

A lipoxigenázok izoenzim összetételének változásai a növényekben. 10. A különböző diófajták (*Juglans regia* L.) avasodási hajlamának vizsgálata biokémiai módszerekkel

KOSÁRY JUDIT, BUJDOSÓ GÉZA, SZENTIVÁNYI PÉTER, REHUS DÓRA, EMMERT MIRJAM, FARKAS CSILLA

ÖSSZEFOGLALÁS

A különböző diófajták terméseit betakarítás után természetes és mesterséges körülmények között szárítottuk, majd a különböző dióbél minták biokémiai paramétereit és avasodási hajlamát vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy a vizsgált diófajták betakarítás után természetes körülmények között, illetve mesterséges körülmények között, emelt hőmérsékleten (35 °C) való szárítása némileg megváltoztatja ugyan a diófajták lipoxigenáz és a peroxidáz aktivitását, illetve a viselkedésüket az intenzív peroxidációs tesztben, de ez a változás nem olyan mértékű, amely a mesterséges körülmények között szárított diók gyorsabb avasodásához, azaz minőségromlásához vezetne.

Kulcsszavak: dióbél, biokémiai paraméterek, avasodás, lipoxigenáz, peroxidáz

SUMMARY

Fruits of different walnut (*Juglans regia* L.) cultivars were dried post harvest under natural and artificial conditions and then the biochemical parameters and the propensity for rancidification of different walnut kernels were studied. We found slight changes in the activity of lipoxigenase and peroxidase of walnut cultivars dried under natural circumstances and artificial conditions at elevated (35 °C) temperature and in their behaviour in the intensive peroxidation test, but these changes were not enough to cause a strong rancidity or quality deterioration in walnuts dried under artificial conditions.

Keywords: walnut, biochemical parameters, rancidification, lipoxigenase, peroxidase

ZUSAMMENFASSUNG

Früchte von verschiedenen Walnuss Arten wurden nach der Ernte unter natürlichen und künstlichen Umständen getrocknet und die biochemische Parameter und Ranzensneigung der verschiedenen

Nußkernmuster geprüft. Es wurde gefunden, dass die Trocknung bei 35 °C, beide die natürliche und auch die künstliche, die Lipoxigenase und Peroxidase Aktivität einigermaßen veränderte, aber die künstlich getrockneten Nußmuster wurden nicht schneller ranzig.

Schlüsselwörter: Nußkern, biochemische Parameter, Ranzigkeit, Lipoxigenase, Peroxidase

Bevezetés

A héjastermésű gyümölcsök két legnépszerűbb képviselője a dió (*Juglans regia* L.) és a mandula (*Prunus amygdalus*). A különböző mandulafajták és a belőlük készített marcipán vizsgálatával korábban már foglalkoztunk [1]. A diófának majdnem minden porcikáját felhasználják. Táplálkozási szempontból a dióbél a legértékesebb, amely értékes tápanyagokat, vitaminokat és ásványi anyagokat tartalmaz. Olajtartalma nagy – mintegy 50%, könnyen avasodó olaja nem csak 73% linolsavat tartalmaz, hanem linolénsav-tartalma is említésre méltó. A dióolaj, amelynek enyhe fényvédő hatása is van, a hajolajok fontos komponense. A zölddió olajos kivonatát hajerősítőnek használják. A dió csersavban és illóolajokban gazdag levelének forrázatát külsőleg lemosásra, bőrpanaszokra, a pattanásos bőr kezelésére, valamint a haj színének sötétítésére használhatják [2].

A különböző diófajták terméseit betakarítás után természetes és mesterséges körülmények között szárítottuk, majd a különböző dióbél minták biokémiai paramétereit és élelmiszeripari felhasználhatóságát tanulmányoztunk. Most az avasodási tulajdonságok vizsgálatával kapcsolatos eredményeinket mutatjuk be.

Ismert az, hogy a növényeket érintő stresszhatások (ilyenek a betakarítás és a tárolás körülményei is) sok esetben az oxigén koncentráció káros mértékű növekedésével, ennek következtében az avasodási folyamatok gyorsulásával járnak. A növényi szervezetekben több olyan enzimrendszer működik, amely képes a nem kívánatos oxigénfelesleget elreagáltatni, érthető módon ezek aktivitása stresszhatáskor jellemző módon megnőhet [3]. Az ilyen módon megnövekedett aktivitású enzimek közül a három legfontosabb a peroxidáz, a polifenol-oxidáz és a lipoxigenáz [4].

Azonban hamarosan nyilvánvalóvá vált, hogy a vizsgált diófélék polifenol-oxidáz aktivitása elhanyagolhatóan kicsiny, ezért munkánk során a vizsgált diófajták peroxidáz (POX) és lipoxigenáz (LOX) aktivitási értékeit, valamint peroxid-számmal jellemezhető avasodási hajlamát, illetve ezek antioxidánsokkal való befolyásolhatóságát tanulmányoztuk. Kutatásunkban nem csak a más, növényi eredetű élelmiszer alapanyagok lipoxigenáz összetételének tanulmányozása során szerzett korábbi tapasztalatainkat használtuk fel, hanem azokat is, amelyeket az intenzív peroxidációs teszt kidolgozása [5] során nyertünk.

Vizsgálati anyagok és módszerek

A vizsgálatok során alkalmazott vegyszerek és oldószerek SIGMA termékek voltak. A vizsgált, hazai nemesítésű diófajtákat az Érdi Gyümölcs- és Dísznövénytermesztési Kutató- Fejlesztő Kht. Érd-Elvira majori Kísérleti Telepén termesztették. A frissen szüretelt dió még 30–40% vizet tartalmazott. A természetes körülmények között szárított (száradó) diókat jól szellőztetett, nem fűtött helyiségben, többszöri átforogatással tartottuk súlyállandóságig (kb. két hét), ez az ideálisnak tekinthető 10–12% víztartalmat jelentette. A mesterséges körülmények között a diókat diószárítóban szárítottuk (35 °C hőmérsékletű levegő kb. 55–60 óra hosszat tartó befűvásával) ugyancsak 10–12% víztartalomig. Az egyes diófajták nevét a továbbiakban rövidítve használjuk (1. táblázat). A természetes körülmények között szárított diók nevéhez a „Nat”, a mesterséges körülmények között szárított diók nevéhez az „Sz” jelzést illesztettük.

1. táblázat: A vizsgált diófajták rövidítésjegyzéke

A diófajta neve	Rövidítés
Milotai 10	M 10
Milotai kései	M kései
Milotai 10 37	M 1037
Milotai bőtermő	M bőtermő
Alsószentiváni 117	A 117
Alsószentiváni kései	A kései
Bonifác	Bonifác
Tiszacsécsi 83	T 83

Az enzimaktivitási mérésekhez a különböző diófajták dióbélét megőröltük, homogenizáltuk, majd a korábbi gyakorlatnak megfelelően [1] olyan 0,05 mól trisz-acetát pufferrel (pH 8,20) extraháltuk, amely 0,38 mól szacharózt és 0,02 mól kalcium-kloridot tartalmazott (100 mg ml⁻¹). Valamennyi mérési eredményünket a szárított dió tömegére (g) vonatkoztatva adtuk meg. Bemutatott eredményeinket két parallel mintavételből és mintánként három parallel mérés átlagából számoltuk ki, az eredmények szórása $\pm 5\%$ volt

A dióminták peroxid-szám (PO-szám) meghatározásához az irodalmi előíratot [6] a korábbi tapasztalataink alapján [1] módosítottuk. A korábban általunk kidolgozott intenzív peroxidációs tesztnek [7] megfelelően a 100 mg frissen őrölt dióbél mintákat 20 ml térfogatú, nyitott üvegedényben, infralámpa alatt, 40 °C hőmérsékleten, három napig kezeltük. A mintákból a lipid-hidroperoxidokat ecetsav és diklór-etán 1:1 arányú elegyével (5 ml) 1 percig tartó dörzsöléssel, ezután 4 percig tartó rázogatással oldottuk ki, az elegyhez előbb 0,10 ml 50% töménységű kálium-jodidot, majd 5 perc rázogatás után 5 ml ionmentes vizet adtunk. A lipid-hidroperoxidok hatására keletkezett jód mennyiségét, 1% töménységű keményítő oldat indikátor jelenlétében, nátrium-tioszulfát mérőoldatos (0,05 mól) titrálassal határoztuk meg. A PO-szám a 100 g szárított dióban lévő lipid-hidroperoxidokból a kálium-jodid által felszabadított jód mennyisége grammal kifejezve [6].

A frissen készített kivonatok (100 mg ml⁻¹) LOX aktivitását és annak pH függését a legelterjedtebb irodalmi módszerrel [8], a lipid-hidroperoxidok kettős kötéseinek 234 nm hullámhossznál mért abszorbancia változásának segítségével határoztuk meg. A lipoxigenázok pH függésének vizsgálatához az alábbi puffereket használtuk: 0,05 mól trisz-acetát puffer (pH 4,5–6,1), 0,05 mól kálium-foszfát puffer (pH 6,3–7,3), 0,05 mól nátrium-borát puffer (pH 7,5–9,3). Az aktivitásmérésekhez használt vizes linolsav szubsztrát oldat linolsavat (0,008 mól), TWEEN 20 emulgeátort (0,25%) és nátrium-hidroxidot (0,01 mól) tartalmazott 0,05 mól trisz-acetát pufferben (pH 9,20). A lipoxigenázok aktivitását az alábbi összetételű reakcióelegyben határoztuk meg: linolsav szubsztrát oldat (0,025 ml), diókivonat (0,025 ml) a megfelelő pufferben (1,25 ml). Az irodalom szerint [8] az 1 ml reakcióelegyben 1 perc alatt bekövetkező egységnyi abszorbancia változás tekinthető az enzim aktivitás egységének (U). A LOX aktivitást 1 g szárított dióra vonatkoztatva adtuk meg.

A kivonatok POX aktivitását irodalmi módszerrel [9] mértük, hidrogén-donorként *o*-dianizidint alkalmaztunk. A POX aktivitásmérésének reakcióelegye a kivonaton (0,02 ml) kívül *o*-dianizidint (0,41 mól) és hidrogén-peroxidot (1,84 mól) tartalmazott 0,1 mól nátrium-acetát pufferben (pH 5,1) (1,0 ml). A reakcióelegyek abszorbancia-változását 438 nm helyett, technikai okokból 430 nm hullámhosszon mértük. Az 1 ml reakcióelegyben, 1 perc alatt elreagáló hidrogén-peroxid molekulák számát (μmol) tekintettük a peroxidáz aktivitás egységének (U), erre az *o*-dianizidin abszorpciós koefficiensének segítségével következtettünk ($\epsilon = 7,32 \text{ ml } \mu\text{mol}^{-1}$).

A vizsgálati eredmények megvitatása, értékelése

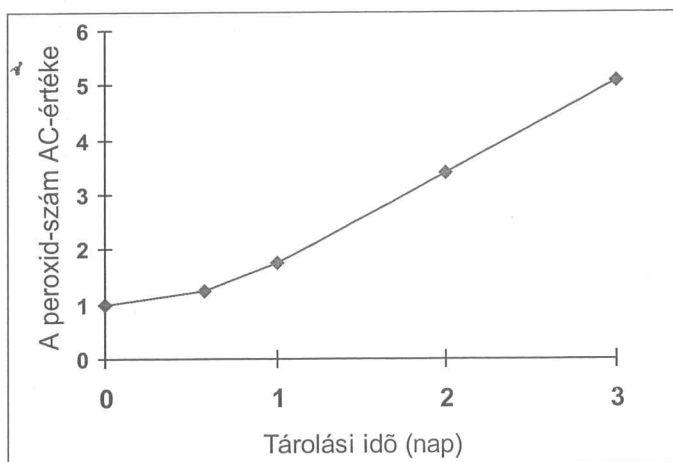
A dióbél és a dióolaj akár élelmiszeripari, akár kozmetikumokban való felhasználását illetően az egyik alapkérdés a dió mint alapanyag avasodási tulajdonságainak megismerése, mert ezek alapján törekedhetünk az avasodási hajlam mérséklésére megfelelő feldolgozási technológia segítségével és/vagy antioxidáns anyagok adagolásával.

A diófajták avasodási hajlamát korábbi gyakorlatunknak megfelelően [1] a diók lipid-peroxidációjának részletes tanulmányozásával kívántuk jellemezni. A lipid-peroxidáció vizsgálatára korábban egy olyan gyors tesztet [7] dolgoztunk ki

(intenzív peroxidációs teszt, IPT), amely infralámpa és emelt hőmérséklet (35–55 °C) alkalmazásával a vizsgált anyag és a levegő kölcsönhatását meggyorsította, lehetővé tette a kezelés és a mérés egy edényben (one-pot-system) való elvégzését, valamint amelynek segítségével a lipid-peroxidációt gyorsító, illetve lassító hatások egyaránt gyorsan és reprodukálhatóan vizsgálhatóak voltak.

Korábban, a levegő oxigénjére sokkal kevésbé érzékeny mandulabél lipid-peroxidációjának vizsgálatakor [1] elsősorban kinetikai méréseket végeztünk, mert ezek lineáris jellegből a minták avasodási hajlamára tudtunk következtetni. Ugyanis a lipid-peroxidáció kezdeti szakaszában keletkező lipid-hidroperoxidok koncentrációjának növekedése idővel csökken – jelezve, hogy meggyorsultak azok a bomlási folyamatok, amelyek nagy jelentőségűek az avasodás minőségromlító hatásának kialakulásában.

A PO-szám változásait a már korábban [7] is alkalmazott AC-értékekkel is kifejeztük, amely a mérési eredmények konkrét értékétől függetlenül jellemző a lipid-peroxidáció változására. Az AC-érték, azaz aktiválási tényező (activation coefficient) a különböző időpontokban mért peroxid-szám és a minta eredeti, a vizsgálat kezdetekor mért peroxid-számának hányadosa. A dióminták esetén az elővizsgálatok alapján megelégedtünk a kötött idejű, háromnapos vizsgálatokkal. A természetes körülmények között szárított diófajták átlagolt AC-értékeinek kinetikai vizsgálata ugyanis azt mutatta, hogy a változás három napig megközelítően lineáris (1. ábra).



1. ábra: A természetes körülmények között szárított diófajták átlagolt AC-értékeinek

(PO-szám a kezelés után/PO-szám a kezelés előtt) alakulása az intenzív peroxidációs teszt körülményei között (3 nap, 40 °C)

A különböző élelmiszeripari alapanyagok emelt hőmérsékleten való szárítása esetében általában számítani kell a lipid-peroxidációs hajlam növekedésére. Tehát a könnyen avasodó olajkomponenst tartalmazó dió esetében alaposan meg kellett vizsgálnunk, hogy a mesterséges szárítási körülmények nem növelik-e meg a dióbél avasodási hajlandóságát. Eredményeinket a 2. táblázatban foglaljuk össze, amelyben nem csak a kezelés kezdetén és végén mért PO-számokat, hanem az AC-értékeket is feltüntettük.

Az intenzív peroxidációs tesztben egyes diófajták között már a vizsgálatok előtt is voltak bizonyos eltérések, a

2. táblázat: A vizsgált diófajták PO-száma (g jódot szárított dió 100 g⁻¹) és AC-értéke (PO-szám a kezelés után/PO-szám a kezelés előtt)

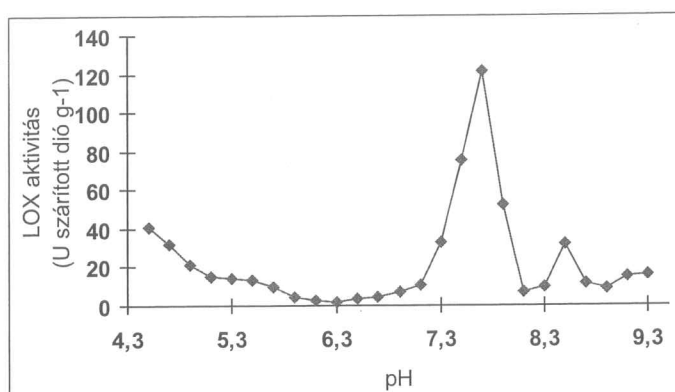
Diófajta	PO-szám a kezelés előtt	PO-szám a kezelés után (3 nap, 40 °C)	AC-érték
M 10 Nat	0,83	6,56	7,90
M 10 Sz	0,95	6,65	7,00
M kései Nat	1,02	3,26	3,20
M kései Sz	1,27	3,30	2,60
M 10 37 Nat	0,89	2,58	2,90
M 10 37 Sz	1,02	2,75	2,70
M bőtermő Nat	0,76	2,84	4,00
A 117 Nat	0,64	1,34	2,09
A 117 Sz	1,02	1,67	2,00
A kései Nat	1,14	7,64	6,70
A kései Sz	1,40	8,08	6,50
Bonifác Nat	0,76	1,67	2,20
Bonifác Sz	0,89	1,87	2,10
T 83 Nat	0,76	1,98	2,60
T 83 Sz	0,83	2,11	2,54

PO-számok 0,64 és 1,40 között változtak. A háromnapos, 40 °C hőmérsékleten elvégzett, infralámpás intenzív kezelés után a PO-számok megnövekedtek a 1,34–9,08 értékekig. Általában a természetes körülmények között szárított diók kezelés előtt mért PO-száma némileg kisebb volt, viszont a minták a kezelésre valamivel hevesebben reagáltak, mint a mesterségesen szárított egyedek. Ez az oka annak, hogy a természetesen szárított diók AC-értéke ugyan valamivel nagyobb volt, de a kezelés végén mért PO-számok általában nem különböztek jelentősen a kétféle módon szárított diók esetében. Ez azt jelenti, hogy a mesterséges körülmények között szárított diófajták esetében sem kell fokozott avasodási hajlamról tartanunk.

Megvizsgáltuk, hogy a természetes körülmények között szárított dióminták AC-értékeit mennyire csökkentik egyes, az intenzív peroxidációs teszt során alkalmazott adalékanyagok, amelyekből 20 mg mennyiséget dolgoztunk össze a 100 mg őrlött dióbéllel a kezelés előtt. A közismerten antioxidáns hatású α -tokoferol az AC-értékeket átlagosan az eredeti 30–45 százalékára csökkentette. Két, eddig kevésbé vizsgált izoflavonoid származékot is teszteltünk, a szintetikus eredetű 7-hidroxi-izoflavont, valamint a természetben is előforduló, de szintetikus is előállítható geniszteint. Ez a két vegyület kevésbé volt hatásos. A 7-hidroxi-izoflavon 70–80, a genisztein pedig 75–85 százalékára tudta az AC-értékeket csökkenteni. Ez azt jelenti, hogy a flavonoidokhoz [10] hasonlóan az izoflavonoidok is csak korlátozottan alkalmazhatók antioxidánsként.

A természetes és mesterséges szárítás dióbélre gyakorolt hatásának értékeléséhez a lipid-peroxidációban közvetlenül résztvevő enzim, a LOX aktivitására gyakorolt hatást is vizsgálnunk kellett. Ez a vizsgálat szolgáltatott ugyanis információkat arra nézve, hogy a dió lipid-peroxidációjában milyen szerepét játszanak az autooxidációs és milyent a LOX katalizálta oxidációs folyamatok. A LOX izoenzimiek a többszörösen telítetlen zsírsavak oxigén felvételét katalizálják, e reakció során lipid-hidroperoxidok keletkeznek, amelyek oxidatív degradációja vezet az avasodáshoz, a rövid szénláncú, kellemetlen szagú oxo-vegyületek keletkezéséhez [8]. Ugyanakkor oxigén jelenlétében a lipid-peroxidáció spontán módon, kémiai úton is végbemehet.

A LOX izoenzim számos tulajdonságukban, így aktivitásuk pH optimumában és aktiválhatóságukban jelentősen különbözhetnek egymástól [8]. A LOX izoenzim a LOX aktivitás pH függésének vizsgálatával különböztethetők meg, és a pH optimum szerint jelölhetők. Korábban részletesen foglalkoztunk a LOX izoenzim aktivitásának és összetételének változásaival, valamint azzal, hogy a LOX izoenzim összetétel mennyire lehet jellemző az egyes növények különböző szerveire, illetve alkalmas-e az egyes fajták megkülönböztetésére [1,3,4]. A vizsgált diófajták LOX izoenzim összetételére azonban az egységesség volt jellemző. A vizsgált diófajták LOX aktivitásának pH függését átlagolt ábrán mutatjuk be (2. ábra). Ennek alapján döntöttünk úgy, hogy a szárítás körülményeinek a LOX aktivitásra gyakorolt hatását csak három olyan pH értéken (pH 4,50, 7,70 és 8,50) vizsgáljuk, amelyeknél kiemelkedő aktivitást tapasztaltunk.



2. ábra: A természetes körülmények között szárított diófajták átlagolt LOX aktivitásának (U szárított dió g⁻¹) alakulása a pH függvényében

Valamennyi vizsgált diófajtára egységesen jellemző volt, hogy a LOX aktivitás mindhárom pH értéken kisebb értéket mutatott a mesterséges körülmények között, emelt hőmérsékleten szárított diók esetében, mint a természetes körülmények között szárított diókban. Maguk, az egyes pH értékeknél mért LOX aktivitás mennyiségek (4,06–154,13 U szárított dió g⁻¹), valamint ezek csökkenése (a természetes körülmények között szárított dióban mért LOX aktivitáshoz mint 100 százalékhoz viszonyítva, és százalékban kifejezve a LOX aktivitás 35–87%) a fajták és pH értékek szerint meglehetősen eltérő volt.

Az eredmények tendenciája egyértelműen azt mutatta, hogy a mesterséges körülmények között, emelt hőmérsékleten szárított diókban a lipid-peroxidációs teszt kezdetekor mért, a természetes körülmények között diókban mérteknél valamivel nagyobb PO-szám adatok a kémiai oxidáció erősebb érvényesülésének köszönhetők. Viszont az a tény, hogy a mesterséges körülmények között szárított diókban a három napos intenzív peroxidációs teszt után mért PO-szám nem sokkal különbözött a természetes körülmények között szárított diókéttól, csökkent LOX aktivitásuknak tulajdonítható. A mért POX aktivitás értékeknél is hasonló tendencia érvényesült (3. táblázat).

Megállapítható tehát, hogy a vizsgált diófajták betakarítás után természetes körülmények között, illetve mesterséges körülmények között, emelt hőmérsékleten történő szárítása némileg megváltoztatja ugyan a diófajták lipid-peroxidációs hajlamát, illetve LOX és POX aktivitását, de ez a változás nem

olyan mértékű, amely a mesterséges körülmények között szárított diók gyorsabb avasodásához, azaz minőségromlásához vezetne. A vizsgált diófajták részletes bemutatásával, illetve azok részletes biokémiai vizsgálatával külön közlemények foglalkoznak.

3. táblázat: A vizsgált diófajták LOX aktivitása (U szárított dió g⁻¹) különböző pH értékeken és POX aktivitása (μmol perc⁻¹ szárított dió g⁻¹)

Diófajta	LOX (pH 4,50)	LOX (pH 7,70)	LOX (pH 8,50)	POX
M 10 Nat	25,69	123,03	48,67	0,56
M 10 Sz	9,46	87,88	35,15	0,36
M kései Nat	43,26	109,51	20,28	1,10
M kései Sz	35,15	105,46	10,82	0,62
M 10 37 Nat	44,62	187,93	51,38	0,88
M 10 37 Sz	40,56	56,78	10,82	0,62
M bőtermő Nat	44,62	95,99	59,49	0,47
A 117 Nat	20,28	77,06	20,28	0,39
A 117 Sz	12,17	56,78	9,46	0,28
A kései Nat	63,54	154,13	12,17	1,47
A kései Sz	50,02	133,85	4,06	0,53
Bonifác Nat	48,67	100,05	10,82	1,33
Bonifác Sz	14,87	94,64	4,06	0,80
T 83 Nat	32,00	120,33	29,74	1,67
T 83 Sz	18,93	81,12	12,17	0,43

Köszönetnyilvánítás

Ezt a kutatást az OTKA (K63162 sz. kutatási projekt) támogatta. A különböző diófajtákat az Érdi Gyümölcs- és Dísznövénytermesztési Kutató-Fejlesztő Kht. Érd-Elvira majori Kísérleti Telepén termesztették. A szerzők köszönetet mondanak Nógrádi Mihálynak a 7-hidroxi-izoflavon és a ginsztein átadásáért.

IRODALOM

- [1] Kosáry J., Balogh T., Kiss N., Korbász M.: A lipoxigenázok izoenzim összetételének változásai a növényekben. 3. A mandula (*Prunus amygdalus*) vizsgálata biokémiai módszerekkel. *Olaj, szappan, kozmetika* 53, 11–13 2004.
- [2] Hajdú I. (szerk.): *Kozmetikai kézikönyv*. Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1994.
- [3] Kosáry J., Radva D.: A lipoxigenázok izoenzim összetételének változásai a növényekben. 6. A lipoxigenázok izoenzim összetételének változásai a növényekben. 6. A fekete ribizli (ribiszke) fajták (*Ribes nigrum* L.) lipoxigenázainak vizsgálata. *Olaj, szappan, kozmetika* 55, 12–15 2006.
- [4] Kápolna B., Radva D., Kosáry J.: A lipoxigenázok izoenzim összetételének változásai a növényekben. 7. A tártolt rezisztens almafajták (*Malus domestica* Borkh.) minőségének vizsgálata biokémiai módszerekkel. *Olaj, szappan, kozmetika* 55, 99–105 2006.
- [5] Kosáry J., Takács M., Siro I.: Intensive peroxidation test for studying lipid peroxidation. *Acta Aliment.* 31, 57–62 2002.
- [6] László R., Törley R. (szerk.): *Élelmiszer-analítika II*. Alkalmazott élelmiszer-analítika, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 340–341 1987.
- [7] Kosáry J., Takács M., Siro I.: Az olajok lipid-peroxidációjának vizsgálata intenzív peroxidációs teszttel (IPT). *Olaj, szappan, kozmetika*, 49, 49–53 2000.
- [8] Song, Y., Love, M.H., Murphy, P.: Subcellular localization of lipoxygenase-1 and -2 in germinating soybean seeds and seedlings. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67, 961–965 1990.
- [9] Björkstén, H.: Participation of horseradish oxyperoxidase (compound III) in interenzymic reaction steps. *Biochim. Biophys. Acta* 151, 309–311 1968.
- [10] Ogata, M., Hoshi, M., Shimotohno, K., Urano, S., Endo, T.: Antioxidant activity of magnolol, honokiol, and related phenolic compounds. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74, 557–562 1997.