

Aardbei Vine

wijn of fijn?

Pat Dekker
Augustus 1996

Vakgroep Tuinbouwplantenteelt
Stage Geïntegreerde Levensmiddelentechnologie P050-601
Landbouwniversiteit Wageningen

Stage instelling:
ATO-DLO (Agrotechnologisch onderzoek)
Bornsesteeg 56
P.O. Box 17 - 6700 AA Wageningen
Nederland

tel: 0317 475000
fax: 0317 412260
E-mail: info@ato.dlo.nl
Internet: <http://www.dlo.nl/ato>

Begeleiders	ATO-DLO:	Koos Oosterhaven Alex van Schaik
	LUW:	Matthijs Dekker



2223408

Voorwoord

Voor u ligt het verslag: Aardbeien Fine wijn of fijn? Dit verslag is onderdeel van een stage bij de Vakgroep geïntegreerde levensmiddelen technologie. Deze stage is onderdeel van mijn opleiding aan de Landbouwniversiteit Wageningen.

Het onderzoek is uitgevoerd op het ATO-DLO te Wageningen. Ik wil dan ook iedereen, met wie ik zeer prettig heb samengewerkt bedanken. Zonder iemand te kort willen doen wil ik speciaal Alex, Koos en Matthijs bedanken voor de goede en erg leuke begeleiding.

Verder wil ik Herman, Chris, Gérard, Henri, Harmannus, Manon, Anneke, Jan, Mark, Hugo, Eddy, Tjerk, de Rob's en iedereen die ik niet vergeten ben, maar anders wordt dit blad veel te vol, bedanken voor de leuke en leerzame periode. En niet te vergeten voor het vele aardbeien eten, wat niet altijd zo'n pretje was!

17 september 1996
Pat Dekker

Inhoudsopgave

Samenvatting

1 Inleiding

1.1 Algemeen	4
1.2 Doelstelling van het onderzoek	5

2 Materiaal & Methoden

2.1 Proefopzet	6
2.1.1 Accommodatie	6
2.1.2 Objecten	6
2.1.3 Waarnemingen	7
2.2 Het produkt	7
2.3 Methoden	7
2.4 Statistische analyse	10

3 Resultaten

3.1 Proef 1: Bij welke O ₂ concentratie een ethanolmaak	12
3.1.1 Sensorische analyse	12
3.1.2 Sensorische beoordeling zoet en zuur	13
3.1.3 Ethanol in de lucht	14
3.1.4 Discussie proef 1	14
3.2 Proef 2 en 3: Effect van de uiterste ketentemperaturen op de aardbei	15
3.2.1 O ₂ consumptie en CO ₂ produktie	15
3.2.2 Metabolieten in het weefsel	16
3.2.3 Sensorische analyse	19
3.2.4 Correlatie concentratie metabolieten en ethanolmaakl.	20
3.2.5 Meting ethanol in de lucht	21
3.2.6 Brix en pH	21
3.2.7 Algemene beoordeling	21
3.2.8 Rot percentage	22
3.4 Proef 4: Effect combinatie van kritieke gascondities	23
3.4.1 Sensorische analyse	23
3.4.2 Algemene beoordeling	24
3.4.3 Percentage rot	24

4 Discussie

4.1 Relatie smaak en fermentatieve metabolieten	25
4.2 De aardbei in de keten	27
4.3 De methoden	28

Literatuurlijst	31
-----------------------	----

Bijlagen	33
----------------	----

Samenvatting

De doelstelling van het afgelopen onderzoek was: vaststellen van het effect van combinaties O₂ en CO₂ in afhankelijkheid van de tijd en de temperatuur op het ontstaan van fermentatieve metabolieten en daarmee off-flavours bij *Frugaria ananassa* Duchesne cv. Elsanta. Deze doelstelling werd in 4 proeven uitgewerkt.

De aardbeien werden onder verschillende gascondities bewaard. In de eerste 3 proeven werden de aardbeien bewaard in 0, 0.25, 0.50, 1, 3, 5, 21% O₂ gecombineerd met 0% CO₂. In de vierde proef werden de combinaties met 1 en 3% O₂ en 15, 20 en 25% CO₂ beproefd. De aardbeien werden 2 en 5 (7) dagen bewaard bij de uiterste (keten)temperaturen 4 of 16°C. Vervolgens werden ze al dan niet 3 dagen uitgesteld in de lucht bij 8°C. In de proeven werd een sensorische beoordeling uitgevoerd in combinatie met de meting van de fermentatieve metabolieten in het weefsel. Daarnaast werd de respiratie, O₂ consumptie en CO₂ productie gemeten. Uiteindelijk werd van alle objecten een algemene beoordeling gegeven.

Uit de vier proeven is gebleken dat er binnen 2 dagen off-flavours kunnen ontstaan. Deze off-flavours worden veroorzaakt doordat er een verhoogde fermentatie in de aardbeien gaat optreden. Een anaërobe off-flavour is de ethanolmaak. Door welke metabolieten deze ethanolmaak werd veroorzaakt is niet duidelijk. Ethanol en ethylacetaat spelen hierbij vermoedelijk een grote rol. De rol van acetaldehyde op de ethanolmaak is niet groot.

De O₂ concentratie waarboven geen verhoogde fermentatie op zal treden volgens de respiratie metingen, lag bij 4°C en 16°C respectievelijk rond 1-1,5% en 2%. De respiratiesnelheid van de aardbeien bewaard bij 4°C verandert nauwelijks in de eerste 5 dagen. De respiratiesnelheid bij 16°C is hoger dan bij 4°C en wordt ook hoger naarmate de aardbeien langer bewaard worden.

Europese keten (bewaring 4°C)

Wanneer MAP en CA bewaring in de Europese keten gaat worden toegepast zal er voor gezorgd moeten worden dat er zeker geen O₂ concentraties mogen ontstaan welke lager zijn dan 1% O₂ bij 0% CO₂. Onder deze concentratie is de kans groot dat er een onaanvaardbare ethanolmaak ontstaat. Door de aardbeien langer te bewaren en uit te stallen neemt de kwaliteit van het produkt af. De O₂ concentratie heeft geen effect op de algemene beoordeling, ook het percentage rot werd niet overtuigend beïnvloed. Door de aardbeien onder lage O₂ condities te bewaren (0% en 0,5%) werd de smaak ongunstig beïnvloed, welke niet verandert na een uitstalperiode. Dit betekent dat er in een keten waarin de aardbeien constant tot onder 4°C kan koelen geen CA of MA bewaring (wat betreft het O₂ effect) nodig is.

Keten verre bestemmingen (bewaring 16°C)

In de keten naar verre bestemmingen ligt de kritieke O₂ grens hoger. In deze keten mag de O₂ concentratie niet onder 3% komen, dit geldt in combinatie met 0%, 15%, 20% en 25% CO₂. Er werden bijna geen effecten vastgesteld van de O₂ concentratie op de algemene beoordeling. Het rotpercentage was wel minder bij de laagste O₂ concentraties (0% en 0,5%), maar er trad bij deze een ethanolmaak op welke niet altijd verdwijnt. Door de lage O₂ concentraties te combineren met hoge CO₂ concentraties kon het percentage rot verlaagd worden. Na 0 dagen uitstalleven was deze nog aanvaardbaar. Na 3 dagen uitstalleven was het rot percentage niet meer aanvaardbaar, wel had 25% CO₂ een reducerend effect op het percentage. Ook in deze keten heeft CA of MA bewaring (wat betreft de O₂ concentratie) weinig additioneel effect.

1 Inleiding

1.1 Algemeen

Aardbei (*Frugaria ananassa* Duchesne cv. Elsanta) is een moeilijk houdbaar produkt. Het grootste probleem tijdens de naoogstfase is rot, veroorzaakt door *Botrytis cinerea* en *Rhizopus stolonifer*. Andere problemen die tijdens de naoogstfase optreden zijn: mechanische schade en verlies van smaak en aroma.

Om de bewaring optimaal te laten verlopen zouden de geoogste aardbeien direct moeten worden gekoeld. De voorgeschreven koeltemperatuur is 1-2°C bij een RV van 90%. Onder deze omstandigheden is de aardei cv. 'Elsanta' zo'n 8 dagen prima te bewaren.

Om de afzet van Nederlandse aardbeien te bevorderen is export van belang. Dit betreft niet alleen de export van dit produkt binnen Europa maar vooral naar verdere bestemmingen zoals het Midden Oosten en het Verre Oosten (Japan). Omdat koeling in deze transportketen (luchtvracht) niet altijd mogelijk is zijn alternatieve methoden noodzakelijk. Alternatieven zijn controlled atmosphere (CA) en modified atmosphere (MA). Bij deze methoden wordt een lage O₂ en een hoge CO₂ concentratie opgelegd; voor aardbeien zijn de optimale concentraties 5%-10% O₂ en 15%-20% CO₂ (Kader, 1989). Het produkt blijft beter houdbaar, omdat de ademhaling en de aantasting door *B. cinerea* en *R. stolonifer* worden geremd door de veranderde gassamenstelling (Hoek & Schaik, 1994).

Direct gerealiseerde MA-omstandigheden zonder verdere sturing en regeling (5%-15% CO₂) kunnen echter snel tot anaërobe omstandigheden leiden waardoor alcoholvorming en smaakbederf optreedt (Schaik et al., 1995). Deze condities kunnen in MA en CA-omstandigheden al na 12 uur optreden. Er worden dan metabolieten gevormd als ethanol, aceetaldehyde en ethyl acetaat, die het aroma en de smaak bederven, de zogenaamde 'off-odors' en 'off-flavours' (Ke et al., 1991; Larsen, 1994; Li & Kader, 1989). De snelheid van het ontstaan van anaërobe omstandigheden is afhankelijk van de temperatuur van het produkt, verhouding luchtinhoud verpakking en gewicht aardbeien, rijpheid van geoogste aardbeien enz. Volgens Kader (1989) ontstaan deze omstandigheden wanneer de concentraties <2% O₂ en >25% CO₂ worden; dit wordt bevestigd door Hardenburg et al. (1990). Over de kritieke concentraties is in de literatuur nogal wat verschil te vinden, zo wordt vermeld dat de ondergrens voor de O₂ concentratie waarbij nog geen 'off-flavour' ontstaat 0.25% is (Couey et al, 1966). Tijdens anaërobe omstandigheden vindt er tevens een grote warmteproductie plaats, waardoor de veroudering van het produkt sneller zal verlopen.

Er is een trend in de interactie van de temperatuur en de O₂ concentratie. Het effect van een gereduceerde O₂ concentratie is duidelijker bij een hogere temperatuur (Thompson, 1996). Het effect van een lage O₂ concentratie is naast de temperatuur ook afhankelijk van de bewaarduur (Ke & Kader, 1989). Niet alleen O₂ vertoont interacties met de omgevingsfactoren, ook CO₂ vertoont een interactie met de bewaar temperatuur (De Beer et al., 1989).

Het is duidelijk dat er al veel onderzoek naar CA-bewaring van aardbeien is verricht. Dit onderzoek heeft zich echter voornamelijk op cultivars gericht welke in het buitenland worden geteeld als 'Selva' en 'Pajarro'. Deze cultivars hebben grotere en hardere aardbeien dan die in Nederland worden geteeld. De cultivar die in Nederland het meest wordt geteeld is *Frugaria ananassa* Duchesne cv. Elsanta (95%). Een vraag die in dit onderzoek misschien beantwoord kan worden is of de kenmerken van 'Elsanta' overeenkomen met die aardbeien waar al veel onderzoek naar is verricht, wat CA-bewaring betreft.

1.2 Doelstelling van het onderzoek

Vaststellen van het effect van combinaties O_2 en CO_2 in afhankelijkheid van de tijd en de temperatuur op het ontstaan van fermentatieve metabolieten en daarmee off-flavours bij *Frugaria ananassa* Duchesne cv. Elsanta. Deze doelstelling werd in 4 proeven uitgewerkt.

Doelstelling eerste proef

Vaststellen bij welke O_2 concentratie, aangelegd bij de uiterste temperaturen in de keten, fermentatie zal optreden welk door de consument te onderscheiden is. Tevens zal worden onderzocht of een verhoogd CO_2 concentratie gecombineerd met een laag zuurstof gehalte leidt tot extra, dan wel snellere fermentatie.

Doelstelling tweede proef

Het effect van de CO_2 concentratie op de ademhaling en daarmee de fermentatie is meer onderzocht dan bij O_2 het geval is. In deze proef zullen we daarom het effect van lage O_2 concentraties nagaan op de ademhalingssnelheid en de fermentatie op dag 2 en 5 met bijkomende gevolgen voor het uitstalleven ($8^\circ C$) van 3 dagen en smaak bij $4^\circ C$ (temperatuur keten Europa).

Doelstelling derde proef

Zelfde als in de tweede proef, alleen de bewaring vindt plaats bij een temperatuur van $16^\circ C$ (temperatuur keten verre bestemmingen).

Doelstelling vierde proef

Bepalen van het effect van verschillende O_2 en CO_2 combinaties tijdens de bewaring (cq. het transport) van de aardbei op de fermentatie en daarmee de kwaliteit zoals die door de consument wordt waargenomen.

2 Materiaal & Methoden

2.1 Proefopzet

2.1.1 Accommodatie

Op het ATO-DLO te Wageningen wordt voor het verpakkingsonderzoek gebruik gemaakt van het zogenaamde doorstroomsysteem. In dit systeem kan nauwkeurig een bepaalde hoeveelheid O₂, CO₂ en N₂ aan een container worden toegevoegd, zodat iedere gewenste gassamenstelling in de container verkregen kan worden. Het gasmengsel wordt voor dat het de container ingaat samengesteld. Dit wordt geregeld door elektronisch aangestuurde 'mass flow controllers' voor O₂, CO₂ en N₂, deze zorgen voor een constante flow van de gewenste gassamenstelling. Vervolgens verlaat het gas de container naar de buitenlucht. Op deze manier kan er geen andere gassamenstelling, door ophoping van bv. produkt eigen 'volatiles', in de container ontstaan. Het systeem bestaat uit 72 containers (70 l), verdeeld over 8 temperatuur gecontroleerde cellen. In elke cel kan nauwkeurig de temperatuur geregeld worden. In totaal kunnen er dus 8 verschillende temperaturen tegelijk in één proef worden toegepast.

2.1.2 Objecten

In tabel 2.1 zijn de gascondities en overige behandelingen vermeld die in de proeven werden toegepast. In de proeven werden kartonnen bakjes gebruikt, gevuld met 500g aardbeien.

Tabel 2.1. Gascondities en overige behandelingen toegepast per proef.

Proef 1			Proef 2 en 3		Proef 4	
Object	[O ₂]	[CO ₂]	[O ₂]	[CO ₂]	[O ₂]	[CO ₂]
1	0%	0%	0%	0%	1%	15%
2	0.25%	0%	0.5%	0%	1%	20%
3	0.5%	0%	1%	0%	1%	25%
4	1%	0%	3%	0%	3%	15%
5	3%	0%	5%	0%	3%	20%
6	5%	0%	21%	0%	3%	25%
7*	21%	0%	1%	15%*	n.v.t	n.v.t
8*	1%	15%	n.v.t	n.v.t	n.v.t	n.v.t
9*	5%	15%	n.v.t	n.v.t	n.v.t	n.v.t
Variabelen						
Herkomsten	2		1		1	
Bewaring	2 en 7 dagen		2 en 5 dagen		2 en 5 dagen	
Temperatuur	4°C en 16°C		Proef 2 4°C	Proef 3 16°C	16°C	
Uitstalleven (8°C)	n.v.t		0 en 3 dagen		0 en 3 dagen	
Aantal containers	18 (2 cellen)		14 (2 cellen)		12 (1 cel)	
Aantal bakjes per container	12 (per herkomst 6)		Proef 2 4	Proef 3 3	5	

***Object 8 en 9 werden in de eerste proef niet in statistische analyse betrokken. Object 7 werd in de tweede proef niet in de statistische analyse betrokken.**

2.1.3 Waarnemingen

Niet in elke proef werden dezelfde waarnemingen gedaan. Achter elke variabele staat in welke proef en op welke dagen de verschillende waarnemingen zijn uitgevoerd [proef - dag -bewaring - dag uitstalling]. De volgende variabelen werden gemeten:

- [ethanol, acetaldehyde, ethyl acetaat]_{inw} (GC). [2,3 - 2, 5]
- [ethanol]_{uitw} (GC). [1,2,3,4 - 2, 5]
- Ethanol smaak, smaakafwijking (expert panel). [1,2,3,4 - 2, 5 - 0, 3]
- Zoete en zure smaak (expert panel). [1 - 2,7]
- Suikergehalte (brix). [2,3 - 2, 5]
- Zuurgraad (pH). [2,3 - 2, 5]
- Respiratie, O₂ consumptie en CO₂ produktie (GC). [2,3 - 2, 5]
- Algemene beoordeling: [2,3,4 - 0, 2, 5 - 0, 3]
 - Kleur
 - Rijpheid
 - Beschadig
 - Vruchtrot
 - Glans
 - Algemeen oordeel
- Percentage rot [2,3,4 - 2, 5 - 0,3]

2.2 Het produkt

Tijdens dit onderzoek is gebruik gemaakt van het ras 'Elsanta'. Dit is het ras wat het meest gebruikt wordt voor de teelt van aardbeien in Nederland (95%). Dit ras wordt betrokken van telers, welke dit ras gedurende het hele aardbeien seizoen in voldoende mate kunnen leveren. Tijdens de 4 proeven is het echter niet gelukt om aardbeien van één herkomst te betrekken (Tabel 2.2). De rijpheid van de verschillende partijen was bij aanvang van de proeven ook niet constant (Tabel 2.2 en Bijlage I). De aardbeien voor proef 4 waren zelfs niet van de Super klasse, maar Klasse II (enkele beschadigde).

Tabel 2.2. Herkomst en rijpheid van de aardbeien per proef (veiling RBT te Breda).

Proef	Herkomst 1	Herkomst 2	Rijpheid algemeen
1	7360	6569	vrij rijp (1 iets rijper dan 2)
2	6226	n.v.t	vrij onrijp (nog zuur)
3	6226	n.v.t	rijp (kleur heterogeen)
4	6226	n.v.t	vrij rijp (Klasse II)

2.3 Methoden

Analyse metabolieten in het weefsel

In de literatuur worden verschillende methoden genoemd ter bepaling van de fermentatieve metabolieten in het weefsel. Er is een alternatieve analyse methode ontwikkeld, omdat de gangbare methoden te duur en/of niet aanwezig waren. Daarnaast werden de gangbare methoden ook niet vertrouwd. In de gangbare methoden werden de monsters langzaam opgewarmd, tijdens deze periode kunnen nog allerlei veranderingen optreden door de werking van enzymen.

De aardbeien zijn in N₂ ingevroren en bewaard bij -80°C. Voor analyse werden ze ontdooid in de koude kamer (5°C). Het is belangrijk om het benodigde materiaal voor te koelen op 5°C.

De volgende procedure werd gevolgd:

Benodigdheden:

- Mes om monster mee te snijden
- Bekerglazen 200 ml
- MQ
- Interne standaard aceton 1% W/W (in MQ)
- Bak ijs
- Nauwkeurige weegschaal (Mettler pm 2000)
- Pipet (100, 1000 μ l en 2 ml)
- Ultra Thurax
- Stopwatch
- Epjes (1,5 ml)
- Eppendorf centrifuge (13000 rpm)
- Infuus flessen (350 ml)
- Magnetron
- GC

Procedure:

koude kamer

- alle handelingen uitgevoerd op ijs.
- 50 gram fijn gesneden monster werd in een beker glas (200 ml) nauwkeurig afgewogen.
- toevoegen $\pm$ 100 ml MQ (2 delen), totale gewicht nauwkeurig afgewogen.
- toevoegen 1,0 ml interne standaard
- 30 seconden malen met Ultra Thurax
- direct $\pm$ 1 ml gehomogeniseerd monster in Eppendorf pipetteren en op ijs zetten
- 5 minuten centrifugeren, 13000 rpm

lab

- pipetteer 5 μ l monster in een infuus fles (nadat deze met stikstof is geflushed)
- zet het infuus flessen 5 minuten in de magnetron op de hoogste stand
- analyseer de inhoud van de fles m.b.v. de GC

Ter bepaling van de metabolieten in de aardbeien werd gebruik gemaakt van de Chrompack CP 9001, voorkolom; Fused Silica van 25 m x 0,53 mm interne diameter, coating cp sil 5CB, hoofdkolom; Fused Silica van 50 m x 0,53 mm interne diameter, coating cp sil 8CB. De GC was voorzien van een backflush systeem. De GC was uitgerust met een extra gevoelige FID met make-up gas. De oventemperatuur was 40°C en de 'sample loop' was 0,5 ml.

[Ethanol]_{uitw}

De monsters werden direct uit de containers van het doorstroomsysteem genomen, of ze werden tegelijk met de respiratiemetingen uit de weckflessen genomen (proef 2 en 3). Er werden monsters genomen van de objecten 0% en 1% O₂ (0% CO₂).

De GC was van het type Packard 437A. Deze was voorzien van een gepakte Haysep kolom van 3 m inclusief backflush, interne diameter 1/8 inch x 2 mm, 80-100 mesh. De oventemperatuur was 150°C en de 'sample loop' was 1ml.

Sensorische analyse

De smaak van de verschillende objecten bepaald, d.m.v. een expertpanel (Alex v Schaik, Koos Oosterhaven, Gerard van de Boogaard, Henry Boerrigter, Sandra Robat en Pat Dekker) op een continue schaal. Er werd in de eerste proef op vier verschillende attributen gescoord, nl: smaakafwijking, alkoholsmaak, zoet en zuur (Bijlage II). Per object werden ongeveer 3 aardbeien beoordeeld. Het produkt werd een half uur voor aanvang van de sensorische test in een ruimte bij kamertemperatuur gelegd. In proef 2, 3 en 4 werden de attributen zoet en zuur niet meer beoordeeld (Bijlage III).

Suikergehalte en Zuurgraad

Ter bepaling van de zoetheid en zuurgraad werden de brixwaarde en pH van een gehomogeniseerd monster van 10 aardbeien bepaald. De aardbeien werden at random uit de bakjes van een object gehaald en vervolgens werden ze geplet en gehomogeniseerd door middel van een blender (Stomacher 400). De pH werd met een glaselektrode bepaald en de brixwaarde werd vastgesteld door gebruik te maken van een brix-meter (Bleeker Holland, N°-25/750823, SI.4266.) Bij aanvang van proef 2 en 3 waren de brix en pH respectievelijk 5,75 en 3,60 (n = 2).

Respiratie, O₂ consumptie en CO₂ produktie

Ter bepaling van de respiratie (O₂ consumptie en CO₂ produktie) werd op elke container parallel twee weckflessen aangesloten. De weckflessen werden gedurende 2 à 3 uur afgesloten, zodat de ademhalingssnelheid en de ethanolproduktie gemeten konden worden. De O₂ en CO₂ concentraties werden op een GC gemeten. De flow welke door het systeem werd opgelegd, was 500 ml/min. In de weckflessen bevond zich ongeveer 150 g. aardbeien, welke op één decimaal nauwkeurig werden bepaald. Het onderwatergewicht van de aardbeien in de weckflessen werd niet bepaald. Aan het begin van de proef werd van 50 aardbeien het onderwatergewicht bepaald en daarmee werd verder gerekend om het volume van de aardbeien te bepalen. Het gemiddelde van de soortelijke massa van de aardbeien in de proeven was 0,924 kg/dm³.

De aardbei is een zeer actief produkt en wanneer ze maar even onder anaërobe omstandigheden komen vindt er al fermentatie plaats. Daarom kan niet van iedere weckfles het interne volume bepaald worden door het onderwatergewicht van de aardbeien te bepalen.

De GC was van het type Packard 437A. Deze was voorzien van een gepakte Haysep kolom van 3 m inclusief backflush, interne diameter 1/8 inch x 2 mm, 80-100 mesh. De oventemperatuur was 150°C en de 'sample loop' was 1 ml.

Algemene beoordeling

De algemene beoordeling verliep volgens de procedure die ook op de veiling RBT te Breda wordt gevolgd (Bijlage IV). Er werd een totaal score per object gegeven. De beoordeling vond in alle proeven onder dezelfde omstandigheden plaats.

Percentage rot

In elk bakje werden het aantal rotte aardbeien geteld (Bijlage IV). Daarnaast werden van een groot aantal bakjes het totaal aantal aardbeien bepaald. Met behulp van deze cijfers werd het percentage rotte aardbeien bepaald per bakje.

2.4 Statistische analyse

Analyse metabolieten in het weefsel

Ethanol, acetaldehyde en ethyl acetaat

De data van de metabolietenconcentratie in het weefsel van de aardbei werden, zonodig na een log-transformatie aan een variantie-analyse onderworpen. De data werden log-getransformeerd, als uit de dataset bleek dat bij grotere waarden van de metabolieten- concentratie de variantie ook groter was. Wanneer de log-getransformeerde data geen andere effecten dan de onbewerkte data vertoonden, werden de onbewerkte data getoond. De data van ethyl acetaat werden niet statistisch geanalyseerd.

Significante effecten werden in grafieken en tabellen duidelijk gemaakt door de significant verschillende waarden een andere letter te geven. De laagste waarde had altijd een 'a'.

Ethanol in de lucht

Deze data werden niet statistisch getoetst.

Suikergehalte en Zuurgraad

De data van suikergehalte en zuurgraad vertoonden geen enkele trend, ze lagen dichtbij elkaar. Er werd daarom geen statistische analyse op deze cijfers toegepast.

Respiratie, O₂ consumptie en CO₂ productie

Met behulp van het programma Genstat werden de data gefit in het model van Peppelenbos et al. (1996), maar de data werden niet getoetst.

Sensorische analyse

Bij de eerste proef werden 2 cellen gebruikt, waarin totaal 36 experimentele eenheden werden geplaatst. In cel 4.12 werd een temperatuur aangehouden van 4°C en in cel 4.14 een temperatuur van 16°C. In beide cellen werden 9 containers gebruikt, in beide cellen werden de negen gascondities toegepast en in elke container bevonden zich 6 bakjes aardbeien (6* 500 g) van elke herkomst. De herkomsten werden als blokken benoemd. Er werd geen verschil tussen de herkomsten verwacht, ze stelden een representatief beeld voor van de herkomsten van de aardbeien in Nederland. De andere proeven werd één herkomst getoetst. In de andere proeven werd de bewaarduur echter als blok benoemd. Dit omdat deze later weer uitgesplitst werd in shelf life. Eigenlijk moet hier een split/plot analyse plaatsvinden, maar deze is niet te combineren met een binomiale verdeling.

De resultaten van de sensorische analyse werden met het statistische pakket Genstat geanalyseerd. De data werden per tijdstip afzonderlijk geanalyseerd. Op de resultaten van de ethanol smaak en smaakafwijking werd een binomiale verdeling toegepast. Voor verwerking van de data van zoet en zuur werd gekozen voor de variantie-analyse. Alle data werden getoetst met een overschrijdskans van 0,05. Als na de analyses een significant behandelingseffect werd aangetoond, werd een Student's *t*-test uitgevoerd om de verschillen tussen de verschillende behandelingen zichtbaar te maken. Voor de *t*-waarde werd een dubbelzijdig kritiek gebied genomen.

De sensorische beoordeling werd uitgevoerd door een expertpanel van 6 personen. Deze personen konden niet als een herhaling van de analyse worden beoordeeld. De resultaten van de 6 personen per object werden gemiddeld en vervolgens geanalyseerd. Door het middelen van de data werden verschillen in het invullen van de formulieren door de 6 personen uitgeschakeld.

Ter beoordeling van de ethanolmaak werd een psychologische grens ingesteld van 25, waaronder de scores niet meer werden meegeteld. Vervolgens werd het aantal personen geteld, het aantal welke boven de 25 hadden gescoord. Op de dataset werd een binomiale verdeling toegepast. Op deze manier werd aangetoond, of er ethanol werd geproefd of niet.

Er werd op de resultaten van de ethanolmaak en smaakafwijking een binomiale verdeling toegepast omdat in deze data veel nullen werden gescoord, waardoor de data niet meer normaal verdeeld waren. De data waren niet binomiaal (wat een binomiale verdeling veronderstelt), maar de grenzen van de in te vullen formulieren (Bijlage II en III) konden als 0 en 1 worden aangezien. De data van de zoet en zuur beoordeling van de aardbeien welke 7 dagen bewaard werden bij 16°C ontbraken, omdat er veel aardbeien rot waren. Er waren net voldoende aardbeien om te beoordelen op ethanol smaak en smaakafwijking. Kritieke rechtergrens bij de F-toets was $F^1_{23}(0,05) = 4,279$ (proef 1).

In de tabellen en de grafieken van de ethanolmaak en de smaakafwijking van de aardbeien kon geen standaardafwijking worden aangegeven. Verschillen tussen de objecten (wat betreft O₂ concentratie) konden vastgesteld worden met de door Geurt voorgelegde procedure (Bijlage V).

Algemene beoordeling

De data van de algemene beoordeling waren ordinaal verdeeld. De data waren echter zo slecht verdeeld dat ze beter persoonlijk konden worden geïnterpreteerd.

Percentage rot

Deze data werden net als die van de sensorische analyse met een binomiale verdeling getoetst op effecten van de behandelingen. Omdat deze data niet normaal verdeeld worden, kon er geen variantie-analyse worden toegepast. De dataset van percentages hoeft namelijk niet altijd normaal verdeeld te zijn. Wanneer de percentages tussen 30% en 70%, of dicht bij elkaar liggen mag alleen worden aangenomen dat ze normaal verdeeld zijn. Een methode om toch een variantie analyse toe te passen is eerst een arc sin-transformatie op de data toe te passen. Deze methode wordt ook wel de ANGULAR-methode genoemd.

3 Resultaten

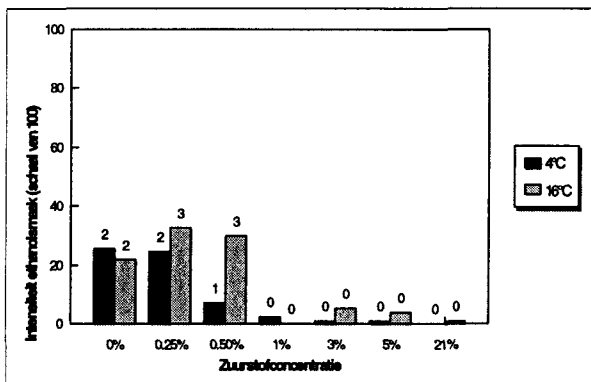
3.1 Proef 1: Bij welke O₂ concentratie een ethanolmaak

3.1.1 Sensorische analyse

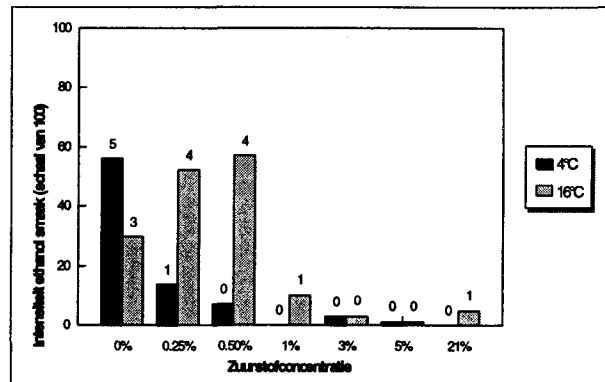
Ethanolmaak en smaakafwijking

Op dag 2 was er al rot aanwezig in de bakjes aardbeien die bij 16°C bewaard werden. Zowel na 2 en 7 dagen bewaring werd bij beide temperaturen een ethanolmaak waargenomen door het panel (Fig. 3.1 en 3.2).

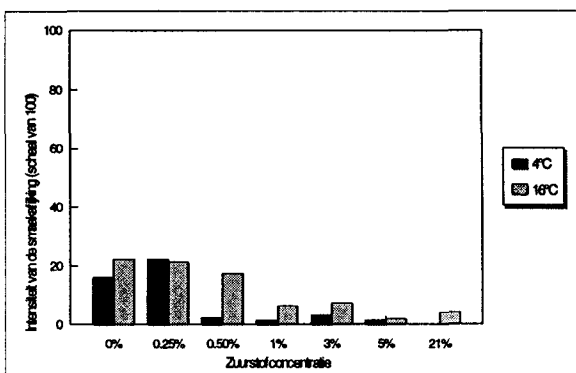
De intensiteit van de ethanolmaak zoals die door het panel was waargenomen werd na 2 en 7 dagen significant door de O₂ concentratie beïnvloed. Bij de lage O₂ concentraties, 0, 0,25 en 0,50% werd de ethanolmaak waargenomen (Fig. 3.1). Na 7 dagen bewaring van de aardbeien was er echter een significante interactie tussen de O₂-concentratie en de temperatuur (Fig. 3.2). Bij 4°C werd na 7 dagen bewaring geen ethanolmaak aangetoond bij de O₂ concentraties van 0,25 en 0,5%, terwijl bij 16°C deze wel werd aangetoond. Na 2 dagen bewaring is deze trend ook te zien, deze is echter niet significant.



Figuur 3.1. Het effect van de zuurstofconcentratie en de bewaartemperatuur op intensiteit van de ethanolmaak waargenomen door een expertpanel van 6 personen na 2 dagen bewaring. De labels boven de staafjes geven het aantal personen weer dat een score had gelijk of hoger dan 25.



Figuur 3.2. Effect van de zuurstofconcentratie en de bewaartemperatuur op de intensiteit van de ethanolmaak waargenomen door een expertpanel van 6 personen na 7 dagen bewaring. De labels boven de staafjes geven het aantal personen weer dat een score had gelijk of hoger dan 25.

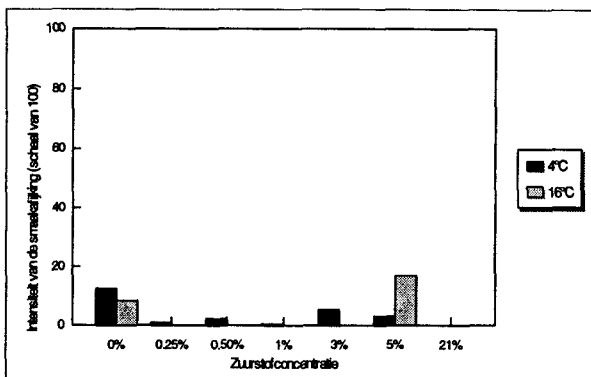


Figuur 3.3. Effect van de zuurstofconcentratie en de bewaartemperatuur op de intensiteit van de smaakafwijking waargenomen door een expertpanel van 6 personen na 2 dagen bewaring.

De smaakafwijking van de aardbeien werd na 2 dagen bewaring door de temperatuur en de O₂-concentratie significant beïnvloed. Bij 16°C was de intensiteit van de smaakafwijking hoger dan bij 4°C (Fig. 3.3 en 3.2). De intensiteit van de waargenomen smaakafwijking nam af bij een stijgende O₂-concentratie.

De intensiteit van de smaakafwijking werd niet na 7 dagen beïnvloed door de zuurstofconcentratie (Fig 3.4).

De objecten, waarbij de CO₂ concentratie verhoogd werd naar 15%, gaven geen systematisch ander beeld dan die objecten zonder CO₂. Alleen de smaakafwijking leek hoger bij de objecten met een verhoogde CO₂ concentratie.



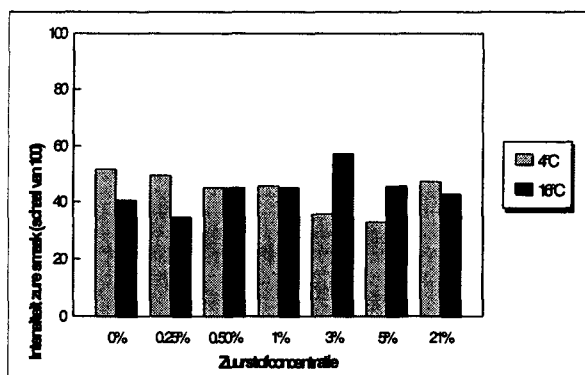
Figuur 3.4. Effect van de zuurstofconcentratie en de bewaar temperatuur op de intensiteit van de smaakafwijking waargenomen door een expertpanel van 6 personen na 7 dagen bewaring.

Ondanks dat er oorspronkelijk geen verschil werd verwacht tussen de herkomsten, was er toch duidelijk verschil waar te nemen. Bij herkomst 1 was de intensiteit van de ethanolmaak minder (data niet getoond).

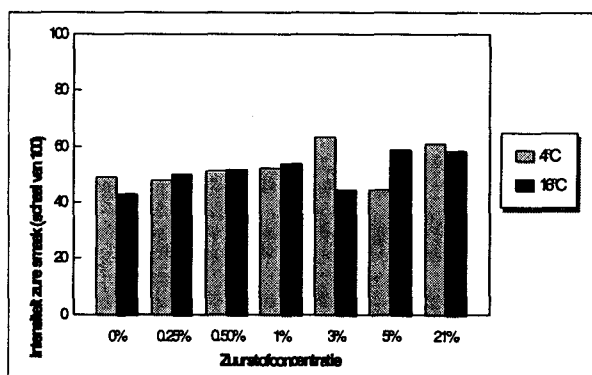
3.1.2 Sensorische beoordeling zoet en zuur

Temperatuur en gasconditie

Op dag 2 was er een significante interactie van de temperatuur en de gasconditie op de intensiteit van zoet ($P = 0.021$) en zuur ($P = 0.015$) van de aardbeien (Fig. 3.5 en 3.6). Er was echter geen trend in de data van beide smaken te ontdekken. Op dag 7 hadden de verschillende behandelingen geen effect op de intensiteit van de smaken zoet en zuur bij een bewaar temperatuur van 4°C (data niet getoond). In de volgende proeven is de sensorische beoordeling van de zoete en zure smaak niet meer meegenomen omdat er geen invloed van O₂ en CO₂ op de zoete en zure smaak bleek te zijn.



Figuur 3.5. Effect van de temperatuur en de zuurstofconcentratie (LSD = 9,7) op de intensiteit van de zoete smaak waargenomen door het expertpanel van 6 personen na 2 dagen bewaring.



Figuur 3.6. Effect van de temperatuur en de zuurstofconcentratie (LSD = 12,2) op de intensiteit van de zure smaak waargenomen door het expertpanel van 6 personen na 2 dagen bewaring.

3.1.3 Ethanol in de lucht

De ethanolproductie was bij beide objecten erg hoog (Tabel 3.1). Bij een temperatuur van 4°C was er geen verschil in ethanolproductie tussen de 0% en 1% O₂. De ethanolconcentratie was bij de bewaring in 16°C veel hoger dan bij 4°C, wat kan verklaard kan worden door hogere ademhalings activiteit (ethanolproductie) van de aardbei. Een andere mogelijke verklaring is dat het ethanol bij 16°C sneller uit het aardbeien weefsel naar de omringende lucht diffundeert. De zuurstofconcentratie had wel invloed bij 16°C. Bij een zuurstof-concentratie van 1% O₂ was de ethanolconcentratie hoger dan bij 0% (Tabel 3.1). Dit was tegen de verwachtingen in, omdat er verondersteld werd dat bij 0% O₂ de fermentatie het hoogst zou zijn.

Tabel 3.1. Effect van de zuurstofconcentratie en de temperatuur op de [ethanol]_{uitw} (ppm), niet omgerekend, in een container van 70 l gevuld met 6 kg aardbeien van het ras 'Elsanta', CO₂ concentratie was 0%.

! N.B. ^a Temperatuur	Zuurstofconcentratie	
	0%	1%
4°C	2.81	2.39
16°C	31.3	51.9

^aDeze cijfers zijn niet statistisch onderbouwd en er vond geen duplo bepaling plaats.

3.1.4 Discussie proef 1

Er was op beide dagen vrijwel geen verschil in de sensorische beoordeling, terwijl er wel verwacht werd dat de kwaliteit van de aardbeien in verloop van tijd zou gaan verschillen. Dit werd mogelijk veroorzaakt, doordat de aardbeien bij het inzetten van deze proef nog niet erg rijp waren, waardoor het effect van de bewaring niet duidelijk naar voren kwam (Tabel 2.2).

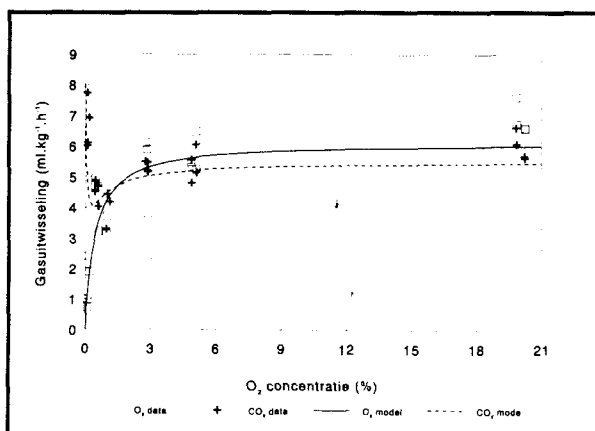
Uit deze proef is gebleken dat de aardbei cv. 'Elsanta', wanneer de O₂ concentratie in de lucht lager wordt dan 1% smaakafwijkingen gaat vertonen. Er vindt, wanneer de aardbeien bewaard worden bij 16°C, vrijwel altijd fermentatie plaats. Deze grens ligt lager, waarschijnlijk tussen 0,25% en 0,5% O₂ in, wanneer de aardbeien bewaard worden bij 4°C. Bij een volgende proef zouden er meer behandelingen kunnen worden toegepast met O₂ concentraties rond 0,5%.

Bij ontwerpen van de proef 2 werd verondersteld, op basis van proef 1, dat de O₂ concentratie waarboven de ethanolmaak waargenomen wordt zeker boven 0,5% ligt en daarom werd het object 0.25% O₂ niet meer meegenomen. In de vervolg proeven is echter gebleken dat die concentratie niet helemaal vastligt en van meerdere factoren afhankelijk kan zijn. Zo zou het kunnen zijn dat de ethanolmaak eerder waargenomen worden, wanneer de aardbei vrij koel is (12°C en lager). De andere aroma componenten zouden beneden die temperatuur minder tot hun recht kunnen komen. Tevens kan de rijpheid bij aanvang van de proef weer van groot belang zijn.

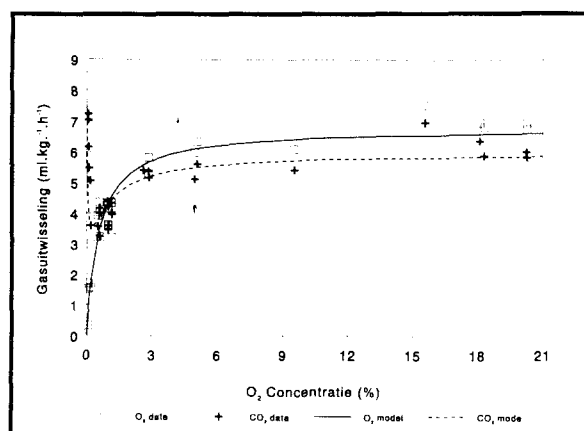
3.2 Proef 2 en 3: Effect van de uiterste ketentemperaturen op de aardbei

3.2.1 O₂ consumptie en CO₂ produktie

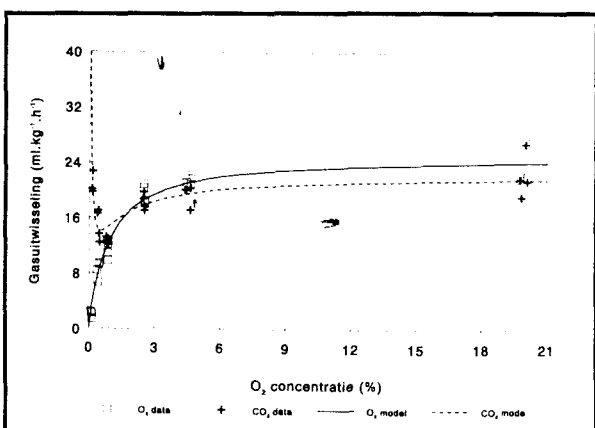
De curven van de respiratie na 2 en 5 dagen bewaring bij 4°C zijn niet duidelijk verschillend. De activiteit van de aardbei werd niet beïnvloed door de bewaring bij 4°C (Fig. 3.7a en 3.7b). De curven van de respiratie bij 16°C verschillen daarentegen erg veel (Fig. 3.7c en 3.7d). De activiteit van de aardbei is veel hoger na 5 dagen bewaring dan na 2 dagen bewaring bij 16°C.



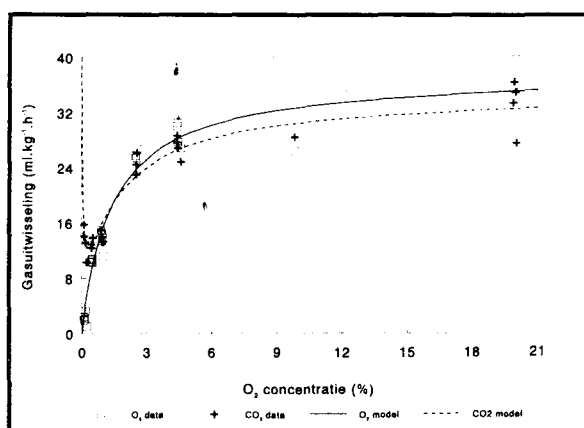
Figuur 3.7a. Effect van de zuurstofconcentratie op de gasuitwisseling van aardbei 'Elsanta' na 2 dagen bewaring bij 4°C.



Figuur 3.7b. Effect van de zuurstofconcentratie op de gasuitwisseling van aardbei 'Elsanta' na 5 dagen bewaring bij 4°C.



Figuur 3.7c. Effect van de zuurstofconcentratie op de gasuitwisseling van aardbei 'Elsanta' na 2 dagen bewaring bij 16°C.



Figuur 3.7d. Effect van de zuurstofconcentratie op de gasuitwisseling van aardbei 'Elsanta' na 5 dagen bewaring bij 16°C.

Het valt ook op dat de K_m (tijd waarin de helft van V_m werd bereikt) waarde bij de aardbei al snel bereikt werd (Tabel 3.2). Dit betekent dat de activiteit van de aardbei pas bij lage O₂ concentraties geremd werd. De maximale gasuitwisseling (V_m) werd al bij lage O₂ concentraties bereikt. Dit heeft gevolgen voor de CA-bewaring. Het verlagen van de activiteit van de aardbei door verlagen van de O₂ concentratie, een doel van de CA-bewaring, heeft pas veel effect bij lage concentraties. Bij deze concentraties treedt juist een verhoogde fermentatie op. Het is dus de vraag of CA-bewaring wel effect heeft bij de aardbei.

De waarden van de maximale fermentatieve CO₂ productie (V_m CO₂) waren niet in overeenstemming met de waarden die je op grond van het metabolisme zou verwachten, ze zijn veel te hoog (Tabel 3.2). De oorzaak was dat de O₂ concentratie niet echt 0% was en daardoor kon Genstat V_mCO₂ niet goed met de fit procedure schatten.

Tabel 3.2. Effect van de bewaartemperatuur en duur op de gasuitwisseling (ml.kg⁻¹.h⁻¹).

	Bewaring 4°C		Bewaring 16°C	
	2 dagen	5 dagen	2 dagen	5dagen
V _m O ₂	6,801	6,143	25,227	37,34
K _m O ₂	0,566	0,446	0,901	1,437
V _m CO ₂	7,5 ^a	8,0	61,7	41,5
K _m CO ₂	0,07	0,09	0,055	0,0515
RQ _{ox}	0,8835	0,9015	0,8893	0,924

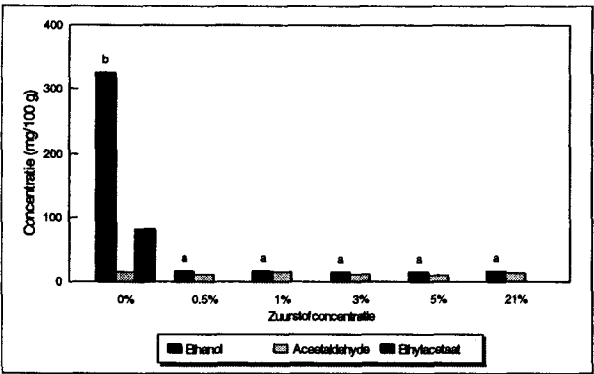
^aSchatting V_mCO₂ zijn te hoog door moeilijkheden met de fit procedure.

3.2.2 Metabolieten in het weefsel

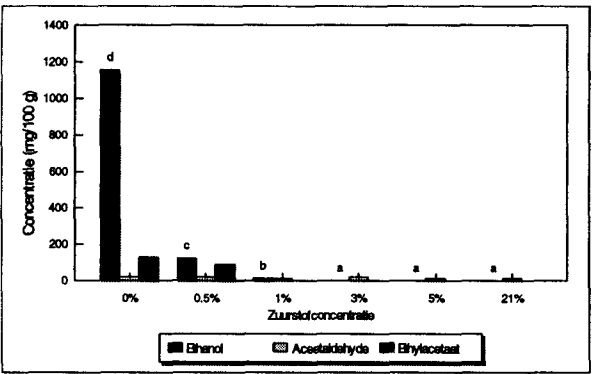
Ethanol

O₂ concentratie

Uit proef 2 blijkt duidelijk dat alleen bij een gasconditie van 0% O₂ en 0% CO₂ een verhoging van de ethanolconcentratie in het weefsel heeft plaatsgevonden (Figuur 3.8 en Tabel 3.3). In het weefsel van de overige objecten was de ethanolconcentratie 15-19 mg/100 g produkt. Dit betekent dat er altijd ethanol aanwezig is in de aardbeien en dat er dus altijd fermentatie plaatsvindt. Dit wordt in de literatuur onderschreven (Peppelenbos, 1996; Peppelenbos & Oosterhaven 1996).



Figuur 3.8. Het effect van de zuurstofconcentratie op de fermentatieve metabolieten concentratie in het weefsel bij bewaring in 4°C. Wanneer de labels boven de staafjes verschillend zijn, betekent het dat de concentraties significant verschillend zijn ($\alpha = 0,05$).



Figuur 3.9. Het effect van de zuurstofconcentratie op de fermentatieve metabolieten concentratie in het weefsel bij bewaring in 16°C. Wanneer de labels boven de staafjes verschillend zijn, betekent het dat de concentraties significant verschillen ($\alpha = 0,05$).

Net als in proef 2 was in proef 3 het effect van de gassamenstelling op de ethanolconcentratie in het weefsel significant ($P = 0.04$). De ethanolconcentratie was bij het object 0% O₂ en 0% CO₂ duidelijk hoger dan bij de andere objecten (Figuur 3.9 en Tabel 3.4). De concentratie was op dag 2 en 5 bij 0% O₂ en CO₂ respectievelijk 927 en 1386 mg/ 100 g produkt. De ethanolconcentratie was bij de objecten 0,5% en 1% O₂ hoger dan bij de objecten met een O₂ concentratie hoger of gelijk aan 3% O₂. En de ethanolconcentratie bij 0,5% O₂ was weer hoger dan die bij 1%.

In proef 3 kon ethanol soms niet aangetoond worden, in tegenstelling tot proef 2, en in die proef was de temperatuur hoger (Tabel 3.4). De reden daarvan zou gezocht kunnen worden in de meetmethode. De GC zou minder scherp afgesteld kunnen zijn in proef 3 (althoewel de laagst gemeten waarden in dezelfde orde van grootte liggen), of in proef 2 is er tijdens de extractie wat misgegaan. Een andere verklaring kan gezocht worden in verschil van rijpheid van het produkt of het verschil in temperatuur van proef 2 en 3, respectievelijk 4°C en 16°C. De rijpheid van de aardbeien bij aanvang van de proef was in de derde proef niet lager dan die in proef 3 (Tabel 2.2). En het is ook onwaarschijnlijk dat bij een hogere temperatuur de fermentatie minder was dan bij de lagere temperatuur. Waarschijnlijk moet de verklaring in de extractiemethode gezocht worden.

Acetaldehyde

In beide proeven werd geen effect van de bewaarduur en gasconditie vastgesteld (Tabel 3.3 en 3.4). De acetaldehyde concentratie in het weefsel lag ongeveer tussen de 10-15 mg/100g product. Het valt wel op dat bij de objecten waar een hoge concentratie ethanol werd gemeten de acetaldehyde over het algemeen ook wel hoger was dan die bij de lage concentraties ethanol (Fig. 3.8 en 3.9), de variantie van de gemeten waarden was echter te groot. Daarbij komt nog dat de te meten concentraties vrij laag waren en tegen de detectiegrens van de GC aanlagen, waardoor de betrouwbaarheid van de getallen ook achteruit gaat. Li & Kader (1989) vermelden dat de acetaldehyde niet stijgt onder anaerobe omstandigheden en Ke et al. (1991) vinden echter wel een stijging van deze concentratie. Het effect van de O₂ concentratie op acetaldehyde is dus niet eenduidig. Larsen & Watkins (1995) schrijven dat acetaldehyde een belangrijke rol gaat spelen wanneer de aardbei overrijp wordt en dat daardoor een verstrengeling van off-flavour en rijpheid zou kunnen optreden.

Ethylacetaat

Uit beide proeven bleek dat er alleen ethylacetaat werd gemeten bij waarden van ethanol van boven de 100 mg/ 100 g weefsel. Bij 4°C werd alleen ethylacetaat gemeten in het weefsel van aardbeien 2 en 5 dagen bewaard in 0% O₂ en bij 16°C in het weefsel van aardbeien 2 en 5 dagen bewaard bij 0% en 0.5% O₂ (Tabel 3.3 en 3.4). De correlatie van ethylacetaat en de waargenomen intensiteit van de ethanolmaak door het panel was nog hoger dan van ethanol (Tabel 3.6 en 3.7), wat er op kan duiden dat ethylacetaat voor het grootste deel de ethanolmaak veroorzaakt. De correlatie was wel hoger van ethylacetaat dan ethanol, maar dat kan ook veroorzaakt zijn door het hoge aantal nullen dat werd gescoord bij de meting van ethylacetaat. De methode die gevolgd is kan ethylacetaat misschien niet nauwkeurig genoeg bepalen en zou daarom aangepast moeten worden.

Effect van CO₂

De concentratie van de metabolieten in de aardbeien van het object met een verhoogde CO₂ concentratie (1% O₂ ; 15% CO₂) was in proef 2 iets lager dan die van hetzelfde object zonder CO₂ (data niet getoond). De smaakafwijking die in proef 1 is gevonden bij de objecten met een verhoogde CO₂ concentratie is dus waarschijnlijk niet te wijten aan een verhoging van de metabolieten die bij fermentatie ontstaan. Het vermoeden dat deze smaak direct met CO₂ te maken heeft wordt hierdoor weer ondersteund.

Tabel 3.3. Effect van de zuurstofconcentratie (%) op de metabolieten concentratie in het weefsel (mg/100 g versgewicht) en de sensorische beoordeling van de aardbei 'Elsanta'. De cijfers zijn gemiddelden na 2 en 5 dagen bewaring bij 4°C .

GC ^a	Zuurstofconcentratie (%)						LSD ^b
	0	0,5	1	3	5	21	
Ethanol (mg/100 g)	327 b ^c	17 a	16 a	15 a	15 a	17 a	151
Acetaldehyde (mg/100 g)	14	11	14,3	11,5	9,5	12,6	ns
Ethylacetaat (mg/100 g)	80	0	0	0	0	0	n.v.t.
Panel							
Ethanolmaak (intensiteit) ^d	56,4 (5) ^e	0 (0)	3,1 (1)	0,5 (0)	1,34 (0)	3,58 (0)	n.v.t.
Smaakafwijking (intensiteit)	22,2	11,5	9,0	9,8	8,4	8,4	n.v.t.

Tabel 3.4. Effect van de zuurstofconcentratie (%) op de metabolieten concentratie in het weefsel (mg/100 g versgewicht) en de sensorische beoordeling van de aardbei 'Elsanta'. De cijfers zijn gemiddelden na 2 en 5 dagen bewaring bij 16°C .

GC ^a	Zuurstofconcentratie (%)						LSD ^b
	0	0,5	1	3	5	21	
Ethanol (mg/100 g)	1157 d ^c	119 c	14 b	0 a	0 a	0 a	9,8
Acetaldehyde (mg/100 g)	19	15,7	12,4	15,0	10,8	12,6	ns
Ethylacetaat (mg/100 g)	126	87	0	0	0	0	n.v.t.
Panel							
Ethanolmaak (intensiteit) ^d	58,8 (5) ^e	35,7 (4)	15,4 (2)	12,0 (1)	0,2 (0)	0,6 (0)	n.v.t.
Smaakafwijking (intensiteit)	26,9	22,5	17,6	11,8	12,5	13,9	n.v.t.

^aP = gas chromatograaf.

^bLSD = het kleinste significante verschil tussen behandelingen.

^c Verschillende letters duiden op significante verschillen binnen een kolom (Student's *t*-test, P = 0,05).

^dIntensiteit op een schaal van 100.

^eAantal mensen dat boven de psychologische grens van 25 gescoord heeft.

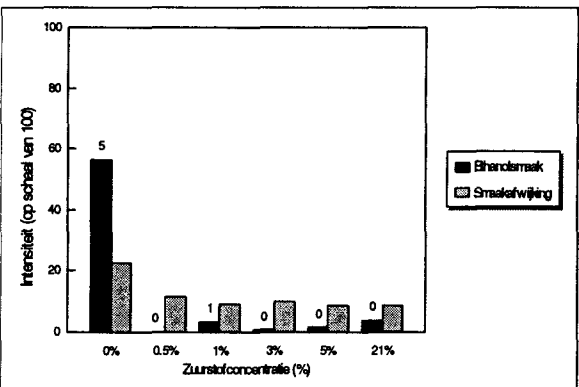
3.2.3 Sensorische analyse

Ethanolsmaak

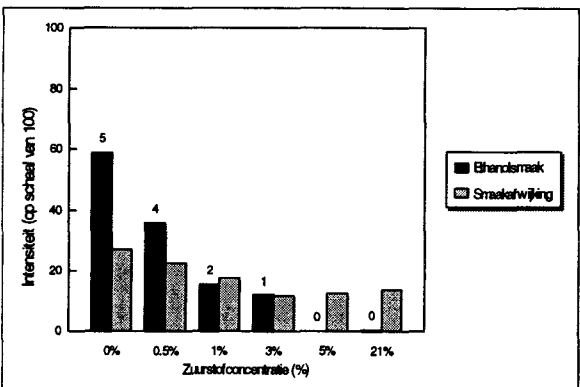
O₂ concentratie

Er werd verwacht dat de intensiteit van de ethanolsmaak na 5 dagen bewaring hoger zou zijn dan na 2 dagen bewaring. De intensiteit van de ethanolsmaak werd echter alleen significant beïnvloed door de O₂ concentratie (Figuur 3.10 en Tabel 3.3). Het uitstalleven, 3 dagen 8°C had geen verminderde intensiteit van de ethanolsmaak tot gevolg, de intensiteit leek zelfs iets toe te nemen (Bijlage VI).

Net als in proef 2, bij 4°C, heeft alleen de O₂ concentratie in proef 3, bij 16°C een effect op de intensiteit van de waargenomen ethanolsmaak door het panel (Figuur 3.11 en Tabel 3.4). De intensiteit van de ethanolsmaak lijkt na 3 dagen uitstalling minder sterk te zijn dan zonder uitstalling (Bijlage I). In deze proef werd dus wel, net als in de literatuur wordt vermeld, een vermindering van de ethanolsmaak (niet significant) waargenomen door een periode in lucht, dit in tegenstelling tot hetgeen in proef 2 gevonden werd.



Figuur 3.10. Het effect van de zuurstofconcentratie op intensiteit van de ethanolsmaak en de smaakafwijking waargenomen bij 4°C door een expertpanel van 6 personen. De labels boven de staafjes geven het aantal personen weer dat een score had gelijk of hoger dan 25.



Figuur 3.11. Het effect van de zuurstofconcentratie op de intensiteit van de ethanolsmaak en de smaakafwijking waargenomen door een expertpanel van 6 personen bij 16°C. De labels boven de staafjes geven het aantal personen weer dat een score had gelijk of hoger dan 25.

Smaakafwijking

In proef 2 was geen effect van de behandelingen op het optreden van een smaakafwijking anders dan de ethanolsmaak. De smaakafwijking was bij het object met 0% zuurstof wel hoger dan bij de andere objecten, door een grote variantie was deze echter niet significant verschillend (Figuur 3.10 en Tabel 3.4).

O₂ concentratie en bewaarduur

De smaakafwijking werd in proef 3 beïnvloed door de O₂ concentratie en de bewaarduur, interactie (Tabel 3.5). De intensiteit van de smaakafwijking was sterker bij de lagere O₂ concentraties, maar na 5 dagen bewaring was bij 21% O₂ de intensiteit van de smaakafwijking hoger dan na 2 dagen bewaring. Dit werd waarschijnlijk veroorzaakt door het grote aantal rotte aardbeien in de bakjes aardbeien, waardoor de niet rotte aardbeien ook een rare smaak kregen. De aardbeien waren na 2 dagen bewaring nog niet zo erg aangetast (zie ook percentage rot).

Tabel 3.5. Effect van de zuurstofconcentratie en de bewaring bij 16°C (interactie) op de intensiteit van de smaakafwijking waargenomen door een expertpanel van 6 personen.

	Zuurstofconcentratie (%)					
	0	0,5	1	3	5	21
Bewaring						
2 dagen	32,6 e	27,2 d	19,8 c	8,75 ab	10,4 a	5,4 a
5 dagen	21,2 cd	17,9 bc	15,4 bc	14,9abc	8,7 ab	22,5 cd

^a Verschillende letters duiden op significante verschillen binnen de tabel (Student' *t*-test, $P=0,05$, $LSD=9,2$).

3.2.4 Correlatie van de concentratie fermentatieve metabolieten in het weefsel en de ethanolmaak waargenomen door het expertpanel.

In proef twee werd de ethanolmaak niet meer door het panel waargenomen, terwijl er ethanol in het aardbeientissue door de GC werd gemeten (Tabel 3.3). Dit kan erop duiden dat de 'thresholdvalue' voor ethanol bij de meeste objecten niet bereikt werd. Een grens zou uit proef 2 te trekken zijn bij een concentratie ethanol van boven 25 mg/ 100 g weefsel (Tabel 3.3) . In proef 3 werd de ethanolmaak echter wel door het panel vastgesteld, terwijl er geen ethanol meer door de GC werd gemeten (Tabel 3.4). Dit kan erop duiden dat de waargenomen ethanolmaak niet door alcohol werd veroorzaakt, maar door bijvoorbeeld acetaldehyde. Dit werd ook als mogelijkheid aangegeven door Gerard en Henry. Het niet meer detecteren van ethanol kan ook veroorzaakt zijn doordat de GC niet scherp genoeg was afgesteld. De correlatie tussen de ethanolconcentratie van het weefsel en de intensiteit van de ethanolmaak, waargenomen door het panel, was in beide proeven veel groter dan die tussen [acetaldehyde]_{inv} en de intensiteit van de ethanolmaak (Tabel 3.4 en 3.5). Dit duidt er weer op dat de ethanolmaak niet veroorzaakt wordt door acetaldehyde, of de meetmethode moet niet juist zijn geweest voor de bepaling van acetaldehyde.

In de literatuur wordt ook vermeld dat anaerobe 'off-flavours' voornamelijk door ethylacetaat veroorzaakt worden (Larsen & Watkins, 1995). De gevonden correlatie van ethylacetaat met de ethanolmaak was dan ook hoger dan bij ethanol (Tabel 3.5 en 3.6). Ethanol is meestal wel in hogere concentraties aanwezig dan ethylacetaat, maar de 'odor threshold value' van ethanol , 10-240 mg/100 g (Gemert & Nettenbreier, 1977) is veel hoger dan die van ethylacetaat (Larsen 1994). In proef 3 werd echter geen ethylacetaat meer gemeten in het weefsel van de aardbei bij bewaring onder 1%, terwijl er wel een ethanolmaak werd waargenomen door het panel. Dit wijst erop dat ethylacetaat weer minder verantwoordelijk was voor de ethanolmaak dan ethanol, want de ethanolconcentratie in het weefsel was significant hoger dan die bij de objecten zonder ethanolmaak. De ethanolmaak moet dus waarschijnlijk beter gedefinieerd worden.

Tabel 3.5. Correlatie coëfficiënten (R^2) tussen de metabolieten concentraties in het weefsel en de intensiteit van de ethanolmaak en smaakafwijking waargenomen door het panel in proef 2, bewaring bij 4°C.

Sensorische beoordeling	Fermentatieve metabolieten in het weefsel		
	Ethanol	Acetaldehyde	Ethylacetaat
Ethanolmaak	96%	23%	96%
Smaakafwijking	50%	34%	50%

Tabel 3.6. Correlatie coëfficiënten (R^2) tussen de metaboliëten concentraties in het weefsel en de intensiteit van de ethanolmaak en smaakafwijking waargenomen door het panel in proef 3, bewaring bij 16°C.

Sensorische beoordeling	Fermentatieve metaboliëten in het weefsel		
	Ethanol	Acetaldehyde	Ethylacetaat
Ethanolmaak	78%	60%	85%
Smaakafwijking	49%	52%	50%

3.2.5 Meting ethanol in de lucht

Uit de resultaten van de ethanol in de lucht kon geconcludeerd worden dat deze gemeten kon worden en in vrij hoge concentraties. Er is echter geen trend in de cijfers te ontdekken (Tabel 3.7). Net als in proef 2 werd de hoogste ethanolproductie gemeten bij het object met 1% O₂. Blijkbaar is het effect van een verhoogde activiteit sterker dan een hogere ethanolconcentratie in het weefsel (Tabel 3.3).

Tabel 3.7. Effect van de zuurstofconcentratie en bewaarduur op de [ethanol]_{uitw} (ppm) in een container van 70 l gevuld met 6 kg aardbeien van het ras ‘Elsanta’ (onomgerekend) bij een temperatuur van 4°C, CO₂ concentratie 0%.

	Zuurstof concentratie	
	0%	1%
t = 0		
dag 2	0.342	1.919
dag 5	0.280	6.132
t = 1		
dag 2	1.870	5.133
dag 5	no peak	3.334

3.2.6 Brix en pH

De data van de brix en pH meting na 2 en 5 dagen bewaring tijdens proef 2 en 3 waren allemaal dezelfde; de brix was 5,75 ± 0,1 en de pH was 3,6 ± 0,05. In de literatuur wordt ook vaak vermeld dat er geen duidelijk effect te verwachten was van de O₂ concentratie op deze kwaliteitskenmerken (Ke et al., 1991).

3.2.7 Algemene beoordeling

Na bewaring bij 4°C waren alleen de aardbeien die 5 dagen bewaard werden en 3 dagen werden uitgesteld niet meer geschikt voor verder transport. Door de aardbeien langer te bewaren en uit te stallen nam overigens wel de kwaliteit van het produkt af. De O₂ concentratie heeft geen effect op de algemene beoordeling. Dit betekent dat er in een keten welke de aardbeien constant tot 4°C kan koelen geen CA of MA bewaring nodig is.

Na 2 dagen bewaring bij 16°C werd er nog boven 6 gescoord. Daarna waren de aardbeien niet meer geschikt voor verder transport. Er werden bijna geen effecten vastgesteld van de O₂ concentratie op de algemene beoordeling. De algemene beoordeling was iets minder negatief bij de laagste O₂ concentraties. Dit werd waarschijnlijk veroorzaakt doordat de kleur van de aardbeien bewaard onder 0% en 0,5% minder rood was dan die bij de overige objecten. Verder werden de kleur, de schade, de rijpheid en de algemene beoordeling negatief beïnvloed door een langere bewaarduur en/of een langer uitstalleven. Ook in deze keten heeft CA of MA bewaring dus weinig effect.

Er moet wel rekening mee worden gehouden dat de aardbeien in proef 2 vrij onrijp waren en in proef 3 rijp, waardoor de verschillen tussen de proeven (en daardoor de bewaartemperatuur) alleen maar groter werden (Tabel 2.2 en Bijlage I). De effecten op vruchtrot waren in beide proeven dezelfde als die van het rotpercentage.

3.2.8 Rot percentage

Bewaring, uitstalleven en O₂ concentratie

Uit de binomiale verdeling blijkt dat in beide proeven de bewaarduur en het uitstalleven afzonderlijk een effect hebben op het aantal rotte aardbeien in een bakje (Tabel 3.8). De O₂ concentratie heeft geen effect op het rotpercentage in proef 2, in tegenstelling tot proef 3 (Tabel 3.9). De percentages waren ook vrij laag, waarschijnlijk omdat de aardbeien bij 4°C bewaard zijn. Het percentage rot was na bewaring in 16°C duidelijk hoger dan bij 4°C. Deze resultaten stemmen overeen met eerder onderzoek (Ke et al., 1991).

Tabel 3.8. Effect van bewaring in 4°C en 16°C en het uitstalleven (8°C) op het rotpercentage.

Bewaring	Uitstalleven	
	0 dagen	3 dagen
2 dagen 4°C	0,0 a ^a	1,39 b
5 dagen 4°C	0,75 a	5,79 b
2 dagen 16°C	1,33 a	19,61 b
5 dagen 16°C	5,81 a	15,41 b

^a Verschillende letters duiden op significante verschillen binnen een rij (Student's *t*-test, *P* = 0,05), de rijen per temperatuur zijn significant verschillend.

Tabel 3.9. Effect gasconditie op het percentage rot bij 4°C en 16°C.

Temperatuur	Zuurstofconcentratie (%)					
	0	0,5	1	3	5	21
4°C	0,75	2,8	1,3	2,6	2,3	2,4
16°C	0,0 a ^a	2,17 b	10,50 c	13,75 cd	18,67 c	17,75 cd

^a Verschillende letters duiden op significante verschillen binnen een rij (Student's *t*-test, *P* = 0,05). Deze cijfers zijn geanalyseerd met een arc sin transformatie, maar de gewone data werden gepresenteerd. Dit had tot gevolg dat de lsd er niet bij kon worden gegeven.

3.4 Proef 4: Effect combinatie van kritieke gascondities

3.4.1 Sensorische analyse

Ethanolsgesmaak

Zuurstofconcentratie, koolstofdioxide concentratie en uitstalleven (interactie)

De vierde proef, waarin combinaties O₂ en CO₂ werden toegepast, werd de intensiteit van de ethanolsgesmaak door de O₂, CO₂ en het uitstalleven beïnvloed. Er werd alleen bij 1% O₂ en 0 dagen uitstalleven ethanol vastgesteld (Tabel 3.10). In deze proef werd de intensiteit van de ethanolsgesmaak minder door het produkt uit te stallen in de lucht.

Tabel 3.10. Effect van de zuurstofconcentratie en het uitstalleven (8°C) op de intensiteit van de ethanolsgesmaak (op een schaal van 100) waargenomen door een expertpanel van 6 personen na bewaring bij 16°C.

Uitstalleven	Zuurstofconcentratie	
	1%	3%
0 dagen	22,8 (3) ^a	8,3 (1)
3 dagen	7,6 (1)	1,6 (0)

^aGemiddeld aantal personen dat boven de psychologische grens van 25 scoort. Gemiddelden per zuurstofconcentratie en uitstalleven combinaties tonen significant ($\alpha = 0,05$) een ethanolsgesmaak aan wanneer het aantal personen groter dan 1 was.

Na drie dagen uitstalleven was bij vrijwel alle combinaties de ethanolsgesmaak verdwenen, alleen na 2 dagen bewaring en een gasconditie, 1% O₂ en 25% CO₂, bleef de ethanolsgesmaak aanwezig (data niet getoond). Bij de proeven 2 en 3 was het verminderen van de intensiteit van de ethanolsgesmaak niet zo duidelijk als in proef 4. Het zou mogelijk kunnen zijn dat de ethanolsgesmaak in proef 4 verstrengeld werd met de CO₂ smaak, welke bij hoge concentraties kan optreden (Larsen & Watkins, 1995; Boerrigter & Van den Boogaard, 1996). Deze CO₂ smaak verdwijnt weer nadat het produkt in de lucht wordt opgeslagen. Het verminderen van de ethanolsgesmaak wordt dan door een vermindering van de CO₂ smaak veroorzaakt.

Smaakafwijking

Zuurstofconcentratie en uitstalleven

De smaakafwijking werd waargenomen bij 1% O₂, maar niet bij 3%. Door de aardbeien uit te stallen neemt de smaakafwijking af, hier geldt waarschijnlijk hetzelfde als bij de ethanolsgesmaak.

Tabel 3.11 Gemiddelde smaakafwijking (op een schaal van 100) per behandeling.

Zuurstofconcentratie		Uitstalleven	
1%	3%	0 dagen	3 dagen
15,5	6,3	15,3	6,5

3.4.2 Algemene beoordeling

Uit de algemene beoordeling bleek dat de aardbeien nooit geëxporteerd kunnen worden, alle totale beoordelingen waren onder of gelijk aan 5. Dit klopt ook wel omdat de aardbeien al Klasse II waren bij aanvang van de proef. Hoe langer het produkt bewaard werd, hoe slechter de algemene beoordeling was. Daarnaast werden de rijpheid en de schade aan de aardbeien beïnvloed door O₂ en CO₂ (interactie). De schade en de rijpheid waren minder bij het object 1% O₂ en 20% CO₂ dan bij de overige. Hier kon geen verklaring voor gegeven worden. Door het produkt langer uit te stallen werd de aardbei roder (data niet getoond).

3.4.3 Percentage rot

Bewaarduur en uitstalleven interactie

Het percentage rot was hoger na 5 dagen bewaring dan na 2 dagen bewaring bij 16°C. Het percentage rot was na 2 dagen 2% en na 5 dagen 39%.

Koolstofdioxide concentratie en het uitstalleven (interactie)

Het effect van de CO₂ concentratie werd beïnvloed door het uitstalleven. Bij 0 dagen uitstalleven was er geen effect van de CO₂ concentratie en na 3 dagen uitstalleven was het rotpercentage lager wanneer de aardbeien bewaard werden in hogere CO₂ concentraties (Tabel 3.11).

Tabel 3.11. Het effect van de koolstofdioxide concentratie en het uitstalleven op het percentage rot na bewaring in 16°C.

Uitstalleven	Koolstofdioxide concentratie		
	15%	20%	25%
0 dagen	1	3	1
3 dagen	49	42	26

4 Discussie

4.1 Relatie smaak en fermentatieve metabolieten

Uit de proeven is heel duidelijk naar voren gekomen dat de ethanolmaak zoals wij die hebben waargenomen niet persé door ethanol veroorzaakt wordt. Wanneer we over ethanolmaak spreken wordt eigenlijk de anaerobe 'off-flavour' bedoeld.

Fermentatie

De O₂ concentratie waarboven geen verhoogde fermentatie op zal treden volgens de respiratie metingen, lag bij 4°C en 16°C respectievelijk rond 1-1,5% en 2%. Bij een verhoogde fermentatie zal de CO₂ produktie hoger worden dan de O₂ consumptie. Uit de grafieken is het punt af te leiden, waar de fermentatie duidelijk zal stijgen. Na 5 dagen bewaring ligt dit punt bij een lagere O₂ concentratie, waaruit af te leiden is dat bij een verhoogde gasuitwisseling er niet eerder fermentatie zal optreden. Uit de resultaten van de sensorische beoordeling kun je ook een grens aangeven, waaronder de O₂ concentratie zeker niet mag dalen, voordat de ethanolmaak optreedt. Deze grens zou in principe bij een lagere O₂ concentratie moeten liggen dan die afgeleid wordt uit de respiratiemetingen, want er moet eerst een ophoping van ethanol plaatsvinden wil er een ethanolmaak worden waargenomen. Deze grens lag bij 4°C (proef 2) tussen 0,5% en 1% en bij 16°C (proef 3) tussen 1% en 3% O₂. De grens, welke de O₂ concentratie aangeeft waarbinnen 3 dagen een ethanolmaak optreedt, ligt bij 4°C dus iets lager dan op grond van de respiratie curves werd verwacht. Misschien was de ophoping bij 1% O₂ nog niet voldoende, zodat de 'thresholdvalue' niet overschreden werd. Omdat in deze proef niet alle O₂ toegepast zijn kunnen we geen precieze grens aangeven voor de kritieke O₂ concentraties, waarbij de ethanolmaak optreedt. De laagst mogelijk toegepaste O₂ concentratie die in deze onderzoeken is toegepast, waarbij de ethanolmaak niet optreedt, is als de kritieke grens beschouwd.

Colleli & Martelli (1995) vermelden dat door toevoegen van hoge CO₂ concentraties aan de lucht de respiratie vertraagd wordt. In het afgelopen onderzoek is ook een object meegenomen met een verhoogde CO₂ concentratie (1% O₂ en 15% CO₂), maar daarbij werd de verlaging niet waargenomen. Mogelijk is de respiratiesnelheid al zodanig vertraagd door de lage O₂ concentratie dat CO₂ geen effect meer heeft op de respiratiesnelheid (Li & Kader, 1989).

Sensorische beoordeling

De ethanolmaak werd in de tweede proef niet bij O₂ concentraties hoger dan 0% door het panel waargenomen, terwijl er ethanol in het aardbeien weefsel door de GC wordt gemeten (Tabel 3.3). Dit kan erop duiden dat de 'thresholdvalue' voor ethanol bij de meeste objecten niet bereikt werd. Een grens zou uit proef 2 te trekken zijn bij een concentratie ethanol van boven 25 mg/ 100 g weefsel (Tabel 3.3). In de literatuur wordt een 'odor thresholdvalue' gegeven van 10-240 mg/100g (Gemert & Nettenbreier, 1977). In proef 2 lag de 'thresholdvalue' hoger dan in proef 3, want het expertpanel kon in proef 2 geen ethanolmaak waarnemen wanneer het weefsel een ethanolconcentratie had van 15-17 mg/100g. In proef 3 echter, werd de ethanolmaak wel door het panel vastgesteld, terwijl er geen ethanol meer door de GC werd gemeten (Tabel 3.4). Dit kan erop duiden dat de waargenomen ethanolmaak niet door alcohol werd veroorzaakt, maar door bijvoorbeeld acetaldehyde. Dit werd ook als mogelijkheid aangegeven door Gerard en Henry. Het niet meer detecteren van ethanol kan ook veroorzaakt zijn doordat de GC niet scherp genoeg was afgesteld. De correlatie tussen de ethanolconcentratie van het weefsel en de intensiteit van de ethanolmaak, waargenomen door het panel, was in beide proeven veel groter dan die tussen

[acetaldehyde]_{inw} en de intensiteit van de ethanolmaak (Tabel 3.4 en 3.5). Dit duidt er weer op dat de ethanolmaak niet veroorzaakt wordt door acetaldehyde, of de meetmethode moet niet juist zijn geweest voor de bepaling van acetaldehyde. In de literatuur wordt ook vermeld dat anaerobe 'off-flavours' voornamelijk door ethylacetaat veroorzaakt worden (Larsen & Watkins, 1995). De gevonden correlatie van ethylacetaat met de ethanolmaak was dan ook hoger dan bij ethanol (Tabel 3.5 en 3.6). Ethanol is meestal wel in hogere concentraties aanwezig dan ethylacetaat, maar de 'odor treshold value' van ethanol, 10-240 mg/100 g (Gemert & Nettenbreier, 1977) is veel hoger dan die van ethylacetaat (Larsen 1994). In proef 3 werd echter geen ethylacetaat meer gemeten in het weefsel van de aardbei bij bewaring onder 1%, terwijl er wel een ethanolmaak werd waargenomen door het panel. Dit wijst erop dat ethylacetaat weer minder verantwoordelijk was voor de ethanolmaak dan ethanol, want de ethanolconcentratie in het weefsel was significant hoger dan die bij de objecten zonder ethanolmaak. De ethanolmaak moet dus waarschijnlijk beter gedefinieerd worden.

In proef 4 werd het effect van veronderstelde kritieke combinaties O₂ en CO₂ onderzocht. Na drie dagen uitstalleven was bij vrijwel alle combinaties de ethanolmaak verdwenen, alleen na 2 dagen bewaring en een gasconditie, 1% O₂ en 25% CO₂, bleef de ethanolmaak aanwezig (data niet getoond). Bij de proeven 2 en 3 was het verminderen van de intensiteit van de ethanolmaak niet zo duidelijk als in proef 4. Het zou mogelijk kunnen zijn dat de ethanolmaak in proef 4 verstrengeld werd met de CO₂ smaak, welke bij hoge concentraties kan optreden (Larsen & Watkins, 1995; Boerrigter & Van den Boogaard, 1996). Deze CO₂ smaak verdwijnt weer nadat het produkt in de lucht wordt opgeslagen. Het verminderen van de ethanolmaak wordt dan door een vermindering van de CO₂ smaak veroorzaakt.

De resultaten uit de proeven 2 en 3 stemmen overeen met de in de literatuur vermelde waarde van de 'odor tresholdvalue'. De gegeven 'tresholdvalue' heeft een grote range, deze kan dus door allerlei factoren worden beïnvloed. De factor temperatuur tijdens de bewaring zou de 'tresholdvalue' hebben kunnen beïnvloed. Bij een hogere temperatuur tijdens de bewaring kunnen andere aroma componenten de ethanolmaak masqueren, waardoor deze pas bij hogere concentratie zal worden waargenomen. Dit werd echter niet in het uitgevoerde onderzoek waargenomen. Tevens waren de aardbeien van proef 3 bij aanvang al rijper bij aanvang van de proef, waardoor het aroma ook al meer ontwikkeld was, maar juist bij proef 3 was de 'tresholdvalue' lager. Met de 'tresholdvalue' wordt die ethanol concentratie in het weefsel bedoeld, waarboven de ethanolmaak werd geproefd. Deze kan dus duidelijk door bijvoorbeeld combinatie met andere aroma componenten verschillen.

'Elsanta' vs 'buitenlandse aardbeien cultivars'

Over het algemeen kan gesteld worden dat de resultaten uit het afgelopen onderzoek aan 'Elsanta' redelijk te vergelijken zijn met resultaten wat betreft onderzoeken met andere cultivars.

De resultaten van de respiatiemetingen bij de verschillende temperaturen komen zeer goed overeen met die van de cultivar 'Cambridge favourite'. De waarden waren wel de laagste welke opgegeven waren in de verschillende ranges in de literatuur (lucht en 3% O₂) (Maxie et al., 1959; Robinson et al., 1975). Chambroy et al. (1993) vermelden ook nog de Q₁₀ waarden voor O₂ en CO₂, respectievelijk 2,5 en 2,4.

Aardbeien van het ras 'Selva' vertoonden na 4 dagen bewaring in 5°C en een gasconditie van 0,5% O₂ en hoger geen verhoging van de ethanolconcentratie in het weefsel. Dit stemt overeen

met de waarden die werden gevonden bij de Nederlandse cultivar 'Elsanta' in proeven 1,2 en 3. In deze proeven werd echter 0,25% O₂ niet beproefd en in het weefsel van aardbeien die onder die gasconditie bewaard werden, was wel een verhoogde ethanolconcentratie aanwezig. In een onderzoek van Larsen (1994) werden de rassen 'Elsanta' en 'Elvira' gebruikt. De concentratie van de fermentatieve metabolieten waren niet erg verschillend.

De hoogte van de concentratie van de fermentatieve metabolieten in deze proeven en andere proeven verschilt per artikel. In Larsen (1994) en Larsen & Watkins (1995) is die concentratie een factor 10 lager. In Ke et al. (1994) is de concentratie een factor 100-500 lager en in Chambroy et al. (1993) en Li & Kader (1989) is de concentratie veel en veel lager. Verschil wordt veroorzaakt door gebruik van de verschillende procedures en omstandigheden. De aardbeien verschillen per land, per jaar, per maand en per regio. Per regio zijn er ook weer verschillen in de reactie van de verschillende rassen op anaerobe omstandigheden (Larsen, 1994).

Van groot belang is dat de procedure nog wel gevalideerd wordt door de gemeten concentraties te vergelijken met gangbare methoden als de enzym kit. In Beer et al. (1989) zijn in 'Elsanta' ethanol concentraties gemeten met een enzym kit (Boehringer methode), de gemeten concentraties waren een factor 10 lager dan die gemeten in het afgelopen onderzoek. De omstandigheden waren overigens niet dezelfde als in het afgelopen onderzoek.

4.2 De aardbei in de keten

Europese keten

Wanneer MAP en CA bewaring in de Europese keten gaat worden toegepast zal er voor gezorgd moeten worden dat er zeker geen O₂ concentraties mogen ontstaan welke lager zijn dan 1% O₂, bij 0% CO₂. Onder deze concentratie is de kans groot dat er een onaanvaardbare ethanolmaak ontstaat en deze treedt al na 2 dagen op, na 5 dagen bewaring geldt dit nog steeds. In de literatuur (Couy & Wells, 1970; Li & Kader, 1989) wordt vermeld dat de ontstane ethanolmaak weer verdwijnt, of dat de intensiteit van de ethanolmaak afneemt door het produkt weer bloot te stellen aan de lucht. In deze proeven werd dit niet gevonden. Door het produkt 3 dagen uit te stallen bij 8°C na bewaring in 4°C veranderde de intensiteit van de ethanolmaak niet. Er is geen effect van O₂ vastgesteld op de uitwendige kwaliteitskenmerken. Bij 0% lijkt de rotaantasing lager te zijn, maar bij deze concentratie zal altijd een onaanvaardbare ethanolmaak/smaakafwijking optreden. Door het produkt langer te bewaren en uit te stallen neemt het rotpercentage toe, wat algemeen bekend is.

Na bewaring bij 4°C waren alleen de aardbeien die 5 dagen bewaard werden en 3 dagen werden uitgesteld niet meer geschikt voor verder transport. Door de aardbeien langer te bewaren en uit te stallen nam overigens wel de kwaliteit van het produkt af. De O₂ concentratie heeft geen effect op de algemene beoordeling, ook het percentage rot werd niet overtuigend beïnvloed. Door de aardbeien onder lage O₂ condities te bewaren (0% en 0,5%) werd de smaak ongunstig beïnvloed, welke niet verandert na een uitstal periode. Dit betekent dat er in een keten waarin de aardbeien constant tot onder 4°C kan koelen geen CA of MA bewaring (wat betreft het O₂ effect) nodig is.

Keten verre bestemmingen

In de keten naar verre bestemmingen ligt de kritieke O₂ grens hoger. In deze keten mag de O₂ concentratie niet onder 3% komen, dit geldt in combinatie met 0%, 15%, 20% en 25% CO₂. In de eerste proef werd een lagere O₂ grens vastgesteld, 1% O₂. In deze proef werden echter twee

andere herkomsten beproefd, het is nu de vraag of dit een herkomst effect was. In de eerste proef werd echter geen significant verschil vastgesteld tussen de 2 herkomsten. De oorzaak is niet te achterhalen. De ethanolmaak treedt weer op na 2 bewaring bij 16°C en na 5 dagen bewaring is deze nog steeds aanwezig. De intensiteit lijkt in proef 1, bij 16°C en niet bij 4°C, wel hoger te worden door de aardbeien langer te bewaren. Dit zou verklaard kunnen worden doordat de gasuitwisseling bij 16°C (in proef 2, waarin geen verandering van intensiteit optreedt) wel groter wordt door de aardbeien langer te bewaren. Door het produkt uit te stallen lijkt het of de intensiteit van de ethanolmaak verdwijnt. Het is echter de vraag in hoeverre de ethanol smaak echt verdwijnt, of dat er een verschuiving in aroma bepalende componenten optreedt, waardoor de ethanolmaak gemasqueerd wordt of werd. In eerdere proeven (Larsen & Watkins, 1995) wordt vermeld dat de off-flavour ontstaan door anaerobe omstandigheden verdween na uitstallen in de lucht doordat ethyl butanoaat mogelijk de off-flavour smaak van ethyl acetaat masqueerde. Het vermoeden bestaat dat in proef 4 (combinatie laag O₂ en hoog CO₂) twee smaken verstrengeld zijn geraakt, de ethanolmaak en de CO₂ smaak (§ 3.4.1). De O₂ concentratie had een duidelijk effect op het percentage rot. Het percentage rot was duidelijk lager bij 0% en 0,5% dan bij de andere, maar hier geldt ook weer dat bij deze concentraties zeker een onaanvaardbare smaakafwijking zal ontstaan. Niet alleen O₂ had een effect op het percentage rot, maar ook CO₂. Dit is overigens ook bekend in de literatuur (Couey & Wells, 1970). Bij hogere CO₂ concentraties was het percentage rot na 3 dagen uitstalleven (niet na 0 dagen) minder dan bij lagere CO₂ concentraties. Dit werd mogelijk veroorzaakt doordat tijdens de bewaring door de hogere CO₂ concentraties een vertraging van de groei van de schimmels optrad (Smid & Dijksterhuis, 1996). Door verlenging van de bewaarduur en het uitstalleven werd het rot percentage weer hoger. Alleen na 2 dagen bewaring en 0 dagen uitstalleven was het produkt nog aanvaardbaar, 1% rot.

Er werden bijna geen effecten vastgesteld van de O₂ concentratie op de algemene beoordeling. Het rotpercentage was wel minder bij de laagste O₂ concentraties (0% en 0,5%), maar er trad bij deze een ethanolmaak op welke niet altijd verdwijnt. Door de lage O₂ concentraties te combineren met hoge CO₂ concentraties kon het percentage rot verlaagd worden. Na 0 dagen uitstalleven was deze nog aanvaardbaar. Na 3 dagen uitstalleven was het rot percentage niet meer aanvaardbaar, wel had 25% CO₂ een reducerend effect op het percentage. In deze proef kon echter geen vergelijking worden getrokken met de gangbare gasconditie en de aardbeien waren bij aanvang van de proef Kwaliteit II. Ook in deze keten heeft CA of MA bewaring (wat betreft de O₂ concentratie) dus weinig effect.

4.3 De methoden

Respiratie, O₂ consumptie en CO₂ produktie

De respiratie metingen bij de aardbeien zijn zeer goed gelukt. De variantie tussen de verschillende weckflessen is veel kleiner dan bij de meeste andere produkten. Dit is toe te schrijven aan het grotere aantal individuen van het produkt in één weckfles, waardoor de afwijkingen tussen de verschillende aardbeien uitgemiddeld worden. Een ander voordeel bij de respirometrie van aardbeien is dat het niet climacterische vruchten zijn. Bij andere, climacterische vruchten, kan de ademhaling door ethyleenophoping in de weckfles dusdanig verhoogd worden dat de gemeten respiratie verstrengeld raakt met de effecten van climacterische processen.

Het is belangrijk om de juiste hoeveelheid produkten in de weckflessen te doen in verhouding met de bewaartemperatuur en de tijd tussen begin en eindmeting van de gasconcentraties. Tijdens mijn proeven ging alles net goed, het verschil in begin en eindconcentratie werd bijna zo groot dat beïnvloeding van de aardbeien door een veranderende gasconditie kon gaan optreden. Voorgeschreven is dat bij een betrouwbare respiratiemeting het verschil tussen de O₂ concentraties op $t = 0$ en $t = 1$ minimaal 0,1% moet zijn, meestal gaat men er vanuit dat dit in een tijdsduur van $\pm 2-3$ uur plaatsvindt (Peppelenbos, 1996).

Bij 16°C zou het traject tussen 1 en 3% O₂ nader moeten worden bekeken, omdat daar tussen de ethanolmaak werd geproefd door het panel. Ditzelfde geldt voor de CO₂ concentratie tussen 0% en 1,5%.

Fermentatieve metabolieten in het weefsel

Het is vreemd dat in proef 3 bij 16°C geen ethanol wordt gemeten, terwijl deze wel bij 4°C werd gemeten. Wat de oorzaak hiervan is, is niet bekend. Het is belangrijk om verder te gaan met het ontwikkelen van de juiste procedure voor het meten van de fermentatieve metabolieten in het weefsel.

Wanneer de monsters niet direct kunnen worden behandeld moeten de monsters worden ingevroren in -80°C. Wanneer de temperatuur hoger is, zal de concentratie van 'off-flavours' afnemen (Perkins-Veazie & Collins, 1995). Wanneer de monsters worden ingevroren moet in de gaten worden gehouden welke grootte aardbeien worden ingevroren, in verband met de potjes waarin de aardbeien worden opgeslagen. In de potjes passen alleen kleine aardbeien. De oppervlakte/volume verhouding is van kleine aardbeien hoger dan van grote aardbeien. Dit betekent dat bij de kleine aardbeien de uitwisseling van fermentatieve metabolieten met de lucht sneller kan verlopen en er minder snel een hoge concentratie van fermentatieve metabolieten in het weefsel zal optreden. Tijdens de sensorische analyse werd ook vaker een ethanolmaak vastgesteld in grote aardbeien dan in kleine aardbeien.

Fermentatieve metabolieten in de omringende lucht

Uitwendige concentraties ethanol zullen meer systematisch moeten worden bepaald. Het meten van deze concentratie wil nogal eens rare resultaten vertonen. Daarom kan misschien beter acetaldehyde gemeten worden, welk volgens Stephan (stagiair Hugo) wel regelmaat vertoont. In de literatuur wordt overigens wel duidelijk vermeld dat er een rechtlijnig verband is tussen ethanol, ethylacetaat en de bewaarduur (Ke et al., 1995). Tevens wordt vermeld dat bij een oplopende O₂ reeks van 5-25% de ethanolproductie ook steeds hoger wordt. Dit werd niet systematisch teruggevonden in het afgelopen onderzoek. De O₂ concentratie was dan ook lager dan in het genoemde onderzoek werd onderzocht. Daarnaast is er in het eerste stuk van die curve 5-8% O₂ een geringe daling van de ethanolproductie te bespeuren.

Sensorische analyse

Het scoren op 4 attributen in een sensorische beoordeling van de aardbei is te veel, het gaat ten koste van het onderscheidingsvermogen van de attributen. Een ander nadeel is dat er geen duidelijke beschrijving van de verschillende attributen is gebruikt. Zo bestaat er ook geen overeenstemming tussen wat nu wel of niet een smaakafwijking is. Het komt voor dat aardbeien naar niets smaken en is dat nu een smaakafwijking of niet? Daarbij is ook niet duidelijk of een smaakafwijking door de consument wordt afgekeurd. In volgende proeven zou je smaakafwijking beter als een onaanvaardbare en aanvaardbaar smaakafwijking kunnen omschrijven.

In deze proeven is op ethanolmaak gescoord. Het is echter de vraag of ethanolmaak wel de juiste is. Het is beter om over een anaërobe smaak te praten, welke alleen wordt veroorzaakt door anaërobe omstandigheden. Deze smaak kan door verschillende fermentatieve metabolieten beïnvloed worden (Larsen & Watkins, 1995). De waarneming van de smaak is aan veranderingen onderhevig, mede door maskeren van deze smaak door andere aroma componenten.

De sensorische analyse die in deze proeven gevolgd wordt klopt toch aardig omdat de 'correlatie' (met haken en ogen) van de ethanolmaak met de concentratie van ethanol en ethylacetaat vrij hoog is.

Voor een volgende sensorisch onderzoek aan aardbeien is een beter getraind panel nodig. In ieder geval moeten de verschillende 'off-flavours' kunnen worden onderscheiden. Het is misschien nuttig om van tevoren een lijst te maken met de karakteristieken van de smaken waarop gescoord moet worden. Het is nu vaak zo dat alles op een hoop wordt gegooid, waardoor allemaal waardevolle informatie verloren gaat.

Een andere vraag die gesteld moet worden is, of het nu nodig is dat een expert panel de sensorische beoordeling uitvoert. De consument zal de ethanolmaak in een lage intensiteit waarschijnlijk niet eens als zodanig herkennen.

Brix en pH

De metingen van brix en pH waren onvoldoende. Er moet van elk object in de toekomst in elk geval een duplo monster van minstens 10 aardbeien worden genomen. Daarnaast moet de gebruikte brix-meter vervangen worden, of opnieuw worden geijkt.

Algemeen oordeel

De algemene beoordeling zal in het vervolg niet meer zoals op de veiling gedaan mogen worden. Dit kan alleen toegepast worden, wanneer de verschillende aardbeien en/of de bakjes worden beoordeeld. Er zijn herhalingen nodig, wanneer je een goede proefopzet maakt voor beoordeling van de aardbeien.

Percentage rot

Tijdens deze proeven is heel nauwkeurig het percentage rot bepaald. Wanneer de aardbei maar een minieme aantasting vertoonde werd deze aardbei als rot beschouwd. De keuring op de veiling is lang niet zo streng.

Het is nu de vraag of de mate van rot aantasting meegenomen moet worden. Je zou dan apart alle aardbeien weer kunnen beoordelen en op een schaal aangeven wat de mate van aantasting was. Een andere mogelijkheid is de cijfers van het veilingoordeel te combineren met het percentage rot zoals dat door ons bekeken is in de vorige proeven. Deze laatste mogelijkheid kan je een hoop tijd besparen.

Proefopzet

De proefopzet was niet optimaal. De eerste drie proeven waren niet orthogonaal waardoor de statistische analyse bemoeilijkt werd en af en toe onmogelijk was. Daarbij kwam nog dat er vrijwel geen herhalingen in de proeven aanwezig waren. Het was wel vooronderzoek, maar nu kunnen er geen conclusies aan alle waarnemingen worden verbonden. Daarnaast moet ook goed in de gaten worden gehouden, wat de verdeling van de data zal zijn.

Literatuurlijst

- Beer, C.A. de, A.C.R. van Schaik & G. Schaap (1989).** *De invloed van een verhoogd CO₂ niveau op de rotontwikkeling en ademhalingsintensiteit bij aardbeien*. Stageverslag ATO-DLO, Wageningen, Nederland, 27 p.
- Boerrigter, H. & G. van den Boogaard (1996).** *Persoonlijke mededelingen*. Wageningen, Nederland.
- Chambroy, Y., M.H. Guinebretriére, G. Jacquemin, M. Reich, L. Breuils & M. Souty (1993).** Effect of carbon dioxide on shelf-life and postharvest decay of strawberries fruit. *Science des Aliments*, 13 (3), p. 409-424.
- Colelli, G. & S. Martelli (1995).** Beneficial effects on the application of CO₂-enriched atmospheres on fresh strawberries. *Advances in Horticultural Science*, 9 (2), p. 55-60.
- Couey, H.M., M.N. Follstad & M. Uota (1966).** Low oxygen atmospheres for control of postharvest decay of fresh strawberries. *Phytopathology*, 56, 1339-1341.
- Couey, H.M. & J.M. Wells (1970).** Low oxygen or High carbon dioxide atmospheres to control postharvest decay of strawberries. *Phytopathology* 60, 47-49.
- Gemert, L.J. van, & A.H. Nettenbreier (1977).** *Compilation of odour threshold values in air and water*. National Institute for Water Supply and Central Institute for Nutrition and Food Research TNO, Voorburg, Zeist, Netherlands.
- Hoek, H.N. van der, & A.C.R. van Schaik (1994).** *Methods to preserve quality and to prolong storage life of fresh strawberries (A literature review)*. Report 438 ATO-DLO, Wageningen, The Netherlands, 12 p.
- Kader, A.A. (1989).** A summary of CA requirements and recommendations for fruit other than pome fruits. *International Controlled Atmosphere Conference Fifth Proceedings*, June 14-16 (1989), Wenatchee, Washington, United States of America, Volume 2, Other Commodities and Storage Recommendations, 303-328.
- Ke, D., L. Goldstein, M. Mahoney & A.A. Kader (1991).** Effects of short-term exposure to low O₂ and high CO₂ atmospheres on quality attributes of strawberries. *J. Food Sci.*, 56: 50-54.
- Ke, D & A.A. Kader (1989).** Tolerance and responses of fresh fruits to oxygen levels at or below 1%. *International Controlled Atmosphere Conference Fifth Proceedings*, June 14-16 (1989), Wenatchee, Washington, United States of America, Volume 2, Other Commodities and Storage Recommendations, 209-216.
- Larsen, M. (1994).** Flavour changes in strawberries packed in modified atmospheres. *Acta Horticulturae (Postharvest 93)*, 368, 78-82.
-

- Larsen, M. & B. Watkins (1995).** Firmness and aroma composition of strawberries following short-term high carbon dioxide treatments. *HortScience*, 30(2), 303-305.
- Li, C. & A.A. Kader (1989).** Residual Effects of controlled atmospheres on postharvest physiology and quality of strawberries. *J. Amer. Hort. Sci.*, 114 (4), 629-634.
- Maxie, E.C., F.G. Mitchell & A.S. Greathead (1959).** Studies on strawberry quality. *Californian Agriculture*, 13, 11-16.
- Peppelenbos, H. (1996).** *Persoonlijke mededelingen*, Wageningen, Nederland.
- Peppelenbos, H.W. & J. Oosterhaven (1996).** *A theoretical approach on the role of fermentation in harvested plant products*. ATO-DLO, Wageningen, The Netherlands. (in press).
- Perkins-Veazie, P. & J. K. Collins (1995).** Strawberry fruit Quality and its Maintenance in Postharvest Environments. *Advances in Strawberry research*, Volume 14, 1-8.
- Robinson, J.E., K.M. Brown & W.G. Burton (1975).** Storage characteristics of some vegetables and soft fruits. *Annals of Applied Biology*, 81, 339.
- Schaik, A.C.R. van, H.A.M. Boerrigter & E.J. Smid (1995).** *Inhoezen van aardbeienpallets voor transport naar verre bestemmingen*. Rapport B184 ATO-DLO, Wageningen, Nederland, 35 p.
- Smid, E. & J. Dijksterhuis (1996).** *Persoonlijke mededelingen*, Wageningen, Nederland.
- Thompson, A.K. (1996).** *Postharvest technology of fruit and vegetables*. Blackwell Science Ltd. 410 p.
-

Bijlage I

Tabel 1. Kwaliteitsbeoordeling van de aardbeien bij aanvang van de 4 proeven, totaal beoordeling per object. De kwaliteitsbeoordeling werd werd uitgevoerd als op de veiling (Bijlage I).

Datum beoordeling	Kwaliteit aardbeien				
	Kleur	Rijpheid (smaak)	Beschadiging	Vruchtrot	Algemeen oordeel
29 mei	4	3 (nog zuur)	1	0	8
5 juni	5-8	4	1	0	7
12 juni	6	3	2	0	5

Tabel 2. Kwaliteitsbeoordeling van de aardbeien na uithalen van de 4 proeven, totaal beoordeling per object. De kwaliteitsbeoordeling werd werd uitgevoerd als op de veiling (Bijlage I).

Datum beoordeling	Kwaliteit aardbeien				
	Kleur	Rijpheid (smaak)	Beschadiging	Vruchtrot	Algemeen oordeel
Proef 2	5,1	3,6	1,8	0,5	5,6
Proef 3	7,4	4,5	1,9	0,9	4,9
Proef 4	7	4	2,5	1,3	3,3

Tabel 3. Effect van het uitstalleven in proef 2 en 3 op de intensiteit (op een schaal van 100) van de ethanolsmaak waargenomen door een expert panel.

	Uitstalleven	
	0 dagen	3 dagen
proef 2 (4°C)	8,85	12,78
proef 3 (16°C)	24,90	16,90

Bijlage II

Instructie bij de sensorische beoordeling van de aardbei.

Proef: Smaakbeoordeling van aardbeien van twee herkomsten, welke bij verschillende zuurstofconcentraties en temperaturen bewaard zijn (proef 1).

Van elk object worden 3 aardbeien genomen en deze worden op de volgende attributen beoordeeld: zoet, zuur, ethanol en smaakafwijking. Onder smaakafwijking worden die afwijkingen bedoeld die anders zijn dan de smaakafwijking veroorzaakt door ethanol. Beoordeling vindt plaats op een continue schaal. Door middel van een kruisje op de lijn kan je de intensiteit van het betreffende attribuut aangeven. Er zijn twee herkomsten, welke na elkaar zullen worden beoordeeld.

Naam:

Object nr:

Niet zoet | _____ | Zoet

Niet zuur | _____ | Zuur

Geen ethanol | _____ | Ethanol

Geen | _____ | Smaakafwijking
smaakafwijking

! Opmerkingen: (bv soort smaakafwijking)

Bijlage III

Proef: Smaakbeoordeling van aardbeien, welke bij verschillende zuurstofconcentraties bewaard zijn (abp2sd2).

Onder smaakafwijking worden die afwijkingen bedoeld die anders zijn dan de smaakafwijking veroorzaakt door ethanol.

Datum:

Naam:

Object nr:

Geen ethanol

Ethanol

Geen
smaakafwijking

Smaakafwijking

! Opmerkingen: (bv soort smaakafwijking)

Object nr:

Geen ethanol

Ethanol

Geen
smaakafwijking

Smaakafwijking

! Opmerkingen:

Object nr:

Geen ethanol

Ethanol

Geen
smaakafwijking

Smaakafwijking

! Opmerkingen:

Bijlage IV

Algemene beoordeling veiling

BEOORDELINGSFORMULIER AARDBEI

OBJECT:

DATUM:

Totaalbeoordeling per object

Kleur	1=wit t/m 9=donkerrood	
Rijpheid	rauw=1, halfrijp=2, bijna rijp=3 rijp=4, overrijp=5	
Beschadiging	geen=0, licht=1, matig=2, sterk=3	
Vruchtrot	geen=0, licht=1, matig=2, sterk=3	
Glans	licht=1, matig=2, sterk=3	
Alg. oordeel	1=afwijkend t/m 9=super	

Beoordeling per doosje

Doosnr.	Gaaf	Aangetast	Gaaf	Aangetast
1				
2				
3				
4				
5				

Opmerkingen:

Bijlage V

Statistische procedure ethanolsmaak

Groep Statistiek

Clare Wilkinson 5302
Geurt Jongbloed 5220



ato-dlo

Datum: 2-8-1996

Ondersteuning: analyse ethanol-data

Projectnummer: ??

Onderzoeker: Pat Decker (5102)

Omschrijving: Afhankelijk van de O₂ concentratie tijdens bewaring zijn ethanolgehalten in aarbeien door smaakpanel beoordeeld.

Doel analyse: Nagaan bij welke zuurstofconcentratie de ethanolsmaak wegblijft. Dit afhankelijk van aantal dagen in container en op shelf.

Aard data: Door zes panelleden is op een schaal van 0-100 aangegeven hoe de ethanolsmaak was. Dit bij verschillende O₂ concentraties en bewaarduren.

Subjectieve criteria: Onderzoeker moet aangeven bij welk kwantitatief niveau de kwalificatie 'wel ethanolsmaak ervaren' en 'geen ethanolsmaak ervaren' corresponderen: grenswaarde=~~20~~ 25
Tweede criterium: de parameter p wordt geïnterpreteerd als de kans dat een willekeurig panellid in een willekeurige aardbei in het bakje ethanol proeft (uiteraard afhankelijk van bewaarcondities etc.). Er moet een grens p₀ worden aangegeven zodat het bakje aarbeien de kwalificatie 'geen noemenswaardige ethanolontwikkeling krijgt' als $p \leq p_0$. Gekozen: 0.01.

Grenswaarde aantal: De nulhypothese $H_0: p \leq p_0$ wordt op significantieniveau 0.05 verworpen voor scores groter dan of gelijk aan 2 (deze grenswaarde is overigens hetzelfde voor alle significantieniveaus in het interval [0.0015, 0.0585]). Wanneer dus bij een bepaalde bewaarduur en O₂ concentratie twee panelleden of meer (van de zes) een score boven de 20 gaven, mag met recht gezegd worden dat er een noemenswaardige ethanolontwikkeling heeft plaatsgehad.
