T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE KARNİTİN DÜZEYLERİ

Rabia Serpil GÜNHAN

DOKTORA TEZİ

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Suzan YALÇIN

KONYA-2014

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE KARNİTİN DÜZEYLERİ

Rabia Serpil GÜNHAN

DOKTORA TEZİ

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Suzan YALÇIN

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından 10202030 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2014

ÖNSÖZ

Süt ve süt ürünleri, büyümek ve hayati fonksiyonları yerine getirmek için gerekli makro ve mikro besin elementlerini yeterli ve dengeli oranda içermektedir. Son yıllarda insan sağlığı ve gıda ilişkisi konusunda çalışmaların yoğunluğu artmış ve bu bağlamda gıda endüstrisi ürünleri daha fazla irdelenmeye başlanmıştır. Özellikle besin elementlerinin olumlu ve olumsuz etkileri araştırılarak, hastalıkların öncelikle önlenmesi, tedavisi ve dengeli beslenme konusundaki mevcut problemlerin çözümlenmesi amaçlanmıştır.

Yağ asitlerinin etkin bir şekilde kullanılmasına yardımcı olan L-karnitin, insanlarda ve hayvanlarda sağlıklı ve dengeli beslenmeyi sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Olumlu etkileri görüldükçe kullanım oranı artmış, gıda sektöründe kendine yer bulmuş ve artık günümüzde kolayca bulunabilen bir ticari ürün halini almıştır. Bu çalışmada, beslenmemizde önemli yer tutan süt ve süt ürünlerinde mevcut L-karnitin düzeyleri araştırılmıştır.

Doktora tezi olarak sunduğum bu araştırmada, bana, çalışma ve araştırma ufukları açarak kendimi geliştirmemi sağlayan değerli hocam sayın Prof. Dr. Suzan Yalçın'a ve Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri ve elemanlarına, analizlerimi yaptığım Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma Merkezi'ndeki değerli dostlarıma, araştırmayı maddi yönden destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü'ne, bu çalışmanın her aşamasında bana destek olan eşime, aileme ve dostlarıma en içten minnet ve şükran duygularımla teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR v

1.GİRİŞ 1

1.1. L-Karnitin Tanımı ve Tarihçesi 3

1.2.L-Karnitinin Kimyasal Yapısı 4

1.3. L-Karnitinin Fonksiyonları 6

1.3.1. L-Karnitinin Yağ Asidi Oksidasyonundaki Fonksiyonu 6

1.3.2. L-Karnitinin Diğer Metabolik Fonksiyonları 8

1.4. L-Karnitinin Biyosentezi 9

1.5. L-Karnitin Yetersizliği 13

1.6. L-Karnitin Kaynakları 14

1.7. L-Karnitin ve İnsan Sağlığına Etkisi 20

1.8. L-Karnitin Tayin Yöntemleri 26

1.9. L-Karnitin ile İlgili Çalışmalar 28

2. GEREÇ ve YÖNTEM 32

2.1. Gereç 32

2.1.1. Araştırma Gereci 32

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Cihazlar 32

2.2. Yöntem 33

2.2.1. Kromotografik Koşullar 33

2.2.2. Kalibrasyon İçin Standart Solüsyonlarının Hazırlanması 33

2.2.3. Numunenin Hazırlanması ve Ekstraksiyonun Yapılması 33

2.2.4. Türevlendirme Aşaması 36

2.2.5. Kromotografik Analiz 38

2.2.6. Kimyasal Analiz 40

2.2.7. İstatistiksel Analizler 40

3. BULGULAR 41

4. TARTIŞMA 50

5. SONUÇ ve ÖNERİLER 55

6. ÖZET 56

7. SUMMARY 57

8. KAYNAKLAR 58

9. ÖZGEÇMİŞ 64

SİMGELER VE KISALTMALAR

CPT : Karnitin Palmitol Transferaz

KoA : Koenzim A

NAD : Nikotinamid Adenin Dinükleotit

HPLC : Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi

CAT : Karnitin Asetil Transferaz

CT : Karnitin translokaz

OZYA : Orta Zincirli Yağ Asitleri

UZYA : Uzun Zincirli Yağ Asitleri

UHT : Ultra-High-Temperature=Çok Yüksek Isı

KOH : Potasyum Hidroksit

$HCLO_4$: Perklorik Asit

HCL : Hidroklorik Asit

LOD : Limit of Detection=Tayin Edilebilecek Sınır Limiti

LOQ : Limit of Quantification=Tayin Edilebilecek en Düşük Konsantrasyon

KM : Kuru madde

EDC : 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodimide hydrochloride= 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil karbodimid hidroklorid

1.GİRİŞ

Yeterli, dengeli ve sağlıklı beslenme bireyler ve toplumların sağlığı için temel gereksinimlerin başında gelmektedir. Beslenme vücudun çalışması için gerekli besin öğelerinin, besinlerle vücuda alınması, sindirimi, emilimi ve metabolize edilmesi basamaklarını içine alan bir süreçtir. Sağlığın korunması, sağlığın kaliteli bir biçimde yürütülebilmesi, hastalıklardan korunma ve hastalığın etkin bir şekilde tedavi edilebilmesi ve tedavi süresinin kısaltılması için sağlıklı, yeterli ve dengeli bir şekilde beslenmek gerekmektedir (Merdol ve ark 2013).

Yeterli beslenme; bedenin gereksindiği enerji, besin öğeleri ve diğer biyoaktif maddelerin yeterli olarak alınması, dengeli beslenme; besin öğelerinin birbirlerine göre ve öğünlerde dengeli olarak tüketilmesidir. Sağlıklı beslenme ise; besinlerin hazırlanma ve pişirilme sırasında sağlık için zararlı hale gelmelerinin önlenmesi ya da içlerinde sağlığı tehdit eden öğelerin bulunmaması şeklinde özetlenmektedir (Merdol ve ark 2013).

Sağlıklı yaşam biçiminde, varolan ve yaşam kalitesini bozan beslenme sorunlarının (protein-enerji yetersizliği, demir yetersizliği anemisi, iyot yetersizliği hastalıkları, raşitizm, diş çürükleri, şişmanlık vb) en aza indirilmesi, diyete bağlı kronik hastalıkların (koroner kalp hastalıkları, hipertansiyon, bazı kanser türleri, diyabet, osteoporoz vb.) önlenmesi ve tedavisi oldukça önemlidir. Beslenme bilimindeki son gelişmeler diyetin, optimal sağlığın oluşumu ve gelişimi ile birlikte dengesiz beslenmeye bağlı gelişen kronik hastalıkları azaltmada potansiyel etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Yücecan 2008).

Biyoaktif bileşiklerin biyokimyasal reaksiyonlarda substrat, enzimatik reaksiyonlarda kofaktör veya inhibitör, bağırsaktaki istenmeyen bileşiklerin uzaklaştırılmasında absorbant, faydalı bakteriler için fermentasyon substratı, zararlı bakteri gelişimini önleyici inhibitör, besin öğelerinin emilimini ve stabilitesini arttıran maddeler olarak, reaktif ve toksik kimyasallar için yakalayıcı ajan olarak kullanılması gibi mekanizmalar ile sağlık üzerine olumlu etkiler gösterdiği ortaya konmuştur (Kurt ve El 2011).

Son yıllarda bu konuda dikkati çeken önemli biyoaktif bileşiklerden bir tanesi L-karnitin'dir. L-karnitin tüm memelilerde endojen olarak bulunan düşük molekül

ağırlıklı kuarterner doğal bir bileşiktir. L-karnitinin sağlık ve hastalıktaki temel rollerinin anlaşılması ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Ana rolü uzun zincirli yağ asitlerini sitozolik ortamdan betaoksidasyonun gerçekleştiği mitokondriyal matrikse taşıyarak vücut için enerji üretimini sağlamaktır (Li ve ark 2007). Ayrıca L-karnitin'in kasları güçlendirici, bağışıklık sistemi, yüksek tansiyon, diyabet, nörodejeneratif gibi hastalıkların tedavisinde yardımcı olarak kullanılması birçok çalışma ile kanıtlanmıştır (Kurt ve El 2011). Karnitin seviyesi kalıtsal veya sonradan edinilmiş patolojik rahatsızlıklarının bir göstergesi olduğu için metabolizmada plazma serbest ve açil karnitin konsantrasyonlarının belirlenmesi önem kazanmaktadır (Woolard ve ark 1999).

İnsan vücudundaki toplam karnitinin % 75'i gıda kaynaklıdır ve besinsel karnitin çok önemlidir. Kişilerdeki karnitin düzeyi beslenmelerine, vücut bileşimine ve cinsiyete göre değişmektedir (Steiber ve ark 2004). Karnitin en çok hayvansal kaynaklı gıdalarda, et ve süt ürünlerinde mevcut olup meyve ve sebzelerde düşük düzeydedir. Yetişkin bir kişinin bünyesinde yaklaşık 25 g L-karnitin mevcuttur. Normal olarak günlük karnitin ihtiyacı vücut ağırlığına göre 0.3 ve 1.9 mg/kg arasında değişmektedir. Enerji metabolizmasındaki önemli rolünden dolayı karnitin eksikliği, beslenme yetersizliği sırasında gelişen hipoglisemi, hiperamonyemi ve ketosiz gibi hastalıklara neden olan ciddi bir problemdir (Pormsila ve ark 2010). Normal koşullarda sağlıklı kişiler yeterli miktarda karnitini sentezleyebilmektedirler ve L-karnitin sentez düzeyi günde 0,16-0,48 mg/kg vücut ağırlığı olarak değişmektedir. Ancak hamilelerde ve yeni doğan bebeklerde belirtilen günlük gereksinim miktarı artmaktadır. Dolayısıyla düşük karnitin düzeyinin yağ asit oksidasyon oranını azaltması ve çeşitli önemli sağlıksal sorunlara yol açmasından dolayı L-karnitin esansiyel besin olarak düşünülmektedir (Seline ve Johein 2007).

Genetik karnitin yetmezliği veya yetersiz beslenme veya hamileler, atletler, vejeteryanlar da karnitin bakımından zengin olan gıdaları tüketmek ayrıca önem kazanmaktadır. Süt ve süt ürünlerinin insan yaşamı boyunca her aşamada önemli olduğunun bir göstergesi de karnitin içeriği bakımından da zengin bir ürün olmasıdır.

Besinlerdeki karnitin düzeyleri ve belirleme metodları ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur (Woollard ve ark 1997, Woollard ve ark 1999, Demarquoy ve ark 2004, Shimada ve ark 2004, Seline ve Johein 2007). Ancak ülkemizde süt ve

ürünlerindeki karnitin miktarları ve belirlenmesi ile ilgili yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, araştırmada, piyasada ticari olarak satılan ve tüketime sunulan pastörize süt, sterilize süt, homojenize yoğurt, süzme yoğurt, beyaz peynir ve kaşar peynirlerinde serbest ve total karnitin düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. L-Karnitin Tanımı ve Tarihçesi

Karnitin tabiatta yaygın olarak bulunan küçük molekül ağırlıklı (161,2 g/mol), suda çözünür, kuaterner azot içeren, protein niteliğinde olmayan bir aminoasit türevidir (Vernez 2005). L-karnitin, B grubu vitaminler ile ilişkili, amino asit ve vitamin benzeri, besleyici bir bileşik olup yağ asitlerinin enerjiye dönüştürülmesinde görev alan esansiyel bir maddedir. L-karnitinin bir nörotransmitter olduğu ve protein sentezinde görev yapmadığından tam manasıyla amino asit olmadığı belirtilmektedir. Bununla birlikte amino asitlerle benzerlik taşıması nedeniyle bu başlık altında gruplandırılmaktadır (Taşbozan ve Gökçe 2007).

L-karnitin hücre ve dokularda açil karnitin ve serbest karnitin olmak üzere her iki şekilde mevcuttur. L-karnitin memeli türlerde doğal olarak oluşan endojen bileşiktir. Beta oksidasyon için uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriye taşınmasında önemli bir taşıyıcıdır. İnsanlar karnitin ihtiyacını besinlerden özellikle et ve süt ürünlerinden ve endojen olarak lizin ve metiyoninden karaciğer ve böbreklerde sentezleyerek temin etmektedirler (Jones ve ark 2010).

L-karnitin, ilk kez 1905 yılında kas dokusunda önemli kantitatif bir bileşik olduğu keşfedilmiş ve latince et anlamına gelen ‘’carnis’’teriminden hareketle karnitin ismi verilmiştir (Bremer 1983). Kimyasal yapısı 1927 yılında belirlenmiştir. 1930 yıllarında karnitin ve kolin arasındaki kimyasal benzerlik, geniş fizyolojik ve farmokolojik çalışmalara ilham vermiş olmasına rağmen, bu çalışmalar ne karnitinin fizyolojik rolünü, ne biyosentezini nede degredasyonunu kesin bir kanıtla açığa çıkarmamıştır (Bremer 1983).

1952 yılında, karnitinin un kurdu Tenebrio molitor için büyüme faktörü ve esansiyel besin olduğu saptanmış ve Tenebrionun başharfi T ile suda çözünür özelliğinden vitamin BT olarak adlandırılmıştır (Bremer 1983).

1955 yılında, Friedman ve Fraenkel karnitinin, asetil koenzim A (acetyl-CoA) tarafından geri dönüşümlü asetillendiğini keşfetmişler ve Fritz, karnitinin karaciğer homojenatlarında yağ asitlerinin oksidasyonunu stimule ettiğini belirtmiştir. Yapılan çalışmalar karnitinin aktiflenmiş yağ asitlerini mitokondriye taşıdığı sonucuna ulaştırmıştır (Bremer 1983).

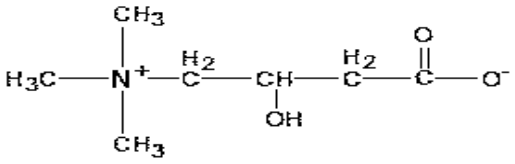
Karnitinin D ve L olarak sınıflandırılması ilk kez 1962'de Kaneko ve Yoshida tarafından yapılmıştır. 1973 yılında ise ilk kez, L-karnitin eksikliğinde meydana gelen primer rahatsızlıkların teşhisiyle ilgili çalışmalar yapılmıştır. 1950-80'li yıllar arasında L-karnitinin metabolik fonksiyonları üzerine birçok araştırma yapılmış, 80' li yıllardan sonra ticari olarak bulunabilen bir ürün halini almıştır (Taşbozan ve Gökçe 2007). L- karnitinle ilgili araştırmalar günümüzde halen devam etmektedir.

1.2.L-Karnitinin Kimyasal Yapısı

Saf L-karnitin beyaz, suda yüksek çözünürlüğe sahip ve 200ºC ye kadar termostabil bir maddedir. L-karnitin sulu çözeltilerde zwitterion olup, COO^- ve $N(CH3)3$ iyonlaşan grupları suda serbestçe çözünür durumdadır (Harmeyer 2002). Karnitin yapı olarak amino asitlere benzeyen, ancak hiçbir proteinin yapısına girmediği için gerçek bir amino asit olarak kabul edilmeyen, suda kolaylıkla çözünebilen kuarterner bir amindir (Odabaşı 2006).

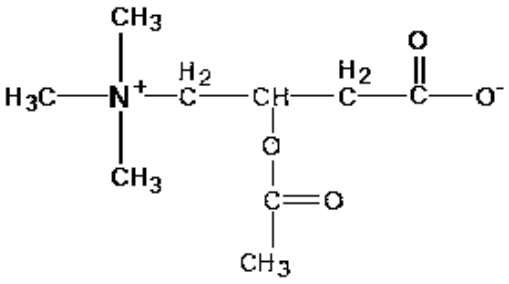
Vitamin benzeri maddeler içerisinde yer alır. İşlevsel olarak vitamine benzer yönleri olmasına karşın vücutta sentez edilebildiğinden tam bir vitamin özelliği taşımaz. Karnitin D- ve L- formlarına sahiptir. "L" formu fizyolojik karnitin olarak tanımlanmış olup, insan ve hayvan beslenmesinde önemlidir. "D" formu L-karnitinin birçok biyolojik fonksiyonlarını yerine getiremez ve aktivitesini engeller ve hatta yüksek dozlarda toksik etki gösterir (Özçelik ve Yalçın 2009). L-karnitinin kimyasal yapısı β-hidroksi-γ-trimetilaminobütirat şeklindedir (Şekil 1.1). L-karnitin'in diğer kimyasal formları ise asetil-L-karnitin ve propionil-L-karnitin'dir (Şekil 1.2) (Taşbozan 2005).

L-karnitin

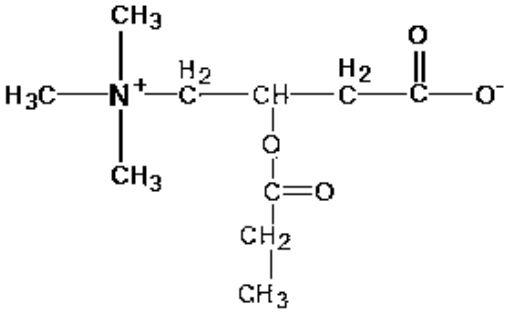


Şekil 1.1 Karnitinin kimyasal yapısı (Taşbozan 2005).

Asetil-L-Karnitin



Propionil-L-Karnitin



Şekil 1.2. L-karnitinin diğer kimyasal formları (Taşbozan 2005).

L-karnitinin hidroksil gruplarının esterleşmesiyle oluşan asetil-L-karnitin ve propionil-L-karnitin kısa zincirli karnitin esterlerini oluşturmaktadır (Cao ve ark 2013). L-karnitinin endojen havuzu; serbest L-karnitin, kısa zincirli esterleri (asetil-L-karnitin (ACL), propionil-L-karnitin (PLC), butiril ve izobutiril-Lkarnitin, valeril ve izovaleril-L-karnitin), orta zincirli (oktanil-L-karnitin) ve uzun zincirli esterlerini (palmitoil-L-karnitin) kapsamaktadır (Marzo ve Curti 1997).

L-karnitinin hidroksil grupları aktiflenmiş yağ asitleri (açil-KoA bileşikleri) ile reaksiyona girmekte ve L-karnitin açil transferaz (CAT) ile katalizlenmektedir. Sonuçta enerjice zengin asetil-L-karnitin oluşmaktadır.

Açil-KoA + karnitin ↔ Asetil-L-karnitin + KoA

Bu reaksiyon dönüşümlü olup hücresel lokasyona (iç ve dış mitokondriyal) ve açil bileşiklerin zincir uzunluğuna bağlıdır (Harmeyer 2002).

1.3. L-Karnitinin Fonksiyonları

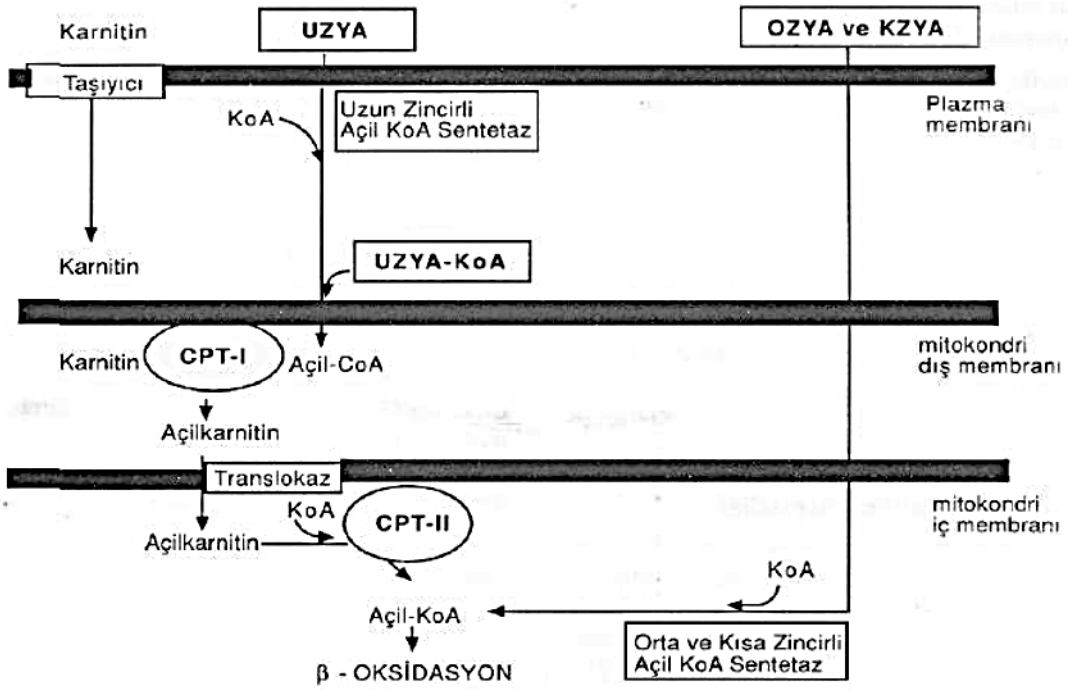
L-karnitin memelilerde lipid metabolizmasında ve enerji üretiminde önemli bir rol oynamaktadır. Uzun zincir yağ asitleri ve koenzim A esterleri mitokondri membranından kendiliğinden geçememektedir. Karnitin, açilkarnitin haline gelerek bu geçiş mekanizmasının taşıyıcısı olmaktadır (Mittchell 1978). Karnitinin iki tane önemli fonksiyonu vardır. Bu fonksiyonlar, yağ asitlerinin mitokondrilere taşınmasındaki katalitik fonksiyon ve fazla miktardaki esterler için tampon görevi yaptığı metabolik fonksiyondur. Katalitik fonksiyonda karnitin hiç metabolize olmadığından çok az miktarda karnitine ihtiyaç duyulur ve devamlı kullanılır. Metabolik fonksiyonda ise serbest karnitin açilkarnitine dönüşerek metabolize olduğundan katalitik fonksiyonun aksine çok miktarda karnitine ihtiyaç duyulmaktadır (Çitil 2002). L-karnitin amfilik yapısıyla hücrenin etrafında hareketli yapıdadır. Karnitinin 3-hidroksil gruplarının geri dönüşümlü esterleşerek açil karnitin oluşturması ve hücrenin bir bölümünden diğerine geçiş sağlaması L-karnitini eşsiz kılmaktadır. Açilkarnitin oluşumundan sorumlu enzimler karnitin açiltransferazlardır. Açilkarnitin profilinden metabolik değişikliklerin özellikle hastalık durumlarının belirteci olarak yararlanılmaktadır (Bremer 1983, Steiber ve ark 2004, Jones ve ark 2010).

1.3.1. L-Karnitinin Yağ Asidi Oksidasyonundaki Fonksiyonu

L-karnitin lipid metabolizması için oldukça önemli olup yağ asitlerinin β-oksidasyonu için düzenleyici kofaktör rolü vardır. Uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriyal membrandan açil karnitin esterleri olarak geçişini sağlamaktadır. Mitokondri içine yağ asidi taşınmasında bir azalma olduğunda sitozolik trigliserid birikimi sözkonusudur (Cao ve ark 2009). Yağ asitlerinin katabolizması için ana yol yağ asitlerinin mitokondri içine taşınımı ve beta oksidasyondur (Şıktar 2008).

Mitokondriyal yağ asit oksidasyonu özellikle kalp ve iskelet kasları için temel enerji kaynağıdır (Evans ve Fornasini 2003). Yağ asitleri birçok doku için enerji sağlamaktadır. Bu bileşiklerde depolanan enerji serbest kalır ve mitokondriyal matrikste beta oksidasyon sırasında ATP olarak muhafaza edilir. Uzun zincirli yağ

asitlerinin mitokondriye taşınması L-karnitin aracılığıyla olmaktadır. Çünkü mitokondrinin iç membranı uzun zincirli yağ asitlerine karşı geçirgen olmayan bir bariyerdir, bu bariyeri ancak karnitinle birleşerek geçebilirler. (Steiber ve ark 2004, Erkin 2005). Hücre içerisinde sitoplazmada yağ asitleri spesifik taşıyıcılara bağlanarak taşınırlar. Yağ asitlerinin mitokondride β-oksidasyona girmeden önce sitoplazmada açil-KoA sentetaz enzimi tarafından açil KoA tiyoesterleri haline getirilerek aktiflenmeleri gerekir. Orta ve kısa zincirli yağ asitleri taşıyıcıya ihtiyaç duymadan mitokondri içerisine girebilirlerken uzun zincirli yağ asitleri ancak aktif transport ile mitokondri içerisine girebilir (Serdar 1996). Karnitinin bu işlevi yerine getirmesinde, mitokondrinin dış ve iç membranlarında bulunan 3 proteine, enzime gereksinim vardır Bu enzimler karnitin-palmitoil transferaz I (CPT I), karnitin-palmitoil transferaz II (CPT II) ve karnitin translokazdır (CT) (Rebouche 1991). Bu karnitin açil transferazların ana rolü uzun zincirli yağ asitlerini bu bariyerlerden geçebilecek forma dönüştürmektir (Brady ve ark 1993). CPT I enzimi mitokondri dış membran dış yüzeyinde bulunur, aracılığıyla uzun zincir açil-KoA (yağ asidi +KoA)'dan açil-karnitin (yağ asidi+L-karnitin) formu elde edilir yani yağ asidinin KoA ile esterleşmesi yoluyla oluşan açil KoA 'daki açil grubunun karnitine aktarılmasını sağlar ve açil karnitin oluşur. CT enzimi mitokondri iç membran dış yüzeyinde bulunur ve bir kotransporter gibi, açil-karnitin ve serbest karnitini aynı anda zıt yönlere taşır. Açil-karnitini iç mitokondrial membrana taşır yani sitozolden mitokondri matriksine taşırken serbest karnitini mitokondri matriksinden sitozole taşır. CPT II enzimi ise mitokondrial iç membran iç yüzeyinde bulunur ve açil karnitinlerden açil-KoA oluşumunda görev alır, karnitin tekrar açığa çıkar. Açil-KoA β-oksidasyon boyunca metabolize olur ve sonunda propiyonil KoA ve asetil KoA elde edilir (Yavuz ve Kurtoğlu 2012). Şekil 1.3'de Yağ asitlerinin mitokondri içine taşınımı görülmektedir (Deniz 1999).



Şekil 1.3Yağ asitlerinin mitokondri içine taşınımı. KZYA-kısa zincirli yağ asitleri, OZYA- orta zincirli yağ asitleri, UZYA-uzun zincirli yağ asitleri, CPT-I, II-karnitin palmitoil transferaz I, II (Deniz 1999).

1.3.2. L-Karnitinin Diğer Metabolik Fonksiyonları

L-karnitinin organizmadaki metabolik işlevleri oldukça fazladır. Karnitin peroksizomal yağ asit oksidasyon sonucu oluşan ürünleri mitokondriye transfer etmektedir. Peroksizomal yağ asit oksidasyonlarında karnitin katılımına ihtiyaç yoktur çünkü peroksizomal membran açil-KoA için direkt taşıyıcıdır. Peroksizomal yağ oksidasyonu yağ asitlerinin zincir uzunluklarını kısaltır. Bu reaksiyon ürünleri (acetyl-CoA ve kısaltılmış acyl-CoA) oksidasyonun tamamlanması için karnitin ile mitokondriye transfer edilmektedir (Almobadel 2005).

Normal şartlarda mitokondri içerisindeki total KoA miktarı sabit kalmalıdır. Serbest KoA, birçok enzimatik reaksiyonda gerekli bir maddedir. Karnitin, KoA-karnitin açil transferaz enziminin etkisiyle mitokondriyal açil-KoA miktarını azaltarak serbest KoA miktarının artmasına neden olmaktadır (açil-KoA + karnitin – açil-karnitin + KoA). Serbest KoA miktarının artması, α-ketoglutarat dehidrogenaz aktivitesini artırarak Krebs siklüsünü hızlandırır. Bu şekilde mitokondrideki KoA/asetil-KoA oranının korunması sağlanmaktadır (Erkin 2005).

Karnitin, açil gruplarını temizleme sistemi olarak da görev yapmaktadır. Bu yönüyle detoksifiye edici bir ajandır. Açil grupları mitokondride birikirse enzimleri inhibe etmekte ve yıkıcı etkileri bulunmaktadır. Karnitin bu grupların mitokondri dışına taşınmalarını sağlamaktadır. Uzun zincirli aciller düşük konsantrasyonlarda adenilat translokaz enzimini inhibe ederler; bu enzimin inhibisyonu durumunda ise adenozin trifosfat (ATP)'ın mitokondri dışına taşınması durur. Daha yüksek miktarlarda ise intrasellüler membranlarda geri dönüşümsüz hasar oluştururlar. Karnitin, uzun zincirli açil KoA miktarını azaltarak bu istenmeyen etkileri engellemektedir (Odabaşı 2006).

Normal veya abnormal metabolizma sonucu biriken kısa ve orta zincirli yağ asitlerinin mitokondriden uzaklaşmasını sağlamaktadır (Rebouche 1992).

Antioksidatif etki göstermektedir. L-karnitin serbest yağ asitlerini sitoplazmadan mitokondriye taşıyarak bu yağ asitlerinin beta oksidasyonla asetil-KoA'ya dönüşmesini sağlar. KoA'nın trikarboksilik asit çemberine katılmasıyla bu reaksiyon için gerekli oksijen büyük oranda ortamdan uzaklaştırılır. Elektron taşıma zincirinde oksidatif fosforilizasyonla ATP açığa çıkar ve bu çemberin sonunda oksijen H_20'ya indirgenerek serbest oksijen konsantrasyonu düşer ve reaktif oksijen oluşumu azaltılır (Kurt ve El 2011).

Dallı zincirli amino asitlerin (valin, lösin, izolösin) metabolizmasında da karnitinin yardımcı rolü vardır (Kohlmeier 2003).

Karnitin organizmaya güçlü toksik etkileri olan, endojen ve eksojen organik asitlerin konjugasyonunda da görev almaktadır ve örneğin, amonyak toksisitesinden beyni koruma görevi üstlenmektedir (Erkin 2005).

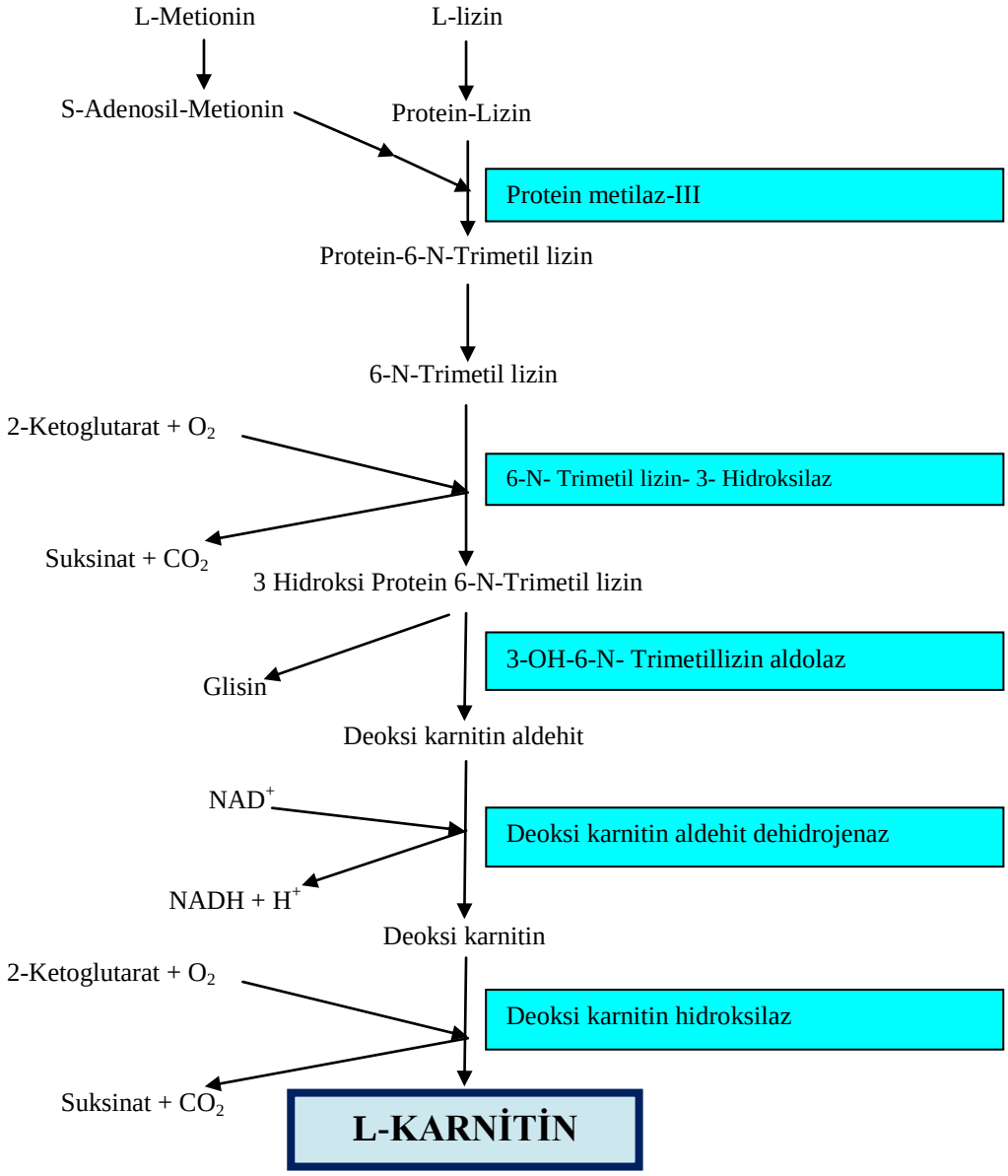
Ayrıca karnitin, aminoasit, piruvat ve keton cisimciklerinden enerjinin sağlanmasında, trigliserit ve kolestrol seviyelerinin düşürülmesinde rol almaktadır (Özçelik ve Yalçın 2009).

1.4. L-Karnitinin Biyosentezi

L-karnitin bitki ve hayvan hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Doğada yaygın bir madde olup hayvanlarda, mantar, bakteri ve bitkilerde oluşmaktadır (Harmeyer 2002).

L-karnitin vücutta en fazla karaciğer ve böbrekte sentezlenerek kan dolaşımı ile enerji üretimi için ihtiyaç duyan diğer doku ve organlara taşınmaktadır. Bu organ ve dokular genellikle kas ve kalp dokularıdır (Kurt ve El 2011). L-karnitin sentezi için esansiyel amino asit olan lisin ve metiyonin, kofaktör olarak da askorbik asit, nikotinik asit, demir, B3, B6 ve B12 vitamini ile magnezyuma gerek duyulmaktadır. Bütün bu esansiyel maddelerin eksikliğinde karnitin sentezi olumsuz yönde etkilenmektedir. Örneğin metionin sentezi için gerekli olan B12 vitamin eksikliğinde L-karnitinin fonksiyonu bozulmaktadır (Krajcovicova-Kudlackova 2000).

L-karnitin lizin ve metiyonin aminoasitlerinden endojen olarak sentezlenmektedir (Krajcovicova-Kudlackova 2000). Biyosentez beş basamakta tamamlanır. İlk basamağı miyozin, aktin ve histon gibi proteinlerdeki lizin metilasyonu ile 6-N trimetillizin oluşumudur. Metilleyici ajan 5-adenozilmetionindir (SAM). İkinci basamakta trimetillizin, 3-hidroksi-6-N-trimetillizine hidroksitlenir. Sonraki basamakta trimetillizin butirobetain aldehit ve glisine parçanır. Butirobetain aldehit bütirobetaine oksitlenerek deoksikarnitinaldehit ve dördüncü basamakta ise deoksikarnitin oluşur. Beşinci ve son basamakta etkili katalizör enzim deoksikarnitin hidroksilazdır (gama-butirobetain hidroksilaz), bu enzimin etkisiyle de karnitin oluşmaktadır (Şekil 1.4) (Bremer 1983, Deniz 1999). Bu enzim bazı dokularda bulunur insanlarda karaciğer, böbrek ve beyinde bulunur. Dolayısıyla diğer dokularda iskelet kası, kalp kası gibi, ilgili basamakta enzim faaliyeti olmadığı için karnitin sentezi yapılamamaktadır (Vernez 2005, Dayanand ve ark 2011). Karnitin biyosentezinde oluşan iki hidroksilasyon reaksiyonu α-ketoglutarat bağımlı bir dioksijenaz tarafından katalizlenmektedir. Bu enzimler aktiviteleri için demir ve askorbik asite ihtiyaç duymaktadır (Rebouche 1991).



Şekil 1.4.L-karnitin biyosentezi(Deniz 1999).

L-karnitin, biyosentezinden sonra hücre dışına çıkmakta damarlarla kan yoluyla organlara, dokulara yağ asit oksidasyonuna bağlı olarak transport edilmektedir. Kaslar L-karnitin için ana hedeftir (Demarquoy 2004). Ortalama 70 kg ağırlığındaki normal bir bireyde sentezlenen L-karnitinin %98 gibi büyük bir oranı iskelet ve kalp kaslarında depo edilmektedir. Ayrıca % 1,6'sı karaciğer ve böbreklerde, %0,6'sı ekstrasellüler sıvıda bulunmaktadır (Siliprandi ve ark 1989).

L-karnitin, gıdada olduğu gibi insanların dokusunda da hem serbest formda hemde asetil veya açil karnitin olarak adlandırılan esterleşmiş formda bulunmaktadır.

Normal olarak toplam karnitinin % 80'i serbest karnitindir Açil karnitin iki farklı metabolizmada rol almaktadır. Birincisi bir organdan diğerine açil transportu, ikincisi valproyl, salisiyl veya pivalonyl gibi ksenobiyotik metabolizmadan gelen açillerle interaksiyona girerek detoksifikasyon rolüdür (Rigault ve ark 2008).

L-karnitin beyin korteksinde nöronlarda bulunur. Yetişkin bireyin nöronları yaklaşık %80'i serbest karnitin, %10-15'i asetilkarnitin ve %10'undan daha az uzun zincirli açilkarnitin içermektedir (Jones ve ark. 2010).

L-karnitin dokularda bulunurluğunu hem biyosentezle hem de besinlerle sağlamaktadır. Hangi kaynağın daha önemli olduğunu söylemek oldukça zordur. Çünkü L-karnitin düzeyi yaşa, beslenme alışkanlığına, demir ve vitamin C gibi diğer elementlerin varlığına bağlıdır (Demarquoy 2004).

Karnitinin %75'i besinlerden vücuda alınmakta, %25'i ise endojen olarak sentezlenmektedir. Karnitin sentezi yapmayan organlar, ihtiyaçlarını kana verilen karnitinden karşılarlar. 70 kg'lık yetişkin bir insandaki toplam karnitin deposu 100 mmol veya 18g kadardır (Erkin 2005, Broad ve ark 2006).

L-karnitinin insanlardaki biyosentez oranı 0,16 mg/kg ile 0,48 mg/kg vücut ağırlığı/gün arasında değişmektedir. Böylece 70 kg olan bir insan 11-34 mg/gün oranında L-karnitin sentezleyebilir. Bu sentezleme oranıyla, genellikle sağlıklı insanlarda, katı vejeteryanlar dahil, böbrekten süzülen L-karnitinin %95 oranında geri emilimiyle eksikliği önlenebilmektedir (Taşbozan 2005).

Vitamin C, demir, pridoksin ve niasin gibi mikro besin maddeleri de karnitin biyosentezi için gereklidir. Bu maddelerin yetersiz alımıda karnitin durumunu bozmaktadır. Demirin yetersiz olduğu bireylerde karnitin durumu serum ferritin konsantrasyonuyla pozitif korelasyonludur. Pridoksin kısıtlanmış diyet uygulanan kişilerde plazma kısa zincirli açilkarnitin değeri düşük bulunmuştur. Vitamin C eksikliği butirobetain hidroksilasyonunu düşürmektedir. Tüm bu mikro besin maddeleride karnitin homeostazisini oluşturmaktadır. Beslenmenin toplam kalitesi önem arz etmektedir (Steiber ve ark 2004).

1.5. L-Karnitin Yetersizliği

Karnitinin yetersizlik durumu düşük karnitin ve lizin içeren besinlerin tüketimi, karnitin biyosentezindeki enzim aktivitelerinde azalma, düşük demir alımı gibi farklı faktörlere dayanmaktadır (Tanphaichitr ve Pakpeankitvana 2001). Gerek yağ asit oksidasyonunda rol alan enzimlerdeki defektler gerekse karnitin alımı veya sentezinin bozulması yağ asit oksidasyonunu kesintiye uğratarak semptomlar oluştururlar (Serdar 1996). Karnitin enerji üretimi için gerekli bir besin faktörüdür. Dolayısıyla yoksunluğunun en temel sonucu enerji metabolizmasının bozulmasıdır (Tanphaichitr ve Pakpeankitvatana 2001, Thangasamy ve ark. 2008). Bebeklikte veya yüksek enerji ihtiyacı olan durumlarda, gebelik ve emzirme dönemlerinde karnitin ihtiyacı arttığından endojen sentez yeterli gelmemektedir (Cho ve Cha 2005).

Klinik karnitin eksikliği, yetersiz beslenme ve şiddetli protein eksikliği haricindeki besin eksikliğinden daha çok enzim yetersizliğine bağlıdır. Karnitin yetmezliği plazma ve doku karnitin konsantrasyonları belirlenerek tespit edilmektedir. Toplam karnitinin normal plazma konsantrasyonu 30-90 μM, serbest karnitin 26- 52 μM ve açil karnitin esterleri 2-10 μM'dir. Toplam karnitin konsantrasyonu 20 μM'dan daha düşük ise karnitin eksikliğinin olası göstergesidir (Broad ve ark. 2006).

Plazmada açilkarnitin (AC)/serbest karnitin (FC) oranının normal değeri 0,25'dir. Bu değer 0,40'dan büyük ise serbest karnitinin hücrelerde biyoyararlılığının düşük ve bu durumun karnitin yetmezliğini yansıttığı bilinmektedir. Serbest karnitin (FC)/ toplam karnitin (TC) oranı normal olarak 0,70 - 0,95 aralığındadır. Bu oranın 0,70'den küçük olduğunda ise yağ asit oksidasyonunda sorun olduğu ve sonucun karnitin eksikliğine yol açtığı belirtilmektedir (Campoy ve ark 1998).

Karnitin yetersizliği iki şekilde oluşmaktadır:

1.Primer karnitin eksikliği: Primer karnitin eksikliği sistemik ve myopatik olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır. Primer sistemik karnitin eksikliği düşük serum karnitin düzeyi ile karakterize edilen genetik bozukluğa yol açmaktadır (Almobadel 2005). Myopatik sendromda genetik bozukluk olup serum L-karnitin seviyesi genelde normal, fakat iskelet ve kalp kaslarındaki seviyesi düşüktür. Öncelikle kas

zayıflığı ile karakterize edilen bir durumdur ve kas liflerinde aşırı lipid birikimi mevcuttur. Öncelikle kardiyomyopati mevcudiyeti ile karakterizedir, ayrıca ensefalopati, iskelet kası ve karaciğer dokusunda yağ depolanması dikkat çekmektedir, kalp ve iskelet kaslarında fonksiyonel bozukluklara neden olmaktadır (Deniz 1999, Winter ve Buist 2000, Almobadel 2005, Şıktar 2008).

2.Sekonder karnitin eksikliği: Genetik veya sonradan kazanılmış olabilmektedir. Doğumsal metabolizma hastalıkları, tıbbi koşullara veya ilaçların yan etkilerine bağlıdır. Serbest L-karnitin düzeyinin azalması ile karakterizedir. Bazı durumlarda toplam karnitin normal düzeydedir (Almobadel 2005, Erkin 2005). Birçok metabolik hastalıkla tanımlanmıştır. Daha çok karnitin atımının aşırı olduğu tubüler rahatsızlıklar ve kronik böbrek yetmezliğinde ortaya çıkmaktadır (Deniz 1999). Hemodiyaliz hastalarında kullanılan ilaçların etkisiyle metabolizma karnitin kaybıyla ve sonuçta karnitin eksikliğiyle karşılaşılmaktadır. Yetersiz karnitin sentezi, emilim bozukluğu, yetersiz beslenme ikincil karnitin eksikliğini artırmaktadır (Almobadel 2005). Normal bebeklerin soya formüllü mamalarla beslenmesi sonucu beslenme eksikliği tespit edilmiştir. Bebek mamalarına yeterli oranda L-karnitin eklenerek sekonder karnitin eksikliğinin sebep olduğu olumsuzluk önlenebilmektedir. L-karnitinle takviyelenmemiş parenteral beslenme durumu da sekonder karnitin eksikliğine sebep olmaktadır. Ayrıca bu eksikliğin özellikle iki yaşından küçük çocuklarda oluşabildiği ve bunun nedeni olarak karnitin sentezi için kaslardaki kullanılabilir proteinin düşük düzeyde olmasından kaynaklanmaktadır. Beslenme yeterli olduğu halde tüketilen karnitinin emilimi düşük düzeyde ise yine sekonder yoksunlukla karşılaşılmaktadır (Winter ve Buist 2000).

1.6. L-Karnitin Kaynakları

Karnitin homeostazisi vücutta karnitin senteziyle, besinlerle ve böbrekle karnitinin etkili idare edilmesiyle oluşturulmaktadır. Dolayısıyla günlük karnitin ihtiyacı (15 mg) endojen biyosentez ve eksojen kaynaklarla sağlanmaktadır (Bodkowski ve ark 2011). Eksojen olarak besinlerle karnitin alımı değişkendir. Besinlerle karnitin alımı 1-15 μmol/kg/gün arasında değişmektedir. Vejeteryanların besinlerle aldığı karnitin 0,1 μmol/kg/gün' dan daha az olup, 70 kg bir yetişkin için günlük 1mg'ı yansıtmaktadır. Süt ürünleri, tavuk, balık tüketen bireylerde 1-8 μmol/kg/gün, düzenli kırmızı et tüketenlerde 6-15 μmol/kg/gün arasında eksojen

karnitin alımı söz konusudur. Çeşitli besinleri tüketenler için bu oran 23-135 mg/gün veya 2-12µmol/kg/gün olarak belirtilmiştir (Evans ve Fornasini 2003, Rebouche 2004).

İnsanlar için L-karnitin günlük ihtiyacı 2 ve 12 µmol/kg/gün (0.3 ve 1.9 mg/kg/gün) arasındadır. Atletler ve hamileler için bu oran daha yüksek olabilmektedir. Bebekler için L-karnitin esansiyel bir besin maddesidir. Çünkü vücutlarında biyosentez yolu tam gelişmediğinden karnitini sentezleyememektedirler (Demarquoy ve ark 2004, Pormsila ve ark 2010).

Mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlar için esansiyel bir bileşik olan L-karnitin doğada birçok besin maddesinde değişen miktarlarda bulunmaktadır. Bitkisel besinler az miktarda L-karnitin içerirken, hayvansal besinler et, tavuk, balık ve süt ürünleri L-karnitin açısından zengindir (Mitchell 1978, Rebouche 1991, Evans ve Fornasini 2003, Seline ve Johein 2007).

Gıdalarda karnitin serbest formda ve açilkarnitin olarak bulunmaktadır. En zengin karnitin kaynakları kırmızı ette; 50-120 mg/kg, tam yağlı süt ve peynirde; 3 mg/l, fıstık ezmesi ve kuşkonmazda ise 0,2 mg/kg ve tam buğday ekmeğinde ise bitkisel gıdalara göre daha fazla karnitin bulunmaktadır. Karnitin öncüsü olan trimetillizin, histonlar, miyosin, sitokrom gibi bazı besin proteinlerinde oluşmaktadır. Düşük biyoyararlılığından ve böbreklerdeki kaybın yüksek olmasından dolayı yeterince yararlanılmamaktadır. Fazla besin alımı da karnitin deposunu tüketebilmektedir. Günlük karnitin tüketimi genellikle 100-300 mg arasında değişmektedir (Kohlmeier 2003).

Bitkisel besinler arasında avokado en fazla karnitin oranına sahipken hayvansal besinler içerisinde ise koyun etinde sığır etinden daha fazla karnitin mevcuttur (Mitchell 1978).

Özellikle et ve süt ürünlerinde en çok bulunmaktadır. Koyun, kuzu ve sığır kasları, sırasıyla yaklaşık olarak 210, 78 ve 64 mg/100 gram L-karnitin içerirken tavuk kas dokuları sadece 8 mg/100 g içermektedir. Pirincin 100 gramında 0,06 mg karnitin mevcut olup pirincin pişirilmesi sırasında karnitin % 35-40 oranında kayba uğramaktadır (Doğan ve ark 2003). Karnitin suda çözündüğünden herhangi bir ısıl

işlem ve depolama sonucunda üründe serbest karnitin kaybı görülmektedir (Mitchell 1978, Shimada 2004).

Süt ve ürünleri L-karnitince et ürünlerine göre nispeten daha düşük düzeyde içerir. Türlere göre koyun, keçi, inek, at ve anne sütündeki karnitin oranları farklıdır. Toplam karnitin içerisinde açil karnitin düzeyi % 13-47 arasında değişmektedir. Bu durum anneye ait veya meme bezi metabolizması farklılıklarından kaynaklanmaktadır (Penn ve ark 1987). Süt özellikle kolostrum döneminde L-karnitince zengindir. Soyaya dayalı ürünlerde karnitin çok az bulunur yada hiç yoktur. L-karnitinin toplam oran itibariyle koyun ve keçi sütlerindeki miktarı, inek ve insan sütlerine göre daha yüksektir. Deve sütünde ise toplam karnitin oranı koyun ve keçiye göre daha yüksektir (Alhomida 1996, Woollard ve ark 1999).

Sığır sütünde toplam karnitinin % 50-70' i serbest formdadır, kalanların birçoğu kısa zincirli açil karnitindir, sadece iz miktarda % 3-5 oranında uzun zincirli açil karnitin mevcuttur (Indyk ve Woollard 1995).

Normal inek sütündeki karnitin ile ketoz ineklerden elde edile karnitin seviyeleri farklıdır. Erfle ve ark. (1970) normal inek sütünde serbest karnitini 0.062 ± 0.005 µmol/ml, asetil karnitini 0,057 ± 0,006 µmol/ml ve ketoz ineklerde serbest karnitin 0.031 ± 0.009 µmol/ml, asetil karnitin 0,219 ±0,013 µmol/ml olarak tespit etmişlerdir. Sütteki karnitin içeriğinin doğum sonrasında yüksek olduğunu zamanla yavaş yavaş azaldığını belirtmişlerdir. Erfle ve ark. (1973) yaptığı diğer bir çalışmada ketoz grubun sütteki karnitinin, kandaki glukozla, süt proteini ve laktoz ile negatif korelasyon, ketonlarla ve süt yağıyla pozitif korelasyon olduğunu göstermişlerdir.

Anne sütü serbest ve toplam karnitini sırasıyla 0,527 mg/100ml, 0,81 mg/100ml, inek sütünde ise sırasıyla 3,13 mg/100 ml ve 4,21 mg/100 ml olarak bulunmaktadır (Woollard 1997). Diğer bir çalışmada anne sütü 28-95 µmol / l L-karnitin (0,45-1,53 mg /dl) içerirken inek sütü 100-500 µmo l/ l L-karnitin (1,61-8,05 mg / dl) içerdiği belirtilmiştir. Laktasyon döneminde anne sütündeki L-karnitin içeriği de değişmektedir. Bağırsak emilimlerinde anne sütündeki karnitinin biyoyararlılığı inek sütüyle hazırlanan mamalardakine göre daha yüksektir (Campoy ve ark 1998). Soya protein izolatı, kazein ve yumurta akı proteinini kapsayan

mamalarda karnitin çok düşük konsantrasyonlarda, 4 nmol/ ml veya daha az bulunmaktadır (Borum ve ark 1979).

Rekonstitue süt ile hazırlanmış mamalarda serbest ve toplam karnitin miktarları (1,5 mg/100 ml ve 2,2 mg/100 ml), inek sütüyle hazırlananlara göre yarı yarıya düşük bulunmaktadır (Ferreira 2003).

Anne sütünde önemli miktarda bulunan karnitin bebeklerin ilk gelişimleri sırasında karnitinin ihtiyacını karşılamaktadır. Bebekler için hazırlanan süt bazlı formüllerde, üretim sırasında karnitin konsantrasyonu değişmezse bebeğin besin ihtiyacını karşılamaktadır. Bu nedenle hammaddesi işlem görmüş süt bazlı ürünler ve tüm soya bazlı ürünler karnitince yoksun olup lizin ve metiyonince zengin olmasına rağmen takviyeye ihtiyaç duyulmaktadır (Borum ve ark 1979, Indyk ve Woollard 1995, Woollard ve ark 1997). Çizelge1.1'de bazı gıdaların toplam L-karnitin düzeyleri gösterilmektedir (Doğan ve ark 2003).

Çizelge 1.1. Değişik gıdalarda toplam L-karnitin içeriği (Doğan ve ark 2003).

Gıda	mg/100g
Koyun eti (yağsız)	210
Kuzu eti (yağsız)	78
Sığır eti	64
Tavuk eti(yağsız)	8
Süt	2
Balık	1.3
Avacado	1.25
Tavuk (karaciğer)	0.6
Ekmek	0.2
Peanut	0.1
Pirinç	0.06
Peynir	0.3
Yerfıstığı	0.1
Yumurta	0.01
Ispanak	0
Portakal suyu	0

Sağlıklı beslenen insanlar ek gereksinime ihtiyaç duymazlar. Ancak hastalar için özellikle kalp ve genetik bozukluğu olanlar ilave karnitine ihtiyaç duymaktadır (Kohlmeier 2003, Steiber ve ark 2004).

İnsan vücudunda karnitin durumu kişinin yapısına, cinsiyetine ve beslenme şekline göre değişmektedir. Plazma karnitin konsantrasyonu besinlerle karnitin alım düzeyiyle pozitif korelasyon göstermektedir (Dabrowska ve Starek 2014).

Vücuttaki toplam karnitin düzeyi, besinlerle karnitin alımı, endojen sentezi ve böbreklerden geri emilimi arasındaki denge ile ayarlanmaktadır. Örneğin vejeteryanlar besinsel karnitini daha az alırlar ve hem etçil hem otçul olanlara göre plazma karnitin konsantrasyonları daha düşüktür. Bu tip bireyler böbrekten karnitin atılımını azaltarak ve endojen sentezini artırarak denge sağladıklarından kliniksel eksiklik veya yetersizlik görülmemektedir.

Bireylerde besinlerle alınan L-karnitinin biyoyararlılığı % 54-87 arasındadır. Ağızdan alınan takviyelerdeki l-karnitinin biyoyararlılığı daha düşük olup %14-18 arasında değişmektedir (Seline ve Johein 2007, Cao ve ark 2013).

Zayıf kişilerde karnitin alımı sınırlandırıldığı zaman, plazma toplam ve serbest karnitin konsantrasyonu ve üriner serbest karnitin atılımı düşmektedir. Obez kişilerde ise karnitin sınırlanmış diyet uygulandığında tepki azalabileceğieğilimindedir. Kadın ve erkek yetişkinlerde toplam karnitin düzeyi karşılaştırıldığında, kadınların daha düşük plazma konsantrasyonuna ve daha düşük üriner atılımına sahip olduğu bildirilmektedir (Steiber ve ark 2004).

Beslenme koşullarına göre karnitin ve açilkarnitin konsantrasyonları değişmektedir. Açlık sırasında ve çok yağlı besin tükettikten sonra karaciğer ve böbreklerde asetillenen karnitin oranı belirgin bir şekilde artmaktadır. Yüksek karbohidratlı besin tüketiminden sonra ise karaciğerdeki asetil-L-karnitin düzeyi oldukça düşmektedir. İnsanlarda aç kalma sırasında ve diyabetik ketosislerde L-karnitinde azalma, uzun ve kısa zincirli açil karnitinde artma görülmektedir (Jones ve ark 2010).

Vejeteryanlar veya tahılla beslenen insanlar hayvansal gıda tüketenlere göre daha düşük plazma karnitin konsantrasyonuna sahiptirler. Plazma karnitin düzeyi ile

uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonu arasında pozitif korelasyon vardır. Besinlerdeki yağ oranı karnitin durumunu değiştirmektedir. Düşük karbohidratlı ve yüksek yağ içerikli besinleri tüketenlerin, yüksek karbohidratlı, düşük yağlıbeslenenlere göre plazma toplam ve serbest karnitin konsantrasyonunun belirgin bir şekilde daha yüksek olduğunu belirtilmiştir (Steiber ve ark 2004).

Gıdalarda karnitin içerikleri değişken olduğundan günlük karnitin alımı 10-620 µmol (2-100 mg), bazı durumda ise 1850 µmol (300 mg) 'a ulaşmaktadır. Normal günlük toplam karnitinin üriner atımı 100-300 µmol ve besinlerle alınan karnitinin fazlası bağırsaklarda parçalanmakta, depo edilmekte ve kullanılmaktadır (Mitchell ve Synder 1991).

İnsanların kişi başına hergün serbest L-karnitin alım oranları yaşa ve gıda tercihlerine göre değişmektedir. Regular beslenme her gün 472µmol (76.5 mg) karnitin sağlamaktadır. Bunun % 77.8'i et ürünlerinden ve % 14.4'ü süt ürünlerinden ve yumurtadan gelmektedir. Vejeteryan beslenmede oran önemli derecede düşük olup 100.4µmol/gün (16.3 mg/gün) dür. Katı vejeteryan beslenmede başka bir ifadeyle hiçbir hayvansal ürün tüketmeyen kişilerde günlük karnitin alımı 22.5 µmol/gün (3.6 mg) olarak belirtilmektedir (Demarquoy ve ark 2004).

Krasjcovicova-Kudlackova ve ark (2000), vejeteryan, yarı vejeteryan ve herşeyi tüketen toplam 75 bireyde serbest karnitin düzeyi ile lisin ve metiyonin alım değerlerini karşılaştırmışlardır. Lizin ve metiyonin vejeteryanlarda, herşeyi yiyenlere göre anlamlı düşük bulunmuştur. Vejeteryan ve yarı vejeteryanlarda besinsel lizin alımı ile plazma serbest karnitin arasında ve besinsel metiyonin alımı ile plazma serbest karnitin arasında önemli pozitif korelasyon bulunmuştur.

Besinlerle alınan karnitinin gastrointestinal sistemde emilimi tüketim miktarına bağlıdır. Örneğin karnitini yüksek oranda içeren besin tüketimiyle (>6 g karnitin), alınan karnitinin yaklaşık % 5-15 oranı emilmektedir. Düşük oranlardaki (< 1 g karnitin) besinlerin tüketimiyle ise, karnitinin %75'inden daha fazlası emilmektedir. Emilmeyen geriye kalan kısım bağırsak bakteri florası tarafından trimetiamin ve γ-butirobetain açığa çıkacak şekilde yıkıma uğramaktadır. Karnitin emilimine zarar veren besin bileşikleri bilinmemektedir (Steiber ve ark 2004).

Rebouche ve Chenard (1991) yaptıkları bir çalışmada insanlarda beslenme koşullarına göre karnitin alımına göre metabolik durumları incelemişlerdir. İki grup oluşturmuşlar, karnitin içeriği fazla kırmızı et tüketenler, diğeride süt, tavuk, hindi gibi daha az karnitin içeren besinleri tüketenlerdir. Her bireyin yaşına, boyuna, ağırlığına, fiziksel aktivitesine göre ve alacakları karnitin oranlarına göre beslenme planı belirlenmiştir. Sonuçta gruplar arasında kanitin alımı ve atılımı bakımından önemli derecede farklılıklar bulunmuştur. Düşük karnitinle beslenenler daha fazla karnitin (% 217), yüksek karnitin içerikli besinleri tüketenler de ise daha düşük karnitin (% 69) vücuttan atılmıştır. Vücuttan atılımı idrar veya fekal yolla olmaktadır. Atılımın yaklaşık % 99'u idrar ile olmaktadır.

İnsan vücudu L-karnitin üretmektedir ancak üretilen miktar vücut gereksiniminin ancak %10'u kadardır. Vücutta ortalama 20-25 mg L-karnitin bulunmaktadır. Vücudun günlük L-karnitin ihtiyacı 200-500 mg arasıdır. Fiziksel aktivite ve stres gibi faktörler eklenince bu ihtiyaç günlük 1200 mg'a çıkabilmektedir (Erkin 2005).

Crill ve ark (2006) yaptıkları bir çalışmada prematüre bebeklerde karnitin takviyeli beslenme uygulayarak toplam karnitin ve gelişim durumunu incelemişlerdir. Karnitin takviye miktarı 4 hafta boyunca 2 mg/kg/gün enteral beslenmeyle verilerek istenilen referans plazma karnitin durumuna ulaşmışlardır. Karnitin ilavesinin premature bebeğin vücut ağırlığına ve nefes alma gelişimine pozitif etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

1.7. L-Karnitin ve İnsan Sağlığına Etkisi

İnsan beslenmesinde L-karnitinin birçok potansiyel faydasının bulunduğu ileri sürülmektedir. Vücutta karnitin eksikliği veya bozukluğu yağ asit metabolizmasında bozulmaya, hiperlipemi (kanda lipidlerin yüksek düzeyde bulunması), hiperamonyemi (kanda yüksek amonyak oluşumu), hipoglisemi (kan şekeri düşüklüğü), iskelet kas hastalıkları ve miyasteni (kas zayıflığı) gibi birçok rahatsızlıklara neden olmaktadır (Li ve Sun 2010).

Sağlıklı ortalama 70 kg bir insanda toplam karnitin havuzu yaklaşık 130 mmol (21 g), %98 iskelet kasında, % 1-1,5 karaciğerde ve % 0,5 den daha az kanda mevcuttur. Sağlıklı kişilerde ortalama plazma serbest karnitin konsantrasyonu 40-60

μmol/100ml ve toplam karnitin 50-70 μmol/100ml olarak belirtilmektedir. Düşük serum karnitin düzeyine bağlı olarak bebeklerde ve küçük yaşlarda sistemik rahatsızlıklar görülmektedir. Karnitin–açilkarnitin translokaz taşıyıcısı için gen kodundaki mutasyon karnitin yoksunluğuna sebep olmaktadır ve bu durum besinlerle alınan karnitinin bağırsaklarda emilimini azaltmakla sonuçlanmaktadır. Bu rahatsızlık tedavi edilmezse karaciğer, kalp ve beyinde hasarlara yol açmaktadır (Möder ve ark 2005).

Karnitin seviyesi birkaç kalıtsal veya edinilmiş patolojik durumların indikatörü olduğundan, çocuklarda metabolik olumsuzlukları araştırmak için serbest ve açil karnitin ölçümü standart metod haline gelmiştir. Eksojen L-karnitin tedavisi ile desteklenmiştir (Woollard ve ark 1999).

Yeni doğan bebeklerde yağ asit oksidasyonu az gelişmiştir. Ketogenesiz kapasitesi 8 ile 24 hafta arası çok düşüktür. Bebeklerin hızlı büyümelerine karşın karnitin sentezi yeterli olmayabilmektedir. Normal kas ağırlığındaki günlük 5-10 g artışa karşın 15-30 μmol karnitine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu miktar günlük anne sütüyle beslenmeyle alıma eş değerdir. Yetersiz alım karnitin yoksunluğuna sebep olmaktadır. Beslenmeyle yeterli karnitin alamayan bebeklerde biyokimyasal ve kliniksel semptomlar oluşmaktadır. Bu semptomlar, intravenöz yağ toleransı değişmesi, eksojen yağ asitleri oksidasyonunda azalma, gelişmede azalma, kalp ve iskelet kasları gibi organların fonksiyonlarında bozulma gibidir (Campoy ve ark 1998).

Seong ve ark (2010) yaptıkları bir çalışmada, bebek mamalarındaki L-karnitinin prematüre bebeklerin enerji metabolizması ve büyümesi için yeterli olup olmadığını değerlendirmişlerdir. Normal enerji metabolizmasının devamı için karnitin bulunurluğu yeterli değilse yavaş büyüme, yüksek trigliserid ve düşük ketogenezis görülmüştür. Premature bebeklerde, L-karnitin takviyeli ve takviyesiz parenteral besleyerek büyüme ve lipid metabolizmasında farklılığı belirlemek için ağırlık artışı, serum lipid profili, serum β-hidroksibütirat ve serum karnitin konsantrasyonlarını ölçmüşlerdir. Sonuçta premature bebeklerin serum karnitin düzeylerinin normal olabilmesi eksojen karnitin takviyesine bağlıdır. Karnitin takviyesiz beslenenlerde düşük karnitin düzeyi bulunmuştur. L-karnitin takviyeli ve takviyesiz beslenme sonucunda kazanılan vücut ağırlığında farklılık görülmemiştir.

Bunun nedeni çalışmanın 9 gün gibi kısa bir süre oluşuna ve karnitin takviye miktarının (10 mg/kg gün) az oluşuna bağlanmıştır.

Khan-Siddiqui ve Bamji (1980), yetişkin Hintli erkeklerde besinlerin ve beslenme durumunun plazma karnitin düzeylerine etkisini araştırmışlardır. Daha düşük yağlı beslenenlerde daha az karnitine ihtiyaç olduğu, besinlerdeki lizinin karnitin ihtiyacına etkili olduğu ayrıca Hintlilerin batılı insanların antropometriğinden farklı olması plazma karnitin düzeyinin daha fazla çıkmasına neden olduğu belirtilmiştir. Karnitin yetmezliğinin, tüketilen gıdalarda öncül amino asitlerin düşük oranda olması ve yağ içeriklerinin çok yüksek olmasıyla görülebileceği sonucuna varılmıştır.

Cho ve Cha (2005) , hamile ve hamile olmayan Koreli kadınlarda plazma ve üriner karnitin konsantrasyonlarını değerlendirmişlerdir. Gebelik sırasında karnitin durumundaki değişiklikler enerji ihtiyacı durumuna karşı adapte olmayı gerektirmektedir. Yağ asitlerinden daha çok karbonhidrat kullanımı söz konusudur. Çalışma sonucunda koreli gebe kadınlarda toplam karnitin ve tüm karnitin fraksiyonlarında azalma, üriner karnitinde artış görülmüştür. Düşük karnitin durumununda fetal gelişimin engellendiği ve düşük ağırlıklı doğumlara neden olduğu belirtilmiştir.

Atletlerin karnitin yetersizliği ile karşı karşıya olduğu düşünülmektedir. Özellikle birkaç ayın üzerinde yapılan kondüsyon antremanlarında kas karnitin konsantrasyonlarının azaldığı gözlemlenmektedir. Broad ve ark (2006), kondüsyon antremanlarında beslenme alışkanlığı ile alınan karnitin ile plazma ve üriner karnitin konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi belirlemeye çalışmışlardır. 18-50 yaş arası vejeteryan olmayan bireyleri dört haftalık çalışmaya almışlar. Günlük aldığı besinler ve eksersizler tespit edilmiş. Yedikleri ve içtiklerinin karnitin içerikleri Gustavsen'in (2000)belirlediği gıdalardaki karnitin içerik listesi kullanılarak mg cinsinden günlük olarak hesaplanmıştır. Alınan kan örneklerinde plazma serbest ve toplam karnitin değerleri ölçülmüştür. Ayrıca günlük olarak üriner karnitin atımı tespit edilmiştir. Sonuçta tüketilen besinlerle vücuda alınan karnitin miktarı ile ne plazma karnitin konsantrasyonu nede üriner karnitin atılımı arasında bir korelasyonolmadığını belirtmişlerdir.

Panjwani ve ark (2007) sıçanlarda normal basınç/normal oksijen seviyesi ve yüksek basınç/oksijen azlığı durumlarda dayanıklılık egzersizleri üzerine karnitin takviyesinin etkisini incelemişlerdir. Sonuçta L-karnitin takviyesinin sıçanlarda fiziksel çalışma kapasitesini artırdığını, daha geç yorgunluk hissettiklerini bu durumun yağ oksidasyon özelliğine dayandığını belirtmişlerdir.

Cao ve ark (2011) çalışmalarına göre sağlıklı kişilere L-karnitin takviyesi verildiğinde antioksidan enzimlerin aktivitelerini ve toplam antioksidan kapasitesini artırdığını belirtmişlerdir. Dolayısıyla aşırı oksidatif stres içeren kronik hastalıklar için destek terapi olabileceği ifade edilmiştir.

Alzheimer hastalığının demans tipinin tedavisinde açilkarnitin takviyesinden yararlanılmaktadır. Açilkarnitin düzeyinin sebep olduğu hastalıkların teşhisi için plazmada, dokuda ve idrarda açilkarnitin miktar tayinleri önem kazanmıştır. Park ve ark (2001) insan plazmasında açilkarnitin miktarı tespiti için p-bromophenacyl bromide ile türevlendirerek HPLC de ölçüm yapmışlardır.

Koç ve ark (2010) kronik hemodiyaliz hastalarında, rutin karnitin kullanımının hastaların anemi parametreleri, intradiyalitik hipotansiyon ve intradiyalitik kas krampları üzerine etkisinin olup olmadığını araştırmışlar ve sonuçta faydalı etkisini gösterememişlerdir.

Beyin içinde karnitin önemlidir. Çünkü beyin oksidatif metabolizmaya oldukça bağımlıdır. Karnitin yoksunluğuna bağlı yağ asit metabolizmasının ve enerji üretiminin bozulması metabolik ensefalopatiye yol açmakta ve nörolojik düzensizlikler görülmektedir. Yağ asitleri açlık ve yetersiz beslenme gibi durumlarda beyin için enerji substratı olarak anahtar rolü oynamaktadır. Bu yüzden yağ asit metabolizmasında karnitin ve açil karnitin fonksiyonları beyin metabolizması için önemlidir. Karnitin ve açil karnitin beyinde açil esterlerinin uzaklaştırılmasında rol oynamaktadır (Jones ve ark. 2010).

Bipolar bozukluğu olan kişilerde valproik asidin yol açtığı kilo artışı, besin alımının artması, termogenezin azalması ve serum albüminine kompetetif bağlanmanın bir sonucu olarak daha fazla uzun zincirli yağ asidi oluşması ile açıklanmaktadır. Yapılan çalışmada hastanın vücut analizinde saptanan yağ oranının beklenilenin çok üzerinde olması nedeniyle karnitin eksikliği olabileceği düşünülmüş

ve tedaviye L-karnitin (1g/gün) eklenmiştir ve diyetle birlikte önerilen tedavi ile ağırlık ve vücut yağında azalma sağlanabilmiştir (Özenoğlu ve ark 2009).

Hemodiyaliz işleminin sebep olduğu L-karnitin kaybı ikincil karnitin yoksunluğuna neden olmaktadır. Bazı çalışmalarda karnitin takviyesi faydalı görülmüştür (Möder ve ark 2005).

Şen ve Yüksel (1999) L-karnitin yetersizliğinin diyaliz hastalarındaki aneminin gelişmesinde rol oynadığını, L-karnitin tedavisiyle anemideki düzelmenin özellikle eritrosit yaşam süresini uzatıcı etkisinden kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Şen ve ark (1999) karnitin eksikliğinin üremik myopati gelişiminde ayrıca hücre içi metabolik düzeydeki etkisiyle yer aldığı ve karnitin tedavisiyle kas fonksiyonunda belirgin düzelme olduğunu gözlemlemişlerdir.

Plazma ve iskelet kaslarındaki düşük karnitin konsantrasyonu insanlardaki valproik asit terapileriyle özellikle çocuklardakiyle bağdaştırılmaktadır. Bazı hastalarda karnitin uygulaması, valproik asit tedavisiyle birleşen hiperammonemiyi düzeltmektedir. İnsanlarda karnitin homeostazisi, besin kaynaklarından karnitinin emilimiyle, özellikle karaciğer ve böbreklerdeki endojen karnitin senteziyle ve karnitinin yeniden emilim yeterliliğiyle sağlanmaktadır. Karnitinin normalin altında oluşu bu proseslerin bir veya birkaçında valproik asidin sebep olduğu değişimlerden kaynaklanmaktadır (Stadler ve ark 1999). Stadler ve ark (1999) çalışmalarında uzun süreli valproik asit uygulanmış kişilerde karnitinin yeniden böbreklerde emilim oranının düştüğü hipotezi üzerinde durmuşlar ve çalışmalarının sonucunda valproik asit tedavi gören kişilerdeki karnitin yoksunluğunun gerekçesini diğer mekanizmalardan kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Li ve ark (2007) seminal plazmada serbest karnitin düzeyinin belirlenmesinin, mitokondriyal yağ asit oksidasyon durumunu yansıttığını, somatik ve üreme hücrelerinde karnitin etki mekanizmasınındaha iyi anlaşıldığını ifade etmişlerdir. Karnitin düzeyininkısırlıktapotansiyel biyokimyasal gösterge olduğunu, sperm kalitesi, sperm hareketliliği ve sayısı ile seminal plazmadaki serbest L-karnitin konsantrasyonunun arasında çok yakın bir korelasyon olduğunu belirtmişlerdir.

Roy ve ark (2009) süt ürünlerinde mevcut olan bütirat ve karnitin kombinasyonunun tümör oluşumunu engelleyerek kolon kanserini önlediğini belirtmişlerdir.

Bebeklerdeki ani ölüm nedenlerinden biri karnitin eksikliğine bağlı lipit metabolizmasındaki abnormal durum olduğu belirtilmiştir. Karnitin biyosentezi için gerekli olan askorbik asit eksikliği, karnitin eksikliği ve bebeklerdeki ani ölüm arasında bağlantı olduğu sonucuna varılmıştır (Okamoto ve Ueno 2006).

L-karnitin bilişsel ve sinirsel fonksiyonlara faydalı etkisinden dolayı anti-aging bileşik gibi düşünülmektedir. L-karnitin ve esterleri beyinde değişik oranlarda mevcuttur ve yaşlanan beyinde azalmaktadır (Lohninger ve ark 2001). Lohninger ve ark (2001) yaşlı sıçanların öğrenme kabiliyetine serbest L-karnitin tedavisinin etkisini araştırmışlardır. Bunun için çoklu T-labirent test enstrümanını kullanmışlar. 24 yaşlı deneğin içme sularına iki ay boyunca hergün 100 mg/kg vücut ağırlığı L-karnitin eklemişler. Yaşlı(12) ve genç(12) kontrol hayvanlarına çeşme suyu verilmiştir. Çalışmada davranışları gözlenmiş ve karşılaştırılmış. L-karnitin verilen yaşlılarda öğrenme kabiliyetinin arttığı genç kontrol gruplarının performanslarına benzer olduğu görülmüştür.

Karnitin seviyesi yaşlanma süreci ile azalmaktadır. L-karnitin organizmaların özellikle hayvansal orijinli hücrelerin doğal bileşenidir. Yoksunluğu gelişme geriliği ve tekrarlayan enfeksiyonlarla bağlantılıdır. L-karnitin takviyesinin yaşlı farelerde bağışıklık sisteminin gelişimine pozitif etkisi olduğu belirtilmiştir (Thangasamy ve ark 2008).

Ribas ve ark (2010) çalışmalarında, metilmalonik asidemi ve propionik asidemi tanısı konulan hastaların, L-karnitin takviyeli ve protein kısıtlı tedavi altında, plazmalarında lipid ve protein hasar parametrelerini araştırmışlardır. Lipid oksidatif hasar parametresi olarak malondialdehid (MDA), protein oksidatif hasarı olarak karbonil oluşumu ve sülfidril içeriği kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır. Tedavi edilen grupta MDA seviyesi önemli derecede daha düşük bulunmuştur. Tedavinin sülfidril içeriğini değiştirmediğini, karbonil oluşumunu önlediğini belirtmişlerdir. Ayrıca MDA düzeyi ile serbest ve toplam L-karnitin konsantrasyonları arasında belirgin negatif korelasyonu kanıtlamışlardır.

Bayanların gebelik dönemlerinde plazma karnitin düzeyi azalmaktadır ve karnitin takviyesi ile bu durum önlenebilmektedir. Ayrıca plazma karnitin konsantrasyonu ve demir konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon mevcuttur. Yetersiz demir durumu karnitin sentezini de azaltmaktadır (Keller ve ark 2009).

Sitta ve ark (2009), fenilketonüri hastalarında oksidatif stres ile L-karnitin düzeyleri arasındaki bağlantıyı araştırmışlardır. Fenilketonüri hastaları protein kısıtlı beslenmek zorundadırlar. Dolayısıyla karnitince et, süt gibi zengin gıdaları tüketememektedirler ve L-karnitin eksikliği ile karşı karşıyadırlar. Bunun için çalışmalarında fenilketonüri hastalarına sentetik amino asitlerle takviyelendirilmiş düşük protein diyeti uygulamışlardır. İki grup oluşturmuşlar, bir grup kesinlikle diyete bağlı diğeri ise tavsiye edilen diyete uymayan gruptur. Bu kişilerin plazmalarındaki toplam L-karnitin seviyesi ve oksidatif stres parametreleri; tiobarbutirik asit reaktif türleri (TBARS), toplam antioksidan reaktivite (TAR) kapasitelerini belirlemişlerdir. Sonuçta serum L-karnitin ile fenilalanin düzeyleri arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir. TBARS ölçümü bir yağ peroksidasyon parametresidir. TAR değeri ise dokuların serbest radikallerle reaksiyon kapasitesidir. Diyete bağlı fenilketonüri grupta TBARS değerleri ile L-karnitin konsantrasyonları arasında anlamlı negatif korelasyon, toplam antioksidan reaktivite (TAR) ile L-karnitin konsantrasyonları arasında ise önemli pozitif korelasyon gözlenmiştir. Tedavi edilen fenilketonüri hastalarında L-karnitin seviyelerinin ölçülmesi uygun görülmüştür. Plazmada L-karnitin düşük tespit edilirse diyetlerine L-karnitin ilave etmenin yerinde olacağını belirtmişlerdir.

1.8. L-Karnitin Tayin Yöntemleri

Karnitin tayininde ilk yöntem Tenebrio molitor kullanılan biyoanalizdir. Test materyali ilave edilmiş diyet tüketen larvanın hayatta kalması ve büyümesi, belli miktar standart karnitin ilave edilmiş kontrol larvaları karşılaştırılmıştır. Daha sonraları kimyasal metotlar geliştirilmiştir. Karnitinin esterleşmesini ve bromofenol mavi kompleksinin kolorimetrik belirlenmesini içermektedir. Ancak belirleme spesifik değildir, materyaldeki diğer kuarterner aminlerin karışması ön arındırma işlemini gerektirmiştir. En önemli ilerleme aşaması ise enzimatik analiz yönteminin geliştirilmesidir. Sonraki yıllarda 1974 den sonra radio enzimatik ve gas kromotografik metodlar uygulanmıştır. Serbest ve açil karnitinlerin KOH ile

hidrolizasyonu ile toplam karnitin düzeyleri belirlenmiştir (Mitchell 1978, Marzo ve Curti 1997).

Biyolojik sıvılarda ve farmasötik ürünlerde karnitin belirlenmesi bazı faktörlere bağlı olarak zordur. Alifatik yapı tespit etmeyi zorlaştırır. Nitrojenin geçirgen pozitif yükü ters faz kromotografisinde tutunmayı engeller. L-karnitinin iki farklı izomerini veren kiral merkez farmakolojik olarak aktiftir (Mansour ve ark 2013).

Karnitin ve açil karnitin analizleri için geniş spektrumlu farklı birçok analitik prensipler ve metodlar kullanılmaktadır. Serbest ve toplam karnitin belirleme metodları daha çok klinik laboratuvarlarda kullanılmaktadır. Serbest ve esterlerinin belirlenmesi için asetil-KoA kullanılarak çeşitli modifikasyonlarla spektrofotometrik ve radyoenzimatik çalışmalar yaygın kullanılan yöntemlerdir. Radyoenzimatik yöntemle karnitin ölçülmesi, asetil koenzimA varlığında karnitin asetil transferaz enzimiyle karnitinin tanınması prensibine dayanmaktadır. Ancak enzim için reaksiyon zamanı ve şartları çok özen gösterilerek oluşturulmalıdır. Ayrıca enzim kullanılarak yapılan analizler ile açilkarnitinler belirlenememektedir (Minkler ve ark 1987). L-karnitin, bazı metotlar ile kan plazması, sebzeler gibi μmol düzeyinde L-karnitin içeren numunelerde, yeterli duyarlılıkta belirlenememektedir (Seline ve Johein 2007).

Karnitin belirlemede daha ileri teknolojiler HPLC, GC-MS, kapilari elektroferoz gibi kromotografik uygulamalardır. Son yıllarda mass spekrometredeki yeni gelişmeler özellikle yeni doğan görüntü programlarında daha hızlı ve duyarlı karnitin tespit etmeyi sağlamaktadır. Karnitin ve esterlerinin kromotografik analizlerinde, polar özelliğini azaltmak ve kromotografik ayrım ve tespitini daha iyi yapabilmek için türevlendirme aşamasına ihtiyaç duyulmaktadır. Kimyasal türevlendirme uygulanarak UV veya floresan dedektör kullanılmaktadır. Ancak HPLC de numune hazırlama fazları çok emekli olup bilinmeyen bileşiklerde bilgi elde etmek çok zordur (Möder ve ark 2005). Kromotografik teknikler her zaman yeterli kararlılığı sağlayamamaktadırlar. Ekstraksiyon prosesleri zaman alıcıdır ve rutin analizlerde kullanılması da kolay değildir (Bodkowski ve ark 2011, Cao ve ark 2011, Dabrowska ve ark 2014).

HPLC ile seperasyon kuarterner aminler, karnitin ve tek açilkarnitinler için uygundur (Minkler ve Hoppel 1993).

Karnitin tespiti ve miktarının belirlenmesi için enzimatik, spektrofotometrik, kromotografik ve elektroforetik teknikler kullanılmaktadır. Radyo-enzimatik yöntem, HPLC/ UV, HPLC/ floresans, flow injection analiz, tandem MS, HPLC/ tandem MS kullanılarak çalışmalar geliştirilmektedir (Minkler ve ark 2005, Dabrowska ve Starek 2014).

1.9. L-Karnitin ile İlgili Çalışmalar

Ferreira (2003), inek sütü ve anne sütü ile bebek mamaları ve işlem görmüş sütte protein niteliğinde olmayan azot bileşiklerin miktarlarını incelemiştir. Anne sütünde 0.527 mg/100 ml serbest L-karnitin ve 0.81 mg/100ml toplam L-karnitin, inek sütünde anne sütünün 6 katı fazla olup 3.13 ve 4.21 mg/100 ml serbest ve toplam L-karnitin belirlemiştir. Rekonstituye sütte ise anne sütünün 3 katı fazla olup 1.5 mg serbest, 2.2 mg toplam L-karnitin tespit etmiştir. Hazırlanmış sütteki L-karnitin seviyesi Avrupa mevzuatlarında belirtilen minumumun üzerinde bulunmuştur. Avrupa mevzuatında L-karnitin içeriği 1.79 µmol/100 kj (7.5 µmol/100 kcal) olarak belirlenmiştir.

Anne sütü inek sütüne kıyasla daha düşük toplam karnitin içermektedir. Bu yüzden süt bazlı formüller üretim sırasında karnitin konsantrasyonunda değişiklik olmazsa bebek beslenmesinin ihtiyacını karşılamaktadır (Woollard ve ark 1999).

Campoy ve ark (1998) bebeğin yeni doğduğunda ve 28 gün sonraki neonatal döneminde plazma serbest ve toplam karnitin içeriğini karşılaştırmışlar, anne sütüyle beslemenin karnitin konsantrasyonu artırdığını göstermişlerdir. Neonatal dönemin sonunda FC/TC oranı artmış ve AC/FC oranı azaldığını belirtmişlerdir. Bu durum, bebeğin yaşamının ilk ayının sonunda, doğduğuna göre karnitin bulunurluğunun daha iyi olduğunu ve dolayısıyla iyi bir yağ asit oksidasyon düzeni olduğunu ifade etmişlerdir.

Mitchell ve Snyder (1991) laktasyon döneminde besinsel karnitinin anne sütünün karnitin fraksiyonlarını etkilemediği, annenin üriner karnitin atımının sütteki karnitin komposizyonu ile ilgisi olmadığı sonucuna varmışlardır. Ayrıca anne

sütünde karnitinin %81'nin serbest formda bulunduğunu ve serbest karnitinin, bebekle, anneyle ve beslenme faktörleriyle ilişkili olmadığını fakat açil karnitin ve toplam karnitinin anne vücut ağırlığı ve vücut kütle indeksi ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir. Besinlerle protein alımı ile birlikte karnitin alımının üriner karnitin atımını etkilediği sonucuna varmışlardır.

Woollard ve ark (1999) çalışmalarında sığır ve keçi sütlerinde, tam yağlı, yağsız süt tozunda, peyniraltı suyu tozunda, soya bazlı bebek mamalarında serbest karnitin, toplam karnitin ölçmüşlerdir. Yağ içerikleri farklı süt numunelerinde asit-çözünür serbest ve kısa zincirli açil karnitin içeriklerini süt yağı oranı ile ters korelasyon tespit etmişlerdir. Zamansal değişime ve farklı bölgelere göre elde edilen yağlı (%25-30 yağ), yağsız (<%1 yağ) süt tozlarında serbest ve toplam karnitin düzeyleri tespit etmişlerdir. Bebek mamalarında normal koşullarda 36 ay ve 37ºC de 18 ay saklanmış ürünlerde ölçülebilir karnitin kaybına rastlanmamıştır. Ultrafiltrasyonsuz spray dry yöntemiyle üretilmiş peyniraltı suyu tozunda diğer süt protein ürünlerine (peyniraltı suyu konsantratı, peyniraltı suyu izolatı, süt protein konsantratı) göre en fazla karnitin oranı bulunmuştur. Kazein proteinleri karnitince yoksun bulunmuştur. Peyniraltı suyu tozuna uygulanan ultrafiltrasyon, deminerilazasyon proseslerinin son üründe karnitin içeriğini düşürdüğünü belirtmişlerdir.

Kerner ve ark (1984) domuz kolostrumu ve süt ve yeni doğan domuz yavrusunun kan plazmasında karnitin, açil karnitin değerlerini ölçmüşlerdir. Kolostrum ve sütte toplam karnitin fazla, yeni doğan kanında ise oldukça düşük bulunmuştur. Yeni doğanlar için süt ve kolostrumun karnitin besin kaynağı olduğunu belirtmişlerdir.

Erfle ve ark (1970) normal inekler ve ketoz ineklerin sütlerinde karnitin ve asetil karnitin düzeylerini tespit etmişler. Sonuçta beslenmeye bağlı olan ketoz inekte serbest karnitin düzeyinin anlamlı düşük bulunmuştur. Ayrıca süt verimi düşük ketoz ineklerde sütle toplam karnitin atılımı normal ineklere göre daha yüksek çıkmıştır. Kontrol ineklerin sütlerinde asetilkarnitinin serbest karnitine oranı 0.92 iken ketoz ineklerin sütlerinde ise 7.1 bulunmuştur.

Açlık, gebelik, kolin eksikliği gibi stres koşulları ineklerde karnitin dengesini değiştirmektedir. Daha fazla karnitin atılımı gerçekleşmekte olup vücuttaki karnitin havuzunda düşüş görülmektedir. Erfle ve ark (1973) normal ve ketoz ineklerin laktasyon döneminin 1-8 hafta aralıklarında sütlerindeki karnitin, protein, yağ, laktoz ve doku karnitin düzeylerine bakmışlardır. Sütteki karnitinin, kandaki glukozla, süt proteini ve laktozla negatif korelasyon, ketonlarla, plazma serbest yağ asitleriyle ve süt yağıyla pozitif korelasyon olduğu görülmüştür. En önemli korelasyonun süt proteini ile süt karnitin arasındaki negatif korelasyon olduğu yani karnitin salınımını artıran şartların süt protein sentezini desteklemediğini belirtmişlerdir.

Demarquoy ve ark (2004) et ürünlerinde L-karnitin seviyesini 40-540 μmol/100g (6.5 ve 87.5 mg/100g) olarak bildirmişlerdir. İşlemden geçmiş etlerin karnitin düzeyinin nispeten düşük olduğu belirtilmiştir. Süt ürünlerinde ise yarım yağlı sütte L-karnitin oranı 26 μmol/100ml (4.2 mg/100 ml) , prosesine bağlı olarak süt tozunda daha yüksek düzeyde bulunmuştur. L-karnitin hidrofilik molekül olsa bile sıvı kremada önemli miktar karnitin bulunmuştur ve sütten gelen suyun varlığına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Diğer bir taraftan tereyağında L-karnitin düzeyi oldukça düşüktür. Balıktaki L-karnitin oranı ise et ürünlerinden daha çok süt ürünlerindeki orana yakındır. Somon balığının karnitince en fazla zengin deniz ürünü olduğu ifade edilmiştir.

Tanphaichitr ve Pakpeankitvana (2001) Taylandlı erkeklerde farklı düzeyde protein alımının karnitin oranını nasıl etkilediğini incelemişlerdir. Çalışmada protein alımlarına göre 3 grup ve kontrol grubu belirlemişlerdir. Her bir grubun ortalama ağırlığı, boyu ve vücut kütle indeksleri düzenlenmiştir. 1. Grupta, 3 kişi, 14 gün proteinsiz beslenmiş, 2. Grupta 4 kişi, 56 gün boyunca günlük 0,20; 0,35; 0,50; 0,65 g/kg/gün, 3. Grupta ise 7 kişi, 42 gün 0,55; 0,70; 0,85 g/kg/gün protein alımı sağlanmıştır. Kontrol grubuda 22 sağlıklı insan, alışılmış beslenme ile yani 1.07g/kg/gün protein ve 176μmol/gün karnitin alan kişilerdir. 10 gün aralıklarla protein alım seviyeleri değiştirilmiştir. 2. ve 3. Gruba protein kaynağı olarak tavuk yumurtası verilmiştir. Ayrıca maş fasulyesi ve erişte öğlen ve akşam yemeklerinde verilmiştir. Günlük enerji alımı tüm bireyler için 188.28 kj/kg/gün olarak tutulmuştur. Grupların idrarları toplanmış ve her örneğin serbest ve toplam karnitin düzeyleri enzimatik-radyoizotopik metodla ölçülmüştür. Toplam ve serbest karnitin

farkından açil karnitin bulunup açilkarnitin/toplam karnitin oranı hesaplanmıştır. Sonuçta proteinsiz, yeterli enerji ve yağ alan sağlıklı bireylerde üriner karnitin kaybı önemli bulunmuştur. Protein alımıyla üriner serbest karnitin, açilkarnitin ve toplam karnitin atımı arasında negatif bağlantı olduğu gözlenmiştir.

Farklı gıda örneklerinde L-karnitin düzeyini belirleyen Seline ve Johein (2007), süt ve ürünlerindeki L-karnitin konsantrasyon farkını ürünlerin yağ içerikleri ve elde edilen orijin farklılığına bağlamışlardır. Akışkan süt ürünlerinde kuru maddede toplam karnitin 68-428 mg/kg, serbest karnitin içeriği kuru maddede 36-232 mg/kg, peynir ürünlerinde ise toplam karnitin içeriği kuru madde 14-149 mg/kg, serbest karnitin kuru madde de 7-102 mg/kg kuru madde olarak belirlenmiştir. Yoğurtta ve lor peynirinde sütten daha düşük düzeyde karnitin bulunmuştur. Bu durumun farklı örneklere, analitik metodlara, örnek hazırlamaya ve proses farklılığına bağlı olduğu belirtilmiştir. Tek türden elde edilen sütün karnitin içeriğinin farklı laktasyon süresi ve laktasyon sayısından etkilendiği ifade edilmiştir. Ayrıca koyun peynirinin inek peynirinden % 50 daha fazla karnitin içerdiği belirtilmiştir.

Rigault ve ark (2008) çiğ, donmuş ve pişmiş kırmızı et ve somon balığında L-karnitin seviyesini, serbest ve esterleşmiş form dağılımlarını incelemişlerdir. Sığırın farklı bölgelerinden alınan etlerde L-karnitin miktarını belirlemişler ve önemli farklılık bulmamışlardır. Pişirme ve dondurma işleminin hem kırmızı ette hemde somon balığında L-karnitin içeriğini değiştirmediğini belirtmişlerdir. Sadece füme somonda, tazesine göre karnitin içeriği daha düşük bulunmuştur. Bu kaybın füme işleminin birkaç gün ve değişik sıcaklıklarda yapılmasından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir.

Karnitin hayvan beslenmesinde de önem arz etmektedir. Çalışmalarda gebe domuza karnitin takviyeli besin verildiğinde olumlu etkiler gözlemlenmiş ve yavrularının doğum ağırlıklarının arttığı belirtilmiştir (Eder 2009).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Araştırma Gereci

Çalışmada materyal olarak piyasada ticari olarak satılan ve tüketime sunulan pastörize süt, sterilize süt, homojenize yoğurt, torba (süzme) yoğurt, beyaz peynir ve kaşar peyniri kullanıldı. Her bir üründen 15 adet olmak üzere toplam 90 adet numune analize alındı. Numuneler alınırken farklı firmaların üretimi olmasına ve üretim lotunun aynı olmamasına özen gösterildi. Bu numuneler analiz yapılana kadar -18ºC'de derin dondurucuda muhafaza edildi. Numuneler analize alınacağı zaman çözündürüldü ve homojenize edilerek ekstraksiyon ve analiz için hazır hale getirildi.

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler analitik saflıktadır; L-karnitin standardı (Sigma, CO283), iç standart (µ-butirobetain hidroklorit, Aldrich, 403245), 1-Aminoanthracene (Aldrich, A38606), 1-ethyl-3-(3-dimetilaminopropil) karbodimid hidroklorit (EDAC) (Fluka, 03450), Amonyum asetat (Merck, 101115.1000), Asetik asit (Merck, 100063), Kloroform (Merck, 102431), Aseton (Merck, 100014), Sodyum fosfat monobazik monohidrat (Sigma, S9638), Disodyum hidrojen fosfat dihidrat, Asetonitril (Merck, 100030), Perklorik asit, Hidroklorik asit.

Kullanılan cihazlar;

- HPLC Sistem: L-karnitinin belirlenmesi amacıyla Shimadzu marka, autosampler (AIL-20ACHT), kolon fırını (CTO-20A), dedektör, pompa (LG-20AT)
- HPLC Analiz Kolonu: HIC-ACE-121-1546 ACE 5 C18 (150*4,6mm)
- Floresans dedektör: Shimadzu ModelRF-20A
- Çalkalamalı su banyosu: Lab Companion BS-21 marka
- Isıtmalı magnetik karıştırıcı: IKA RCT klasik marka
- Vorteks karıştırıcı: VELP Classıc vorteks mixer
- Homojenizatör: h-Heidolf/ Silent crusher M marka
- Santrifüj: VWR by Hitach koki Co, ltd-CTISE

- pH metre: WTW pH 3210(pH 330i)
- Millipore filtre: Syringe Filters Nylon marka 0.45µm çap
- Nem cihazı: AND MX-50 0,01%/ Max51g Moisture Analyzer

2.2. Yöntem

2.2.1. Kromatografik Koşullar

- Mobil faz koşulları; %70 0.1 M Amonyum asetat (asetik asit ile pH 3.5 ayarlanmış) ve %30 Asetonitril. Sistem gradient olarak çalıştırıldı.
- Akış hızı; 1.5 ml/dak
- Kolon; C18, 150*4.6 mm ID, 5 µm
- Enjeksiyon hacmi; 20 µl
- Dedektör; Floresans,
- Eksitasyon: 248 nm, Emisyon: 418nm
- Analiz süresi; 12 dak.
- Kolon sıcaklığı: 30ºC

2.2.2. Kalibrasyon İçin Standart Solüsyonlarının Hazırlanması

L-karnitin stok solüsyonu için 10 mg % 98 saflıkta L-karnitin standardından tartılıp 10 ml deiyonize su içinde çözdürüldü. 0, 1, 2, 10, 20 ppm standart seri solüsyonlar hazırlandı. İnternal standart için γ- butyrobetain 2 µg/ml hazırlandı. (Cao ve ark 2007).

2.2.3. Numunenin Hazırlanması ve Ekstraksiyonun Yapılması

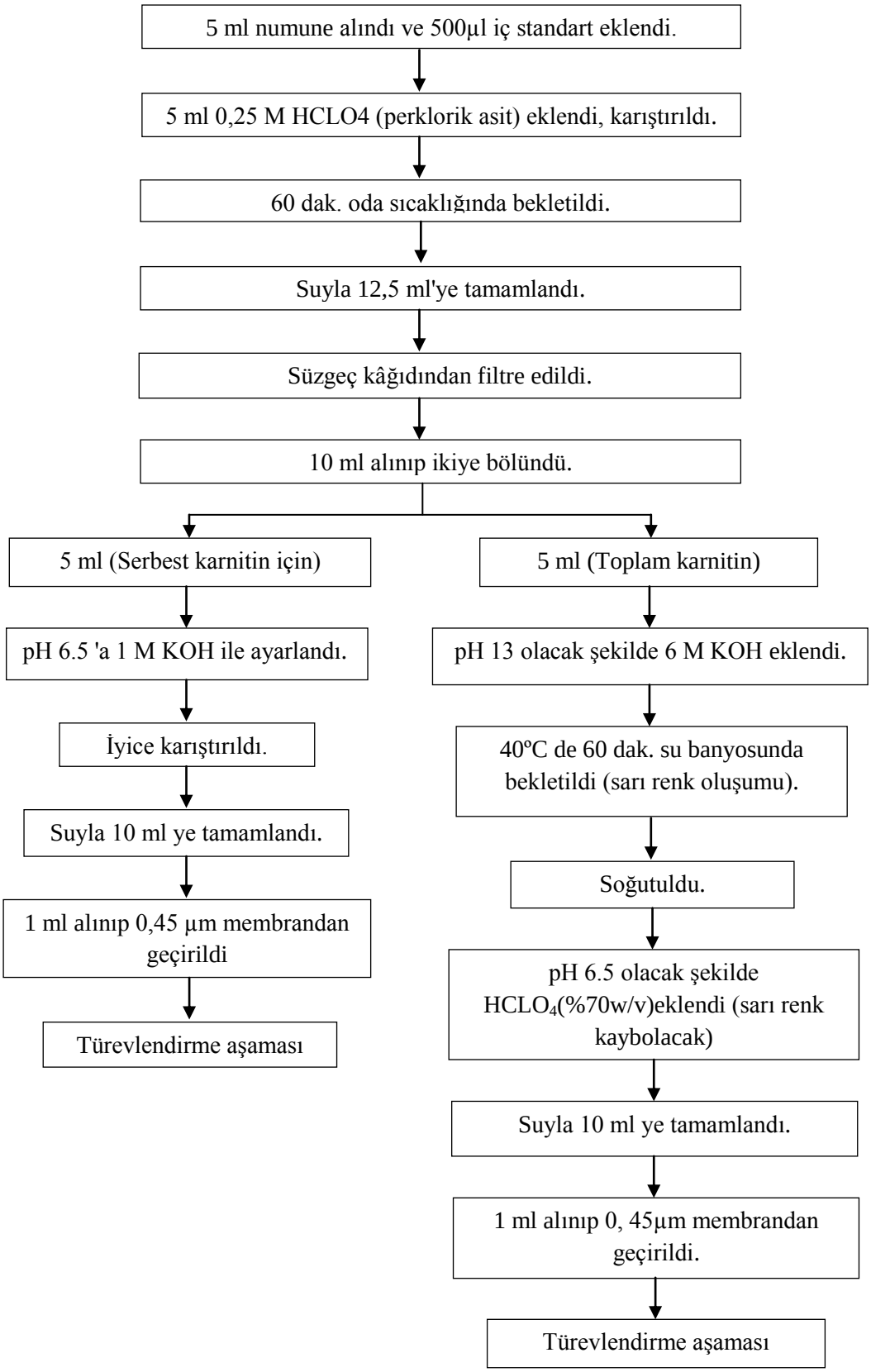
Biyolojik örneklerde, deproteinizasyon, santrifigasyon ve ekstraksiyon gibi işlemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu analiz basamağıyla metodun seçiciliği artmakta, analitik kolon koruyuculuğu ve matriksin etkisi ortadan kalkmaktadır (Mansour ve ark 2013).

Numuneler öncelikle homojenize edildi. Beyaz peynir ve kaşar numuneleri 2 g tartılıp 5 ml tuzlu su çözeltisi ile 3 kez homojenizatörde homojenize edildi. Elde edilen 15 ml peynir çözeltisinden 5 ml alındı. Kase ve süzme yoğurtlarda 2 g tartılıp üzerine 5 ml saf su eklenip homojenize edildi. Süt numunelerinde ise direkt 5 ml alınıp diğer işlemlere geçildi. Numunelere perklorik asit ile protein presipitasyon

işlemi uygulandı. Deproteinize edilmiş numune serbest ve toplam karnitin ölçümleri için ikiye ayrıldı. Toplam karnitin konsantrasyonu için KOH ile hidrolize edildi.

Hidrolizasyon işlemi iki şekilde yapılmaktadır. Birincisi direkt hidrolizasyon diğeri ise yağ ve protein uzaklaştırıldıktan sonra hidrolizasyondur. Alkali hidrolizden önce uygulanan ekstraksiyon işlemleri istenmeyen maddeleri uzaklaştırmakta ve böylece fotometrik problemler minimize edilmektedir. Süt ürünlerinde alkali hidrolizasyon sırasında karamelizasyon olmakta ve bu durum daha düşük sıcaklıkta ve daha uzun parçalama dönemi ile minimize edilmektedir (Woollard ve ark 1997).

Numune hazırlama işlem basamakları ayrıntılı biçimde şematize edilerek Şekil 2.1'de verilmektedir (Hamamoto ve ark 1988a, Woolard ve ark 1997).



Şekil 2.1. Numune hazırlama aşamaları.

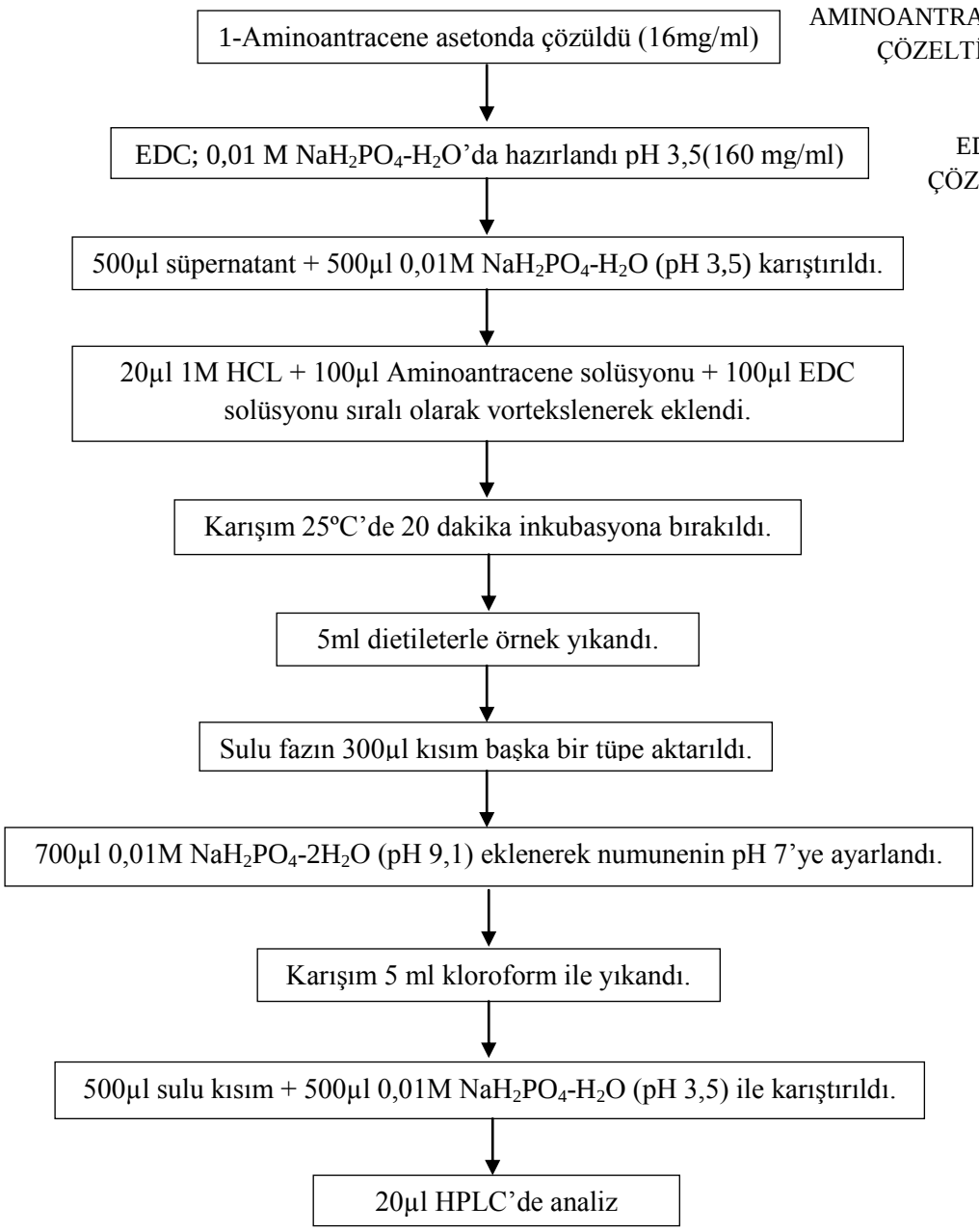
2.2.4. Türevlendirme Aşaması

Karnitinin HPLC de kolona verilmeden önce türevlendirilmesi bu molekülde kromofor eksikliğinin giderilmesi için uygulanan yöntemlerden bir tanesidir (Decheng ve ark 2013).Hassasiyet ve seçicilik ise kimyasal türevlendirme ile artırılmaktadır. Kimyasal türevlendirme ile karnitin ve açil esterlerinin alifatik yapısının kromoforik kısmının kullanılmasını sağlayarak duyarlılığı artırmaktadır (Mansour ve ark 2013).

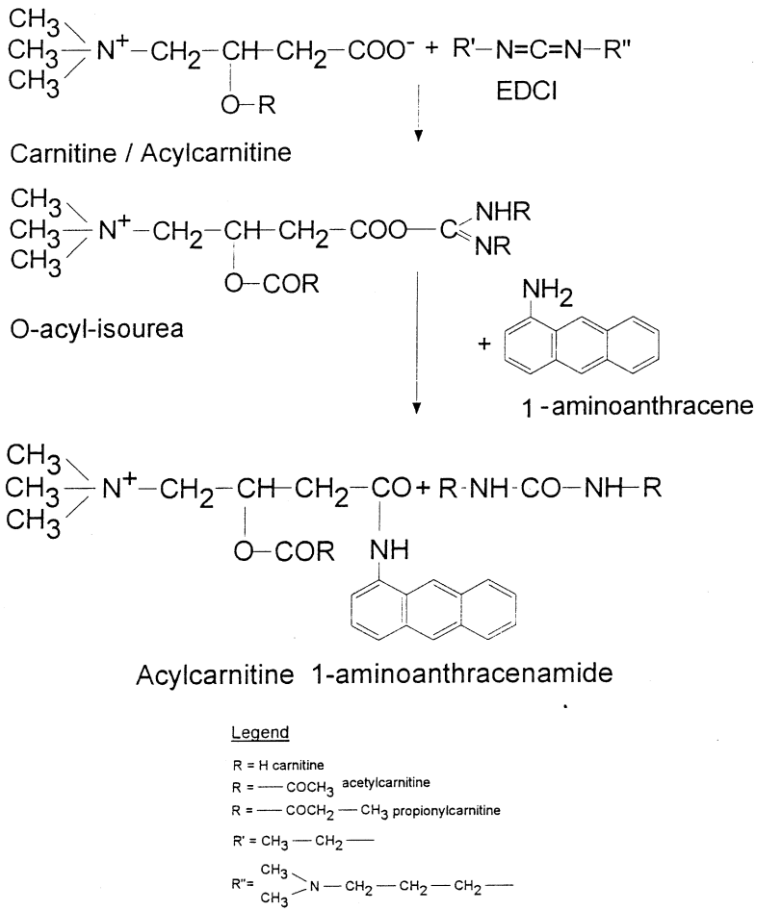
Floresan dedektör için spesifik olan türevlendirme ajanı 1-aminoanthracene 1 ml asetona 16 mg tartılarak (16 mg/ml aseton) ve 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodimide hydrochloride (EDC) solusyonu ise 0,01 M NaH2PO4-H2O pH 3,5 çözeltisinin 1 ml'sine 160 g EDC tartılıp eklenmesi ile hazırlandı. Türevlendirme aşamaları Şekil 2.2'de verilmektedir (Cao ve ark 2007). Türevlendirme aşamasında fazla gelen reaktifler etileter ile yıkanarak uzaklaştırıldı. Kloroform ile yıkanmasındaki amaç; 1-aminoanthracene ile reaksiyona giren aminoasitlerden oluşan amidler, klorofomda çözünerek uzaklaştırılmakta ve sonuçta aminoasit girişimleri elimine edilmektedir (Longo ve ark 1996, Cao ve ark 2009).

HPLC de özellikle türevlendirme aşamasında karıştırma işlemi oldukça önemli olup bileşenlerin birbirleriyle yeterli etkileşim süresinin sağlanması gerekmektedir (Janssens ve ark 1999). Uygulamanın her aşamasında, her numuneye eklenen kimyasallar sonrası mutlaka belli bir süre karıştırma işlemi uygulandı.

Türevlenme reaksiyonu Şekil 2.3'de gösterilmektedir (Longo ve ark 1996, Marzo ve Curti 1997).



Şekil 2.2. Türevlendirme aşamaları.



Şekil 2.3.Türevlenme reaksiyonu.

2.2.5. Kromatografik Analiz

Numune enjeksiyonundan önce HPLC kolonundan yaklaşık 30 dak. boyunca 1,5 ml/dak hızında mobil faz geçirilip sistem dengeye getirildi. Türevlendirilmiş numuneler HPLC sistemine 20 µl enjekte edildi ve eksitasyon ve emisyon dalga boyları 248 ve 418 nm ayarlandı ve her bir numune 3 kere okutuldu. L-karnitin konsantrasyonu, L-karnitin ve iç standart (γ-butyrobetain hydrochloride) pik alan oranları hesaplanarak belirlendi.

İç standart tekniği kromatografide yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ve analizin verimliliğini önemli ölçüde düzeltmektedir. Analiz sırasında örnekteki herhangi bir kayıp iç standardın eşit miktarda kaybıyla dengelendiğinden analitik ölçümlerde hatalar azaltılmaktadır (Işıl 1985).

Kalibrasyon grafiğinin çizilmesinde; Serbest ve toplam karnitin konsantrasyonlarının hesaplanması için değişik konsantrasyonlarda 1, 2, 10, 20 ppm

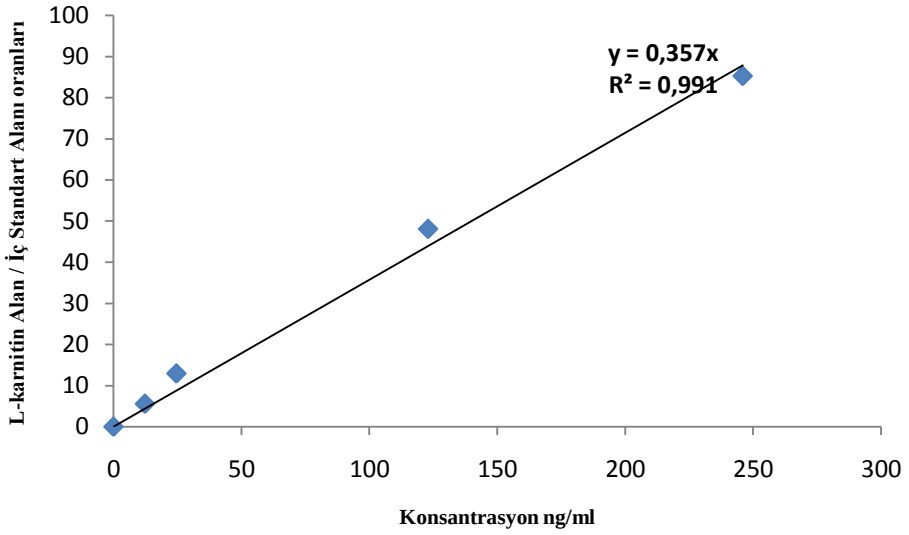
hazırlandı. Farklı konsantrasyondaki standart çözeltilerin her biri metotta belirtilen tüm aşamalardan geçirildi. Kalibrasyon eğrisi L-karnitin ve iç standart pik alan oranları hesaplanarak çizildi. Kalibrasyon grafiği Şekil 2.4'de gösterilmektedir. Kalibrasyon regresyon katsayısı 0,9918 bulundu. Kalibrasyon eğrisinden faydalanılarak numunelerdeki L-karnitinkonsantrasyonu hesaplandı.

Şekil2.5'de L-karnitin standart çözeltisinin ve iç standart kromatogramı görülmektedir. L-karnitinin alıkonma zamanı 4,044 dak.,iç standardın ise 4,863 dak olarak belirlendi.

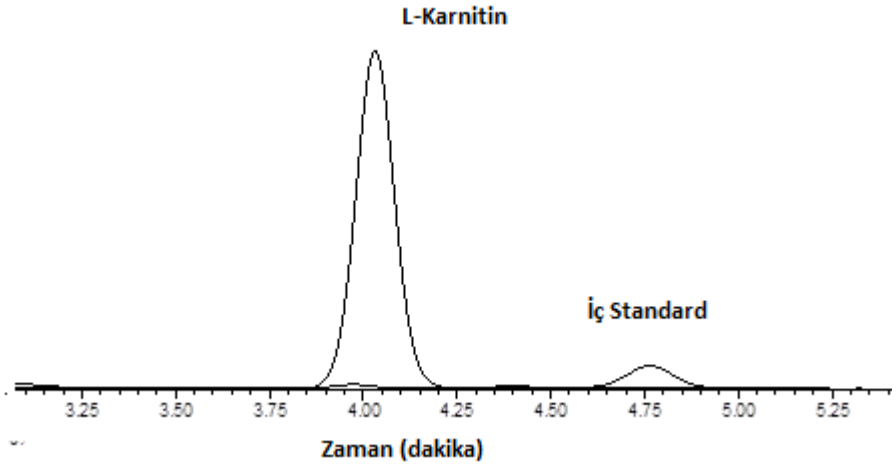
Karnitin için LOD değeri; 0,027846 ng/ml, LOQ; 0,084383 ng/ml olarak bulundu. Tespit ve ölçüm limitlerinin belirlenmesinde sinyal-gürültü oranı baz alınarak sinyal/gürültü oranının 3 katı tespit limiti, 10 katı ise ölçüm limiti olarak hesaplandı.

Diyalize süt numunesine, konsantrasyonu bilinen (2, 5, 10 ppm) karnitin eklenerek geri kazanım ölçümleri yapıldı.

% Geri kazanım= (Bulunan konsantrasyon/ teorik konsantrasyon)*100 formulasyondan hesap edilerek ortalama % 118 bulundu.



Şekil 2.4. L-karnitinin kalibrasyon grafiği.



Şekil 2.5. L-karnitin ve iç standart kromatogramı.

2.2.6. Kimyasal Analiz

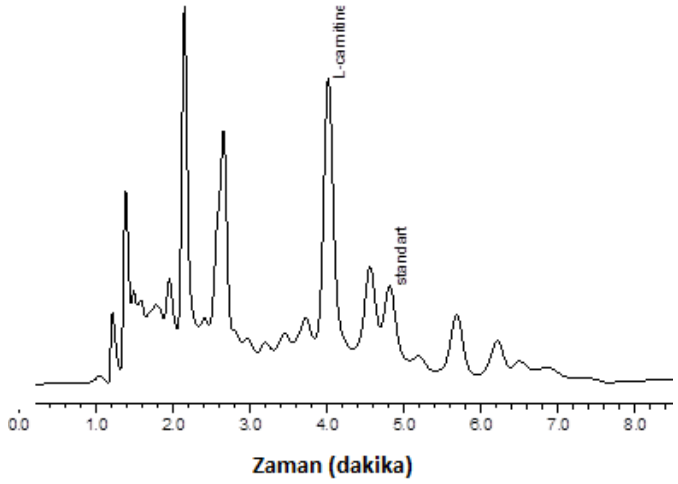
Numunelerde nem tayini AND MX-50 Moisture Analyzer cihazında ve yağ tayini gerber yöntemi ile yapıldı (IDF 1991).

2.2.7. İstatistiksel Analizler

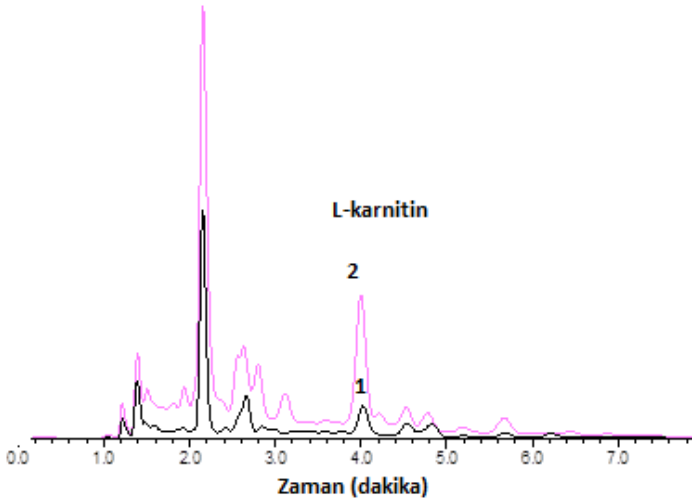
İstatistiksel değerlendirmede veriler SPSS 21.0 veri tabanına girildi. Verilerin ortalama ve standart hataları hesaplandı. Peynir, yoğurt ve süt çeşitlerinde parametreler arası fark iki grup arasındaki farkın önemlilik testi ile incelendi. Farklı süt ve ürünlerinin karnitin içerikleri arasındaki fark tek yönlü ANOVA testi ile incelendi. Varyansların homojenliği Levene testi ile değerlendirildi. Varyanslar homojen olmadığı için Welch ANOVA testi ve gruplar arasında anlamlı fark bulunan durumlarda ikişerli karşılaştırmalarda Tamhane T2 testi uygulandı.P değeri 0,05'in altı önemli olarak kabul edildi (Hayran ve Hayran 2011).

3. BULGULAR

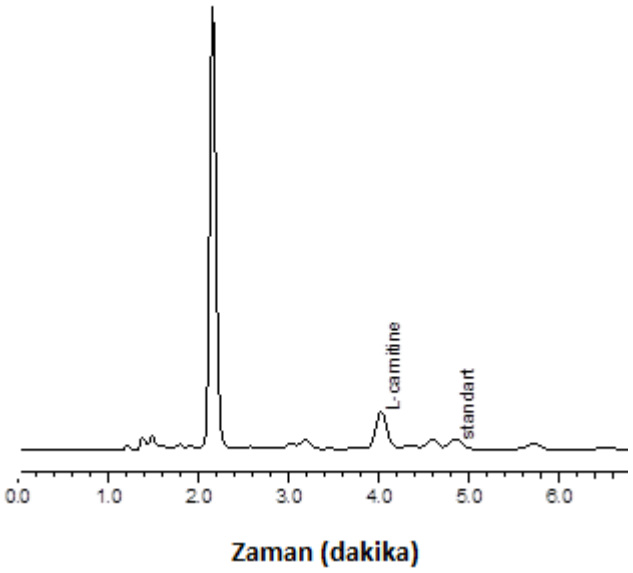
Araştırmada, ticari olarak tüketime sunulan farklı markaların peynir, yoğurt, süt numuneleri temin edildi. Toplam 90 numunede karnitin tayini yapıldı. Karnitin tayininden önce tüm numunelerin nem, kuru madde ve yağ tayini belirlendi. Beyaz peynir, kaşar peynir, UHT süt, pastörize süt, kase yoğurt, süzme yoğurt numunelerine ait serbest ve toplam karnitin kromatogramları sırasıyla Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7, Şekil 3.8, Şekil 3.9, Şekil 3.10, Şekil 3.11 ve Şekil 3.12'de gösterilmektedir.



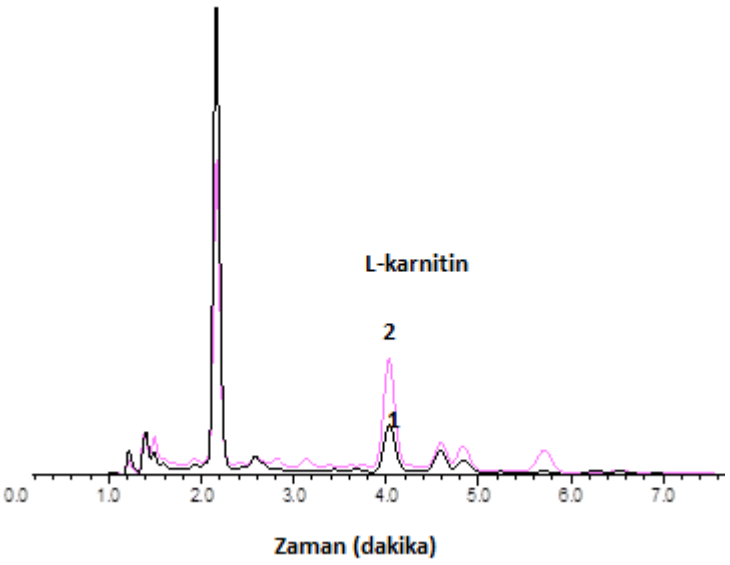
Şekil 3.1. Beyaz peynir serbest karnitin kromatogramı.



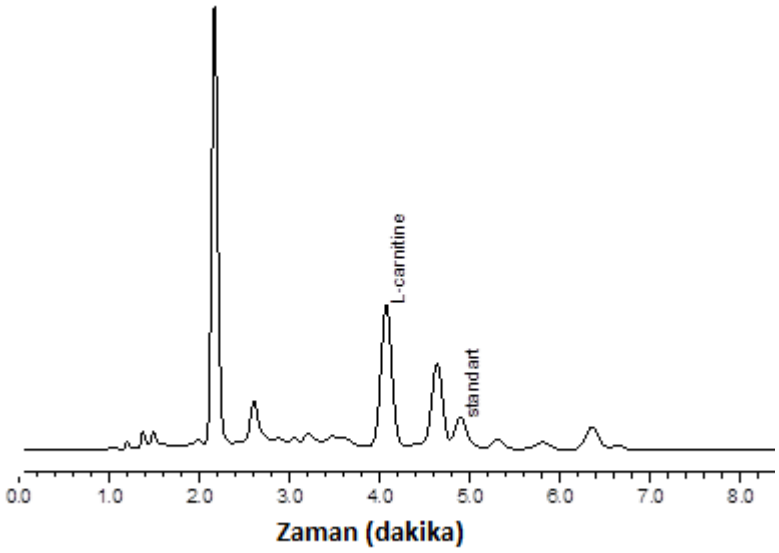
Şekil 3.2. Beyaz peynir 1. Serbest karnitin 2. Toplam karnitin kromatogramı.



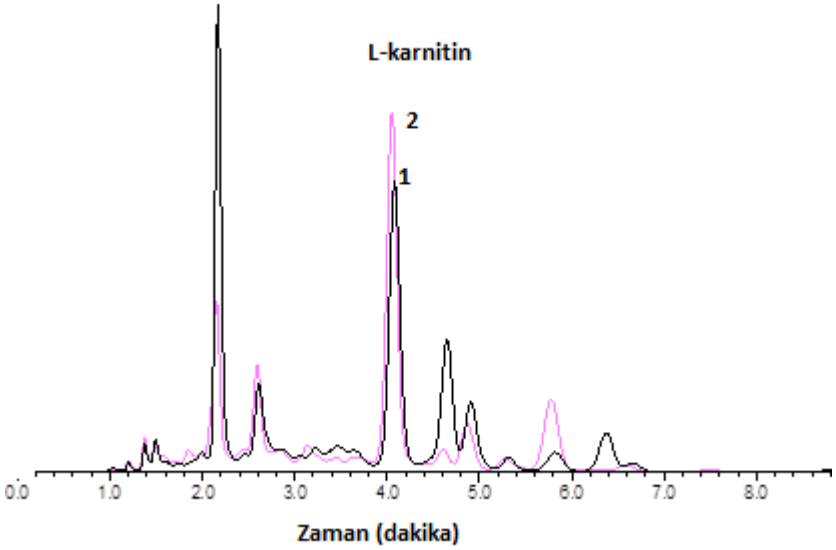
Şekil 3.3. Kaşar peynir serbest karnitin kromatogram.



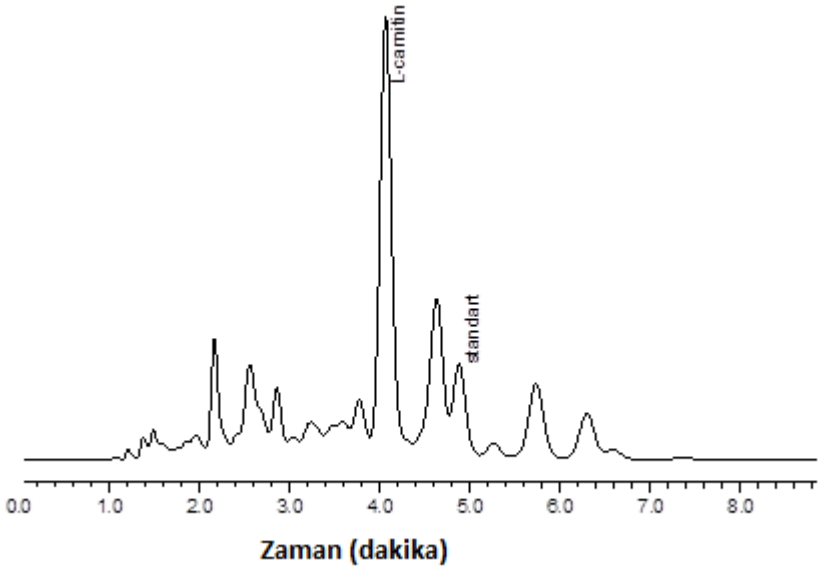
Şekil 3.4. Kaşar peynir 1. Serbest karnitin 2. Toplam karnitin kromatogram.



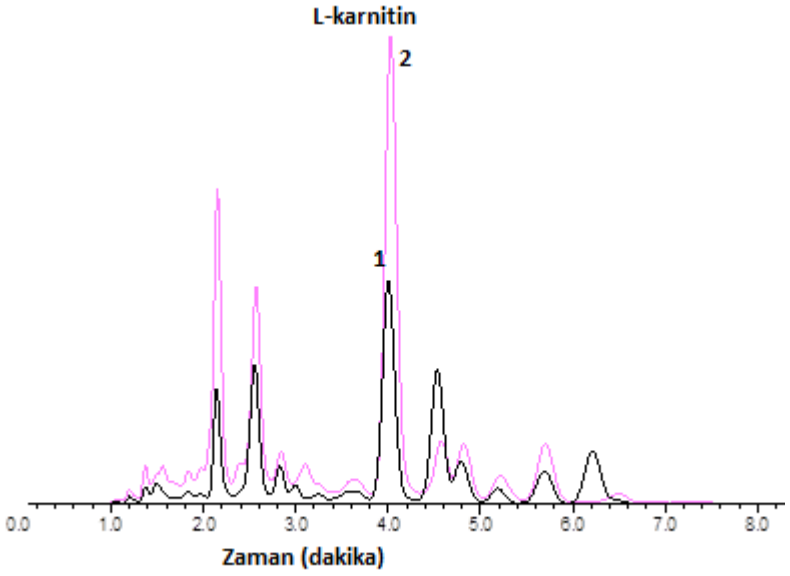
Şekil 3.5. UHT süt serbest karnitin kromatogramı.



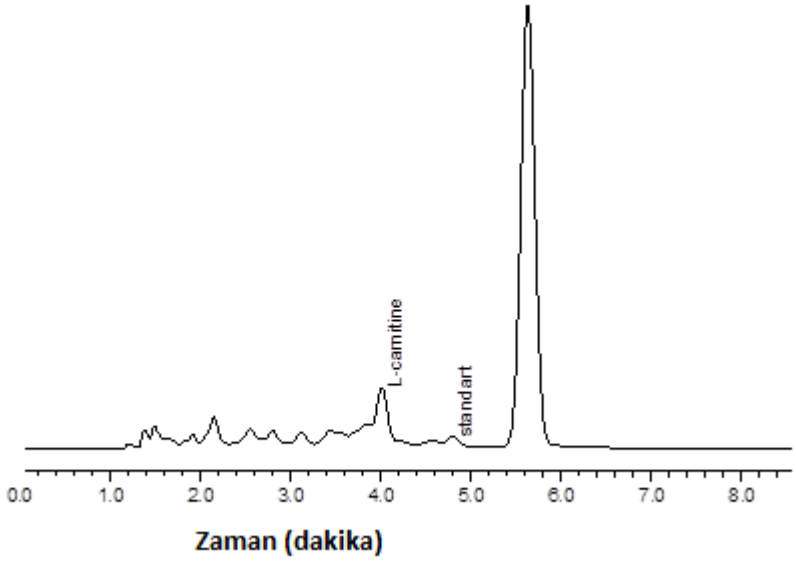
Şekil 3.6. UHT süt 1. Serbest karnitin 2. Toplam karnitin kromatogramı.



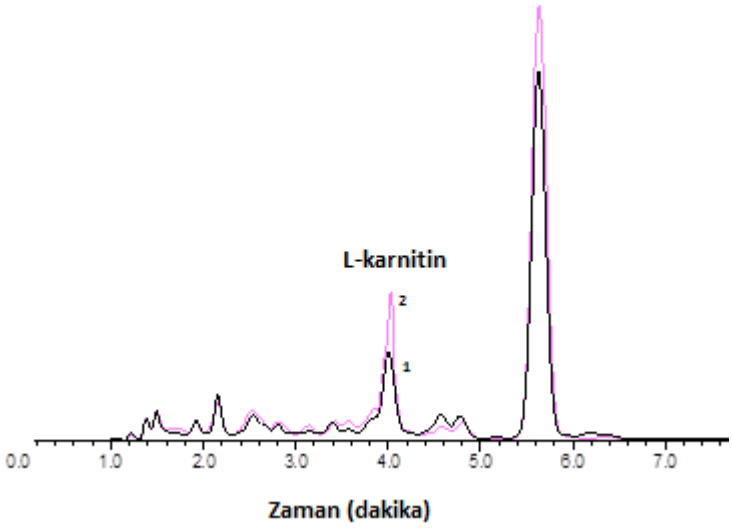
Şekil 3.7. Pastörize süt serbest karnitin kromatogramı.



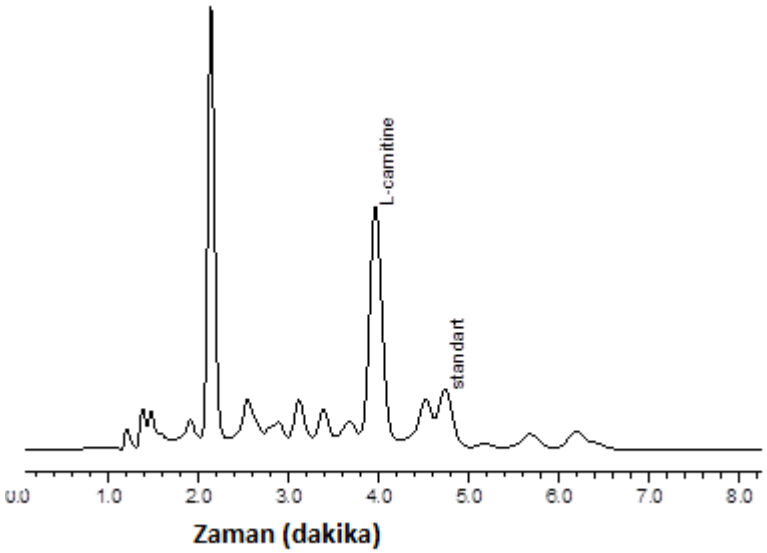
Şekil 3.8. Pastörize süt 1. Serbest karnitin 2. Toplam karnitin kromatogramı.



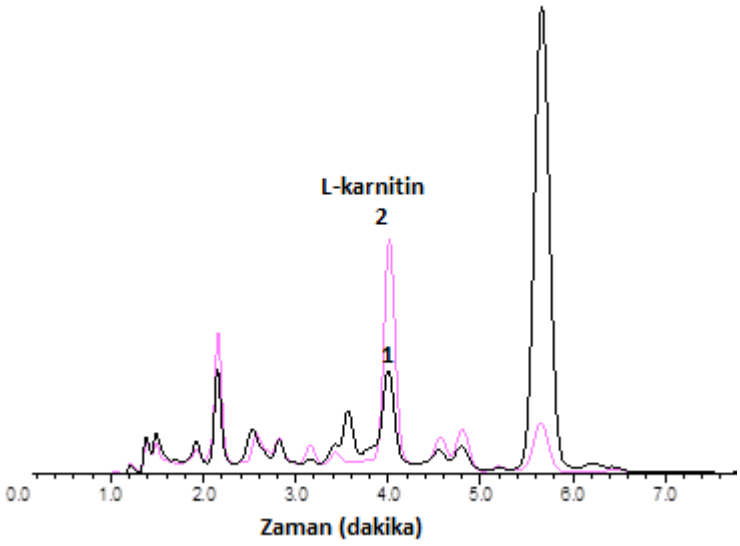
Şekil 3.9. Kase yoğurt serbest karnitin kromatogramı.



Şekil 3.10. Kase yoğurt 1. Serbest karnitin 2. Toplam karnitin kromotogramı.



Şekil 3.11. Süzme yoğurt serbest karnitin kromatogramı.



Şekil 3.12. Süzme yoğurt 1. Serbest karnitin 2. Toplam karnitin kromatogramı.

Çalışmada numunelerin peynir, yoğurt ve süt çeşitlerinde iki grup arasında ve çeşitler arasında istatistiki değerlendirme yapılmıştır. Numunelerde L-karnitin, kurumadde ve yağın istatistiksel değerlendirilmesi beyaz peynir ve kaşar peynir için Çizelge 3.1'de, kase yoğurt ve süzme yoğurt için Çizelge 3.2'de ve pastörize süt ve UHT süt için ise Çizelge 3.3'te gösterilmektedir. Ayrıca, süt ve süt ürünleri çeşitleri arasında ve ürün bazındaki istatistiksel değerlendirme de Çizelge 3.4 ve Çizelge 3.5'te gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. Beyaz peynir ve kaşar peynir numunelerinin L-karnitin, KM ve yağ düzeyleri bakımından karşılaştırılması.

		Ortalama ± standart hata	t	p
Serbest karnitin (mg/100g)	Beyaz peynir	0,32 ± 0,03	-4,636	<0,001
	Kaşar Peynir	0,46 ± 0,02		
Toplam karnitin (mg/100g)	Beyaz peynir	0,57 ± 0,05	-1,451	0,158
	Kaşar Peynir	0,65 ± 0,03		
Açil karnitin (mg/100g)	Beyaz peynir	0,25 ± 0,03	1,644	0,111
	Kaşar peynir	0,19 ± 0,03		
KM (%)	Beyaz peynir	40,72 ± 1,95	-6,698	<0,001
	Kaşar Peynir	56,44 ± 1,31		
Yağ (%)	Beyaz peynir	18,80 ± 2,13	-3,048	0,007
	Kaşar Peynir	25,83 ± 0,89		
KM de yağ (%)	Beyaz peynir	44,42 ± 3,49	-0,362	0,721
	Kaşar Peynir	45,76 ± 1,21		

n=15

Beyaz peynirde ortalama serbest karnitin 0,32 mg/100g belirlenirken kaşar peynirinde ise 0,46 mg/100g olarak tespit edilmiştir. İki grup arasındaki fark önemli($p<0,001$) bulunmuştur.Toplam karnitin bakımından bir farklılık gözlenmemiştir.

Çizelge 3.2. Kase yoğurt ve süzme yoğurtların L-karnitin, KM ve yağ düzeyleri bakımından karşılaştırılması.

		Ortalama ± Standart hata	t	p
Serbestkarnitin (mg/100g)	Kase yoğurt	0,47 ± 0,06	-2,043	0,053
	Süzme yoğurt	0,70 ± 0,10		
Toplam karnitin (mg/1000g)	Kase yoğurt	0,80 ± 0,05	-2,728	0,013
	Süzme yoğurt	1,15 ± 0,12		
Açil karnitin (mg/100g)	Kase yoğurt	0,33 ± 0,05	-1,849	0,075
	Süzme yoğurt	0,45 ± 0,04		
KM (%)	Kase yoğurt	16,33 ± 0,49	-7,243	<0,001
	Süzme yoğurt	23,88 ± 0,92		
Yağ (%)	Kase yoğurt	3,69 ± 0,19	-5,330	<0,001
	Süzme yoğurt	7,08 ± 0,61		

n=15

Kase yoğurtta serbest karnitin ortalama 0,47 mg/100g bulunurken, süzme yoğurtta bu oran 0,70 mg/100g bulunmuştur. İki grup arasındaki farklılık serbest karnitin için önemli değilken toplam karnitin açısından arasındaki fark önemli (p =0,013)bulunmuştur. Kurumadde ve yağ bakımından farklılığın önemli (p<0,001) olduğu da Çizelge 3.2'de görülmektedir.

Çizelge 3.3. UHT süt ve pastörize süt numunelerinin L-karnitin, KM ve yağ düzeyleri bakımından karşılaştırılması.

		Ortalama ± Standart hata	t	p
Serbest karnitin (mg/100g)	UHT süt	1,57 ± 0,02	16,924	<0,001
	Pastörize süt	1,07 ± 0,02		
Toplam karnitin (mg/100g)	UHT süt	2,19 ± 0,07	9,024	<0,001
	Pastörize süt	1,45 ± 0,05		
Açil karnitin (mg/100g)	UHT süt	0,62 ± 0,07	3,028	0,006
	Pastörize süt	0,38 ± 0,04		
KM (%)	UHT süt	12,25 ± 0,62	1,832	0,086
	Pastörize süt	11,09 ± 0,15		
Yağ (%)	UHT süt	2,89 ± 0,20	-1,948	0,069
	Pastörize süt	3,29 ± 0,06		

n=15

Pastörize süt ve UHT süt ürünleri arasında serbest karnitin (p<0,001) ve toplam karnitin (p<0,001) bakımından farklılık önemlidir. Numuneler arasında kurumadde ve yağ bakımından farklılık gözlenmemiştir.

Çizelge 3.4.Süt ve süt ürünlerinin karnitin düzeyleri bakımından karşılaştırılması.

		n	Ortalama* ± Standart hata	F	p
Serbest karnitin (mg/100g)	peynir	30	0,39a ± 0,02	112,71	<0,001
	yoğurt	30	0,58b ± 0,06		
	süt	30	1,32c ± 0,05		
	toplam	90	0,76 ± 0,05		
Toplam karnitin (mg/100g)	peynir	30	0,61a ± 0,03	93,46	<0,001
	yoğurt	30	0,97b ± 0,07		
	süt	30	1,82c ± 0,08		
	toplam	90	1,13 ± 0,06		

*farklı harfle gösterilen parametreler birbirinden farklıdır.

Peynir, yoğurt ve süt gruplar arasında serbest karnitin ($p<0,001$) ve toplam karnitin ($p<0,001$) bakımından farklılık önemli bulunmuştur.

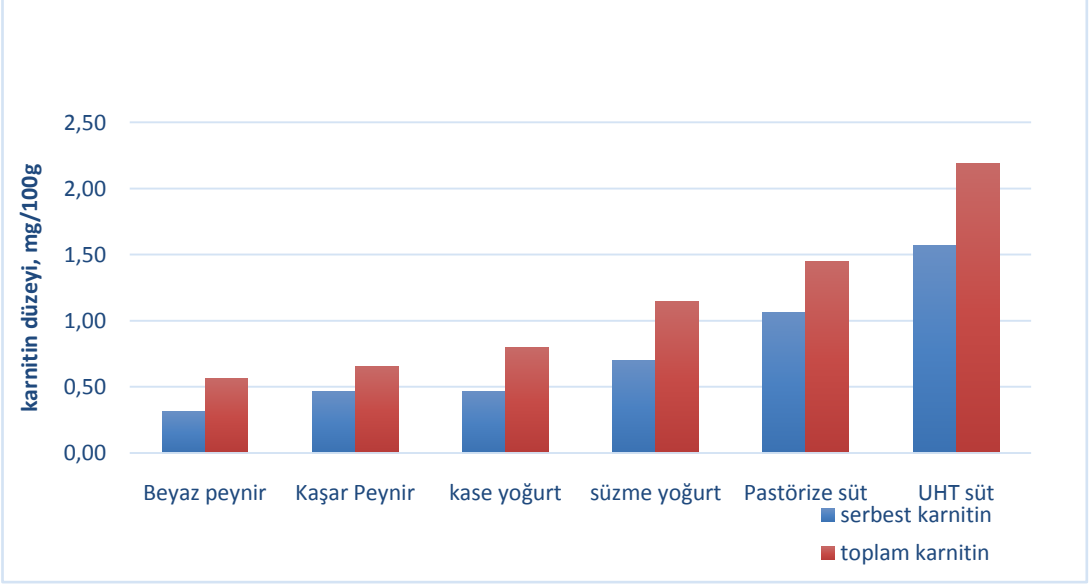
Çizelge 3.5.Süt ve süt ürünlerinin ürün bazında karnitin düzeyleri bakımından karşılaştırılması.

		N	Ortalama* ± Standart hata	F	p
Serbest karnitin (mg/100g)	Beyaz peynir	15	0,32ac ± 0,03	91,65	<0,001
	Kaşar Peynir	15	0,46bcd ± 0,02		
	Kase yoğurt	15	0,47abcd ± 0,06		
	Süzme yoğurt	15	0,70bcd ± 0,10		
	Pastörize süt	15	1,07e ± 0,02		
	UHT süt	15	1,57f ± 0,02		
	Total	90	0,76 ± 0,05		
Toplam karnitin (mg/100g)	Beyaz peynir	15	0,57abc ± 0,05	84,46	<0,001
	Kaşar Peynir	15	0,65abc ± 0,03		
	Kase yoğurt	15	0,80ab ± 0,05		
	Süzme yoğurt	15	1,15aef ± 0,12		
	Pastörize süt	15	1,45adef ± 0,05		
	UHT süt	15	2,19bcdef ± 0,07		
	Total	90	1,13 ± 0,06		

*farklı harfle gösterilen parametreler birbirinden farklıdır.

Süt ve süt ürünlerinin ürün bazında serbest ve toplam karnitin bakımından önemli ($p<0,001$) olduğu Çizelge 3.5'de görülmektedir.

Farklı markalardan tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinin ortalama serbest ve toplam karnitin düzeyleri şema halinde Şekil 3.13'te gösterilmiştir.



Şekil 3.13. Süt ürünlerine göre ortalama serbest ve toplam karnitin düzeyleri.

4. TARTIŞMA

Karnitin keşfedildikten sonra miktar tayini için bir dizi metot geliştirilmiştir. Bu metotlar daha çok kan plazması ve idrarda karnitin tayinlerinde kullanılmakta olup(Longo ve ark 1996, McEntry ve ark 2004, Johnson 2010, Pormsila ve ark 2011, Sowell ve ark 2011, Peng ve ark 2013),gıdalarda ve gıda takviyelerinde de karnitin tespit ve miktar çalışmaları mevcuttur (Prokoratova ve ark 2005, Seline ve Johein 2007, Rigault ve ark 2008, Starkey ve ark 2008, Pormsila ve ark 2010, Bodkowski ve ark 2011).

Biyolojik örneklerde karnitin düzeyini ölçmede kullanılan yöntemler farklı olup aynı üründe elde edilen sonuçlar da farklı olmaktadır. Bu araştırmada karnitin ve karnitin esterlerinin konsantrasyonlarını belirlemede etkin ve önemliolan floresan dedektör ile kombine edilmiş HPLC metodu kullanılmıştır. Kullanılan metot, Cao ve ark (2007) kan plazmasında karnitin ölçümü için uyguladığı ve gıdalarda da uygulanabileceğini belirttikleri HPLC metodu olup modifiye edilmiştir. Çalışmada endüstriyel olup tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinde serbest ve toplam karnitin düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

HPLC ile birkaç dakikada, çok düşük konsantrasyonlarda 20 pmol limitine kadar karnitin belirlenebilmektedir. Sistemde standart kromotografik kolon ve temin edilebilen uygun reaktifler kullanılmaktadır. (Bodkowski ve ark 2011). HPLC analizleri numunelerin geniş örneklem aralığında belirlenebilmesini sağlamaktadır. Bu durum seyreltme ve numunenin tekrar analiz ihtiyacını azaltmaktadır (Minkler ve Hoppel 1992).

Karnitin biyolojik sistemlerde serbest karnitin ve karnitin esterleri (açilkarnitin) formunda bulunmaktadır. Toplam karnitin, serbest ve açil karnitinlerin toplamıdır (Minkler ve ark 1987).

Numunelerin hazırlanmasında deproteinizasyon aşamasında birçok yöntem mevcuttur. Perklorik asit metodu, triklor asetik asit metodu, triklor asetik asit-eter ekstraksiyon metodu, çinko sülfat-baryum hidroksit metodu, ısı denatürasyon ve dondurup çözme metodu ve filtrasyon metodu gibi. Serdar (1996), karnitin ölçümü ve klinik uygulamaları çalışmasında deproteinizasyonda en başarılı yöntemi filtrasyon yöntemi olarak belirtmiştir. Diğer taraftan Seline ve Johein (2007)

çalışmasında, ısı uygulaması ile deproteinizasyonun diğer yöntemlere göre daha hızlı olduğunu, aşamaların son basamağındaki nötralizasyon işlemine gerek kalmadığını fakat çalışmada kesinlik ve duyarlılığı geliştiren numuneyi daha fazla seyreltme işleminin ise engellendiğini belirtmişlerdir.Çalışmada genellikle gıdalarda karnitin analizi için uygulanan perklorik asit ile presipitasyon işlemi uygulanmıştır (Mitchell ve Snyder 1991, Indyk ve Woollard 1995, Woolard ve ark 1997). Perklorik asit küçük moleküler yapısıyla kuvvetli asittir. Protein çöktürülmesinde kullanımı iyonik gücü ve asitliğinden kaynaklanmaktadır (Wan ve Hubbard 1998). Perklorik asit ekstraksiyonu, süpernatantta mevcut olan serbest karnitin ve kısa zincirli esterleri ile asitte çözünmeyen çökelek kısmında mevcut olan uzun zincirli karnitin esterleri arasında ayrılmayı sağlamaktadır. Orta zincirli açilkarnitin kritik çözünürlüğe sahiptir, dolayısıyla ekstraksiyonu standardize etmek zordur (Marzo ve Cardace 1990).

Araştırmada, UHT sütte ortalama serbest karnitin 1,57 mg/100g, toplam karnitin 2,19 mg/100g, pastörize sütte ortalama serbest karnitin 1,07 mg/100g ve toplam karnitin1,45 mg/100g olarak bulunmuştur. Serbest ve toplam karnitin bakımından pastörize süt ve UHT süt karşılaştırıldığında istatistiki açıdan farklılığın önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Numuneler arasında kurumadde ve yağ bakımından farklılık gözlenmemiştir.Benzer sonuçlar Hamamoto ve ark (1988b) tarafından UHT sütte serbest karnitin 1,34 mg/100g, toplam karnitin 2,56 mg/100g, pastörize sütte serbest karnitin 1,27 mg/100g, toplam karnitin 2,64 mg/100g olarak tespit etmişlerdir. Woollard ve ark (1997) çalışmalarında inek sütündeki serbest karnitin miktarını enzimatik yöntemle1,65 mg/100g, toplam karnitini ise 2,85 mg/100g olarak belirlemişlerdir.Diğer çalışmalarda, sütte toplam karnitin 2.1-5.8 mg/100g (130-360 nmol/g) olarak belirtilmiştir (La Count ve ark 1995, Woolard ve ark 1997). Erfle ve ark (1970) çalışmalarında inek sütünde serbest karnitini 0,998 mg/100ml, asetil karnitini 0,918 mg/100ml, ketoz ineklerde ise serbest 0,499 mg/100ml, asetil karnitin 3,530mg/100ml tespit etmişlerdir.

Indyk ve Woolard (1995) çalışmalarında çiğ sütte serbest karnitini 1,9 mg/100g, market sütlerinde 1,8 mg/100g olarak belirlemişlerdir. Demarquay ve ark (2004) sütte karnitini 2,3 mg/100ml, Pormsila ve ark (2010) ise oldukça farklı olarak sütte 10,1±1,1 mg/100g tespit etmişlerdir. Araştırmada içme sütlerinde belirlenen

karnitin değerleri, önceki çalışmaların sonuçları ile karşılaştırıldığında birçoğu ile benzerdir. Farklılıklar ise Seline ve Johein (2007) çalışmalarında ve diğer araştırıcılarda da belirtildiği gibi analitik metot farklılığından, numune hazırlama ve proses yöntem farklılıklarından kaynaklanmaktadır. Süt, pastörize ve UHT süte işlenirken homojenizasyon, standardizasyon, liyofilizasyon gibi temel işlemlere tabi tutulmaktadır. Bu işlemler sütteki karnitin düzeyini değiştirmektedir.

Deneysel numunelerden, beyaz peynirde ortalama serbest karnitin 0,32 mg/100g, toplam karnitin 0,57 mg/100g, kaşar peynirinde ise ortalama serbest karnitin 0,46 mg/100g, toplam karnitin 0,65 mg/100g olarak tespit edilmiştir. İki grup arasında serbest karnitin bakımından farklılık önemli ($p<0,001$) bulunmuştur. Demarquoy ve ark (2004) peynirde karnitini 1,8 mg/100 g olarak,Hamamoto ve ark (1988b) ise natural peynirde ise serbest karnitini 0,16 mg/100g, toplam karnitini 0,79 mg/100g belirlemişlerdir. Seline ve Johein (2007) çalışmalarında ise beyaz peynirde serbest karnitin 2,89 mg/100g, toplam karnitin ise 3,46 mg/100g olarak belirtmişlerdir. Araştırmada elde edilen veriler literatür verilerinden düşük tespit edilmiştir. Bu farklılık muhtemelen Seline ve Johein (2007) çalışmalarında da belirtildiği gibi peynir çeşitliliğinden, üretim farklılığından, kullanılan starter kültür ve olgunlaşma aşamasından kaynaklanabilir.Peynir depolama sürecinde suyun evaporasyonu ile kuru madde oranı ve L-karnitin konsantrasyonu artmaktadır.Beyaz peynir ve kaşar peynir karnitin düzeyleri arasındaki arasındaki farkılık ise ürün üretim proses farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kase yoğurtta ortalama serbest karnitin 0,47 mg/100g, toplam karnitin 0,80 mg/100g ve süzme yoğurtta ise ortalama serbest karnitin 0,70 mg/100g, toplam karnitin 1,15 mg/100g olarak bulunmuştur. Hamamoto ve ark (1988b) ise kase yoğurtta serbest karnitini 1,48 mg/100g, toplam karnitini 3,03 mg/100g belirlemişlerdir. Seline ve Johein (2007) çalışmalarında yoğurtta serbest karnitini 2,30 mg/100g, toplam karnitini 3,46 mg/100g olarak belirtmişlerdir.Ancak yoğurtlardaki karnitin düzeyi literatür verilerine göre daha düşük bulunmuştur. Bu durum yoğurt üretiminde yapılan tağşişlerden, süt yağının alınıp margarin katılması ile açıklanabilir. Seperasyon işlemi sütteki karnitini parçalayıp yapısını bozmaktadır. Diğer taraftan süt tozu karıştırılması ve eklenen mikrobiyal kültürler karnitin düzeyini etkilemektedir (Seline ve Johein 2007). Kase yoğurt ve süzme yoğurt arasındaki farklılık ise ürün üretim proses farklılığından kaynaklanabilmektedir.

Süt ve süt ürünleri arasında karnitin düzeyleri karşılaştırıldığında farklılığın önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$). Peynirde, sütten daha az karnitin düzeyi ölçülmüştür. Bu durum; Seline ve Johein (2007) çalışmalarında da belirtildiği gibi, peynir üretimi sırasında gerçekleşen pıhtılaşma ve süzme işlemleri sonucunda karnitinin peynir altı suyuyla uzaklaştığı gerekçesi ile açıklanmaktadır. L-karnitin hidrofilik özellik göstermesi sebebiyle peyniraltı suyunda, peynirden daha fazla bulunmaktadır.

Süt ürünlerine süt tozu, starter kültür karıştırılması, tereyağ ve peynir ürünlerine uygulan işlemler sütteki karnitini ayrıştırmakta ve düzeyini değiştirmektedir. Sütteki karnitin içerikleri, süte aynı üretim prosesleri uygulanmış olsa bile değişken olabilmektedir. Süt ve süt ürünlerindeki L-karnitin konsantrasyonu, ürün çeşidine göre, yağ içeriğine göre ve sütün elde edildiği hayvan türü, metabolizması, laktasyon durumu ve sayısına göre de değişmektedir. Laktasyon dönemi ilerledikçe karnitin miktarı azalmaktadır (Woollard ve ark 1999, Seline ve Johein 2007).

Karnitin suda çözünür olduğundan gıdaya herhangi nemli bir ısıl işlem uygulamasıyla serbest karnitin kaybıyla karşılaşılması kaçınılmazdır. Yüksek kuru ısı uygulaması ise, karnitin ve açil türevlerinin yapısını bozmaktadır(Mitchell 1978).

Tam yağlı sütten kaymağın ayrılma işleminin sonucu, bazı kısa ve uzun zincirli karnitin türevlerininde uzaklaşabileceği beklenmektedir (Mitchell 1978).

Besinlerdeki karnitin konsantrasyonu protein kaynağına bağlıdır. Soya protein izolatı, kazein, yumurta akı gibi protein kaynaklarında 4 nmol/ml veya daha az karnitin bulunmuştur (Borum ve ark 1979).

Analiz sonuçlarında bazı örneklerde literatürlere göre toplam karnitin düşük bulunmuştur. Tüm karnitin esterlerinin hidrolizasyounun tamamlanması için kuvvetli bir alkali kullanılmalıdır. Analizde 6 M KOH kullanılmıştır. Prieto ve ark (2006) çalışmalarında da belirtildiği gibi bu durum perklorik asitin yükseltgen oluşu ve açil karnitinleri protein çökelti içinde hapsederek uzaklaştırmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca hidrolizasyon sırasında karnitin tahrip olabilmektedir (McEntry ve ark 2004).

Peyniraltı suyuna uygulanan ultrafiltrasyon işlemi karnitin konsantrasyonunu düşürmektedir. Ultrafiltrasyon uygulanmadan spray drying yöntemi ile hazırlanan peyniraltı suyu tozlarında daha fazla karnitin içerdiği tespit edilmiştir (Indyk ve Woollard 1995, Woollard ve ark 1999).

Sonuç olarak uygulamanın süt ve süt ürünlerinde karnitin belirlenmesi için uygun ve yeterli olduğunu göstermiştir.Farklı örnekler, analitik metodlar, örnek hazırlamalar ve proses basamaklarından dolayı çalışmalarda sütte, yoğutta ve peynirlerde karnitin içerikleri değişken olmaktadır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sağlıklı insanlar, dengeli ve düzenli beslenirlerse karnitin ihtiyaçlarını karşılayabilmektedirler. Ancak bebeklerde özellikle soya bazlı mamalarla beslenenlerde, uzun dönem paranteral beslenmede, fiziksel stress altında, hamilelerde, sporcularda plazma karnitin konsantrasyonları düşüktür. Bu tip insanlarda karnitin yetersizliği oluşabilmektedir. Yetersizliğinde özellikle lipid metabolizmasının bozulmasına ve yetersiz enerji kazanımına bağlı olarak önemli metabolik ve klinik bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla gıdalardaki karnitin içeriklerinin bilinmesi oldukça önem kazanmaktadır.

Sonuç olarak,beslenmede oldukça önemli bir yere sahip olan süt ve süt ürünlerindeki L-karnitin düzeyleri hakkında detaylı bilgi edinildi. Süt ve süt ürünlerinin, bireyler için belirlenen günlük karnitin ihtiyacını (0,3-1,9 mg/kg) önemli ölçüde karşıladığıve sağlıklı ve dengeli beslenmede süt ve süt ürünlerinin tüketilmesinin içerdiği L-karnitin düzeyi bakımındanda önemini koruduğu sonucuna varıldı.Ayrıca belirtilmelidir ki L-karnitin besin takviyesi olarak satılmaktadır. Ancak gıdalardan alınan karnitinin biyoyararlılığı oldukça yüksektir. Bu bağlamda çeşitli gıdalardaki karnitin düzeyleri için detaylı çalışmalara ve özellikle işlenmiş gıdalardaki karnitin düzeylerinin belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Süt ve Süt Ürünlerinde Karnitin Düzeyleri

Rabia Serpil GÜNHAN

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2014

Bu çalışma, önemli bir biyoaktif bileşik olan L-karnitinin, Türkiye'de tüketime sunulan süt ve süt ürünlerindeki düzeylerini tespit etmek amacıyla yapıldı. Çalışmada,marketlerdenfarklı 15 UHT süt, 15 pastörize süt, 15 kase yoğurt,15 süzme yoğurt, 15 beyaz peynir ve15 kaşar peynir numune olarak alındı. L-karnitin konsantrasyonu HPLC- floresan dedektör ile ölçüldü.

Analiz sonuçlarına göre UHT sütte ortalama serbest karnitin 1,57 mg/100g, toplam karnitin 2,19 mg/100g; pastörize sütte ortalama serbest karnitin 1,07 mg/100g ve toplam karnitin1,45 mg/100g olarak, beyaz peynirde ortalama serbest karnitin 0,32 mg/100g, toplam karnitin 0,57 mg/100g; kaşar peynirinde ise ortalama serbestkarnitin 0,46 mg/100g, toplam karnitin 0,65 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Ayrıca kase yoğurtta ve süzme yoğurtta sırasıyla ortalama serbest karnitin 0,47 mg/100g; 0,70 mg/100g ve toplam karnitin 0,80 mg/100g;1,15 mg/100g olarak belirlendi.

İstatistiki değerlendirmede, beyaz peynir ve kaşar peynir grupları arasında serbest karnitin açısından fark önemli bulundu ($p<0,001$). Kase yoğurt ve süzme yoğurt arasındaki farklılık serbest karnitin için önemli değilken toplam karnitin açısından fark önemlidir ($p=0,013$). Pastörize ve UHT sütleri arasında ise serbest ve toplam karnitin bakımından farklılık önemlidir($p<0,001$). Ayrıca ürün grupları ve ürün çeşidi bazındaserbest ve toplam karnitin bakımından farklılığın önemli olduğu tespit edildi ($p<0,05$).

Sonuç olarak beslenmede oldukça önemli bir yeri olan süt ve süt ürünlerinin karnitin konsantrasyonlarının farklı olduğu ve tespit edilen karnitin düzeylerinin bireylerin günlük karnitin ihtiyacını karşılamada önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Floresans dedektör; HPLC;karnitin; süt; süt ürünleri

7. SUMMARY

Carnitine Levels in Milk and Milk Products

In this study the aim was to determine the levels of L-carnitine in the milk and milk products consumed in Turkey. For this purpose, 15 different of the UHT milk, 15 pasteurized milk, 15 bowl of yoghurt, 15 strained yogurt, 15 feta cheese, 15 cheddar cheese were taken as samples from markets. L-carnitine concentrations were measured by HPLC-fluorescence detector.

According to the analysis results,the mean level of freecarnitineinUHTmilk as1,57mg /100g, totalcarnitine as 2,19mg /100g, the mean level of free carnitineinpasteurized milk as 1,07mg /100gandthetotalkarnitin as 1,45mg /100g were determined. As for the mean level of free carnitine in whitecheese as0,32mg/100 g, totalcarnitine as 0,57mg /100g and the mean level of free in kasharcheese as0,46mg/100 g, totalcarnitine as 0.65mg/100 gwere determined. Furthermore,the mean level of freecarnitineinbowlyoghurt and in strained yoghurt was respectively determined as 0,47mg/100g, 0,70mg/100 g and also for the mean level of totalcarnitine as 0,80mg /100g,1,15mg /100g.

In statistical evaluation, the difference between the groups of white and kashar cheese in terms of free carnitinewas found significant($p < 0.001$). While the difference between bowl and strained yogurtfor free carnitine was not important, the differencein terms of totalcarnitine was significant ($p = 0.013$).As for between pasteurizedand UHT milk, the difference in terms of free and total carnitine were significant ($p < 0.001$).In addition,differences in terms offree and totalcarnitinewere determinedto be significant($p < 0.05$) in productgroups and in some types of products.

Consequently,it was concludedthatmilk and milk productshaving a great place innutritionhave differentconcentrations ofcarnitineandthecarnitine levelsdetectedwere found tobe importantfor meeting the individuals' needsof dailycarnitine.

Keywords: Fluorescence dedector; HPLC; carnitine; milk; milk products

8. KAYNAKLAR

1.Alhomida AS. Total, free, short-chain and long chain acyl carnitine levels in Arabian camel milk. Ann Nutr Metab. 1996; 40(4): 221-226.

2.Almobadel NS. Total, free, short and long chain acyl carnitine concentration in patients with stable coronary artery disease. King Saud University Department of Biochemistry. Yüksek lisans tezi. 2005, Riyadh, Saudi Arabia.

3.Bodkowski R, Pekala J, Patkowska-Sokola B, Jamroz D, Steininger M, Lochynski S, Dobrzanski Z, Nowakowski P. Applications of enzymatic methods and liquid chromatography (HPLC) for determination of carnitine content in milk and meat, In: Szoltysik M, Dabrowska A, ed. New Trends in Food Analytics. Wroclaw. 2011; 63-73.

4.Borum PR, York CM, Broquist HP. Carnitine content of liquid formulas and special diets. Am J Clin Nutr. 1979; 32(11): 2272-2276.

5.Brady PS, Ramsay RR, Brady LJ. Regulation of the long-chain carnitine acyltransferases. The FASEB Journal. 1993; 7(11): 1039-1044.

6.Bremer J. Carnitine- metabolism and functions. Physiological Reviews. 1983; 63(4): 1420-1483.

7.Broad E, Bolger C, Galloway S. Dietary carnitine intake and carnitine status in endurance-trained males. Nutrition & Dietetics. 2006; 63: 148-154.

8.Campoy C, Bayes R, Peinado JM, Rivero M, Lopez C, Molina-Font JA. Evaluation of carnitine nutritional status in full term newborn infants. Early Hum Dev. 1998; 53: 149-164.

9.Cao Q-R, Ren S, Park M-J, Choi Y-J, Lee B-J. Determination of High Soluble L-Carnitine in Biological Samples by Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography with Fluorescent Derivatization. Arch Pharm Res. 2007; 30(8): 1041-1046.

10. Cao Y, Hao C, Wang C, Li P, Wang L, Guan H, Li H. Urinary excretion of L-carnitine, acetyl-L-carnitine, propionyl-L-carnitine and their antioxidant activities after single dose administration of L-carnitine in healty subjects. Braz J Pharm Sci. 2013; 49:185-191.

11. Cao Y, Qu H, Li P, Wang C, Wang L, Han Z. Single döşe administration of L-carnitine improves antioxidant activities in healty subjects. Tohoku J Exp Med. 2011; 224: 209-213.

12. Cao Y, Wang Y, Liu C, Wang L, Han Z, Wang C. Comparison of pharmacokinetics of L-carnitine, acetyl-L-carnitine and proponyl-L-carnitine after single oral administration of L-carnitine in healty volunteers. Clin Invest Med. 2009; 32 (1): 13-19.

13. Cho SW. Cha YS. Pregnancy increases urinary loss of carnitine and reduces plasma carnitine in Korean women. Br J Nutr. 2005; 93: 685-691.

14. Crill CM, Storm MC, Christenssen ML, Hankins CT, Jenkins MB, Helms RA. Carnitine supplementation in prematüre neonates: effect on plasma and red blood cell total carnitine concentrations, nutrition parameters and morbidity. Clinical Nutrition. 2006; 25: 886-896.

15.Çitil M. Veteriner Hekimlikte Karnitin (Carnitine). Kafkas Univ Vet Fak Derg 2002; 8(1): 77-82.

16. Dabrowska M, Starek M. Analytical approaches to determination of c arnitine in biological materials, foods and dietary supplements. Food Chemistry. 2014; 142: 220-232.

17. Dayanand CD, Krishnamurthy N, Ashakiran S, Shashidhar KN. Carnitine: A novel health factor-An overview. Int J Pharm Biomed Res. 2011;2(2): 79-89.

18. Demarquoy J, Georges B, Rigault C, Royer MC, Clairet A, Soty M, Lekounoungou S, Borgne FL. Radioisotopic determination of l-carnitine content in foods commonly eaten in Western countries. Food Chemistry. 2004; 86:137-142.

19. Deniz G. Karnitin: sentez, metabolizma, fonksiyon ve iskemik kalpte terapötik önemi. T Klin J Med Sci. 1999; 19: 55-62.

20. Doğan M, Kayacıer A, Yetim H. L-karnitinin insan sağlığı ve beslenmesindeki önemi. 3. Gıda Müh. Kongre Kitabı. 585-598, 2003, Ankara.

21. Eder K. Influence of L-carnitine on metabolism and performance of sows. Br J Nutr. 2009; 102: 645-654.

22. Erfle JD, Fisher LJ, Sauer F. Carnitine and acetylcarnitine in the milk of normal and ketotic cows.J Dairy Sci. 1970; 53: 486-489.

23. Erfle JD, Sauer FD, Fisher LJ. Interrelationships between milk carnitine and blood and milk components and tissue carnitine in normal and ketotic cows. J Dairy Sci. 1973; 57(6): 671-676.

24. Erkin B. Deneysel ülser modellerinde L-karnitinin gastrik mukozayı koruyucu etkisi. Yüksek lisans tezi Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2005, Edirne.

25. Evans AM, Fornasini G. Pharmacokinetics of L-carnitine. Clin Pharmacokinet. 2003; 42(11): 941-967.

26. Ferreira IMPLVO. Quantification of non-protein nitrogen components of infant formulae and follow-up milks: comparison with cows' and human milk. Br J Nutr. 2003; 90: 127-133.

27. Hamamoto M, Shimoda K, Matsuura N, Matsuura H. A method for the fractionation and determination of carnitines in milk and milk products. J Jpn Soc Nutr Food Sci. 1988a; 41: 389- 395.

28. Hamamoto M, Shimoda K, Matsuura N, Matsuura H. Determination of free, short-chain acyl and long-chain carnitines in milk and milk products. J Jpn Soc Nutr Food Sci. 1988b; 41: 397- 404.

29. Harmeyer J. The Physiological role of L-carnitine. Lohmann Information. 2002; 27.

30. Hayran M, Hayran M. Sağlık Araştırmaları için Temel İstatistik. Ankara, Art Ofset Matbaacılık Yayıncılık Organizasyon Ltd Şti.2011; 421.

31. Indyk HE, Woollard DC. Enzymatic determination of free carnitine in milk and infant formulas. Journal of AOAC International. 1995; 78:69-74.

32. International Dairy Federation. Milk and milk products. Determination of fat content. General guidance on the use of butyrometric. 1991;International Provisional IDF Standart 152.

33.Işıl Y. Ktomotografide iç standart tekniği. Gıda. 1985; 2: 105-110.

34. Janssens GPJ, De Rycke H, Hesta M, De Wilde ROM. Analysis of carnitine, betaine, γ-butyrobetaine and separate short chain acylcarnitines in pigeon plasma, crop milkand tissues by HPLC coupled with UV-detection. Biotechnol Techniques. 1999; 12:231-234.

35. Johnson DW. An acid hydrolysis method for quantification of plasma free and total carnitine by flow injection tandem mass spectrometry. Clin Biochem. 2010; 43: 1362-1367.

36. Jones LL, McDonald DA, Borum PR. Acylcarnitines: Role in brain. Prog in Lipid Res. 2010; 49: 61-75.

37. Keller U, Van der Wal C, Seliger G, Scheler C, Röpke P, Eder K. Carnitine status of pregnant women: effect of carnitine supplementation and correlation between iron status and plasma carnitine concentration. Eur J Clin Nutr. 2009; 63: 1098-1105.

38. Kerner J, Froseth JA, Miller ER, Bieber LL. A study of the acylcarnitine content of sows' colstrun, milk and newborn piglet tissues: demonstration of high amounts of ısovaleryl-carnitine in colostrum and milk. J Nutr. 1984; 114: 854-861.

39. Khan-Siddiqui L, Bamji MS. Plasma carnitine levels in adult males in India: effects of high cereal, low fat diet, fat supplementation and nutrition status. Am J Clin Nutr. 1980; 33: 1259-1263.

40. Koç Y, Ünsal A, Sakacı T, Baştürk T, Yılmaz M, Ahbap E, Eren N, Ciğerli Ş. L-karnitin tedavisi hemodiyaliz hastalarında rutin olarak kullanılmalı mı? Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi. 2010; 19: 29-34.

41. Kohlmeier M. Nutrient Metabolism; Structures, Functions and Genetics. First edition. London, Acedemic Press, 2003;432-439.

42. Krascovicova-Kudlackova M, Simoncic R, Bederova A, Babinska K, Beder I. Correlation of carnitine levels to methionine and lysine intake. Physiol Res. 2000; 49: 399-402.

43. Kurt Ö, El SN. Biyoaktif bir gıda bileşeni L-karnitin: beslenme ve sağlık açısından önemi ve biyoyararlılığı. Tübav Bilim Dergisi. 2011;4 (2): 97-102.

44. La Count DW, Drackley JK, Weigel DJ. Responses of dairy cows during early lactation to ruminal or abomasal administration of L-carnitine. J Dairy Sci. 1995; 78: 1824-1836.

45.Lİ K, Li W, Huang Y. Determination of free L-carnitine in human seminal plasma by high performance liquid chromatography with pre-column ultraviolet derivatization and its clinical application in male infertility. Clinica Chimica Acta. 2007; 378: 159-163.

46. Li K, Sun Q. Simultaneous determination of free and total carnitine in human serum by HPLC with UV detection. J Chromotogr Sci. 2010; 48: 371-374.

47. Lohninger S, Strasser A, Bubna-Littitz H. The effect of L-carnitine on T-mazze learninig ability in aged rats. Archieves of Gerontology and Geriatrics. 2001; 32: 245-253.

48. Longo A, Bruno G, Curti S, Mancinelli A, Miotto G. Determination of L-carnitine, acetyl—L-carnitine and propyionyl-L-carnitine in human plasma by high-performance liquid chromatography after pre-column derivatization with 1-aminoanthracene. J Chromatogr B. 1996; 686: 129-139.

49. Mansour FR, Wei WJ, Danielson ND Separation of carnitine and acylcarnitines in biological samples: a review. Biomed Chromatogr. 2013; 27: 1339-1353.

50. Marzo A, Cardace G. Chromotographic and non- chromotographic assay of L-carnitine family components. J Chromotogr. 1990; 527: 247-258.

51. Marzo A, Curti S. L-carnitine moiety assay: an up-to-date reappraisal covering the commonest methods for various applications. J Chromatogr B. 1997; 702: 1-20.

52. McEntry CJ, Lever M, Storer MK. A high performance liquid chromatographic method fort he measurement of total carnitine in human plasma and urine. Clinica Chimica Acta. 2004; 344: 123-130.

53. Merdol TK, Baş M, Kızıltaş G, Şensoy F, Şeker E, Dağ A, Tek NA. Genel Beslenme. TC. Anadolu Ü. Yayın No 2768. 1. Baskı. Eskişehir, Ocak 2013.

54. Minkler PE, Hoppel CL. Determination of free carnitine and total carnitine in human urine: derivatization with 4'-bromophenacyl trifluoromethanesulfonate and high performance liquid chromatography. Clinica Chimica Acta. 1992; 212: 55-64.

55. Minkler PE, Hoppel CL. Quantification of free carnitine, ındividual short and medium-chain acylcarnitines, and total carnitine in plasma by high- performance liquid chromatography. Anal Biochem. 1993; 212: 510-518.

56. Minkler PE, Ingalls ST, Hoppel CL. Determination of total carnitine in human urine by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr. 1987; 420:385-393.

57. Minkler PE, Ingalls ST, Hoppel CL. Strategy for the isolation, derivatization, chromotographic seperation, and detection of carnitine and acylcarnitines. Anal Chem. 2005; 77: 1448-1457.

58. Mitchell ME, Snyder EA. Dietary carnitine effects on carnitine concentrations in urine and milk in lactating women. Am J Clin Nutr. 1991; 54: 814-20.

59. Mitchell ME. Carnitine metabolism in human subjects I. normal metabolism. Am J Clin Nutr. 1978; 31: 293-306.

60.Möder Mi Kieβling A, Löster H. Current methods for determination of L-carnitine and acylcarnitine. Monatsefte für Chemie. 2005; 136: 1279-1291.

61. Odabaşı D. L-karnitinin rat aortik iskemi-reperfüzyon modelinde akciğer ve endotel hasarı üzerine etkisi. Uzmanlık tezi. Süleyman Demirel Ü. Tıp Fak. Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı.2006, Isparta.

62. Okamoto M, Ueno Y. Is sudden death with vitamin C deficiency caused by lack of carnitine. J Clin Forensic Med. 2006; 13: 26-29.

63.Özçelik H, Yalçın S. Broyler rasyonlarında karnitin kullanımı. Veteriner Tavukçuluk Derneği. 2009; 7(1): 16-24.

64.Özenoğlu A, Uğurlu S, Eker E. Bipolar bozukluk farmakoterapisi ile gelişen metabolik bozukluklar: karnitin eksikliğinin rolü? Vaka sunumu. 7. Ulusal Biyolojik Psikiyatri Kongresi. Edirne. 2009; 202-209.

65. Panjwani U, Thakur L, Anand JP, Singh SN, Singh SB, Banerjee PK. Effect of L-carnitine supplementation on endurance exercise in normobaric/normoxic and hypobaric/hypoxic conditions. Wilderness and Environmental Medicine. 2007; 18; 169-176.

66. Peng M, Liu L, Jiang M, Liang C, Zhao X, Cai Y, Sheng H, Ou Z, Luo H. Measurement of free carnitine and acylcarnitine in plasma by HILIC-ESI-MS/MS without derivatization. J Chromatogr B. 2013; 932: 12-18.

67. Penn D, Dolderer M, Schmidt-Sommerfeld E. Carnitine concentrations in the milk of different species and infant formulas. Biol Neonate. 1987; 52: 70-79.

68. Pormsila W, Krahenbühl S, Hauser PC. Determination of carnitine in food and food supplements by capillary electropheoresis with contactless conductivitiy detection. Electrophoresis, 2010; 31: 2186-2191.

69. Pormsila W, Morand R, Krahenbuhl S, Hauser PC. Capillary electrophoresis with contactless conductivity detection fort he determination of carnitine and acylcarnitines in clinical samples. J Chromatogr B. 2011; 879: 921-926.

70. Prieto JA, Andrade F, Aldamiz-Echevarrıa L, Sanjurjo P. Determination of free and total carnitine in plasma by an enzymatic reaction and spectrophotometric quantification spectrophotometric detrmination of carnitine. Clin Biochem. 2006; 39: 1022-1027.

71. Prokoratova V, Kvasnicka F, Seccik R, Voldrich M. Capillary electrophoresis detrmination of carnitine in food supplements. J Chromatogr A. 2005; 1081: 60-64.

72. Rebouche CJ, Chenard CA. Metabolic fate of dietary carnitine in human adults: identification and quantification of urinary and fecal metaboites. J Nutr. 1991; 121(4): 539-46.

73. Rebouche CJ. Ascorbic acid and carnitine biosynthesis. J Clin Nutr. 1991; 54: 1147-1152.

74. Rebouche CJ. Kinetics, pharmacokinetics and regulation of L-carnitine and acety-L-carnitine metabolism. Ann NY Acad Sci. 2004; 1033: 30-41.

75. ReboucheCJ. Carnitine function and requirements during the life cycle. FASEB J. 1992, 6: 3379-3386.

76. Ribas GS, Manfredini V, Mari JF, Wayhs CY, Vanzin CS, Biancini GB, Sitta A, Deon M, Wajner M, Vargas CR. Reduction of lipid and protein damage in patients with disorders of propionate metabolism under treatment: a possible protective role of L-carnitine supplementation. Int J Devl Neuoroscience. 2010; 28: 127-132.

77. Rigault C, Mazue F, Bernard A, Demarquoy J, Le Borgne F. Changes in L-carnitine content of fish and meat during domestic cooking. Meat Science. 2008; 78: 331-335.

78. Roy MJ, Dionne S, Marx G, Qureshi I, Sarma D, Levy E, SEidman EG. In vitro studies on the inhibition of colon cancer by butyrate and carnitine. Nutrition. 2009; 25: 1193-1201.

79. Seline KG, Johein H. The determination of l-carnitine in several food samples. Food Chemistry. 2007;105:793-804.

80. Serdar MA. Karnitin ölçümü ve klinik uygulamaları. Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klnik Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 1996.

81. Seong SH, Cho SC, Park Y, Cha YS. L-Carnitine-supplemented parenteral nutrition improves fat metabolism but fails to support compensatory growth in prematüre Korean infants. Nut Res. 2010; 30: 233-239.

82. Shimada K, Sakuma Y, Wakamatsu J, Fukushima M, Sekikawa M, Kuchida K, Mikami M. Species and muscle differences in L-carnitine levels in skeletal muscles based on a new simple assay. Meat Science. 2004; 68: 357-362.

83. Siliprandi N, Sartorelli L, Ciman M, Lisa FD. Carnitine: metabolism and clinical chemistry. Clinica Chimica Acta. 1989; 183: 3-12.

84. Sitta A, Barschak AG, Deon M, Mari JF, Barden AT, Vanzin CS, Biancini GB, Schwartz IVD, Wajner M, Vargas CR. L-carnitine blood levels and oxidative stress in treated phenylketonuric patients. Cell Mol Neurobiol. 2009; 29; 211-218.

85. Sowell J, Fuqua M, Wood T. Quantification of total and free carnitine in human plasma by hydrofilic interaction liquid chromatography tandem mass spectrometry. J Chromatogr Sci. 2011; 49: 463-468.

86. Stadler DD, Bale JF, Chenard CA, Rebouche CJ. Effect of long-term valproik acid administration on the efficiency of carnitine reabsorption in humans. Metabolism. 1999; 48(1): 74-79.

87. Starkey DE, Denison JE, Seipelt CT, Jacobs WA. Single-Laboratory Validation of a liquid Chromatographic/Tandem Mass Spectrometric method for the determination of free and total carnitine in infant formula and raw ingredients. Journal of AOAC International. 2008; 91:130-142.

88. Steiber A, Kerner J, Hoppel CL. Carnitine: a nutritional, biosynthetic and functional perspective. Mol Aspects Med. 2004; 25: 455-473.

89.Şen S, Sarıkaya A, Gümüştaş K. Kısa ve uzun süreli L-karnitin tedavisinin diyaliz hastalarındaki kas metabolizmasına etkileri. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi. 1999; 4: 182-187.

90.Şen S, Yüksel M. L-carnitin Tedavisinin hemodiyaliz ve periton diyalizi hastalarında eritrosit yaşam süresine etkisi. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi. 1999; 3: 118-123

91.Şıktar E. Hipertemik ve hipotermik su sıcaklıklarında yorucu yüzme egzersizi yapılan ratlarda L-karnitinin ve termal stresin serbest radikal ve antioksidan düzeylerine etkisi. Gazi Ü. Sağlık Bilimler Ens. Doktora tezi. 2008, Ankara.

92. Tanphaichitr V, Pakpeankitvatana R. Effects of dietary protein intake on carnitine status in Thai men. Nut Res. 2001; 21: 31-39.

93. Taşbozan O, Gökçe MA. L-karnitin ve akuakültürde kullanımı. Ulusal Su Günleri Sempozyumu. 2007, Antalya.

94. Taşbozan O. L-karnitin ve farklı yağ seviyeleri ile hazırlanan yemlerle beslenen çipuraların (sparus aurata) büyüme performansı ve vücut kimyasal komposizyonlarının belirlenmesi üzerine bir araştıma. Çukuova Ü. Fen Bilimleri Ens. Doktora tezi. 2005, Adana.

95. Thangasamy T, Subathra m, Sittadjody S, Jeyakumar P, Joyee AG, Mendoza E, Chinnakkanu P. Role of L-carnitine in the modulation of immune response in aged rats. Clinica Chimica Acta. 2008; 389: 19-24.

96. Vernez L. Analysis of carnitine and acylcarnitines in biological fluids and application to a clinical study. Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel. Doktora tezi. Genf, 2005. http://edoc.unibas.ch/320/1/DissB_7322pdf

97. Wan L, Hubbard RW. Determination of free and total carnitine with a random-access chemistry analyzer. Clin Chem. 1998; 44(4): 810-816.

98. Winter SC, Buist NRM, Cardiomyopathy in childhood, mitochondrial dysfunction, and the role of L-carnitine. American Heart Journal. 2000; 139: 63-69.

99. Woollard DC, Indyk HE, Woollard GA. . Enzymatic determination of carnitine in milk and infant formula. Food Chemistry. 1997; 59 (3): 325-332.

100. Woollard DC, Indyk HE, Woollard GA. Carnitine in milk: a survey of content, distribution and temporal variation. Food Chemistry. 1999; 66: 121-127.

101. Yavuz H, Kurtoğlu F. Biyokimyasal özellikleri ile L-karnitin.www.istanbul.edu.tr/vetjournal/fulltexthtml/2012-2/207-218.htm

102.Yücecan S. Optimal Beslenme. Ankara Sağlık Bakanlığı Yayın No: 726. 1. Basım. Ankara, Şubat 2008.

9. ÖZGEÇMİŞ

09.04.1971 yılında Konya'da doğdu. Orta öğrenimini Konya Meram Anadolu lisesi ve İstanbul Atatürk Fen lisesinde yaptı. Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliğinde lisans eğitimini tamamladı. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim dalında 2003-2006 yılları arasında Yüksek lisans eğitimini tamamladı ve aynı yıl doktora eğitimine başladı. Özel sektörde 10 yıl çalıştı. 2011 yılında Selçuk Üniversitesi Teknik Bilimler MYO gıda teknolojisi bölümünde öğretim görevlisi olarak göreve başladı. Bu görevini sürdürmektedir.