

مقایسه‌ی خواص چلاتینگ یون آهن، رادیکال‌زدایی و ضد تیروسینازی اسانس آویشن دنایی با آویشن تجاری و تیمول

مهدی داداش پور^۱، دکتر ایرج رسولی^۲، دکتر فاطمه سفیدکن^۳، دکتر مسعود تقی‌زاده^۴، شکیبا درویش علیپور آستانه^۵

نویسنده‌ی مسؤول: تهران، دانشگاه شاهد، دانشکده‌ی علوم پایه rasooli@shahed.ac.ir

دریافت: ۸۹/۹/۷ پذیرش: ۸۹/۱۲/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از گیاهان به عنوان آنتی‌اکسیدان در فرآوری‌های غذایی، امیدی برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک است. در این تحقیق برخی جنبه‌های بیولوژیک اسانس‌های آویشن دنایی، آویشن تجاری و تیمول که تاکنون مورد مطالعه و بررسی قرار نگرفته، بررسی و مقایسه گردید.

روش بررسی: فعالیت چلاتینگ یون آهن با اضافه کردن اسید سولفوریک رقیق و فروزین به اسانس با جذب نوری سنجیده شد. خواص آنتی‌اکسیدانی با بتا کاروتین زدایی و بازدارندگی دیفنیل پیکریل هیدرازیل، قدرت احیای فریک با استفاده از $FeCl_3$ ، رادیکال زدایی سوپر اکساید با استفاده از زنتاین اکسیداز و ثبت جذب نوری و خاصیت ضد تیروسینازی با روش دوپاکروم و $L-DOPA$ به عنوان سوپراکسید سنجیده شد. **یافته‌ها:** قدرت چلاتینگ یون فروس اسانس آویشن دنایی وابسته به دوز و فعالیت رادیکال زدایی سوپر اکساید آنیونی آن بیشتر از اسانس تجاری بود. بازدارندگی پراکسیداسیون لیپید به وسیله اسانس آویشن دنایی قوی و توسط اسانس تجاری و تیمول تقریباً یکسان بود. در صد بازدارندگی دیفنیل پیکریل هیدرازیل به وسیله اسانس آویشن دنایی قوی و بیشتر از ترلوکس، بوتیلید هیدروکسی تولوئن و آنیسول بود. آویشن دنایی قدرت احیای فریک بیشتری داشت. فنل کل اسانس‌ها و مقدار IC_{50} برای فعالیت ضد تیروسینازی تعیین شد. **نتیجه‌گیری:** نتایج نشان دهنده‌ی ارزش غذایی این گونه گیاهان در پیشگیری از تشکیل محصولات سمی واکنش‌گر بوده، آویشن می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان خوب عمل کند. مطالعه‌ی خواص بیولوژیک اسانس آویشن دنایی نشان می‌دهد که قابلیت خوبی برای بررسی کاربرد آن در صنعت غذا و دارو دارد.

واژگان کلیدی: چلاتینگ، آنتی‌اکسیدان، رادیکال زدایی سوپر اکساید آنیونی، ضد تیروسینازی، روغن‌های اسانسی، آویشن

مقدمه

از زمان‌های قدیم گیاهان و چاشنی‌ها برای بهبود طعم و عطر به انواع مختلف غذاها اضافه می‌شدند. بسیاری از ترکیبات طبیعی به‌دست آمده از گیاهان دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های زیستی هستند. ترکیبات شیمیایی در خواص

۱- دانشجوی دوره کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی

۲- دکترای تخصصی میکروبیولوژی، استاد میکروبیولوژی دانشگاه شاهد، تهران

۳- دکترای شیمی، استاد موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران

۴- دکترای شیمی، استادیار شیمی دانشگاه شاهد، تهران

۵- دانشجوی دکترای میکروبیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران

بیولوژیک اسانس‌ها تاثیر دارند. اکسیژن و نیتروژن واکنش دهنده‌ی رادیکالی (ROS/RNS) به‌طور مداوم در بدن انسان تولید می‌شوند و توسط آنزیم‌های داخلی مانند سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز، کنترل می‌شوند. زمانی که تولید این رادیکال‌ها بیش از حد باشد، سوسترها در معرض اکسیداسیون قرار می‌گیرند، مکانیسم‌های دفاعی بدن ناتوان می‌شوند و تخریب مولکول‌ها زیستی (DNA، لیپید، پروتئین) اتفاق می‌افتد (۱). برخی آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از خطر اکسیداتیو توسط اکسیژن و نیتروژن واکنش دهنده، بروز بیماری‌های خاص مثل سرطان و روند پیری جلوگیری کنند. آن‌ها می‌توانند از طریق فرآیند اکسیداسیون، واکنش با رادیکال‌های آزاد، کلاته کردن فلزات و همچنین واکنش به عنوان رادیکال زداینده‌ی اکسیژن، مداخله کنند (۱). هنگامی که تولید اکسیژن و نیتروژن واکنش دهنده بیشتر شد، مواجهه با مواد اکسیدان خارجی یا فقدان مکانیسم دفاعی، آسیب به بیومولکول‌های ارزشمند مانند DNA و لیپیدها و پروتئین‌ها اجتناب ناپذیر است (۲). آنتی‌اکسیدان‌ها با واکنش با رادیکال‌های آزاد و کلاتینگ فلزات کاتالیتیک و فعالیت به‌عنوان رباینده‌گان اکسیژن در فرآیند اکسیداسیون مداخله می‌کنند (۳). تحقیقات اخیر کشف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از گیاهان را نشان می‌دهد. استفاده از گونه‌ها و گیاهان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها در فرآیندهای غذایی، امیدی برای استفاده از آن‌ها به جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک است. گزارشات نشان می‌دهد که، با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مصرف آن‌ها به‌عنوان افزودنی‌های طبیعی افزایش یافته است (۴). در ایران پس از تعیین ترکیب شیمیایی روغن‌های اسانسی بخش‌های هوایی تیموس کارامانیکوس (*Thymus caramanicus*)، و اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای کل فنلی، بیشترین فعالیت رادیکال‌زدایی در فاز قطبی عصاره متانولی به علت ویژگی‌های متعدد زیستی و فارماکولوژیکی به‌عنوان

گیاهان دارویی محسوب می‌شوند (۶). نتایج مطالعات بسیاری که بر روی ترکیب روغن‌های اسانسی قسمت‌های هوایی گونه‌های مختلف آویشن در ایران انجام شده است نشان می‌دهد که ترکیبات فرار اصلی به‌دست آمده عبارتند از تیمول، کارواکرول، پارا-سیمین، گاما-ترپنین، β -کاریوفیلن و غیره (۷-۹). بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها و ترکیبات مهم به‌دست آمده از مراحل رویشی، گل‌دهی، جوانه‌زنی گل، دانه‌دهی تیموس کارامانیکوس (*Thymus caramanicus*) بر علیه هفت باکتری گرم مثبت و گرم منفی به‌وسیله‌ی روش انتشار در آگار و تعیین حداقل میزان ممانعت کنندگی نشان داده است که ناحیه‌ی ممانعت و کمترین غلظت بازدارندگی برای سویه‌های باکتریایی که به روغن اسانسی آویشن حساس بودند به‌ترتیب ۱۵-۳۶mm و ۰/۵-۱۵ mg/ml می‌باشد. روغن‌های اسانسی به‌دست آمده فعالیت ضدباکتریایی خوبی علیه تمام باکتری‌های ذکر شده داشتند و باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*) و سودوموناس آئروژینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*) به‌ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها بودند (۱۰). روغن‌های اسانسی و عصاره‌های اکثر گونه‌های آویشن به‌طور گسترده در صنعت داروسازی، مواد آرایشی و خوشبو کننده‌ها و همچنین برای طعم‌دادن و محافظت انواع محصولات غذایی استفاده می‌شوند. همچنین این گونه‌ها به‌عنوان ضد نفخ، افزایش‌دهنده ادرار، ضد عفونی‌کننده دستگاه ادراری، و همچنین به‌عنوان کرم‌کش استفاده می‌شوند (۱۱). به‌علت ناپایداری و فرار بودن آنتی‌اکسیدان مصرفی در صنایع، سلامت و تاثیر این مواد دائما زیر سوال بوده است (۱۲). بنابراین بهره‌گیری از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با پتانسیل حفاظت انسان از آسیب‌های ایجاد شده به‌وسیله‌ی استرس‌های اکسی‌داتیو تشدید شده است (۱۳) و روغن‌های اسانسی سرشار از تیمول و کارواکرول با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی می‌توانند به این منظور مورد استفاده قرار گیرند (۱۴). با توجه به گسترش

میلی لیتر از رقت‌های مختلف نمونه‌های اسانس با یک میلی لیتر سولفات آهن رقیق شده مخلوط و سپس یک میلی لیتر فروزین رقیق اضافه گردید. لوله‌ها خوب مخلوط شده، ده دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. جذب هر کدام در ۵۶۲ نانومتر سنجیده شد (۱۶). قدرت کلاته کردن یون فروس هر نمونه به شرح زیر محاسبه شد:

$$\text{Chelating Effect (\%)} = [1 - (A_{\text{sample}}/A_{\text{control}})] \times 100$$

تعیین خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس خواص آنتی‌اکسیدانی با روش‌های بتا کاروتین زدایی، تعیین قدرت رادیکال‌زدایی (DPPH) 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl، سنجش قدرت احیای فریک (FRAP) و رادیکال‌زدایی سوپر اکساید آنیون با روش‌های استاندارد انجام شد.

روش بتا کاروتین زدایی: در روش بتا کاروتین زدایی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش توصیف شده به وسیله میرعلی اکبری و شهیدی (۱۷) با اصلاح جزئی استفاده شد. محلول استوک بتا-کاروتن و لینولئیک اسید با ۵٪ میلی گرم بتا-کاروتن در ۱ میلی لیتر کلروفرم، ۲۵ میکرو لیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی گرم توئین ۴۰ آماده شد. و کلروفرم در خلا تبخیر شد و به آن ۱۰۰ میلی لیتر از آب هوادهی شده اضافه شد. نمونه‌ها (۲ گرم/لیتر) حل شد و ۳۵۰ میکرو لیتر از آن به ۵/۲ میلی لیتر از مخلوط بالا موجود در لوله‌ها افزوده شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۲ ساعت در حمام آب گرم با دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد همرا با دو تا بلانک گذاشته شدند. که یکی از آنها دارای آنتی‌اکسیدان (BHT) Butylated Hydroxytoluene به عنوان کنترل مثبت و دیگری حاوی دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) به جای اسانس به عنوان کنترل منفی بودند. لوله‌ی دارای BHT در طول آنکو باسیون رنگ خودشان را حفظ کردند. جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها (درصد بازدارندگی) با استفاده از فرمول زیر به دست آمد.

$$I\% = (A_{\beta\text{-carotene after 2h assay}} / A_{\text{initial } \beta\text{-carotene}}) \times 100$$

مصرف فرآورده‌های گیاهان دارویی در کشورمان لازم است که جوانب مختلف این محصولات به جهت کاربردهای مفید و احیانا ضررهای آن‌ها در سلامتی انسان مورد توجه قرار گیرد. به دلیل بومی بودن گونه‌ی آویشن دناپی لازم است ابعاد مختلف بیولوژیکی آن برای اولین بار بررسی و گزارش شود. از این رو مطالعه‌ی حاضر طراحی گردید و اسانس آویشن دناپی مطالعه و با اسانس تجاری آویشن و ترکیب شیمیایی اصلی آن، تیمول، مقایسه گردید.

روش بررسی

اسانس آویشن دناپی: آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) در موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع شناسایی و به روش تقطیر با آب با کمک دستگاه کلونجر به مدت سه ساعت، اسانس‌گیری شد. اسانس تجاری آویشن از منابع تولیدی داخل کشور که در داروخانه‌ها به فروش می‌رسد، تهیه گردید. تیمول از شرکت مرک آلمان بود که رقت‌های مختلف از محلول یک میلی گرم در میلی لیتر آن تهیه شد. تعیین محتوای کل فنل Total Phenolic Content (TPC) با استفاده از روش Kahkonen و همکاران (۱۵) به شرح زیر سنجیده شد. ۳۰۰ میکرو لیتر از نمونه در لوله‌ی آزمایش ریخته شده، ۱/۵ میلی لیتر Folin-Ciocalteu's Reagent (10x dilution) و ۱/۲ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد ریخته شده، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده، جذب در ۷۶۵ نانومتر سنجیده شد. فنل کل بر اساس معادل میلی گرم گالیک اسید در هر ۱۰۰ گرم نمونه بیان شد ($y = 0.0111x - 0.0148; r^2 = 0.9998$). سنجش کلاتینگ یون فروس Ferrous Ion Chelating (FIC) Assay سولفات آهن (۲ میلی مول) (FeSO_4) و فروزین (۵ میلی مول) (Ferrozine) تهیه و ۲۰ برابر رقیق شد. یک

به‌صورت معادل گالیک اسید (GAE) در میلی‌گرم در گرم نمونه محاسبه شد ($y = 16.66x + 0.0038$; $r^2 = 0.999$). سنجش رادیکال‌زدایی سوپر اکساید آنیون (Superoxide anion radical scavenging) قدرت رادیکال‌زدایی سوپر اکساید آنیون اسانس‌ها با روش استاندارد (۱۸) انجام شد. به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های هر اسانس محلول زیر افزوده شد:

100 μ l (30 mmol/l) Na₂EDTA, 100 μ l (3 mmol/l) hypoxanthine in 50 mmol/l NaOH and 200 μ l (1.42 mmol/l) nitroblue tetrazolium (NBT) in NaH₂PO₄-NaOH (50 mmol/l, pH 7.4).

پس از ۳ دقیقه مقدار ۱۰۰ میکرولیتر (0.5 U/ml) Xanthine Oxidase در بافر NaH₂PO₄-NaOH اضافه شده، ۲/۴ میلی‌لیتر بافر NaH₂PO₄-NaOH اضافه شد. محلول حاصل در دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شده، جذب در ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. همچنین جذب در ۲۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شد تا چنانچه اسانس مانع تولید اسید اوریک شده باشد، مشخص شود. وقتی که از عدم تشکیل اسید اوریک اطمینان حاصل شد، درصد ممانعت در ۵۶۰ نانومتر با فرمول زیر محاسبه می‌شود و نیز ارزش IC₅₀ تعیین گردید.

$$\text{Inhibition}(\%) = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

فعالیت ضد تیروسینازی اسانس‌ها (Tyrosinase Inhibition): فعالیت ممانعت تیروسینازی اسانس‌ها با روش اسپکتروفوتومتری (۱۹) و با استفاده از روش Dopachrome با استفاده از L-DOPA به‌عنوان سوبسترا سنجیده شد. نتایج با یک کنترل و بلانک محتوی DMSO ۵۰ درصد (به‌جای نمونه) مقایسه شدند. Quercetin به‌عنوان شاهد مثبت استفاده شد. درصد مهار تیروسیناز با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Tyrosinase inhibition}(\%) = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

محاسبات آماری: تمام یافته‌ها به‌صورت میانگین حداقل سه بار تکرار با احتساب انحراف معیار (\pm S.D.) تعیین گردید.

A- β -carotene after 2 h assay جذب بتا-کاروتن بعد از ۲ ساعت باقی ماندن در نمونه‌ها و A_{initial} β -carotene و جذب بتا‌کاروتن در شروع آزمایشات می‌باشد. تمام تست‌ها سه بار تکرار شده، درصد ممانعت‌کنندگی با انحراف معیار سه‌تایی گزارش شد.

تعیین فعالیت رادیکال‌زدایی با تست DPPH: ۱۰ میکرولیتر اسانس را با ۹۰۰ میکرولیتر (100mM Tris-HCl (pH 7.4)؛ ۴۰ میکرولیتر اتانول و ۵۰ میکرولیتر TWEEN 20 (0.5% w/w) مخلوط کرده، مخلوط فوق به یک میکرولیتر DPPH (0.5 mM=0.2 mg/ml) در اتانول اضافه گردید. مخلوط را به شدت هم‌زده و جذب فوراً با طول موج ۵۱۷ نانومتر ثبت گردید. ثبت تا ۷۰ دقیقه ادامه یافت و نوسانات یادداشت گردید تا جایی که دیگر نوسانی دیده نشد. برای شاهد به جای اسانس آب مقطر استفاده شد و ترولوکس [Trolox (1mM)] به عنوان آنتی‌اکسیدان پایدار استفاده شد. فعالیت رادیکال‌زدایی اسانس با فرمول زیر و بر اساس درصد بازدارندگی DPPH محاسبه گردید:

$$\text{Inhibition percentage (IP)} = [(A_B - A_A) / A_B] \times 100$$

A_B = Absorbance value of blank checked after 70 minutes

A_A = Absorbance value of sample checked after 70 minutes

سنجش قدرت احیای فریک

(Ferric-reducing Power (FRAP) assay): یک

میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف اسانس به ۲/۵ میلی‌لیتر بافر ۰/۲M فسفات پتاسیم با PH ۶/۶ و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری‌سیانید ۱ درصد اضافه شده و در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه گردید. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به آن اضافه شد. این ترکیب به چند بخش ۲/۵ میلی‌لیتری تقسیم و با ۲/۵ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه مخلوط گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر FeCl₃ ۰/۱ درصد (وزن/حجم) به هر کدام اضافه شده، پس از ۳۰ دقیقه جذب در ۷۰۰ نانومتر سنجیده شد (۱۶). FRAP

کلاتینگ کمتری نسبت به اسانس تجاری در کلاته کردن یونفروس داشت. قدرت کلاتینگ تیمول از هر دو اسانس کمتر بود. قدرت اسانس‌ها به مراتب از قدرت اتیلین دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) کمتر بود (جدول ۱). مقدار اسانس لازم برای ۵۰ درصد کلاتینگ یونفروس توسط اسانس آویشن دنايي، آویشن تجاری، تیمول و EDTA به ترتیب ۰/۷۱، ۲۰۰، ۳۹۲۰ و ۰/۷۱ میکروگرم بود (جدول ۱).

آنالیز آماری با Student's T-Test انجام شد و اختلاف معنی دار با $P < 0/05$ تعریف گردید. تعیین IC_{50} در محیط نرم افزار اکسل با استفاده از ترسیم خطی نمودار داده‌ها (XY Scatter) انجام گرفت.

یافته‌ها

توانایی رقت‌های مختلف اسانس‌ها در کلاتینگ یونفروس تعیین گردید و اسانس آویشن دنايي قدرت

جدول ۱: قدرت اسانس‌ها و تیمول در کلاتینگ یونفروس

IC ₅₀ (µg)	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	مقدار اسانس (µg)	اسانس آویشن دنايي
۷۳۰	۶۳/۲۸±۰/۲۱	۴۱/۰۶±۱/۸	۲۳/۷۶±۰/۶۶	۱۵/۱۴±۰/۵۶	درصد کلاته کردن یونفروس	
IC ₅₀ (µg)	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	مقدار اسانس (µg)	اسانس آویشن تجاری
۲۰۰	۶۷/۳۴±۱/۷	۶۵/۹۶±۳/۳	۳۱/۶±۰/۲۴	۴/۷±۰/۹	درصد کلاته کردن یونفروس	
IC ₅₀ (µg)	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	مقدار تیمول (µg)	تیمول
۳۹۲۰	۱۰/۵۲±۰/۹	۵/۶±۰/۷	۲/۱±۰/۲۲	۱/۱۳±۰/۷	درصد کلاته کردن یونفروس	
IC ₅₀ (µg)	۱	۰/۵	۰/۳	۰/۱۵	مقدار EDTA (µg)	EDTA
۰/۷۱	۶۱/۵±۲/۹	۴۵/۲±۱/۲	۳۷/۳۵±۱/۷	۳۰/۸±۰/۹	درصد کلاته کردن یونفروس	

جدول ۲: قدرت رادیکال‌زدایی سوپراکساید آنیون اسانس‌ها و تیمول

IC ₅₀ (µg)	۱۶	۸	۴	۲	مقدار اسانس (µg)	اسانس آویشن دنايي
۱۳	۵۶/۴۵±۱/۱	۴۰/۶۷±۲/۴	۲۷/۷±۱/۵	۱۹/۰۲±۱/۹	درصد رادیکال‌زدایی	
IC ₅₀ (µg)	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	مقدار اسانس (µg)	اسانس آویشن تجاری
۹۳	۶۰/۷±۰/۹	۵۵/۱۶±۱/۶	۵۱/۴۳±۰/۰۶	۴۸/۲±۰/۳	درصد رادیکال‌زدایی	
IC ₅₀ (µg)	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	مقدار اسانس (µg)	تیمول
۱۵۳۷۰	۶/۸±۰/۵	۵/۰۸±۰/۳	۲/۳±۰/۶	۱/۲±۰/۳	درصد رادیکال‌زدایی	

تیمول بیشتر و IC_{50} آن‌ها تعیین گردید (جدول ۲). خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس با روش بتا-کاروتن‌زدایی و نتایج

فعالیت رادیکال‌زدایی سوپراکساید آنیونی اسانس آویشن دنايي به مراتب از فعالیت اسانس آویشن تجاری و

که درصد رادیکال‌زدایی DPPH به‌وسیله اسانس آویشن دناپی بسیار قوی و بیشتر از آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک مانند BHT، BHA (Butylated Hydroxyanisole) و ترلوکس بود. این بازدارندگی توسط تیمول بیشتر از اسانس آویشن تجاری به‌ازای ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. قدرت احیای فریک (FRAP) اسانس آویشن دناپی به‌مراتب بیش از اسانس آویشن تجاری و تیمول بود (جدول ۳).

مقایسه‌ای آن‌ها با آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک استاندارد در جدول ۳ نشان داده شده است. بازدارندگی پراکسیداسیون لیپید به‌وسیله اسانس آویشن دناپی بسیار قوی و توسط اسانس تجاری و تیمول بازای ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تقریباً یکسان با اندکی بیشتر در خصوص آویشن تجاری بود (جدول ۳). با توجه به‌اینکه رقت ۰/۰۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آویشن دناپی مورد آزمایش قرار گرفت، می‌توان اظهار داشت

جدول ۳. محتوای فنلی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها و تیمول

اسانس	محتوای فنلی (µg/mg GAE)	قدرت احیای فریک (FRAP) معادل گالیک اسید (میلی‌گرم در گرم نمونه)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (%) با روش بتا کاروتین (مقدار اسانس)	درصد بازدارندگی DPPH (مقدار اسانس)	IC ₅₀ (µg)
آویشن دناپی	۶۴۴/۰۷±۶/۷۹	۱۷/۸۱±۳/۷۷	۶۹/۳۱±۱/۷۲ (۰/۳۱mg/ml)	۴۵/۴۳±۳/۸ (۰/۰۸mg/ml)	۵
آویشن تجاری	۱۶/۹۴±۲/۵۵	۰/۲۳±۰/۰۹	۵۳/۲۱±۶/۲۴ (۱۰mg/ml)	۳۵/۰۸±۳/۵ (۱۰mg/ml)	۱۷
تیمول	۱۰/۳۳±۲/۳۱	۰/۱۲±۰/۰۴	۴۷/۱۳±۲/۱ (۱۰mg/ml)	۵۱/۴۳±۳/۰۸ (۱۰mg/ml)	۶۰۲
BHT 1mM				۳۵/۹±۰/۴۷	
BHA 1mM				۴۷/۷±۰/۵	
Trolox 1mM				۳۴/۵±۰/۴	

جدول ۴. درصد فعالیت ضد تیروسینازی اسانس‌ها و تیمول

اسانس	درصد فعالیت ضد تیروسینازی (مقدار اسانس)	IC ₅₀ (µg) در معادل quercetin هرگرم نمونه	درصد رادیکال‌زدایی سوپر اکساید آنیون (مقدار اسانس)	IC ₅₀ (µg)
آویشن دناپی	۲۹/۹±۰/۳۳ (۴µg)	۲۴	۵۶/۵±۱/۱ (۱۵µg/ml)	۱۳
آویشن تجاری	۴۱/۹±۲/۴ (۱۲۵µg)	۵۱۶	۳۰/۷±۰/۹ (۵۰۰µg/ml)	۹۳
تیمول	۲۰/۸±۱/۲ (۲۰۰۰µg)	۹۰۳۰	۶/۸۴±۰/۵ (۲۰۰۰µg/ml)	۱۵۳۷۰

شود. مواد کلاته کننده می‌توانند یون‌های فلزی را غیرفعال ساخته، به‌طور بالقوه از فرآیندهای وابسته به فلز پیشگیری نمایند (۲۱). در این مطالعه فعالیت کلاتینگ اسانس با سنجش فروزین (ferrozine) تعیین گردید (جدول ۱). فروزین به‌طور کمی می‌تواند کمپلکس‌هایی را با Fe^{2+} تشکیل دهد. در حضور سایر مواد کلاته کننده، تشکیل کمپلکس مختل می‌گردد و رنگ قرمز کمپلکس کاهش می‌یابد. سنجش میزان کاهش رنگ میزان فعالیت کلاتینگ یک کلاتور موجود هم‌زمان را نشان می‌دهد (۲۲). در این مطالعه واکنش کلاتینگ وابسته به دوز بود و مقدار اسانس لازم برای ۵۰ درصد کلاتینگ یون فروس توسط اسانس آویشن دنایی، آویشن تجاری، تیمول و EDTA به ترتیب ۰/۷۱، ۲۰۰، ۷۳۰ و ۳۹۲۰ میکروگرم بود (جدول ۱). اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های حاصل از قسمت‌های هوایی تیموس کاپیتاتوس (*Thymus Capitatus Hoff. et Link.*) به‌وسیله‌ی روش‌های فعالیت کلاته کردن فلزات، پتانسیل کاهشی، فعالیت رادیکال‌زدایی و مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند BHT و BHA مشخص کرده است که آن‌ها فعالیت کلاته کردن فلزات را نشان نمی‌دهند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی فنل‌ها بیشتر به‌دلیل خواص ردوکس (Redox) آن‌هاست که به آن‌ها امکان عملکرد به‌عنوان مواد احیا کننده و اهدا کننده هیدروژن را داده، نیز آنها پتانسیل کلاته کردن فلزات را دارند (۲۳). رادیکال‌زدایی سوپر اکساید آنیون اسانس‌ها (جدول ۲) نشان داد که اسانس آویشن دنایی دارای IC_{50} معادل ۱۳ میکروگرم در برابر ۹۳ میکروگرم IC_{50} اسانس آویشن تجاری است (جدول ۲ و ۴). فنل‌ها و فلاونوئیدهای گیاهی بازدارندگی پراکسیداسیون لیپید را با فرونشانی رادیکال‌های پروکسی و احیا یا کلاته کردن آهن در آنزیم لیپوکسیژناز و نهایتاً ممانعت از شروع واکنش پراکسیداسیون لیپید، انجام می‌دهند (۲۴). فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش بتاکاروتین و قدرت احیای فریک اسانس‌ها نشان می‌دهد که آویشن دنایی با محتوای فنلی

فنل کل اسانس‌های آویشن دنایی، اسانس تجاری و تیمول به ترتیب معادل $۱۰/۳۳ \pm ۲/۳۱$ ، $۱۶/۹۴ \pm ۲/۵۵$ ، $۶۴۴/۰۷ \pm ۶/۷۹$ میکروگرم گالیک اسید در هر میلی‌گرم نمونه تعیین گردید (جدول ۳). درصد فعالیت ضد تیروسینازی به‌ازای ۴ میکروگرم اسانس آویشن دنایی $۲۹/۹ \pm ۰/۳۳$ ، به‌ازای ۱۲۵ میکروگرم اسانس آویشن تجاری $۴۱/۹ \pm ۲/۴$ و به‌ازای ۲۰۰۰ میکروگرم تیمول $۲۰/۸ \pm ۱/۲$ بود. مقدار IC_{50} برای فعالیت ضد تیروسینازی اسانس‌های فوق و تیمول به ترتیب ۲۴، ۵۱۶ و ۹۰۳۰ میکروگرم محاسبه شد (جدول ۴)

بحث

زمینه‌ی تحقیقات خوبی پیرامون ترکیبات شیمیایی و ویژگی‌های بیولوژیک روغن‌های اسانسی آویشن وجود دارد. مطالعه‌ی مقالات نشان می‌دهد که اسانس آویشن دنایی تاکنون مورد مطالعه و بررسی قرار نگرفته، این اولین گزارش در خصوص خواص بیولوژیک آویشن دنایی است. در این مطالعه قدرت کلاتینگ یون فروس اسانس آویشن دنایی قدرت کلاتینگ کمتری نسبت به اسانس تجاری را در کلاته کردن یون فروس داشت. تحقیقات اخیر اکنون در جهت یافتن آنتی‌اکسیدان‌هایی با منشا گیاهی هستند. قدرت کلاتینگ تیمول از هر دو اسانس کمتر بود. قدرت اسانس‌ها به مراتب از قدرت EDTA کمتر بود (جدول ۱). در بین فلزات، آهن به‌عنوان مهم‌ترین پرواکسیدان اکسیداسیون لیپید به دلیل واکنش‌گری سریع شناخته شده است. آهن به شکل فروس اکسیداسیون لیپید را با شکستن هیدروژن پراکسید و لیپید پراکسیدها از طریق واکنش فنتون [Fenton reaction ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + \cdot OH + \cdot OH$)] تسریع می‌کند. یون Fe^{3+} همچنین از پراکسیدها رادیکال‌ها را تولید می‌کند. هر چند در این واکنش سرعت ده برابر کمتر از یون Fe^{2+} است (۲۰). تولید این رادیکال‌ها می‌تواند به پراکسیداسیون لیپید، تغییرات پروتئینی و آسیب DNA منجر

بالا تر، قوی‌تر از اسانس آویشن تجاری و تیمول است (جدول ۳). سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها با روش DPPH نشان داد که قدرت رادیکال‌زدایی اسانس آویشن‌دناپی بسیار قوی و توسط اسانس تجاری و تیمول به‌ازای ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تقریباً یکسان با اندکی بیشتر در خصوص آویشن تجاری بوده، به‌مراتب بیشتر از آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک است (جدول ۳). طی آزمایشی پس از تعیین ترکیب شیمیایی روغن‌های اسانسی بخش‌های هوایی تیموس کارامانیکوس (*Thymus Caramanicus*)، و اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH و بتا کاروتن و محتوای کل فنلی، بیشترین فعالیت رادیکال‌زدایی در فاز قطبی عصاره‌ی متانولی ($IC_{50} = 43 \mu\text{g/ml}$) دیده شده است (۵). تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مربوط به توانایی زدودن رادیکال‌های پروکسی، رادیکال‌های آزاد DPPH، و رادیکال‌های هیدروکسی باشد (۲۵). نتایج نشان دهنده‌ی ارزش غذایی این گونه گیاهان به‌ویژه قابلیت تیمول که از ترکیبات اصلی آویشن است، در پیشگیری تشکیل محصولات سمی از راه نیتروژن واکنش‌گر (RNS) بوده‌اند (۲۶ و ۲۷). یک بررسی نشان داده است فعالیت آنتی‌اکسیدانی اوگنول، تیمول، کارواکرول و ۴-آیل فنل موجود در روغن‌های اسانسی برگ‌های تیموس ولگاریس (*Thymus Vulgaris*) نسبت به سایر ترکیبات تست شده قوی‌تر است به‌طوری‌که همه‌ی آن‌ها در مقدار ۵ میکروگرم به‌مدت ۳۰ روز تقریباً ۱۰۰ درصد از اکسیداسیون هگزانال جلوگیری کردند. به این ترتیب فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها قابل مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های مشهور مانند آلفا-توکوفرول و BHT می‌باشد (۲۸). در این مطالعه اسانس‌های آویشن از تیمول قوی‌تر عمل کردند که می‌تواند بیان‌گر قدرت هم‌افزایی ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها باشد. در حالت کلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌زدایی روغن‌های اسانسی مربوط به حضور ترکیبات فنلی بوده که قادر به دادن هیدروژن به

رادیکال می‌باشد. گزارش‌های متعددی همبستگی خوب بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی که با روش فولین اندازه‌گیری شده بود، را نشان می‌دهد. تعداد زیادی از ترکیبات فنلی ساده همانند می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کند، با این وجود قدرت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها وابسته به برخی ساختارهای پیش‌نیاز، به‌ویژه تعداد و آرایش گروه‌های هیدروکسیل، میزان کنگوکاسیون ساختاری و حضور واحدهای دهنده و گیرنده‌ی الکترون در ساختار حلقه می‌باشد (۲۹). در این مطالعه آویشن‌دناپی دارای محتوای فنل کل ۳۸ برابر محتوای فنل کل اسانس آویشن تجاری بود (جدول ۳) و بنابراین روغن‌های اسانسی آویشن به‌عنوان ترکیب طبیعی نگهدارنده‌ی در صنعت غذایی قابل استفاده است (۳۰). بررسی فعالیت احتمالی آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های به‌دست آمده از گونه‌های تیموس پالسنس، تیموس درآتنسیس و تیموس آلجرینسیس (*Thymus algeriensis, Thymus pallescens and Thymus dréatensis*) با استفاده از چهار روش ترکیبی به نام‌های فعالیت رادیکال‌زدایی (DPPH)، زدودن رادیکال هیدروکسیل، مهار پراکسیداسیون لیپید و قدرت احیا کنندگی، نشان‌گر فعالیت قوی زدودن رادیکال هیدروکسیل توسط دو کمپوند جدید از *T. Algeriensis* ($IC_{50} = 2.2-3.3 \mu\text{g/ml}$) بوده است، اما در مورد رادیکال‌های دیگر، فعالیت رادیکال‌زدایی ضعیف و یا صفر و قدرت احیا کنندگی نیز ضعیف بوده است. علیرغم تشابه شیمیایی اسانس‌های این‌گونه با تیموس پالسنس (*T. Pallescens*) گهگاهی تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای در فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده می‌شود (۳۱). عصاره‌ی اتانولی تیموس سرپیلوم (*Thymus Serpyllum*) خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی را با استفاده از روش بتا-کاروتن/لینولئیک اسید نشان داده است (۱۱). درصد فعالیت ضد تیروسینازی به‌ازای ۴ میکروگرم اسانس آویشن‌دناپی $29/9 \pm 0/33$ ، به‌ازای ۱۲۵ میکروگرم اسانس آویشن تجاری $41/9 \pm 2/4$ و به‌ازای

که واکنش‌های شیمیایی مانند تیره شدن رنگ غذا یا پوست انسان (ملانیزاسیون) را احیا می‌کند و بنابراین دارای پتانسیل خوبی با دیدگاه صنعتی هستند. در مجموع مطالعه‌ی خواص بیولوژیک اسانس آویشن‌دناپی نشان می‌دهد که قابلیت خوبی برای بررسی کاربرد آن در صنعت غذا و دارو دارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد که با تامین هزینه‌های این طرح امکان عملی شدن آن را فراهم آوردند، اعلام می‌داریم.

References

- 1- Oke F, Aslim B, Ozturk S, Altundag S. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*. 2009; 112: 874-9.
- 2- Aruoma IO. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J Am Chem Soc*. 1998; 75: 199-212.
- 3- Shahidi F, Wanasundara PK. Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1992; 32: 67-103.
- 4- Lindberg Madsen H, Bertelsen G. Spices as antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*. 1995; 6: 271-7.
- 5- Safaei-Ghomi J, Ebrahimabadi AH, Djafari-Bidgoli Z, Batooli H. GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol. *Food Chem*. 2009; 115: 1524-8.

۲۰۰۰ میکروگرم تیمول $20/8 \pm 1/2$ بود. مقدار IC_{50} برای فعالیت ضد تیروسینازی اسانس‌های فوق و تیمول به ترتیب ۲۴، ۵۱۶ و ۹۰۳۰ میکروگرم محاسبه شد (جدول ۴). تا به حال گزارشی از تعیین فعالیت ضد تیروسینازی اسانس آویشن‌دناپی گزارش نشده است، بنابراین گزارش حاضر اولین گزارش در همین مورد است. فعالیت ضد تیروسینازی سایر اسانس‌ها مانند گیاهان *M. Gigantea*, *M. Pruinosa*, *M. Tanarius* و *M. Triloba* به ترتیب ۵۳/۹، ۶۱/۲، ۵۲/۸ و ۵۸ در صد گزارش شده (۱۶) که در مقایسه با نتایج این مطالعه می‌توان به اهمیت اسانس آویشن‌دناپی در بازدارندگی تیروسیناز پی برد. باز دارنده‌های تیروسیناز آن دسته از مواد شیمیایی هستند

- 6- Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA, Daferera D, Polissiou M, Sokmen A. Antioxidative activity of the essential oils of *thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *J Food Eng*. 2005; 66: 447-54.
- 7- Rustaiyan A, Masoudi S, Monfared A, et al. Volatile constituents of three *thymus* species grown wild in Iran. *Planta Med*. 2000; 66: 197-8.
- 8- Sefidkon F, Dabiri M, Rahimi-Bidgoly A. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *thymus kotschyanus* Boiss. and *Hohen*. *Flavour Fragrance J*. 1999; 14: 405-8.
- 9- Sefidkon F, Jamzad Z, Yavari-Behrouz R, Shargh DN. Essential oil composition of *thymus kotschyanus* boiss and *hohen* from Iran. *J Essent Oil Res*. 1999; 11: 459-60.
- 10- Nejad Ebrahimi S, Hadian J, Mirjalili MH, Sonboli A, Yousefzadi M. Essential oil

- composition and antibacterial activity of thymus caramanicus at different phenological stages. *Food Chemistry*. 2008; 110: 927-31.
- 11- Mata AT, Proena C, Ferreira AR, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, Arajo MEM. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem*. 2007; 103: 778-86.
- 12- Sokmen A, Gulluce M, Akpulat HA, et al. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic thymus spathulifolius. *Food Control*. 2004; 15: 627-34.
- 13- Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2005; 45: 287-306.
- 14- Dapkevicius A, Venskutonis R, Van Beek TA, Linssen JPH. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J Sci Food Agric*. 1998; 77: 140-6.
- 15- Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem*. 1999; 47: 3954-62.
- 16- Lim TY, Lim YY, Yule CM. Evaluation of antioxidant, antibacterial and anti-tyrosinase activities of four macaranga species. *Food Chem*. 2009; 114: 594-9.
- 17- Miraliakbari H, Shahidi F. Antioxidant activity of minor components of tree nut oils. *Food Chem*. 2008; 111: 421-7.
- 18- Lee JC, Kim HR, Kim J, Jang YS. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *opuntia ficus-indica* var saboten. *J Agric Food Chem*. 2002; 50: 6490-6.
- 19- Chan EWC, Lim YY, Wong LF, et al. Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. *Food Chem*. 2008; 109: 477-83.
- 20- Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS LETT*. 1996; 384: 240-2.
- 21- Finefrock AE, Bush AI, Doraiswamy PM. Current status of metals as therapeutic targets in Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc*. 2003; 51: 1143-8.
- 22- Yamaguchi F, Ariga T, Yoshimura Y, Nakazawa H. Antioxidative and anti-glycation activity of garcinol from *Garcinia indica* fruit rind. *J Agric Food Chem*. 2000; 48: 180-5.
- 23- Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res*. 1995; 22: 375-83.
- 24- Torel J, Cillard J, Cillard P. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry*. 1986; 25: 383-5.
- 25- Singh G, Marimuthu P, Murali HS, Bawa AS. Antioxidative and antibacterial potentials of essential oils and extracts isolated from various spice materials. *J Food Safety*. 2005; 25: 130-45.

- 26- Cavar S, Maksimovic M, Solic ME, Jerkovic-Mujkic A, Besta R. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two satureja essential oils. *Food Chem.* 2008; 111: 648-53.
- 27- Prieto JM, Iacopini P, Cioni P, Chericoni S. In vitro activity of the essential oils of *origanum vulgare*, *satureja montana* and their main constituents in peroxy-nitrite-induced oxidative processes. *Food Chemistry.* 2007; 104: 889-95.
- 28- Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T, Lee KG. Identification of volatile components in basil (*ocimum basilicum L.*) and thyme leaves (*thymus vulgaris L.*) and their antioxidant properties. *Food Chem.* 2005; 91: 131-7.
- 29- Miliuskas G, Van Beek TA, De Waard P, Venskutonis RP, Sudholter EJR. Identification of radical scavenging compounds in *Rhaponticum carthamoides* by means of LC-DAD-SPE-NMR. *J Nat Prod.* 2005; 68: 168-72.
- 30- Curtis OF, Shetty K, Cassagnol G, Peleg M. Comparison of the inhibitory and lethal effects of synthetic versions of plant metabolites (anethole, carvacrol, eugenol, and thymol) on a food spoilage yeast (*debaromyces hansenii*). *Food Biotechnol.* 1996; 10: 55-73.
- 31- Hazzit M, Baaliouamer A, Verissimo AR, Faleiro ML, Miguel MG. Chemical composition and biological activities of *Algerian thymus oils*. *Food Chem.* 2009; 116: 714-21.

Comparison of Ferrous Ion Chelating, Free Radical Scavenging and Anti Tyrosinase Properties of Thymus Daenensis Essential Oil with Commercial Thyme Oil and Thymol

Dadashpour M¹, Rasooli I², Sefidkon F³, Taghizadeh M⁴, Darvish Alipour Astandeh SH⁵

¹College of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

²Dept. of Biology, College of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

³Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

⁴Dept. of Chemistry, College of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

⁵College of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Rasooli I, Dept. of Biology, College of Basic Sciences, Shahed University, Tehran-Iran.

E-mail: rasooli@shahed.ac.ir

Received: 28 Nov 2010 **Accepted:** 14 Mar 2011

Background and Objective: Utilization of plants as antioxidants in food processing has a potential for substitution of synthetic antioxidants. In the present work, some unexplored biological activities of *Thymus daenensis*, commercial *thyme* essential oils and thymol were comparatively studied.

Materials and Methods: Ferrous ion chelating was assessed by spectrophotometry by mixing the essential oils with diluted FeSO₄ followed by addition of ferrozine. Antioxidative properties were assessed by beta carotene bleaching and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging tests. Gallic acid equivalent of ferric reduction was carried out using FeCl₃. Super oxide anion radical scavenging was determined using xanthine oxidase and anti tyrosinase inhibitory activity was determined by a spectrophotometry method using a modified dopachrome method with L-DOPA as the substrate.

Results: Chelating reaction of *T. daenensis* oil was dose dependent, and its super oxide anion radical scavenging property was higher than the commercial oil. Lipid peroxidation inhibition by *T. daenensis* oil was stronger and those of the commercial oil and thymol were approximately equal. DPPH free radical scavenging property of *T. daenensis* oil was higher than trolox, butylated hydroxytoluene and anisol (BHT and BHA). Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) of *T. daenensis* oil was greater. The total phenolics anti tyrosinase IC₅₀ were also determined.

Conclusion: The results point to the nutritional value of these plants in preventing formation of toxic reactive oxygen species, and show that *Thymus daenensis*, as a good antioxidant, can directly scavenge free radicals. The results from biological properties of *Thymus daenensis* are indicative of its potentials for use in food and drug industries.

Keywords: *Chelating, Antioxidant, Super oxide anion radical scavenging, Antityrosinase, Essential oils, Thymus*