

Hatay'da Farklı Bölgelerde Yetiştirilen Zeytin Yapraklarının Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi

Hatice DANAHALİLOĞLU^{1*}, Yener TEKELİ², Sezer GÖYCİNCİK¹, Figen YILDIRIM

¹Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Hatay, Türkiye

²Adıyaman Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Adıyaman, Türkiye

Geliş Tarihi: 13.03.2018

Kabul Tarihi: 21.05.2018

Sorumlu Yazar: hkara@mku.edu.tr

Özet

Bu çalışmada, Hatay'da farklı bölgelerde yetiştirilen Halhalı türü zeytin (*Olea europaea*) ağaçlarının yapraklarının metanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocaltaeu yöntemi ile tayin edilmiştir. Antioksidan özelliklerini belirlemek için kullanılan diğer yöntemler 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme yöntemi, demir indirgeme gücü (FRAP) metodu ve β -karoten-linoleik asit emülsiyon yöntemidir. Sonuçlar standart antioksidanlar bütillendirilmiş hidroksi anisol (BHA), ve bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) ile kıyaslanmıştır. İncelenen tüm bölgelerin zeytin yapraklarının antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Zeytin yaprağı, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite, DPPH

Determination of Antioxidant Properties of Olive Leaves Grown in Different Regions in Hatay

Abstract

In this study; antioxidant activities of metanol extracts of olive leaf (*Olea europaea*) which is grown in different parts of Hatay were determined. Total phenolic contents were determined by the Folin-Ciocaltaeu method. The other methods used to determine the antioxidant characteristics were 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method, ferric ion reducing power (FRAP) and β -carotene-linoleic acid emulsion method. The results were compared with the standard antioxidants butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT). It was determined that olive leaves in all regions examined had antioxidant activity.

Keywords: Olive leaf, total phenolic content, antioxidant activity, DPPH

1. Giriş

Zeytin yaprakları zeytin hasadı sırasında elde edilen önemli bir yan ürün olup, toplam zeytin ağırlığının %10'u kadar bulunmakta ve zeytin ağaçlarının budanması sırasında toplanmaktadır (Guinda et al., 2004).

Zeytin yaprakları yüzyıllardır tıbbi amaçla kullanılmıştır. Yazılı tarihte bolluk, görkem ve barışın sembolü olarak sıklıkla adı geçen zeytin ağacının yaprakları, yarışmaların ve savaşların galiplerine taç olarak takılan simgesel bir anlama sahiptir (Guinda ve ark.,2004; Silva ve ark., 2006; Erbay ve İçier, 2008; Boudhrioua ve ark., 2009; Bahloul ve ark., 2009; Castro ve Capote, 2010; Tsimidou ve Papoti, 2010).

Olea europaea bitkisinin farklı kısımlarının ülkemizde ve yurt dışında kullanımı oldukça yaygındır. İtalya'da yapraklardan hazırlanan dekoksasyonun ateş düşürücü olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (Capasso ve ark., 1982). Fas'ta yapılan bir çalışmada, *Olea europaea* yapraklarının halk arasında hipotansif, hipoglisemik, kolagog, anthelmentik, antiseptik olarak, ayrıca ağız hijyeninin sağlanmasında ve saç dökülmesine karşı kullanıldığı belirlenmiştir (Ziyyat ve ark., 1997). Agalias ve arkadaşları, yapraklardan hazırlanan dekoksasyonun halk tıbbında hipertansiyon, aritmi, intestinal kas spazmları ve kanser tedavisinde kullanıldığını rapor etmişlerdir (Agalias ve ark., 2005).

Zeytin yaprakları fonksiyonel değere sahip olan biyoaktif bileşenlerin doğal bir kaynağıdır. Zeytin yaprağında bulunan fenol bileşenlerinin pek çoğunun antioksidan, antifungal, antibakteriyel özellikler gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Ferreira ve ark., 2007; El ve Karakaya, 2009; Jemai ve ark., 2009; Boudhrioua ve ark., 2009). Zeytin ağacı yan ürünlerinin ekstraktları oksidatif parçalanmaları önleyebilen fenolik bileşikler gibi önemli antioksidanları içermesi nedeniyle kozmetik, tıp, farmasüitik ve gıda endüstrisinde kullanılabilir (Jemai ve ark., 2009; Boudhrioua ve ark., 2009 ; Bouaziz ve ark., 2010). Zeytin yaprakları yüksek bir biyolojik değer katan bir kaynak olarak kullanıldığında sağlıklı, güvenli, ucuz, etkili ve alternatif bir antioksidan kaynağıdır ve gıda ürünlerinin duyuusal ve besinsel özelliklerindeki kayıpları önleyerek raf ömrünü uzatma özelliğine sahiptir (Jemai ve ark., 2009; Boudhrioua ve ark., 2009; Bouaziz ve ark., 2010).

2. Materyal ve Metot

Zeytin yaprakları Hatay'ın Batıyaz Çakallı, Çetenli, Hassa, Kırıkhan, Kuruyer ve Üzümdalı bölgelerinden halhalı türü ağaçlardan toplanmıştır.

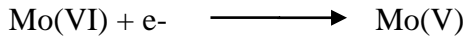
2.1. Zeytin Yaprağından Drog Hazırlama

Analizlerde kullanılacak drogları hazırlamak için zeytin yaprakları kurutularak mekanik yollarla toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen yapraklara metanol ekstraksiyonu yapılmıştır. Numunelerin üzerine metanol ilave edilerek 40 °C’ de 3 saat süreyle ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Metanol evaporatörde vakum altında 40 °C’de uzaklaştırılmıştır. Kalan hafif metanollü kısım petri kaplarına alınarak liyofilizatöre konulmuştur. Böylece kalan metanol de tamamen uzaklaştırılmıştır. Liyofilize edilerek tamamen kurutulan droglar analiz edilene kadar +4 °C ‘de saklanmıştır.

2.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

2.2.1. Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu

Toplam fenolik madde konsantrasyonu Folin-Ciocaltaeu Yöntemi ile belirlenmiştir. Antioksidanların toplam fenolik içeriğini ölçmek için geliştirilmiş olan bu yöntemde kullanılan folin reaktifi fosfomolibdat ve fosfotungstat karşımı bir reaktif olup, fenolik bileşiklerle sadece bazik ortamlarda reaksiyon verirler. Ortamda bulunan Mo (VI) indirgeyiciler tarafından Mo (V)'e indirgenir ve oluşan yeşil-mavi renk spektrofotometrik olarak 765 nm’de ölçülür.

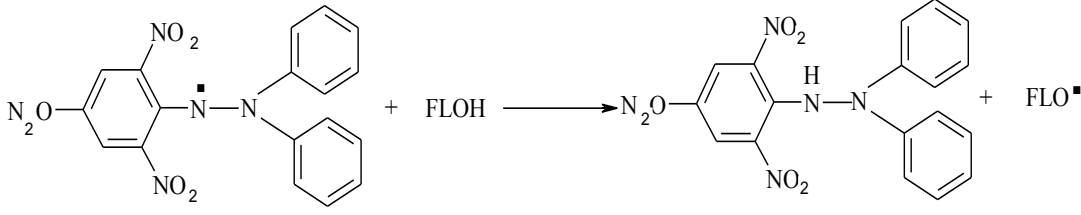


Deney tüpüne 0,5 mg/ml derişimde hazırlanan numune çözeltisinden 0,25 ml alınarak sırasıyla 1:10 oranında seyreltilmiş Folin reaktifinden 1,25 ml ve % 10’luk Na₂CO₃ çözeltisinden 3,75 ml ilave edilmiştir. Aynı işlemler 0,5 – 0,03125 mg/ml aralığında beş farklı konsantrasyondaki gallik asit için de yapılmıştır. Karanlıkta, ağzı kapalı olarak inkübe edilen örneklerin absorpsiyon değerleri 765 nm’de metanol körüne karşı ölçülmüştür. Numunelerde bulunan toplam fenolik madde miktarı gallik asit standart eğrisinden yararlanılarak bulunmuştur. Sonuçlar 1 gram bitkideki mg GAE (gallik asit eşdeğeri) olarak hesaplanmıştır.

2.2.2. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Etkisi

Blois tarafından ilk olarak 1958 yılında geliştirilmiş olan bu yöntem, antioksidanların kararlı bir serbest radikal olan DPPH radikalini süpürme etkilerini ölçmeye dayalı bir yöntemdir. Serbest bir radikal olan DPPH molekülünün, hidrojen atomu verme eğilimi olan bir molekül (antioksidan) ile etkileşmesi sağlanır. Mor renkli DPPH radikalinin çözeltisi 517 nm’de maksimum absorpsiyon verir. Etanol veya metanollü DPPH çözeltisine antioksidanın ilave edilmesiyle radikal indirgenir,

renge sarıya döner ve absorbansta düşüş meydana gelir. Absorbansının düşmesi yüksek serbest radikal giderme aktivitesinin göstergesidir.



Şekil 1. DPPH ve antioksidanlar arasındaki tepkime

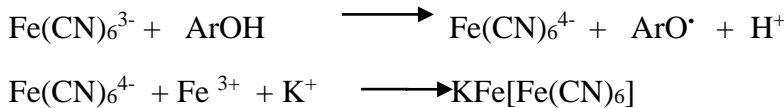
Drogların radikal süpürme aktiviteleri Brand Williams, Culivier ve Berset (1995) metoduna göre belirlenmiştir. Drogların ve sentetik antioksidan olan BHA ve BHT'nin 0,5 mg/ml derişimde çözeltileri hazırlanmıştır ve 1:1 oranında seyreltilerek 5 farklı derişimde çözeltileri elde edilmiştir. Deney tüplerine bu örneklerden 1,25 ml alınarak üzerlerine derişimi 6×10^{-5} M olan DPPH çözeltilisinden 3,75 ml ilave edilmiştir. Tüpler karıştırıldıktan sonra karanlıkta ve oda sıcaklığında yarım saat bekletilmiştir. Daha sonra 517 nm'de metanol körüne karşı absorban değerleri ölçülmüştür. Numune ve sentetik antioksidanların % inhibisyon değerleri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_0 - A_{\text{numune}} / A_0) \times 100$$

% inhibisyon değerlerinden faydalanılarak DPPH serbest radikalinin yarısının süpürülmesi için gerekli olan numune konsantrasyonları (IC_{50} değerleri) hesaplanarak sentetik antioksidanlar olan BHT ve BHA ile kıyaslanmıştır.

2.2.3. FRAP İndirgeme Gücü

Bu yöntemde, $Fe(CN)_6^{3-}$ indirgenir ve oluşan $Fe(CN)_6^{4-}$, Fe^{+3} ile tepkimeye girerek 700 nm'de maksimum absorbsiyon veren $Fe[Fe(CN)_6]^-$ kompleksini oluşturur (Hue ve ark., 2012). Reaksiyon sonucu koyu mavi renk kompleks oluşur ve kompleksin absorbanı ne kadar yüksekse indirgeme gücü de o kadar yüksek olur.

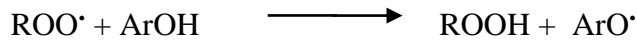


Numunelerin indirgeme gücü Oyaizu (1986) metoduna göre belirlenmiştir. Drogların 5 farklı konsantrasyonda metanolik çözeltileri hazırlanmıştır (0,4-0,025 mg/ml). Hazırlanan her bir çözeltiden deney tüplerine 2,5 ml numune alınmıştır. Her birinin üzerine 0,2 M 2,5 ml fosfat

tamponu ve %1'lik potasyum ferrsiyonür çözeltisinden ilave edilmiştir. Tüpler 50 °C'de 20 dakika boyunca su banyosunda inkübe edilmiştir. Daha sonra 2,5 ml %10'luk trikloroasetik asit (TCA) ilave edilip, 10 dakika boyunca 3000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süpernatandan 2,5 ml alınarak başka tüplere aktarılmıştır ve 2,5 ml deiyonize su eklenmiştir. %1'lik FeCl₃ ilave edildikten sonra oluşan yeşil renkli çözeltilerin absorbanları spektrofotometrede 700 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Uygun hesaplamalar ile sentetik antioksidanlar ve numune için FRAP değeri hesaplanmıştır. Standart olarak askorbik asit (0,4-0,025 mg/ml) kullanılmıştır.

2.2.4. β- Karoten- Linoleik Asit Emülsiyon Yöntemi

Bu metot, linoleik asidin ısı ve hava oksidasyonu sonucu oluşan alkil peroksitler tarafından beta karotenin renk açılımının 470 nm'de spektrofotometrik olarak izlenmesi temeline dayanır. Çözücü ve pH etkisinden bağımsız olan bu reaksiyon hidrojen atom transferi ile çok kısa sürede gerçekleşir.



Metod Kaur ve Kapoor'un (2002) β-karoten-linoleik asit emülsiyon sistem metoduna göre yapılmıştır. İlk olarak β-karoten linoleik asit emülsiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Bu işlem için 0,2 mg β- karoten, 1 ml kloroformda çözülerek üzerine % 60'luk 0,02 ml linoleik asit çözeltisi ve 200 mg Tween 40 ilave edilmiştir. Kloroform 40 °C'de vakum altında evaporatörde tamamen uzaklaştırıldıktan sonra karışım oksijenle doyurulmuş olan 100 ml deiyonize suda çözülmüştür. Şiddetli şekilde karıştırılmıştır.

Numunelerin ve karşılaştırılmak üzere kullanılan sentetik antioksidan BHA ve BHT'nin konsantrasyonu 2 mg/ml olacak şekilde metanolde hazırlanmıştır. Deney tüplerine hazırlanmış olan numune, BHA ve BHT çözeltilerinden 0.2'şer ml alınarak üzerlerine 4.8 ml hazırlanan emülsiyon çözeltisinden ilave edilmiştir. Kontrol numunesi olarak metanol kullanılmıştır. İçerisine 0,2 ml metanol alınan tüpe 4,8 ml β-karoten-linoleik asit emülsiyon çözeltisi eklenmiştir. Deney tüplerindeki numunelerin ve kontrol çözeltisinin absorbanı 470 nm'de okunmuştur (A₀). Ardından 50 °C'de su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Bu andan itibaren inkübasyondaki çözeltilerin absorbanı her 15 dakikada bir olmak üzere toplam 120 dakika boyunca okunmuştur. Bu absorbanlardan yararlanılarak absorban değişim oranı (ΔA) ve buna bağlı olarak da % oksidasyonu engelleme katsayıları hesaplanmıştır.

$$\text{Absorbans değişimin oranı } ((\Delta A)) = \frac{\ln (A_0 / A_t)}{t}$$

$A_0 = t_0$ anındaki absorbans

$A_t = t$ anındaki absorbans ($t= 120$ dk)

$$\% \text{ Oksidasyonu engelleme} = \frac{[AO_{(\text{kontrol})} - AO_{(\text{numune})}]}{AO_{(\text{kontrol})}} \times 100$$

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu

Örneklerin içerdiği toplam fenolik madde miktarları 1 g ekstre içindeki mg Gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

Tablo 1. Fenolik madde miktarları

Bölge Adı	mg GAE/g ekstre
Batıyaz	80,75 ± 15,34
Çakallı	60,12 ± 12,67
Çetenli	34,82 ± 1,59
Hassa	39,84 ± 12,48
Kırıkhan	84,39 ± 9,06
Kuruyer	169,49 ± 6,77
Üzümdalı	21,99 ± 3,64

Tablo 1’de görüldüğü gibi toplam fenolik madde içeriği en yüksek bölge Kuruyer, en düşük bölge ise Üzümdalı’dır. Örneklerin toplam fenolik madde içerikleri 21,994 – 169,487 aralığındadır. Fenolik madde miktarları yüksekten düşüğe doğru Kuruyer > Kırıkhan > Batıyaz > Çakallı > Hassa > Çetenli > Üzümdalı şeklindedir. İzmir Zeytincilik Araştırma Enstitüsünden toplanan zeytin yapraklarında bu miktar 197,42 mg GAE/g olarak bildirilmiştir (Aytul, K.K., 2010). Kilis yağlık çeşidi zeytin yapraklarında toplam fenolik madde içeriği 103,35 mg GAE/g, Kilis Gemlik çeşidinde ise 97,14 mg GAE/g olarak bildirilmiştir (Doğançay, G., 2013).

3.2. DPPH Radikal Süpürme Etkisi

Örneklerin ve sentetik antioksidanlar BHA ve BHT'nin % inhibisyon değerleri hesaplanarak Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Örnekler ve sentetik antioksidanların % inhibisyon değerlerinin karşılaştırılması

	Konsantrasyon (mg/ml)				
	5	2,5	1,25	0,625	0,3125
BHA	96,92 ± 0,45	96,92 ± 0,32	96,69 ± 0,14	96,13 ± 0,38	93,75 ± 0,55
BHT	92,09 ± 3,34	89,54 ± 4,99	85,88 ± 6,58	82,33 ± 4,85	69,38 ± 3,10
Batıayaz	95,53 ± 0,11	93,34 ± 0,29	87,66 ± 0,73	83,96 ± 1,81	62,49 ± 1,07
Çakallı	91,75 ± 0,62	90,00 ± 0,55	87,62 ± 0,87	76,43 ± 4,17	63,72 ± 3,84
Çetenli	91,67 ± 0,79	88,26 ± 0,43	75,63 ± 0,79	56,48 ± 1,28	43,86 ± 1,10
Hassa	88,51 ± 2,56	76,15 ± 3,59	52,86 ± 2,33	41,99 ± 0,95	35,29 ± 1,19
Kırıkhan	96,92 ± 0,21	95,06 ± 0,12	92,90 ± 1,29	91,11 ± 0,13	70,99 ± 5,54
Kuruyer	96,19 ± 0,46	95,69 ± 0,05	94,22 ± 0,06	91,38 ± 0,29	85,65 ± 0,30
Üzümdalı	91,00 ± 0,19	80,39 ± 0,56	58,12 ± 0,63	44,79 ± 1,20	36,64 ± 1,33

% İnhibisyon değeri ne kadar yüksekse radikali süpürme etkisi o kadar fazladır. Tablo 2'de görüldüğü gibi tüm bölgeler yüksek derişimde yüksek inhibisyon göstermiştir. Kuruyer ve Kırıkhan bölgesi düşük derişimlerde de yüksek inhibisyon değerine sahip olup sentetik antioksidan olan BHT'den daha yüksek antioksidan etki göstermiştir. Hassa ve Üzümdalı ise antioksidan aktivitesi en düşük bölgelerdir.

Bouaziz ve Sayadi, Metanol-su kullanarak elde edilen zeytin yaprağı ekstraktının IC₅₀ değerinin, BHT'den daha yüksek, dolayısıyla daha düşük radikal süpürme etkisine sahip olduğunu bulmuşlardır. Harp, Gemlik, Domat, Adana Topağı ve Adana Yerli zeytin yapraklarının etanol-su kullanılarak elde edilen zeytin yaprağı ekstraktlarının BHT' den daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmiştir.

3.3. FRAP İndirgeme Gücü

Örneklerin molar absorplama katsayılarının, askorbik asidin molar absorplama katsayısına bölünmesiyle FRAP değerlerine ulaşılmıştır. Örnekler ile sentetik antioksidanlar BHA ve BHT'nin hesaplanan FRAP değerleri Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Örneklerin FRAP değerleri

Örnekler	FRAP Değerleri
BHA	0,96 ± 0,03
BHT	0,33 ± 0,004
Batıayaz	0,11 ± 0,01

Çakallı	0,15 ± 0,01
Çetenli	0,19 ± 0,002
Hassa	0,15 ± 0,01
Kırıkhan	0,21 ± 0,02
Kuruyer	0,41 ± 0,05
Üzümdalı	0,14 ± 0,03

Tablo 3'te görüldüğü üzere en yüksek indirgeme kapasitesi BHA'ya aittir. Ancak BHT'nin indirgeme gücü örnek Kuruyer'den daha düşük değerde kalmıştır. Örnekler kendi aralarında kıyaslandığında ise Kuruyer'den sonra en büyük indirgeme kapasitesi Kırıkhan'a aittir. Salah ve ark., Tunus bölgesinden toplanan farklı tür zeytin yapraklarında yapılan incelemelerde FRAP değerleri 0,54 ve 0,83 aralığında olduğunu belirlemişlerdir.

3.4. β- Karoten- Linoleik Asit Emülsiyon Yöntemi

Belirli zamanlarda ölçülen absorbans değerleri kullanılarak örneklerin ve sentetik antioksidanlar olan BHA ve BHT'nin % inhibisyon değerleri hesaplanmış ve Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. % İnhibisyon değerleri

Örnekler	% İnhibisyon
BHA	98,5 ± 1,05
BHT	95,58 ± 1,73
Batıyaz	69,81 ± 7,88
Çakallı	47,96 ± 8,32
Çetenli	55,23 ± 5,19
Hassa	41,32 ± 2,83
Kırıkhan	69,99 ± 3,27
Kuruyer	65,49 ± 2,35
Üzümdalı	72,89 ± 5,52

% İnhibisyon değeri ne kadar fazla ise oksidasyonu engelleme aktivitesi o kadar yüksektir. Yani % İnhibisyon değeri büyük olan kuvvetli antioksidandır. % İnhibisyon değerleri yüksekten düşüğe doğru sıralandığında Üzümdalı > Kırıkhan > Batıyaz > Kuruyer > Çetenli > Çakallı > Hassa şeklinde olduğu Tablo 4'te görülmektedir. Chemlali ve Chetoui çeşitleri %70 inhibisyon değeri ile BHT kadar güçlü antioksidan etkiye sahip olup, Lucques, Meski, Sevilane, Gerboua ve Limouni çeşitleri eşit inhibisyon değerine sahip ve daha az etkili, Rosicola çeşidinin ise en düşük aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

4. Sonuçlar ve Öneriler

Elde edilen sonuçlara göre Hatay bölgesinde yetiştirilen zeytin ağacı yapraklarının yüksek antioksidan etkiye sahip olduğundan serbest radikallerin yol açtığı hasarlı hücre oluşumunu önleyebileceği, aynı zamanda ucuz, güvenli ve kolay ulaşılabilir olduğundan çeşitli amaçlarla standart antioksidanlar olan BHA ve BHT'ye alternatif olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Teşekkür

Bu çalışma, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 9461 nolu proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Agalias A., Melliou E., Magiatis P., Mitaku S., Gikas E., Tzarbopoulos A. (2005). Quantitation of oleuropein and related metabolites in decoctions of *Olea europaea* leaves from ten Greek cultivated varieties by HPLC with diode array detection (HPLC-DAD), *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 28,1557-1571.
- Aytul, K.K., (2010). *Zeytin Yaprağı Özütünün Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktiviteleri ve Gıda Uygulamaları*. Doktora Tezi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir.
- Bahloul, N., Nourhene, B., Kouhila, M., Kechaou, N., (2009). Effect of Convective Solar Drying On Colour, Total Phenols and Radical Scavenging Activity of Olive Leaves (*Olea Europaea L.*). *International Journal of Food Science and Techonology*, 44, 2561-2567.
- Bouaziz, M., Feki, I., Ayadi, M., Jemai, H., Sayadi, S., (2010). Stability of Refined Olive Oil and Olive-Pomace Oil Added by Phenolic Compunds From Olive Leaves. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112,894-905.
- Boudhrioua, N., Bahloul, N., Slimen, B.I., Kechaou, N., (2009). Comparison on The Total Phenol Contents and The Color of Fresh and Infrared Dried Olive Leaves. *Industrial Crops and Products*, 29, 412-419.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C., (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- Capasso, F., Simone F., Senatore F., 1982. Traditional phytotherapy in the Agri Villey, Lucania, Southern Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, 6, 243-250.
- Castro, M.D.L., Capote, F.P., (2010). Extraction of Oleuropein and Related Phenols From Olive Leaves and Branches. *Olives and Olive Oil in Health Disease Prevention*, 28, 259-273.
- Doğançay, G. (2013). *Sulanan ve Sulanmayan Koşullarda Bazı Zeytin Çeşitlerinin Yapraklarındaki Biyoaktif Bileşiklerin Mevsimsel Değişimi*. Yüksek Lisans Tezi, Yedi Aralık Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Kilis.
- El-Nehir, S., Karakaya, S., (2009). Olive Tree (*Olea europaea*) Leaves: Potential Beneficial Effects on Human, *Nutrition Reviews*, 11, 632-638.
- Erbay, Z., İçier, F., (2008). Zeytin Ağacından Faydalanmanın Yeni Bir Yolu Olarak Zeytin Yaprağı ve Gıda Endüstrisindeki Potansiyel Uygulama Alanları, *Akademik Gıda* 6 (3), 27-36.
- Ferreira, I.C.F.R., Barros, L., Soares, M.E., Bastos, M.L., Pereira, J.A., (2007). Antioxidant Activity and Phenolic Contents of *Olea europaea L.* Leaves Sprayed with Different Copper Formulations, *Food Chemistry*, 103,188-195.
- Guinda, A., Albi, T., Perez – Camino, M., Lanzon, A., (2004). Supplementation of oil with oleanolic acid from olive leaf (*Olea europea*), *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106, 22-26.

- Harp, F., (2011). *Gemlik, Domat, Adana Topağı ve Adana Yerli Zeytin Yapraklarının Antioksidan Etkilerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Hue, S.M., Boyce, A.N., Somasundram, C., (2012). Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents in the leaves of different varieties of sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Australian Journals of Crop Science* 6(3), 375-380.
- Jemai, H., El Feki, A., Sayadi, S., (2009). Antidiabetic and Antioxidant Effect of Hydroxytyrosol and Oleuropein from Olive Leaves in Alloxan-Diabetic Rats, *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 57, 8798-8804.
- Kaur, C. and Kapoor, H.C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science & Technology*, 37, 153-161.
- Oyaizu, M., (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine, *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Salah, M. B. Abdelmelek H., Abderraba M. (2012). Study of Phenolic Composition and Biological Activities Assessment of Olive Leaves From Different Varieties Grown in Tunisia, *Medicinal Chemistry*, 2(5), 107-111.
- Silva, S., Gomes, L., Leitao, F., Coelho, A.V., Vilas Boas, L., (2006). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Olea europaea* L. Fruits and Leaves, *International Food Science and Technology*, 12, 385-396.
- Tsimidou, M.Z., Papoti, P.V., (2010). *Bioactive Ingredients in Olive Leaves*, London: Elsevier Inc, 349-356.
- Ziyyat A., Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M., Benjelloun W., (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco, *Journal of Ethnopharmacology*, 58, 45-54.