

ارزیابی میزان کارایی لوتئولین بر پایداری روغن های زیتون و کانولا در درجه حرارت های مختلف بر اساس مکانیسم مهارکنندگی

سید محمد احمدی^۱، رضا فرهوش^{۲*}، علی شریف^۳، میترا رضایی^۴

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.
 ۲- دکتری، استاد تمام، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
 ۳- دکتری، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
 ۴- دکتری، گروه تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۹)

چکیده

تجزیه و تحلیل سنتیکی به منظور رفتار آنتی اکسیدانی لوتئولین در تری آسیل گلیسرول های زیتون و کانولا انجام شد. فرایند اکسایش در یک رژیم سنتیکی (غلظت بالای اکسیژن) در دماهای ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درجه سانتیگراد در محیط تاریک صورت گرفت. پارامترهای سنتیکی مختلف شامل فاکتور پایداری (F)، نسبت سرعت اکسایش (ORR)، فعالیت آنتی اکسیدانی (A) و میانگین سرعت مصرف بازدارنده (W_{lnH}) تعیین شدند. پایداری اکسایشی روغن های زیتون و کانولا بالوتئولین افزوده شده بهبود یافت. بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی لوتئولین در غلظت ۰/۰۲ درصد به دلیل توزیع بیشتر آن در فصل مشترک روغن-آب در روغن زیتون و دمای ۶۰ درجه سانتیگراد مشاهده گردید. همچنین با افزایش غلظت لوتئولین، سرعت اکسایش تری آسیل گلیسرول های زیتون به دلیل مشارکت بیشتر آن در واکنش های جانبی ۱۰ و ۱۱ (بترتیب $Ln^0 + LH \rightarrow LnH + L^0$ و $LnH + LOOH \rightarrow products$ در دمای مذکور به طور معنی داری افزایش یافت. مقادیر ثابت سرعت مصرف آنتی اکسیدان در واکنش های جانبی (K_{eff}) و میانگین سرعت آغاز زنجیره واکنش های رادیکالی (W_i/f) آشکار کرد لوتئولین با درجه مشارکت بالاتری در واکنش های آغازین و انتشار زنجیری اکسایش روغن کانولا شرکت می کند. در کل با افزایش دما، فعالیت لوتئولین در تری آسیل گلیسرول های زیتون و کانولا به ترتیب افزایش و کاهش نشان داد. این رفتار به تغییر در مکانیسم مهارکنندگی با غلبه واکنش های ۷ ($LOO + lnH \rightarrow LOOH + ln^0$) و ۸ و ۹ ($Ln^0 + Ln^0 \rightarrow product$) در روغن زیتون و واکنش های جانبی پرواکسیدانی در روغن کانولا مرتبط بود.

کلید واژگان: فعالیت آنتی اکسیدانی، لوتئولین، مکانیسم مهارکنندگی

۱- مقدمه

اکسایش لیپیدی به عنوان یکی از عوامل اصلی تنزل کیفیت و کاهش عمر ماندگاری مواد غذایی طبیعی و فرآوری شده مطرح می باشد، به طوری که در این خصوص همیشه از بعد اقتصادی یک نگرانی بزرگ در صنعت مواد غذایی وجود داشته است. همچنین مواردی نظیر تولید ترکیبات سمی و محدودیت در کاربرد اسیدهای چرب چند غیراشباع مفید که از ناپایداری اکسایشی بالایی برخوردارند از چالش هایی است که به دلیل اکسایش لیپیدی وجود دارد [۱].

افزودن آنتی اکسیدان ها به عنوان یکی از موثرترین روشهای به تأخیر انداختن اکسایش لیپیدی همواره مد نظر بوده است [۲]. به همین دلیل با توجه به پتانسیل آنتی اکسیدانی قوی فلاونوئیدها [۳ و ۴]، علاقه فزاینده ای در سالهای اخیر وجود داشته است تا این ترکیبات طبیعی بالقوه با انواع سنتزی جایگزین شود که در مورد آنها این تردید وجود دارد که در ایجاد و یا توسعه اثرات سوء سلامتی نظیر سرطان نقش دارند [۵، ۶ و ۷].

لوتولین (۳، ۴، ۵، ۷ تراهایدروکسی فلاون) (شکل ۱) از جمله شناخته شده ترین ترکیبات فلاونوئیدی با گسترش زیاد در سلسله گیاهی نظیر هویج، فلفل، روغن زیتون، نعنای، کرفس، نعنای، رزماری، شکلات، چای، شلغم، کاهو، آویشن، چغندر، بروکلی و اسفناج است. فعالیت آنتی اکسیدانی لوتولین در شرایط درون و برون تنی به اثبات رسیده است [۸ و ۹]. فعالیت آنتی اکسیدانی لوتولیناصولاً به ساختار ۳ و ۴ دی هیدروکسی (گروه کاتکول) در حلقه فنلی B به عنوان فعال ترین جزء در مولکول های فلاونوئیدی نسبت داده می شود. همچنین پیوند دوگانه ۲، ۳ در کونژوگاسیون با گروه ۴ اسو یعنی جزء ۱ و ۴ پیرون بر حلقه C لوتولین مورد توجه هستند تا در قدرت آنتی اکسیدانی موثر باشند زیرا تغییر مکان الکترون جفت نشده بین حلقه های A، B و C را میسر می کنند که به تشکیل رادیکال فنوکسیل پایدارتر منجر می شود [۱۰ و ۴].

مطالعات محدودی در خصوص بررسی اثر آنتی اکسیدانی لوتولین بر پایداری روغن ها منتشر شده است. آی لی و چانگ های (۲۰۰۶) اثر لوتولین را بر روغن آسیدیان ۱ به روش رنسیمت بررسی کردند. روغن آسیدیان به دلیل حضور

اسیدهای چرب چند غیراشباعی EPA 2 و DHA3 دارای حساسیت بالایی به اکسایش لیپیدی است. نتایج تحقیق شان نشان داد لوتولین قویتر از آلفاتوکوفرول عمل می نماید [۱۱]. نتایج مطالعه دیگری که با روش مشابه در روغن لارد انجام شده، نشان داده است که لوتولین از فعالیت آنتی اکسیدانی بمراتب کمتری در مقایسه با کوئرتستین برخوردار است (به ترتیب ۴/۲۴ در مقابل ۱۱/۵۰ ساعت) [۱۲].

تعیین خصوصیات کاربردی ترکیبات فنلی طبیعی نظیر لوتولین از اهمیت بالایی برخوردار می باشد چراکه درک بهتر از خصوصیات این گونه مهارکننده های رادیکال های آزاد طبیعی می تواند منجر به توسعه افزودنی های غذایی شود که هم قادرند از فساد اکسایشی مواد غذایی جلوگیری کنند و هم نقشی مفید در سلامتی ایفا نمایند [۱۳]. همچنین با توجه به تعداد کم آنتی اکسیدان های معرفی شده برای صنعت مواد غذایی در دهه های اخیر و بعلاوه قیمت بالای آنتی اکسیدان های طبیعی، لزوم ارتقاء کارایی ترکیبات آنتی اکسیدانی در جلوگیری از اکسایش لیپیدی وجود دارد. در واقع برای اینکه حداکثر بازده آنتی اکسیدانی به دست آید باید مکانیسم های اکسایش لیپیدی شناخته شود [۱].

مطالعات نشان داده است آنتی اکسیدان های فنلی نظیر کوئرتستین، مورین، تیمول و کارواکرول بسته به سوبسترای لیپیدی، قطبیت و غلظت مولکول آنتی اکسیدان و درجه حرارت رفتار آنتی اکسیدانی مختلفی از خود بروز می دهند [۱۴]. در واقع، افزودن یک آنتی اکسیدان به سیستم لیپیدی ممکن است به تغییر سینتیک واکنش های اکسایشی و در نتیجه تغییر مکانیسم آن منجر شود [۱۵ و ۱۶]. از اینرو، با توجه به اینکه مطالعه ای در خصوص سینتیک و مکانیسم مهارکنندگی لوتولین در سیستم های لیپیدی صورت نگرفته است هدف از مطالعه حاضر ارزیابی سینتیکی لوتولین در روغن های زیتون و کانولا در دماهای مختلف می باشد که علاوه بر تعیین خصوصیات عملکردی این آنتی اکسیدان، زمینه کاربرد این آنتی اکسیدان ارزشمند را در سیستم های روغنی بهتر مشخص می نماید.

آون با دماهای ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درجه سانتیگراد در معرض اکسایش قرار گرفتند. پیشرفت اکسیداسیون نمونه ها با اندازه گیری عدد پراکسید پیگیری شد [۱۴]. به منظور محاسبه دوره ی القاء، نمودار میزان عدد پراکسید در مقابل زمان در بازه های زمانی مختلف رسم می شود. محل تقاطع دو خط مماس بر مراحل آغازین و انتشار، نقطه ای است که طول و عرض آن به ترتیب دوره القاء و عدد پراکسید در آن نقطه می باشند (شکل ۲) [۱۷].

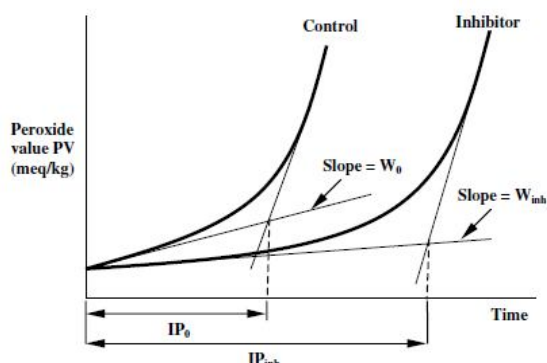


Fig 2 A schematic kinetic curve of peroxide accumulating during oxidation of TGOO and TGCO, and the kinetic values which can be derived from it.

۲-۳- اندازه گیری عدد پراکسید

لایه ای به ضخامت یک میلی متر از نمونه های روغنی در پلیتی به قطر ۵ سانتیمتر تهیه گردید. فرایند اکسایش با برداشت نمونه ها (۰/۰۱ تا ۰/۳ گرم) در فواصل زمانی مشخص پایش شد و مقدار پراکسید نمونه ها با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-VIS در ۵۰۰ نانومتر اندازه گیری گردید. نمونه های روغن در کلروفرم-متانول (۳:۷) به مدت ۲ تا ۴ ثانیه ورتکس شدند. پس از آن تیوسیانات آمونیوم و ۵۰ میلی لیتر کلرید آهن ۲ به ترتیب اضافه گردیدند و بعد از افزودن هر کدام نمونه ها به مدت ۲ تا ۴ ثانیه ورتکس شدند. سپس جذب نمونه ها بعد از ۵ دقیقه گرمخانه گذاری در دمای اتاق اندازه گیری شد. نتایج به صورت میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم روغن گزارش شد [۱۷ و ۱۴].

۲-۴- ارزیابی سستیکی مکانیسم مهارکنندگی

اثر آنتی اکسیدان ها (InH) بر اکسایش نمونه های مورد آزمایش بر پایه پارامترهای سیتیکی که اکسایش لیپیدها را در طول مراحل اولیه مشخص می کنند، قابل اندازه گیری است. این پارامترها عبارتند از فاکتور تثبیت F، نسبت سرعت

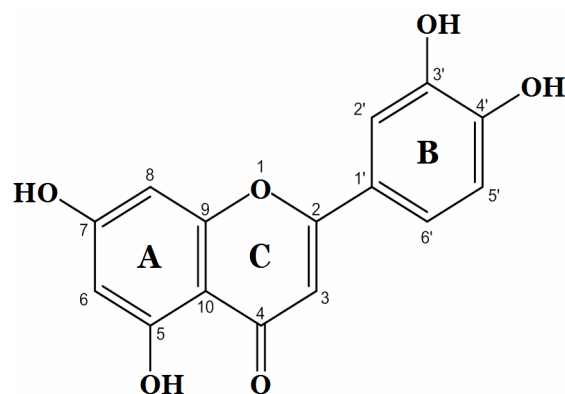


Fig 1 Molecular structure of luteolin [2-(3,4-Dihydroxyphenyl)- 5,7-dihydroxy-4-chromenone]

۲- مواد و روش ها

کلیه مواد شیمیایی و حلال های مورد استفاده با درجه آنالیتیکال و خلوص بالا از شرکت های مرک، سیگما و شارلو خریداری شد. نمونه های روغن زیتون و کانولا از شرکت های داخلی تهیه شد.

۲-۱- تخلیص روغن های زیتون و کانولا

به منظور حذف آنتی اکسیدان های طبیعی، روغن های زیتون و کانولا به روش کروماتوگرافی ستونی تخلیص گردیدند. بدین صورت که انتهای ستون شیشه ای کروماتوگرافی با قطر داخلی ۳/۵ سانتیمتر و طول ۶۰ سانتی متر به ارلن بوخنر متصل شد. ۸۰ گرم آلومینا (نوع ۱ فعال خشی) که در دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ ساعت فعال شده بود به طور یکنواخت داخل ستون ریخته شد. روی لایه مذکور، ۱۰ گرم سیلیکاژل که مشابه آلومینا فعال شده بود، قرار داده شد. مقدار ۱۲۰ گرم از نمونه های روغن به آرامی بر روی ستون آلومینا و سیلیکاژل منتقل گردید و با برقراری خلأ نمونه های روغن از ستون عبور داده شدند. این عمل ۲ بار تکرار شد تا کلیه آنتی اکسیدان های نمونه روغن جدا گردد [۱۷]. برای اطمینان از صحت فرایند تخلیص میزان ترکیبات توکوفرولی، فنل و عدد پراکسید روغن های تخلیص شده اندازه گیری شد.

۲-۲- آماده سازی نمونه های روغن و محاسبه

دوره القاء

محلول حاوی لوتولین (۰/۰۱ تا ۰/۰۸ درصد) در استون خالص تهیه و به نمونه های روغن زیتون و کانولا اضافه شد. سپس حلال تحت فشار گاز نیتروژن حذف گردید. پس از آن نمونه های روغن حاوی غلظت های مختلف آنتی اکسیدان در

$$W_{InH} = \frac{[InH]_0}{IP_{inh}} \quad (5-2)$$

چنانچه این رابطه وابسته به غلظت نباشد ($n = 0$)، مولکول هایبازدارنده در واکنش هایجانبیشرکت نمی کنند. وجود رابطه خطی ($n = 1$) دلیل بر شرکت آنتی اکسیدان ها در یکی از واکنش های جانبی ۱۱ و ۱۲ است. رابطه خطی در $n = 2$ دال بر شرکت مولکول های آنتی اکسیدان در هر دو واکنش ۱۱ و ۱۲ است. اگر رادیکال آنتی اکسیدان در واکنش های مرحله انتشار شرکت نکند، تابعیت ۲-۶ صادق خواهد بود. تابعیت ۲-۷ دال بر شرکت رادیکال آنتی اکسیدان در یکی از واکنش های جانبی ۷-، ۱۰ و ۱۴ است. اگر هیچکدام از دو تابعیت صادق نباشد، رادیکال های آنتی اکسیدان در بیشتر از یک واکنش مرحله انتشار شرکت خواهند داشت [۲، ۱۴ و ۱۸].

$$W_{inh} \sim [InH]^{-1} \quad (6-2)$$

$$W_{inh} \sim [InH]^{-0.5} \quad (7-2)$$

۵-۲- طراحی آماری

همه اندازه گیری ها در ۳ تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده ها برای صفات اندازه گیری شده بر اساس طرح های کاملاً تصادفی انجام شد. میانگین صفات کمی با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد مقایسه شدند. تجزیه های آماری با استفاده از نرم افزارهای SAS و Mstatc و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید [۱۷، ۱۹ و ۲۰].

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تعیین مکانیسم مهارکنندگی^۵ لوتئولین در

روغن های زیتون و کانولا در دماهای مختلف

مکانیسم واکنش های اکسایش لوتئولین در روغن های زیتون و کانولا در دماهای ۶۰ تا ۱۰۰ درجه سانتیگراد در جدول ۱ ارائه شده است. همان طور که در شکل ۴ می توان مشاهده کرد، وابستگی فاکتور پایداری^۶ و غلظت لوتئولین در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و روغن زیتون غیرخطی بود. این بدین

اکسایش ORR، فعالیت A و میانگین سرعت مصرف آنتی اکسیدان^۴ W_{InH} که نحوه محاسبه آنها در پائین ذکر شده است [۲ و ۱۴].

$$F = \frac{IP_{inh}}{IP_0} \quad (1-2)$$

که IP_{inh} و IP_0 به ترتیب عبارت از دوره های القای اکسایش بازدارنده و بازدارنده نشده می باشند.

$$ORR = \frac{W_{inh}}{W_0} \quad (2-2)$$

که W_0 و W_{inh} به ترتیب عبارت از سرعت اکسایش بازدارنده و بازدارنده نشده می باشند.

$$A = \frac{F}{ORR} \quad (3-2)$$

مکانیسم عمل لوتئولین بر اساس شرکت مولکول های آن (InH) و رادیکال های تشکیل شده از آن ($In^\bullet$) در یک سری واکنش های اکسایشی بازدارنده شده ذیل تعیین می شود..

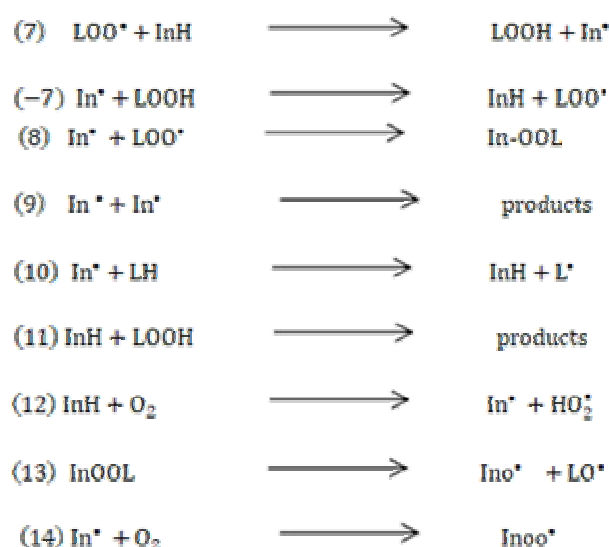


Fig 3 Inhibited autoxidation.

عدم خطی بودن وابستگی F به غلظت آنتی اکسیدانی به واسطه شرکت مولکول های آنتی اکسیدان یا بازدارنده در واکنش های دیگر غیر از واکنش اصلی ۷ یعنی واکنش های آغازین ۱۱ و ۱۲ می باشد. رابطه بین میانگین سرعت مصرف بازدارنده W_{InH} و غلظت بازدارنده $[InH]$ برای تعیین نوع واکنش های آغازین آنتی اکسیدان مورد استفاده قرار می گیرد [۲ و ۱۴].

$$W_{InH} = \frac{W_i}{f} + K_{eff}[InH]^n \quad (4-2)$$

5. Mechanism of inhibitory action
6. Stabilization factor (F)

4. Mean rate of inhibitor consumption (W_{InH})

فاکتور پایداری و غلظت لوتولین رابطه خطی بود (شکل ۴) که نشان می‌داد دما نقش مهمی بر تغییر مکانیسم مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان دارد؛ به طوریکه با افزایش دما مکانیسم مهارکنندگی لوتولین به مشارکت غالب در واکنش اصلی ۷ و عدم شرکت در واکنش‌های آغازین ۱۱ یا ۱۲ تغییر کرد. همچنین وجود رابطه خطی بین سرعت اکسایش و غلظت به توان $0.5-1$ (شکل ۶) حاکی از آن بود که لوتولین در این دما فقط قادر به شرکت در واکنش ۱۰ می‌باشد (جدول ۱). در این دما واکنش‌های مهارکنندگی لوتولین در روغن کانولا با روغن زیتون مشابهت داشت.

با افزایش دمای اکسایش روغن زیتون از ۸۰ به ۱۰۰ درجه سانتیگراد، واکنش غالب اکسایش بازدارنده به وسیله لوتولین تنها واکنش ۷ نبود (شکل ۴) و وجود رابطه خطی بین میانگین سرعت مصرف آنتی‌اکسیدان و غلظت در $n=1$ (شکل ۵) به معنای مشارکت غالب لوتولین در واکنش ۱۱ بود.

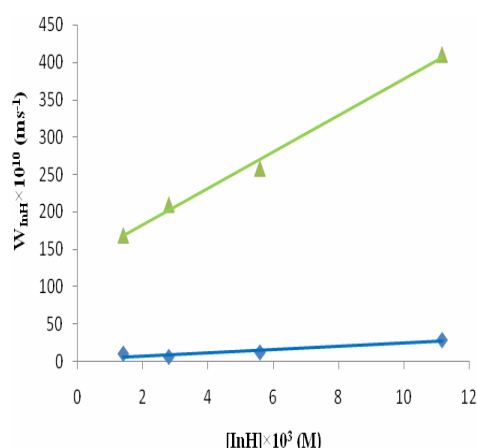


Fig 5 Dependence of the mean rate of consumption W_{inH} and concentration of luteolin $[InH]$ during oxidation of TGSO at 60 and 100 °C.

رابطه بین سرعت اکسایش در مقابل غلظت آشکار کرد رادیکال‌های لوتولین در بیش از یک واکنش مرحله انتشار یعنی ۷-، ۱۰ و ۱۴ در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد مشارکت دارند. در سیستم روغنی کانولا و دمای مزبور، رابطه بین فاکتور پایداری و غلظت لوتولین خطی بود (شکل ۴). عدم رابطه خطی بین سرعت اکسایش در مقابل غلظت بر اساس معادله ۲-۷ و ۲-۷ دلالت بر شرکت رادیکال‌های لوتولین در بیش از یک واکنش مرحله انتشار یعنی ۷-، ۱۰ و ۱۴ داشت.

معناست که لوتولین در بیش از یک واکنش زنجیره‌ای رادیکالی یعنی واکنش اصلی ۷ شرکت می‌کند. وجود رابطه خطی بین میانگین سرعت مصرف آنتی‌اکسیدان و غلظت در $n=1$ (شکل ۵) نیز حاکی از شرکت مولکول‌های لوتولین در یکی از واکنش‌های ۱۱ یا ۱۲ بود. مطالعات نشان داده است در این حالت واکنش غالب واکنش ۱۱ است زیرا واکنش مذکور تابع واکنش پذیری هیدروپراکسیدهاست [۱۴]. عدم وجود رابطه خطی بین سرعت اکسایش بازدارنده^۷ و غلظت بر اساس معادلات ۲-۶ و ۲-۷ (شکل ۶) نیز دلالت بر شرکت رادیکال‌های لوتولین در بیش از یک واکنش مرحله انتشار^۸ یعنی ۷-، ۱۰ و ۱۴ در این دما داشت.

همانند روغن زیتون رابطه بین فاکتور پایداری و غلظت لوتولین (شکل ۴) در روغن کانولا غیرخطی بود. در صورتیکه وجود رابطه خطی بین میانگین سرعت مصرف آنتی‌اکسیدان و غلظت در $n=2$ (شکل ۷)، شرکت لوتولین را در هر دو واکنش ۱۱ و ۱۲ اثبات کرد.

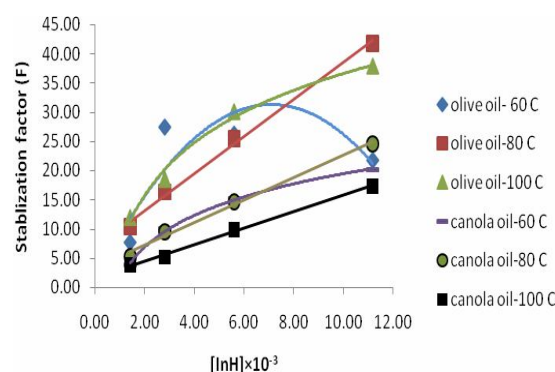


Fig 4 Concentration dependence of the stabilization factor, parameter F , of luteolin at various temperatures (60-100)°C in TGGO and TGCO.

روابط بین سرعت اکسایش و غلظت آنتی‌اکسیدان بر اساس معادله ۲-۷ و ۲-۷ آشکار کرد رادیکال‌های لوتولین فقط در یک واکنش مرحله انتشار یعنی واکنش ۱۰ شرکت دارند (شکل ۶) همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود با افزایش ۶). همان‌سیرناشدگی سیستم لیپیدی تعداد واکنش‌های آغازینی که مولکول‌های لوتولین در آن شرکت دارد، افزایش یافته است. برخلاف دمای ۶۰ درجه سانتیگراد، در دمای ۸۰، رابطه بین

7. The rate of inhibited oxidation (W_{inH})
8. Propagation phase

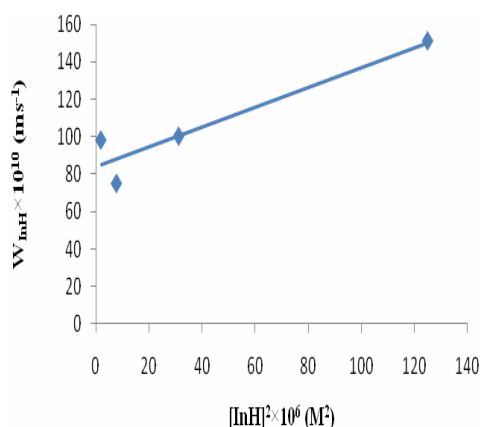


Fig 7 Dependence of the mean rate of consumption W_{inh} and concentration of luteolin $[InH]^2$ during oxidation of TGCO at 60 C.

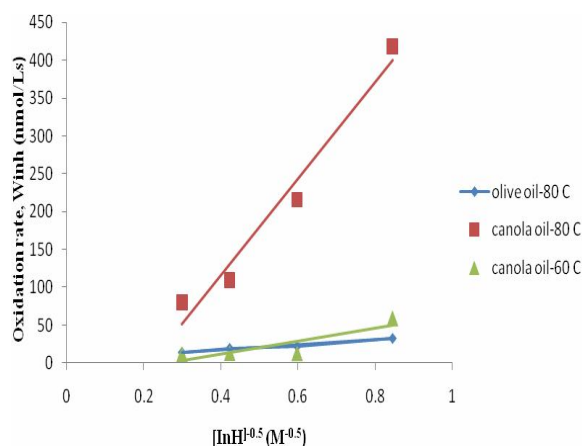


Fig 6 Concentration dependence of the oxidation rate, W_{inh} , of luteolin at various temperatures (60–100°C) in TGOO and TGCO.

۳-۲- اثر مکانیسم مهارکنندگی بر فعالیت

آنتی اکسیدانی در روغن های زیتون و کانولا

نتایج نشان داد (جدول ۲ و شکل ۸) لوتولین از فعالیت آنتی-اکسیدانی (A) معنی دار بالاتری در تری آسیل گلیسرول های روغن زیتون برخوردار است. فعالیت بالاتر این آنتی اکسیداندر روغن زیتون در مقایسه با روغن کانولا در اصل به واسطه مقادیر مطلوب تر F و ORR (به ترتیب فاکتورهای پایداری سازی و مقاومت) بود. فاکتور پایداری سازی عملکرد بهتر مولکول های آنتی اکسیدان (AH) را در احیای رادیکال های هیدروپراکسید لیپیدی ($LOO^\bullet$) از طریق واکنش پایانی زنجیری مشخص می کند (واکنش ۷، شکل ۳). مقادیر ORR کمتر به معنی شرکت کمتر مولکول های آنتی اکسیدان و رادیکال هایش در واکنش های آغازین و انتشار جانبی می-باشد [۳].

در روغن زیتون و دمای ۶۰ درجه سانتیگراد (جدول ۲ و شکل ۸) روند فعالیت آنتی اکسیدانی لوتولین وابسته به غلظت آن بود، به طوری که بر عکس دماهای دیگر فعالیتش تا غلظت ۰/۰۲ درصد افزایش و به ۱۵۲۱/۱۵ رسید و سپس کاهش یافت. نتایج مشابه برای آنتی اکسیدان تیمول^۹ در طول دوره اکسایش روغن آفتابگردان و دمای ۲۲ درجه سانتیگراد گزارش شده است [۱۴].

اثبات شده است علاوه بر پتانسیل ذاتی آنتی اکسیدان ها برای انتقال الکترون/هیدروژن، پدیده های سطحی و توزیع آنتی اکسیدان ها در محیط واکنش، نقشی بسیار موثر در بروز فعالیت آنتی اکسیدانی شان دارد [۵ و ۱۰]. گزارش شده است که در غلظت های پائین اثر محلولیت ترکیبات غیرقطبی در روغن بر پدیده های بین سطحی غالب است. به عبارت دیگر، توزیع آنتی اکسیدانی درون فصل مشترک های (کلوئیدهای مجتمع^{۱۰}) متعددی که در روغن وجود دارد زمانی شروع می شود که غلظت ترکیب آنتی اکسیدانی به حد خاصی برسد [۱۵]. دلیل فعالیت بالاتر لوتولین در غلظت ۰/۰۲ درصد ممکن است به این موضوع مرتبط باشد. بنابراین انتظار می رود لوتولین با چربی دوستی بالا ($1/V = \log P$ ، آزمون مذکور نشان داده نشد) در غلظت مذکور با توزیع بیشتر در فصل مشترک روغن-آب^{۱۱} به طور موثرتری در مقایسه با روغن کانولا با هیدروپراکسیدهای کمتر قطبی که در روغن زیتون تشکیل شده اند، ترکیب شود.

پارامترهای F و ORR در جدول ۲ نشان می دهد لوتولین در غلظت فوق به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقادیر می باشد و مقدار میانگین سرعت مصرف آن نیز در پائین ترین مقدار قرار دارد. می توان نتیجه گرفت در این غلظت لوتولین بالاترین مشارکت را در واکنش پایانی اصلی ۷ و کمترین میزان را در واکنش های جانبی دارد.

10. Association colloids
11. oil-water interface

9. Thymol

وارد واکنش‌های جانبی شده است [۲۳]. مقایسه مکانیسم لوتئولین در روغن زیتون و کانولا (جدول ۱) نشان می‌دهد با افزایش سیرناشدگی سوپسترای لیپیدی نه تنها تعداد واکنش‌های جانبی لوتئولین بیشتر شده بلکه طبق مقادیر شاخص‌های W_i/f و K_{eff} که به ترتیب ثابت سرعت مصرف لوتئولین در واکنش‌های جانبی بازدارنده زنجیری و سرعت میانگین آغاز شدن هستند (جدول ۳) همزمان با افزایش معنی‌دار میانگین سرعت مصرف آنتی‌اکسیدان (جدول ۲) سرعت مشارکت لوتئولین در واکنش‌های جانبی افزایش یافته است.

بعلاوه باید متذکر شد سازگاری کمتر بین هیدروپراکسیدهای لیپیدی قطبی‌تر روغن کانولا و مولکول‌های لوتئولین، جذب هیدروپراکسیدهای لیپیدی را در فصل مشترک آب-روغن در وضعیتی کمتر انباشته شده مساعد می‌کند؛ به طوری که در دمای مزبور فعالیت آنتی‌اکسیدانی لوتئولین در روغن کانولا بطور معنی‌داری کمتر از روغن زیتون است [۲۳ و ۲۱].

اثر دما بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی لوتئولین بسته به نوع سوپسترای لیپیدی متفاوت بود به طوری که در روغن زیتون با افزایش دما از ۶۰ به ۱۰۰ درجه سانتیگراد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در کل افزایش یافت در حالی که در روغن کانولا روندی معکوس مشاهده گردید (شکل ۸ و جدول ۲).

همان‌طور که در اشکال ۹ و ۱۰ نشان داده شده است، در روغن زیتون مقادیر F و ORR با افزایش دما به ترتیب افزایشی و کاهشی بود. یعنی انتظار می‌رود با افزایش دما مشارکت رادیکال‌های لوتئولین در واکنش‌های ۸ و ۹ افزایش یابد. به عبارت دیگر، افزایش دما با تغییر مطلوب مکانیسم واکنش‌های بازدارندگی سبب افزایش کارایی آنتی‌اکسیدان‌ها در دماهای بالا در روغن زیتون شده است [۲۴ و ۲۵].

بعلاوه، واکنش‌های مذکور از ثابت سرعت بالایی برخوردار بودند؛ به عنوان مثال در سیستم لیپیدی بازدارنده به وسیله توکوفرول، ثابت سرعت بالا ($10^4 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$) برای واکنش‌های مذکور گزارش شده است [۱۴].

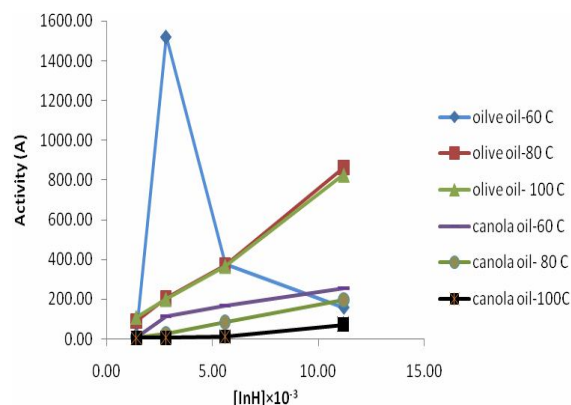


Fig 8 Concentration dependence of the antioxidant activity, parameter A, of Luteolin at various temperatures (60–100 °C) in TGOO and TGO.

با افزایش غلظت لوتئولین از ۰/۰۲ به ۰/۰۸ درصد از میزان فعالیت این آنتی‌اکسیدان کاسته شد، به طوری که با افزایش غلظت آن به ۰/۰۴ درصد، فعالیت آن به ۳۷۳ رسید. مقادیر شاخص‌های F و ORR مربوط به لوتئولین در روغن زیتون (جدول ۲) نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین پارامتر F لوتئولین در غلظت ۰/۰۲ و ۰/۰۴ درصد آن وجود ندارد اما پارامترهای ORR غلظت ۰/۰۴ درصد به طور معنی‌داری افزایش یافته است.

این به همراه افزایش معنی‌دار میانگین سرعت مصرف لوتئولین نشان دهنده آن است که مشارکت لوتئولین در واکنش‌های جانبی ۱۱ و ۱۰ افزایش یافته است. به طوری که با افزایش غلظت به ۰/۰۸ درصد میزان فعالیت آن به بیش از ۹ برابر کاهش یافت. در واقع برای هر آنتی‌اکسیدان، غلظتی بهینه^{۱۲} به منظور حداکثر پایداری سوپسترای لیپیدی وجود دارد که بالای آن، آنتی‌اکسیدان ممکن است دچار افت کارایی شود. این افت کارایی^{۱۳} به مشارکت خود آنتی‌اکسیدان و رادیکال‌های آن در واکنش‌های پرواکسیدانی نسبت داده شده است [۱۰].

همان‌طور که در جدول ۲ قابل مشاهده است مقادیر F و ORR لوتئولین در روغن کانولا به طور معنی‌داری به ترتیب کاهش و افزایش نشان داد که می‌توان نتیجه گرفت لوتئولین در روغن کانولا با کاهش مشارکت در واکنش پایانی اصلی (واکنش ۷) به دلیل عدم سازگاری با هیدروپراکسیدهای کانولا

12. Optimum concentration

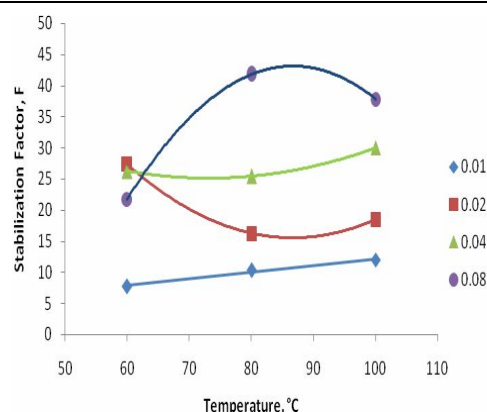
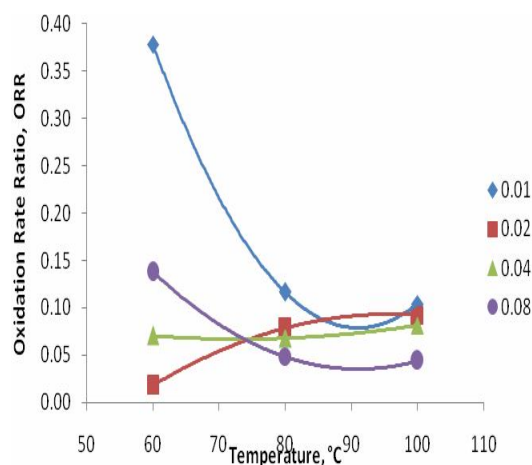
13. Loss of efficacy

Table 1 Inhibitory mechanism of olive and canola oils inhibited by luteolin at different temperatures

Oil	Temperature of inhibited oxidation		
	60°C	80°C	100°C
olive	$7) ROO^* + InH \rightarrow ROOH + In^*$ $11) InH + ROOH \rightarrow In^* + RO^* + H_2O$ $-7) In^* + ROOH \rightarrow InH + ROO^*$ $10) In^* + RH \rightarrow InH + R^*$ $14) In^* + O_2 \rightarrow InOO^*$	$7) ROO^* + InH \rightarrow ROOH + In^*$ $10) In^* + RH \rightarrow InH + R^*$ $(8) In^* + LOO^* \rightarrow In-OOL$ $(9) In^* + In^* \rightarrow products$	$7) ROO^* + InH \rightarrow ROOH + In^*$ $11) InH + ROOH \rightarrow In^* + RO^* + H_2O$ $-7) In^* + ROOH \rightarrow InH + ROO^*$ $10) In^* + RH \rightarrow InH + R^*$ $14) In^* + O_2 \rightarrow InOO^*$ $(8) In^* + LOO^* \rightarrow In-OOL$ $(9) In^* + In^* \rightarrow products$
	$7) ROO^* + InH \rightarrow ROOH + In^*$ $11) InH + ROOH \rightarrow In^* + RO^* + H_2O$ $12) InH + O_2 \rightarrow In^* + HOO^*$ $10) In^* + RH \rightarrow InH + R^*$	$7) ROO^* + InH \rightarrow ROOH + In^*$ $10) In^* + RH \rightarrow InH + R^*$	$7) ROO^* + InH \rightarrow ROOH + In^*$ $-7) In^* + ROOH \rightarrow InH + ROO^*$ $10) In^* + RH \rightarrow InH + R^*$ $14) In^* + O_2 \rightarrow InOO^*$

در روغن زیتون اختلاف معنی داری در فعالیت آنتی اکسیدانی لوتئولین در دمای ۸۰ و ۱۰۰ درجه سانتیگراد مشاهده نشد اما این فعالیت در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد کمی بیشتر بود. با توجه به نتایج جدول ۲ و مکانیسم مهارکنندگی لوتئولین در این دما (جدول ۱) این امر ممکن است به مشارکت کمتر رادیکال-های لوتئولین در واکنش های جانبی نسبت داده شود. عدم مشاهده حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانی لوتئولین در غلظت ۰/۰۲ درصد در دماهای بالاتر (۸۰ و ۱۰۰ درجه سانتیگراد) ممکن است به تلاشی شدن اجسام میسلی در روغن زیتون نسبت داده شود.

روند تأثیر دما بر فعالیت در روغن کانولا عکس روغن زیتون بود، به طوری که کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی لوتئولین در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد مشاهده شد. منحنی های F و ORR لوتئولین (به ترتیب اشکال ۱۱ و ۱۲) در روغن کانولا نشان می دهد با افزایش دما از ۶۰ به ۱۰۰ درجه سانتیگراد مقدار شاخص های مذکور به ترتیب کاهش و افزایشی است. این حاکی از مشارکت بیشتر لوتئولین در واکنش های جانبی در دماهای بالاست. علاوه بر این، نتایج سینتیکی (جدول ۲) نشان داد با افزایش دما اختلاف کارایی لوتئولین در دو سیستم لیپیدی زیاد است به طوری که با افزایش دما، فعالیت (A) و میانگین سرعت مصرف لوتئولین به طور فاحشی در روغن کانولا به ترتیب کاهش و افزایش پیدا کرد. دلیل آن ممکن است ناپایداری روغن کانولا باشد. در واقع به دلیل هیدروپراکسیدهای قطبی زیاد و عدم ناسازگاری لوتئولین با آنها، کاهش شدید در مقادیر F و افزایش بمراتب بیشتر در ORR مشاهده شد و میزان مشارکت رادیکال های لوتئولین در واکنش های انتشار افزایش یافت.

**Fig 9** Temperature dependence (60–100 °C) of the stabilization factor, parameter F, of luteolin in various concentrations in TGOO.**Fig 10** Temperature dependence (60–100 °C) of the oxidation rate ratio ORR, of luteolin in various concentrations in TGOO.

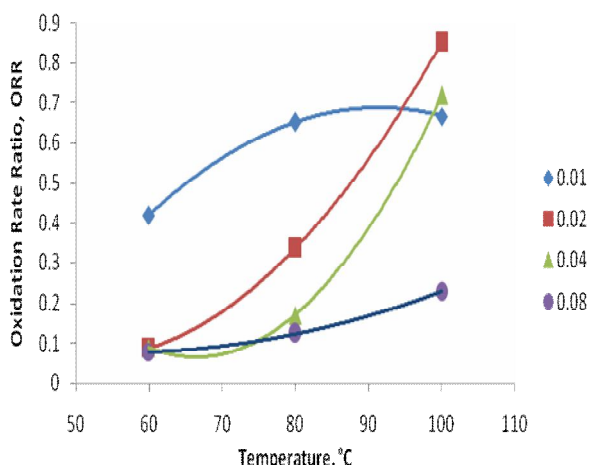


Fig 12 Temperature dependence (60–100 °C) of the oxidation rate ratio ORR, of luteolin in various concentrations in TGCO.

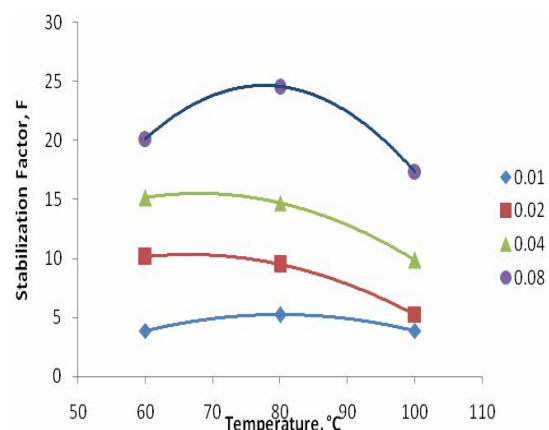


Fig 11 Temperature dependence (60–100) °C of the stabilization factor, parameter F, of luteolin in various concentrations in TGCO.

Table 2 The kinetic parameters of hydroperoxide formation during the oxidation of canola, and olive triacylglycerols containing different concentrations of luteolin at 60, 80, and 100 °C

Te m (°C)	Oil type	InH ₀ (%)	[InH] ₀ (×10 ³ M)	IP _{inh} (h)	F	ORR	A	W _{inh} (×10 ⁻⁹ M/S)	W _{inh} (×10 ⁻¹⁰ M/S)
60	olive	0.01	1.40	358.5±5.0d	7.69±0.10f	0.378±0.008a	20.34±0.4e	7.62±0.17c	10.03±0.17ef
		0.02	2.79	1376.8±80.5a	27.47±1.60a	0.018±0.0f	1521.15±88.9	0.36±0.0e	5.65±0.35f
		0.04	5.59	1316.8±47.5	26.26±0.94a	0.071±0.003d	a	1.42±0.08de	11.80±0.4e
		0.08	11.18	b	21.27±0.94b	0.138±0.01b	373.22±33.8b	2.78±0.22d	28.46±0.25d
	canola	0.01	1.40	1091.1±9.4c	3.87±0.02g	0.42±0.02e	158.76±13.6d	58.51±3.1a	98.27±0.60b
		0.02	2.79	39.5±0.2g	10.13±0.49e	0.09±0.002c	9.23±0.47e	12.10±0.31b	75.13±3.70c
		0.04	5.59	103.4±5.0f	15.14±0.18d	0.09±0.0005c	117.17±8.7d	12.39±0.13b	100.37±1.20b
		0.08	11.18	154.7±1.9ef	20.15±1.13c	0.08±0.002cd	170.89±1.36d	10.98±0.32b	151.15±8.71a
80	olive	0.01	1.40	205.9±11.6e	49.2±1.3d	0.116±0.003d	256.89±18.8c	32.73±1.03e	78.84±2.15g
		0.02	2.79	77.7±0.4c	16.27±0.09c	0.078±0.003e	88.67±4.61d	22.06±0.78f	99.83±6.55fg
		0.04	5.59	121.3±6.0b	25.40±1.4b	0.068±0.0005e	207.59±6.48c	19.18±0.28fg	128.22±7.7ef
		0.08	11.18	199.6±4.6a	41.77±0.98a	0.048±0.003f	372.47±19.6b	13.64±0.88g	155.59±3.61e
	canola	0.01	1.40	8.3±0.3h	5.25±0.23f	0.65±0.017a	863.08±40.6a	418.51±11.10a	463.02±20.7d
		0.02	2.79	15.1±0.6g	9.49±0.39e	0.34±0.001b	8.05±0.28e	215.69±0.98b	512.02±20.9c
		0.04	5.59	23.5±1.3f	14.69±0.83d	0.17±0.008c	28.25±1.20e	109.56±5.49c	662.02±36.4b
		0.08	11.18	39.3±2.1e	24.61±1.36b	0.12±0.003d	86.28±6.95d	79.68±2.43d	790.41±45.1a
100	olive	0.01	1.40	22.9±0.9d	11.50±0.5d	0.104±0.002fe	198.58±14.2c	53.87±1.12e	169.03±7.3e
		0.02	2.79	37.0±1.4c	18.51±0.74c	0.092±0.003e	110.58±5.47d	47.73±1.76e	210.00±8.5e
		0.04	5.59	60.1±2.4b	30.06±1.24b	0.082±0.001e	201.18±15.4fc	42.33±0.59ef	258.54±10.7e
		0.08	11.18	75.6±1.4a	37.84±0.74a	0.044±0.002f	367.94±17.8b	23.74±0.92f	410.51±8.05d
	canola	0.01	1.40	3.9±0.0g	3.87±0.15g	0.66±0.009c	826.46±18.3a	407.29±5.83c	987.89±14c
		0.02	2.79	5.3±0.4g	5.26±0.32f	0.81±0.03a	5.61±0.1f	495.07±22.6a	1457.77±121.5b
		0.04	5.59	10.3±0.6f	9.87±0.66e	0.72±0.04b	6.28±0.23f	465.36±26.6b	1502.56±100.9b
		0.08	11.18	17.6±1.2e	17.38±0.74c	0.23±0.0005d	12.96±0.8f	141.23±0.25d	1761.97±121.4a

Mean ± SD (standard deviation) within a column of the same temperature with the same lowercase letters are not significantly different at $p < 0.05$

Table 3 Kinetic parameters characterizing the rate constant of luteolin consumption in side reaction(s) of chain initiation, K_{eff} , and the mean rate of initiation, W_i/f , during the oil samples oxidation at 60–100 °C

Oli type	K_{eff} (Ms ⁻¹)			W_i/f (×10 ⁻¹⁰) (s ⁻¹)		
	60 °C	80 °C	100 °C	60 °C	80 °C	100 °C
Olive	(2.15±0.52)×10 ⁻¹⁰	-	(24.31±0.54)×10 ⁻¹⁰	2.709±0.1	-	134.5±5.1
canola	(6.075±0.08)×10 ⁻⁵	-	-	71.56±2.9	-	-

۴- نتیجه گیری

تجربیات به دست آمده در این تحقیق نشان داد که اگرچه بخشی از رفتار آنتی اکسیدانی لوتئولین در سیستم های روغنی مورد بررسی بر اساس مکانیسم مهارکنندگی قابل تفسیر بود اما تجزیه و تحلیل اکسایش لیپیدی صرفاً بر اساس واکنش های شیمیایی میسر نبود و می بایست موقعیت فضایی مولکول ها در فصل مشترک دو فاز امولسیون نیز در نظر گرفته می شد. نکته دیگری که باید در کاربرد ترکیبات آنتی اکسیدانی در سیستم های روغنی مدنظر قرار داد، غلظت بهینه مصرف آنتی اکسیدان می باشد. نتایج آزمون آنتی پراکسیدی روغن زیتون نشان داد با افزایش غلظت لوتئولین از ۰/۰۲ به ۰/۰۸ درصد، میزان کارایی آن به بیش از ۹ برابر کاهش می یابد. همچنین میزان کارایی آنتی اکسیدان در سیستم لیپیدی بسته به نوع آنتی اکسیدان، نوع سوسترای لیپیدی و دمای فرایند ممکن است، متفاوت باشد در پایان نظر می رسد با توجه به میانگین سرعت مصرف زیاد و قیمت بالای لوتئولین، کاربرد این آنتی اکسیدان برای سیستم های روغنی نظیر روغن کانولا و دمای بالا از جنبه های کارایی و اقتصادی چندان مطلوب نباشد. این در حالی است که لوتئولین به دلیل خاصیت چربی دوستی و بسته به میزان غلظت از عملکرد بهتری در روغن های سیر شده- تر نظیر روغن زیتون برخوردار بود.

۵- منابع

- [5] Brighente, I.M.C., Dias, M., Verdi, L.G., and Pizzolatti, M.G. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of some brazilian species. *Pharmaceutical Biology*, 45, 156–161.
- [6] Ruzic, I., Kerget, M., and Knez, Z. (2010). Potential of phenolic antioxidants. *Acta Chimica Iovenia*, 57, 263–271.
- [7] Kulisica, T., Radonich, A., Katalinicc, V., and Milosa, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85, 633–640.
- [8] Yang, J., Sung Kim, J., Jeong H.J., Kang, H., Cho J., Yeom, H., and Kim, M.J. 2011. Determination of antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities and luteolin contents of *Chrysanthemum morifolium* Ramat extracts. *African Journal of Biotechnology*, 10, 19197–19202.
- [9] Lopez-Lazaro, M. (2009). Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini-views in Medicinal Chemistry*, 9, 31–59.
- [10] Maestri, D.M., Nepote, V., Lamarque, A.L., and Zygadlo, J.A. (2006). Natural products as antioxidant phytochemistry. *Phytochemistry: Advances in Research*, 37(2), 105–135.
- [11] Ai-Li, J., and Chang-Hai, W. 2006. Antioxidant properties of natural components from *Salvia plebeia* on oxidative stability of ascidian oil. *Process Biochemistry*, 41, 1111–1116.
- [12] Yang, J. G., Liu, B. G., Liang, G. Z., and Ning, Z. X. (2009). Structure activity relationship of flavonoids active against Lard oil oxidation based on quantum chemical analysis. *Molecules*, 14, 46–52.
- [13] Chaiyasit, W., McClements, D.J., and Decker, E.A. (2005). The relationship between the physicochemical properties of antioxidants and their ability to inhibit lipid oxidation in bulk oil and oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12), 4982–8.
- [14] Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M., Gordonb, M.H., and Raneva, G.V. 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, 64, 59–66.
- Cuvelier, M. E., Bondet, V., and Berset, C. (2000). Behavior of Phenolic Antioxidants in a Partitioned Medium: Structure–Activity
- [1] Chaiyasit, W., Elias, R.J., McClements, D.J., and Decker, A. (2007). Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47, 299–317.
- [2] Farhoosh, R. (2005). Antioxidant activity and mechanism of action of butein in linoleic acid. *Food Chemistry*, 93, 633–639.
- [3] Amic, D., Davidovic-Ami, D., Beslo, D., Rastija, V., Lucic, B., and Trinajstic, N. (2007). SAR and QSAR of the antioxidant activity of flavonoids, *Current Medicinal Chemistry*, 14, 827–845.
- [4] Leopoldini, M., Pitarch, I. P., Russo, N., and Toscano, M. (2004b). Structure, conformation and electronic properties of apigenin, luteolin, and taxifolin antioxidants. A first principle theoretical study. *The Journal of Physical Chemistry A*, 108, 92–96.

- methodology. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 86(2), 923–933.
- [21] Budilarto, E. S., & Kamal-Eldin, A. (2015). The Supramolecular Chemistry of Lipid Oxidation and Antioxidation in Bulk Oils (accepted article). *European Journal of Lipid Science and Technology*. 1-74.
- [22] Laguerre, M., Bayrasy, C., Panya, A., Weiss, J., McClements, J., Lecomte, J., Decker, E. A., and Villeneuve, P. (2013). What makes good antioxidants in lipid-based systems? The next theories beyond the polar paradox. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(2), 183-201.
- [23] Ghnimi, S., Budilarto, E., and Kamal-Eldin, A. (2017). The new paradigm for lipid oxidation and insights to microencapsulation of omega-3 fatty acids. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16, 1206–1218.
- [24] Mahdavianmehr, H., Farhoosh, R., and Sharif, A. (2016). Mechanism of the Inhibitory Effect of Hydroxytyrosol on Lipid Oxidation in Different Bulk Oil Systems, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(9), 1233-1242.
- [25] Kamal-Eldin, A. (2003). Lipid oxidation pathways. AOCS Press: USA.
- Relationship. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(8), 819-823.
- [16] Yanishlieva, N.V., and Marinova, E.M. (1995). Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil. *Food Chemistry*, 54, 371–382.
- [17] Asnaashari, M., Farhoosh, R., and Sharif, A. 2014. Antioxidant activity of gallic acid and methyl gallate in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion. *Food Chemistry*, 159, 439–444.
- [18] Yanishlieva, N.V., & Marinova, E.M. (2003). Kinetic evaluation of the antioxidant activity in lipid oxidation. In A. Kamal-Eldin (Ed.), *Lipid Oxidation Pathways* (pp. 85–110). AOCS Press: Champaign.
- [19] Soobrattee, M. A., Neergheen, V. S., Luximon-Rammaa, A., Aruomab, O.I., and, Baborun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutation Research*, 56, 200–213.
- [20] Bassani, D. C., Nunes, D. S., and Granato, D. (2014). Optimization of phenolics and flavonoids extraction conditions and antioxidant activity of roasted yerba-mate leaves (*Ilex paraguariensis* St.-Hil., Aquifoliaceae) using response surface

Evaluation of efficiency of luteolin on stability of olive and canola oils in different temperatures according to the mechanism of inhibitory action

Ahmadi, S. M. A.¹, Farhoosh, R.^{2*}, Sharif, A.³, Rezaie, M.⁴

1. Ph.D student of department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2. Ph.D., full Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
3. Ph.D., assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
4. Ph.D, Department of nutrition, Faculty of medicine, Mashhad university of medical sciences, Mashhad, Iran.

(Received: 2018/05/20 Accepted:2019/01/19)

A kinetic analysis was performed to evaluate the antioxidant behavior of luteolin in the triacylglycerols of olive (TGO) and canola (TGC) oils. The process was performed at high (kinetic regime) oxygen concentrations at 60, 80, and 100 °C in the dark. Different kinetic parameters were determined, including the stabilization factor F, the oxidation rate ratio ORR, the antioxidant activity (A) and the mean rate of inhibitor consumption W_{InH} . The oxidative stability measures of the bulk olive and canola oils dramatically improved by the antioxidant added. Luteolin due to its increased partitioning at water-oil interface exerted a highest activity at 60°C and a concentration of 0.02%. Also, the rate of olive triacylglycerols oxidation increased significantly with increasing luteolin concentration at the corresponding temperature. This behavior was explained in terms of a more participation of antioxidant molecules and radicals in side reactions, i.e. 10 and 11 ($In^0 + LH \rightarrow InH + L^0$) and ($InH + LOOH \rightarrow$ products), respectively). The rate constant of antioxidant consumption in side reaction(s) (K_{eff}) and mean rate of initiation (W_i/f) values revealed that luteolin takes part in chain propagation and initiation reactions to a higher extent during TGC oxidation. Generally, the activity of luteolin increased and decreased, respectively, in TGO and TGC with rising temperature. This behavior was attributed to the change in the mechanism of inhibitory action with prevailing the reactions 7 ($LOO^0 + InH \rightarrow LOOH + In^0$) 8 ($In^0 + LOO^0 \rightarrow In-OOL$), and 9 ($In^0 + In^0 \rightarrow$ products) for olive oil, and pro-oxidative side reactions to a higher degree in TGC.

Key words, Antioxidant activity, Luteolin, Mechanism of inhibitory action.

* Corresponding Author E-Mail Address: rfarhoosh@um.ac.ir