

Trigonella plicata'nın Toplam Fenol ve Flavonoit Miktarı, Mineral Kompozisyonu ve Radikal Süpürücü Aktivitesi

Ş. Selma URAS GÜNGÖR, Sevda GÜZEL, Ahmet İLÇİM, Gamze KÖKDİL

ÖZ

Bu çalışmada Türkiye'de yetişen *Trigonella plicata* Boiss. & Bal. türünün toplam fenol ve flavonoit içeriği, mineral kompozisyonu ve serbest radikal süpürücü aktivitesinin tayini amaçlanmıştır. Tohumlardan elde edilen sulu-metanollü ekstrenin toplam fenol, flavonoit miktarı ve serbest radikal süpürücü aktivitesi sırasıyla Folin-Ciocalteu, $AlCl_3$ ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemleri kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak ekstrenin toplam fenol

miktarının 64.11 ± 0.36 mg gallik asit ekivalanı (GAE)/g kuru ağırlık ve toplam flavonoit miktarının 51.02 ± 0.056 mg rutin ekivalanı (RE)/g kuru ağırlık olduğu görülmüştür. DPPH testi ile 1g/L konsantrasyondaki ekstrenin % inhibisyonu 50.1 ± 0.039 olarak bulunmuştur. Tohumların mineral kompozisyonu ICP-MS kullanılarak tayin edilmiş ve potasyumun tohumdaki başlıca mineral olduğu saptanmıştır. Diğer ana elementlerin ise, azalan miktarlarda, Ca, P, Mg ve Na olduğu bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: *T. plicata*, toplam fenol ve flavonoit, radikal süpürücü aktivite, mineral kompozisyonu

Ş. Selma Uras Güngör, Sevda Güzel, Gamze Kökdil
Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, 33169,
Mersin

Ahmet İlçim
Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
Antakya, Hatay

Sorumlu Yazar

Yrd. Doç. Dr. Ş. Selma Uras Güngör
E-mail: urasselma@hotmail.com
Tel: +903243412815/2637
Fax: +903243413022

Submitted / Gönderilme: 18.05.2016
Accepted / Kabul: 19.07.2016

Revised / Düzeltme: 15.07.2016

Giriş

Trigonella L. (Fabaceae) cinsi dünyada 135 kadar tür ile temsil edilmektedir. Türlerin büyük bir bölümü Akdeniz Bölgesi, Avrupa, Kuzey ve Güney Afrika, Güney Avustralya, Batı Asya ve Kuzey Amerika'ya yayılmıştır (1, 2). Başta *T. foenum-graecum* (çemenotu) olmak üzere, *T. corniculata*, *T. occulta* ve *T. incise* gibi bazı türler baharat veya sebze olarak bilinmekte ve buldukları bölgelerde geleneksel olarak kullanılmaktadır (3-5). *T. foenum-graecum* türü antik çağlarda Yunanistan ve Mısır'da gıda ve tedavi amaçlı olarak kullanılmıştır ve Akdeniz Bölgesi, Hindistan, Kuzey Afrika ve Çin'de çok tanınan bir kültür bitkisidir (6-10).

Tohumlar eski Mısır'da laktasyonu arttırıcı ve ağrılı menstrüasyonu tedavi edici olarak kullanılırken (1, 3, 5, 6, 11), Ayurveda, Çin ve Unani tıp sistemlerinde ateş, epilepsi, gut, diyabet, kronik öksürük, ödem, apse, lepra, hemoroit ve kusma tedavisinde, tonik, afrodisyak ve gastrik uyarıcısı olarak kullanılmaktadır (1, 5, 6, 10, 12, 13).

Trigonella cinsi içerisinde baharat olarak ve geleneksel tıpta en çok kullanılan türün *T. foenum-graecum* olması nedeniyle fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmaları bu tür üzerinde

yoğunlaşmıştır. *T. foenum-graecum* türü tohumlarında, sabit yağ, alkaloid, kumarin, steroidal ve triterpenik tip saponinler, protein, aminoasit, müsilaj, flavonoitler, lif ve mineraller bulunmaktadır (3, 6, 8, 11, 14-16). Bitkinin yaprakları mineral, vitamin ve flavonoitlerin potansiyel kaynağıdır (6-8, 17). Çemenotunun geleneksel tıbbi kullanımı bilimsel olarak birçok çalışma ile test edilmiş ve çemenotunun antidiyabetik, antioksidan, antiinflamatuar, antipiretik, immunomodulator, antikanser, gastroprotektif ve kemopreventif etkilerinin olduğu bildirilmiştir (4-6, 11).

Vitamin C, E ve bazı polifenoller zararlı serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı korunmada önemlidirler (18). Dolayısıyla flavonoitler gibi antioksidan fitokimyasallar birçok yeni çalışmanın odak noktasını oluşturmaktadır (19, 20). Flavonoitleri içeren bitki fenoliklerinin güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu da bilinmektedir (20).

Literatürde *T. foenum-graecum*'un kimyasal bileşimi ve biyolojik aktivitesi ile ilgili çok sayıda araştırma kayıtlı olmasına rağmen diğer *Trigonella* türleri ile ilgili çok az çalışma yapıldığı dikkati çekmektedir (3,17, 21, 22).

Trigonella cinsinin Türkiye'de 13 seksiyon ve 8 grup altında toplanmış 54 taksonu bulunmaktadır ve bunlar detaylı olarak incelenmemişlerdir (2, 23-26). Pectinatae seksiyonunda bulunan tek tür olan *T. plicata* Boiss. & Bal., Güneydoğu Anadolu'da doğal olarak yetişen endemik bir türdür. Bu tür daha önce herhangi bir çalışmaya konu olmamıştır. *Trigonella* türleri üzerinde grubumuzca yürütülen çalışmaların devamı olarak, bu çalışma ile *T. plicata* türünün toplam fenol, flavonoit içeriği ve serbest radikal süpürücü aktivitesinin tayin edilmesi ve mineral kompozisyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bitkisel Materyal

T. plicata Boiss. & Bal., Silifke-Gülнар (C4 İçel) yolundan Haziran 2011 tarihinde toplandı. Bitki Yrd. Doç. Dr. Ş. Selma URAS GÜNGÖR tarafından teşhis edildi (23) ve Prof. Dr. Ahmet İlçim (Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antakya, Hatay, Türkiye) tarafından doğrulandı. Bitkisel materyale ait herbaryum örneği (MKU 1783) Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Herbaryum'unda saklanmaktadır.

Kimyasallar

Aşağıda belirtilen tüm kimyasallar analitik saflıktadır:

Metanol, Folin-Ciocalteu's fenol reaktifi, nitrik asit, hidroklorik asit, perklorik asit (Merck, Darmstadt, Germany); 2-2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), butilhidroksianizol (BHA), gallik asit (Sigma Chemicals, USA); Rutin (Fluka Chemie, Buchs, Switzerland). Na, Mg, K, Ca, Fe (1-9 mg/L) ve P, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Se, Mo, Cd, Pb (10-90 µg/L) standartları (Environmental Calibration Standart, Agilent Technologies).

Ekstraksiyon prosedürü

Kurutulmuş ve toz edilmiş tohum (3 g) 40 mL %80'lik metanol ile 1 saat ultrasonik banyoda 30°C'de karıştırılarak ekstraksiyon yapıldı. İşlem 2 kez tekrarlandı. Süzülen ekstreler birleştirilerek hacmi %80'lik metanol ile 100 mL'ye tamamlandı (27).

Toplam fenol miktar tayini

Toplam fenol miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak tayin edildi. Tohum ekstresinden 1 mL bir test tüpüne konuldu ve üzerine 9 mL deiyonize distile su ilave edildi. Üzerine 1 mL Folin-Ciocalteu's fenol reaktifi eklendi. Ardından 5dk sonra %7'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 10 mL eklendi, karıştırıldı ve 25 mL'ye balon jode deiyonize distile su ile tamamlandı. 23°C'de 90 dakika beklendikten sonra 750 nm'de köre karşı absorbanları ölçüldü. Kör olarak distile su kullanıldı. Deneyler 3 tekrar olarak yapıldı. Standart eğri gallik asitin farklı konsantrasyonları (400-1000 mg/L) kullanılarak hazırlandı ve mg gallik asit ekivalanı (GAE)/g kuru ağırlık olarak toplam fenol miktarına geçildi (28, 29).

Toplam flavonoit miktar tayini

Tohum ekstresinin ve standart olarak kullanılan rutin (25-250 mg/L) 0.5 mL'si 3 mL distile deiyonize su içeren 10 mL'lik balon jeye eklendi ve hemen balona 0.3 mL %5'lik NaNO₂ ilave edildi. 5 dakika sonra 0.3 mL %10'luk AlCl₃ ilave edildi, 6 dakika sonra 2 mL 1M NaOH karışıma eklendi. Daha sonra hemen 10 mL'ye distile deiyonize su ile tamamlandı. Pembe renkteki karışımın, kör olarak %80'lik metanol kullanılarak 510 nm'deki absorbanı ölçüldü. Deneyler 3 tekrar olarak yapıldı. Ekstrenin toplam flavonoit miktarı mg rutin ekivalanı (RE)/g kuru ağırlık cinsinden hesaplandı (28-30).

Mineral analizi

Bitkinin tohumu CEM-MARS 240/50 model ticari bir mikrodalga fırın kullanılarak ve Başgel ve Erdemoğlu'nun metodu takip edilerek analize hazırlandı (31). Çalışılan tohum örneğinin mineral içeriği Agilent 7500ce ICP-MS kullanılarak analiz edildi. ICP-MS için cihaz konfigürasyonu ve genel deneysel şartlar; Rf gücü (W): 1600; Gaz akış hızı

(L/dk): Plazma gazı: 15; Taşıyıcı gazı: 1; Makeup gazı: 1; Yardımcı gazı: 1; Spray odası sıcaklığı: 2°C; Torch: quartz; Otomatik örnekleyici: CETAC ASX-520; Okuma süresi (s): 30; Gecikme süresi (s): 60; Yıkama süresi (s): 20.

DPPH • (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) Yöntemi ile Radikal Süpürücü Aktivite Tayini

Tohum ekstresinin ve standart olarak kullanılan bütillenmiş hidroksianizol (BHA)'ün farklı konsantrasyonda çözeltilerinin (250-25 mg/L) 0.1 mL'si taze hazırlanmış 2.9 mL DPPH• çözeltisi ile karıştırıldı. 1 saatlik inkübasyon sonunda 517 nm dalga boyunda ekstrenin absorbanası ölçüldü (32, 33). Kalibrasyon grafiği çizildi. Deneyler 3 tekrar olarak yapıldı. DPPH süpürücü aktivitenin yüzdesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı;

% Serbest radikal süpürücü aktivite: [(Kontrol absorbanası – Örnek absorbanası)/Kontrol absorbanası] x 100

Kontrol absorbanası: Ekstre ilave edilmeden hazırlanan çözeltinin absorbanası.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada, *T. plicata* tohumlarından hazırlanan ekstrelerin toplam fenol ve flavonoid içeriği Folin Ciocalteu ve $AlCl_3$ spektrofotometrik metodu kullanılarak tayin edilmiştir. Tohum ekstresinin toplam fenol miktarının 64.11 ± 0.36 mg (GAE)/g ve toplam flavonoid miktarının 51.02 ± 0.056 mg (RE)/g olduğu görülmüştür (Tablo 1). Tohumların DPPH radikal süpürücü aktivitesi % 50.1 ± 0.039 inhibisyon olarak saptanmıştır. Bu deneyde standart olarak kullanılan BHA'nın 0.15 g/L'deki % inhibisyonu 53.74 ± 0.13 olarak bulunmuştur.

Tablo 1. *T. plicata* tohumlarının toplam fenol ve flavonoid miktarı, ve serbest radikal süpürücü aktivitesi

Numune	Toplam Fenol Miktarı (mg GAE/g)*	Toplam Flavonoid Miktarı (mg RE/g)*	İnhibisyon (%)
Tohum ekstresi	64.11 ± 0.36	51.02 ± 0.056	50.1 ± 0.039
BHA (0,15 g/L)	-	-	53.74 ± 0.13

*kuru ağırlık üzerinden

Çemenotunun farklı çözücülerle hazırlanmış ekstrelerinin toplam fenol ve antioksidan aktiviteleri üzerine literatürde birçok çalışma bulunmaktadır. Naidu ve ark. (34) çemenotu tohumunda $65.81-85.88$ mg GAE/g toplam polifenol

olduğunu ve % 50-70 inhibisyon ile iyi bir serbest radikal süpürücü aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Bu çalışmada *T. plicata* tohumlarının toplam fenol içeriğinin çemenotunun toplam fenol içeriğine yakın olduğu bulunmuştur. 2014 yılında yapmış olduğumuz *T. monspeliaca* ile ilgili çalışmada toplam flavonoid miktarının *T. plicata* ile benzeştiği fakat toplam fenol miktarında bir miktar farklılık olduğu gözlenmiştir (22).

T. plicata tohumlarında 17 elementin konsantrasyonları tayin edilmiştir (Tablo 2). Potasyum ($13432 \mu\text{g/g}$) tohumdaki başlıca element olup, bunu sırasıyla kalsiyum, fosfor ve magnezyum takip etmektedir.

Tablo 2. *T. plicata* tohumlarının mineral kompozisyonu

Mineraller	$\mu\text{g/g}^*$
Sodyum (Na)	425,4
Magnezyum (Mg)	3544
Fosfor (P)	3764
Potasyum (K)	13432
Kalsiyum (Ca)	4058
Krom (Cr)	27,42
Manganez (Mn)	13,88
Demir (Fe)	97,14
Nikel (Ni)	1,26
Çinko (Zn)	39,84
Bakır (Cu)	10,46
Selenyum (Se)	8,14
Aluminyum (Al)	38,14
Kobalt (Co)	0,61
Molibden (Mo)	10,51
Kadmiyum (Cd)	1,24
Kurşun (Pb)	3,12

*kuru ağırlık üzerinden

Literatürde, *T. plicata* türünün mineral içeriği ile ilgili herhangi bir bilgi bulunmamaktadır, sadece *T. foenum-graecum* (çemenotu), baharat olarak kullanılmasından dolayı kapsamlı olarak çalışılmıştır. Gupta ve ark. (35) çemenotu tohumlarının Ca, P ve Mg elementlerini yüksek konsantrasyonlarda içerdiğini bildirmişlerdir. Srinivasan ve ark. (6) çemenotu tohumlarının yüksek miktarda K ($530 \text{ mg}/100 \text{ g}$), P ($370 \text{ mg}/100 \text{ g}$), Ca ($160 \text{ mg}/100 \text{ g}$) ve Mg ($160 \text{ mg}/100 \text{ g}$) içerdiğini göstermişler, ayrıca Fe elementinin ortalama bir konsantrasyonda bulunduğunu bildirmişlerdir.

Kan ve ark. (36) Türkiye'de kültürü yapılan çemenotu tohumlarında bulunan 12 mineralin miktarlarını açıklamışlar ve Ca ve Mg minerallerinin tohumlarda majör mineraller olduğunu saptamışlardır. Shakuntala ve ark. (37) çemenotunun endosperm, tohum kabuğu vb. gibi tohum fraksiyonlarında başlıca Ca, Cu, Fe, K, Mn ve Mg minerallerinin içeriğini tayin etmişlerdir. Tohumların bütün fraksiyonlarında Ca, K ve Mg seviyelerinin yüksek olduğunu göstermişlerdir. Çemenotu tohumlarının mineral kompozisyonlarının *T. plicata* tohumları ile ilgili bulgular ile oldukça uyumlu olduğu fakat *T. plicata* tohumlarında kantitatif farklılıklar bulunduğu tespit edilmiştir. Grubumuzca araştırılan diğer bir tür olan *T. monspeliaca* türünün mineral kompozisyonunun da *T. plicata* ile uyumlu olduğu, ana minerallerin (sırasıyla, K>P>Mg>Ca) benzeştiği ancak kantitatif farklılıkların olduğu görülmektedir. Her iki türde de bulunan Cd ve Pb miktarının bitkilerin toplanma yerleri ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (22). Bu çalışmada ayrıca bitkinin

tohumlarında antioksidan, antikarsinojenik ajan ve tiroid fonksiyonlarını düzenleyici rol oynayan, insan hayatında besin yönünden önemli bir element olan Se (8.14 µg/g) minerali de saptanmıştır.

Bütün sonuçlar *T. plicata* türü için ilk defa bu çalışmada bildirilmiş olup sonuçlar, *T. plicata* türünün önemli bir mineral ve fenolik kaynağı olduğuna işaret etmektedir. Bu nedenle *T. plicata*'nın gıda endüstrisinde değerlendirilmesi için detaylı kimyasal ve aktivite çalışmalarının yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Teşekkür

Yazarlar, Uzm. Cihan GEÇGEL ve Dr. Mehmet Ali KURT (Mersin Üniversitesi, İleri Teknoloji Eğitim Araştırma ve Uygulama Merkezi, MERSİN)'a ICP-MS analizlerindeki teknik yardımlarından dolayı teşekkür ederler.

Determination of total phenolic and flavonoid content, mineral composition and free radical scavenging activity of *Trigonella plicata*

ABSTRACT

The aim of the present study was to determine total phenolic and flavonoid content and free radical scavenging activity and mineral composition of *Trigonella plicata* Boiss. & Bal. from Turkey. Total phenol, flavonoid content and free radical scavenging activity of the aqueous methanolic extract obtained from seeds was measured spectrophotometrically by Folin-

Ciocalteu, the AlCl₃ and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay, respectively. The phenolic content was 64.11±0.36 mg gallic acid equivalent (GAE)/g dry weight while the flavonoid content was 51.02±0.056 mg rutin equivalent (RE)/g dry weight. In free radical scavenging assay, inhibition % of the extract (1g/L) was found to be 50.1±0.039. The mineral composition of the seeds were determined by ICP-MS and potassium was main mineral in the seeds. The other main elements, in descending order by quantity, were Ca, P, Mg and Na.

Keywords: *T. plicata*, toplam fenol and flavonoid, radical scavenging activity, mineral composition

Kaynaklar

- Bown D. Encyclopedia of Herbs & Their Uses, 1th edn. Darling Kindersley Limited, London, UK. 2002, pp. 393.
- Martin E, Akan H, Ekici M, Aytaç Z. Karyology of ten Turkish *Trigonella* L. (Leguminosae) species from section *Cylindrica* Boiss. Turk J Bot 2010; 34: 485-94.
- Jain SC, Agrawal M, Sharma RA. The Genus *Trigonella*-Phytochemistry and Biology. Anc Sci Life 1996; 16: 108-17.
- Pandian RS, Anuradha CV, Viswanathan P. Gastroprotective effect of fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*) on experimental gastric ulcer in rats. J Ethnopharmacol 2002; 81: 393-7.
- Toppo FA, Akhand R, Pathak AK. Pharmacological actions and potential uses of *Trigonella foenum-graecum*: A Review. Asian J Pharm Clin Res 2009; 2: 28-38.
- Srinivasan K. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): A review of health beneficial physiological effects. Food Rev Int 2006; 22: 203-24.
- Devi BA, Kamalakkannan N, Prince PSM. Supplementation of fenugreek leaves to diabetic rats. Effect on carbohydrate metabolic enzymes in diabetic liver and kidney. Phytother Res 2003; 17: 1231-3.
- Zia T, Nazrul Hasnain S, Hasan SK. Evaluation of the oral hypoglycaemic effect of *Trigonella foenum-graecum* L. in normal mice. J Ethnopharmacol 2001; 75: 191-5.
- Suliman AME, Ali AO, Hemavathy J. Lipid content and fatty acid composition of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds grown in Sudan. International J Food Sci Technol 2008; 43: 380-2.
- Kenny O, Smyth TJ, Hewage CM, Brunton NP. Antioxidant properties and quantitative UPLC-MS analysis of phenolic compounds from extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and bitter melon (*Momordica charantia*) fruit.

- Food Chem 2013; 141: 4295-4302.
11. Yadav R, Kaushik R, Gupta D. The health benefits of *Trigonella foenum-graecum*: A Review. Int J Eng Res Appl 2011; 1: 32-5.
 12. Gopu CL, Gilda SS, Paradkar AR, Mahadik KR. Development and validation of a densitometric TLC method for analysis of trigonelline and 4-hydroxyisoleucine in fenugreek seeds. Acta Chromatogr 2008; 20: 709-19.
 13. Morani AS, Bodhankar SL, Mohan V, Thakurdesai PA. Ameliorative effects of standardized extract from *Trigonella foenum-graecum* L. seeds on painful peripheral neuropathy in rats. Asian Pac J Trop Med 2012; 5: 385-90.
 14. SatheeshKumar N, Mukherjee PK, Bhadra S, Saha BP. Acetylcholinesterase enzyme inhibitory potential of standardized extract of *Trigonella foenum graecum* L and its constituents. Phytomedicine 2010; 17: 292-5.
 15. Shailajan S, Menon S, Singh A, Mhatre M, Sayed N. A validated RP-HPLC method for quantitation of trigonelline from herbal formulations containing *Trigonella foenum graecum* (L.) seeds. Pharm Methods 2011; 2: 157-8.
 16. Yang DJ, Lu TJ, Hwang LS. Effect of endogenous glycosidase on stability of steroidal saponins in Taiwanese yam (*Dioscorea pseudojaponica* yamamoto) during drying processes. Food Chem 2009; 113: 155-9.
 17. Han Y, Nishibe S, Noguchi Y, Jin Z. Flavonol glycosides from the stems of *Trigonella foenum- graecum*. Phytochemistry 2001; 58: 577-80.
 18. Guo C, Cao G, Sofic E, Prior RL. High-performance liquid chromatography coupled with coulometric array detection of electroactive component in fruits and vegetables: Relationship to oxygen radical absorbance capacity. J Agric Food Chem 1997; 45: 1787-96.
 19. Czczot H. Biological activities of flavonoids-A review. Pol J Food Nutr Sci 2000; 950: 3-13.
 20. Chu YH, Chang CL, Hsu HF. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. J Sci Food Agric 2000; 80: 561-6.
 21. Kawashyt SA, Abdalla MF, El Din EMG, Saleh, NAM. The chemosystematics of Egyptian *Trigonella* species. Biochem Syst Ecol 1998; 26: 851-6.
 22. Uras Güngör SŞ, Güzel S, İlçim A, Kökdil G. Total phenolic and flavonoid content, mineral composition and antioxidant potential of *Trigonella monspeliaca*. Turk J Pharm Sci 2014; 11: 255-62.
 23. Huber-Morath A. *Trigonella* L. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Editors: Davis PH, Vol 3. Edinburgh University Press, Edinburgh, UK. 1970, pp. 452-482.
 24. Davis PH, Mill RR, Tan K. Flora of Turkey and The East Aegean Island, Vol 10. Edinburgh University Press, Edinburgh, UK. 1988, pp. 324-326.
 25. Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC. Leguminosae, Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 11, Suppl 2. Edinburgh University Press, Edinburgh, UK. 2000, pp. 193.
 26. Gokturk RS. A new subspecies *Trigonella coeruleascens* (Fabaceae), from Turkey. Ann Bot Fenn 2009; 46: 62-4.
 27. Gikas E, Bazoti FN, Papadopoulou N, Alesta A, Economou, G, Tsarbopoulos A. Quantitation of the flavanols quercetin and kaempferol in the leaves of *Trigonella foenum-graecum* by high-performance liquid chromatography-diode array detection. Anal Lett 2011; 44: 1463-72.
 28. Kim DO, Jeong SW, Lee CY. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. Food Chem 2003; 81: 321-6.
 29. Subhasree B, Baskar R, Keerthana RL, Susan RL, Rajasekaran P. Evaluation of antioxidant potential in selected green leafy vegetables. Food Chem 2009; 115: 1213-20.
 30. Saeed N, Khan MR, Shabbir M. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. BMC Compl Alternative Med 2012; 12: 221.
 31. Başgel S, Erdemoğlu SB. Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey. Sci Total Environ 2006; 359: 82-9.
 32. Kroyer GTH. Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient. Innov Food Sci Emerg Technol 2004; 5: 101-5.
 33. Koleva II, van Beek TA, Linssen JPH, de Groot A, Evstatieva LN. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. Phytochem Anal 2002; 13: 8-17.
 34. Naidu MM, Shyamala BN, Naik JP, Sulochanamma G, Srinivas P. Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. Food Sci Technol 2011; 44: 451-6.
 35. Gupta KK, Bhattacharjee S, Kar S, Chakrabarty S, Thakur P, Bhattacharyya G, Srivastava SC. Mineral compositions of eight common spices. Commun Soil Sci Plan 2003; 34: 681-93.
 36. Kan Y, Kan A, Ceyhan T, Sayar E, Kartal M, Altun L, Aslan S, Cevheroğlu Ş. Atomic absorption spectrometric analysis of *Trigonella foenum-graecum* L. seeds cultivated in Turkey. Turkish J Pharm Sci 2005; 2: 187-91.
 37. Shakuntala S, Naik JP, Jeyarani T, Naidu MM, Srinivas P. Characterisation of germinated fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed fractions. Int J Food Sci Tech 2011; 46: 2337-43.