

KINETYKA ZMIAN ZAWARTOŚCI ERGOSTEROLU PODCZAS
PRZECHOWYWANIA NASION RZEPAKU*

Marzena Gawrysiak-Witulska¹, Jolanta Wawrzyniak¹, Kinga Stuper²,
Robert Rusinek³

¹Institut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu,

²Katedra Chemii, Wydział Technologii Drewna

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań

³Institut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

email: wima@up.poznan.pl

Streszczenie. Ergosterol jest najważniejszym steroidem tworzonym przez większość grzybów i jest stosowany jako chemiczny wskaźnik obecności zasiedlających grzybów. Celem pracy było zbadanie wpływu temperatury i wilgotności nasion rzepaku na ich jakość mikrobiologiczną. W pracy oceniano skażenie mikrobiologiczne rzepaku na podstawie poziomu stężenia ergosterolu. Materiałem badawczym były nasiona rzepaku odmiany *Californium* przechowywane w komorze termostaticznej (25 ± 1 i 30 ± 1 °C) wyposażonej w trzy aparaty higrostatyczne służące do utrzymania wilgotności względnej powietrza na stałym poziomie. Przed rozpoczęciem eksperymentu rzepak nawilżano do wilgotności 10,5; 12,5; 15,5% (w.b). Nasiona przechowywano do czasu, aż ich zdolność kiełkowania obniżyła się poniżej 75%. Podczas przechowywania, co 6 dni, pobierano próby do badań. Przeprowadzone badania wykazały istotny wpływ wilgotności nasion i temperatury przechowywania na przyrost stężenia ergosterolu.

Słowa kluczowe: rzepak, przechowywanie, ergosterol, skażenie mikrobiologiczne

WSTĘP

W ciągu ostatnich 20 lat roczna produkcja rzepaku na świecie wzrosła z 26,7 do 65 mln ton (<http://www.faostat.fao.org>). W Polsce w tym czasie również odnotowano silną tendencję wzrostową jego produkcji. Jest to ściśle związane z przystąpieniem Polski do Unii Europejskiej. Dyrektywy Unii Europejskiej

*Pracę wykonano w ramach projektu nr PBS2/A8/22/2013, finansowanego przez NCBiR w latach 2013-2016.

(2003/30EC, 2009/30/WE) nakładają na kraje członkowskie obowiązek zwiększenia użycia energii odnawialnej w gospodarce narodowej. Aby sprostać tym wymaganiom, areal uprawy rzepaku oraz plonowanie rzepaku muszą systematycznie rosnąć (Kuś 2003). Od wielu lat rzepak jest przedmiotem wielu programów badawczych, mających na celu jego udoskonalenie. Dotychczas prowadzone badania pozwoliły znacznie podwyższyć plenność odmian oraz wyhodować i wdrożyć do produkcji odmiany tzw. dwuzerowe, w których oprócz zredukowanej ilości kwasu erukowego (<2%), zmniejszono zawartość glukozyolanów. Prowadzone badania pozwoliły także na uzyskanie odmian o pożądanej proporcji kwasów tłuszczowych oraz zwiększonej zawartości związków biologicznie aktywnych, takich jak sterole i tokoferole (Booth i Gunstone 2004, Möllers 2004). Przyczyniło się to do zwiększenia wykorzystania rzepaku na cele żywnościowe. Obecnie rzepak jest najważniejszą rośliną oleistą uprawianą w Polsce. Stanowi on cenny surowiec do produkcji oleju, natomiast produkty uboczne w postaci śruty i wyłoków mogą być wykorzystane jako wartościowa pasza wysokobiałkowa.

Jakość oleju rzepakowego zależy przede wszystkim od stanu nasion wykorzystanych do jego produkcji. Zebrane nasiona rzepaku po zbiorze muszą być odpowiednio zabezpieczone. Optymalna wilgotność nasion rzepaku przeznaczonych do długotrwałego przechowywania wynosi 7% (Niewiadomski 1993). Wyższa ich wilgotność w istotny sposób skraca czas bezpiecznego przechowywania (Pronyk i in. 2006). Nasiona skupowane w Polsce powinny posiadać wilgotność od 7 do 9%. Z uwagi na to, że wilgotność nasion po zbiorze bardzo często przekracza zalecaną wilgotność przechowalniczą, nasiona rzepaku muszą być poddane procesowi suszenia i schłodzenia. Wysuszenie i schłodzenie nasion nie gwarantuje jednak ich przechowania bez strat jakościowych. Podczas długotrwałego przechowywania nasion w silosie, w wyniku zmian temperatury na zewnątrz oraz ogrzewania południowych ścian magazynu, w przechowywanej masie ziarna może wystąpić różnica temperatury. W zaistniałej sytuacji występuje powolny ruch powietrza, któremu towarzyszy migracja wilgoci. W rezultacie cieplejsze warstwy są nieznacznie suszone zaś chłodniejsze powtórnie nawilżane. W nawilżonych warstwach ziarna następuje uaktywnienie procesów życiowych, które prowadzą do wystąpienia zjawiska samonagrzewania. Jest to zjawisko negatywne, obniżające jakość materiału, niestety często występujące w praktyce przechowalniczej. Sytuacji tej można przeciwdziałać przewietrzając masy nasion. W przypadku zaniedbania tego zjawiska, w przechowywanej masie nasion, na skutek wzrostu temperatury i wilgotności występuje rozwój grzybów pleśniowych (Pronyk i in. 2006). Wzrost temperatury nasion dodatkowo przyspiesza procesy biochemiczne i powoduje powstawanie szkodliwych metabolitów, takich jak wolne kwasy tłuszczowe (Pronyk i in. 2006, Gawrysiak-Witulska i in. 2011). Podstawowymi metodami służącymi do określania ilości grzybów pleśniowych są bezpośrednie metody mikrobiologiczne. Opierają się one na makro-

skopowej analizie badanego materiału lub zliczaniu jednostek tworzących kolonie po wysiewie na odpowiednich podłożach mikrobiologicznych (Williams 1989). Niestety są one pracochłonne. W ocenie skażenia mikrobiologicznego żywności szerokie zastosowanie znajdują metody chemiczne pozwalające na analizę metabolitów grzybowych (Williams 1989). Przedmiotem tego typu analiz jest m.in. ergosterol (ERG). Ergosterol to główny sterol występujący w błonie komórkowej większości grzybów pleśniowych (Gourama i Bullerman 1995, Newell 1992, He i in. 2000, Zhao i in. 2005). Metoda oznaczania ERG, zaproponowana przez Seitz i in. (1977), bardzo często wykorzystywana jest do określenia poziomu skażenia mikrobiologicznego ziarna roślin.

Celem pracy było zbadanie wpływu temperatury i wilgotności nasion rzepaku na kinetykę zmian zawartości ergosterolu.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach wykorzystano nasiona rzepaku odmiany *Californium*. Nasiona pochodziły ze zbiorów Stacji Doświadczalnej w Złotnikach, należącej do Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Przed doświadczeniem nasiona rzepaku nawilżano do wilgotności 10,5 12,5 i 15,5%. Próbkę o wymaganej wilgotności uzyskiwano zraszając nasiona o znanej wilgotności W_0 wodą destylowaną, której ilość Δ_{mw} określano zgodnie z zależnością:

$$\Delta_{mw} = m_0 \frac{W_1 - W_0}{I - W_1} \quad (1)$$

gdzie: Δ_{mw} – masa dodanej wody, m_0 – masa materiału o wilgotności W_0 , W_1 – wilgotność oczekiwana, W_0 – wilgotność początkowa.

Po nawilżeniu, nasiona pakowano w worki polietylowe i pozostawiano w pomieszczeniu o temperaturze 5°C na okres 24h. Wilgotność materiału przed i po nawilżeniu określano metodą suszarkową.

Odpowiednio przygotowane nasiona przechowywano następnie w specjalnie do tego celu skonstruowanej komorze termo-higrostatycznej. Komora na swoim wyposażeniu posiadała trzy aparaty higrostatyczne. Aparaty te umożliwiały przechowywanie nasion rzepaku na niezmiennym początkowym poziomie wilgotności. Utrzymanie niezmiennego poziomu wilgotności nasion podczas trwania eksperymentów odbywało się dzięki zastosowaniu w aparatach higrostatycznych nasyconych roztworów soli i wentylatorów, które wymuszały stały przepływ powietrza z nad roztworów soli przez warstwę rzepaku. W doświadczeniach użyto nasyconych roztworów soli: NaCl, KCl i BaCl₂. Wybrane i użyte nasycone roztwory soli pozwoliły na utrzymywanie

w przestrzeniach międzynasiennych rzepaku wilgotności względnej powietrza na poziomie 75, 85 i 91%, co odpowiadało zadanej wilgotności równowagowej nasion rzepaku na poziomie 10,5; 12,5 i 15,5%. Zapobiegało to migracji wilgoci pomiędzy ziarniakami i powietrzem znajdującym się w przestrzeniach międzynasiennych zapewniając stałą wilgotność nasion.

Wilgotność względną powietrza, równowagową dla zadanej wilgotności nasion przeznaczonych do przechowywania, ustalono na podstawie równania Halsey'a (ASAE Standards 2000).

$$\varphi = \exp\left[-\frac{\exp(3,489 - 0,010553 \cdot t)}{(100u)^{1,86}}\right] \quad (2)$$

φ – wilgotność równowagowa powietrza (uł.), t – temperatura (°C), u – zawartość wody w nasionach ($\text{kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m.)

Równanie to umożliwiło obliczenie równowagowej wilgotności względnej powietrza dla wilgotności nasion rzepaku w określonej temperaturze.

Podczas trwania doświadczeń przez cały czas monitorowano temperaturę i wilgotność. Temperaturę w warstwach nasion rzepaku mierzono przy użyciu termoelementów Cu-Konstantan (typ EE21-FT6B53/T24), natomiast wilgotność względną powietrza mierzono za pomocą sond z czujnikami pojemnościowymi. Termoelementy i czujniki wilgotności podłączono do komputerowego systemu akwizycji danych I-7018 firmy ICP-CON. Przeprowadzono dwa eksperymenty. Nawilżone nasiona rzepaku przechowywano w temperaturze 25 i 30°C. Podczas przechowywania nasion, co 6 dni pobierano próby do analiz. W próbach oznaczano zdolność kiełkowania oraz zawartość ergosterolu. Każde z doświadczeń prowadzono do czasu, gdy zdolność kiełkowania nasion spadła poniżej 75%. Próbę kontrolną stanowiły nasiona po zbiorze o wilgotności 7%.

Oznaczenie zdolności kiełkowania

W celu oznaczenia zdolności kiełkowania pobierano 50 losowo wybranych nasion rzepaku, które umieszczano na bibule filtracyjnej znajdującej się na płytce Petriego i zalewano wodą destylowaną. Następnie próby inkubowano w temperaturze 25°C przez 4 dni. Po tym czasie płytki otwarto i inkubowano przez kolejne 3 dni. Po zakończeniu liczono wykiełkowane nasiona. Wynik wyrażano w procentach wykiełkowanych nasion (Pronyk i in. 2006).

Oznaczenie ergosterolu

W celu oznaczenia zawartości ergosterolu w nasionach rzepaku próby nasion o masie 100 g zmielono za pomocą młynka laboratoryjnego. Do dalszej analizy odważono 0,1g i umieszczono w probówce do kultur o pojemności 17 cm^3 , gdzie

przeprowadzono ekstrakcję ergosterolu z jednoczesnym zmydleniem, dodając 5 cm³ metanolu oraz 0,7 cm³ wodnego roztworu wodorotlenku sodu o stężeniu 2 M (Wiśniewska i Buśko 2005, Perkowski i in. 2007). Szczelnie zamkniętą probówkę umieszczono w plastikowej butelce z teflonowym zamknięciem o pojemności 250 cm³. Zabezpieczoną w ten sposób próbkę poddano dwukrotnie działaniu promieniowania mikrofalowego o mocy 400 W przez okres 20 s i 25 s w odstępach około 3 min w kuchence mikrofalowej (Whirpool model AVM 401/1/WH) o częstotliwości 2450 MHz. Po około 15 minutach schłodzone w temperaturze pokojowej próbki neutralizowano. W tym celu dodano 1 cm³ wodnego roztworu kwasu solnego o stężeniu 1 M oraz 3 cm³ metanolu. Następnie prowadzono ekstrakcję pentanem (3 x 4 cm³). Połączone warstwy pentanowe odparowano do sucha w strumieniu azotu. Przed przystąpieniem do analizy próbkę rozpuszczano w 4 cm³ metanolu, przefiltrowano (Fluoropore Membrane Filter 0,5 µm FH), 13 mm, wysuszono w strumieniu azotu i ponownie rozpuszczono w 1 cm³ metanolu. Analizę przeprowadzono za pomocą wysokosprawnego chromatografu cieczowego (Waters Corporation, Milford, MA, USA) z detektorem absorpcyjometrycznym (Waters 486 Tunable Absorbance Detector). Rozdział chromatograficzny odbywał się na kolumnie Nova Pack C18, (150 x 3,9 mm), a fazę wymywającą stanowiła mieszanina metanol: acetonitryl 90:10 (v/v). Prędkość przepływu fazy ruchomej wynosiła 0,6 cm³·min⁻¹. Pomiar stężenia ERG następował przy użyciu wzorca zewnętrznego przy długości fali $\lambda = 282$ nm. Identyfikacja związku odbywała się na podstawie porównania czasu retencji badanego pliku z czasem retencji standardu oraz poprzez dodanie do badanej próbki określonej ilości standardu i powtórzną analizę. Badania wykonano w trzech powtórzeniach.

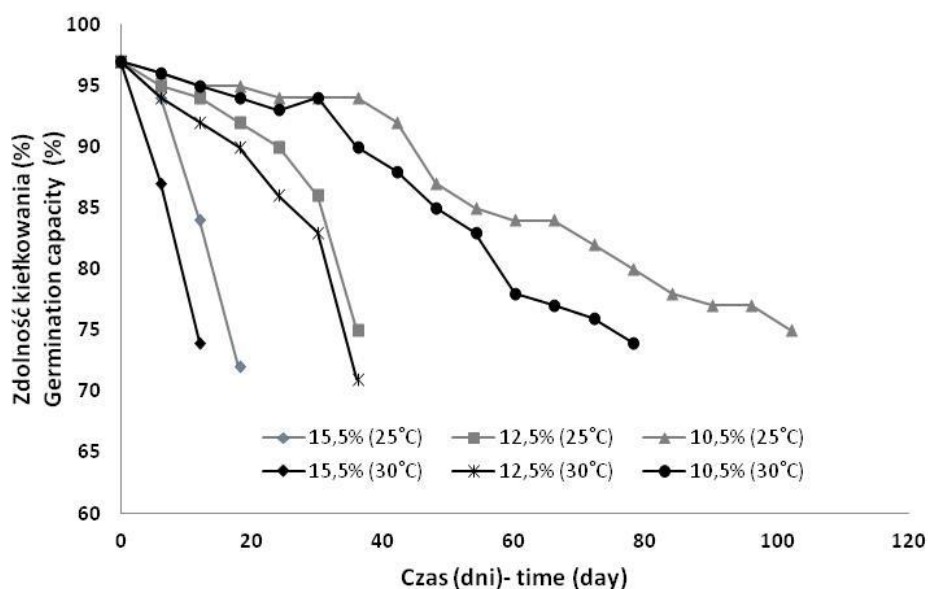
Analiza statystyczna

Wszystkie obliczenia wykonano wykorzystując program komputerowy STATISTICA 10.0. Uzyskane wyniki, które stanowiły wartości średnie z trzech równoległe przeprowadzanych oznaczeń, poddano analizie statystycznej prowadząc wnioskowanie na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Do wyznaczania istotności różnic zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji oraz test wielokrotnych porównań Tukeya.

WYNIKI I DYSKUSJA

Zdolność kiełkowania jest dobrym wskaźnikiem ogólnej jakości nasion rzepaku. Podczas przechowywania nasion rzepaku na skutek niekorzystnych przemian chemicznych i biochemicznych może ona ulegać obniżeniu i dlatego może być stosowana jako wyznacznik czasu ich bezpiecznego przechowywania. Zmiany zdolności kiełkowania podczas przechowywania poszczególnych prób nasion przedstawiono na rysunku 1. Zastosowane w doświadczeniu nasiona odmiany

Californium bezpośrednio po zbiorze posiadały energię kiełkowania na poziomie 97%. Obniżanie zdolności kiełkowania obserwowano dla wszystkich przechowywanych próbek. Czas, w którym zdolność kiełkowania obniżyła się poniżej 75% był tym krótszy im wyższa wilgotność nasion i wyższa temperatura przechowywania. W nasionach o wilgotności 15,5% przechowywanych w temperaturze 25°C zdolność kiełkowania spadła poniżej 75% po 18 dniach, natomiast po 36 dniach w nasionach o wilgotności 12,5% oraz po 102 dniach w nasionach o wilgotności 10,5%. Podczas przechowywania nasion w temperaturze 30°C czasy obniżania zdolności kiełkowania były krótsze i wynosiły odpowiednio 12, 36 i 78 dni.



Rys. 1. Zmiany zdolności kiełkowania w rzepaku przechowywanym w temperaturze 25 i 30°C w zależności od wilgotności nasion

Fig. 1. Changes of the germination capacity in rapeseed stored at 25 and 30°C depending on the seed moisture content

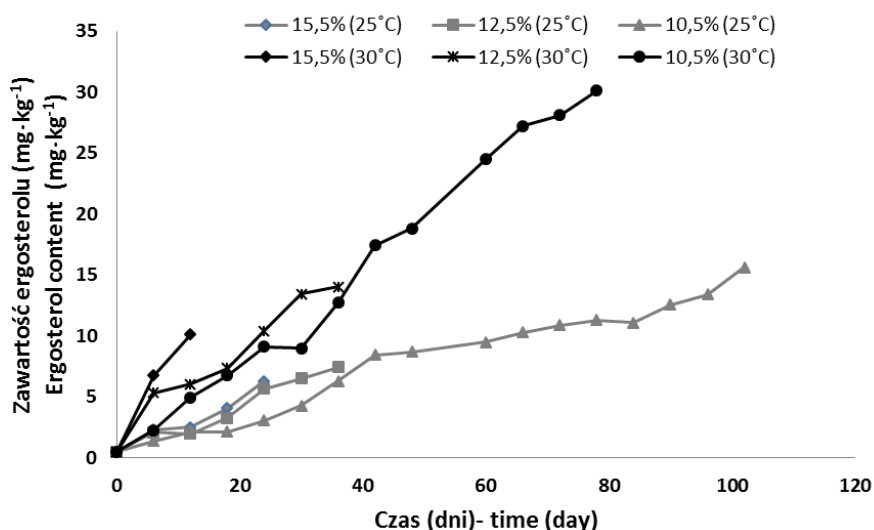
We wszystkich pobranych podczas prowadzenia doświadczenia próbach analizowano zawartość ergosterolu. Zmiany zawartości ergosterolu w nasionach rzepaku, przechowywanych w temperaturze 25 i 30°C przedstawiono na rysunku 2. W nasionach rzepaku, zebranych z pola, zawartość ergosterolu dla badanej odmiany *Californium*, wynosiła 0,51 mg·kg⁻¹ nasion. Jest to stężenie niewielkie, gdyż według Maupetit i in. (1993) stężenie ergosterolu w rzepaku wynosi zwykle od 0-7,1 mg·kg⁻¹. Pozwala to także sformułować wniosek, iż próby te były w niewielkim stopniu zanieczyszczone mikroflorą grzybową. We wszystkich próbach

rzepaku, pobranych podczas przechowania, w założonych dla przeprowadzonych doświadczeń warunkach wilgotnościowo-temperaturowych obserwowano wzrost stężenia ergosterolu, przy czym tempo tych zmian zależne było zarówno od wilgotności nasion jak i temperatury podczas przechowywania. Zawartość ergosterolu w chwili, gdy ich zdolność kiełkowania spadła poniżej 75% (rys. 2), w każdym przypadku przekroczyła poziom $6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, który Maupetit i in. (1993) wskazują jako górną granicę stężenia ergosterolu charakteryzującego nasiona rzepaku o dobrej jakości. Jednocześnie należy zaznaczyć, iż według Schnürera i Janssona (1992) maksymalne stężenie ergosterolu, które może występować w ziarnie zbóż przeznaczonym do spożycia przez ludzi, nie powinno przekraczać $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Największy przyrost ergosterolu do poziomu $15,61 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ i $30,12 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ odnotowano dla nasion o wilgotności 10,5%, przechowywanych w temperaturze 25 i 30°C, dla których czas, po którym zdolność kiełkowania nasion spadła poniżej 75%, był najdłuższy i wynosił odpowiednio 108 i 78 dni. Przy czym należy zauważyć, iż wskazane przez Schnürera i Janssona (1992) graniczne stężenie ERG na poziomie $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ w nasionach o wilgotności 10,5% przechowywanych w temperaturze 25°C zostało przekroczone po 24 dniach, natomiast podczas przechowywania w temperaturze 30°C już po 12 dniach. W nasionach o wilgotności 12,5% i 15,5% podczas przechowywania w temperaturze 25°C, w których zdolność kiełkowania spadła poniżej 75%, stężenie ergosterolu wzrosło do poziomu $7,42 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ i $6,29 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. W nasionach o wilgotności 12,5 i 15,5%, przechowywanych w temperaturze 30°C, po zakończeniu doświadczenia stężenie ergosterolu było prawie dwukrotnie wyższe i wynosiło $14,01$ i $10,13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. W nasionach o wilgotności 12,5 i 15,5 % podczas przechowywania w temperaturze 25°C stężenie ergosterolu $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ zostało przekroczone po 18 dniach, natomiast w tych samych próbach przechowywanych w temperaturze 30°C już po 6 dniach.

Szczegółowa analiza otrzymanych wyników wykazała, że przyrost stężenia ergosterolu najbardziej dynamicznie przebiegał w nasionach o wilgotności 15,5% przechowywanych w temperaturze 30°C. W pierwszych 6 dniach przechowywania odnotowano 13-krotne zwiększenie stężenia ergosterolu, natomiast po 12 dniach, 20-krotne w stosunku do próby kontrolnej.

Uzyskane wyniki umożliwiły obliczenie stałych szybkości przyrostu ergosterolu k_{PE} ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{doba}^{-1}$). Stałe te zamieszczono w tabeli 1. W nasionach przechowywanych w temperaturze 30°C o wilgotności 10,5 i 12,5%, kinetyka przyrostu ergosterolu była ponad dwukrotnie większa niż podczas przechowywania w temperaturze 25°C. Dla nasion o wilgotności 15,5% stała ta podczas przechowywania w temperaturze 30°C była prawie czterokrotnie większa niż podczas przechowywania w temperaturze 25°C. Należy również zauważyć, iż stała szybkości przyrostu ergosterolu była tym większa im wyższa była wilgotność nasion. Podczas przechowywania nasion w temperaturze 25°C zwiększenie wilgotności nasion z poziomu

10,5% do 15,5% skutkowało 1,5-krotnym wzrostem k_{PE} . Dla tych samych nasion przechowywanych w temperaturze 30°C, k_{PE} wzrosło ponad trzykrotnie.



Rys. 2. Zmiany zawartości ergosterolu w rzepaku przechowywanym w temperaturze 25 i 30°C w zależności od wilgotności nasion

Fig. 2. Changes of ergosterol content in rapeseed stored at 25°C and 30°C depending on the seed moisture content

Rzepak jest rośliną oleistą o charakterystycznym składzie kwasów tłuszczowych i dużej zawartości naturalnych przeciwutleniaczy (Jackowska i in. 2006, Gawrysiak-Witulska i in. 2009a, 2012). Jest on dobrze przystosowany do polskich warunków agroklimatycznych i może być uprawiany na szeroką skalę. Bardzo istotne jest właściwe zakonserwowanie nasion rzepaku bezpośrednio po zbiorze. Podczas nieprawidłowo prowadzonej konserwacji oraz przechowywania w nasionach rzepaku zachodzą zmiany oksydacyjne, powodujące utlenianie kwasów tłuszczowych oraz natywnych związków biologicznych (Gawrysiak-Witulska i in. 2011, 2012). Nieprawidłowe przechowywanie może też powodować rozwój grzybów pleśniowych. Wzrost zanieczyszczenia nasion rzepaku grzybami pleśniowymi stwarza ryzyko skażenia rzepaku wtórnymi metabolitami tych mikroorganizmów – mykotoksynami, które wykazują toksyczne działanie w stosunku do ludzi i zwierząt (Hussein i Brasel 2001). Bardzo często do oznaczania stopnia skażenia mikrobiologicznego materiałów roślinnych wykorzystywane jest oznaczenie stężenia ERG. Badania prowadzone przez Pronyk i in. (2006) i Gawrysiak-

Witulską i in. (2008, 2009) wykazały, iż pomiar stężenia ergosterolu w ziarnie zbóż pozwala zazwyczaj na istotne skorelowanie jego wyników z obecnością grzybów pleśniowych. W przeprowadzanych badaniach przedstawiono, jak nieprawidłowe warunki przechowywania nasion rzepaku, jako surowca do produkcji oleju rzepakowego, mogą wpływać na wzrost jego skażenia mikrobiologicznego, określanego za pomocą stężenia ergosterolu.

Tabela 1. Kinetyka przyrostu ergosterolu w nasionach rzepaku przechowywanych w temperaturze 25 i 30°C w zależności od wilgotności nasion

Table 1. Kinetics of increase of ergosterol content in rapeseed stored at 25 and 30°C depending on the seed moisture content

Wilgotność Moisture content (%)	25°C		30°C	
	k _{PE}	R ²	k _{PE}	R ²
10,5	0,142	0,967	0,383	0,986
12,5	0,192	0,958	0,406	0,944
15,5	0,220	0,944	0,851	0,965

k_{PE} – stała przyrostu ergosterolu (mg·kg⁻¹·doba⁻¹)

k_{PE} – rate constant of ergosterol content increase (mg kg⁻¹ day⁻¹)

WNIOSKI

1. Dla wszystkich zastosowanych w doświadczeniu warunków przechowywania nasion rzepaku wzrost zawartości ergosterolu powyżej poziomu 6 mg·kg⁻¹ (uznawanego za graniczne stężenie ergosterolu, jakie może występować w nasionach o dobrej jakości) następował wcześniej niż obniżenie energii kiełkowania poniżej 75%.

2. Wzrost temperatury przechowywania z 25 do 30°C powodował ponad dwukrotny wzrost stałej przyrostu ergosterolu dla nasion o wilgotności 10,5 i 12,5%, natomiast prawie czterokrotny przy wilgotności 15,5%.

3. W nasionach o wilgotności 15,5% podczas przechowywania w temperaturze 25°C stała przyrostu ergosterolu była 1,5-krotnie większa niż w nasionach o wilgotności 10,5%, zaś podczas przechowywania w temperaturze 30°C ponad dwukrotnie większa.

PIŚMIENNICTWO

- ASAE Standards., 2000. Moisture relationship of plant based agricultural products. ASAE- The society for engineering in agricultural, food and biological systems, St Joseph, MI, USA, 508-524.
- Booth E.J., Gunstone F.D., 2004. Rapeseeds and rapeseed oil: agronomy, production, and trade. In: Gunstone F.D. (Eds.) Rapeseed and canola oil. Production, Processing, Properties and Uses. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 1-16.

- Gawrysiak-Witulska M, Rudzińska M., 2012. Degradation of phytosterols during near-ambient drying of rapeseeds in a thick immobile layer. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 89, 1681-1689.
- Gawrysiak-Witulska M, Siger A, Nogala-Kalucka M., 2009a Degradation of tocopherols during near-ambient rapeseed drying. *J. Food Lipid*, 16, 524-539.
- Gawrysiak-Witulska M., Siger A., Wawrzyniak J., Nogala-Kalucka M., 2011. Changes in Tocochromanol Content in Seeds of *Brassica napus L.* During Adverse Conditions of Storage. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 88, 1379-1385.
- Gawrysiak-Witulska M., Wawrzyniak J., Ryniecki A., Perkowski J., 2008. Relationship of ergosterol content and fungal contamination and assessment of technological quality of malting barley preserved in a metal silo using the near-ambient method. *J. Stored Prod. Res.*, 44, 360-365.
- Gawrysiak-Witulska M., Wawrzyniak J., Ryniecki A., Rudzińska M., Stuper K., Perkowski J., 2009. Microbiological and technological quality of rapeseed preserved using the controlled near-ambient drying. *Advances in research and technology of rapeseed oil. Monograph-part II.* Wyd. Nauk. Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, ISBN 978-83-231-2452-8, 159-171.
- Gourama H., Bullerman L.B., 1995. Detection of molds in foods and feeds: potential rapid and selective methods. *J. Food Prot.*, 58, 1389-1394.
- He X., Huai W., Tie C., Liu Y., Zhang B., 2000. Breeding of high ergosterol-producing yeast strains. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 25, 39-44.
- Hussein H. S., Brasel J. M. 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167, 101-134.
- Jackowska I, Tys J., 2006. Factors modifying fatty acid composition in rapeseed (cultivar, harvest time). *Electronic Journal of Polish Agricultural University*, 9, 4, art. 47.
- Kuś J., 2003. Prognozowane zmiany w zasiewach w świetle planowanego wzrostu powierzchni upraw roślin na cele energetyczne. *Więś Jutra*, 3, 50-52.
- Maupetit P., Gatel F., Cahagnier B., Botorel G., Charlier M., Collet B., Dauvillier P., Laffiteau J., Roux G., 1993. Quantitative estimation of fungal infestation of feedstuffs by determining ergosterol content. 44th Annual Meeting of the EAAP. 16-19 august 1993, Commission of Animal Nutrition Aarhus Denmark.
- Möllers C., 2004. Potential and future prospects for rapeseed oil. In: Gunstone F.D. (Eds.) *Rapeseed and canola oil. Production, Processing, Properties and Uses.* Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 186-212.
- Newell S.Y., 1992. Estimating fungal biomass and productivity in decomposing litter. In: Carroll GC, Wicklow DT, eds. *The fungal community. Its organization and role in the ecosystem.* 2nd edn. New York: Marcel Dekker Inc., 535-539.
- Niewiadomski H., 1993. *Technologia tłuszczów jadalnych.* WNT, Warszawa
- Perkowski, J., Wiwart, M., Buško, M., Laskowska, M., Berthiller, F., Kandler, W., Krska, R., 2007. *Fusarium* toxins and total fungal biomass indicators in naturally contaminated wheat samples from north-eastern Poland in 2003. *Food Additives and Contaminants*, 24, 1292-1298.
- Pronyk C., Abramson D., Muir W.E., White N.D.G., 2006. Correlation of total ergosterol levels in stored canola with fungal deterioration. *J. Stored Prod. Res.*, 42, 162-172.
- Schnürer J., Jansson A., 1992. Ergosterol levels and mould colony forming units in Swedish grain of food and feed grade. *Acta Agric. Scand., Sect. B., Soil and Plant Sci.*, 42, 240-245.
- Seitz L.M., Mohr H.E., Burroughs R., Sauer D.B., 1977. Ergosterol as an indicator of fungal invasion in grains. *Cereal Chem.*, 54, 1207-1217.
- Williams A.P., 1989. Methodological developments in food mycology. *J. Appl. Bacteriol. Symposium Supplement*, 61-67.

- Wiśniewska H., Buśko M., 2005. Evaluation of spring wheat resistance to Fusarium seedling blight and heat blight. *Biologia*, Bratislava, 60(3), 287-293.
- Zhao X.R., Lin Q., Brookes P.C., 2005. Does soil ergosterol concentration provide a reliable estimate of soil fungal biomass? *Soil Biol. Biochem.*, 37, 311-317.

KINETICS OF CHANGES IN ERGOSTEROL CONTENT DURING RAPESEED STORAGE

*Marzena Gawrysiak-Witulska¹, Jolanta Wawrzyniak¹, Kinga Stuper,²
Robert Rusinek³*

¹Institute of Plant Origin Food Technology, Faculty of Food Science and Nutrition

²Department of Chemistry, Poznan University of Life Sciences
ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań

³Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin
e-mail: wima@up.poznan.pl

Abstract. Ergosterol is the most important sterol produced by most fungi and it is used as a chemical indicator for the presence of colonising fungi. The aim of this study was to investigate the effect of temperature and seed moisture content on the deterioration of microbiological quality of rapeseed. In this study microbial contamination of rape seeds was assessed based on the determined ergosterol concentration. Experimental material comprised seeds of rape cv. *Californium* stored in a thermostat chamber (25±1 and 30±1°C) equipped with three hygrometers used to maintain constant relative humidity. Prior to the experiment, rape seeds were wetted to moisture contents of 10.5, 12.5 and 15.5%. Seeds were stored until their germination decreased below 75%. During storage, samples were collected for analysis at every 6 days. Analysis showed a considerable effect of seed moisture content and storage temperature on the increase in ergosterol concentration.

Keywords: rape, storage, ergosterol, microbial contamination