

## Farklı Miktarlarda Meşe Yapağı ile Beslenen Kuzularda Redükte Glutasyon, Malondialdehit, $\beta$ -Karoten ve Retinol Düzeylerinin Araştırılması <sup>[1]</sup>

Onur ATAKIŞI\*  Sena ÇENESİZ\*\* Ayla ÖZCAN\* Emine ATAKIŞI\* Dilek AKSU ELMALI\*\*\* Ahmet ÖNCÜER\*\*\*

[1] Bu araştırma Uluslararası Atom Enerjisi (IAEA) Tarafından (Proje No: TUR10272) Kısmen Desteklenmiştir

\* Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Paşaçayırı, Kars – TÜRKİYE

\*\* Ondakuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Samsun – TÜRKİYE

\*\*\* Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Paşaçayırı, Kars - TÜRKİYE

Yayın Kodu (Article Code): 2008/24-A

### Özet

Çalışmada, farklı miktarlarda tüketilen meşe yaprağının (*Quercus hartwissiana*), polietilen glikol (PEG) varlığında ya da yokluğunda, redükte glutasyon (GSH), malondialdehit (MDA),  $\beta$ -karoten ve retinol gibi oksidan/antioksidan sistemde rolü olan parametrelere etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada materyal olarak canlı ağırlık ortalaması 33.0±0.7 kg olan 42 kuzu kullanıldı. Her grupta 6 kuzu olacak şekilde 7 gruba ayrıldı. Deneme boyunca bireysel kafeslerinde barındırılan hayvanlara kuru madde bazında 272 g konsantre yem ve değişik miktarlarda kuru ot verildi. *Grup 1*: Standart rasyon (Kontrol), *Grup 2*: 185 g meşe yaprağı ve 0 g PEG; *Grup 3*: 185 g meşe yaprağı +10 g PEG; *Grup 4*: 185 g meşe yaprağı + 20 g PEG; *Grup 5*: 370 g meşe yaprağı; *Grup 6*: 370 g meşe yaprağı + 20 g PEG; *Grup 7*: 370 meşe yaprağı + 40 g PEG verilerek beslendi. Tüm hayvanlardan denemeye başlanıldığı gün (kontrol), 30. ve 60. günlerinde kan numuneleri toplandı. Tam kanda GSH, plazmada MDA,  $\beta$ -karoten ve retinol düzeyleri kolorimetrik olarak saptandı. Kaba yem kaynağı olarak katılan meşe yaprağının PEG varlığında ya da yokluğunda lipid peroksidasyonun belirteci olan MDA, antioksidan özelliğe sahip GSH, retinol ve  $\beta$ -karoten düzeylerinde istatistik olarak önemli bir farka neden olmadığı tespit edildi. Gruplar günlere göre mukayese edildiğinde sadece *Grup 4*'teki 60. gün MDA düzeyinin diğerlerine göre istatistik olarak düşük ( $P<0.05$ ) olduğu bulundu. Bu sonuçlara bakılarak meşe yaprağının antioksidatif parametreler yönünden olumlu ya da olumsuz bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

**Anahtar sözcükler:** Meşe yaprağı, Redükte glutasyon, Malondialdehit, Retinol, Kuzu


## Reduced Glutathione, Malondialdehyde, $\beta$ -Carotene and Retinol Levels in Lambs Fed with Various Amounts of Oak Leaves

### Summary

In this study, it is aimed to investigate the effects of different amounts of oak leaves (*Quercus hartwissiana*) consumed with or without polyethylene glycol (PEG) on the levels of reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA),  $\beta$ -carotene and retinol. Forty two lambs with the average body weight 33.0±0.7 kg were used as the animal material in the study. The animals were divided into 7 groups each containing 6 lambs. The lambs housed in individual cages were fed with 272 g concentrate feed and various amounts of dried hay with the following feeding regimen: *Group 1*: Standard ration (Control); *Group 2*: 185 g oak leaf plus 0 g PEG; *Group 3*: 185 g oak leaf plus 10 g PEG; *Group 4*: 185 g oak leaf plus 20 g PEG; *Group 5*: 370 g oak leaf; *Group 6*: 370 g oak leaf plus 20 g PEG; *Group 7*: 370 g oak leaf plus 40 g PEG. Blood samples were collected from all animals on day 0 (control), 30 and 60. Levels of whole blood GSH, plasma MDA,  $\beta$ -carotene and retinol were measured colorimetrically. It was determined that oak leaves added to rations as roughage did not affect GSH, MDA, retinol and  $\beta$ -carotene levels in the presence or absence of PEG. In daily comparison of groups, only group 4 (60th day) had significantly decreased MDA levels as compared to others ( $P<0.05$ ). According to the results, it could be concluded that oak leaves do not cause alterations in the selected antioxidant parameters in lambs.

**Keywords:** Oak leaf, Reduced glutathione, Malondialdehyde, Retinol, Lamb

 İletişim (Correspondence)

 +90 474 2426801/1150

 onuratakisi@hotmail.com

## GİRİŞ

Gelişmekte olan veya tarım alanları yetersiz olan ülkelerde, hayvansal üretim yem kaynaklarının kalitesine ve miktarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir <sup>1,2</sup>. Hayvansal üretim bir taraftan tarım alanlarının, diğer taraftan ise sert iklim koşullarına bağlı yem üretimindeki yetersizliklerden etkilenmektedir. Dünyanın çeşitli bölgelerinde değişik yaprak türlerinin ruminant beslenmesinde kullanıldığı kaydedilmektedir <sup>3,4</sup>. Türkiye'nin kuzey doğusundaki hayvan yetiştiriciliği de, merada otlama zamanı ve uzun geçen kış şartlarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir <sup>5</sup>. Dünyanın diğer bölgelerinde olduğu gibi bu bölgede doğal olarak yetişen meşe yaprağının (*Quercus hartwissiana*) ruminant beslenmesinde kullanılabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda meşe yaprağı türlerinin yüksek düzeyde tanen içerdiği kaydedilmektedir <sup>6,7</sup>. Tanenin organizmada proteinle birleşip kompleks yapılar oluşturmaktan dolayı, ruminatlarda besin alımı, sindirimi ve verim özelliklerinde azalma gibi olumsuz etkilerinin olabileceği bildirilmektedir <sup>8-10</sup>. Organizmada tanenden kaynaklanan bu olumsuz etkinin, glikollerle kompleks oluşturmak suretiyle ortadan kaldırılabileceği rapor edilmektedir <sup>11,12</sup>. Tanenler büyük yapısal farklılıklar gösteren polifenolik bileşikler olduğundan dolayı, bu bileşiklerin radikal temizleyici ve antioksidan etkiye sahip olduğu kaydedilmiştir <sup>13,14</sup>. İnsan ve hayvan besininde kullanılan bitkisel kaynaklı polifenollerin antioksidan olarak etki edebileceği ve bu tür bileşiklerin kalp hastalıkları riskini azaltabileceği gibi bazı kanser türlerine karşı koruyucu etki sağlayabileceği de kaydedilmektedir <sup>15</sup>. Önemli antioksidanlardan biri olan redükte glutatyon (GSH), küçük molekül ağırlıklı ve suda eriyebilen, yapısında  $\gamma$ -glutamin, sistein ve glisin amino asitlerini bulduran bir tripeptittir <sup>16,17</sup>. Polifenolik bileşiklerin antioksidan özelliğe sahip olduğunu bildiren çalışmalar bulunmasına rağmen <sup>14,18</sup>, bu tür bileşikleri içeren maddelerin dışarıdan alınmasının antioksidan sistemde rol alan parametreleri nasıl etkilendiğine dair araştırmaya rastlanmamıştır.

Bu nedenle çalışmada, farklı miktarlarda tüketilen meşe yaprağının, polietilen glikol (PEG) varlığında ya da yokluğunda GSH, malondialdehit (MDA),  $\beta$ -karoten ve retinol gibi oksidan/antioksidan sistemde rolü olan parametrelerin düzey-

lerini ne yönde etkilediğinin araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Bu araştırma Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Uygulama ve Araştırma Çiftliği'nde beslenen Tuj ırkı kuzular üzerinde yürütülmüştür. Kuzuların beslenmesi ve rasyon içeriği, grupların oluşturulması, örnekleme zamanları ve alınan örneklerin biyokimyasal analiz yöntemleri aşağıda belirtildiği şekilde yapılmıştır.

**a) Bitki materyali:** Çalışmada usulüne uygun olarak toplanan, kurutulan ve depolanan meşe yaprakları kullanıldı.

**b) Hayvan Materyali ve Numunelerin Toplanması:** Çalışmada canlı ağırlık ortalaması  $33.0 \pm 0.7$  kg olan, klinik olarak sağlıklı 42 Tuj ırkı kuzu kullanıldı. Hayvanlar bireysel kafeslerine konularak 7 eşit gruba ayrıldı. Adaptasyonu sağlamak için yaklaşık 2 hafta boyunca bu kafeslerde barındırıldı. Çalışmada hayvanların beslenmesinde kullanılan toplam rasyon içeriği, hayvanların günlük besin madde ve enerji ihtiyacı hesaplanarak yapıldı (Tablo 1). Hayvanlar 60 gün boyunca 2 öğün (08:00 ve 16:00) beslendi. Konsantre yem içeriği arpa, tuz ve ticari mineral-vitamin karışımından (980:10:10 g/kg) oluştu <sup>19</sup>. Denemeye başlandığı gün (kontrol), denemenin 30 ve 60. günlerinde *V. jugularis*'ten EDTA'lı tüplere kan alındı. GSH tayini yapmak için bir miktar kan 1.5 ml hacmindeki plastik tüplere ayrıldı. Kalan numuneler 3000 rpm'de 15 dak. santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Tüm numuneler analiz yapılmaya kadar  $-40^{\circ}\text{C}$ ' de saklandı.

**c) Biyokimyasal Analiz:** Plazma retinol ve  $\beta$ -karoten düzeyleri, Suzuki ve Katoh <sup>20</sup>, tarafından belirlenen yöntemle göre, plazma MDA düzeyleri Yoshioko ve Kawada tarafından belirlenen ve tiyobarbütirik asit (TBA) reaktivitesi temeline dayanan yöntemle <sup>21</sup> göre, tam kan GSH düzeyi ise Beutler ve ark. <sup>22</sup> tarafından belirtilen yöntemle göre spektrofotometrede (UV-1201, Shimadzu, Japan) kolorimetrik olarak ölçüldü.

**d) İstatistiksel Analizler:** Çalışmadan elde edilen verilerin istatistik analizlerinin hesap-

lanmasında SPSS Windows 10.0 paket programından yararlanıldı. Gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde one-way ANOVA testinden faydalanıldı. Sonuçlar; ortalama±standart hata ( $\bar{x}\pm S_x$ ) olarak verildi.

**Tablo 1.** Gruplara göre rasyon içeriği (kuru madde (g)/gün)  
**Table 1.** The content of rations according to the group (dry matter (g)/day)

Grup (n = 6)	Meşe Yaprağı	Polietilen Glikol	Konsantre Yem	Kuru Ot Karışımı (Çayır otu 0.55+ Yonca 0.45)
Grup 1	-	-	272	645
Grup 2	185	-	272	460
Grup 3	185	10	272	460
Grup 4	185	20	272	460
Grup 5	370	-	272	275
Grup 6	370	20	272	275
Grup 7	370	40	272	275

## BULGULAR

Farklı miktarlarda rasyona katılan meşe yaprakları ile beslenen kuzulara ait tam kan GSH, plazma MDA, retinol ve  $\beta$ -karoten düzeyleri sırasıyla Tablo 2-5'te sunulmuştur.

Her bir gruba ait tam kan GSH, plazma MDA, retinol ve  $\beta$ -karoten değerleri deneme süresince kıyaslandığında istatistik olarak önemli bir farkın olmadığı tespit edilmiştir. Deneme süresince gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde 60. güne ait Grup 4'te saptanan MDA düzeyinin diğer gruplara göre istatistik olarak düşük ( $P<0.05$ ) olduğu saptandı.

**Tablo 2.** Kuzulara ait tam kan GSH düzeyleri (mg/dl)  
**Table 2.** Whole blood GSH levels of lambs (mg/dl)

Gruplar	Kontrol	30. Gün	60. Gün	P
Grup 1	20.10±0.77	19.72±0.9	20.05±0.82	-
Grup 2	18.60±0.49	20.73±0.94	20.82±0.86	-
Grup 3	20.18±0.45	20.78±0.97	20.94±0.53	-
Grup 4	19.85±0.57	19.86±0.49	20.91±0.70	-
Grup 5	20.83±0.66	20.92±0.68	20.01±0.37	-
Grup 6	19.86±0.63	19.90±0.79	20.50±0.51	-
Grup 7	21.51±0.57	21.47±0.54	21.10±0.19	-
P	-	-	-	-

**Tablo 3.** Kuzulara ait plazma MDA düzeyleri (mmol/L)  
**Table 3.** Plasma MDA levels of lambs (mmol/L)

Gruplar	Kontrol	30. Gün	60. Gün	P
Grup 1	3.30±0.11	3.59±0.12	3.46±0.16 <sup>abc</sup>	-
Grup 2	3.29±0.13	3.35±0.11	3.54±0.12 <sup>abc</sup>	-
Grup 3	3.11±0.29	3.69±0.07	3.56±0.12 <sup>abc</sup>	-
Grup 4	3.12±0.19	3.21±0.26	3.04±0.22 <sup>c</sup>	-
Grup 5	3.46±0.06	3.69±0.06	3.66±0.14 <sup>ab</sup>	-
Grup 6	3.64±0.11	3.84±0.18	4.07±0.27 <sup>a</sup>	-
Grup 7	3.42±0.19	3.60±0.14	3.70±0.18 <sup>ab</sup>	-
P	-	-	*	-

\*Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklar önemlidir ( $P<0.05$ )

**Tablo 4.** Kuzulara ait plazma retinol düzeyleri (mg/dl)  
**Table 4.** Plasma retinol levels of lambs (mg/dl)

Gruplar	Kontrol	30. Gün	60. Gün	P
Grup 1	35.97±2.10	29.40±1.61	27.32±3.59	-
Grup 2	32.90±1.76	33.14±2.37	31.34±3.16	-
Grup 3	37.01±3.9	27.73±1.06	29.79±4.53	-
Grup 4	34.07±2.69	30.46±1.91	32.37±4.45	-
Grup 5	33.70±3.4	33.13±3.8	27.43±2.7	-
Grup 6	37.76±2.32	32.43±3.68	30.34±2.49	-
Grup 7	36.88±1.31	32.85±1.64	34.59±3.66	-
P	-	-	-	-

**Tablo 5.** Kuzulara ait plazma  $\beta$ -karoten düzeyleri (mg/dl)  
**Table 5.** Plasma  $\beta$ -carotene levels of lambs (mg/dl)

Gruplar	Kontrol	30. Gün	60. Gün	P
Grup 1	16.86±1.31	15.56±0.98	16.28±3.05	-
Grup 2	16.79±2.7	17.70±2.56	17.37±3.31	-
Grup 3	20.64±2.51	14.85±0.35	15.92±1.79	-
Grup 4	15.42±1.19	14.47±0.32	17.59±2.52	-
Grup 5	17.57±1.81	15.82±0.96	16.14±2.19	-
Grup 6	21.77±1.85	17.52±3.07	16.69±2.22	-
Grup 7	20.75±1.16	16.86±0.45	18.17±1.61	-
P	-	-	-	-

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Tanenler birçok bitki ve ağaç yaprağında bulunan ve toplam fenolik maddelerin yaklaşık yarısını oluşturan bileşiklerdir<sup>23</sup>. Fenolik bileşiklerin tüketimi ile serbest radikaller tarafından kaynaklanan hastalıklar arasında negatif ilişkinin saptanmasından sonra fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri ile ilgili çalışmalara ilgi artmıştır. Fenolik bileşiklerin antioksidan olarak etki gösterebileceği ve bu etkilerinin genellikle kimyasal yapılarından ve serbest radikal temizleyici

özelliklerinden kaynaklandığı<sup>18,24</sup>, tanen konsantrasyonu ile oksidan aktivite arasında negatif bir ilişkinin olduğu bildirilmektedir<sup>25</sup>. Türkiye'nin kuzeydoğusunda yetişen meşe yaprağındaki tanen içeriğinin belirlenmesi ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada, toplam polifenolik bileşik ve total tanen düzeyleri 70.5 ve 63.7 g/kg kuru madde olarak belirlenmiş ve bu değerlerin yüksek olduğu kaydedilmiştir<sup>19</sup>. Çin'de yetişen bazı bitkilerin yapraklarından taze hazırlanmış özütlerinin serbest radikal temizleyici etkiye sahip olduğu, bu etkinin yaprakların yapısında bulunan tanen ve flavonoidlerin miktarıyla doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir<sup>26</sup>.

Doğal polifenolik bileşiklerin, yüksek yağlı diyetle beslenen ratların lipid profiline etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, polifenolik bileşiklerden olan tannik asit ve morin'in plazma ve karaciğer lipid düzeyinde azalmaya neden olduğu kaydedilmiştir<sup>27</sup>. Yaptığımız çalışmada deneme süresince serbest radikal hasarının önemli bir belirteci olan MDA düzeylerinde istatistik olarak bir farkın olmadığı görüldü. Grup 4'te (185 g meşe yaprağı ve 20 g PEG) saptanan en düşük MDA düzeyi çalışmada kullanılan yaprağın MDA düzeyini azalttığını göstermesi açısından önemlidir. Elde edilen bu sonuç, yöremizde yetişen meşe yaprağının lipid peroksidasyonunu arttırmak suretiyle organizmada herhangi bir olumsuz etkiye neden olmayacağını göstermesi açısından oldukça önemlidir.

Yapısında  $\gamma$ -glutamin, sistein ve glisin amino asitlerini bulunduran bir tripeptit olan GSH'nin antioksidan özelliğinin yanında önemli başka bir fonksiyonu da detoksifikasyon reaksiyonlarında rol oynamasıdır<sup>16,17</sup>. Polifenolik bileşiklerin antioksidan özelliğe sahip olduğunu bildiren çalışmalar bulunmasına rağmen<sup>14,18</sup>, bu tür bileşikleri içeren besinlerin dışardan alınmasının GSH düzeyini ne yönde etkilendiğine dair araştırmaya rastlanılmamıştır. Akdeniz bitki örtüsüne sahip yeşil yapraklı bitkilerin antioksidan ve karotenoid bileşiminin günlük olarak değişiminin incelendiği bir çalışmada, yaprakların antioksidan özelliklerinin depolama süresine göre değişim gösterdiği kaydedilmiştir<sup>28</sup>. Yapılan çalışmada denemenin başlangıcı ve sonu depolama süresi olarak değerlendirilirse, tam kan GSH değerlerinin depolama süresine göre değişim göstermediği görüldü. Gerek PEG verilen grupta gerekse verilmeyen diğer

gruplarda istatistik olarak önemli bir değişimin gözlenmemesi çalışmada kullanılan yaprak türünün önemli antioksidanlardan biri olan GSH düzeyine etkisinin olmadığını açıkça göstermiştir.

Vitaminler canlıların yaşamını normal sürdürebilmesi için gerekli olan organik maddelerdir. Vitamin A yağda çözünür ve organizmaya doğada ön maddesi olan  $\beta$ -karoten şeklinde alınır<sup>29,30</sup>. Yağda çözünen vitaminlerden biri olan retinol'ün antioksidan özelliğe sahip özellik gösterebileceği bildirilmektedir<sup>31,32</sup>. Bu vitaminlerin kandaki düzeyini belirlemek organizmadaki antioksidatif durumun belirlenmesi açısından oldukça önemlidir. Yapılan araştırmada retinol ve  $\beta$ -karoten düzeyleri, farklı miktarlarda meşe yaprağı verilen gruplarda deneme süresince izlendiğinde kısmi azalmalar olsa da istatistik olarak önemli bir fark bulunmadığı görüldü.

Sonuç olarak meşe yaprağının MDA, GSH, retinol ve  $\beta$ -karoten düzeylerinde istatistik olarak değişikliğe neden olması tespit edildi. Bu sonuçlara göre ölçülen parametreler açısından meşe yaprağının alternatif kaba yem kaynağı olarak kullanılabilirliği ve daha fazla araştırma yapılarak eksik kalan kısımların tamamlanmasının uygulamada yararlı olabileceği düşünülmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. **Makkar HPS, Becker K:** Effect of pH, temperature, and time on inactivation of tannins and possible implications in detannification studies. *J Agric Food Chem*, 44, 1291-1295, 1996 .
2. **Makkar HPS, Becker K:** Do tannins in leaves of trees and shrubs from Africa and Himalayan regions differ in level and activity? *Agro Forestry Systems*, 40, 59-68, 1998.
3. **Makkar, HPS, Singh B:** Effect of storage and urea addition on detannification and in sacco dry matter digestibility of mature oak (*Quercus incana*) leaves. *Anim Feed Sci Technol*, 41, 247-259, 1993.
4. **Makkar HPS, Dawra RK, Singh B:** Changes in tannin content, polymerisation and protein precipitation capacity in oak (*Quercus incana*) leaves with maturity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 44 (4): 301-307, 1988.
5. **Akçapınar H, Özbeyaz C:** Hayvan yetiştiriciliği temel bilgileri. Kariyer matbaacılık. Ankara,1999.
6. **Makkar, HPS, Singh B:** Effect of steaming and autoclaving oak (*Quercus incana*) leaves on levels of tannins, fibre and lignin and in sacco dry matter digestibility. *J Sci Food Agric*, 59, 469 - 472, 1992b.
7. **Makkar HPS, Singh B:** Detannification of oak leaves: Treatments and their optimization. *Anim Feed Sci Technol*, 36,113-127, 1992c.

8. **Prasad R, Kumar R, Vaithianathan S, Patnayak BC:** Effect of polyethylene glycol-4000 treatment up on nutrient utilization from khejri (*Prosopis cineraria*) leaves in sheep. *Indian J Anim Sci*, 67 (8): 712-715, 1997.
9. **Kumar R, Vaithianathan S:** Occurrence, nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. *Anim Feed Sci Technol*, 30, 21- 38, 1990.
10. **Nguyen TM, Binh DV, Ørskov ER:** Effect of foliages containing condensed tannins and on gastrointestinal parasites. *Anim feed Sci Tech*, 121 (1-2): 77-87, 2005.
11. **Makkar HPS, Blümmel M, Becker K:** Formation of complexes between polyvinily pyrrolidones or polyethylene glycols and their implication in gas production and true digestibility in vitro techniques. *Br J Nutr*, 73, 897-913, 1995.
12. **Kumar R:** Prosopis cineraria leaf tannins: their inhibitory effect upon ruminal cellulase and the recovery of inhibition by polyethylene glycol-4000. In, Hemingway RW, Lakh PE (Eds): Plant Polyphenols, Synthesis, Properties, Significance. Plenum Press, New York, pp. 699-704, 1992.
13. **Vundać VB, Brantner AH, Plazibat M:** Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys taxa*. *Food Chem*, 104, 1277-1281, 2007.
14. **Barahona R, Lascano CE, Cochran R, Morrill J, Tigemeyer E:** Intake digestion and nitrogen utilization by sheep fed typical legumes with tannin concentration and astringency. *J Anim Sci*, 75 (6): 1663-1640, 1997.
15. **Emmons CL, Peterson DM:** Antioxidant activity and phenolic content of oat as affected by cultivar and location. *Crop Sci*, 41, 1676-1681, 2001.
16. **Wang W, Ballatori N:** Endogenous glutathione conjugates: Occurrence and biological functions. *Pharmacol Rew*, 50 (3): 336-355, 1999.
17. **Lu SC:** Regulation of hepatic glutathione synthesis: Current concepts and controversies. *FASEB*, 13, 1169-1183, 1999.
18. **Vundać VB, Brantner AH, Plazibat M:** Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys taxa*. *Food Chem*, 104, 1277-1281, 2007.
19. **Yildiz S, Kaya I, Unal Y, Aksu Elmali D, Kaya S, Cenesiz M, Kaya M, Oncuer A:** Digestion and body weight change in Tuj lambs receiving oak (*Quercus hartwissiana*) leaves with and without PEG. *Anim Feed Sci Technol*, 122, 159 - 172, 2005.
20. **Suzuki J, Katoh N:** A Simple an cheap methods for measuring serum vitamin A in cattle using only a spectrophotometer. *Jpn Vet Sci*, 52 (6): 1282-1284, 1990.
21. **Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M:** Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism aganist actived-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol*, 135, 372-376, 1979.
22. **Beutler E, Duran O, Kelley BM:** Improved method for determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*, 61, 882-888, 1963.
23. **Vaithianathan S, Kumar R:** Relationship between protein-precipitating capacity of fodder tree leaves and their tannin content. *Anim Feed Sci Technol*, 44 (3-4): 281-287, 1993.
24. **Iddhuraju P:** The antioxidant activity and free radical scavenging capacity of phenolics of raw and dry heated moth bean (*Vigna aconitifolia*) (Jacq.) Marechal seed extracts. *Food Chem*, 99, 149-157, 2006.
25. **Barbehenn RV, Jones CP, Karonen M, Salminen JP:** Tannin composition affects the oxidative activities of tree leaves. *J Chem Ecol*, 32 (10): 2235-2251, 2006.
26. **Fenglin H, Ruili L, Huang B, Liang M:** Free radical scavenging activity of extracts prepared from fresh leaves of selected Chinese medicinal plants. *Fitoterapia*, 75 (1): 14-23, 2004.
27. **Yugarani T, Tan BK, Teh M, Das NP:** Effects of polyphenolic natural products on the lipid profiles of rats fed high fat diets. *Lipids*, 27 (3): 181-186, 1992.
28. **Garcia-Plazaola JI, Artetxe U, Beceril JM:** Diurnal changes in antioxidant and carotenoid composition in the Mediterranean schlerophyll tree *Quercus ilex* (L) during winter. *Plant Sci*, 143 (2): 125-133, 1999.
29. **Hurley WL, Doane RM:** Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. *J Dairy Sci*, 72, 784-804, 1989.
30. **Salmanoğlu R, Baştan A, Salmanoğlu B, Küplülü Ş, Vural R:** Çeşitli fertilite proplemli Holstein ırkı ineklerde kan β-karoten, retinol, glikoz ve kolesterol düzeyleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 44, 151-157, 1997.
31. **Zamora R, Hidalgo FJ, Tappel AL:** Comparative antioxidant effectiveness of dietary β-carotene, vitamin E, selenium and coenzyme Q10 in rat erythrocytes and plasma. *J Nutr*, 12, 50-56, 1991.
32. **Keys SA, Zimmerman WF:** Antioxidant activity of retinol, glutathione, and taurine in bovine photoreceptor cell membranes. *Exp Eye Res*, 68, 693-702, 1999.