

AGNIESZKA ZAWIŚLAK, MAGDALENA MICHALCZYK

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWIUTLENIAJĄCE NISKOPRZETWORZONYCH PŁATKÓW RÓŻY POMARSZCZONEJ (*ROSA RUGOSA*)

Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu dodatku sacharozy oraz temperatury i czasu przechowywania niskoprzetworzonych produktów z płatków róży pomarszczonej (*Rosa rugosa*) na zawartość składników fenolowych oraz właściwości przeciwutleniające. Produkty sporządzano z 0,5-procentowym dodatkiem kwasu cytrynowego i dodatkiem sacharozy wynoszącym 50 ÷ 75 %, a następnie przechowywano je przez 378 dni w temperaturze 6 i 21 °C. Stwierdzono, że temperatura składowania miała istotny wpływ na zawartość antocyjanów w badanych produktach, nie wpłynęła ona natomiast istotnie na zawartość polifenoli oraz na właściwości przeciwutleniające. Do 126. dnia składowania w próbach o zawartości 50 i 60 % sacharozy obserwowano wzrost zawartości związków polifenolowych (odpowiednio do: 1720 mg/100 g i 1150 mg/100 g), których ilość zmniejszała się następnie wraz z wydłużającym się czasem przechowywania (odpowiednio do: 770 mg/100 g i 778 mg/100 g). Najsilniejsze właściwości przeciwutleniające, wyrażone zarówno jako EC₅₀ (1,6 g/g DPPH), jak i wielkością siły redukującej (1,67 A₇₀₀) wykazywały produkty o zawartości sacharozy 50 - 55 %, pomiędzy 84. a 126. dniem ich przechowywania. Po upływie tego czasu obserwowano obniżanie aktywności przeciwutleniającej.

Słowa kluczowe: niskoprzetworzone płatki *Rosa rugosa*, aktywność przeciwutleniająca, polifenole, antocyjany

Wprowadzenie

Kwiaty i ich części w wielu krajach są elementami potraw. Służą zwiększaniu ich atrakcyjności sensorycznej poprzez nadanie barwy i aromatu, a niekiedy mogą mieć pozytywny wpływ na zdrowie konsumentów [24]. Do najczęściej używanych w Europie należą kwiaty: róż (*Rosa rugosa*, *Rosa damascena*, *Rosa centifolia*, *Rosa gallica*), fiołka wonnego, hibiskusa, nagietka lekarskiego, mniszka pospolitego, czarnego bzu,

Dr inż. A. Zawiślak, dr inż. M. Michalczyk, Katedra Chłódnictwa i Koncentratów Spożywczych, Wyzd. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: a.zawislak@ur.krakow.pl

robinii pseudoakacji, ogórecznika lekarskiego, dyni i cukinii. Szafran pozyskiwany z kwiatów krokusa jest stosowany w kuchni jako barwnik, a pączki kwiatów nasturcji często zastępują kapary [24]. Kwiaty mogą być też źródłem substancji o właściwościach prozdrowotnych, np. przeciwcukrzycowych [4].

Kwiaty róży pomarszczonej (*Rosa rugosa* Thunb.) są surowcem od dawna stosowanym w tradycyjnej medycynie chińskiej [41]. Stwierdzono, że przeciwdziałają one nadciśnieniu, mają właściwości przeciwbakteryjne oraz działają hamująco na enzym odwrotnej transkryptazy (RT) retrowirusów HIV-1 i HTLV-1, a także są cytotoksyczne względem linii komórek nowotworowych oraz wykazują silne właściwości przeciwutleniające [12, 15, 24, 29, 41]. Aktywnymi biologicznie składnikami tego surowca są związki fenolowe, głównie taniny hydrolizujące o wysokiej masie cząsteczkowej, pochodne kwasu galusowego oraz rutyna, izokwercetyna, awikularyna i astragalina oraz antocyjany [15, 28, 29].

Celem pracy była ocena wpływu dodatku sacharozy oraz temperatury i czasu przechowywania niskoprzetworzonych płatków róży pomarszczonej na ich właściwości przeciwutleniające. Oznaczono także zawartość wybranych składników biologicznie czynnych badanych produktów podczas ich składowania.

Material i metody badań

Płatki róży pomarszczonej (*Rosa rugosa*) pochodzące z upraw z okolic Krakowa przetwarzano do 4 h po zbiorze. Produkt sporządzano poprzez rozdrobnienie płatków z sacharozą i kwasem cytrynowym z zastosowaniem urządzenia Thermomix (Vorwerk, Niemcy). Stężenie sacharozy było zróżnicowane w poszczególnych partiach wyrobu i wynosiło 50, 55, 60, 65, 70 oraz 75 g na 100 g gotowego produktu, natomiast dodawana ilość kwasu cytrynowego była stała i wynosiła 0,5 g na 100 g gotowego produktu. Nieutralne termicznie wyroby przechowywano w słoikach przez 378 dni, bez dostępu światła, w temp. 6 ± 1 °C i 21 ± 1 °C. Analizy wykonywano co 42 dni.

Ogólną zawartość polifenoli oznaczano metodą Singletona i wsp. [33] z użyciem odczynnika Folina-Ciocalteu'a. Absorbancję mierzono w spektrofotometrze (Cecil CE 9500), przy długości fali $\lambda = 750$ nm, a wyniki wyrażano w mg kwasu galusowego na 100 g wyrobu.

Zawartość antocyjanów oznaczano metodą różnicowego pomiaru pH [21]. Absorbancję mierzono przy $\lambda = 510$ nm i $\lambda = 700$ nm, a całkowitą zawartość antocyjanów wyrażano w mg cyjanidyno-3-glukozydu na 100 g produktu.

Aktywność przeciwutleniającą oznaczano poprzez pomiar zdolności wygaszania wolnych rodników DPPH, wyrażanej jako EC_{50} [6]. Drugą miarę zdolności przeciwutleniających niskoprzetworzonych płatków róży pomarszczonej stanowiła siła redukująca mierzona przy $\lambda = 700$ nm [42].

Analizy wykonywano w trzech powtórzeniach, a otrzymane wyniki opracowano w programie CSS Statistica (Stat Soft, Tulsa, OK., USA). Obliczono wartości średnie i odchylenia standardowe oraz wyznaczono błędy pomiaru. Istotność różnic między średnimi weryfikowano testem t-Studenta na poziomie $p \leq 0,05$. Jednorodność grup ustalano testem RIR Tukeya. Stopień powiązania zmiennych określano współczynnikami korelacji liniowej Pearsona oraz poprzez analizę modeli regresji wielorakiej [10].

Wyniki i dyskusja

Parametry wyjściowe niskoprzetworzonych płatków róży pomarszczonej

Wartości EC_{50} oznaczone w produktach świeżych zawierających różne dodatki sacharozy nie różniły się istotnie pomiędzy sobą na poziomie $p \leq 0,05$ (tab. 1). Świadczy o tym niewielka różnica pomiędzy oznaczonymi skrajnymi wartościami tej wielkości ($\Delta = 0,2$) w porównaniu z błędami pomiaru ($s = 0,1$). Oznaczenia siły redukującej wyrobów wyjściowych także wskazują na brak wpływu dodatku sacharozy na ich początkową aktywność przeciwutleniającą ($\Delta = 0,17$; $s \approx 0,07$). Test RIR Tukeya zastosowany do tych zmiennych potwierdza brak statystycznie istotnego ($p \leq 0,05$) wpływu dodatku sacharozy na ich wartości początkowe. W przypadku polifenoli i antocyjanów zastosowany dodatek sacharozy wpłynął na zawartość tych związków w produktach wyjściowych, a statystyczna obróbka wyników z zastosowaniem testu Tukeya wykazała trzy grupy jednorodne w zakresie zawartości polifenoli i dwie w zakresie zawartości antocyjanów (tab. 1).

Tabela 1. Wartości początkowe badanych parametrów niskoprzetworzonych płatków róży pomarszczonej
Table 1. Initial values of analyzed parameters of low-processed wrinkled rose petals

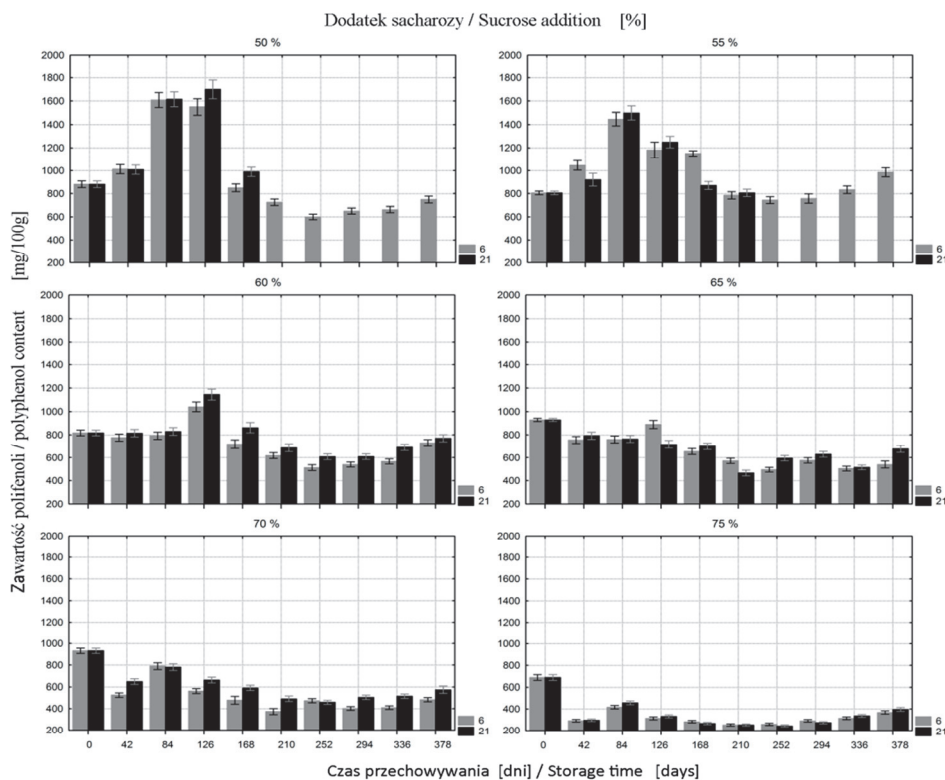
Dodatek sacharozy Sucrose addition [%]	Zawartość polifenoli Content of polyphenols [mg/100 g]	Zawartość antocyjanów Content of anthocyanins [mg/100 g]	EC_{50} [g/g DPPH]	Siła redukująca Reducing power (A_{700})
50	881 ^a ± 29	71 ^a ± 7	1,8 ^a ± 0,1	1,37 ^a ± 0,07
55	806 ^b ± 16	45 ^b ± 2	2,0 ^a ± 0,1	1,20 ^a ± 0,09
60	817 ^b ± 24	37 ^b ± 4	1,9 ^a ± 0,1	1,21 ^a ± 0,05
65	929 ^a ± 14	35 ^b ± 2	1,8 ^a ± 0,1	1,29 ^a ± 0,04
70	932 ^a ± 24	40 ^b ± 4	1,8 ^a ± 0,1	1,34 ^a ± 0,06
75	688 ^c ± 26	36 ^b ± 3	1,9 ^a ± 0,1	1,23 ^a ± 0,08

Objaśnienia: Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; wartości średnie oznaczone tą samą literą w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$ / mean values in columns and designated by the same letter do not differ statistically significantly at $p \leq 0,05$.

Zmiany zawartości polifenoli w przechowywanych produktach

Zawartość związków polifenolowych w badanych produktach zmieniała się w czasie przechowywania nieregularnie. Na zmiany te wpływała również zawartość sacharozy (rys. 1). Przy wszystkich jej dodatkach obserwowano ogólny ubytek ilości polifenoli w czasie (jednak przy pewnym ponownym ich wzroście pod koniec okresu przechowywania), jak również wyraźny przyrost ich zawartości obserwowany w próbkach zawierających 50 i 60 % sacharozy do 126. dnia przechowywania. W próbkach zawierających 55 % sacharozy wzrost zawartości składników fenolowych występował jedynie do 84. dnia składowania. Test t-Studenta zastosowany do porównania średnich zawartości polifenoli oznaczonych w poszczególnych próbkach z wartościami zmierzonymi w sąsiednich do nich okresach składowania potwierdził statystyczną istotność tych różnic ($p < 0,01$).



Rys. 1. Wpływ czasu i temperatury przechowywania na zawartość polifenoli w niskoprzetworzonych płatkach róży pomarszczonej, zawierających różne dodatki sacharozy

Fig. 1. Effect of storage time and storage temperature on content of polyphenols in low-processed wrinkled rose petals containing different sucrose additions

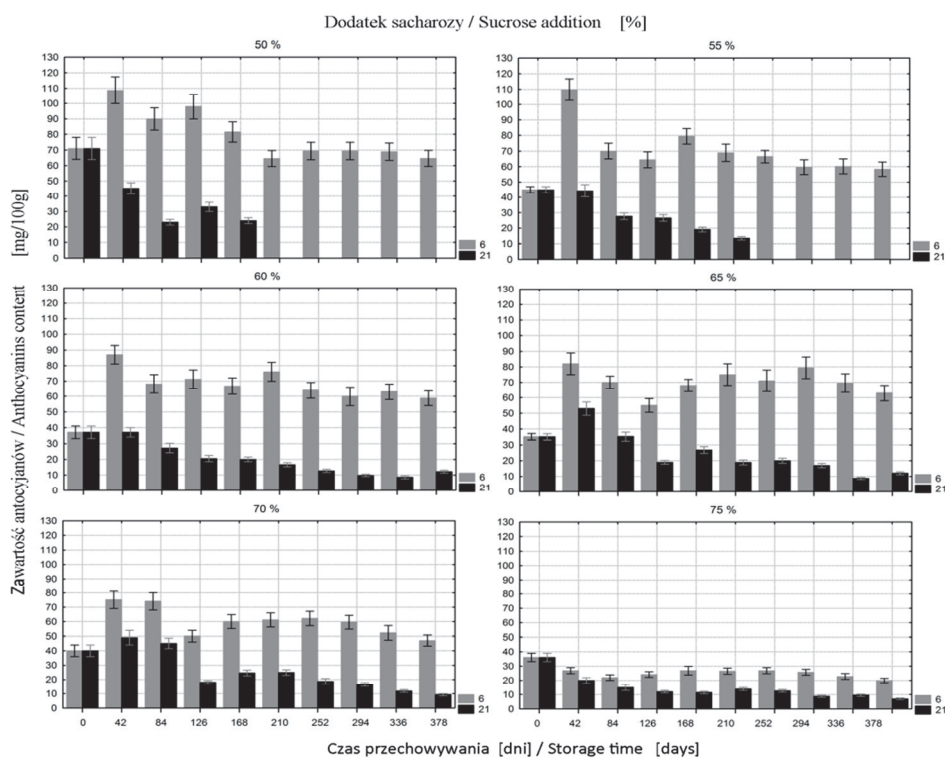
Stosowane temperatury składowania nie miały wpływu na zawartość polifenoli w przechowywanych produktach (rys. 1). Próbkę zawierającą 50- i 55-procentowy dodatek sacharozy, przechowywane w temp. 21 °C uległy mikrobiologicznemu zepsuciu (odpowiednio po 168 i 210 dniach). Na ich powierzchni stwierdzono obecność pleśni.

Obserwowane w niniejszej pracy zmiany zawartości polifenoli mogą być wynikiem ich przemian powodowanych reakcjami hydrolizy, utleniania, transestryfikacji i kompleksowania, w których związki te mogą brać udział w trakcie składowania produktów. Podobne tendencje w zmianach ilości polifenoli zaobserwowali Klimczak i wsp. [19], którzy po sześciu miesiącach przechowywania soków pomarańczowych w temp. 18, 28 i 38 °C stwierdzili, że zawartość tych związków wzrosła istotnie, mimo wcześniejszego zmniejszania się ich ilości. Autorzy ci sugerowali, że możliwą przyczyną tego zjawiska były nowo powstałe podczas składowania soków związki, które reagowały z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a. Arroyo-Lopez i wsp. [2] oznaczali metodą HPLC zawartość poszczególnych związków fenolowych w przechowywanych oliwkach w zalewie. Wzrost zawartości niektórych z tych substancji w czasie składowania wyrobu przypisali hydrolizie bardziej złożonych polifenoli, w wyniku czego zmiana ulegała również ogólna ilość polifenoli. Z kolei Murakami i wsp. [27] stwierdzili, że mieszanina czterech różnych polifenoli ogrzewana przez 180 h w temp. 100 °C była stosunkowo termostabilna, a ich rozkład następował stopniowo. Amakura i wsp. [1] wykazali brak większych zmian ogólnej ilości związków polifenolowych w dżemach z owoców jagodowych w stosunku do wyjściowej ich zawartości w surowcu. Z kolei Recamales i wsp. [32] stwierdzili zmniejszenie się ilości polifenoli w winie po 12 miesiącach jego składowania. Ubytek zawartości związków polifenolowych był mniejszy w materiale przechowywanym w temperaturze stałej ($17,5 \pm 2,5$ °C) niż warunkach temperatury zmiennej (butelki z winem przechowywano w pomieszczeniu, w którym temperatura wahała się w zależności od pory dnia i roku).

Skupień i Wójcik-Stopczyńska [34] analizowały w trakcie zamrażalniczego przechowywania zmiany zawartości polifenoli w homogenatach z truskawek odmiany 'Elsanta' z 5- i 10-procentowym dodatkiem sacharozy oraz bez dodatku cukru. W trakcie pierwszych 6 miesięcy składowania ilość polifenoli zmniejszyła się istotnie we wszystkich wariantach przecierów. W homogenacie bez dodatku cukru ubytek ten był najmniejszy (o 11,2 %), natomiast w próbach słodzonych zmniejszenie zawartości polifenoli było większe i zbliżone do siebie (o ok. 14 %). Po następnych 6 miesiącach w przecierach bez dodatku cukru i z 5-procentowym jego dodatkiem zaobserwowano istotny wzrost zawartości polifenoli (powyżej wartości początkowych), a w wariacie z 10-procentowym dodatkiem sacharozy wystąpiło dalsze zmniejszenie zawartości związków polifenolowych (o 9 %).

Zmiany zawartości antocyjanów

W przeciwieństwie do polifenoli na zawartość antocyjanów w składowanych niskoprzetworzonych płatkach róży duży wpływ wywierała temperatura przechowywania (rys. 2). W próbkach zawierających 65 i 70 % sacharozy, przechowywanych w temp. 21 °C, oznaczona spektrofotometrycznie zawartość antocyjanów zwiększyła się w 42. dniu przechowywania (w próbce z zawartością 65 % sacharozy istotnie, $p = 0,003$; w próbce z 70-procentową zawartością sacharozy – nieistotnie, $p = 0,072$). Do końca trwania eksperymentu obserwowano stały ubytek tych związków. We wszystkich próbkach zawierających natomiast mniej niż 75 % sacharozy i składowanych w temp. 6 °C stwierdzono w pierwszych sześciu tygodniach wyraźny i istotny ($p < 0,01$) wzrost zawartości tych związków do wartości maksymalnych, które następnie powoli malały, pozostając jednak przez cały czas na poziomie istotnie wyższym ($p < 0,01$, z wyjątkiem próbki z 50-procentowym dodatkiem sacharozy) od zawartości wyjściowych.



Rys. 2. Wpływ czasu i temperatury przechowywania na zawartość antocyjanów w niskoprzetworzonych płatkach róży pomarszczonej, zawierających różne dodatki sacharozy

Fig. 2. Effect of storage time and storage temperature on content of anthocyanins in low-processed wrinkled rose petals containing different sucrose additions

Zawartość barwników antocyjanowych w próbkach składowanych w temp. 6 oraz 21 °C różniła się istotnie ($p < 0,001$) w trakcie całego okresu przechowywania wszystkich produktów zawierających mniej niż 75 % sacharozy. Można stwierdzić, że w próbkach składowanych w temp. 21 °C następowała większa redukcja tych związków niż w temp. 6 °C. Wielu autorów obserwowało w swoich badaniach podobne zjawiska [8, 13, 30, 35, 36, 39]. Odnotowany silny przyrost zawartości antocyjanów po 42 dniach składowania w temperaturze chłodniczej mógł być spowodowany nakładaniem się efektu kopigmentacji z zastosowaną spektrofotometryczną metodą oznaczania ilości barwników antocyjanowych. Zjawisko kopigmentacji jest jednym ze sposobów stabilizacji i zwiększania intensywności barwy na skutek oddziaływań pomiędzy antocyjanami a cząsteczkami kopigmentów. Kopigmentami mogą być flawonoidy, alkaloidy, aminokwasy, kwasy organiczne, nukleotydy, jony metali, a także same antocyjany. W wyniku kopigmentacji następuje zwiększenie intensywności barwy (efekt hiperchromowy) oraz przesunięcie maksimum absorpcji w kierunku fal dłuższych (efekt batochromowy) [23].

Antocyjany są wrażliwe na wiele czynników, w tym na pH, temperaturę, promieniowanie rozproszone czy obecność degradujących je enzymów, a także innych związków chemicznych. Sacharoza wykazuje zdolności wiązania wody i zwiększenie jej stężenia w roztworze powoduje zmniejszenie mogącej uczestniczyć w reakcjach chemicznych ilości H_2O w układzie, a tym samym wpływa na wzrost trwałości antocyjanów [37, 38]. Stasiak i wsp. [35] stwierdzili, że duża ilość sacharozy (65 %) dodanej do koncentratów barwników antocyjanowych zwiększyła trzykrotnie stabilność tych związków w stosunku do ich trwałości w napojach bez dodatku cukru i z 13-procentowym jego dodatkiem. Wrolstad i wsp. [40] wykazali niewielki, lecz statystycznie istotny efekt ochronny sacharozy w stosunku do monomerycznych barwników antocyjanowych w mrożonych truskawkach podczas trzyletniego ich przechowywania, co mogło być spowodowane działaniem sacharozy jako inhibitora enzymów rozkładających te barwniki lub jako czynnika blokującego reakcje kondensacji antocyjanów dzięki budowie i rozmiarom swojej cząsteczki chemicznej. W badaniach prowadzonych przez Kmiecika i wsp. [20] wpływ sacharozy na stabilność antocyjanów w mrożonych truskawkach był niewielki i zależał od zastosowanej postaci cukru (sacharoza krystaliczna drobno rozdrobniona z dodatkiem pektyny lub kwasu L-askorbinowego oraz syrop sacharozowy z analogicznymi dodatkami).

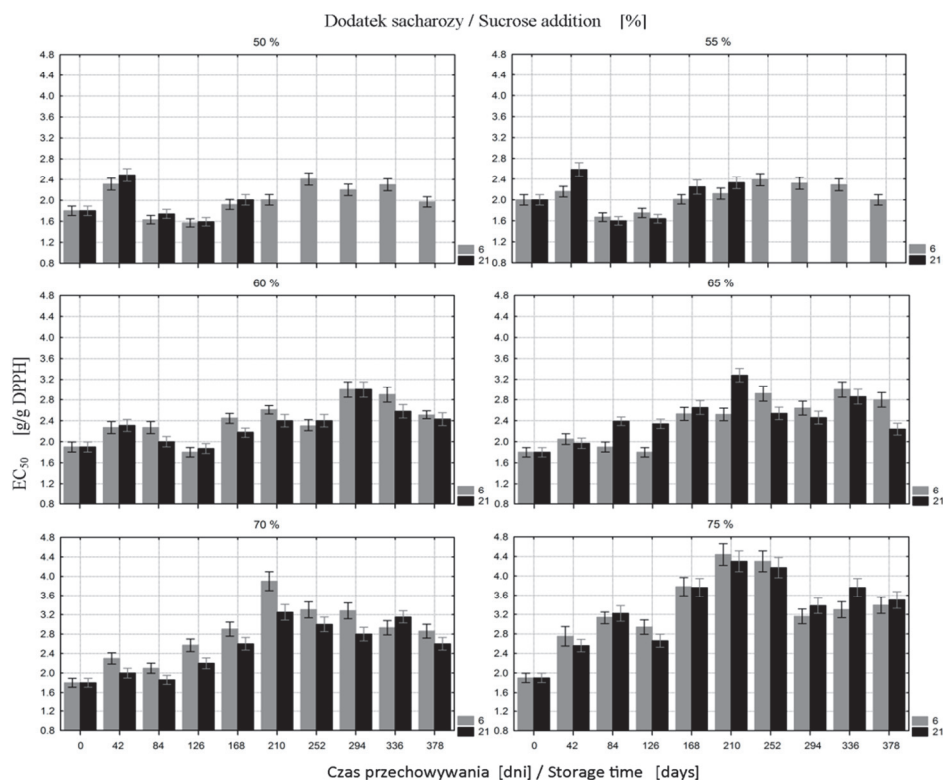
Oszmiański [31] opracował sposób otrzymywania i stabilizacji barwników z wyłoków aroniowych za pomocą flawonów z tarczycy bajkalskiej. Zastosowanie dodatków tarczycy bajkalskiej pozwoliło ograniczyć degradację antocyjanów w uzyskanych preparatach. Napoje zawierające barwniki antocyjanowe składowano w różnych warunkach. W doświadczeniu zostały zastosowane zróżnicowane dawki stabilizatora, które wykazywały maksimum działania po różnych okresach przechowywania napo-

jów. Podjęto również próbę utrwalenia barwników antocyjanowych w kompotach i dżemach truskawkowych przy udziale flawonów tarczycy bajkalskiej [17]. Dodatek stabilizatora wpłynął pozytywnie na trwałość czerwonej barwy oraz ilość antocyjanów tylko w dżemach truskawkowych. Wzbogacanie soków truskawkowych polifenolami płatków róży *Rosa damascena* [25] skutkowało ograniczeniem termicznej degradacji antocyjanów.

Antocyjany są związkami labilnymi i pod wpływem różnych czynników łatwo ulegają przemianom chemicznym. Podczas przechowywania produktów spożywczych generalnie następują straty antocyjanów na skutek ich degradacji. Istnieją jednak zjawiska, dzięki którym straty te mogą być ograniczane. Zalicza się do nich m.in. kopigmentację wewnątrz- i zewnątrzcząsteczkową oraz samoasocjację antocyjanów, która dotychczas nie została dokładnie poznana [7, 18]. Samoasocjacja antocyjanów powoduje dodatnie odchylenie od prawa Lamberta-Beera, co może sprawić, że zawartość antocyjanów liczona na podstawie oznaczeń spektrofotometrycznych może zostać zawyżona [7, 11, 14]. Ponadto zastosowana w pracy metoda różnicowego pH, chociaż pozwala na szybki pomiar całkowitych antocyjanów, zależy od obecności polimeryzowanych pigmentów zdegradowanych i innych związków, które mogą zakłócać obiektywność pomiaru [16]. Zmiany te są najintensywniejsze w początkowym okresie przechowywania, gdy najbardziej zaznacza się obecność substancji towarzyszących, mogących powodować wewnętrzne interakcje. Należy uwzględnić szereg różnych czynników, jak choćby zjawiska kopigmentacji, które mogą również przejawiać się efektem batochromowym i hiperchromowym [5, 7], co również nie pozostaje bez znaczenia, jeśli obliczenia stężenia antocyjanów w próbce bazują na pomiarach spektrofotometrycznych. Z najnowszych doniesień literatury wynika, że zjawiska kopigmentacji nie są natychmiastowe, ale mogą pojawiać się w próbce w miarę upływu czasu [11, 14]. Efekt kopigmentacji zależy od wielu zmiennych, takich jak rodzaj i stężenie kopigmentu, a efekt stabilizacji antocyjanów może być silniejszy przy niższych stężeniach reagentów [16, 18]. Podobny kierunek zmian ogólnej zawartości antocyjanów jak w niniejszej pracy, jednak na znacznie mniejszą skalę, zaobserwowano w badaniach modelowych z wykorzystaniem antocyjanów z różnych roślin i katechin zielonej herbaty podczas przechowywania w temp. 4 °C [16]. Przytoczone dane literaturowe oraz wyniki uzyskane w niniejszej pracy wskazują, że celowe jest prowadzenie dalszych badań z zastosowaniem bardziej selektywnych metod badawczych pozwalających na dokładne wyjaśnienie problemu. Jest to tym istotniejsze, że dane na temat składu chemicznego płatków róży, szczególnie frakcji kwasów fenolowych i flawonoidów są wciąż przedmiotem wielu badań, a prace na temat biologicznie aktywnych metabolitów płatków róży są nadal rzadkością [29].

Zmiany właściwości przeciwutleniających

Średnia aktywność przeciwutleniająca, oznaczona na podstawie ilości wygaszanego wolnego rodnika DPPH, badanych przetworów malała wraz ze zwiększającym się czasem składowania i wzrostem stężenia sacharozy w produkcie (rys. 3). Wyraźne zmniejszanie tej aktywności można zauważyć począwszy od 168. dnia składowania przede wszystkim w próbkach zawierających duże dodatki sacharozy. Średnie warunkowe EC_{50} dwóch przedziałów czasowych składowania (pierwszy – od 0 do 126 dni, drugi – od 168 do 378 dni) są istotnie ($p < 0,001$) różne bez względu na dodatek sacharozy. Obserwowane, pokrywające się w ramach błędów, wykresy średnich EC_{50} (rys. 3) grup o różnych temperaturach wskazują na brak wpływu temperatury przechowywania na wartości EC_{50} .

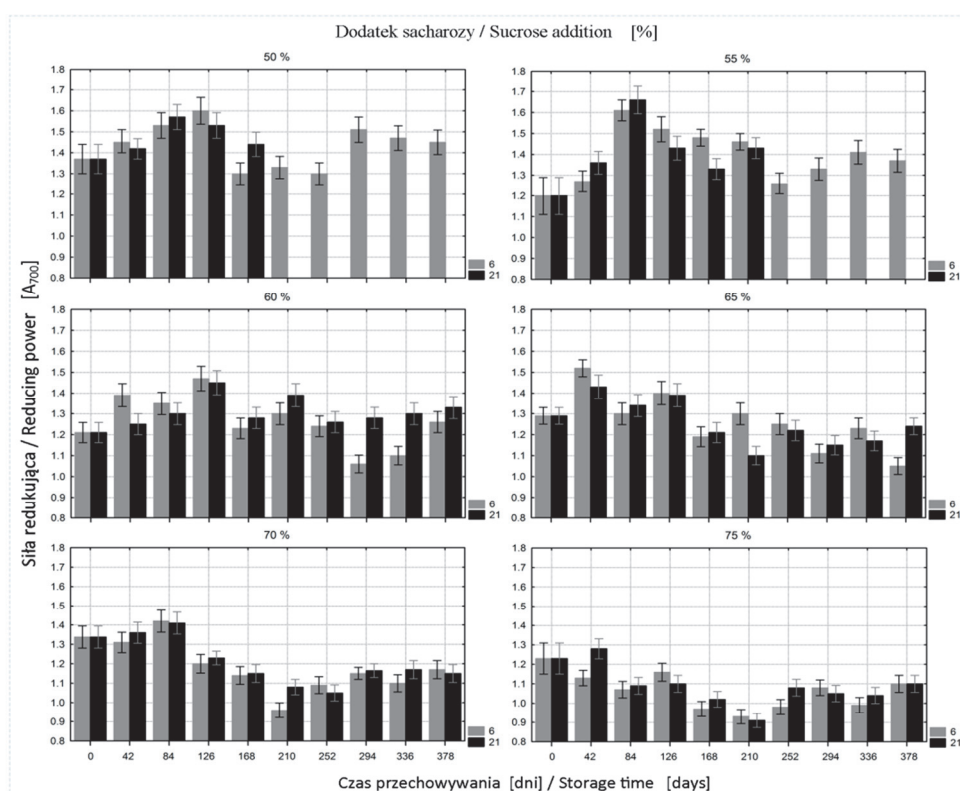


Rys. 3. Wpływ czasu i temperatury przechowywania na EC_{50} w niskopretworzonych płatkach róży pomarszczonej, zawierających różne dodatki sacharozy

Fig. 3. Effect of storage time and storage temperature on EC_{50} in low-processed wrinkled rose petals containing different sucrose additions

Najsilniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi charakteryzowały się próbki zawierające 50 - 55 % sacharozy pomiędzy 84. a 126. dniem składowania. Wartości te różniły się istotnie ($p < 0,001$) od pozostałych EC_{50} wyrobów o tej samej zawartości cukru, ale innym czasie przechowywania.

Na rys. 4. przedstawiono zmiany średnich wartości siły redukującej w zależności od czasu i temperatury przechowywania oraz stężenia sacharozy. Zmiany te potwierdzają spostrzeżenia sformułowane przy omawianiu EC_{50} . Odwrotne przebiegi wykresów wskazują na wyraźną ujemną korelację między tymi wielkościami.



Rys. 4. Wpływ czasu i temperatury przechowywania na siłę redukującą w niskoprzetworzonych płatkach róży pomarszczonej, zawierających różne dodatki sacharozy

Fig. 4. Effect of storage time and storage temperature on reducing power in low-processed wrinkled rose petals containing different sucrose additions

Wartości współczynników korelacji pomiędzy wszystkimi badanymi parametrami przedstawiono w tab. 2. Wyliczone współczynniki korelacji wskazują, że o właściwościach przeciwutleniających badanych produktów z płatków róży pomarszczonej decyduje głównie zawartość związków polifenolowych. Potwierdzają to wysokie wartości

współczynników korelacji ($r = -0,81$ i $r = 0,83$) między zawartością polifenoli i obiema miarami aktywności antyoksydacyjnej, tj. EC_{50} i siłą redukującą. Wpływ dodanej sacharozy jest widoczny, ale jej korelacja ($r = -0,75$) z zawartością polifenoli pozwala przypuszczać, że jest to wpływ pośredni. Dodatek sacharozy prawdopodobnie zmienia stężenie polifenoli, a tym samym także właściwości przeciwutleniające produktów. Wpływ czasu składowania i zawartości antocyjanów na aktywność przeciwutleniającą wyrobów jest niewielki ($r = 0,35 \div 0,4$) i może wynikać z wzajemnych interakcji pomiędzy tymi parametrami a zawartością polifenoli i sacharozy. Temperatura składowania miała wpływ tylko na zawartość antocyjanów.

Tabela 2. Współczynniki korelacji pomiędzy badanymi parametrami przechowywanych niskoprzetworzonych płatków róży

Table 2. Correlation coefficients between analyzed parameters of stored low-processed wrinkled rose petals

Parametry Parameters	Siła redukująca Reducing power	EC_{50}	Antocyjany Anthocyanins	Polifenole Polyphenols	Czas składowania Storage time	Dodatek sacharozy Sucrose addition
Temperatura Temperature	0,04	-0,05	-0,73*	0,07	-0,09	0,00
Dodatek sacharozy Sucrose addition	-0,70*	0,67*	-0,48*	-0,75*	0,00	-
Czas składowania Storage time	-0,37*	0,41*	-0,20	-0,39*	-	-
Polifenole Polyphenols	0,83*	-0,81*	0,34*	-	-	-
Antocyjany Anthocyanins	0,36*	-0,39*	-	-	-	-
EC_{50}	-0,84*	-	-	-	-	-

Objaśnienia: Explanatory notes:

* – współczynniki korelacji istotne na poziomie $p = 0,001$ / correlation coefficients, which are significant at $p = 0.001$.

Wnioski wynikające z analizy współczynników korelacji potwierdził model regresji wielorakiej dotyczący zdolności wygaszania wolnych rodników (EC_{50}). Z modelu uwzględniającego 5 badanych parametrów jako zmiennych objaśniających wynika, że wpływ antocyjanów i temperatury na EC_{50} nie jest istotny, natomiast zależność od pozostałych zmiennych (polifenole, sacharoza i czas przechowywania) jest istotna (wszystkie z $p < 0,00001$) i opisuje ją równanie regresji:

$$EC_{50} = 1,835 \pm 0,33 - 0,0011 \pm 0,0001 \times \text{Polifenole} + 0,0186 \pm 0,004 \times \text{Sacharoza} + 0,00137 \pm 0,0002 \times \text{Czas}$$

Miara dyspersji wartości obserwowanych wokół linii regresji jest równa 0,385, a poprawiona wartość współczynnika determinacji $R^2 = 0,66$, co oznacza, że model opisujący powyższym równaniem wyjaśnia około 66 % ogólnej zmienności EC_{50} .

Benvenuti i wsp. [4], analizując właściwości przeciwutleniające aronii i różnych odmian malin oraz porzeczek, stwierdzili mniejszy wpływ zawartości antocyjanów niż polifenoli ogółem na aktywność przeciwutleniającą tych owoców, mierzoną zdolnością wygaszania wolnych rodników DPPH. Podobne zależności wykazali Moyer i wsp. [22], Chaovanalikit i Wrolstad [9] oraz Lohachoompol i wsp. [18]. Niskoprzetworzone płatki róży pomarszczonej charakteryzowały się wysoką aktywnością przeciwutleniającą, która utrzymywała się na stosunkowo wyrównanym poziomie przez ponad cztery miesiące przechowywania w obu temperaturach składowania. Produkty te utrwalone łagodną osmoaktywną metodą, zawierające co najmniej 60 % cukru, mogą zatem stanowić źródło stabilnych przeciwutleniaczy pochodzących z bardzo nietrwałego surowca roślinnego, jakim są płatki kwiatów jadalnych. Przeprowadzane obserwacje wskazują, że wyroby o mniejszej zawartości cukru (50 ÷ 55 %) powinny być przechowywane w temperaturze chłodniczej.

Wnioski

1. Temperatura przechowywania nie miała wpływu na zawartość polifenoli, natomiast wpływała istotnie ($r = -0,73$, $p = 0,001$) wyłącznie na zawartość antocyjanów w badanych produktach.
2. Dodatek sacharozy silnie wpływał na zawartość polifenoli ($r = -0,75$, $p = 0,001$) w produktach podczas ich przechowywania, a pośrednio również na właściwości przeciwutleniające badanych wyrobów.
3. Do 126. dnia składowania w próbkach o zawartości 50 i 60 % sacharozy obserwowano wzrost zawartości związków polifenolowych, których ilość zmniejszała się następnie wraz z wydłużającym się czasem przechowywania. W próbach zawierających 55 % sacharozy wzrost zawartości składników fenolowych występował jedynie do 84. dnia składowania.
4. Wykazano silną zależność pomiędzy zawartością polifenoli w badanych produktach a ich właściwościami przeciwutleniającymi (siłą redukującą – $r = 0,83$ oraz EC_{50} – $r = -0,81$; $p = 0,001$).
5. Najsilniejsze właściwości przeciwutleniające wykazywały produkty o zawartości sacharozy 50 ÷ 55 % pomiędzy 84. a 126. dniem przechowywania. Po upływie tego czasu obserwowano obniżenie aktywności przeciwutleniającej wszystkich badanych produktów.

Literatura

- [1] Amakura Y., Umino Y., Tsuji S., Tonogai Y.: Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 6292-6297.
- [2] Arroyo-Lopez F.N., Duran-Quintana M.C., Romero C., Rodriguez-Gomez F., Garrido-Fernandez A.: Effect of storage process on the sugars, polyphenols, color and microbiological changes in cracked Manzanilla-Alorena table olives. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 7434-7444.
- [3] Benvenuti S., Pellati F., Melegari M., Bertelli D.: Polyphenols, anthocyanins, Ascorbic acid, and radical scavenging activity of *Rubus*, *Ribes*, and *Aronia*. *Food Chem. Toxicol.*, 2004, **69** (3), 164-169.
- [4] Bhaskar J.J., Shobha M.S., Sambaiah K., Salimath P.V.: Beneficial effects of banana (*Musa* sp. Var. elakki bale) flower and pseudostem on hyperglycemia and advanced glycation end-products (AGEs) in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Physiol Biochem.*, 2011, **67**, 415-425.
- [5] Boulton R.: The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *Am. J. Enol. Viticul.*, 2001, **52**, 67-87.
- [6] Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*, 1995, **28** (1), 25-30.
- [7] Cavalcanti R.N., Santos D.T., Meireles M.A.A.: Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems - An overview. *Food Res. Int.*, 2011, **44**, 499-509.
- [8] Cendrowski A., Mitek M., Siestrzewitowska K.: Wpływ procesu technologicznego na zawartość antocyjanów i barwę konfitur z płatków róży pomarszczonej (*Rosa rugosa*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **5** (84), 47-59.
- [9] Chaovanalikit A., Wrolstad R.E.: Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *J. Food Sci.*, 2004, **69** (1), 67-72.
- [10] Czermiński J.B., Iwasiewicz A., Paszek Z., Sikorski A.: *Metody statystyczne dla chemików*. PWN, Warszawa 1991.
- [11] Fei He, Na-Na L., Lin Mu, Qiu-Hong P., Jun Wang, Reeves M.J., Chang-Qing D.: Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. *Molecules*, 2012, **17** (2), 1571-1600.
- [12] Fu M., Ng T.B., Jiang Y., Pi Z.F., Liu Z.K., Li L., Liu, F.: Compounds from rose (*Rosa rugosa*) flowers with human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase inhibitory activity. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2006, **58** (9), 1275-1280.
- [13] Garcia-Viguera C., Zafrilla P., Romero F., Abellán P., Artés F., Tomás-Barberán F.A.: Color stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. *J. Food Sci.*, 1999, **64** (2), 243-247.
- [14] González-Manzano S., Santos-Buelga C., Duenas M., Rivas-Gonzalo J.C., Escribano-Bailón T.: Colour implications of self-association processes of wine anthocyanins. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **226**, 483-490.
- [15] Hashidoko Y.: The phytochemistry of *Rosa rugosa*. *Phytochemistry*, 1996, **43**, 535-549.
- [16] Hui-Chun Hsiao B.S.: Anthocyanin color enhancement by using catechin as copigments and stability during storage. Thesis. Presented in Partial Fulfilment of the Requirements for the Degree Master in the Graduate School of The Ohio State University. Graduate Program in Food Science and Technology. Advisor: Dr. M. Monica Giusti. The Ohio State University 2014.
- [17] Kalisz B., Kalisz S., Oszmiański J.: Wpływ flawonoidów tarczycy bajkalskiej na aktywność przeciwutleniającą i stabilizację antocyjanów oraz barwę kompotów i dżemów truskawkowych. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2004, **3** (1), 73-83.

- [18] Kalisz S., Oszmiański J., Hładyszowski J., Mitek M. Stabilization of anthocyanin and skullcap flavone complexes – Investigations with computer simulation and experimental methods. *Food Chem.*, 2013, **138**, 491-500.
- [19] Klimczak I., Małecka M., Szlachta M., Gliszczyńska-Świgło A.: Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *J. Food Comp. Anal.*, 2007, **20**, 313-322.
- [20] Kmiecik W., Jaworska G., Lisiewska Z.: Effect of sucrose, L-ascorbic acid and pectin on the quality of frozen strawberries. *EJPAU, Food Sci. Technol.*, 2000, **3 (2)**, www.ejpau.media.pl.
- [21] Lee J., Durst R.W., Wrolstad R.E.: Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *J. AOAC Int.*, 2005, **88 (5)**, 1269-1278.
- [22] Lohachoompol V., Szrednicki G., Craske J.: The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2004, **5**, 248-252.
- [23] Mazza G., Brouillard R.: The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry*, 1990, **29**, 1097-1102.
- [24] Mlcek J., Rop O.: Fresh edible flowers of ornamental plants – A new source of nutraceutical foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 2011, **22**, 561-569.
- [25] Mollov P., Mihalev K., Shikov V., Yoncheva N., Karagyozov V.: Colour stability improvement of strawberry beverage by fortification with polyphenolic copigments naturally occurring in rose petals. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2007, **8**, 318-321.
- [26] Moyer R.A., Hummer K.E., Finn C.E., Frei B., Wrolstad R.E.: Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50 (3)**, 519-525.
- [27] Murakami M., Yamaguchi T., Takamura H., Matoba T.: Effects of thermal treatment on radical-scavenging activity of single and mixed polyphenolic compounds. *JFS: Food Chem. Toxicol.*, 2004, **69 (1)**, 7-10.
- [28] Ng T.B., He J.S., Niu S.M., Zhao L., Pi Z.F., Shao W., Liu F.: A gallic acid derivative and polysaccharides with antioxidant activity from the rose (*Rosa rugosa*) flowers. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2004, **56 (4)**, 537-545.
- [29] Nowak R., Olech M., Pecio Ł., Oleszek W., Los R., Malm A., Rzymowska J.: Cytotoxic, antioxidant, antimicrobial properties and chemical composition of rose petals. *J. Sci. Food Agric.* 2013, 2014, **94 (3)**, 560-567.
- [30] Ochoa M.R., Kessler A.G., Vullioud M.B., Lozano J.E.: Physical and chemical characteristics of raspberry pulp: storage effect on composition and color. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 1999, **32**, 149-153.
- [31] Oszmiański J.: Stabilizacja i zastosowanie barwnika antocyjanowego aronii do barwienia napojów. *Acta Sci. Pol., Technol. Alimen.*, 2002, **1 (1)**, 37-45.
- [32] Recamales. Á.F., Sayago A., González-Miret M.L., Hernaz D.: The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine. *Food Res. Int.*, 2006, **39**, 220-229.
- [33] Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M.: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Cocalteau reagent. *Method. Enzymol.*, 1999, **299**, 152-178.
- [34] Skupień K., Wójcik-Stopczyńska B.: Ocena jakości przecierów z truskawek odmiany 'Elsanta'. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2005, **4 (2)**, 25-35.
- [35] Stasiak A., Pawlak M., Sosnowska D., Wilska-Jeszka J.: Szybkość degradacji barwników antocyjanowych i kwasu askorbinowego w roztworach o różnych stężeniach sacharozy. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1998, **12**, 33-34.

- [36] Ścibisz I., Gasik A., Mitek M., Cendrowski A.: Wpływ warunków przechowywania na barwę dżemów z owoców kolorowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **1 (74)**, 99-111.
- [37] Tsai P.J., Huang H-P.: Effect of polymerization on the antioxidant capacity of anthocyanins in Roselle. *Food Res. Int.*, 2004, **37**, 313-318.
- [38] Tsai P.J., Delva L., Yu T. Y., Huang Y.T., Dufossé L.: Effect of sucrose on the anthocyanin and antioxidant capacity of mulberry extract during high temperature heating. *Food Res. Int.*, 2005, **38**, 1059-1065.
- [39] Wicklund T., Rosenfeld H.J., Martinsen B.K., Sundfør M.W., Lea P., Bruun T., Blomhoff R., Haffner K.: Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*, 2005, **38**, 387-391.
- [40] Wrolstad R.E., Skrede G., Lea P., Enersen G.: Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. *J. Food Sci.*, 1990, **55 (4)**, 1064-1065, 1072.
- [41] Xie Y., Zhang W.: Antihypertensive activity of *Rosa rugosa* Thunb. Flowers: angiotensin I converting enzyme inhibitor. *J. Ethnopharmacol.*, 2012, **144 (3)**, 562-566.
- [42] Yen G.-C., Chen H.-Y.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 27-32.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF LOW-PROCESSED WRINKLED ROSE (*ROSA RUGOSA*) PETALS

Summary

The objective of the research study was to assess the impact of sucrose addition as well as of temperature and storage time of low-processed products produced from wrinkled rose (*Rosa rugosa*) petals on the content of phenolic compounds and antioxidant properties. The products to be analyzed were made by adding 0.5 % of citric acid and 50 - 75 % of sucrose. Next, those products were stored during a period of 378 days at a temperature of 6 and 21°C. It was found that the storage temperature had a significant impact on the anthocyanin content in the products analyzed; however, it did not significantly affect the content of polyphenols therein and their antioxidant properties. In the samples containing 50 and 60 % of sucrose, an increase in the content of total polyphenols was reported after a 126 day storage period (to a level of 1720 mg/100 g and 1150 mg/100 g, respectively); after that period, their quantity decreased along with the extension of storage time (to a level of 770 mg/100 g and 778 mg/100 g, respectively). The strongest antioxidant properties, expressed both as EC₅₀ (1.6 g/g DPPH) and as the reducing power (1.67 A₇₀₀), had the products with 50 - 55 % of sucrose, between the 84th and 126th day of storage. After this time, a decrease in the antioxidant activity was reported.

Key words: low-processed *Rosa rugosa* petals, antioxidant activity, polyphenols, anthocyanins 