

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ SEBZELERDE YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI  
KROMATOĞRAFİSİ (HPLC) İLE FOLİK ASİT TAYİNİ

Harun ÇİFTÇİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

96375

ELAZIĞ – 2000

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ SEBZELERDE YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI  
KROMATOĞRAFİSİ (HPLC) İLE FOLİK ASİT TAYİNİ

Harun ÇİFTÇİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KİMYA ANABİLİM DALI

FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez, ..... Tarihinde Aşağıda Belirtilen Jüri Tarafından  
Oybirliği / Oyçokluğu İle Başarılı / Başarısız Olarak Değerlendirilmiştir.

(İmza)

(İmza)

(İmza)

---

**ÖZET****Yüksek Lisans Tezi****ÇEŞİTLİ SEBZELERDE YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI  
KROMATOĞRAFİSİ (HPLC) İLE FOLİK ASİT TAYİNİ****Harun ÇİFTÇİ****Fırat Üniversitesi****Fen Bilimleri Enstitüsü****Kimya Anabilim Dalı****2000, Sayfa: 43**

Bu çalışmada değişik sebze, meyve, sera sebzeleri, bazı hayvansal ürünler ve kuru tahıllardaki folik asit (pteroylglutamik asit) miktarları yüksek performanslı sıvı kromatografisi (high performance liquid chromatography; HPLC) ile belirlendi

Seçilen örnekler içerisinde en düşük folik asit düzeyi biber, patlıcan, pirinç ve salatalık' da en yüksek folik asit düzeyi nane, fıstık, fındık, yumurta sarısı, maydanoz, kabak ve karaciğer de belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** HPLC, Folik asit, Vitamin B9

**SUMMARY**

**Master Thesis**

**THE DETERMINATION OF FOLIC ACID LEVELS IN  
DIFFERENT VEGETABLES BY USING HIGH PERFORMANCE  
LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)**

**Harun ÇİFTÇİ**

**Firat University**

**Graduate School of Natural and Applied Sciences**

**Department of chemistry**

**2000, Page: 43**

In this study, different vegetables, fruits, ground vegetables, some products of animal and dried produce were determined with high performance liquid chromatography (HPLC)

Have low folic acid pepper, aubergine, rice and cucumber in the models et selected and high folic acid level were determined in peppermint, pistachio nut, hazel nut, yolk, parsley, pumpkin and liver.

**Key Words** : HPLC, Folic Acid, Vitamin B9

**TEŞEKKÜR**

Hazırladıđı uygun alıőma Őartlarında çalıőmamın gerçekleőmesini sađlayan ve bűyűk bir űzveri ile desteđini esirgemeyen hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. **Ahmet CANSIZ'** a sonsuz teőekkűrlerimi sunarım.

Çalıőmalarımın tűm aőamalarında yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, gűrűő ve dűőűnceleriyle çalıőmama yűn veren hocam Sayın Yrd.Doç.Dr. **Fikret KARATAŐ'**a sonsuz teőekkűr ve Őűkranlarımı sunarım.

**Harun ÇİFTÇİ**



**İÇİNDEKİLER**

ÖZET .....	II
SUMMARY.....	III
TEŞEKKÜR .....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	VII
TABLoların LİSTESİ .....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.2. Folik Asidin Kimyasal Özellikleri.....	2
1.2.1. Yapısı.....	2
1.2.2. Folik Asidin Metabolik Yönden Aktif Şekilleri .....	3
1.2.3. Folik Asidin Fiziksel Özellikleri .....	5
1.2.4. Folik Asit Sentezi .....	5
1.3. Folik Asidin Fonksiyonları .....	7
1.4. Folik Asit Yetmezliği .....	10
1.4.1. Folik Asit Yetmezliğinin Nedenleri.....	10
1.4.1.1. Yetersiz Alma.....	11
1.4.1.2. Yiyeceklerdeki Kayıplar .....	11
1.4.1.3. Emilmede Yetersizlik.....	11
1.4.1.4. Yetersiz Kullanılma.....	12
1.4.1.5. İhtiyacın Artması.....	12
1.4.2. Gebelikte Yetmezlik .....	12
1.4.3. Emziliklikte Yetmezlik.....	14
1.4.4. Folik Asit Yetmezliğinde Genel Bulgular .....	15
1.5. Folik Asit İhtiyacı.....	16

1.5.1. Emilmesi .....	18
1.5.2. Dışarı Atılması.....	21
1.5.3. Toksik Etkisi.....	22
1.6. Çeşitli Madde ve Hastalıklarla İlgisi .....	23
1.6.1. Alkolizm .....	23
1.6.2. Oral Kontraseptifler .....	25
1.6.3. Diğer Durumlarla İlgisi.....	25
1.7. Tayin Yöntemleri.....	28
1.7.1. Biyolojik Metot.....	28
1.7.2. Kimyasal Metot .....	29
1.7.3. Mikrobiyolojik Metot .....	29
1.7.4 Kromatografik Yöntem.....	29
1.8. Kan ve Yiyeceklerdeki Folik Asit Tayini.....	31
1.8.1. Yiyeceklerdeki Folik Asit Kaybı .....	31
2. MATERYAL VE METOT .....	33
2.1. Deneysel Şartların Optimizasyonu .....	33
3. BULGULAR .....	36
4. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	37
5. KAYNAKLAR.....	39

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

<b>Şekil 1.2.1.1.</b> Folik Asidin Kimyasal Yapısı ve Atomlarının Numaralandırılması .....	2
<b>Şekil 1.2.2.1.</b> Folik Asidin Metabolik Yönden Aktif Şekillerinin Birbirine Dönüşümleri .....	4
<b>Şekil 1.2.4.1.</b> Folik Asidin Mikroorganizmalarca Sentezlenmesi .....	5
<b>Şekil 1.2.4.2.</b> N <sup>5</sup> -N <sup>10</sup> -Metilen H <sub>4</sub> Folattan, Dezoksitimidilat Ve Dihidrofolat Açığa Çıkarmak İçin Metil Grubunun Dezoksitimidilata Transferi .....	6
<b>Şekil 1.2.4.3.</b> Folik Asidin Folat Redüktaz Enzimi Aracılığıyla İndirgenmesi .....	6
<b>Şekil 1.3.1.</b> Serinin Glisine Dönüşümü .....	8
<b>Şekil 1.3.2.</b> Hemositein'den Methionin Eldesi.....	8
<b>Şekil 1.3.3.</b> Timidilat Sentezi .....	9
<b>Şekil 1.7.4.1.</b> HPLC Cihazının Akım Şeması .....	30
<b>Şekil 2.1.1.</b> Folik Asidin Dalgaboyu İle Pik Yüksekliğinin Değişimi .....	34
<b>Şekil 2.1.2.</b> Çalışma Grafiği .....	34
<b>Şekil 2.1.3.</b> Standart Folik Asit Çözeltisinin Kromatogramı .....	35
<b>Şekil 2.1.4.</b> Kabak Numunesinin Kromatogramı .....	35
<b>Şekil 2.1.5.</b> Süt Numunesinin Kromatogramı .....	35

**TABLULARIN LİSTESİ**

<b>Tablo 1.1.</b> Pteroylglutamik Asitle İlgili Maddelere Daha Önceleri	
Verilen İsim ve Etkileri .....	2
<b>Tablo 1.2.2.1.</b> Tek Karbonlu Yapının 5 ve 10 Nolu Azota Bağlanmasıyla	
Şekillenen Folik Asidin Metabolik Yönden Aktif Şekilleri .....	3
<b>Tablo: 1.5.1.</b> Günlük Folik Asit Tüketim Standartları .....	17
<b>Tablo 1.5.2.</b> Günlük Yemeklerdeki Folik Asit Miktarları .....	18
<b>Tablo 3. 1.</b> Bazı Yiyeceklerdeki Serbest Folik Asit Miktarları .....	36



## 1. GİRİŞ

Vitaminler, çeşitli biyokimyasal işlevler için az miktarlarda gerekli olan ve genellikle vücutta sentez edilemeyen, bundan dolayı diyetle alınması gereken besin maddeleridir. Diyetle vitaminlerin yokluğu veya yetersiz oluşları karakteristik yetmezlik durumları, hastalıklara yol açar (Murray vd., 1993).

Suda çözünen vitaminler sınıfına giren folik asidin (B9 vitamini) kimyasal adı pteroylglutamik asittir. Folik asit vitaminin yapısı pteridine, p-aminobenzoik asit ve glutamik asitten meydana gelmiştir. Çeşitli laboratuvar hayvanları ve mikroorganizma üzerinde yapılan araştırmaların sonucuna dayanılarak bu vitamene, kristal halde elde edilmesine kadar çeşitli isimler verilmiştir. 1919 yılından beri maymunlarda meydana gelen bazı yetmezlik belirtilerinin folik asitle ilgili maddelerin eksikliğinden ileri geldiği bilinmektedir (Harper, 1993).

Stokstad, Michell ve çalışma arkadaşları bu vitamini 1943'de ıspanaktan kristal olarak elde etmişlerdir (Aras,1967). Yeşil yapraklardan elde edildiğinden yeşil yaprağın Latincesi "Folium" olduğundan bu vitamene folik asit adını vermişlerdir. Daha sonraları 1944 - 1946 yıllarında folik asit sentez yoluyla elde edilmiş ve kimyasal yapısından dolayı pteroylglutamik asit diye isimlendirilmiştir (Stokstad, 1967).

Kimyasal yapısı anlaşılincaya kadar Vitamin Bc, Wills faktörü, L.Casei, U faktörü, Vitamin M diye isimlendirilen faktörlerin pteroylglutamik asitle ilgili maddeler olduğu ortaya konmuştur (Aras, 1967). Tablo 1.1'de pteroylglutamik asit ve bunlarla ilgili maddeler için kullanılan isimler ve etkileri gösterilmiştir.

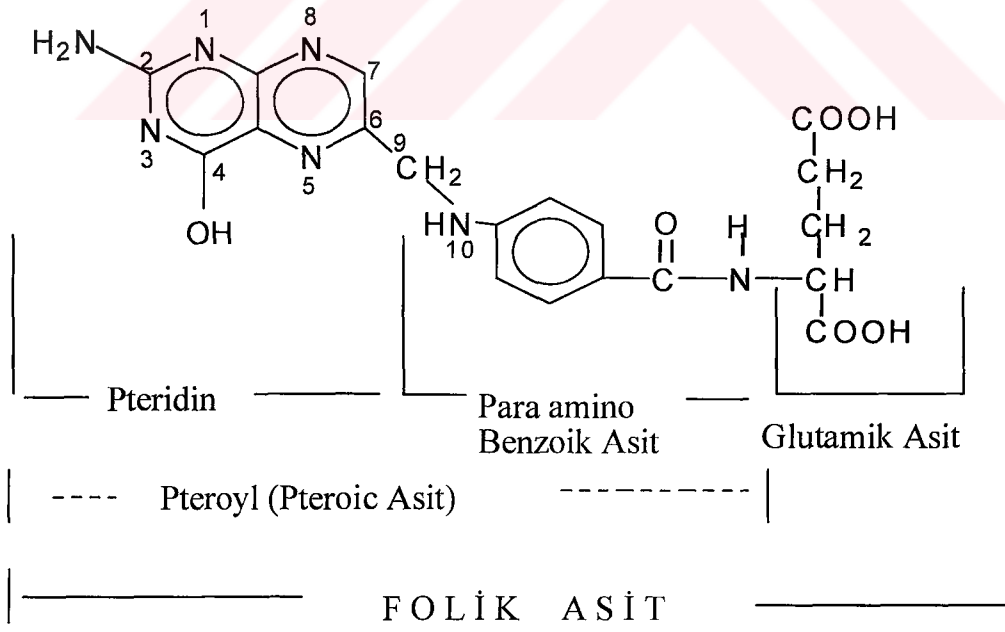
Tablo 1.1. Pteroylglutamik Asitle İlgili Maddelere Daha Önceleri Verilen İsim ve Etkileri

İSİMLER	ETKİSİ
Wills Faktörü	Tropikal makrositik anemiye önleyici
Vitamin M	Maymunlarda besinsel sitopeniyi önleyici
Vitamin Bc	Civcivlerde besinsel anemiye önleyici
Faktör U	Civcivlerde büyüme için gerekli
Folik asit	Streptococcus faecalis R'nin büyümesi için gerekli

## 1.2. Folik Asidin Kimyasal Özellikleri

### 1.2.1. Yapısı

Folik asidin kimyasal yapısı Şekil 1.2.1.1.'de gösterildiği gibi pteridine, p-amino benzoik asit ve L(+) glutamik asitten meydana gelmiştir (Özuner,1993).



Şekil 1.2.1.1. Folik Asidin Kimyasal Yapısı ve Atomlarının Numaralandırılması

Folik asit bitkisel ve hayvansal dokuda genellikle birden fazla glutamik asit ihtiva eden konjugatlar halinde bulunur. Moleküldeki glutamik asit sayısına göre, pteroyltriglutamik asit (Ptglu<sub>3</sub>), pteroylheptaglutamik asit (Ptglu<sub>7</sub>) gibi isimler alırlar. Ayrıca glycine, serine ve alanine ihtiva eden konjugatlar da tesbit edilmiştir (Stokstad,1967).

Folik asit koenzimlerini oksitlenmeye karşı koruduğundan askorbik asit, folik asidin aktivitesi için gerekli vitamindir. Asidik ortamda (C<sub>9</sub>-N<sub>10</sub>) bağında kopma meydana geleceğinden folik asit, asidik ortamda bozunur.

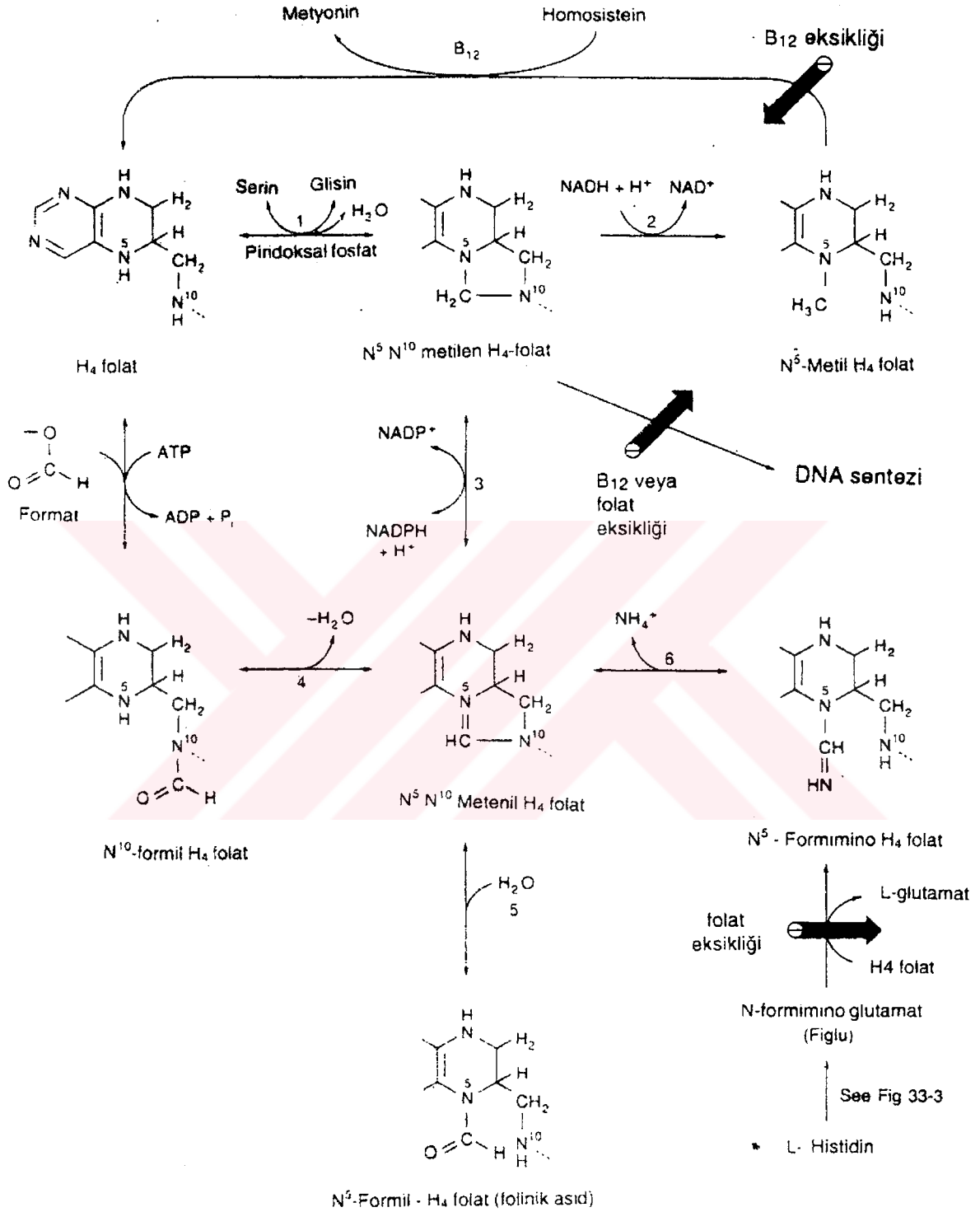
### 1.2.2. Folik Asidin Metabolik Yönden Aktif Şekilleri

Tetrahidrofolik asit taşıyıcı bir koenzimdir. Tek karbon ünitesinin taşınmasıyla ilgili birçok reaksiyonda rol oynar. Tek karbon ünitesi folik asit koenziminden alıcı moleküle aktarılırken değişikliğe uğrar (Gözükara, 1997).

Pteroylglutamik asit emildikten sonra hızla tetrahidro folik aside (H<sub>4</sub>ptglu) indirgenir. Bu ise folik asidin en etkin şeklidir. folik asidin etkinleşmesine B<sub>12</sub> vitamini yardımcı olur (Harper, 1993).

**Tablo 1. 2.2. 1.Tek Karbonlu Yapının 5 ve 10 Nolu Azota Bağlanmasıyla Şekillenen Folik Asidin Metabolik Yönden Aktif Şekilleri**

ismi	Türevi	Grup	Durumu
Metil tetrahidroflat	CH <sub>3</sub> H <sub>4</sub> PteGlu	CH <sub>3</sub>	N <sub>5</sub>
Folinik Asit	CHOH <sub>4</sub> PteGlu	CHO	N <sub>5</sub>
<sub>10</sub> Formil tetrahidroflat	CHOH <sub>4</sub> PteGlu	CHO	N <sub>10</sub>
Metilen Tetrahidroflat	CH <sub>2</sub> H <sub>4</sub> PteGlu	CH <sub>2</sub>	N <sub>5-10</sub>
Metenil tetrahidroflat	CHH <sub>4</sub> PteGlu	CH	N <sub>5-10</sub>
Formiminotetrahidroflat	CHNHH <sub>4</sub> PteGlu	CHNH	N <sub>5</sub>
Hidroksi metiltetrahidroflat	CH <sub>2</sub> OHH <sub>4</sub> PteGlu	CH <sub>2</sub> OH	N <sub>10</sub>



Şekil 1.2.2.1. Folik Asidin Metabolik Yönden Aktif Şekillerinin Birbirine Dönüşümleri

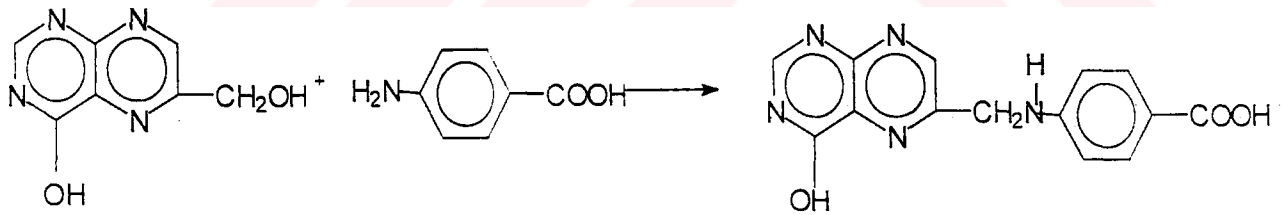
### 1.2.3. Folik Asidin Fiziksel Özellikleri

Folik asit suda çözünen bir vitamindir. Çözünürlüğü sıcaklıkla artar. 0 °C ' de 1 ml suda 10 µg folik asit çözüldüğü halde 100 °C ' de 1ml suda 500 µg çözünür (Aras, 1967).

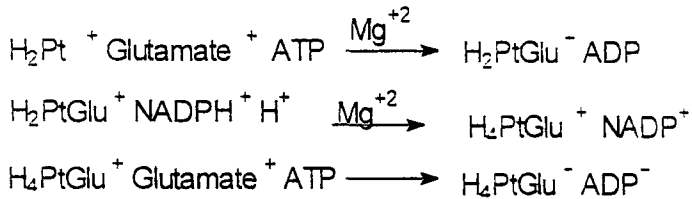
Folik asit sulu alkolde bir miktar çözünüken sirkede daha iyi çözünür. Sodyumlu tuzu suda oldukça iyi çözünür. Folik asit ısıtılmakla erimeği halde 250 °C' de esmerleşerek bozunur. Ayrıca folik asit saf olarak sarı renkli kristal halde bulunur (Şimşek,1996).

### 1.2.4. Folik Asit Sentezi

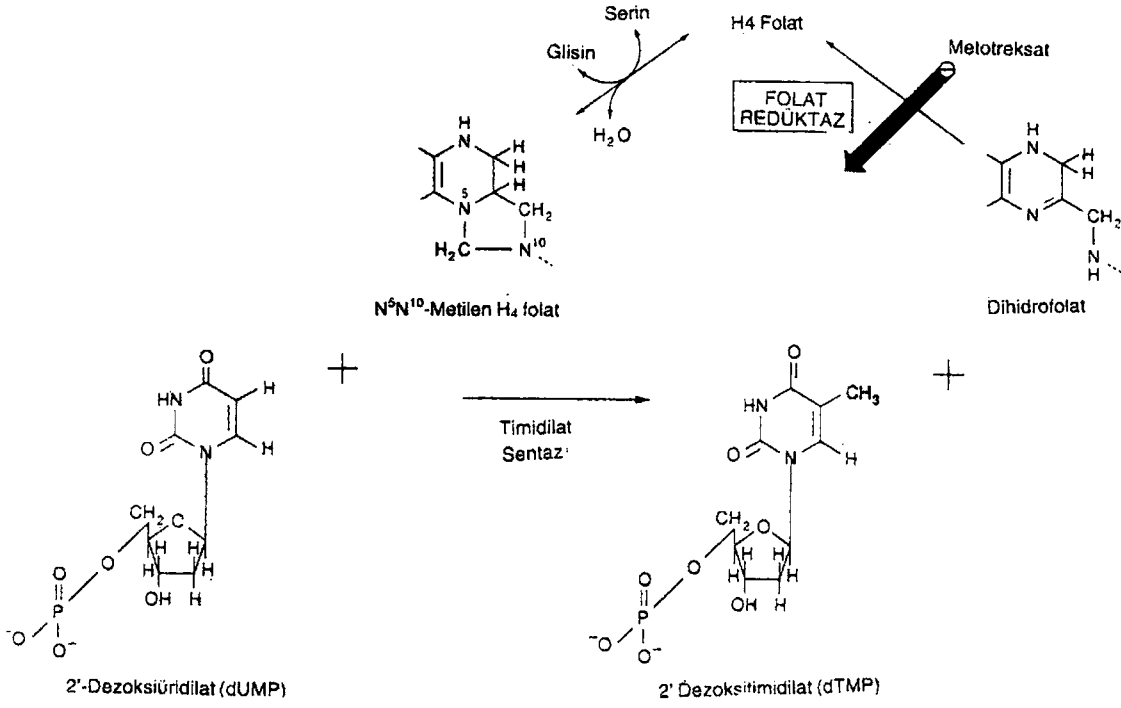
Folik asit memeliler tarafından sentezlenemez. Bu nedenle dışarıdan besinlerle alınan para amino benzoik asit sindirim kanalında mikroorganizmalar tarafından pteridinlerle beraber folik aside sentezlenir.



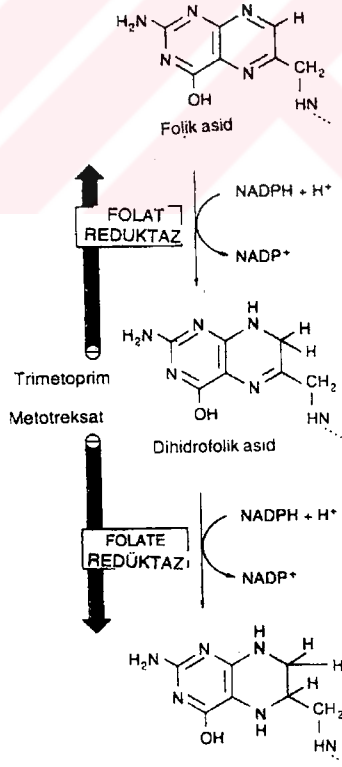
Di hidro Pterik asit (H<sub>2</sub>Pt)



Şekil 1.2.4.1. Folik Asidin Mikroorganizmalarca Sentezlenmesi

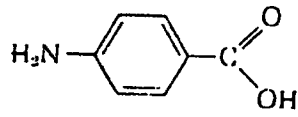


Şekil 1.2.4.2.  $N^5 - N^{10}$  - Metilen  $H_4$  Folattan, Dezoksitimidilat Ve Dihidrofolat Açığa Çıkarmak İçin Metil Grubunun Dezoksitimidilata Transferi

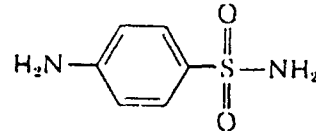


Şekil 1.2.4.3. Folik Asidin Folat Redüktaz Enzimi Aracılığıyla İndirgenmesi

Bazı bakteriler eğer ortamda p-aminobenzoik asit var ise bir büyüme faktörü olarak folik aside gerek duymazlar. Bu bulgu p-aminobenzoik asit analogu olan sülfanilamidlerin patajenik bakterilerin üremesini engelleme mekanizmasını açıklamaktadır. Bakteri folik asit sentezini yaparken yanlışlıkla p-aminobenzoik asit yerine sülfanilamidi sokmakta ve tetrafolik asit sentezi ve dolayısı ile nükleik asit sentezi inhibe edildiğinden bakterinin çoğalması engellenmiş olmaktadır (Gözükara, 1997).



p-AMİNOBENZOİK ASİT



SULFANİLAMİD

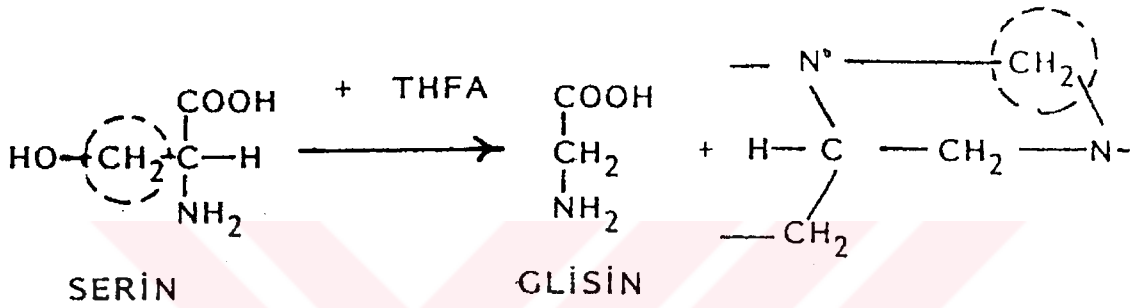
Sülfanilamidler ve metotreksatın folik asit sentezini inhibe ederler. Dihidrofolat redüktaz metotreksat ile kompetitif olarak inhibe edilir.

Sülfanilamidler yapısal olarak p-aminobenzoik asit analogudur. Bu droglar kompetitif olarak folik asit sentezini inhibe ederler. DNA ve RNA replikasyonu için gerekli kritik nükleotidlerin sentezini azaltır. Sulfa drogları, insanlarda DNA ve RNA sentezini etkilemezler. Çünkü memeli hücreleri folik asit sentezleyemezler (Şimşek, 1996).

### 1.3. Folik Asidin Fonksiyonları

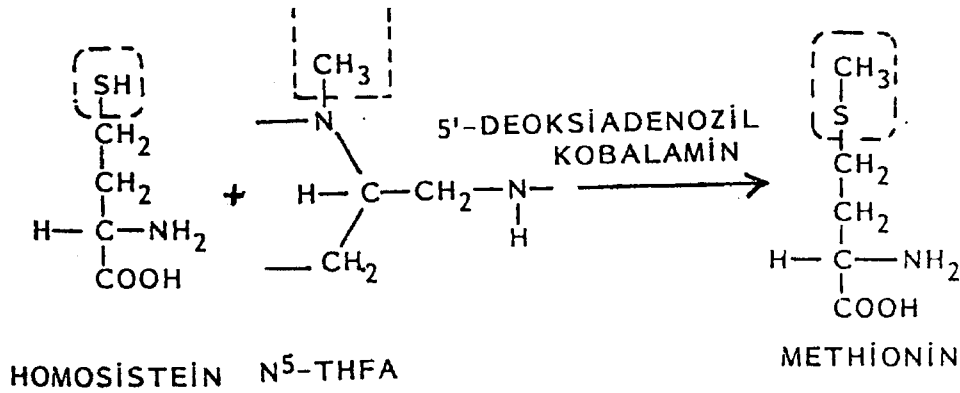
Folik asidin koenzimleri purine, pyrimidine dolayısıyla nükleik asitlerin sentezinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu özelliği göz önünde tutulursa, folik asidin hücre çoğalması ve büyümesinde temel rol oynadığı anlaşılır (Kuruca,1973).

Folik asit bazı aminoasitlerin sentezinde, fosfolipid ve nükleo-proteinlerin metabolizması ile de ilişkisi olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle folik asit tüm dokular için gereklidir. Aminoasit metabolizmasında serin ve glisininin birbirine dönüşebilmesi için tetrahidro folik asit gereklidir (Harper, 1993). Sıçan ve tavuklarda, glisin fazla verilince toksik etki yapmakta, fakat fazla folik asit vermekle bu etki ortadan kalkmaktadır (Stokstad, 1967). Bu bakımdan fazla glisin folik asit ihtiyacını artırmaktadır.



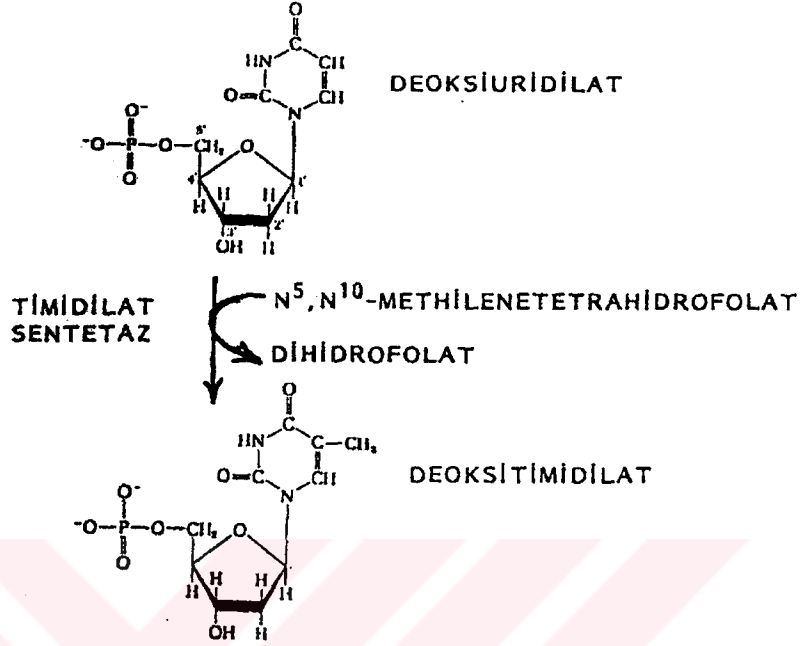
Şekil 1.3.1. Serinin Glisine Dönüşümü

Folik asit histidin metabolizmasında formimino grubu alıcısı olarak görev yapar. Hemosisteinin metiyone çevrilmesinde yardımcı olur.



Şekil 1.3.2. Hemositein'den Methionin Eldesi

Timidilat sentezinde görev yaparak DNA sentezinde hızı belirleyen basamağı oluşturur.



Şekil 1.3.3. Timidilat Sentezi

Glikolitik enzimlerin aktivitelerini dikkati çekecek derecede artırdığı ileri sürülmüştür. Rosenweig ve arkadaşları ağızdan folik asit verilmesi sonucu 8 kişide jejunal fruktokinase, heksokinase glukokinase, früktozel-fosfat aldolase ve früktozedifosfat aldolaz enzimlerinin aktivitelerinin önemli derecede arttığını, fakat disakkaridazlara hiç etki yapmadığını saptamıştır (Rosenweig.vd., 1969). Ayrıca glukozun folik asit emilimini artırdığı da belirtilmiştir (Gerson, 1972).

Folik asit paraziter infeksiyonlara karşı hastaya direnç kazandırır.

Fetuste nöral tübün erkenden gelişimi kritik olarak folik asidin varlığına bağlıdır. Doğurgan yaştaki kadınlar günlük gerekli olan 400 µg folik asidi tüketmelidir. Böylece hamilelikte nöral tüp defekti oluşumu riski azalmış olur.

Konsepsiyon döneminde folik asit alımı yeterli olmalıdır. Çünkü fetüs için folik asidin en kritik olduğu dönem fetal yaşamın ilk haftasıdır (Şimşek, 1996).

Folik asit eksikliğinde lökopeniye yol açması nedeniyle lösemi tedavisindeki muhtemel yararları açısından çeşitli folik asit antimetabolitleri tıpta denenmiştir. Aminopterin ve bunun 9-metil türevleri çocuklardaki akut lösemilerde geçici remisyonlar sağlar (Saraçoğlu, 1989).

Folik asit ayrıca kalp, felc ve kolon kanserini önlemektedir (Food To Be Fortified With Folic Acid, 1997).

#### **1.4. Folik Asit Yetmezliği**

Folik asit yetmezliği genellikle fakir toplumlarda gebe ve çocuklarda yaygın olarak görülmüştür. Gelişmiş ülkelerde, normal yetişkinlerde yaygın olmadığı sanılmaktadır. Bununla beraber folik asit, B12 vitamini ve demir yetmezliği anemilerinin birbirini maskeleyen suretiyle gözden kaçma ihtimali olduğu belirtilmektedir. Çeşitli ülkelerde yapılmış araştırma verilerinden gebelerde, bebek ve çocuklarda yaygın olduğu görülmektedir. Kanada, İngiltere, Norveç ve Finlandiya gibi gelişmiş ülkelerde kliniklere devam eden gebe kadınların %2.5 -5 'inde megaloblastik anemi, %50 kadarında ise kemik iliğinde megaloblastik değişmeler tesbit edilmiştir (FAO-WHO, 1970).

##### **1.4.1. Folik Asit Yetmezliğinin Nedenleri**

Folik asit eksikliği, besinlerle alımın azalmasına, ihtiyacın artmasına yada folik asit metabolik aktivitesine engel olunmasına bağlıdır. Çoğunlukla folik asit kaynaklarının diyetteki yetersizliği sonucu, kötü beslenme, alkolizm

ve intestinal malabsorpsiyona bağlı olarak değişir. Hamilelikte folik asit ihtiyacı artar ve alımı yetersizse megaloblastik anemi oluşabilir. Folik asit depolarını kronik hemoliz de tüketebilir. Folik asit metabolizması, difenilhidontion ve metotreksat gibi ilaçlarla da bozulabilir. Bu gibi durumlarda megaloblastik anemi, ilaç kesilince geçer (Pınar, 1988).

#### **1.4.1.1. Yetersiz Alma**

Folik asidin kaynaklarının yetersiz tüketiildiği bölgelerde yetmezlik sıkça görülür. Yiyeceklerde yaygın olarak bulunmasına rağmen bir çoğunda çok düşük miktardadır. Karaciğer ve et gibi yiyeceklerin, taze sebze ve meyve tüketiminin az olduğu yerlerde yetmezlik görülür.

#### **1.4.1.2. Yiyeceklerdeki Kayıplar**

Folik asit yüksek ısı, oksidasyon ve asidik ortama hassas bir vitamindir. Yiyeceklerin işlenmesi, hazırlanması ve pişirilmesi esnasında folik asit kaybı %60-95 oranına yaklaşmaktadır. folik asit kaynaklarının yetersiz tüketimine ilaveten tüketilen kaynakların çeşitli işlemlerle vitamin değerinin kaybedilmesi folik asit yetersizliğine neden olur.

#### **1.4.1.3. Emilmede Yetersizlik**

Barsak mukozasına bozulma tropikal sprue ve benzeri hastalıklarda, konjugaz enziminin yetersiz salgılanması veya aktivite yetersizliğinde, alkol, antikonvulsiyon ilaçlarının ve oral kontraseptiflerin muhtemel etkileri nedeniyle folik asit yetmezliği ortaya çıkabilir.

#### **1.4.1.4. Yetersiz Kullanılma**

B12 vitamini yetersizliğinde görülen megaloblastik anemi folik asidin yetersiz kullanılmasından ileri gelir. B12 vitamini yetmezliğinden N-5 metil tetra hidrofolik asidin kemik iliğinde yeterli kullanılmadığı ve bu metil türevinin serumda toplandığı, ayrıca folik asidin olgunlaşmakta olan eritrositlere yetersiz taşındığı tespit edilmiştir. B12 vitamini yetmezliğinde eritrositlerde folik asit aktivitesinin azaldığı, serumda ise N-5 metil folik asidin yüksek bulunması bunu doğrulamaktadır.

#### **1.4.1.5. İhtiyacın Artması**

Gebelik, emziliklik, metabolizmanın hızlandığı hipertroidizm halinde folik asit emilimini bozan hastalıklarda, sprue, alkolizm, epilepsi ve oral kontraseptif alanlarda, enfeksiyonlarda folik asit ihtiyacı artar.

Normal olarak vücutta 5-12 mg kadar folik asit bulunabileceği kabul edildiğine göre, yeterli depo olsa bile yukarıda belirtilen faktörlerin bir veya birçoğunun etkisinin birleşmesi sonucu kısa zamanda depoların boşalmasına sebep olabilir. Yedek folik asit zaten yetersizse veya sınırda ise yetmezlik belirtileri daha kısa sürede oluşur. Barsakta bakteriyel folik asit sentezi de olduğundan sülfanilamidli ilaçların kullanılması da ihtiyacı artırmaktadır.

#### **1.4.2. Gebelikte Yetmezlik**

Gebelikte folik asit yetmezliğine sık rastlanmaktadır. Bu sebepten ihtiyaç bu devrede artmaktadır. Bilhassa gebeliğin ilk 3 ayında folik asit düzeyi kanda normalden düşük bulunmaktadır. Gebeliğin 13, 25 ve 36. Haftalarında 91

kadında demir, B12 vitamini ile folik asidin serumda tedrici bir düşme kaydedildiği bildirilmiştir (Tauguchi, 1972). Ancak gebelikte kan hacminin artışında ileri gelen bir düşme olup olmadığı anlaşılamamıştır. Gebelikte idrarla folik asit atılmasının fazlalaştığı rapor edilmiştir. İdrarla fazla folik asit kaybı serumda folik asit seviyesinin düşmesine sebep olabilir. Beslenme durumu iyi olan ve ilave folik asit verilmeyen 8 kadında folik asit atımı incelenmiştir (Landon, 1971). Gebeliği esnasında ve doğumdan 6 hafta sonra 24 saatlik idrar toplamış ve folik asit tayini yapılmıştır. Gebeliğin 12. Haftasından itibaren idrarla folik asit kaybı fazlalaşmıştır. Atılan folik asit miktarı doğumdan 6 hafta sonrasına nazaran ortalama 4 misli yüksek olmuştur. Gebelikte folik asidin idrarla fazla atılması serumda folik asit seviyesinin düşmesiyle açıklanmışsa da böbrek tübüllerinde fonksiyonel bir değişme olabileceği ileri sürülmüştür.

Gebelikte folik asit yetersizliğinin embriyona, gelişen fetüse zarar verdiği ileri sürülmüştür. Tavşan dudak, yarık dudak, yumru ayak, hydrocephalus, belkemiği arızaları hatta mentalite geriliği, plasenta anormalliklerine de sebep olabileceği belirtilmiştir. Megaloblastik anemili gebelerde premature doğum ve toxemi insidensinin yüksek bulunduğu, normal durumdaki gebelerde premature doğum oranı %8, megaloblastik anemili kadınlarda ise %12.5 olduğu rapor edilmiştir (Cooper, 1970). Bir başka çalışmada folik asit yetmezliği olduğu tespit edilen 20 gebe kadında fetal malformasyonu ile folik asit yetersizliği arasında ilgi bulunamamıştır. Farelerde gebeliğin normal devamı ve malformasyonu önlemede folik asidin rolü olduğu kabul edilmektedir (Whalley, 1971).

Ayrıca folik asit bakımından düşük diyetle beslenen Gine domuzlarında, kontrol grubuna nazaran prematur doğum ve düşük oranının çok yüksek olduğu rapor edilmiştir (Tompolski, 1972).

Gebelikte folik asit ihtiyacının artması ve yetmezliğinin sık görülmesi, daha önce belirtilen faktörlerin yanında fetüsün tufeyli etkisine bağlanabilir. Ayrıca, gerçekte folik asit atımı gebelik dolayısıyla artması da önemli etken olabilir. Gebe kadının zararına, fetüs folik asit yetmezliğine karşı korunmak üzere folik asidi plasenta yoluyla biriktirir. Genellikle göbek kordonundaki serum ve eritrositlerde folik asit düzeyinin anemininkinden çok yüksek bulunması bu görüşü doğrular mahiyettedir (Cooper, 1970). Plasenta yoluyla folik asit geçişi fetüsü korursa da gebe kadında yedek folik asidin çabuk tükenmesine, diğer faktörlerin katkısı ile de kısa zamanda yetersizliğe sebep olur.

#### **1.4.3. Emzıklilikte Yetmezlik**

Gebelikteki folik asit yetmezliğinin veya megaloblastik aneminin doğumdan sonrada devamı söz konusudur. Yetmezlik belirtileri doğumdan 1 yıl sonra bile görülebilir. Bu bakımdan gebelikte artan ihtiyacın karşılanması emzıklilikte koruyucu bir etki yapar. Gebelikten sonra yetmezlik görülmemesi için folik asidin yedek olarak bulunması fayda sağlar. Normal yetişkinlere nazaran emzıklilerde folik asit yetmezliğinin sık görülmesi doğaldır. Çünkü sütle bebeğe verilen folik asit anneden sağlanmaktadır. Süt veren kadına folik asit bakımından fakir diyet verildiğinde kadının serum folik asit seviyesinde hemen düşme kaydedilmekte, fakat sütte folik asit düzeyi sabit kalmaktadır. Folik asitçe fakir diyete devam edildiğinde, serum folik asit seviyesi düşmeye başladıktan

ancak 10 gün kadar sonra sütte bu vitamin azalmaya başlar. Anneye küçük dozda folik asit vermek kadının serum folik asit seviyesini etkilemediği halde sütte bu vitamini artırır (Metz, 1970).

#### **1.4.4. Folik Asit Yetmezliğinde Genel Bulgular**

Doğurma yaşında olan her kadın yeterli folik asit B vitamini alarak çocuklarda felce sebep olan "spina bifida" ve bebeklerin gelişmemiş küçük kafataslı ve beyinli doğmalarına sebep olan "ensefali" problemlerini önleyebilirler. Hamile kaldıktan sonra alınması çok geçtir. Hamilelikten önce muntazam folik asit vitamini alınması ve hamile kalınca ilk 4 haftalık süre çok önemlidir. Sakatlıkların önlenmesinde en iyi kaynak, Portakal, yeşil mercimek, ıspanak, maydanoz ve nanedir. (Food To Be Fortified With Folic Acid, 1997).

Folik asit yetmezliğinde serum ve kırmızı kan hücrelerinde folik asit miktarı normalin altına düşer. Genellikle serumda normal folik asit seviyesi 6-20 ng/ml, eritrositlerde 150 ng/ml ve üzerindedir. Bu değerler serumda 3-6 ng/ml eritrositlerde 100 ng/ml altına düşerse yetmezlik belirtisi ifade ettiği kabul edilir (Herbert, 1968). Bilinmeyen bir mekanizma ile eritrositler olgunlaşamaz. Dolayısıyla dolaşımında olgunlaşmamış kan hücreleri bulunur. Bu sebepten olgunlaşmış kan hücreleri sayısı düşer. Olgunlaşmadan kan dolaşımına karıştığında kırmızı hücrelerde çekirdek bulunması dikkati çeker. Polymorphonuclear lökositlerin çekirdek lop sayısı artar ve hipersegmentasyon genel bir bulgudur. Kemik iliğinde megaloblastik değişmeler meydana gelir. Megaloblastlar kan dolaşımına katılır. Folik asit yetmezliğinde meydana gelen bu anemi megalostik anemi olarak ifade edilir. Diğer bir bulguda lökopenia ve

thrombocytopeniadır. Folik asit yetmezliği nedeniyle hemoglobin sentezi inhibe olmaktadır (Gözükara, 1997).

Folik asit yetmezliğinde uykulu hal, unutkanlık, tedirginlik gibi durumlar, deri ve sindirim kanalı epitel hücrelerinde, DNA sentezinde hata nedeniyle bozukluk olmaktadır. Pigmentasyonda hataya bağlı olarak cilt renginde değişme olduğu da bildirilmiştir. Tyrosine dekarboksilasyonundaki hata nedeniyle melanin sentezinde bozukluk olduğu düşünülebilir.

Folik asit yetersizliğinde kemik iliğinde megaloblastik değişmelerin nedeni kesin olarak anlaşılamamıştır. Ancak folik asit yetersizliğinde DNA sentezinde azalma olarak kemik iliğinde megaloblastik değişmelere sebep olabileceği üzerinde durulmaktadır. Streeter ve çalışma arkadaşları her ml'de 002 ng folik asit olan ortamdaki *L. Casei* kültürü ile her ml 2 ng folik asit olan ortamdaki kültürde sentezlenen DNA miktarını tayin etmişlerdir. Her ml'de 0.02 ng bulunan ortamda sentezlenen DNA'nın ml 'de 2 ng folik asit bulunandakinin yarısından az olduğunu tespit etmişlerdir arkadaşları (Streeter, 1971). Folik asit açlığının hücrelerin uzunlamasına büyümesine ve canlılığının kaybetmesine sebep olduğunu görmüşlerdir. Bununla beraber RNA ve protein sentezinde az bir düşme kaydetmişlerdir.

### **1.5. Folik Asit İhtiyacı**

Yetişkinlerin günlük minimum ihtiyaçlarını 5 µg folik asidin karşılayabileceği ileri sürülmüştür (Pınar, 1988). Yetmezlik belirtilerini 50 µg serbest folik asidin düzeltbildiği tespit edilmiştir (Haper, 1993). ABD 1968 tüketim standartlarında yetişkinler için verilen folik asit miktarı günde 400 µg

dır. Bu miktarın ancak 1/4' ünün serbest folik asit olarak alınabileceği düşünülerek 400 µg uygun görülmüştür. FAO- WHO uzmanlar komitesi ise yetişkinler için Tablo 1.5.1.'de görüldüğü gibi 200 µg folik asit tavsiye etmiştir.

**Tablo:1. 5.1. Günlük Folik Asit Tüketim Standartları (FAO-WHO)**

<b>Yaş, Cinsiyet ve Durum</b>	<b>Günlük İhtiyaç Miktarı (µg)</b>
0-6 ay	40
7-12 ay	60
1-12 yaş	100
13 ve yukarı yaşlar	200
Gebe kadın	400
Emzikli kadın	300

Gebe ve emzicklilerin folik asit ihtiyacının bilinmektedir. Gebelikte megaloblastik anemiyi düzelten veya önleyen miktarlara dayanılarak günlük ihtiyaç saptanmıştır. Gebelerin günlük ihtiyacı olarak günde 200-400 µg yani normal yetişkinlerin 2-4 katı olarak belirtilmiştir (FAO-WHO, 1970). Tablo 5.1.'de görüldüğü gibi emzicklilere günde 300 µg, gebe ise 400 µg folik asit tavsiye edilmiştir . ABD tüketim standartlarında ise bu değerler gebeler için 800 µg , emzickliler için ise 500 µg' dır (Passmore, 1971).

Folik asidin fonksiyonları düşünülecek olursa büyüme hızının yüksek olduğu devrelerde folik aside ihtiyacın fazla olduğu anlaşılır. Minimum ihtiyacın bebeklerin kilosu başına 500 µg olduğu belirtilmiştir. İnsan ve inek sütünün lt'de ortalama 50-60 µg folik asit olduğu dikkate alınarak 6 aylığa kadar, anne sütündeki folik asit yeterli bulunarak 40 µg folik asit uygun görülmüştür. Altıncı

aydan sonra 1 yaşına kadar 60 µg, 13 yaşına kadarda 100 µg folik asit tavsiye edilmiştir (FAO-WHO, 1971).

**Tablo 1.5.2.** Günlük Yemeklerdeki Folik Asit Miktarları ("Food To Be Fortified, 1997)

Yiyecek	Durum	Microgram
Böbrekli fasulye yemeği	1 Kap	725
Tavuk karaciğeri	85 Gram (3 Ons)	654
Bira mayası	1 Yemek kaşığı	313
Benekli fasulye yemeği	1 Kap	294
Siyah fasulye yemeği	1 Kap	256
Barbunya yemeği	1 Kap	255
Siyah bezelye yemeği	1 Kap	210
Sığır böbreği	85 Gram (3 Ons)	187
Kuşkonmaz yemeği	1 Kap	172
Taze şalgam yemeği	1 Kap	170
Bezelye yemeği	1 Kap	127
Ispanak yemeği	1 Kap	109
Taze bezelye yemeği	1 Kap	101
Kuru soya fasulye yemeği	1/4 Kap	90
Ay çekirdeği	1/4 Kap	82
Karnabahar yemeği	1 Kap	62
Lima fasulyesi yemeği	1 Kap	40

### 1.5.1. Emilmesi

Folik asit ince bağırsakta serbest folik asit halinde yani monoglutamat şeklinde emilmektedir. Normal durumdaki kimselerde kristal serbest folik asit tamamen emilebilmektedir. Fakat yiyeceklerdeki serbest folik asidin ancak %80 kadarının emildiği sanılmaktadır (FAO-WHO, 1971).

Yüksek dereceli konjugatlar monoglutamat'a parçalandıktan sonra emilmektedir. Bununla beraber di ve tri glutamatların emilmesi mümkün görülmektedir (Retief, 1969).

Poliglutamatların monoglutamata çevrilmesi ince bağırsakta salgılanan konjugaz enzimi ile olmaktadır. Son zamanlarda özel bir metotla, pteridine veya glutamik yan zincirinde radyoaktif işaret konulabilen sentetik poliglutamat elde etmek mümkün olmaktadır (Krumdieck, 1969). İşaretli poliglutamat sentezi emilim çalışmalarına büyük kolaylık sağlamıştır. Konjugatlar halindeki folik asidin emilmediğini yaptıkları araştırmanın sonucuna dayanarak Rosenberg ve arkadaşları açıklığa kavuşturmuşlardır. İşaretli poliglutamatla yapılan emilme çalışmalarında 3 ve 7 glutamik asidi bulunan konjugatların ince bağırsakta monoglutamata ayrıştıktan sonra emildiği, glutamik asit sayısına paralel olarak verilen dozun bir kısmının dışkı ile atıldığı ve verilen dozun ancak %37-67 arasında vücutta tutulduğu gösterilmiştir (Butterworth, 1969).

Perry ve Chanarin'de poliglutamatın ancak 1/3 kadarını monoglutamat şeklinde emildiği gösterilmiştir (Perry ve Chanarin, 1968).

Folik asidin emilme esnasında değişikliği uğrayıp uğramadığı tartışma konusudur. Bazılarına göre emilme sırasında redüksiyona ve metilasyona uğramaktadır (Butterworth, 1969). Sıçanlarda serbest folik asidin ince bağırsak mukozasında emildiği rapor edilmiştir (Wartan, 1972).

Dekonjuge edici enzimin ince bağırsakta salgılandığı kabul edilmekle beraber pankreasta da konjuge edici enzim bulunduğu sanılmaktadır (Butterworth, 1969).

Konjugatların hidrolizi ile serbest folik halinde emildikten sonra dekonjuge olduğu ileri sürölmektedir Buna sebep olarak da karaciğer, eritrosit ve lökositte folik asidin bilhassa poliglutamat şeklinde bulunması gösterilmektedir (Butterworth, 1969).

Poliglutamatların dekonjuge olarak emilmesi konjugaz enziminin aktivite derecesine bağılıdır.

Bazı durumlarda enzim yetersizliğı ve enzim aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Yapılan bir araştırmada 25 Haitilinin, sprulu 10 kişiden 5'inde, diğer 15 kişiden ise sadece 7 sinde konjugaz aktivitesini tesbit etmiştir. Sprulu hastalarda folik asit yetmezliğinin sık görölməsi yetersiz emilime bağılanmaktadır (Klipstein, 1967). Folik asidin emilmesindeki yetersizlik konjugaz enziminin yetersiz sentezlenmesinden, hatalı sentezinden ve kimyasal maddelerle inhibe olmasından ileri gelebilir. Ayrıca serbest folik asidinde bağırsak yapısından ileri gelen nedenlerle emiliminde düşme olabilir. Herbert ve arkadaşları, Coeliac hastasında kristal serbest folik asidin emiliminin bilhassa proximal jejunumda olduğu saptanmıştır (Herbert, 1968).

Phenytoin ve oral kontraseptiflerin konjugaz enziminin aktivitesini inhibe ettiğı bildirilmektedir. Antikonvulsant olarak kullanılan phenytoinin konjugat halindeki folik asidin emilimini %75 kadar yüksek oranda düşürdüğü rapor edilmiştir (Rosenberg, 1968). Bazı araştırmacılar tarafından da phenytoinin konjugaz enzimini inhibe ettiğı bildirilmiştir (Glenn, 1969; Hoffbrand, 1968). Bununla beraber, araştırma sonuçlarına dayanarak Baugh ve Krumdieck,

Phenytoinin konjugaz enzimini inhibe etmediğini ileri sürmüşlerdir (Baugh, 1969).

Glukozun folik asit emilimini artırdığı selüloz gibi maddelerin ise folik asitle kolaylıkla bağlanarak emilmeyi düşürdüğü bildirilmektedir (Gerson, 1972). Kobaylarda deoxycholic ve chenodeoxycholic asidin konjugaz enzimini inhibe ettiği rapor edilmiştir (Bernstein, 1971).

### 1.5.2. Dışarı Atılması

Folik asit değişikliğe uğramadan ve türevleri halinde dışarı atılmaktadır (Cooperman, 1970). Kesin olarak bilinmemekle beraber esas kaybın böbrekler yoluyla meydana geldiği belirtilmektedir. İncelenen kaynaklarda günde idrarla atıldığı bildirilen miktarlarda büyük farklar vardır. Şartlar aynı olmadığından verilen miktarlarda farklılık olması tabiidir. Günde idrarla atıldığı bildirilen miktarlar 4-5  $\mu\text{g}$  (FAO-WHO, 1970), 2.3-7.5  $\mu\text{g}$  (Retief, 1969) ve 4-40  $\mu\text{g}$  (Herbert, 1969) arasında değişmektedir.

Cooperman ve çalışma arkadaşları sağlıklı üç yetişkin ve iki çocukta idrar ve dışkıda folik asit kaybını incelemişlerdir. Normal diyet alınmasından sonra idrarla kaybın %1 kadar olduğunu saptamışlardır (Cooperman, 1970).

Vücut ağırlığının kilosu başına 2.5-10-40 ve 80  $\mu\text{g}$  folik asit damardan verildikten sonra idrarla atılan folik asit miktarını ölçmüşlerdir. İlk 6 saatte kg başına 10  $\mu\text{g}$  verilenlerden itibaren atılan miktarda bir artış olduğu ve verilen dozun %90 kadarının atıldığını tespit etmişlerdir. Dışkı ile kaybın ise idrardaki kadar olmadığı, fakat verilen doza paralel bir artış gösterdiğini bulmuşlardır. Bu sonuçlara göre vücut folik asit bakımından doyurulmuş hale gelinceye kadar

İdrar ve dışkı ile kayıp az olmakta, vücut depoları tamamlanınca alınan miktarlar dışarı atılmaktadır.

İdrardaki kadar olmasa bile sindirim kanalı yoluyla da küçümsenmeyecek derecede kayıp olması muhtemeldir. İşaretli folik asit verilen 17 hastadan 7 sinde, 4 günde verilen dozun %5 kadarının dışkı ile atıldığı bildirilmiştir (Baker, 1968). Bu kaybın devamlı olması halinde vücut deposunun kısa zamanda tükenmesi mümkündür.

Folik asit en fazla karaciğer, böbrek ve kas da depolanmaktadır. Vücutta en fazla ne kadar folik asit bulunabileceği bilinmemektedir. Bununla beraber iyi beslenen kimselerde tüm vücut deposunun 5-12 mg olduğu kabul edilmektedir (FAO-WHO, 1970). Buna göre vücut deposunun boşalması minimum ihtiyaç göz önünde tutulursa 2-4 ay içinde olabilir.

### **1.5.3. Toksik Etkisi**

Folik asit suda çözünen ve toksik etkisinin olmadığı kabul edilen bir vitamindir. Günlük minimum ihtiyacın 50 µg civarında olduğu kabul edilmektedir. Megaloblastik anemi tedavisi için 5-10 mg folik asit tavsiye edilmektedir (West, 1961). Çeşitli hastalıklarda iyileşme elde etmek gayesi ile günde 15 mg hatta 60 mg folik asidin uzun süre verilerek düzelme kaydedildiği bir çok araştırmacı tarafından rapor edilmektedir (Dergacev, 1971).

## 1.6. Çeşitli Madde ve Hastalıklarla İlgisi

### 1.6.1. Alkolizm

Alkolizm ve folik asit yetmezliği arasındaki ilgi bir çok araştırmacıyı bu alanda çalışmaya yöneltmiştir. Folik asit yetersizliğinde kemik iliği ve kan hücrelerinde meydana gelen değişimler alkoliklerde de görülmüştür. Bazı klinik bulgulara dayanılarak alkolün folik asit emilmesine ve kullanılmasına olumsuz etkide bulunabileceği, sonuç olarak bu vitamin yetmezliğine sebep olabileceği ileri sürülmüştür. Normal kişilerde megaloblastik anemiye tedavi eden dozun alkoliklerdeki anemiye düzeltmediği de bildirilmiştir (Alcoholism and Folic Acid, 1972).

Alkol tüketiminin folik asit emilimini azalttığı, fakat bunun alkolün direkt toksik etkisinin değil alkoliklerin genel beslenme durumlarına bağlanabileceği ileri sürülmüştür. Halsted ve çalışma arkadaşları iyi beslenmeyen, günde sadece 1 öğün yediğini belirten, karaciğeri tahrip olmamış 8 alkolikle iyi beslenmekte olan 3 alkolikte işaretli folik asit emilimini incelemişlerdir. Beslenme durumu iyi olmayan ve içki almaya devam eden alkoliklerde folik asit emilimi %20.4, iyi beslenenlerde ise emilim oranı %38 bulunmuştur. Beslenme durumu iyi olmayan 8 alkoliğe 2 hafta kadar hastane diyeti verildikten sonraki ölçümlerde folik asit emilimini %20.4'den %36.5'e çıktığı tespit edilmiştir. Alkoliklerden 7 kişiye, hastane diyetine ek olarak 2 hafta süre ile günde 192 gr alkol verilerek emilme durumu incelendiğinde folik asit emilme oranında alkol olmadığı zamanlardaki emilme oranlarında fark olmadığı görülmüştür. Sadece 2 kişide folik asit emiliminde azalma kaydedilmiştir. Bu

araştırmanın verilerine dayanılarak alkolün toksik etkisinden ziyade kötü beslenmenin folik asit emilimini düşürdüğü sonucuna varılmıştır. Ancak yetersiz beslenme veya fena beslenme deyiminden ne kasıt edildiği açık değildir ve hangi besin maddesinin yetersiz tüketildiği anlaşılamamaktadır (Halsted,1971).

Alkolikler de serum folik asit seviyesi ölçülmüş, yetersiz ve dengesiz beslendiği soruşturma ile anlaşılan 50 alkoliğin serum folik asit düzeylerinde kontrol grubuna göre farklılık olmadığı tespit edilmiştir (Williams, 1971). Hatta bazı alkoliklerde serum folik asit düzeyinin normal kontrol grubundakilerden yüksek olduğu rapor edilmiştir (Carney, 1971). Bununla beraber alkol almaya devam eden ve folik asit bakımından düşük diyet verilen 2 gönüllü alkolikte 5-10 hafta içinde megaloblastik değişmelerin nedeni olarak alkol alınması gösterilemez. Bu süre içinde, folik asit bakımından yetersiz diyetle normal kişilerde de megaloblastik değişmeler beklenebilir. Bilhassa folik asit depoları yetersizse bu süre içinde başlayacak yetmezlik belirtilerine sebep olabilir.

Eichner ve Hillman 65 alkolik üzerinde detaylı hematolojik çalışmalar yapmışlardır. Alkoliklerin %40'ında folik asit yetmezliğine bağlı megaloblastik değişimler, %75'inde ise kırmızı kan hücrelerinin yapımında bozukluk olduğunu tespit etmişlerdir. Başlangıçta en az 10 gün kadar 150-200 µg folik asit bulunan diyet her alkoliğe verilmiştir. Plazma folik asit düzeyi normale çıktıktan sonra 5 µg folik asit bulunan diyet uygulanmıştır. Alkoliklerden bir gruba düşük folik asit diyetine ek olarak alkol verilerek, alkol almayan kişilerin serum folik asit düzeylerini ölçerek mukayese etmişlerdir (Eicner, 1971).

### 1.6.2. Oral Kontraseptifler

Son zamanlarda oral kontraseptiflerle folik asit arasında ilişki kurulmaya çalışılmakta ve devamlı oral kontraseptif kullanan kadınların folik asit ihtiyacının arttığı belirtilmektedir (Buhac, 1972). Oral kontraseptiflerin konjugaz enzimini inhibe ederek folik asit emilimini azaltması, bu vitaminin taşınması ve koenziminin fonksiyonunu engelleyici bir etkisi düşünülmektedir. Oral kontraseptif alanların bir kısmında folik asit metabolizmasının bozulduğu, genellikle serum ve eritrositlerde folik asit düzeyinin normalden düşük, histidine yükleme testinden sonra ptglu atımının yüksek olduğu görülmüştür (Shojanica, 1969).

### 1.6.3. Diğer Durumlarla İlgisi

Folik asit ayrıca başka hastalıkların iyileştirilmesinde de etkili bulunmuştur. B12 vitamini ve orotik asitle birlikte folik asit verilen belleği zayıf çocuklarda bir düzelme kayıt edilmiştir (Dergacev, 1971). Belleği zayıf olan 8-10 yaşlarındaki 23 çocuğa 1 ay süreyle günde 1.5 mg orotik asit, 10 µg B12 vitamini ve 60 mg folik asit verilmiştir. Bu şekilde tedavinin ilk 2. haftasından itibaren astenik septomlar düzelmiş, belleklerinde de kısa ve uzun süreler dikkati çekici bir gelişme görülmüştür. Ancak bu düzelme hali sadece folik aside bağlanamaz.

Folik asit bazı paraziter enfeksiyonlara karşı direnç kazandırmaktadır. 95 sağlıklı deney hayvanları üzerinde yapılan bir çalışmada, shigella flexneri enfeksiyonuna maruz bırakılan hayvanlardan en uzun süre yaşayan ve en dirençli olanların folik asit verilmiş olanlar olduğu görülmüştür (Haltalin, 1971). Bu sonuca göre insanlarda da folik asit yetmezliğinin S.flexneri ve hatta diğer enfeksiyonlara karşı direnci azaltması mümkündür.

Folik asit yetmezliğinde ülseratif kolitli hastalarda bağırsak florası incelenmiş, folik asit yetmezliğine bağlı olarak bakteriyel kompozisyonun bozulduğu folik asit tedavisi ile bakteriyel dengenin kurulduğu tespit edilmiştir (Marko, 1971). Ayrıca ülseratif kolitte Folatın emilmesini sulfasalazine inhibe eder (Davis, 1981).

Digitalis ve diureticlerle tedavi gören kardiyovaskular hastalarında serum folik asit değeri düşük, megaloblastik kemik iliğinde değişmeler olduğu ve bu tip hastalara ek folik asit verilmesi tavsiye edilmiştir (Brody, 1971).

Bazı hayvanlarda folik asit çeşitli gonadal hormonların fonksiyonunu yerine getirmesine yardım etmektedir. Folik asit yetmezliğinde, piliçlerde estrogen oviduct'a etki yapamamaktadır (Chow, 1964). Folik asit yetmezliğinin estrogen seviyesini düşürdüğü de ileri sürülmektedir (Cooper, 1970). Folik asit yetersizliğinde piliçlerde oviduct'un gelişmesine ilaveten oviduct'un aminoasit kompozisyonunda da değişmeler olduğu, kontrol grubundakilere nazaran, arginine, leucine, serine ve tryptofan oranında düşme, glisinde ise artış kaydedilmiştir (Taguchi, 1972). Bu çalışmada aminoasitlerin bazılarındaki düşme sebebi açıklanmamışsa da, glisindeki artış serin yapımındaki hataya bağlanmıştır.

Bazı araştırmacılar prematüre damar sertliği rahatsızlığı olan hastalarda sıklıkla karşılaşılan hafif hiperhomocistinemiası bütün vakalarda güvenli ve basit şekilde günlük 250 mg vitamin B6, 5 mg folik asit ve 6 mg betain tedavisiyle normale indirgenebileceğini ifade etmişlerdir (Franken, 1994).

Dializ hastalarında yüksek dozda B vitamini verilerek hiperhomosistinemia'nın tedavisi mümkün olmuştur (Kidney, 1996).

Günde 400 µg folik asit alan kadınların %45' inde nöral tüp defekti azaltılmıştır. Hastalara folat ilavesinin kalp hastalıkları, kalp krizi ve peripherel damar hastalıklarını önleyebileceğine dair bazı biyolojik ihtimaller vardır (Swain, 1997).

Son zamanlarda ki çalışmalar göstermiştir ki folik asit muhtevalı multi vitaminlerle farmakolojik ilave veya tek başına folik asit nöral tüp defekti oluşumunu ve tekrarlanmasını azaltabilir. Bu temel önleyici metot kardiovaskuler ve idrar yolları eksiklikleri başta olmak üzere diğer congenital anormalliklerin oluşumunu da azaltabilir. Bu koruyucu etkilerin biyolojik mekanizmaları hala anlaşılammıştır. Fakat doğal Folatın veya sentetik folik asidin anahtar bir rolü vardır (Czeizel, 1996).

Brattstrom' un araştırmasında folik asit ilavesinde plazmadaki yüksek homosistin konsantrasyonlarının belirgin şekilde düşürmesinin yanında normal homosistin konsantrasyonlarının da düştüğünü ifade etmiştir. Bunun için günde 1 mg'dan az folik asit etkin olabilir. Folik asit ve cyanocobalamin kombinasyonu ile ilave, tedavi esnasında tam homosistin düşürücü etkiyi koruyacak ve B12 vitamini eksikliğini engelleyecektir (Brattstrom, 1996).

Prematüre vasküler hastalarda homosistin seviyesi risk faktörü olmayanlarda folik asit ve vitamin B6 ile düşürülebilir (Piolot, 1996).

Folik asit alımına hamile kalmadan önce başlayan ve hamileliğin ilk 3 ayında kullanmaya devam eden kadınların %72' inde yeniden nöral tüp defekti oluşma riski azalmıştır (Curr. Opin. Obstet Gynecol, 1992).

Çocuklarda gastrointestinal enfeksiyonların A vitamini, Pyridoxine, demir çinko gibi maddelerin eksikliğinin yanında folik asit eksikliği de büyük rol oynamaktadır (Curr. Opin Gastrenterol, 1994).

Beyinsel toxoplasmosis'e karşı pyremethamine ile tedavi edilen hastalarda hemotolojik zehirlenmenin önlenmesinde folik asidin orta düzeyde fayda etkisinin olduğu bulunmuştur. Fakat gözlenen bir doz etkisi bulunmamıştır (Presse med, 1994).

### **1.7. Tayin Yöntemleri**

Folik asidin tayininde kullanılan metotları biyolojik, kimyasal, mikrobiyolojik ve kromatografik metot olmak üzere başlıca dört grupta toplamak mümkündür.

Bu metotlar arasında şimdiye kadar en hassas olanı, kolay sonuç veren mikrobiyolojik metot olarak bilinmekteydi. Fakat gelişen teknolojinin elektronik sahada kendisini göstermesi ve yeni tekniklerin kimya bilimine uygulanması ile özellikle HPLC cihazı ile tayin yöntemi çok hassas sonuçlar vermektedir.

#### **1.7.1. Biyolojik Metot**

Test hayvanı olarak tavuk kullanılmıştır. Bu metot da tavuklarda Anemi meydana gelinceye kadar tavuklar folik asit bakımından yetersiz yemle beslenmektedir. Anemi teşekkül ettikten sonra, folik asit miktarı tayin edilecek madde çeşitli oranlarda hayvan yemine ilave edilerek anemiyi giderici miktar tespit edilir. Ayrıca folik asit miktarı bilinen maddede de kontrol gurubundakilere verilerek anemiyi giderici miktar tespit edilerek miktarı bilinmeyen madde ile

karşılaştırılması yapılır. Uzun süre gerektirdiğinden ve pahalı olduğundan pek kullanılmamaktadır.

### **1.7.2. Kimyasal Metot**

Folik asidin Zn tuzu ile pteridine ve aromatik amine redüklenmesi esasına dayanır. Tayini yapılacak materyalde folik asidin oldukça yüksek miktarda bulunması gerekir. %5 veya daha fazla folik asit ihtiva eden materyel için uygun olduğu kabul edilir fakat test materyalinde redüksiyon sonucu aromatik amin ürünü veren maddeler varsa tayin hatalı olur. Diğer kimyasal yolda pteroylglutamik asidin oksidasyon ürününü ölçmeye dayanır fakat bu yol pratik değildir.

### **1.7.3. Mikrobiyolojik Metot**

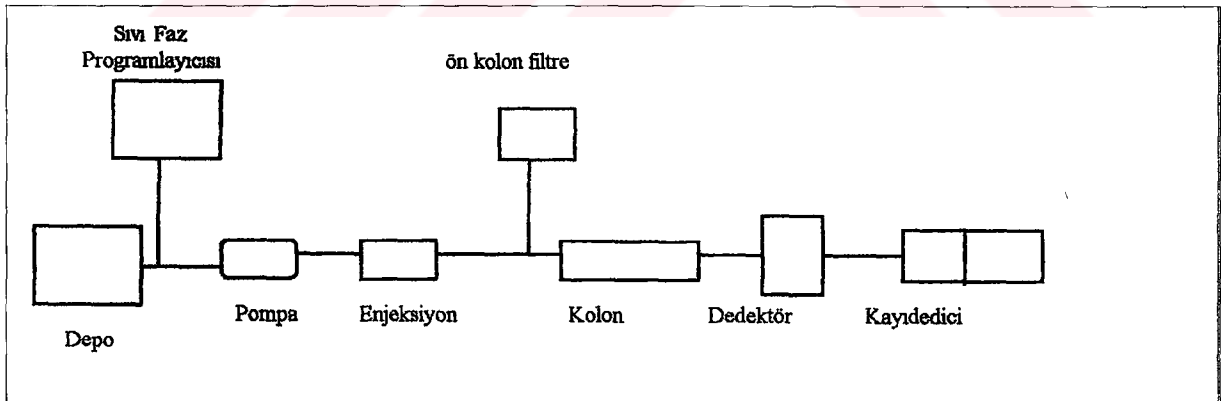
En çok kullanılan metottur. Test organizması olarak *Lactobacillus casei*, *Streptococcus faecalis* (S. Lactiks R) ve *Pediococcus crevisia* kullanılır ve iyi sonuç elde edilir. Bu metodun esasını adı geçen organizmaların üreme ve gelişmesi için folik aside ihtiyaç göstermeleridir. Folik asidin farklı şekillerinin ayırt edilmesi içinde bu organizmalardan uygun olanı seçilir. Ayrıca folik asidin farklı şekillerinin ayırt edilebilmesi için de bu organizmalardan yararlanır.

### **1.7.4 Kromatografik Yöntem**

Kromatografi kelimesi, birçok ayırma metotlarını ve tekniklerini ihtiva eder. Kromatografi çeşitli maddelerin hareketli bir faz yardımıyla, sabit bir faz üzerinde değişik hızlarla hareket etmeleri veya sürüklenmeleri esasına dayanır.

Sıvı kromatografisi bir ayırma tekniğidir. Bir sıvıda çözülmüş ayrılacak bileşikler, bir kolunda bulunan genellikle katı bir destek üzerindeki durucu faz ile farklı etkileşmelere girerek kolon içinde farklı hızda ilerler, kolonu değişik zamanlarda terk ederler ve böylece birbirlerinden ayrılırlar. Bununla beraber hareketli faz sıvıdır (Erdik, 1987).

Yeni tip sıvı kromatografisi, bir kolona silikajel gibi bir absorban koymak ve ayrılacak bileşiği bir sıvı fazla beraber tabii akışıyla bu kolondan geçirmek suretiyle yapılan kolon kromatografisinden kavram olarak çok farklıdır. Burada taşıyıcı sıvı pnömatik veya mekanik çalışan pompalarla kolona basılarak yüksek hareketli faz hızı sağlanmakta, ayırma çabuk ve tam olarak gerçekleşmektedir. Ayrılan madde, kolon çıkışına bağlanan uygun bir detektörle tespit edilip kaydedilmektedir. Böylece yüksek hızda gerçekleştirilen ayırmaların yapıldığı sıvı kromatografi sistemlerine yüksek işlevli sıvı kromatografisi (High performance Liquid Chromatography, HPLC) denir (Erdik, 1987).



Şekil 1.7.4.1. HPLC Cihazının Akım Şeması

## 1.8. Kan ve Yiyeceklerdeki Folik Asit Tayini

Kandaki folik asidin büyük bir kısmı hücrelerdir ve genellikle konjugatlar halindedir. Bu bakımdan konjugaz muamelesi sonunda mikrobiyolojik test yapılır. Serumda ise folik asit serbest haldedir ve bilhassa 5 metil tetrahidrofolat şeklindedir. Serumda folik asit aktivitesi S.Faecalis 'ten ziyade L.Casei ile tayin edilir.

Bitkisel kaynaklarda folik asit daha ziyade konjugatlar halindedir. Bu bakımdan, folik asit tayininden önce, yiyeceklerdeki yüksek dereceli konjugatların serbest hale geçmesi için folik asit konjugaz ile hidroliz edilmesi gerekir. Konjugaz işleminde optimum pH:7.5 da konjugatları diğlutamata kadar parçalamaktadır.

### 1.8.1. Yiyeceklerdeki Folik Asit Kaybı

Diğer suda çözünen vitaminler gibi pişirme sularına geçer ve bu su atılırsa folik asit kaybı fazla olur. Folik asit bilhassa asit ortama dayanıksızdır. Asit ortamda molekülde oksidatif parçalanma meydana gelerek aktivitesini kaybeder. Bu bakımdan alkali ve nötr ortamda daha dayanıklıdır. Fakat yüksek ısıda parçalanma daha fazla olur. Güneş ışınlarına karşı da hassas bir vitamindir. Kayıp oranı yiyeceğe, uygulanan pişirme, hazırlama hatta muhafaza yöntemine göre değişiklik göstermektedir. Genellikle hayvansal kaynaklardaki folik asit daha dayanıklı bulunmuştur. Patates haşlandığı ve kızartıldığı zaman folik asidin %89-90' ı kayba uğradığı tespit edildiği halde karaciğer ve tavuk etinde aynı yöntem uygulandığında kayıp tespit edilmediği bildirilmiştir (Hurdle, 1968).

Çeşitli işlemlere tabi tutulan domates suyunda ortalama kaybın %60 olduğu tespit edilmiştir (Alperin, 1969). Güneş ışığında bir yıl süreyle koyu renkli şişelerde tutulan domates suyunda folik asidin %30' u aynı şekilde karanlıkta ve kutuda beklediğinde 1 yılda %7' sinin kayba uğradığı gösterilmiştir (Streiff, 1971).

Muamele ve pişirme esnasında askorbik asit gibi redükleyici maddeler folik asidi korumaktadır. Bu bakımdan turunçgillerde folik asit oksitlenmeye karşı korunmuş olur ihtiyacının karşılanmasında büyük bir değer taşır (Ghitis, 1971).

Sütü kaynatmakla meydana geldiği bildirilen folik asit kayıp oranlarında büyük farklar vardır. Hurdle ve arkadaşları pastörize edilmiş inek sütünde kaynatmakla kayıp olmadığını bildirmişlerse de başkaları 5 dk kaynatmakla folik asidin 1/3' ünün kayba uğradığını belirtmişlerdir (Ghitis, 1971).

Bu çalışmada amaç; giriş kısmında öneminden bahsedilen folik asidin çeşitli gıda maddelerindeki miktarlarını HPLC ile tespit etmektir.

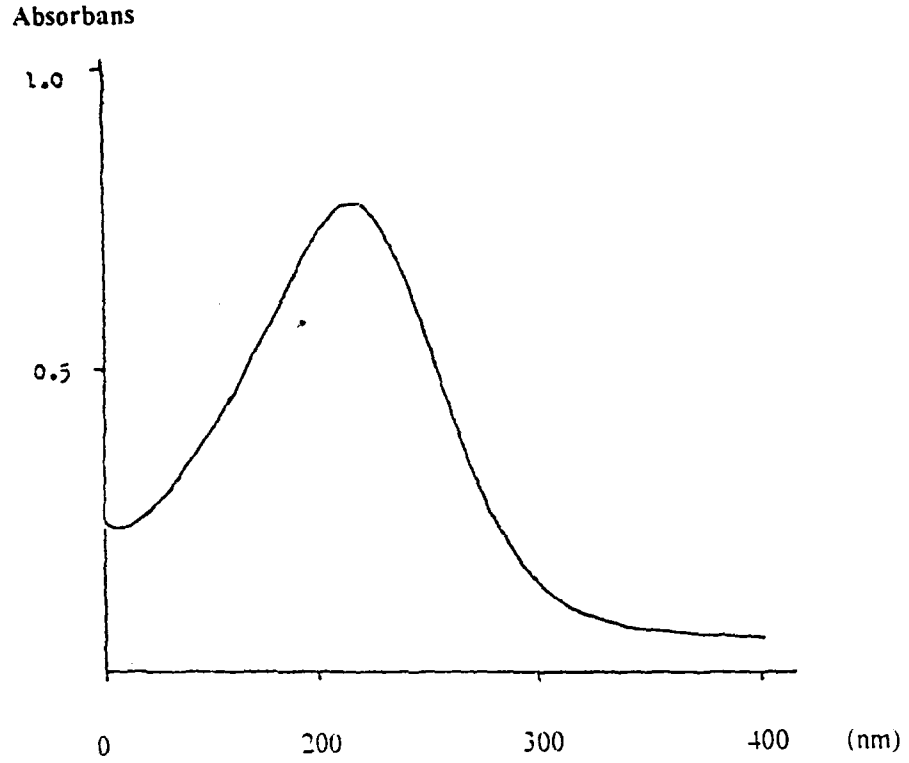
## 2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada materyal olarak değişik sebze, meyve, sera sebzeleri ve bazı hayvansal yiyecekler seçildi. Seçilen materyalin taze olmasına özen gösterilerek hemen analize tabi tutuldu. Çalışmadaki analizler yüksek işlevli sıvı kromatografisi cihazı (HPLC) ile yapılmıştır. Çalışmada sebze, meyve ve hayvansal ürünlerden 1.5-3 gr tartılarak polietilen tüpe alındı. Örneğe daha önce hazırlanan 1M HClO<sub>4</sub>' den 0.5 ml ve 2 ml saf su ilave edilerek iyice vortekste karıştırıldı. Tüpteki örnekler 25 ml'lik erlenlere alınıp saf su ilave edilerek toplam hacim 15ml'ye ayarlandı. Erlenler bir ısıtıcıya alınarak 90-100 °C sıcaklıkta 5 dk süreyle ısıtıldı. Isıtıcıdan alınan örnekler oda sıcaklığına soğutulduktan sonra sıvı kısmından yaklaşık 5ml hacimde alınarak polietilen tüpe aktarıldı. Tüpler 5 dk süreyle 4000 devir/dk ile santrifüjlenerek çökelti ve çözeltinin ayrılması sağlandı. Ayrılan bu çözülden 20 µl örnek alınarak HPLC cihazına enjekte edildi.

### 2.1. Deneysel Şartların Optimizasyonu

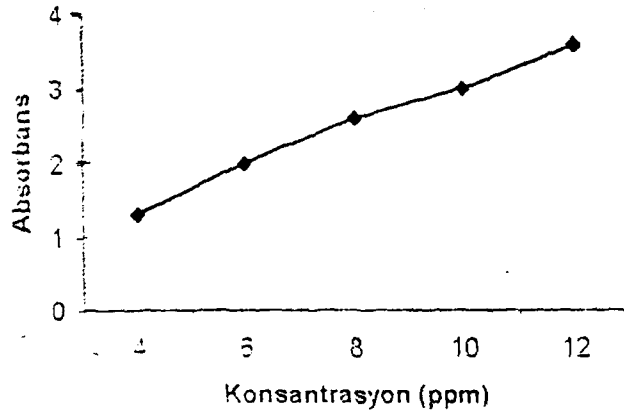
*Uygun dalga boyunun belirlenmesi:* Belirli derişimlerde hazırlanan folik asit çözeltileri HPLC' ye enjekte edilerek farklı dalga boylarındaki pik yükseklikleri belirlendi. Şekil 2.1.1' de de verildiği gibi maksimum pik yüksekliği 220 nm dalga boyunda tespit edildi.

HPLC'de 0.15M Amonyum Asetat çözeltisi ile Asetonitrilin 4:1 hacim oranında karıştırılmasıyla elde edilen mobil faz kullanıldı. LC-18 genel amaçlı kolonuyla akış hızı 0.8 ml/dk'da çalışıldı.



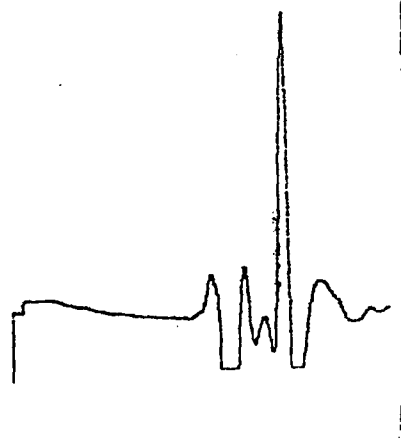
Şekil 2.1.1. Folik Asidin Dalgaboyu İle Pik Yüksekliğinin Değişimi

*Çalışma Grafiğinin Çizilmesi:* Değişik kontrasyonlarda (1-15 ppm) standart folik asit çözeltileri hazırlandı ve optimize edilen dalga boyunda HPLC'ye enjekte edildi. Pik yükseklikleri belirlenerek kontrasyonlara karşı grafiğe alındı.



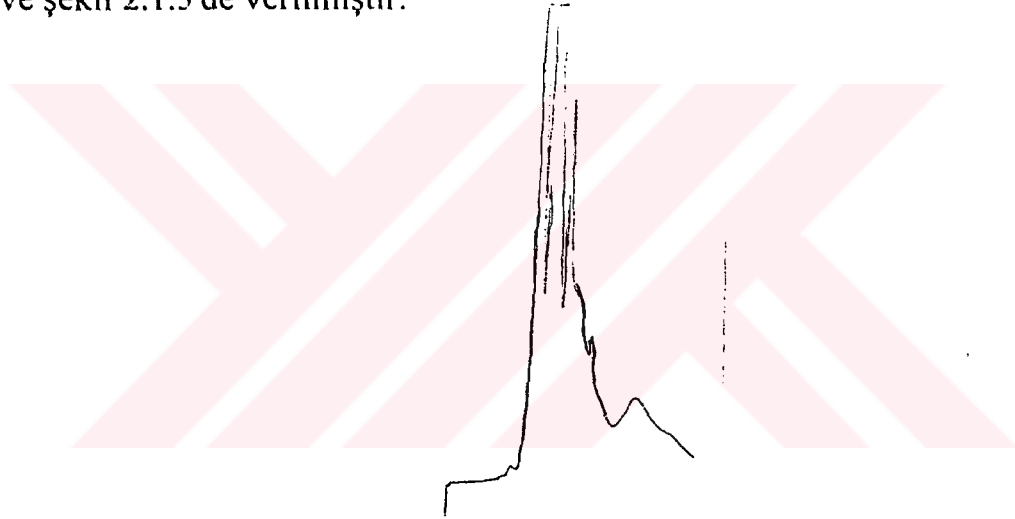
Şekil 2.1.2. Çalışma Grafiği

Optimize edilen şartlarda standart folik asidin HPLC'de alınan kromatogramı Şekil 2.1.3'de görülmektedir.



Şekil 2.1.3. Standart Folik Asit Çözeltisinin Kromatogramı

Çalışılan kabak ve süt örneklerindeki folik asidin HPLC kromatogramı şekil 2.1.4 ve şekil 2.1.5'de verilmiştir.



Şekil 2.1.4. Kabak Numunesinin Kromatogramı



Şekil 2.1.5. Süt Numunesinin Kromatogramı

### 3. BULGULAR

Çeşitli sebze, meyve, hayvansal ürün ve kuru tahıl numuneleri için

HPLC' de alınan analiz sonuçları Tablo 3.1' de verilmiştir

**Tablo 3. 1. Bazı Yiyeceklerdeki Serbest Folik Asit Miktarları**

<u>Y i y e c e k</u>	<u>Folik Asit (ppm)</u>	<u>Y i y e c e k</u>	<u>Folik Asit (ppm)</u>
Top biber	0.02	Havuç	0.41
Domates	0.18	Badem	0.83
Ispanak	2.36	Nohut	0.90
Marul	0.82	Buğday	2.39
Elma	0.28	Mercimek	2.41
Limon	2.09	Muz	0.73
Portakal	1.39	Erik	0.62
Sivri biber	0.17	Kayısı	1.75
Işık	0.68	Zeytin	2.16
Lahana	0.35	Mısır	0.58
Yeşil soğan	0.22	Salatalık	0.49
Yeşil fasulye	0.30	Nane	10.9
Patates	0.60	Karaciğer	1.97
Patlıcan	0.23	Süt	0.56
Kereviz	0.79	Yumurta (sarısı)	4.60
Kuru soğan	0.51	Nane (kuru)	35.5
Çilek	1.65	Fıstık	8.20
Kabak	3.45	Fındık kavrulmuş	5.20
Maydanoz	3.06	Fındık	6.10

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Elde edilen bulgulara göre folik asit miktarı en fazla olan yiyecek nanedir. Nane genellikle Türkiye ve civarındaki bölgelerde yetişen bir sebze olması nedeniyle dış kaynaklı literatürlerde bulunmamaktadır. Nandeden sonra folik asit vitamin değeri yüksek olan başlıca yiyecekler sırasıyla; fıstık, fındık, yumurta sarısı, kabak, maydanoz, mercimek, buğday, ıspanak, zeytin, limon, karaciğer, çilek, kayısı, portakal ve maruldur.

Daha önce de belirtildiği gibi yetişkin bir insanın günlük folik asit ihtiyacı 200 µg 'dır. Bu nedenle beslenmede günlük miktarı karşılayacak yiyeceklerin tüketilmesi gerekir. Folik asidin yiyeceklerdeki ortalama miktarları bazı literatürlerde kap başına verilmiştir. Ancak kabın miktarı tam olarak ifade edilmemiştir. Bir kap pişmiş mercimekte 358 µg, bir kap pişmiş ıspanakta 262 µg, bir kap bezelye yemeğinde 310 µg folik asit bulunmaktadır ("Food To Be Fortified, 1997). Ayrıca 100 gr çilekte 18 µg, 100 gr portakalda 30 µg, bir adet domateste 20 µg folik asit bulunmaktadır. Çalışmamızda folik asit düzeyi en fazla olan yiyecek nane (109 ppm), en düşük olan biber (0,27 ppm) bulundu.

Folik asit yetmezliğinde ortaya çıkacak spina bifida (felç), ensefali, megaloblastik anemi, bozulmuş DNA sentezi, nöral tüp defekti gibi hastalıklardan korunmanın yolları başta yeşil sebzeler olmak üzere çeşitli yiyeceklerle dengeli beslenmektir. Folik asit, yüksek ısıya karşı dayanıksız olduğundan yiyecekleri fazla pişirmekten kaçınmalı mümkün olduğu kadar sebzeleri çiğ ve yıkanmış bir şekilde tüketmelidir. Ayrıca folik asit pişirme

sularına geçtiğinden kayıp olmaması için pişirme sularının atılmadan tüketilmesi gerekir.

Ülkelerin gelişmişlik durumlarının ölçüsü sadece endüstri alanında yaptıkları yatırımlar ile sınırlı değildir. Halkın en önemli ihtiyaçlarından olan sağlık alanında ki yatırımlar ve uygulamalar da dikkate alınmalıdır. Bu nedenle Sağlık Bakanlığı, üniversitelerin ilgili bölümleri, beslenme uzmanları, halk sağlığı konusunda bilinçli uzmanlaşmış medya mensupları, sivil toplum organizasyonları özellikle kadın ve çocuk eğitiminden sorumlu birimler, halkımızı daha çok eğitmeli, dengeli beslenme yollarını öğretmeli ve sağlık meselelerine sahip çıkmalıdır.

Ülkemizde sağlığa yeteri kadar önem verilmemektedir. Başta çocuk ve hamile kadınların ihtiyacı olan folik asit gibi önemli bir vitamin hakkında yeterli çalışmalar yapılmamış ve halk bu konuda bilgilendirilmemiştir.

Folik asit yetmezliğinin ortaya çıkmaması için bazı program ve kampanyalarla sıvı içeceklerin yanında nane çayı kullanılmalı, beyaz ekmek yerine kepekli ekmek tüketilmeli, sebze ve meyve ağırlıklı diyet uygulamaları yapılmalıdır. Bebeklerin emzikli dönemindeki folik asit ihtiyacı anne sütüyle karşılanmaktadır. Emziklik döneminden sonra ihtiyacın giderilmesi için bebeklere başta çilek olmak üzere çeşitli meyve aromalı mama ve içecek verilmeli en az haftada bir veya iki bardak nane çayı içirilmelidir.

Bu çalışmada çeşitli sebze, meyve, sera sebzeleri, kuru tahıllar ve bazı hayvansal yiyeceklerde ki serbest folik asit (pteroylglutamik asit) miktarları belirlenerek folik asit düzeyi yüksek olan yiyecekler tespit edildi.

## 5. KAYNAKLAR

- Foods To Be Fortified With Folic Acid 1997, Agricultural Research, 16 – 17.
- Academic Press, 1964, New York. London,.
- Alcoholism and Folic Acid, 1972, Nutr. Reviews 30,57
- Aras, K., 1967, Vitaminler, Ankara Üniversitesi Basımevi, 80 – 85.
- Baker, S.,S., 1969, Folic Acid Deficiency in Man., Vitamins and Hormones 26,  
537, Harsis, R.,S., Wool, I.G., Loraine. J.A., Academic Press. New York,  
London, 1968, Baugh, C.M., Krumdieck, C.L., Effects of Phenytoin on  
folic acid Conjugases in Man Ibid. 2, 519
- Brattstrom L. 1996, Department of Medicine, Country Hospital, 391, 85 Kalmar  
Sweden, Jurnal of Nutrition, 126,4, 1276–1280, U.S.A.
- Brody, J, 1971, Folic Acid Deficiency in Congestive Heart Failure Nutr. Abst.  
And Reviews 41,188
- Buhac, I., Finn, J.W.,1972 Folacin deficiency anemia as a result of prolonged use  
of an oral contraceptive Nutr. Abst. and Reviews 42,1117
- Butterworth, C.E., Baugh, C.M. And Krumdieck, C.L. , 1969, A study of Folate  
Absorption and Metabolism in man Utilizing Carbon-14-Labelled  
Polyglumates Synthesized by the Solid Phase Method.J. Clin. Invest.  
48,1131.
- Carney, M.W.P., 1971, Serume folate and cyanocobalamine in alcoholics Nutr.  
Abst. and Reviews 41,1337
- Chow, B.F. : The B Vitamine :B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, Folic Acid, and Biotin Nutrit ion. A  
Comprehensive Treatise, Vol.II.p.229. Edit: Beaton, G.H,

and McItenry, E.W.

Cooper, B.A., 1970, Cantlie, G.S.D., Burunton, L., The Care for Folic Acid Supplements During Pregnancy. *Amer.J. Clin. Nutr.*, 23, 348.

Cooperman, J.M., 1970, etal. Urinary Excretion of folic acid activity in man. *Clin. Chem.* 16:375.

*Curr, Opin, Obstet Gynecol*, 1992, 4 ,1, 43–47, U.S.A.

*Curr, Opin, Obstet, Gastreterol*, 1994, 10,1, 88–97 United Kingdom.

Czeizel A.E., 1996, Gyali ut 2–6, Budapest Hungary, *CNS Durgs* 6,5, 399–412, New Zeland.

Davis, N., 1981, Dept, Int Med., Univ. California Engl. *J. Med.*, 305,25, 1513-1517, U.S.A.

Dergacev, V,V., Pivovorova. Etal., 1971, Treament with orotic and folic acids and Vitamin B<sub>12</sub> chiydren with memory disorders. *Nutr. Abs. And Reviews* 41,190.

Eichner, E,R., Hillman, R.S., 1971, The Evolution of Anemia in Alcoholic Patients., *Amer.J.Med.* 50,218.

Erdik E., 1987, Denel Organik Kimya, Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi Yayınları, Ankara.

Franken, D. G; Boers G. H; Blom H. J; 1994, Department of Medicine University Nijmegen Netherlands, 14, 3, 465– 470.

Glenn, T., 1969, Phenytoin, Cojugases and Folate Depletion. *Lancet* 2, 800.Corresp.

Gözükara, M.E., 1997, Biyokimya, Nobel Tıp Kitapevleri Yayınları,

Cilt: 2, 699 – 702, Ankara.

Haldsted, C.H. Robles, E.A., Mezey, E., 1971, Decreased Jejunal Uptake of labeled Folic Acid (3H-PGA) in Alcoholic Patients: Roles of Alcohol and Nutrition. *New. Engl. J. Med.*, 285,701.

Haltalin, K.C,1971, Fatal Shigella Infection Induced by Folic Acid Deficiency in Young quinea pigs, *Nutr.Abst.and Reviews* 41, 437.

Hebert, V., 1968, Folic Acid Deficiency in Man. *Vitamins and Hormones* 26,525, Harris, R.S., Wool. I.G.Lorraine. S.A. Academic Press. Nev York, London.

Hoffbrand, A.V., Necheles, T.F, 1968, Mechanism of Folate Deficiency in Patients Receiving Phenytoin. *Lancet* 2,528

*Kidney*, 1996, *United States*, 49, 1, 147–152.

Klipstein, F., 1967, Intestinal Folate Conjugase Activitiy in Tropical Sprue. *Amer.J. Clin. Nutr.*, 20, 1004.

Krumdieck, C.L. and Baugh, C.M.: The solid-Phase Synthesis of Polyglutamates of Folic Acid. *Biochemistry* 8, 1568, 1969.

Kuruca, M., 1973, Folik Asit, Kız Teknik Yüksek Öğretmen Okulu Yayınları, Ankara.

Marko, O.P., 1971, Relation of Folic Acid Metabolism to the Intestinal Microflara in non-specific Ulcerative Colitis. *Nutr. Abst. and Reviews* 41,188.

Metz, J., 1970, Folate Deficiency Conditioned by Lactation. *Amer.J.Clin. Nutr.*, 23, 843.

- Murray, R.K. vd., 1993, Harper'in Biyokimyası, Barış Kitapevi, İstanbul.
- Passmore, D.R., 1971, Human Nutrition and Dietetics.p. 232, 469 E.and S.  
Livingstone Edinburgh and London..
- Perry, J.and Chanarin. I, 1968, Absorption and Utilization Polyglutamyl  
Folate in man, Brit. Med. J. 4,546
- Pınar, T., 1988, Semptomaya Yönelik Tanı El Kitabı, Siyah Dizi  
Yayımları, 224 – 226.
- Piolot, A.; Nadler F.; 1996, Revue de Medecine Interne, 17,1, 34–45, France.  
Presse Med, 1994, 23,13, 613–615, France.
- Retief, F.P., Phil. D., 1969, Urinary Folate Excretion After Ingestion After  
Ingestion of Pteroylmonoglutamic Acid Food Folate Amer. J.  
Olin. Nutry. 22, 352.
- Rosonberg, I.H., Godwin, H,A., Streiff. R,R., Castle, W.B., 1968, Impairment  
of Intestinal Deconjugation of of Dietary Folate. Lancet 2,532.
- Saraçoğlu, F., 1989, Temel ve Klinik Bilgiler, Güneş Kitapevi, Cilt: 1,  
231, Ankara.
- Shojanica, A,M., Hornady, G., Barnes P,H., 1969, Oral Contraceptives  
and Folate Metabolism. Lancet 1,886 Corresp.
- Swain R.A; St Clair L. 1997, Dept of Family and Sports Medicine, West  
Virginia University, 1201, Washington. Jurnal of Family Practice  
44,2, 138–144, U.S.A,
- Şimşek, E., 1996, Temel Tıp Bilimleri, Atlas Yayınları Cilt: 2, 155, Ankara.
- Tompolski, C., Tynecki, J., 1972, Effect of Folic Acid on the Coures

of Pregnancy Guineapigs. Nutr. Abst. And Reviews 42,502.

Wartan qwicz , M., Ziemiński,S., Palaszewska,M., 1972, Absorption  
of Synthetic Folic Acid and Natural form in the alimentary tract. Abst  
and Review.42,916 .

West, E.S., Todd, W.R., 1961, Textbook of Biochemistry.p. 732. The Macmillan  
Company, Newyork.

Whalley, P.S., Scott, D.E., and Pritchard. J.A., 1972, Pregnancy-induced  
Hypertension Nutr. Abst.and Reviews 41, 1110.

Williams, F.R., and Giriwood, R.H., 1971, The folate status of lcoholics Nutr.  
Abs. and Reviews 41,1008.

