barvnega parametra b^* najmanj spremenila pri različicah F in D.

Preglednica 6: Vpliv različice jagodnega namaza in časa skladiščenja na instrumentalno izmerjene parametre barve jagodnega namaza - vrednost parametra b^*

Table 6: The influence of strawberry spread version and time of storage on instrumentally measured parameters – parameter b^* values

Čas sklad. (tedni)	Različica jagodnega namaza							$p_R(\text{SEM})$
	A	B	C	D	E	F	G	
0	6,05Anm	5,74Cn	4,80Ej	5,67Ch	5,94BAh	5,10Di	5,89Bi	*** (0,54)
1	6,00Bn	5,76Cmn	4,79Ej	6,13Afe	5,94Bh	5,11Di	5,95Bi	*** (0,43)
2	6,00An	5,79Bmn	4,79Dj	6,05Af	5,97Ah	5,08Ci	5,98Ai	*** (0,46)
3	6,07Bnm	5,87Cml	4,81Ej	6,28Ae	6,01Bh	5,11Di	6,13Bh	*** (0,45)
4	6,13BAm	5,92Cl	4,81Ej	6,25Ae	6,04Bh	5,09Di	6,21Ah	*** (0,44)
5	6,23Bl	6,04Ck	4,84Ej	6,22Be	6,17Bg	5,16Di	6,36Ag	*** (0,45)
6	6,36BAk	6,14Ck	4,88Ej	6,14Cfe	6,24BCg	5,20Di	6,45Ag	*** (0,45)
7	6,50Bj	6,31Cj	4,99Fi	6,02Dfg	6,42CBf	5,34Eh	6,67Af	*** (0,47)
8	6,63Bi	6,45Ci	5,08Fi	5,89Dg	6,51CBf	5,35Eh	6,79Af	*** (0,49)
9	6,78Bh	6,61Ch	5,19Fh	6,16Dfe	6,76Be	5,54Eg	6,92Ae	*** (0,48)
10	6,84Bh	6,73Bg	5,26Eh	6,24Ce	6,81Be	5,57Dg	7,01Ae	*** (0,47)
11	7,01Bg	6,84Cg	5,38Fg	6,44Dd	6,84Ce	5,65Efg	7,15Ad	*** (0,49)
12	7,12Bf	6,97Cf	5,51Ff	6,60Dc	7,00CBd	5,74Efe	7,29Ac	*** (0,49)
13	7,24Be	7,10Ce	5,62Fe	6,74Dcb	7,18CBc	5,82Ede	7,39Abac	*** (0,49)
14	7,36Bd	7,21Cd	5,76Fd	6,68Dcb	7,27CBcb	5,93Edc	7,50Aa	*** (0,47)
15	7,49Ac	7,41Ac	5,89Cc	6,60Bc	7,34Ab	6,02Cc	7,51Aa	*** (0,56)
16	7,47Ac	7,36Ac	5,87Cc	6,71Bcb	7,36Ab	5,97Cc	7,45Aba	*** (0,49)
17	7,70Ab	7,56Ab	6,12Db	6,82Cb	7,60Aa	6,13Db	7,42Bba	*** (0,50)
18	7,80Aa	7,65Bba	6,19Eba	7,00Da	7,63Ba	6,19Eba	7,43Cba	*** (0,53)
19	7,90Aa	7,74BAa	6,25Ea	6,84Db	7,69Ba	6,26Ea	7,32Cbc	*** (0,65)
$P_T(\text{SEM})$	*** (0,38)	*** (0,41)	*** (0,37)	*** (0,53)	*** (0,43)	*** (0,40)	*** (0,45)	

Značilnost vpliva: *** $p < 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv, ** $p < 0,01$ statistično visoko značilen vpliv, * $p < 0,05$ statistično značilen vpliv, nz – $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv; p_R – statistična verjetnost vpliva recepture; p_T – statistična značilnost vpliva časa; SEM: standardna napaka povprečja; vrednosti z različno nadpisano črko (a – n) znotraj stolpca po parametru se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$; značilnost razlik med časi skladiščenja); srednje vrednosti z različno črko (A – F) znotraj vrstice po parametru se statistično razlikujejo značilnost razlik med različicami).

4.1.3 Barvni parameter L^*

V preglednici 7 so zbrane izmerjene vrednosti barvnega parametra L^* za vse različice jagodnega namaza, ki smo jih merili takoj po pripravi (ob času 0) in kasneje v tedenskih razmikih. Takoj po pripravi smo podobno kot pri barvnem parametru a^* izmerili različne vrednosti barvnega parametra L^* ; najbolj temni oz. najmanjše vrednosti barvnega parametra L^* smo izmerili pri različici C (večja vsebnost sladkorja) in različici F (dodatek naravnega barvila), najbolj svetle pa so bile različica A, B, E in G.

Preglednica 7: Vpliv različice jagodnega namaza in časa skladiščenja na instrumentalno izmerjene parametre barve jagodnega namaza - vrednost parametra L^*

Table 7: The influence of strawberry spread version and time of storage on instrumentally measured parameters – parameter L^* values

Čas sklad. (tedni)	Različica jagodnega namaza							p_R (SEM)
	A	B	C	D	E	F	G	
0	24,53Am	24,50Am	23,55Dm	24,07Bi	24,42An	23,78Cj	24,58Al	*** (0,73)
1	24,88Al	24,86Al	23,77Cl	24,28Bigh	24,82Am	24,13Bi	24,89Ak	*** (0,61)
2	25,11BAk	25,07BAk	23,88Dl	24,35Cghf	25,00Bl	24,34Ch	25,18Aj	*** (0,61)
3	25,42Bj	25,39Bj	24,08Dk	24,17Dih	25,31Bk	24,61Cg	25,64Ai	*** (0,60)
4	25,76Bi	25,67Bi	24,29Dj	24,22Dih	25,64Bj	24,87Cf	26,12Ah	*** (0,60)
5	26,08Bh	26,00Bh	24,51Di	24,19Eih	25,92Bi	25,13Ce	26,53Ag	*** (0,60)
6	26,55Bg	26,40CBg	24,84Eh	24,48Fegdf	26,34Ch	25,48Dd	26,94Af	*** (0,60)
7	26,87Bf	26,74Bf	25,05Dg	24,57Eedf	26,71Bg	25,73Cc	27,26Ae	*** (0,61)
8	27,18Be	27,00Ce	25,32Ef	24,62Fcd	26,99Cf	26,02Db	27,48Ad	*** (0,60)
9	27,39Bd	27,24CBd	25,47Ee	24,60Fed	27,14Ce	26,12Db	27,62Adc	*** (0,64)
10	27,57BAc	27,36BCdc	25,66Ed	24,58Fedf	27,29Cd	26,00Db	27,69Abc	*** (0,92)
11	27,63Abc	27,44Bbc	25,79Ddc	24,50Eegdf	27,36Bdc	26,16Cb	27,71Abc	*** (0,63)
12	27,73Abac	27,54Aba	25,93Cbc	24,37Deghf	27,50Abac	26,40Ba	27,57Adc	*** (0,96)
13	27,72Abac	27,58BAba	25,93Dbc	24,20Eih	27,49Bbc	26,38Ca	27,73Abc	*** (0,65)
14	27,75Aba	27,66BAa	26,04DBa	24,50Eegdf	27,54Bba	26,46Ca	27,74Abc	*** (0,61)
15	27,78BAba	27,62BCa	26,00Eba	24,55Fedf	27,48Cbc	26,45Da	27,90Aba	*** (0,72)
16	27,81Aa	27,71Aa	26,13Ca	24,54Dedf	27,65Aa	26,52Ba	27,73Abc	*** (0,61)
17	27,79Aba	27,66BAa	26,10Da	24,81Ecb	27,55Bba	26,44Ca	27,78Abac	*** (0,63)
18	27,70BAbac	27,62BAa	26,09Da	24,90Eb	27,55Bba	26,42Ca	27,79Abac	*** (0,64)
19	27,77BAba	27,62Ba	26,07DBa	25,33Ea	27,62Bba	26,45Ca	27,96Aa	*** (0,75)
P_T (SEM)	*** (0,56)	*** (0,53)	*** (0,53)	*** (0,73)	*** (0,51)	*** (0,74)	*** (0,72)	

Značilnost vpliva: *** $p < 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv, ** $p < 0,01$ statistično visoko značilen vpliv, * $p < 0,05$ statistično značilen vpliv, nz – $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv, p_R – statistična verjetnost vpliva recepture; p_T – statistična značilnost vpliva časa; SEM: standardna napaka povprečja; vrednosti z različno nadpisano črko (a – n) znotraj stolpca po parametru se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$; značilnost razlik med časi skladiščenja); srednje vrednosti z različno črko (A – F) znotraj vrstice po parametru se statistično značilno razlikujejo (značilnost razlik med različicami).

Opazili smo podoben trend spreminjanja vrednosti barvnega parametra L^* kot pri vrednostih barvnega parametra a^* , ki pa se je vzpostavil šele po petih tednih skladiščenja. Takrat je različica D postala statistično značilno najtemnejša in je v primerjavi z ostalimi različicami taka ostala tudi do konca skladiščenja. Po zaključenem skladiščenju sta bili značilno najsvetlejši različici A in G.

Vrednosti barvnega parametra L^* posameznih različic jagodnega namaza so se v devetnajstih tednih skladiščenja različno intenzivno spreminjale. Za vse različice lahko trdimo, da so med skladiščenjem postajale svetlejše. Opazili smo, da so se vrednosti barvnega parametra L^* pri vseh različicah (razen pri različici D) intenzivneje spreminjale v prvih tednih skladiščenja, kasneje pa so bile spremembe manj intenzivne. V devetnajstih tednih skladiščenja se je vrednost barvnega parametra L^* najmanj spremenila pri različici D.

4.1.4 Spremembe barve ob koncu skladiščenja - slika

Na sliki 16 so prikazane spremembe barve jagodnega namaza vseh 7 različic ob koncu skladiščenja – po 19 tednih.



Slika 16: Primerjava barve posameznih različic jagodnega namaza pri različnih režimih skladiščenja;
fotografirano ob koncu skladiščenja

Figure 16: Color comparison of different strawberry spread during storage – photo was taken at the end of the storage

4.2 VSEBNOST SKUPNIH ANTOCIJANINOV V JAGODNEM NAMAZU

Vsebnost skupnih antocijaninov v vseh različicah jagodnega namaza smo določali po različnih časih skladiščenja (ob času 0 oz. takoj po pripravi, po 6., 12., 16. in 19. tednih skladiščenja). Rezultati spektrofotometričnega določanja vsebnosti skupnih antocijaninov so prikazani v preglednici 8.

Preglednica 8: Vsebnost skupnih antocijaninov v sedmih različicah jagodnega namaza med skladiščenjem
Table 8: Total anthocyanins content in seven different versions of strawberry spread during storage

		vsebnost skupnih antocijaninov (mg pelargonidin 3 – glukozida ekvival. / 100 g jagodnega namaza)							
Čas (teden)	A	B	C	D	E	F	G	$p_R(\text{SEM})$	
0	23,08Aa	23,02Aa	19,26Ba	22,49Aa	23,32Aa	22,80Aa	22,14Aa	** (1,84)	
6	8,55Bb	7,58Bb	8,04Bb	17,27Ab	7,86Bb	8,93Bb	6,78Bb	*** (1,84)	
12	3,85Cc	4,47Cc	4,36Cc	16,61Ab	4,40Cc	6,01Bcb	3,64Cc	*** (1,13)	
16	3,16Bc	3,35Bc	3,69Bc	14,32Ac	3,71Bc	3,77Bc	2,86Bc	*** (1,17)	
19	3,98Bc	3,06Dc	3,66Cc	12,70Ac	3,07Dc	3,73CBc	2,98Dc	*** (0,11)	
$P_T(\text{SEM})$	*** (1,79)	*** (1,47)	*** (1,26)	*** (2,12)	*** (1,26)	*** (1,90)	*** (1,60)		

Značilnost vpliva: *** $p < 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv, ** $p < 0,01$ statistično visoko značilen vpliv, * $p < 0,05$ statistično značilen vpliv, $nz - p > 0,05$ statistično značilen vpliv; p_R – statistična verjetnost vpliva recepture; p_T – statistična značilnost vpliva časa; SEM – standardna napaka povprečja; vrednosti z različno nadpisano črko (a – c) znotraj stolpca po parametru se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$; značilnost razlik med časi skladiščenja); srednje vrednosti z različno črko (A – D) znotraj vrstice po parametru se statistično značilno razlikujejo (značilnost razlik med različicami).

Takoj po pripravi jagodnih namazov je bila vsebnost skupnih antocijaninov pri različicah značilno največja. V vzorcih, ki smo jih skladiščili, smo določili značilno manjše vsebnosti skupnih antocijaninov, ki so se s podaljševanjem skladiščenja značilno in konstantno zmanjševale. Po 16 tednih skladiščenja se vsebnost skupnih antocijaninov praktično pri vseh različicah jagodnega namaza ni več zmanjševala. Bistveno večje vsebnosti oz. manj intenzivne spremembe skupnih antocijaninov smo določili v različici D (skladiščeni pri temperaturi 4 °C).

Ob času skladiščenja 0 (takoj po pripravi), so vse različice vsebovale približno 23 mg skupnih antocijaninov v 100 g jagodnega namaza. Značilno se je razlikovala samo različica C (dodatek sladkorja), ki je vsebovala okrog 19 mg skupnih antocijaninov v 100 g jagodnega namaza. Med skladiščenjem se je vsebnost skupnih antocijaninov podobno zmanjševala v vseh različicah, razen v različici D (skladiščeni pri temperaturi 4 °C), v kateri smo že po 6 tednih skladiščenja določili značilno večjo vsebnost skupnih antocijaninov, kar je veljalo skozi celoten čas skladiščenja. S časom skladiščenja so se pokazale statistično značilne razlike tudi med drugimi različicami. Po 12 tednih skladiščenja je različica D vsebovala največ antocijaninov, sledila ji je različica F (dodatek

naravnega barvila). Enako je bilo po 16 in 19 tednih skladiščenja. Značilno manj skupnih antocianinov so vsebovale različice A, C in F, še manj pa različice B, E in G.

4.3 VSEBNOST POSAMEZNIH ANTOCIANINOV V JAGODNEM NAMAZU

Vsebnost posameznih antocianinov v vseh različicah jagodnega namaza smo določali po različnih časih skladiščenja (ob času 0 oz. takoj po pripravi, po 6., 12., 16. in 19. tednih skladiščenja). Posamezne antocianine v jagodnem namazu smo določali z LC-MS/MS analizo. Rezultati določanja vsebnosti posameznih antocianinov so prikazani v preglednici 9.

Preglednica 9: Vsebnost posameznih antocianinov v različnih jagodnega namaza med skladiščenjem
Table 9: Effect of spread version and storage times on anthocyanins content in strawberry spreads

Vsebnost antocianinov v različnih jagodnega namaza (mg pelargonidin 3-glukozida ekvival. / 100 g jagodnega namaza)									
Antocianin	Čas skl. (tedni)	A	B	C	D	E	F	G	p_R (SEM)
Pelargonidin 3-glukozid	0	37,1A	36,3A	27,6A	35,9	38,7A	41,7A	29,6A	nz (11,8)
	6	16,9B	12,8B	15,5B	29,8	18,3B	26,6A	12,0B	nz (9,7)
	12	4,7Cb	4,6Bb	6,6Cb	29,3a	7,9Cb	7,7Bb	4,2Bb	*** (6,9)
	16	5,8Cb	4,2Bb	5,0Cb	23,8a	5,1Cb	4,3Bb	3,7Bb	*** (4,2)
	19	4,0Cb	2,5Bb	4,1Cb	33,4a	4,2Cb	7,8Bb	3,6Bb	*** (3,8)
	p_t (SEM)	*** (7,2)	*** (7,6)	*** (5,1)	nz (12,3)	*** (6,7)	*** (10,1)	*** (7,4)	
Cianidin 3 – glukozid	0	1,5A	1,0	0,7	1,7	1,7A	1,5A	1,0	nz (1,0)
	6	1AB	0,9	0,5	1,4	1,1A	1,3A	0,4	nz (0,8)
	12	0,2B	0,3	0,3	1,9	0,3B	0,3B	0,1	nz (0,6)
	16	nd	0,1b	nd	1,1a	0,2Bb	0,1Bb	0,2b	* (0,4)
	19	0,1Bb	nd	0,1	2,2a	nd	nd	nd	* (0,4)
	p_t (SEM)	* (0,7)	nz (0,7)	nz (0,3)	nz (1,1)	* (0,8)	nz (0,9)	nz (0,6)	
Pelargonidin 3–(6''–malonil glukozid)	0	5,5A	4,4	3,1	5,2A	5,4A	5,3A	4,1A	nz (1,9)
	6	1,5B	1,4	1,2	2,7B	2,8AB	2,9AB	1,2B	nz (1,9)
	12	0,3B	nd	0,5	5,0AB	0,6B	0,4B	0,2B	nz (0,8)
	16	0,7B	3,5	0,1	2,7B	0,5B	0,4B	0,1B	nz (2,1)
	19	0,2Bb	nd	nd	4,0ABa	nd	nd	nd	** (0,2)
	p_t (SEM)	*** (1,5)	nz (2,8)	nz (1,5)	* (1,6)	** (1,9)	** (1,8)	** (1,1)	
Cianidin 3–(6''–malonil glukozid)	0	8,2	10,1	7,9	9,2	7,4	9,5	8,5	nz (5,2)
	6	7,1	6,8	4,7	9,6	6,3	6,7	4,7	nz (5,0)
	12	5,4	4,1	3,9	7,5	4,5	3,7	3,9	nz (3,2)
	16	2,8	4,6	3,9	9,5	3,6	3,3	3,0	nz (4,1)
	19	2,1	1,7	1,6	4,9	1,9	3,1	1,5	nz (0,7)
	p_t (SEM)	nz (4,1)	nz (4,7)	nz (3,9)	nz (6,4)	nz (3,7)	nz (3,7)	nz (3,6)	
Cianidin 3–(6''–sukcinil glukozid)	0	2,4	1,9	1,4	3,2	3,6	1,4	2,5	nz (1,4)
	6	3,5	2,9	1,5	2,9	3,5	2,7	2,9	nz (2,1)
	12	4,0	3,5	2,0	3,9	1,8	3,1	2,1	nz (1,9)
	16	2,0	2,3	1,9	3,4	1,9	3,2	2,5	nz (2,0)
	19	3,6	3,2	1,7	3,7	2,1	3,1	1,8	nz (2,7)
	p_t (SEM)	nz (2,1)	nz (2,2)	nz (1,2)	nz (1,8)	nz (1,8)	nz (2,3)	nz (1,9)	
Pelargonidin 3–rutinozid	0	1,0	1,0	0,6	1,3	1,2	1,8A	0,8	nz (0,6)
	6	0,8	0,8	0,5	1,2	1,4	1,2AB	0,6	nz (0,9)
	12	nd	0,2	nd	1,4	0,6	0,3BC	0,2	nz (0,5)
	16	0,4b	0,3b	0,2b	1,0a	0,4b	0,2Cb	nd	* (0,2)
	19	nd	nd	nd	1,4	nd	nd	nd	- (0,3)
	p_t (SEM)	nz (0,5)	nz (0,5)	nz (0,4)	nz (0,6)	nz (1,1)	* (0,5)	nz (0,5)	
Skupni antocianini	0	55,8A	54,7A	41,2A	56,4	58,0A	60,9A	46,4A	nz (14,2)
	6	30,9Bab	25,7Bb	23,8Bb	47,9a	33,3Bab	41,4Aa	21,9Bb	* (11,12)
	12	14,5Cb	12,8Bb	13,3BCb	45,3a	15,7Cb	15,8Bb	10,8Bb	*** (8,9)
	16	11,8Cb	15,2Bb	11,2BCb	41,4a	11,7Cb	11,4Bb	9,6Bb	*** (4,8)
	19	10,1Cbc	7,4Bbc	7,5Cc	49,6a	8,2Cbc	14,1Bb	7,0Bc	*** (2,2)
	p_t (SEM)	*** (8,5)	*** (9,5)	*** (7,9)	nz (15,1)	*** (5,5)	*** (12,2)	*** (9,1)	

Značilnost vpliva: *** $p < 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv, ** $p < 0,01$ statistično visoko značilen vpliv, * $p < 0,05$ statistično značilen vpliv; nz – $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv; p_R – statistična verjetnost vpliva recepture; p_t – statistična značilnost vpliva časa; SEM – standardna napaka povprečja; vrednosti z različno nadpisano črko (a – c) znotraj vrstice po parametru se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$; značilnost razlik med časi skladiščenja); srednje vrednosti z različno črko (A – D) znotraj stolpca po parametru se statistično značilno razlikujejo (značilnost razlik med različicami). nd – pod mejo detekcij

V vseh različicah jagodnega namaza smo določali vsebnosti šestih antocianinov – glikozidov pelargonidina in cianidina. Strukturne formule posameznih antocianinov so prikazane na sliki 4. Prevladujoči antocianin v vseh različicah jagodnega namaza je bil pelargonidin 3 – glukozid, ki je predstavljal kar 67 % delež skupnih antocianinov, medtem ko so bili ostali prisotni v manjših koncentracijah in so predstavljali manjši delež skupnih antocianinov: cianidin in pelargonidin 3 - (6"- malonil glukozid) sta predstavljal 16 % in 9 % delež, cianidin 3 - (6"- sukcinil glukozid) 4 % delež ter cianidin 3 - glukozid in pelargonidin 3 - rutinozid vsak po 2 % delež. Vsebnost skupnih antocianinov v sveže pripravljenem namazu takoj po kuhanju se je gibala med 41,2 in 60,9 mg pelargonidin 3 – glukozid ekvivalenta v 100 g jagodnega namaza.

Statistično značilnih razlik v vsebnosti posameznih antocianinov in skupnih antocianinov med različicami jagodnih namazov takoj po pripravi nismo določili. Pri vsebnosti pelargonidin 3 – glukozida v različicah jagodnega namaza smo določili značilno razliko šele po dvanajstih tednih skladiščenja, ko je bila vsebnost pelargonidin 3 – glukozida v različici D (skladiščenje pri 4 °C) nekajkrat večja kot pri vseh ostalih različicah. Značilnih razlik v vsebnosti drugih antocianinov med različicami jagodnega namaza med skladiščenjem skoraj ni bilo. Razliko med različicami jagodnega namaza smo določili pri vsebnosti skupnih antocianinov že po šestih tednih skladiščenja, še bolj značilno razliko pa šele bo daljšem skladiščenju, ki je bila posledica prispevka bistveno večje vsebnosti pelargonidin 3 – glukozida v različici D.

Med skladiščenjem jagodnega namaza se je vsebnost vseh antocianinov zmanjševala v vseh različicah. Pri različici D razen za pelargonidin 3 – (6" – malonil glukozid) nismo potrdili statistično značilnih razlik v vsebnosti antocianinov in skupnih antocianinov med jagodnimi namazi, ki so bili različno dolgo skladiščeni. Pri ostalih različicah smo opazili podoben trend zmanjševanja vsebnosti antocianinov, sploh pri pelargonidin 3 – glukozidu in skupnih antocianinih, saj so se pri vseh različicah praktično prepolovili v samo šestih tednih skladiščenja. V zadnjih tednih skladiščenja se je vsebnost antocianinov zmanjševala manj intenzivno.

Za vsebnost pelargonidin 3 – glukozida smo pri vseh različicah jagodnega namaza (razen pri različici D) opazili statistično značilne spremembe med skladiščenjem. Razlike med vsebnostmi cianidin 3 - (6" - malinol glukozid) in cianidin 3 - (6" - sukcinil glukozida) med skladiščenjem niso bile statistično značilne. Proti koncu skladiščenja so vsebnosti cianidin 3 – glukozida, pelargonidin 3 – (6" – malonil glukozida) in pelargonidin 3 – rutinozida padli celo pod mejo detekcije. Vsebnost skupnih antocianinov je bila po zaključenem skladiščenju pri vseh različicah jagodnega namaza, razen pri različici D, značilno manjša kot takoj po pripravi.

Po koncu skladiščenja smo v jagodnem namazu določili med 7,0 in 49,6 mg pelargonidin 3 – glukozid ekvivalenta v 100 g jagodnega namaza. Iz naših rezultatov je razvidno, da se je vsebnost antocianinov med skladiščenjem zmanjšala za 77 – 87 % in sicer najmanj pri različici F, nato A, E, C, B in G, vendar razlike med njimi niso značilne. Najmanjšo izgubo antocianinov (12 %) med skladiščenjem smo opazili pri različici D.

4.4 VSEBNOST SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN V JAGODNEM NAMAZU

Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vseh različicah jagodnega namaza smo določali po različnih časih skladiščenja (ob času 0 oz. takoj po pripravi, po 6., 12., 16. in 19. tednih skladiščenja). Rezultati spektrofotometričnega določanja vsebnosti skupnih fenolnih spojin so prikazani v preglednici 10.

Preglednica 10: Vsebnost skupnih fenolnih spojin v različicah jagodnega namaza med skladiščenjem
Table 10: Total phenolic content in different strawberry spreads during storage

vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg GAE/ 100 g jagodnega namaza)								
Čas (teden)	A	B	C	D	E	F	G	$p_R(\text{SEM})$
0	303,2	319,6	322,1	340,1	331,4	330,9	337,6	nz (83,9)
6	336,2	318,7	297,6	313,8	319,6	308,1	333,9	nz (61,4)
12	347,2	336,4	338,9	309,5	361,7	337,3	339,1	nz (81,4)
16	380,7	348,4	349,1	318,9	372,0	379,1	368,0	nz (39,9)
19	356,5	336,3	354,9	336,3	371,5	368,2	393,1	nz (44,7)
$p_C(\text{SEM})$	nz (28,8)	nz (103,6)	nz (43,4)	nz (58,4)	nz (40,1)	nz (127,8)	nz (48,3)	

Značilnost vpliva: nz – $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv; p_R – statistična verjetnost vpliva recepture; p_T – statistična značilnost vpliva časa; SEM: standardna napaka povprečja

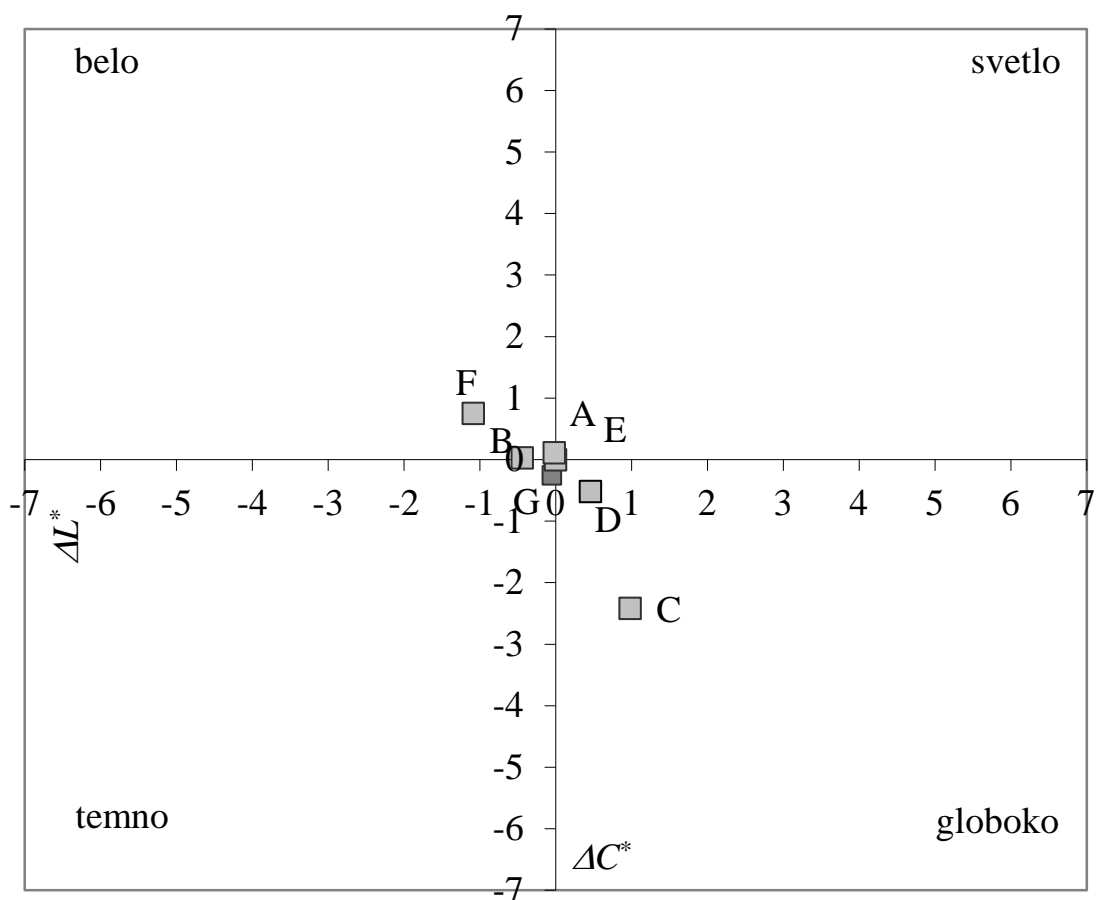
Ob času skladiščenja 0 (takoj po pripravi) so različice jagodnega namaza vsebovale od 303,2 mg do 340,1 mg skupnih fenolnih spojin v 100 g jagodnega namaza, vendar razlike niso bile statistično značilne. Na splošno pa se je vrednost skupnih fenolnih spojin gibala med 297,6 in 393,1 mg na 100 g namaza. Glede na statistično analizo vsebnost skupnih fenolnih spojin ni odvisna od recepture in časa skladiščenja, saj nismo določili statistično značilnih razlik ne med različicami jagodnega namaza ne med vzorci, ki so bili različno dolgo skladiščeni.

4.5 MULTIVARIATNA ANALIZA

Multivariatna analiza omogoča primerjavo posameznih različic jagodnih namazov v različnih časovnih obdobjih skladiščenja – z izbrano primerjalno različico. Na spodnjih slikah smo prikazali razlike oz. povezave med izračunanimi parametri spremembe svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) jagodnih namazov v različnih časovnih obdobjih (takoj po pripravi, po 10. in 19. tednih skladiščenja). Primerjalne parametre smo izračunali iz instrumentalno izmerjenih barvnih parametrov L^* , a^* in b^* .

Za multivariatno analizo smo izbrali dve primerjalni različici jagodnega namaza. Na slikah 18 in 19 smo prikazali povezavo oz. razliko v svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) različic jagodnih namazov v različnih časovnih obdobjih skladiščenja glede na različico A_0 , ki jo definirajo barvni parametri osnovne (kontrolne) različice A takoj po kuhanju. Primerjalna različica A_0 se s časom ne spreminja in predstavlja optimalno barvo jagodnega namaza.

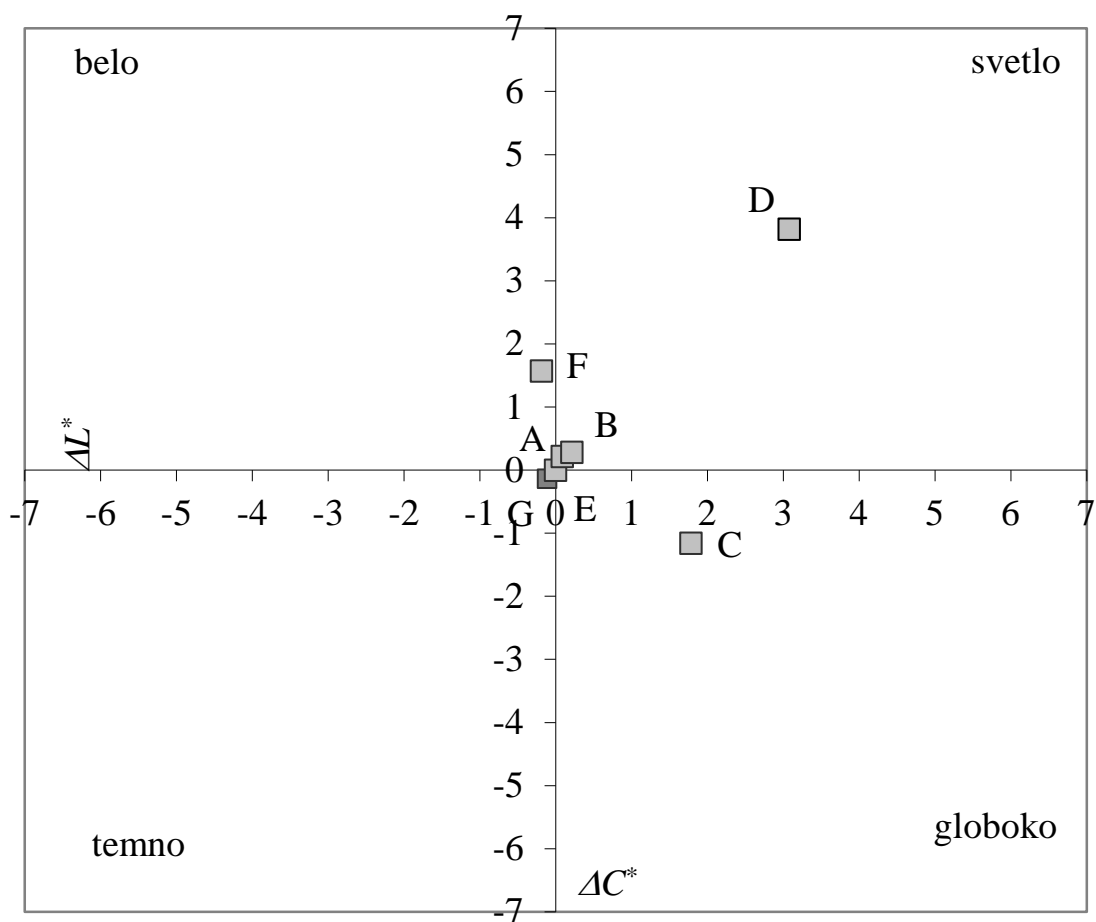
Na sliki 20 smo prikazali povezavo oz. razliko v svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) različic jagodnih namazov med časom skladiščenja glede na kontrolno različico A, ki se s časom spreminja.



Slika 17: Povezava med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) vseh različic jagodnih namazov takoj po pripravi

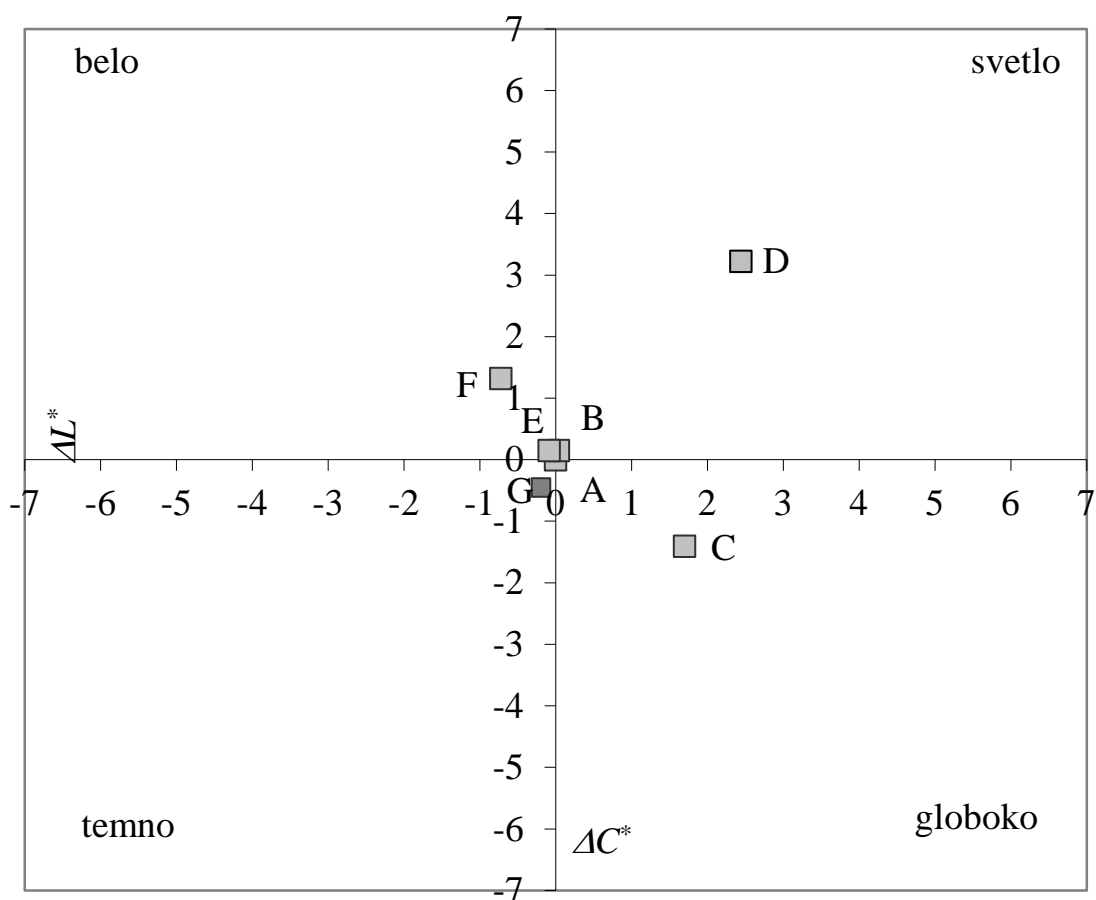
Figure 17: Relation between change of brightness (ΔL^*) and color intensity (ΔC^*) in all strawberry spread versions right after preparation

Na sliki 17 so prikazane povezave med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) takoj po pripravi vseh 7 različic jagodnega namaza. Vse različice so bile podobne primerjalni različici A_0 oz. A, bolj sta se razlikovali le barvi različice C (dodatek sladkorja), ki je bila bolj globoka in različice F (dodatek naravnega barvila), ki je bila bolj bela.



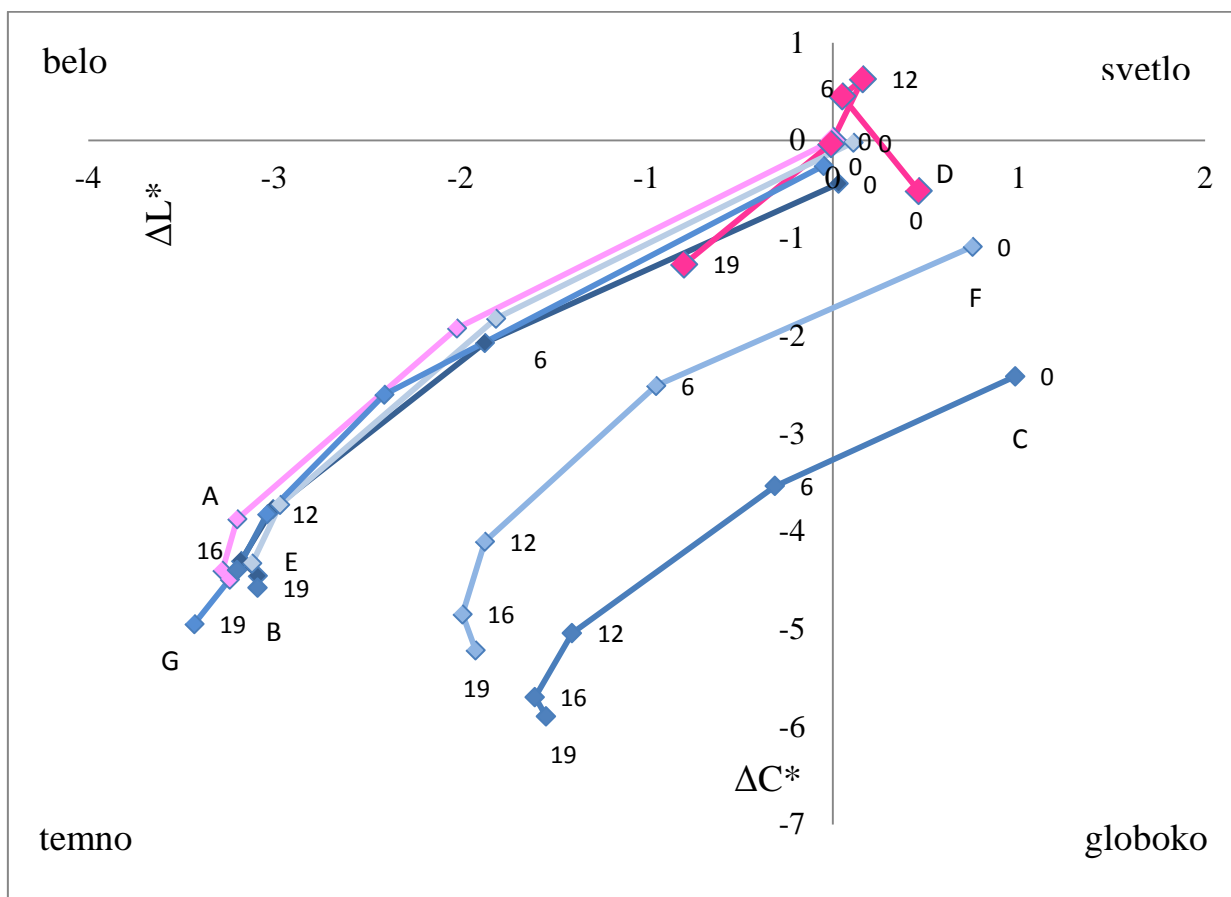
Slika 18: Povezava med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) vseh različic jagodnih namazov po desetih tednih skladiščenja v primerjavi s kontrolno različico A
Figure 18: Relation between change of brightness (ΔL^*) and color intensity (ΔC^*) in all strawberry spread versions after ten weeks of storage compared to control version A

Na sliki 18 so prikazane povezave med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) vseh različic jagodnih namazov po desetih tednih skladiščenja v primerjavi s kontrolno različico A. Opazili smo, da so se s časom skladiščenja razlike med različico D in različico A povečale. Različice B, E in G so podobne različici A, različica F se je začela odmikati bolj v belo, medtem ko je šla različica C v smeri globokega.



Slika 19: Povezava med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) vseh različic jagodnih namazov po devetnajstih tednih skladiščenja v primerjavi s kontrolno različico A
Figure 19: Relation between change of brightness (ΔL^*) and color intensity (ΔC^*) in all strawberry spread versions after nineteen weeks of storage compared to control version A

Na sliki 19 so prikazane povezave med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) vseh različic jagodnih namazov po devetnajstih tednih skladiščenja v primerjavi s kontrolno različico A. Tudi po koncu skladiščenja so povezave med različicami podobne kot pri predhodni primerjavi, le da se je razlika med kontrolno različico A in različico D nekoliko zmanjšala, a ostaja še vedno največja. Različici C in F pa sta se od kontrolne razlikovali podobno kot takoj po pripravi. Ostale različice so bolj povezane oz. bolj podobne kontrolni različici A.



Slika 20: Povezava med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) vseh različic jagodnih namazov med skladiščenjem v primerjavi s kontrolno različico A

Figure 20: Relation between change of brightness (ΔL^*) and color intensity (ΔC^*) in all strawberry spread versions during the storage compared to control version A

Na sliki 20 je prikazana povezava med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*) vseh različic jagodnih namazov med časom skladiščenja v primerjavi s kontrolno različico A. Številke na sliki ob posameznih krivuljah predstavljajo čas skladiščenja – 0, 6, 12, 16 in 19 tednov. Vse različice so se v času skladiščenja spreminjale v smeri iz svetlega in globokega v temno. Različice A, B, E in G imajo podoben trend spreminjanja v temno, različici C in F pa se podobno spreminjata v smeri temnega in globokega. Najmanjšo spremembo smo opazili pri različici D. Pri različicah A, B, C, E, F in G so se največje spremembe v spremembi svetlosti in intenzivnosti barve dogajale v prvih dvanajstih tednih skladiščenja, od dvanajstega do devetnajstega tedna skladiščenja pa so bile spremembe minimalne. Pri različici D so se bistvene spremembe zgodile šele po šestnajstem tednu skladiščenja.

4.6 KORELACIJSKA ANALIZA

Korelacijska analiza med barvnimi parametri (L^* , a^* , b^*), skupnimi antocianini in skupnimi fenolnimi spojinami je pokazala, da je večina povezav med izmerjenimi parametri barve L^* , a^* in b^* , analiziranimi skupnimi antocianini in analiziranimi skupnimi fenoli močnih in statistično značilnih. Pozitivna korelacija med barvno vrednostjo a^* in vsebnostjo skupnih antocianinov je najmočnejša – $r = 0,87$, $p < 0,0001$. Potrdili smo tudi močno in statistično značilno povezanost med barvnima parametroma L^* in b^* ($r = 0,78$, $p < 0,0001$) ter med parametrom b^* in skupnimi antocianini ($r = 0,72$, $p < 0,0001$).

Poleg pozitivnih korelacij smo potrdili tudi močne in statistično značilne negativne povezave: med vrednostjo L^* in vsebnostjo skupnih antocianinov ($r = -0,84$, $p < 0,0001$), med vsebnostjo skupnih antocianinov in skupnih fenolnih spojin ($r = -0,81$, $p < 0,0001$), med parametroma L^* in a^* ($r = -0,77$, $p < 0,0001$) ter med parametrom a^* in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin ($r = -0,77$, $p < 0,0001$).

Negativni povezavi med parametroma a^* in b^* sta srednje močni ($r = -0,44$), prav tako tudi povezava med vrednostjo b^* in vsebnostjo skupnih antocianinov ($r = -0,48$, $p < 0,0001$).

Srednje močna pozitivna povezava je bila med vrednostjo parametra L^* in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin ($r = 0,31$, $p < 0,0001$).

Preglednica 11: Tesnost povezav med instrumentalno izmerjenimi parametri barve L^* , a^* in b^* , skupnimi antocianini (SA) in skupnimi fenolnimi spojinami (SF) (Pearsonov korelacijski koeficient, r)

Table 11: Connections between instrumentally measured color parameters L^* , a^* and b^* , total anthocyanins and total phenols (Pearson correlation coefficient, r)

parameter	a^*	b^*	SA	SF
L^*	-0,77***	0,78***	-0,84***	0,31***
a^*	1,00	-0,44	0,87***	-0,74***
b^*		1,00	-0,48***	0,72***
SA			1,00	-0,81***

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

Kljub globalizaciji svetovnega trga jagode lahko uživamo le v nekaterih obdobjih, kar je razlog za njihovo predelavo v številne izdelke z daljšo trajnostjo; med bolj priljubljenimi je tudi jagodni namaz. Ohranjanje značilne, privlačne rdeče barve izdelkov iz jagod je zahtevna naloga, zato so se številni raziskovalci ukvarjali s to problematiko. Kammerer in sod. (2007), Kopjar in sod. (2007), Patras in sod. (2011) ter številni drugi raziskovalci so raziskovali obstojnost barve v izdelkih iz jagod in različne načine stabilizacije barve.

Intenzivni tehnološki procesi povzročajo spremembe v kemijski sestavi surovin, posledica tega pa so lahko različne spremembe senzoričnih lastnosti izdelkov. Patras in sod. (2011), Reber in sod. (2011) ter drugi so se ukvarjali s stabilnostjo in spremembami za barvo pomembnih spojin v rastlinskih tkivih v različnih pogojih. Med skladiščenjem izdelkov se spremembe najpogosteje še intenzivirajo. Garcia - Viguera in sod. (1999) ter Aaby in sod. (2007) so preučevali spremembe barve jagodnih izdelkov in vsebnosti fenolnih spojin med skladiščenjem in vplive pogojev skladiščenja.

Na lastnosti končnega izdelka poleg tehnoloških parametrov obdelave (temperatura in čas termične obdelave, sestava živila, vrsta in količina dodatkov in drugo) ter pogojev skladiščenja (temperatura in čas skladiščenja, prisotnost kisika in svetlobe, vrsta embalaže in drugo) vplivajo tudi lastnosti osnovne surovine (kultivar, stopnja zrelosti, kakovost in drugo).

Hernanz in sod. (2008) ter Aaby in sod. (2012) so analizirali sestavo fenolnih spojin v različnih kultivarjih jagod in njihove spremembe.

Namen našega magistrskega dela je bil poiskati najprimernejšo recepturo za industrijsko proizvodnjo jagodnega namaza in primeren režim za njegovo skladiščenje, ki bi povečal obstojnost barve in pripomogel k ohranitvi optimalnega izgleda namaza med daljšim skladiščenjem.

Jagodni namaz smo pripravili po različnih recepturah (osnovna receptura, dodatek sladkorja, dodatek pektina, dodatek naravnega barvila) in jih pri različnih pogojih tudi skladiščili (odsnost kisika, skladiščenje pri 4 °C, skladiščenje na svetlobi).

Spremembe barve in sestave jagodnih namazov med skladiščenjem smo spremljali z različnimi analizami – merili smo parametre barve L^* , a^* in b^* jagodnega namaza, določali vsebnost skupnih in posameznih antocianinov ter vsebnost skupnih fenolnih spojin.

S pomočjo pridobljenih rezultatov in povezav med njimi smo določili optimalne pogoje za skladiščenje industrijsko pripravljene jagodnega namaza.

5.1 SPREMEMBA BARVE

Med skladiščenjem jagodnih namazov smo opazili intenzivne spremembe barve. Ovrednotili smo jih z instrumentalnimi meritvami in opisali z barvnimi parametri L^* , a^* in b^* . Ker sestava jagodnih namazov ni bila enaka, so bile razlike med posameznimi različicami opazne pri vseh treh parametrih že takoj po pripravi, kjer smo opazili največje razlike pri različicah namazov z dodatkom sladkorja (različica C) in z dodatkom naravnega barvila (različica F). Obe različici sta bili temnejši (glede vrednosti L^*), in najmanj rdeči (glede na parameter a^*). Razloga za taka odstopanja je različna sestava oz. spremenjena receptura, saj dodatek sladkorja zmanjšuje koncentracijo rdečih barvil, dodatek naravnega barvila pa lahko spremeni odtenek rdeče barve. Glede na vrednost parametra b^* sta bili različici C in F najbolj modri (najmanj rumeni). O različnih vrednostih vseh treh barvnih parametrov pri jagodnih džemih takoj po pripravi, ki so posledica različne sestave, so pisali tudi Holzwarth in sod. (2013).

Med skladiščenjem se je barva jagodnih namazov različno spreminjala. Trdimo lahko, da so vse različice postajale manj rdeče (manjša vrednost parametra a^*), bolj rumene (večja vrednost parametra b^*) in svetlejše (večja vrednost parametra L^*). Glede na sestavo namazov in pogoje skladiščenja je bila intenzivnost spreminjanja barvnih parametrov pri različicah jagodnega namaza različna. Holzwarth in sod. (2013) so v svojem članku objavili rezultate merjenja barve jagodnih džemov in namazov po daljšem skladiščenju, ki kažejo podoben trend spreminjanja samo za vrednost parametra a^* , medtem ko sta se barvna parametra b^* in L^* spreminjala drugače in sicer iz bolj rumene v manj rumeno in iz svetlejše v temnejšo. Garcia – Viguera in sod. (1999) so za jagodne džeme med skladiščenjem ravno tako potrdili zmanjševanje barvnega parametra a^* . Za barvni parameter L^* pa so Mazur in sod. (2013) ugotovili, da se med skladiščenjem lahko spreminja na dva načina in sicer padajoče in naraščujoče.

Pri različici D so se vsi trije barvni parametri najmanj spreminjali, zato lahko trdimo, da je skladiščenje pri nizki temperaturi (v našem poskusu pri temperaturi 4 °C) najprimernejše za ohranjanje prvotne barve jagodnega namaza. Pri ostalih različicah, ki smo jih skladiščili pri 20 °C, so bile spremembe barvnih parametrov med skladiščenjem bistveno večje. Wicklund in sod. (2005), Patras in sod. (2010), Mazur in sod. (2013) so v svojih raziskavah potrdili podobne rezultate. Ochoa in sod. (1999) so potrdili primernost nizkih temperatur skladiščenja tudi za podobne izdelke iz malin.

Najbolj stabilno barvo v vseh fazah skladiščenja jagodnega namaza različice D je potrdila tudi multivariatna analiza povezav med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve

(ΔC^*) za vse različice jagodnega namaza. Primerjava s primerjalno različico A_0 , ki se s časom ni spreminjala in je predstavljala optimalno barvo jagodnega namaza je pokazala, da se je različica D ves čas skladiščenja najmanj razlikovala in ohranjala najbolj konstantno barvo. Primerjava s kontrolno različico A, ki se je s časom spreminjala, je potrdila ugotovitve, da so se vse ostale različice jagodnega namaza, ki so bile bolj podobne kontrolni različici A od različice D med skladiščenjem intenzivneje spreminjale. To potrjuje tudi slika jagodnih namazov po koncu skladiščenja (slika 16).

Multivariatna analiza je po devetnajstih tednih skladiščenja pokazala, da se je razlika med primerjalno različico A_0 in različico namaza D povečala. Primerjava s kontrolno različico A je za enak čas skladiščenja pokazala zmanjšanje razlike, tako da lahko iz obojega sklepamo, da bi se najverjetneje pri še daljšem skladiščenju kljub nizki temperaturi barva namaza intenzivneje spreminjala.

Pri ostalih različicah jagodnih namazov smo opazili različne trende spreminjanja barve. Različici C in F sta ves čas skladiščenja ohranjali določeno različnost, ki je bila posledica drugačne recepture in smo jo zaznali tudi v vseh treh izmerjenih barvnih parametrih po koncu skladiščenja, čeprav razlike niso bile vedno statistično značilne. Podobno različnost je v vseh fazah skladiščenja pokazala tudi multivariatna analiza, saj smo pri primerjavi s primerjalno različico A_0 in kontrolno različico A opazili največjo povezanost med različicami A, B, E in v prvih tednih tudi G, različici C in F pa sta ohranjali konstantno razliko, ki smo jo zaznali že takoj po pripravi.

Kljub opaznim razlikam se je barva različic C in F tudi intenzivno spreminjala, čeprav nam instrumentalne meritve kažejo, da je generalno gledano dodatek naravnega barvila v različici F omogočil nekoliko boljše stabilnost barve (nekoliko manjše spremembe vrednosti barvnih parametrov) v primerjavi z ostalimi različicami jagodnega namaza. Osnovna vloga dodatka naravnih barvil v izdelke iz jagod je ravno ohranjanje osnovne barve. Kammerer in sod. (2007) so potrdili bistveno boljše obstojnost barve jagodnih izdelkov po termični obdelavi in skladiščenju po dodatku sadnih koncentratov kot naravnih barvil. Podatki o vplivu povečanih koncentracij sladkorja v sadnih izdelkih so nekoliko kontradiktorni, saj različni avtorji pišejo o nasprotnih učinkih. Rababah in sod. (2011) dokazuje, da povišana vsebnost dodanega sladkorja vpliva na hitrejšo spremembo barve, medtem ko Sandulachi (2011) poroča o slabši stabilnosti barve pri manjših vsebnostih sladkorja.

Različice A, B, E in G so bile ves čas skladiščenja najbolj podobne oz. povezane in so se intenzivno spreminjale. To potrjuje tudi multivariatna analiza in nenazadnje slika jagodnih namazov po koncu skladiščenja (slika 16). Pri različici G smo v drugi polovici skladiščenja izmerili nekoliko večje razlike barvnih parametrov v primerjavi z različicami A, B in E, kar pomeni, da je različica G zaradi daljše izpostavljenosti svetlobi dobivala nekoliko

drugačen odtenek barve. Več znanstvenih člankov potrjuje, da skladiščenje na svetlobi pospešuje spremembo barve jagodnih izdelkov (Garcia – Viguera in sod., 1998; Garzon in Wrolstad, 2002; Özkan in sod., 2002; Wickund in sod., 2005). Kljub temu, da naj bi dodatek pektina in skladiščenje brez prisotnosti kisika pozitivno vplivala na ohranjanje barve jagodnih izdelkov, pa naša raziskava tega ni potrdila. Primerjava med kontrolno različico jagodnega namaza A ter različicama B in E ni pokazala bistvenih razlik v spremembah barve. Sicer pa različni avtorji o vplivu pektina na barvo poročajo različno.

Dervisi in sod. (2001) poročajo o negativnem vplivu povečane koncentracije pektina na stabilnost barve, Buchweitz in sod. (2013) pa o večji stabilnosti antocianinov pri povečani vsebnosti pektina. Pomembno vlogo ima tudi vrsta pektina (Kopjar in sod., 2007). Podobno je poročanje o vplivu skladiščenja jagodnega džema brez prisotnosti kisika. O pozitivnih vplivih zaradi preprečevanja oksidacijskih procesov pišejo Patras in sod. (2010) in Cavalcanti in sod. (2011), Bakker in sod. (1993) pa poroča o neučinkovitosti dušikove atmosfere.

Zaključimo lahko, da skladiščenje jagodnega namaza na nizki temperaturi najbolj pripomore k ohranjanju optimalne barve izdelka. V praksi proizvajalci skladiščijo izdelke v svetlejših in nehlajenih skladiščnih prostorih, taki pa so tudi pogoji v trgovinah na polici, kjer je izdelek večino svojega obdobja trajnosti. Šele potrošnik doma po odprtju izdelek skladišči na hladnem, kar pa je za izgled izdelka (barva) lahko že prepozno.

Glede na izmerjene parametre L^* , a^* in b^* , ki opisujejo barvo, lahko potrdimo hipotezo, ki pravi, da bo sestava jagodnega namaza vplivala na intenziteto spreminjanja barve med skladiščenjem in tudi hipotezo, ki pravi, da bo režim skladiščenja vplival na intenziteto spreminjanja barve jagodnega namaza.

5.2 SPREMEMBA VSEBNOSTI SKUPNIH IN POSAMEZNIH ANTOCIANINOV

Antocianini so vodotopni pigmenti v sadju in zelenjavi in so odgovorni za rdeča, vijolična in modra obarvanja različnih rastlin ter tudi jagod. Med predelavo jagod in skladiščenjem izdelkov prihaja do razpada in zmanjševanja vsebnosti antocianinov zaradi različnih dejavnikov, saj so ti pigmenti nestabilni in se hitro razgradijo (Patras in sod., 2010; Cavalcanti in sod. 2011; Holzwarth in sod., 2013).

Holzwarth in sod., (2013) so določili v jagodnih džemih približno 20 mg vsebnosti skupnih antocianinov (izraženo kot ekvivalent pelargonidin 3 – glukozida) na 100 g izdelka; vsebnost skupnih antocianinov se je med 20 tedenskim skladiščenjem pri različnih pogojih znižala na 2 - 10 mg skupnih antocianinov na 100 g izdelka. V našem eksperimentu smo takoj po pripravi v jagodnih namazih s kromatografsko analizo določili od 41,2 do 60,9 mg

skupnih antocianinov izraženih kot mg pelargonidin 3 – glukozida ekvival. na 100 g jagodnega namaza. Po devetnajstih tednih skladiščenja smo določili med 7,0 in 49,6 mg skupnih antocianinov na 100 g izdelka. Vsebnosti antocianinov so zelo primerljive, saj moramo upoštevati, da so imeli Holzwarth in sod., (2013) vsebnost dodanega sladkorja v svojih namazih okrog 50 %, mi pa 27 oz. 33 %. Glede na hiter razpad antocianinov, ki ga potrjuje naša in druge študije, lahko pri komercialnih izdelkih, ki imajo deklarirano trajnost od 6 mesecev do enega leta, pride do poslabšanja prehranske in senzorične kakovosti namaza.

Statistično značilnih razlik v vsebnosti posameznih antocianinov in skupnih antocianinov med različicami jagodnih namazov takoj po pripravi s kromatografsko analizo nismo določili. S spektrofotometrično metodo pa smo pri različici z dodatkom sladkorja določili značilno najmanjšo vsebnost skupnih antocianinov. Vsebnost skupnih antocianinov v vseh različicah namazov je bila takoj po pripravi značilno največja razen pri različici D (skladiščenje pri temperaturi 4 °C), kjer med skladiščenjem ni prišlo do statistično značilnih razlik. S časom je pri vseh ostalih različicah vsebnost skupnih antocianinov padala in se praktično prepolovila v samo šestih tednih skladiščenja ter dosegla najnižje vrednosti le po 12 tednih skladiščenja; kasneje se vrednosti niso več bistveno spreminjale. Pri različici F (dodatek naravnega barvila) smo po zaključenem skladiščenju določili nekoliko večjo vsebnost skupnih antocianinov, vendar razlika ni bila značilna. Podobno spreminjanje vsebnosti skupnih antocianinov smo opazili tudi pri rezultatih, pridobljenih s spektrofotometrično metodo. Patras in sod. (2010) so potrdili, da se je vsebnost skupnih antocianinov med skladiščenjem zmanjševala.

V vseh različicah smo določali vsebnosti šestih antocianinov. Najpomembnejši antocianin v vseh jagodnih namazih je bil pelargonidin 3 – glukozid, saj je predstavljal kar 67 % vseh skupnih antocianinov. Določali smo še vsebnosti cianidin 3 – glukozida, pelargonidin 3 - (6" - malonil glukozida), cianidin 3 - (6" - malonil glukozida), cianidin 3 - (6" - sukcinil glukozida) in pelargonidin 3 – rutinozida. O podobnem profilu antocianinov v svežih jagodah so poročali Aaby in sod. (2005) ter da Silva in sod. (2007).

Patras in sod. (2010), Cavalcanti in sod. (2011), Holzwarth in sod. (2013) so samo nekateri od avtorjev, ki so dokazali, da višje temperature skladiščenja jagodnih izdelkov negativno vplivajo na obstojnost antocianinov in da je višja temperatura skladiščenja najpomembnejši dejavnik za razpad antocianinov. Holzwarth in sod. (2013) na primer priporočajo ravno skladiščenje na 4 °C za optimalno ohranjanje rastlinskih pigmentov v živilskih izdelkih.

Rezultati naše raziskave potrjujejo ugotovitve ostalih raziskovalcev, saj smo pri različici jagodnega namaza, skladiščeni na nižji temperaturi (4 °C v primerjavi s temperaturo skladiščenja vseh ostalih različic jagodnega namaza, ki je bila 20 °C), določili bistveno počasnejše zmanjševanje vsebnosti skupnih antocianinov; na koncu skladiščenja je imela

omenjena različica več kot trikratno vsebnost skupnih antocianinov v primerjavi z vsemi ostalimi različicami. Podoben trend smo potrdili tudi za najpomembnejši antocianin v jagodnih izdelkih (pelargonidin 3 – glukozid), katerega vsebnost se med skladiščenjem na 4 °C ni značilno spreminjala ter za vse ostale antocianine razen za pelargonidin 3 - (6"-malonil glukozid).

Pri ostalih različicah smo določili intenzivno in značilno spreminjanje vsebnosti predvsem pelargonidin 3 – glukozida in tudi nekaterih drugih antocianinov med skladiščenjem. Proti koncu skladiščenja so vsebnosti cianidin 3 – glukozida, pelargonidin 3 – (6" – malonil glukozida) in pelargonidin 3 – rutinozida padle celo pod mejo detekcije. Podobne rezultate so v svoji raziskavi potrdili tudi Holzwarth in sod. (2013). Po zaključenem skladiščenju je bila vsebnost pelargonidin 3 – glukozida v različici D za povprečno osem krat večja kot pri ostalih različicah. Razlike med vsebnostmi cianidin 3 - (6" - malinol glukozida) in cianidin 3 - (6" - sukcinil glukozida) med skladiščenjem niso bile statistično značilne.

Rezultati našega dela kažejo, da so se pri vseh različicah jagodnega namaza (pri različici D najmanj) med skladiščenjem spreminjale vsebnosti skupnih in posameznih antocianinov, kar pomeni, da dodatki in ostali režimi skladiščenja niso pozitivno vplivali na stabilnost antocianinov.

Zmanjšanje vsebnosti skupnih antocianinov in pelargonidin 3 – glukozida pri različici F (dodatek naravnih barvil) je bilo podobno kot pri različici A (kontrolni). Dodatek naravnega barvila – koncentrata hibiskusa in črnega korena, ki vsebuje antocianine, ni imel vpliva na vsebnost antocianinov med skladiščenjem. Nekateri avtorji (Cavalcanti in sod., 2011) navajajo pozitivne učinke na vsebnost antocianinov ob dodajanju naravnih barvil. Dodatek antocianinov poveča njihovo koncentracijo in stabilnost ter obstojnost barve, kar poimenujemo efekt kopigmentacije.

Za sladkorje je znano, da zmanjšajo stabilnost antocianinov (Cavalcanti in sod., 2011). Tudi naši rezultati potrjujejo (podobno zmanjšanje vsebnosti skupnih antocianinov in pelargonidin 3 – glukozida pri različici C (dodatek sladkorja) kot pri različici A, da dodatek sladkorja (saharoze) ne preprečuje razpada antocianinov v času skladiščenja, čeprav smo suho snov povečali iz 38 na 43 °Brix. Ti podatki se ujemajo s predhodnimi raziskavami (Nikkhah in sod., 2007), ki so pokazale, da sladkor ne vpliva na stabilnost antocianinov, če je njegova koncentracija večja od 20 %. V našem primeru je bila koncentracija v obeh različicah večja od 20 %. Po drugi strani pa so nekatere študije pokazale boljšo stabilnost antocianinov v povezavi z večjo koncentracijo sladkorja v džemu med skladiščenjem (domnevno zaradi nižjih vodne aktivnosti) (Hubbermann in sod., 2006).

Antocianini so relativno občutljivi na dnevno svetlobo, ki pospešuje njihovo degradacijo (Cavalcanti in sod., 2011). Iz naših rezultatov je razvidno, da je razgradnja antocianinov v namazu, ki je bil skladiščen na dnevni svetlobi (različica G), značilna. Kljub temu po 19 tednih skladiščenja ni bilo opazne razlike v vsebnosti skupnih antocianinov in pelargonidin 3 – glukozida med različico G (skladiščenje na dnevni svetlobi) in kontrolno različico A (kontrola), ki je bila skladiščena v temi. Rezultati se ujemajo z ostalimi podatki iz literature, kjer je dokazano, da ni bistvene razlike med vsebnostjo antocianinov v jagodnem namazu in džemu, če je skladiščen v temi ali pa je izpostavljen svetlobi (Holzwarth in sod., 2013). Trdimo lahko, da skladiščenje v temi ali na svetlobi ne vpliva na vsebnost antocianinov v jagodnem namazu.

Podvojena vsebnost dodanega pektina v jagodnem namazu ni imela pozitivnega učinka na stabilnost oz. vsebnost skupnih antocianinov in pelargonidin 3 – glukozida glede na kontrolno različico, čeprav so nedavno objavljene študije pokazale, da povečana vsebnost pektina pozitivno vpliva na stabilnost antocianinov v viskoznih modelnih raztopinah (Buchweitz in sod., 2013), najverjetneje zaradi znatnega znižanja vodne aktivnosti (Hubbermann in sod., 2006).

Prav tako so objavljeni podatki, da je stabilnost antocianinov v jagodnih namazih in džemih odvisna od vrste in izvora pektina (Holzwarth in sod., 2013).

Zaradi visoke temperature med procesom priprave jagodnega namaza, ki inaktivira vse encime, encimske reakcije niso mogoče. Iz naših podatkov vidimo, da prisotnost dušika (odsotnost kisika) ni imela zaščitnega učinka na antocianine, saj se je njihova vsebnost med skladiščenjem intenzivno in značilno spreminjala. Po 19 tednih skladiščenja ni bilo bistvene razlike med vsebnostjo skupnih antocianinov in pelargonidin 3 – glukozida v različici E (skladiščeno z dušikom) in različico A (kontrolno). Odsotnost kisika ne obvaruje antocianinov pred degradacijo in zato inertna atmosfera tudi ni najprimernejši način shranjevanja jagodnega namaza.

Že pred časom (Wrolstad, 1993) je bilo znano, da so antocianini odgovorni za rdečo barvo jagod, kasneje pa so številni avtorji to še potrdili (Espin in sod., 2000; Tulipani in sod., 2008). Tudi naša raziskava je pokazala, da je rdeča barva jagodnega namaza povezana z vsebnostjo skupnih antocianinov. Najmočnejšo in statistično visoko značilno pozitivno povezavo smo dokazali med barvno vrednostjo a^* (ki opisuje rdeče odtenke barve) in vsebnostjo skupnih antocianinov ($r = 0,87$, $p < 0,0001$), kar pomeni, da so bili rdeči odtenki jagodnih namazov bolj intenzivni, kadar je bila vsebnost skupnih antocianinov večja. Tudi druge močne korelacije med barvnimi vrednostmi in vsebnostjo skupnih antocianinov kažejo, da je barva jagodnih namazov odvisna od vsebnosti skupnih antocianinov. Povezave med barvnimi vrednostmi in skupnimi fenolnimi spojinami pa

pomenijo, da poleg antocianinov na barvo jagodnega namaza vplivajo tudi druge fenolne spojine.

Zaključimo lahko, da skladiščenje jagodnega namaza na nizki temperaturi najbolj pripomore k ohranjanju vsebnosti skupnih antocianinov in med posameznimi antocianini predvsem vsebnost najpomembnejšega in sicer pelargonidin 3 – glukozyda.

5.3 SPREMEMBA VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN

Vsebnost skupnih fenolnih spojin je ena od najbolj klasičnih analiz živil rastlinskega izvora. Fenolne spojine imajo v rastlinskih tkivih veliko pomembnih nalog, v živilih pa so povezane predvsem s parametri kakovosti. Raziskave sprememb skupnih fenolnih spojin v jagodnih izdelkih (Amakura in sod., 2000; Abby in sod., 2007; Rababah in sod., 2011) so pokazale, da na procese vplivajo številni dejavniki. Rezultati so lahko tudi kontadiktorni, saj se vsebnost skupnih fenolnih spojin med tehnološkimi procesi predelave jagodičja spreminjajo različno, kar pomeni, da se njihova vsebnost ohranja oz. ostaja enaka, pada, ali celo narašča. Rababah in sod. (2011) v svoji raziskavi niso opazili sprememb glede vsebnosti skupnih fenolnih spojin v jagodnem in češnjem džemu niti po več kot petih mesecih skladiščenja.

Rezultati našega poskusa so podobni rezultatom omenjenih raziskav, saj pri določenih vsebnostih skupnih fenolnih spojin ni bilo statistično značilnih razlik med različicami jagodnih namazov. Ravno tako nismo potrdili statistično značilnih razlik, ki bi nastale v jagodnih namazih med obdobjem skladiščenja. Absolutne vsebnosti skupnih fenolnih spojin v jagodnih namazih (primerjava je zaradi deleža sladkorja v namazih okvirna) so bile približno 300 mg galne kisline na 100 g namaza, kar je primerljivo z rezultati Tulipani in sod. (2008), ki so v različnih kultivarjih jagod določili do 310 mg galne kisline na 100 g svežih jagod.

Postavljeno hipotezo, da bo sestava jagodnega namaza vplivala na vsebnost skupnih antocianinov in spekter antocianinov ter vsebnost skupnih fenolnih spojin in hipotezo, ki trdi, da bo režim skladiščenja vplival na vsebnost skupnih antocianinov in spekter antocianinov ter vsebnost skupnih fenolnih spojin v jagodnem namazu lahko le delno potrdimo, saj vsebnost skupnih fenolnih spojin ni bila značilno drugačna pri nobeni različici jagodnega namaza.

5.4 SKLEPI

Glede na rezultate našega dela lahko zaključimo z naslednjimi sklepi:

- med skladiščenjem se je barva jagodnih namazov različno spreminjala; vse različice so postajale manj rdeče (manjša vrednost parametra a^*), bolj rumene (večja vrednost parametra b^*) in svetlejše (večja vrednost parametra L^*),
- pri različici D (skladiščenje pri 4 °C) so se vsi trije barvni parametri najmanj spreminjali, najbolj stabilno barvo v vseh fazah skladiščenja jagodnega namaza različice D pa je potrdila tudi analiza povezav med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnosti barve (ΔC^*),
- pri ostalih različicah jagodnih namazov smo med skladiščenjem opazili intenzivne in nekoliko različne trende spreminjanja barve,
- takoj po pripravi smo v jagodnih namazih s kromatografsko analizo določili od 41,2 do 60,9 mg skupnih antocianinov, izraženih kot mg pelargonidin 3 – glukozida ekvival. na 100 g jagodnega namaza, po devetnajstih tednih skladiščenja pa smo določili med 7,0 in 49,6 mg skupnih antocianinov na 100 g izdelka,
- najpomembnejši antocianin v vseh jagodnih namazih je bil pelargonidin 3 – glukozid, saj je predstavljal kar 67 % vseh skupnih antocianinov,
- pri različici D (skladiščenje pri 4 °C) se vsebnost skupnih antocianinov in vseh posameznih antocianinov (razen pelargonidin 3 - (6" - malonil glukozida)) med skladiščenjem ni statistično značilno spreminjala,
- pri ostalih različicah jagodnih namazov smo med skladiščenjem opazili intenzivno in značilno zmanjševanje vsebnosti skupnih in nekaterih posameznih antocianinov, predvsem pelargonidin 3 – glukozida,
- na vsebnost skupnih fenolnih spojin v jagodnem namazu sestava in režim skladiščenja ne vplivata,
- vsebnost skupnih antocianinov je povezana z barvo jagodnega namaza – najbolj z vrednostmi barvnega parametra a^* , ki opisuje rdeče odenke barve ($r = 0,87$; $p < 0,0001$),
- skladiščenje jagodnega namaza pri temperaturi 4 °C najbolj pripomore k ohranjanju optimalne barve izdelka, vsebnosti skupnih antocianinov in med posameznimi antocianini predvsem vsebnost pelargonidin 3 – glukozida.

6 POVZETEK

Jagode zaradi kratke obstojnosti in razpoložljivosti predelujemo v različne jagodne izdelke. Ohranjanje značilne, privlačne rdeče barve izdelkov iz jagod je eden od najpomembnejših tehnoloških parametrov, ki definira sprejemljivost končnega izdelka. Jagode in izdelki iz jagod vsebujejo številne fenolne spojine, med katerimi imajo ključno vlogo pri barvi jagod antocianini. Med predelavo jagod in skladiščenjem izdelkov prihaja do razpada in zmanjševanja koncentracije antocianinov. Na spremembe vplivajo različni procesni parametri (dodatki različnih surovin, pogoji skladiščenja in drugo), ki lahko spreminjajo barvo končnega izdelka.

Namen magistrskega dela je bil poiskati najprimernejšo recepturo za industrijsko proizvodnjo jagodnega namaza in ustrezen režim skladiščenja, ki bi povečal obstojnost barve in ohranil optimalne prehranske lastnosti namaza po daljšem času skladiščenja.

Predvidevali smo, da bosta sestava in režim skladiščenja jagodnega namaza vplivala na intenziteto spreminjanja barve jagodnega namaza. Predvidevali smo tudi, da bosta sestava in režim skladiščenja jagodnega namaza vplivala na vsebnost skupnih antocianinov in na njihov spekter ter na vsebnost skupnih fenolnih spojin v jagodnem namazu.

Pripravili smo 7 različic jagodnega namaza po različnih recepturah (osnovna receptura, dodatek sladkorja, dodatek pektina, dodatek naravnega barvila) in jih pri različnih pogojih tudi skladiščili (odsotnost kisika, skladiščenje pri 4 °C, skladiščenje na svetlobi). Jagodne nameze smo skladiščili 19 tednov, v tem času smo v različnih časovnih razmakih merili barvne parametre jagodnih namazov, vsebnost skupnih in posameznih antocianinov ter vsebnost skupnih fenolnih spojin.

V 19 tednih skladiščenja so vzorci jagodnega namaza postajali vedno manj rdeči – parameter a^* se je med časom skladiščenja zmanjševal. Parameter b^* je med časom skladiščenja naraščal, kar pomeni, da so bili vzorci vedno bolj rumeni, parameter L^* je prav tako naraščal; vzorci so postajali vedno bolj svetli. Izračunali smo tudi povezave med spremembo svetlosti (ΔL^*) in intenzivnostjo barve (ΔC^*) za vse različice jagodnega namaza v primerjavi s primerjalno različico namaza takoj po pripravi in kontrolno različico, ki se je s časom spreminjala. Obe primerjavi sta pokazali, da se je med skladiščenjem najmanj spreminjala barva različice jagodnega namaza, ki je bila skladiščena na nizki temperaturi (4 °C).

V jagodnih namazih smo takoj po pripravi s kromatografsko analizo določili od 41,2 do 60,9 mg skupnih antocianinov izraženih kot mg pelargonidin 3 – glukoze ekvival. na 100 g jagodnega namaza.

Najpomembnejši antocianin v vseh jagodnih namazih je bil pelargonidin 3 – glukozid, saj je predstavljal kar 67 % vseh skupnih antocianinov. Določali smo še vsebnosti cianidin 3 – glukozida, pelargonidin 3 - (6"- malonil glukozida), cianidin 3 - (6"- malonil glukozida), cianidin 3 - (6" sukcinil glukozida) in pelargonidin 3 – rutinozida. Koncentracija pelargonidin 3 – glukozida se je med skladiščenjem značilno zmanjševala v vseh različicah jagodnega namaza, razen v različici namaza, ki je bila skladiščena na nizki temperaturi, kjer značilnih razlik ni bilo. Podobno so se spreminjali praktično vsi ostali antocianini in skupni antocianini. Pri ostalih različicah smo opazili intenzivno zmanjševanja vsebnosti antocianinov, sploh pri pelargonidin 3 – glukozidu in skupnih antocianinih, saj so se pri vseh različicah vsebnosti praktično prepolovile v samo šestih tednih skladiščenja. Vsebnost nekaterih antocianinov je po zaključenem skladiščenju padla pod mejo detekcije. Različica jagodnega namaza, ki je bila skladiščena na nizki temperaturi (4 °C), je po zaključenem skladiščenju vsebovala največ posameznih in skupnih antocianinov v primerjavi z ostalimi različicami.

Vsebnost skupnih fenolnih spojin se med časom skladiščenja ni značilno spreminjala. Takoj po pripravi smo v jagodnih namazih določili približno 300 mg GAE / 100 g jagodnega namaza skupnih fenolnih spojin, podobne rezultate pa smo dobili tudi po koncu skladiščenja, ne glede na različico jagodnega namaza.

Rezultati našega poskusa so pokazali, da sestava in režim skladiščenja vplivata na spremembo barve ter na vsebnost posameznih in skupnih antocianinov med časom skladiščenja. Tako smo tudi potrdili vse zastavljene hipoteze.

Najprimernejši način shranjevanja jagodnega namaza, ki ohranja značilno barvo, vsebnost skupnih in posameznih antocianinov in posledično tudi najboljše prehranske lastnosti od proizvodnje do porabe, je skladiščenje v hladnem prostoru pri 4 °C.

6.1 SUMMARY

Due to their short durability and availability, strawberries are processed into various strawberry products. Maintaining the characteristic attractive red colour of strawberry products, is one of the most important technological parameters defining the acceptability of the final product. Strawberries and strawberry products contain numerous phenolic compounds, among which anthocyanins play a key role in the colour of strawberries. During the processing of strawberries and the storage of products, decomposition and decrease of the content of anthocyanins occur. The changes are affected by different process parameters (addition of various raw materials, storage conditions, etc.) that can change the colour of the final product.

The purpose of the master thesis was to find the best recipe for the industrial production of strawberry spread and an appropriate storage regime, which would increase the colour stability and maintain optimal nutritional properties of the spread after a longer period of storage.

We have assumed that the composition and the storage regime of strawberry spread influence the intensity of the colour change in strawberry spread. We have also assumed that the composition and the storage regime of strawberry spread affect the content of total anthocyanins and their range, and the content of total phenolic compounds in strawberry spread.

We have prepared seven versions of strawberry spread following different recipes (basic recipe, addition of sugar, addition of pectin, addition of natural dyes) and also stored them under various conditions (absence of oxygen, storage at 4 °C, storage at light). Strawberry spreads were stored for 19 weeks, during which time we measured in different time intervals the colour parameters of strawberry spreads, the content of total and individual anthocyanins and the content of total phenolic compounds.

In the 19 weeks of storage, the samples of strawberry spread were becoming less red - parameter a^* was decreasing during storage. Parameter b^* was increasing, which means that the samples were turning more yellow, parameter L^* was increasing; the samples were becoming brighter. We calculated the links between the change in brightness (ΔL^*) and the intensity of the colour (ΔC^*) for all versions of strawberry spread compared to the comparative version of the spread immediately after preparation and the control version, which changed with time. Both comparisons proved that during storage the least change in colour occurred in the version of strawberry spread stored at a low temperature (4 °C).

Immediately after the strawberry spreads were prepared, we used the chromatographic analysis and found from 41.2 to 60.9 mg of total anthocyanins expressed as mg pelargonidin 3 – glucoside ekvival. / 100 g of strawberry spread.

The most important anthocyanin in all strawberry spreads was pelargonidin 3 – glucoside, it accounted for 67% of total anthocyanins. We also determined the content of cyanidin 3 – glucoside, pelargonidin 3 – (6 " – malonyl glucoside), cianidin3 – (6 " – malonyl glucoside), cyanidin 3 – (6 " succinyl glucoside) and pelargonidin 3 – rutinoside. During

storage the content of pelargonidin 3 – glucoside was typically decreasing in all versions of strawberry spread, with the exception of the version stored at a low temperature, where there were no significant changes. Virtually all other anthocyanins and total anthocyanins were changing similarly.

In other versions we observed a large decrease of the content of anthocyanins, especially in pelargonidin 3 – glucoside and in total anthocyanins, as the content in all versions virtually halved in just six weeks of storage. At the end of storage the content of some anthocyanins dropped below the level of detection. The version of strawberry spread stored at a low temperature (4 °C) contained the highest content of individual and total anthocyanins compared with other versions.

The content of total phenolic compounds did not significantly change during storage. Immediately following the preparation, we determined about 300 mg GAE / 100 g of strawberry spread of total phenolic compounds, similar results were obtained also after storage regardless of the version of strawberry spread.

The results of our experiment showed that the composition and the storage regime affect the colour changes and the content of individual and total anthocyanins during storage. Thus we confirmed all the hypotheses.

The most appropriate method of storage for strawberry spread that keeps the characteristic colour, the content of total and individual anthocyanins and consequently also the best nutritional properties from production to consumption, is storage in a cold room at 4 °C.

7 VIRI

- Aaby K., Skrede G., Wrolstad R. E. 2005. Phenolic composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria ananassa*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 4032 – 4040.
- Aaby K., Wrolstad R.E., Ekeberg D., Skrede G. 2007. Polyphenol composition and antioxidant activity in strawberry purees; impact of achene level and storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 5156 – 5166.
- Aaby K., Mazur S., Nes A., Skrede G. 2012. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. Food Chemistry, 132: 86 – 97.
- Abram V., Simčič M. 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. Farmacevtski vestnik, 48: 573 – 589.
- Amakura Y., Umino Y., Tsuji S., Tonogai Y. 2000. Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 6292 - 6297
- Aurelio D. L., Edgardo R. G., Navarro - Galindo S. 2008. Thermal kinetic degradation of anthocyanins in a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. cv. 'Criollo') infusion. International Journal of Food Science and Technology, 43: 322 – 325.
- Ayala Zavala J. F., Wang S. Y., Wang C. Y., Gonzales-Aguiler G. A. 2004. Effect of storage on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. LWT - Food Science and Technology, 37: 687 - 695.
- Bakker J., Bridle P., Koopman A. 1993. Strawberry juice colour: the effect of some processing variables on the stability of anthocyanins. Journal of the Science of Food and Agriculture, 60, 4: 471 – 476.
- Blom H., Enersen G. 1983. What happens with colour in jam processing? NINF – Informasjon, 7: 369 – 377.
- Bravo L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews, 56: 317 - 333.
- Brown A. 2011. Understanding food: Principles and preparation. 4th ed. Wadsworth, Cengage Learning: 318 - 321.
- Buchweitz M., Speth M., Kammerer D. R., Carle R. 2013. Impact of pectin type on the storage stability of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) anthocyanins in pectic model solutions. Food Chemistry, 139: 1168 - 1178.

- Castañeda – Ovando A., Pacheco – Hernández M. L., Páez – Hernández M. E., Rodríguez J. A., Gálan – Vidal C.A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chemistry*, 113: 859 – 871.
- Cavalcanti R. N., Santos D. T., Meireles M. A. A. 2011. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems - an overview. *Food Research International*, 44: 499 - 509.
- Chesson A., Russel W. R., Provan G. J. 1998. Metabolites of the polypropaniod pathway - common origin, common properties? V: Polyphenols in food. First workshop, Aberdeen, Scotland, 16 to 19 April 1997. Amadó R. (ed.). Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities: 17 – 23.
- Clifford M. N. 2000. Anthocyanins: nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1063 – 1072.
- Crecente – Campo J., Nunes – Damaceno M., Romero – Rodrigues M.A., Vazgues – Oderiz M.L. 2012. Color, anthocyanin pigment, ascorbic acid and total phenolic compound determination in organic versus conventional strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch, cv Selva). *Journal of Food Composition and Analysis*, 28: 23 – 30.
- Da Silva F. L., Escribano-Bailón M. T., Pérez Alonso J. J., Rivas- Gonzalo J. C., Santos-Buelga C. 2007. Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT - Food Science and Technology*, 40: 374 – 382.
- Da Silva Pinto M., Lajolo F. M., Genovese M. I. 2008. Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chemistry*, 107: 1629 – 1635.
- DeGregorio M.L., Cante C.J. 1992. Fruit preserves and jellies. V: Encyclopedia of food science and technology. Vol. 2. Hui Y.H. (ed.). New York, John Wiley&Sons, Inc.: 1273 - 1278.
- Dervisi P., Lamb J., Zabetakis I. 2001. High pressure processing in jam manufacture: effects on textural and colour properties. *Food Chemistry*, 73: 85 – 91.
- Dirinck P. J., De Pooter H. L., Willaert G. A., Schamp N. M. 1981. Flavor of cultivated strawberries: the role of the sulfur compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29: 316 - 321.
- Downham A., Collins P. 2000. Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology*, 35; 1: 5 – 22.
- Echo Productions. 1999. CIE L* a* b* color system. Zurich, Echo Productions: 1 str. www.colorsystm.com (11.9. 2006).

- El Nawawi S. A., Heinkel Y. A. 1997. Factors affecting gelation of high ester citrus pectin. *Process Biochemistry*, 32: 381 – 385.
- Ellis C.L., Edirisinghe I., Kappagoda T. 2011. Attenuation of meal - induced inflammatory and thrombotic responses in overweight men and women after 6 - week daily strawberry (*Fragaria*) intake: a randomized placebo - controlled trial. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 18, 4: 318 – 327.
- Espin J.C., Soler – Rivas C., Wichers H. J., Garcia – Viguera C. 2000. Anthocyanin – based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 1588 – 1592.
- FAOSTAT. 2013. Top production: strawberries: 2012. Rome, FAO, Faostat, Agricultural data: 1 str.
<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> (1.5. 2013)
- Folin O., W. Denis W. 1912. Compounds as color reagents. *Journal of Biological Chemistry*, 12: 239 – 243.
- Fossen T., Rayyan S., Andersen Ø. M. 2004. Dimetric anthocyanins from strawberry (*Fragaria ananasa*) consisting of pelargonidin 3 – glucoside covalently linked to four flavan – 3 – ols. *Phytochemistry*, 65: 1421 – 1428.
- Garcia – Viguera C., Zafrilla P., Artes F., Romero F., Abellan P., Tomas – Barberan F. A. 1998. Colour and anthocyanin stability of red raspberry jam. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78, 4: 565 – 573.
- Garcia – Viguera C., Zafrilla P., Romero F., Abellan P., Artes F., Tomas – Barberan F.A. 1999. Colour stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. *Journal of Food Science*, 64: 243 – 247.
- Garzon G.A., Wrolstadt R.E. 2002. Comparison of the stability of pelargonidin – based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 67, 4: 1288 – 1299.
- Giampieri F., Tulipani S., Alvarez-Suarez J. M., Quiles J. L., Mezzetti B., Battino M. 2012. The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, 28: 9 - 19.
- Gössinger M., Ayer F., Radocha N., Hofler M., Boner A., Groll E., Nosko E., Bauer R., Berghofer E. 2008. Consumer's color acceptance of strawberry nectars from puree. *Journal of Sensory Studies*, 24: 78 – 92.
- Haffner K., Finstad M. B., Rosenfeld H. J., Skrede G. 2003. Colour of raspberry jam as influenced by cultivar, temperature and light during storage. *Acta Horticulturae*, 628: 829 – 834.

- Heldt H. W. 1997. Plant biochemistry & molecular biology. 1st ed. New York, Oxford University Press: 352 – 414.
- Heller W. 1994. Topics in the biosynthesis of plant phenols. *Acta Horticulturae*, 381: 46 – 73.
- Hernanz D., Recamales F. A., Melendez – Martinez A, Gonzalez – Miret M. L., Heredia F. J. 2008. Multivariate statistical analysis of the color – anthocyanin relationship in different soilless – grown strawberry genotypes. *Food Chemistry*, 56: 2735 – 2741.
- Hollman P. C. H., Hertog M. G. L. 1998. Epidemiological evidence on potential health effects of flavonoids. V: Polyphenols in food. First workshop, Aberdeen, Scotland, 16 to 19 April 1997. Amadó R. (ed.). Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities: 137 – 138.
- Holzwarth M., Korhummel S., Siekmann T., Carle R., Kammerer D. R. 2013. Influence of different pectins, process and storage conditions on anthocyanin and colour retention in strawberry jams and spreads. *LWT - Food Science and Technology*, 52: 131 - 138.
- Hubbermann E. M., Heins A., Stöckmann H., Schwarz K. 2006. Influence of acids, salt, sugars and hydrocolloids on the colour stability of anthocyanin rich black currant and elderberry concentrates. *European Food Research and Technology*, 223: 83 - 90.
- Hummer K.E., Hancock J. 2009. Strawberry genomics: botanical history, cultivation, traditional breeding, and new technologies. V: Genetics and genomics of Rosacea. Folta K.M., Gardiner S.E. (eds.). New York, Springer: 413 - 435.
- Ibrahim R. K. 1993. Enzymatic conjugation of flavonoids. V: Polyphenolic phenomena. Scalbert A. (ed.). Paris, INRA Editions: 81 – 85.
- INRA. 2015. GenBerry database: strawberry genetic in Europe. Passport data: Senga sengana. Auzeville – Tolosane, Institut National de Recherche Agronomique: 1 str. <http://www.bordeaux.inra.fr/eustrawberrydb/individual/815> (8.6.2015)
- Johnson I. T. 1998. Plant polyphenols: the problem of bioavailability. V: Polyphenols in food. First workshop, Aberdeen, Scotland, 16 to 19 April 1997. Amadó R. (ed.) Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities: 83 – 84.
- Kammerer D., Carle R., Schieber A. 2004. Characterization of phenolic acids in black carrots (*Daucus carota* ssp. *Sativus* var *atrorubens* Alef.) by highperformance liquid chromatography / electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18: 1331 – 1340.
- Kammerer D. R., Schillmoller S., Maier O., Schieber A., Carle R. 2007. Colour stability of canned strawberries using black carrot and elderberry juice concentrates as natural colourants. *European Food Research and Technology*, 224: 667 – 679.

- Kay C. D., Kroon P. A., Cassidy A. 2009. The bioactivity of dietary anthocyanins is likely to be mediated by their degradation products. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53: 95 - 101.
- Kirca A., Özkan M., Cemeroğlu B. 2007. Effect of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chemistry*, 101: 212 – 218.
- Kirca A., Özkan M., Cemeroğlu B. 2007. Storage stability of strawberry jam color enhanced with black carrot juice concentrate. *Journal of Food Processing and Preservation*, 31: 531 – 545.
- Kopjar M. 2007. Utjecaj dodatka trehaloze na kvalitetu paste od jagoda. Doktorski rad. Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet: 260 str.
- Kopjar M., Piližota V., Nedić – Tiban N., Šubarić D., Babić J., Ačkar Đ. 2007. Effect of different addition and its concentration on colour and textural properties of raspberry jam. *Deutsche Lebensmittel – Rundschau*, 103: 164 – 168.
- Kopjar M., Piližota V., Nedić – Tiban N., Šubarić D., Babić J., Ačkar Đ. Sajdl M. 2009. Strawberry jams: influence of different pectins on colour and textural properties. *Czech Journal of Food Science*, 27, 1: 20 – 28.
- Larsen M., Poll L. 1992. Odour thresholds of some important aroma compounds in strawberries. *Zeitschrift für Lebensmittel - Untersuchung und Forschung*, 195: 120 – 123.
- Larsen M., Poll L., Olsen C.E. 1992. Evaluation of the aroma composition of some strawberry (*Fragaria ananassa*, Duch) cultivars by use of odour threshold values. *Zeitschrift für Lebensmittel - Untersuchung und Forschung*, 195: 536 - 539.
- Lee C. Y. 1992. Phenolic compounds. V: *Encyclopedia of food science and technology*. Vol. 3. Hui Y. H. (ed.). New York, Wiley & Sons, Inc.: 2055 – 2061.
- Lewis C. E., Walker J. R. L., Lancaster J. E. 1995. Effect of polysaccharides on the colour of anthocyanins. *Food Chemistry*, 54: 315 – 319.
- Lopes da Silva F., Escibano – Bailon M. T., Alonso J. J. P., Rivas – Gonzalo J. C., Santos – Buelga C. 2007. Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT – Food Science and Technology*, 40: 374 – 382.
- Maccarone E., Maccarone A., Rapisarda P. 1985. Stabilization of anthocyanins in blood orange fruit juice. *Journal of Food Science*, 50: 901 – 904.
- Maccarone E., Maccarone A., Rapisarda P. 1987. Technical note: color stabilization of orange fruit juice by tannic acid. *International Journal of Food Science and Technology*, 22: 153 – 160.

- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 727 – 447.
- Mazza G., Boouillard R. 1990. The mechanism of co – pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry*, 29: 1097 – 1102.
- Mazza G., Miniati E. 1993. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. Boca Raton, CRC Press, FL: 362 str.
- Mazur S., Nes A., Wold A. B., Remberg S. F., Martinsen B. K., Aaby K. 2013. Effects of ripeness and cultivar on chemical composition of strawberry fruits and their suitability for jam production as a stable product at different storage temperatures. *Food Chemistry*, 146: 412 – 422.
- McFadden W. H., Teranishi R., Corse J., Black D. R., Mon T. R. 2005. Volatiles from strawberries. II. Combined mass spectrometry and gas chromatography on complex mixtures. *Journal of Chromatography*, 18: 10 - 19
- McGhire T. K., Walton M. C. 2007. The bioavailability and absorption of anthocyanins: towards a better understanding. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51: 702 – 713.
- Moore V.J. 1988. Effect of packaging and display variables on retail display of frozen lamb chops. *Meat Science*, 22: 313 – 320
- Može Bornšek Š., Žiberna L., Polak T., Vanzo A., Poklar Ulrih N., Abram V., Tramer F., Passamonti S. 2012. Bilberry and blueberry anthocyanins act as powerful intracellular antioxidants in mammalian cells. *Food Chemistry*, 134: 1878 – 1884.
- Nikkhah E., Khayamy M., Heidari R., Jamee R. 2007. Effect of sugar treatment on stability of anthocyanin pigments in berries. *Journal of Biological Science*, 7: 1412 – 1417.
- Ochoa M. R., Kessler A. G., Vullioud M. B., Lozano J. E. 1999. Physical and chemical characteristics of raspberry pulp: storage effect on composition and color. *Food Science and Technology – London*, 32: 149 – 154.
- Özkan M., Yemenicioğlu A., Asefi N., Cemeroğlu B. 2002. Degradation kinetics of anthocyanins from sour cherry, pomegranate and strawberry juice by hydrogen peroxide. *Journal of Food Science*, 67, 2: 525 – 529.
- Patras A., Brunton N. P., O'Donnell C., Tiwari B. K. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science and Technology*, 21: 3 - 11.
- Pkez G., Olias R., Olias J., Olias M., Sanz C. 1998. Strawberry quality as a function of the 'high pressure fast cooling' design. *Food Chemistry*, 62, 2: 161 – 168.

- Prior R. L., Wu X. 2006. Anthocyanins: structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Research*, 40: 1014 – 1028.
- Proteggente A. R., Pannala A. S., Paganga G., van Buren L., Wagner E., Wiseman S., van de Put F., Dacombe C., Rice – Evans C. A. 2002. The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C consumption. *Free Radical Research*, 36: 217 – 233.
- Rababah T. M., Ereifej K. I., Howard L. 2005. Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and color in fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4444 – 4447.
- Rababah T. M., Muhammad H. A., Majdi A. A., Hao F., Abdulaziz M. A., Ali A., Wade Y., Isra K., Mohammad N. A., Khalil E., Mohammad A. D. 2011. Effect on storage on the physiochemical properties, total phenolic, anthocyanin, and antioxidant capacity of strawberry jam. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 9, 2: 101 - 105.
- Reber J.D, Eggett D.L., Parker T.L. 2011. Antioxidant capacity interactions and a chemical/structural model of phenolic compounds found in strawberries. *International Journal of Food, Sciences and Nutrition*, 62, 5: 445 - 452.
- Rein M. J., Heinonen R. 2004. Stability and enhancement of berry juice color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 10: 3106 – 3114.
- Rigo A., Vianello F., Clementi G., Rosetto M., Scarpa M., Vrhovsek U., Mattivi F. 2000. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 1996 – 2002.
- Robards K., Penzler D. P., Tucker G., Swatsitang P., Glover W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 405 – 410.
- Robinson G.M., Robinson M. A. 1931. Survey of anthocyanins I. *Biochemical Journal*, 25: 1687 – 1705.
- Sadilova E., Stintzing F. C., Kammerer D. R., Carle R. 2009. Matrix dependent impact of sugar and ascorbic acid addition on color and anthocyanin stability of black carrot, elderberry and strawberry single strength and from concentrate juices upon thermal treatment. *Food Research International*, 42: 1023 - 1033.
- Sandulachi E. 2011. Stability and quality of strawberry jam low-sucrose. *Annals Food Science and Technology*, 12, 2: 97 – 101.
- SAS Software. 1999. Version 8.01. Cary, SAS Institute Inc.: Software
- Schreier P. 1980. Quantitative composition of volatile constituents in cultivated strawberries, *Fragaria ananassa* cv. Senga Sengana, Senga Litessa and Senga Gourmella. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 31: 487 - 494.

- Sesso H.D., Gaziano J.M., Jenkins D.J.A. 2007. Strawberry intake, lipids, C-reactive protein, and the risk of cardiovascular disease in women. *Journal of the American College of Nutrition*, 26: 303 – 310.
- Simčič M. 1995. Interaktivnost postopkov skladiščenja in antioksidantov na porjavenje eksokarpa jabolk (*Malus domestica* Borkh). Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 80 str.
- Skrede G., Wrolstad R.E., Lea P., Enersen G. 1992. Color stability of strawberry and blackcurrant syrups. *Journal of Food Science*, 57, 1: 172 – 177.
- Smith D.A. 2003. Jams and preserves: Methods of manufacture. V: *Encyclopedia of food science and nutrition*. Vol. 6. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 3409 - 3419.
- Souci W. S., Fachmann W., Kraut H. 2000. *Food composition and nutrition tables*. 6th ed. Stuttgart, Medpharm: 757 – 758.
- SURS. 2014. Pridelava jagod v posameznih letih v Sloveniji. Ljubljana, Statistični urad Republike Slovenije: 1 str.
<http://pxweb.stat.si/pxweb/Dialog/Saveshow.asp>. (15.3.2015)
- Stafford H. A. 1993. Proanthocyanidin and flavan-3-ol biosynthesis: comparison with the anthocyanidin pathway and future needs. V: *Polyphenolic phenomena*. Scalbert A. (ed.). Paris, INRA: 73 – 80.
- Stevenson D.E., Hurst R.D. 2007. Polyphenolic phytochemicals-just antioxidants or much more? *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64, 22: 2900 - 2916.
- Sun J., Chu Y. F., Wu X., Liu R. H. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 7449 – 7454.
- Swanson B. G. 1993. Tannins and polyphenols. V: *Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition*. Vol. 7. Macrae R., Robinson R. K., Sadler M. J. (eds.). London, Academic Press: 4513 – 4517.
- Szajdek A., Borowska E. J. 2008. Bioactive compounds and health – promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Food for Human Nutrition*, 63: 147 – 156.
- Tulipani S., Mezzetti B., Capocasa F., Bompadre S., Beekwilder J., Ric De Vos C. H., Capanoglu E., Bovy A., Battino M. 2008. Antioxidant, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 696 – 704.
- Wang H., Cao G., Prior L. R. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 304 – 309.

- Wicklund T., Rosenfeld H. J., Martinsen B.K., Sundfor M. W., Lea P., Bruun T., Blomhoff R., Haffner K. 2005. Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 38: 387 – 391.
- Wiseman S. A. 1998. Bioavailability of antioxidant activity of tea polyphenols in humans. V: *Polyphenols in food. First workshop, Aberdeen, Scotland, 16 to 19 April 1997.* Amadó R. (ed.). Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities: 115 – 116.
- Wojdło A., Figiel A., Oszmianski J. 2009. Effect of drying methods with the application of vacuum microwaves on the bioactive compounds, color, and antioxidant activity of strawberry fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 1337 – 1343.
- Wong P. K., Yusof S., Ghazali H. M., Che – Man Y. B. 2002. Physicochemical characteristic of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Nutritional Food Science*, 32: 68 – 73.
- Wrolstad R. E. 1993. Colour and pigment analysis in fruit products. Station Bulletin 624. Corvallis, Corvallis Station, Oregon State University: 1-17.
<https://ir.library.oregonstate.edu/xmlui/bitstream/handle/1957/15825/StationBulletin624.pdf?sequence=1> (23.9.2014)
- Wu X., Beecher G.R., Holden J.M., Haytowitz D.B., Gebhardt S.E., Prior R.L. 2006. Concentrations of anthocyanins in common Ffoods in the United States and Estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 11: 4069 – 4075.
- Xue, H., Aziz R. M., Sun N., Cassady J. M. Kamendulis L. M., Xu Y., Stoner G. D., Klaunig J. E. 2003. Inhibition of cellular transformation by berry extracts. *Carcinogenesis*, 22: 351 – 356.
- Zhao Y. 2012. Jams, jellies, and other jelly products. V: *Specialty foods: Processing technology, quality, and safety.* Zhao Y. (ed.). Boca Raton, CRC Press: 136 - 155.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju, doc. dr. Tomažu Požrlu, za strokovnost, ideje, mnenja, pomoč in potrpežljivost.

Zahvaljujem se recenzentu, izr. prof. dr. Blažu Cigiću, za natančen, hiter in strokoven pregled magistrskega dela.

Zahvaljujem se izr. prof. dr. Mireli Kopjar za pregled magistrskega dela, komentarje in predloge.

Najlepša hvala prof. dr. Lei Demšar za statistično obdelavo podatkov.

Hvala Lini Burkan Makivić, univ. dipl. inž., za pregled naloge, odzivnost in prilagodljivost.

Hvala družini, ki mi vedno stoji ob strani in me podpira.