

## FOLİK ASİT BİYOKİMYASI ve BESLEMESİ

Sümer HAŞİMOĞLU (1)  
Ayhan AKSOY (2)  
Nihat ÖZEN (3)  
Ahmet ÇAKIR (4)

### Ö Z E T

*Antianemik faktör olarak bilinen folik asidin, fizyolojik olarak aktivite gösteren birçok derivatı bulunmaktadır. XX. yüzyılın ortalarına doğru tanımlanmamış büyüme faktörleri olarak literatüre geçen folik asidin, kırmızı kan hücrelerinin formasyonunu hızlandırdığı ve anemi tedavisinde tesirli olduğu ortaya konmuştur.*

*Folik asidin esas biyokimyasal rolü, tek karbonlu grupların transferidir. Folik asidin maymun, civciv, hindi, tilki, mink, tavşan ve farelerin diyetlerinde bulunması lazım geldiği bir çok araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur.*

*Anemi tedavisinde kullanılan folik asidin diğer vitaminlerle örneğin, vitamin B<sub>12</sub> ile ilgili olduğu bulunmuştur. Tabiatта bilhassa, yeşil bitkilerde bol bulunan folik asidin, çiftlik hayvanlarından kanatlılar için kritik olduğu, bu durumun rasyon hesaplarında göz önüne alınması lazım geldiği detayıyla incelenmiştir.*

### 1. Tarihçe;

Hindistan'ın Bombay şehrinde yaşayan gebe kadınlarda sık sık rastlanan ve daha sonraları folik asit noksanlığın-

dan ileri geldiği anlaşılan "Tropik (makrositik) anemi" hastalığı, ilk defa Willis tarafından 1931 yılında tarif edilmiştir, (Woodruff ve Darby, 1948).

- 
- |     |   |                |
|-----|---|----------------|
| (1) | Atatürk Üniversitesi, Zir. Fak. Zootečni Bölümü | Dr. Asistanı.  |
| (2) | " " " "   | " Doçenti      |
| (3) | " " " "   | " Dr. Asistanı |
| (4) | " " " "   | " Dr. Asistanı |

Ziraat Dergisine Geliş Tarihi :

İlk çalışmalar, folik asidin izolasyonundan önce yapılmış, tabiattaki bir çok organik materyalin bu bilinmeyen büyümeyi arttırıcı faktörü ihtiva ettiği ve bu faktörün, hayvanların ve mikroorganizmaların normal gelişme ve üremeleri için esas olduğu ortaya konulmuştur.

Folik asit üzerinde yapılan bu çalışmaların açıklanmalarındaki zorluk, araştırmalar arasında koordinasyonun noksanlığından ve her grup araştırıcının bakteri veya hayvanlar üzerinde değişik büyüme faktörleri üzerinde çalışmasından ileri gelmekteydi. Her grup, çalıştığı büyüme faktörüne değişik isimler vermekteydi. Bu maddeler benzer biyolojik aktivite göstermelerine rağmen, farklı kimyasal ve biyolojik özelliklere sahiptirler. Şimdi bilinen bir gerçek vardır, o da; çeşitli maddeler arasındaki bu farklılıklar hakiki olmayıp, bu farklılıklar folik asidin tabiatta serbest olduğu kadar, konjuge (bağlı) formda da bulunmasından ileri gelmektedir (Lederla, 1950). Zihinlerdeki çeşitli sualler, 1940'larda halâ cevaplanamamıştı. Bu çeşitli faktörlerden folik asit ve L. casei faktörü, gerek mikroorganizmalar ve gerekse hayvanlar için aktif olmakla beraber, vitamin M, faktör R ve vitamin BC sadece maymun ve civcivlerde aktivite göstermiş, bunların mikroorganizmalarının büyümesi için, inaktif olduğu bulunmuştur. Bu karmaşıklık, 1944 yılında Arkansas Tıp Fakültesi mensuplarından Mins ve çal. ark. (1944) tarafından çözülmüştür. Bu araştırmacılar, vitamin M konsantresinin, fare karaciğeri enzimleriyle inkübasyonu sonucunda L. casei için folik asit aktivitesinin oldukça arttığını göstermişlerdir. Folik asidi açığa çıkaran enzimin domuz böbreklerinde ve civ-

civ pankreasındaki varlığı da diğer araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur. Bu çalışmalar folik asidin, tabiatta hem bağlı ve hem de serbest formda bulunduğunu ortaya koymuştur. Son yıllarda yapılan araştırmalar (Baugh ve çal. ark. 1975), birden fazla glutamik asit ihtiva eden bağlı folik asitlerin, ince barsakların absortif hücreleri tarafından salgılanan gamma karboksipeptidaz tarafından hidrolize edildiğini ve böylece absorbe edilebildiğini göstermiştir. Aynı araştırmacılar, tek glutamik asit taşıyan bağlı folik asitin de, absorbe edilebileceğini saptamışlardır.

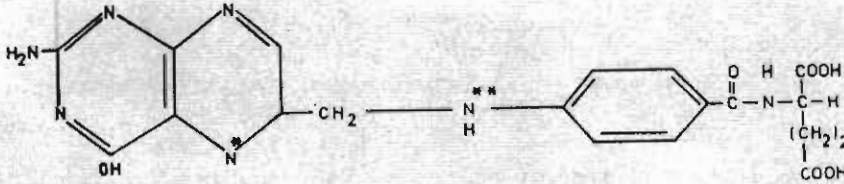
Mitchell ve çal. ark. (1941), taze ıspanak ve diğer yeşil yapraklı materyallerin, gerek L. casei ve gerekse Streptococcus lactis için mükemmel birer bilinmeyen faktör kaynağı olduklarını bulmuşlardır. Bu araştırmacılar, adı geçen bilinmeyen faktörü daha konsantra hale sokmuş ve "folik asit" adını vermişlerdir. Folik asidin izolasyonu, yapısının tayin edilmesi ve sentez edilmesi ile Lederle ve çal. ark. (1946), ilim dünyasında şöhrete ulaşmışlardır.

## 2. Kimyası ve Tabiatta Bulunuşu :

Folik asit B vitaminlerindedir. Bu grup vitaminlerin hayatın her formu için mühim ve gerekli ve dolayısıyla besleme açısından esansiyel oldukları ortaya konmuştur (Fraenkel ve çal. ark. 1948), Folik asit ihtiva eden maddeler, tabiatta oldukça yaygındırlar. Hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmaların yapısında bulunmaktadır. Tabiatta serbest halde çok az bulunur. Tabiattaki mevcut folik asidin büyük bir kısmı, iki veya daha fazla glutamik asit kalıntısına bağlı olarak bulunur. Bu vitaminin ana kısmı ile glutamik asit birbirine α-

glutamil bağlarıyla bağlıdır. Bu formdaki folik asit, mikroorganizma için inaktif olup, hayvan vücudunda bir metabolit olarak bulunur. Bununla beraber, tavuk karaciğeri, pankreas ve böbreğinde bulunan enzimler, folik asidi yukarıda verilen bağdan kopararak serbest hale geçirebilirler. Folik asidin konjüge formundaki aktivitesine tesir eden sistin, askorbik asit ve bir çok diğer faktörler sayılabilir. (Roels, 1967).

Folik asit, B kompleks vitaminlerinin oldukça stabil olanlarından. Kimyasal yapısı üç kısımdan oluşur (Şekil 1)- 1. Pteridin çekirdeği (zantopterinle ilgilidir). 2. p-amino benzoik asit (PABA) ve 3. Glutamik asit. Folik asidin kimyasal ismi pteroylglutamiktir (Roels, 1967). Kapalı formülü ise,  $C_{19}H_{19}N_7O_6$  dır (Roche, 1970).



Şekil 1. Folik asitin kimyasal yapısı.

Bu teoriyi ileri sürenler, sebep olarak normal bir diyetdeki folik asit düzeyinin, kandaki folik asit düzeyinden daha yüksek olduğunu ileri sürerler (Roels, 1967). Bununla beraber, bu teorinin ispatlanması gerekmektedir.

### 3. Fiziksel Özellikleri:

Folik asit kristal halde iken açık limonla portakal sarısı arasında bir renge sahiptir. Sulandırılmış alkali ve sıcak suda, hemen erimesine rağmen,

Folik asidin bilinen beş koenzim formu vardır ve bunların esas fonksiyonları DNA, RNA, metiyonin ve serin sentezinde tek karbon ünitesinin uygun metabolitlere transferidir. Folik asidin aktif formunda, formil veya metil grubu 5 veya 10 nolu nitrojene bağlı durumdadır. Diğer bir alternatif de metilen grubunun 5\* ile 10\*\* uncu nitrojen arasında yer almasıdır (Scott ve çal. ark. 1969). Normal olarak, hayvanlar ve insanlar, folik asidin gerek serbest ve gerekse bağlı formundan faydalanabilirler. Faydalanma mekanizması bozulduğu zaman, folik asit noksanlığı kendisini gösterir. Bu durum kendisini, kemik iliğinde megaloblastik blokaj ve kanda makrositik bir durum şeklinde karakterize ettirir.

Folik asit formlarının pasif bir absorpsiyonla kana alındığı teorisi vardır.

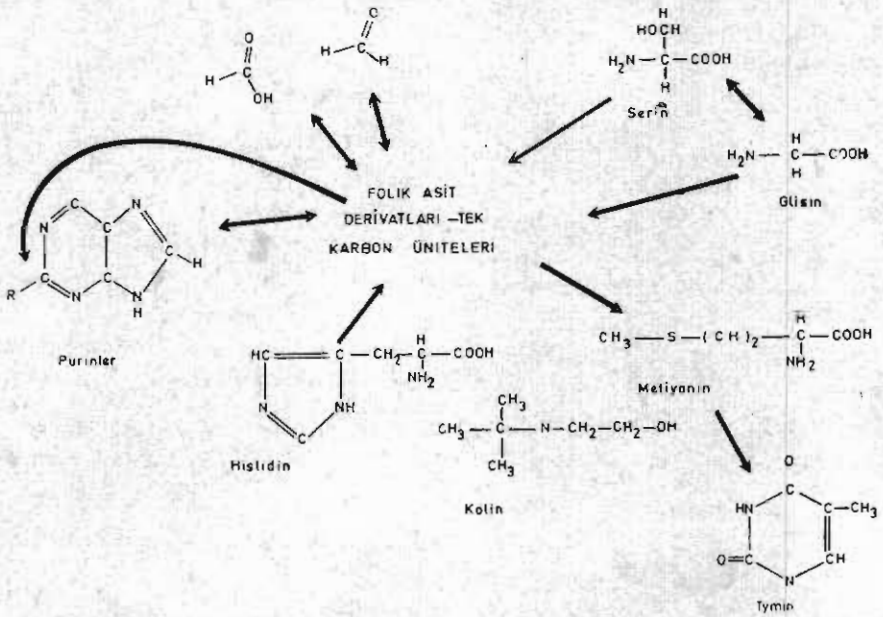
Sulandırılmış asitte az ve soğuk suda hemen hemen hiç erimez. Alkol aseton, eter ve kloroform da erimez. 250 C° de renk değiştirmeye başlar ve sonra da yanmış kömür rengini alır. Optik olarak aktiftir. Spesifik rotasyonu ( $\alpha$ )<sup>20</sup> = yaklaşık olarak + 20° (c = 0,5 1 N NaOH içinde ) ( Roche, 1970.)

### 4. Fizyolojik Rolü ve Biyokimyası:

Folik asidin esas metabolik rolü, dolaylı olarak tek karbon atomu metabolizması ile ilgili olmasıdır. Folik a-

sidin tek karbon transferi ile ilgili spesifik reaksiyonları (Şekil -2): 1. Serin ve glisin amino asitlerinin birbirlerine çevrilmeleri, 2. Glisin amino asidindeki C<sub>1</sub> ünitesinin birçok sentez olaylarında

kullanılması, 3. Histidin degradasyonu, 4. Pürin sentezi, 5. Metiyonin, kolin ve tiyamin için, metil grublarının sentezini kapsar (Scott, ve çal. ark., 1969).



Şekil: 2. Sentezlenmeleri için tek karbon ünitesine ihtiyaç duyan bileşikler.

Tek karbon kaynağı olan reaksiyonların başında, serinin, glisine ve histidin de glutamik aside dönüşmeleri gelir.

Folik asidin metabolik aktivitelerinden en önemlilerinden biri de, nükleik asitler için esas olan pürin ve pirimidinlerin sentezlenmelerinde rol oynamasıdır. Yeterli miktarlarda nükleik asit sentezlenmesi halinde, gelişmekte olan kırmızı kan hücreleri, normal gelişmelerini tamamlayamaz ve çeşitli organlardaki bu hücrelerin prodüksiyonu megaloblast safhasında durur. Bunun sonucu olarak makrositik anemi meydana ge-

lir. Ak yuvarların formasyonu da etkilenir, tromopenis, lökopenia (kanda lökosit sayısının azalması) meydana geldiği gibi, kanda eski ve birçok lob ihtiva eden nötrofiller görülür.

Yetersiz beslenme sonucu, hasta insanlarda ve maymunlarda lökopenia durumunun ortaya çıkması, folik asidin insan hemapoiesisi (kan formasyonu) için ne kadar önemli olduğunu belirlemektedir. Lederla (1950) tarafından belirtildiğine göre, folik asidin ilk klinik kullanılışı, Spies ve çal. ark. tarafından, malnütrüsyon durumundaki hastalarda lökosit rejenerasyonunun üze-



rinde yapılmıştır. Spies ve çal. arkadaşlarının 17 hastasından 13'ü günde 15-20 mg. folik asit injeksiyonuna pozitif reaksiyon göstermişlerdir.

Folik asit hem bazı anemi hallerinde kan yapısında esas olan bir madde, hem de, bütün dokuların bilhassa hızlı büyüme devresinde, ayrılmaz bir parçasıdır. Nitekim, insan ve hayvan kanlarında bulunan ve bağlı formdaki folik asitten, serbest folik asiti ayırabilen bazı bağlı folik asitlerin bulunuşu, bu vitaminin, dokuların esas yapı unsurlarından biri olduğunu ortaya koymaktadır. (Simpson ve Schiveigent, 1949).

Folik asidin vücuttaki diğer bir çok vitaminlerle ilgili olduğu ortaya konmuştur. Vitamin B<sub>12</sub> ile birlikte hemoglobin sentezine girmektedir (Nichol, Harper, Dutrich ve Enehjem, 1949). Bethel ve çal. ark. (1948)'nin ileri sürdüğü gibi, pernisiyüs anemia durumunda, normal ve tam bir kan yapımına geçiş için, folik asit ve vitamin B<sub>12</sub>'ye ihtiyaç duyulur. Pernisiyös anemia olan bir hastaya, Vitamin B<sub>12</sub> verildiği zaman, maksimum iyileşme reaksiyonu görülmektedir. Fakat, gerek B<sub>12</sub> verilmeden önce ve gerekse B<sub>12</sub> ile birlikte folik asit antagonisti bir maddenin verilmesi halinde hemopoitik reaksiyon gecikmektedir. Buda, folik asidin timin ve B<sub>12</sub>'nin ise timin sentezinde rolleri olduğu, dolayısıyla ikisinin de purinlerle pirimidinlerin metabolizmaları ile yakından ilgili bulunduğunu göstermektedir (Shive ve çal. ark., 1948; Stokes; 1944). Purin ve pirimidinlerin, folik asidin antegonisti olan bakteriler üzerinde büyümeyi engelleyen bir etki göstermesi de bunu doğrulamaktadır.

Folik asit bir dereceye kadar, hid-roksifenil derivatları ve keto asitlerin metabolizmalarında vitamin C'nin bir kısmının yerine ikame olabilmektedir (Becher ve çal. ark., 1948; Strokes, 1944 ve Woodruff ve Barby, 1948). Diğer taraftan, folik asitçe noksan diyetlerle beslenen farelerde, Vitamin C lökosit ve normoblast sayılarını arttırıcı yönden etkili olmaktadır. (Woodruff ve Darby, 1948).

Diğer müşterek reaksiyonlar arasında folik asidin, bağırsaklarda meydana gelen Vitamin K sentezinde muhtemel bir rol oynadığı (Welch ve Wright., 1943), tirozin gibi fenol derivatlarının kullanılmasını (Dinning ve çal. ark., 1947) ve kolin oksidaz aktivitesini (Dinning ve çal. ark., 1949) arttırışı gösterilebilir.

##### 5. Noksanlık Arazları :

Folik asit antagonistlerinin kullanılmaları ile, bu vitamene duyulan ihtiyaç ortaya konabilmiştir. (Cerecedo ve çal. ark., 1944 ve Franklin ve çal. ark. 1947). Folik asit antagonistleri ; 1. Dihidrofolik asit redüktazı bağliyerek pteroylmonoglutamik asidin tetrahidrofolik aside dönüşümünü bloke eder veya 2. Tetrahidrofolik asidin tek karbonlu üniterinin akseptörlere (örneğin, metiyonin ve purinlerin sentezinde) transferini bloke etmektedir (Scott ve çal. ark., 1969). Folik asit antagonistlerinin kullanılması, folik asidin biyokimyasal aktivitesinin açıklanmasında çok önemli bir metottür. Bunun yanında, barsak mikroflorasını öldürücü germisidlerin (Germicides) verilmesi de, folik asit noksanlığını gösterme açısından önemli bir metod olarak kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarla, barsak mikroorganizmasını değiştirmek suretiy-

le, bazı hayvanlarda folik asit noksanlığı meydana getirilebileceği de gösterilmiştir.

Delillerin çoğu, folik asit antogonistlerini kullanmaksızın, folik asit noksanlığının ortaya çıkarmasının çok zor olacağını göstermektedir. Bunun yanında, folik asitçe noksan diyetlere, Vitamin C veya iyodlu kazein, barsak germisitleri veya yüksek düzeyde metiyonin ilâve ile folik asit noksanlığı daha bariz bir şekilde ortaya konabilir.

Bu diyetssel noksanlıkların, insanlarda ortaya konması da oldukça zordur. Folik asit noksanlığı, böceklerde, parazitlerde ve evcil hayvanlarda, laboratuvar hayvanlarında, kanatlılarda da görülmektedir. Yukarıda sayılanlarda da folik asit, normal hemopoiesis, normal büyüme ve sağlık için esastır.

Yeteri kadar folik asit olmadığı takdirde, kemik iliğinde megoloblastik oluşu durmakta ve bu da, makrositik aneminin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. İnsanda folik asit noksanlığı, makrositik anemiye sebep olur ki, bu da, sinir sistemini etkilememiş pernisis anemiyaya benzer. Hazım sisteminde yaralar, ishaller, barsaklarda absorpsiyon bozuklukları da anemi yanında görülen diğer arazlardır. Farelerde folik asit noksanlığı, büyümede yavaşlama, tüylerin beyazlanması, laktasyonun ve üremenin bozulması arazları ile kendisini gösterirken (Richardson ve Hogan, 1946), kanathlarda kötü tüylenme, perosis, yumurta veriminin düşmesi şeklinde kendisini göstermektedir (Daniel ve çal. ark., 1946).

Bir çok durumlarda folik asit enjeksiyonu ile görülen noksanlık arazları, iki ile dört gün arasında kaybolmaktadır (Lederla, 1950).

## 6. Folik Asit Toksisitesi :

Diğer B kompleks vitaminleri gibi, genel olarak folik asidin de yüksek düzeylerinin, deneme hayvanlarında akut veya kronik toksisite meydana getirdiği görülmüştür. Folik asidin, riboflavine benzeyen akut toksisitesi, yüksek dozda ve az eriyen folik asitin, damardan enjekte edilmesi ile ortaya çıkmıştır (Lederla, 1950). Bir haftadan fazla bir süre, her gün deri altına yüksek dozda folik asit verilmesi, tavşanlar ve farelerde, büyümeyi geriletici olarak toksisitesini göstermiş ve otopsi neticesinde, böbreklerde bozukluklar ortaya çıktığı görülmüştür. Bu denemede kullanılan dozaj, normal insan ve hayvan diyetlerinde bulunan folik asit düzeyinin çok çok üzerinde olmuştur. Normal bir tavşana damardan verilen folik asit, kemik iliğindeki myeloid hücrelerin büyümesini hızlandırmıştır (Lederla, 1950.)

## 7. Folik Asit İhtiyaçları :

Çeşitli hayvanların folik asit ihtiyaçları farklılık göstermektedir. Bunun sebebi de, barsakta mikroorganizmalar tarafından sentez edilen folik asitten yararlanma düzeylerinin farklı olmasıdır. Cıvcıvler, maymunlar, kobaylar, folik asit düzeyi düşük sentetik diyetlerle (purified diet) noksanlık arazları göstermektedirler. Diğer taraftan insanlar ve fareler, barsakta mikroorganizmalar tarafından sentez edilen folik asitle ihtiyaçlarını karşılayabilmektedirler. Birçok araştırmacı, günde 0,1-0,2 mg folik asidin insanlar için yeterli ve diğer hayvanlar için de, her kg yemde 0,2-1,0 mg. folik asidin bulunmasının yeterli olabileceğini göstermişlerdir. Gröbke ve Zintzen (1970), çeşitli hayvanların folik asit ihtiyaçlarını vermişlerdir (Tablo-1).

TABLO 1

ÇEŞİTLİ HAYVANLARIN RASYONLARINDA BULUNMASI GEREKEN FOLİK ASİT MİKTARLARI (Gröbke ve Zintzen, 1970), (Roche, 1970),

Rasyonlar	Folik asit mg/kg rasyon
Civciv başlatma rasyonları	0,6 — 1,0
Piliç rasyonları	0,5 — 0,8
Yumurta ve damızlık tavuk rasyonları	0,6 — 1,0
Kasaplık piliç rasyonları	0,5 — 0,8
Hindi başlatma rasyonları	0,6 — 1,2
Hindi semirtme rasyonları	0,6 — 1,2
Kuzu ve buzağı başlatma rasyonları	0,5 — 0,8
Damızlık domuz rasyonları	2,0
<b>Atlar</b>	
Tayların rasyonları	3,0 — 6,0
Çalışan atların rasyonları	10,0
Damızlık kısırakların rasyonları	15,0
Köpek diyetleri	0,3
Kedi diyetleri	0,4
Mink ve tilki yemleri	0,6
Balık yemleri	4,0

Marimoto (1970), Vitamin B<sub>12</sub>'nin rasyona ilâvesinin, rasyona ilâve edilmesi gereken pantotenik asit, kolin ve folik asit miktarlarını azalttığını bildirmektedir.

Marimoto (1970), folik asidin irradiasyondan bozulabileceğini ve ışığa karşı hassas olduğunu bildirmektedir. Folik asit pH 6 da ve daha yukarısında stabil kalmakta ve sulfitlerin bulunduğu bir ortamda hemen aktivitesini kaybetmektedir. Folik asidin ekstraksiyon, ışık ve pH değişimleri ile aktivitesini kaybetmediği (Gröbke ve Zin-

tzen, 1970) tarafından da doğrulanmaktadır.

#### 8. Tabiatla Bulunuşu ve Yemlerdeki Miktarları :

Folik asit ve buna bağlı bileşikleri, tabiatla oldukça yaygındır. Tabii yemlerdeki bulunuşu, bileşik formda olup, hayvanlar tarafından faydalanma düzeyi oldukça düşüktür. Folik asidin tayin metodu (A.O.A.C., 1960) tarafından gerek serbest ve gerekse bağlı formu için verilmiştir. Tablo-2 de serbest, bağlı ve total folik asit miktarları çeşitli yemler için verilmiştir.

TABLO 2  
YEMLERDEKİ FOLİK ASİT MİKTARLARI

Yemler	Serbest mg/kg	Total mg/kg	Bağlı mg/kg
Soya fasulyesi küspesi (ekstrakte edilmiş)	0,57	3,63	84
Balık unu	0,22	0,24	9
Pamuk tohumu küspesi	0,22	1,01	78
Mısır	0,06	0,36	84
Buğday	0,12	0,26	54
Arpa	0,11	0,32	67
Yulaf	0,12	0,36	66
Buğday kepeği	0,67	1,16	43
Buğday embriyosu	0,26	2,44	89
Bira mayası	2,31	11,35	80
Et-kemik unu (% 50 ham protein)	1,08	1,12	4
Yonca unu (% 17 ham protein)	3,26	3,59	9
Yonca peleti	1,36	2,28	40

### LİTERATÜR LİSTESİ

- Association of Official Agricultural Chemist Official methods of Analysis. 9<sup>th</sup>ed. Washington; A.O.A.C., 1960.
- Baugh, C.H., C.L. Krumdieck, H.J. Baker and E. Butterworth, Jr. 1975. Absorption of folic acid poly-  $\gamma$  - glutametes in dogs. Journal of Nutrition, 105 : 80 - 89.
- Becher, E., S. Litzner and w. Taglich. 1948. Disturbance in tyrosine metabolism in pernicious anemia. Nutr. Rev. 6 : 70
- Betwell, F.H., M.C. Meyers and R.B. Naligh. 1948. Vitamin B<sub>12</sub> in pernicious anemia and puerperal macrocytic anemia J. Lab. and Clin. Med. 33 : 1477
- Cercedo, L.R. and L. J. Vinson, 1944. The effect of the *L. casei* factor and of highly potent folic acid concentrate on lactation in rats maintained on synthetic rations. Arch. Biochem. 5 : 469
- Danial, L.J., F.A. Farmer and L. Norris. 1946. Folic acid and perosis. J. Biol. Chem. 163: 349.
- Dinning, J. S., C.K. Keith and P.L. Day. 1949. A relationship of folic acid to choline oxidase. Arch. Biochem. 24 : 463
- Fraenkel, G., M. Blewett and M. Colles. 1948. B<sub>1</sub> A new vitamin of the B-group and its relation to the folic acid group and other anti-anemia factors. Nature 161 : 981.
- Franger, J. 1963. as cited by Zintzen. H. and Grobke, 1970. The vitamins. The Problems of Requirements and Allowances. Roche Information Service p.5



- Franklin, A.L., E.L. Stokstad, M. Bolt and T.H. Jukes. 1947. Observations on the pteroylglutamic acid content of the tissue of chickens. *J. Biol. Chem.* 169 : 427.
- Goven, C.D. Jr. and H.H. Gordon. 1949. The effect of pterylglutamic acid on the aromatic amino acid metabolism of premature infants. *Science.* 109 : 332
- Lederla, 1950. The Nutritional and clinical significance of folic acid. Lederle Laboratories Divison. New York N.Y.
- Mims, V., J.R. Totter and P.L. Day. 1944. A method for the determination of substance enzymatically convertible to the factor stimulating *Streptococcus lactis* R. *J. Biol. Chem.* 155 : 401.
- Mitchell, H.K., E.E. Snell and R.J. Williams. 1941. The concentration of "folic acid". *J. Am. Chem. Soc.* 63 : 2284
- Morimoto, H. 1970. Nutritional Requirements and Recommended Feed Fortification Levels for Amino Acids. Vitamins and Minerals. Animal Nutrition Events. Tokyo 1970 Seminar for the Feed Industry. P. 15
- Nichol, C.A., A.E. Harber, L.S. Dutrich and C.A. Enehjem. 1949. Effect of folic acid, liver extract and vitamin  $\beta_{12}$  on hemoglobin regeneration in chicks. *Fed. Proc.* 8: 233
- Roels, O.W. 1967. Present Knowledge in Nutrition. The Nutrition Foundation Inc. New York, N.Y.
- Richardson, L.R. and A. Hogan, 1946. Diets of mother and hydrocephalus in infant rats. *Fed. Proc.* 5 : 238
- Roche, 1970. Folic acid in Animal Nutrition. Publication of I. Hoffmann-La Roche and Co. A.G., Basel/Switzerland.
- Scott, M.L., M.C. Nesheim and R.J. Young. 1969. Nutrition of the Chicken. M.L. Scott and Associates. Ithaca, New York.
- Shive, w. J.M. Ravel and W.M. Harding. 1948. The interrelationship of purines and vitamin  $\beta_{12}$ . *J. Biol. Chem.* 176 : 991
- Simpson, R.E. and B.S. Schiveigent. 1949. Folic acid metabolism studies. I. Occurance of blood conjugates. *Arch. Biochem.* 20 : 32.
- Stokes, J.L. 1944. Substitution of thymine for "Folic acid" in the nutrition of lactic acid bacteria. *J. Bact.* 48 : 201.
- Welch; A.D. and L.D. Wright. 1943. The role of "folic acid" and biotin in the nutrition of the rat. *J. Nutr.* 25 : 555
- Wills, L. 1931. Treatment of "pernicious anemia of pregnancy" and "tropical anemia". *Brit. Med. J.* 1 : 1059
- Woodruff. C. w. and w. J. Darby. 1948. An *in vivo* effect of pteroylglutamic acid upon tyrosine metabolism in the scorbutic guinea pig. *J. Biol. Chem.* 172 : 851.