

**T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**STEVIA REBAUDIANA YAPRAKLARINDAN EKSTRAKTE  
EDİLEN “STEVIOSIDE” İLE “REBAUDIOSIDE A”NIN MEYVELİ  
VE GAZLI İÇECEKLERDE KULLANIMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gıda. Müh. Serpil KARACA**

**Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ**

**Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Osman KOLA**

**Haziran 2010**



T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

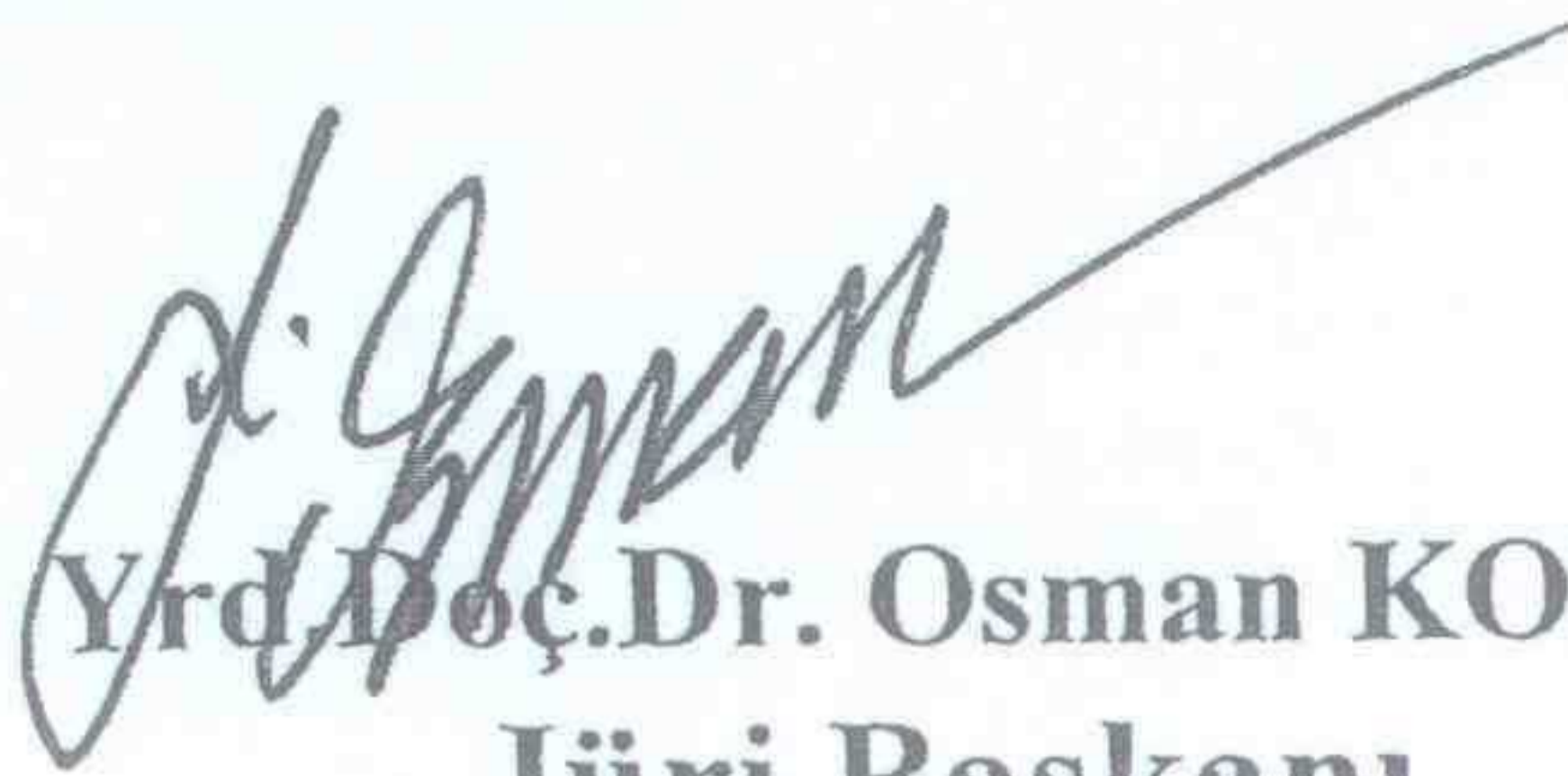
STEVIA REBAUDIANA YAPRAKLARINDAN EKSTRAKTE  
EDİLEN "STEVIOSIDE" İLE "REBAUDIOSIDE A" NİN  
MEYVELİ VE GAZLI İÇECEKLERDE KULLANIMI

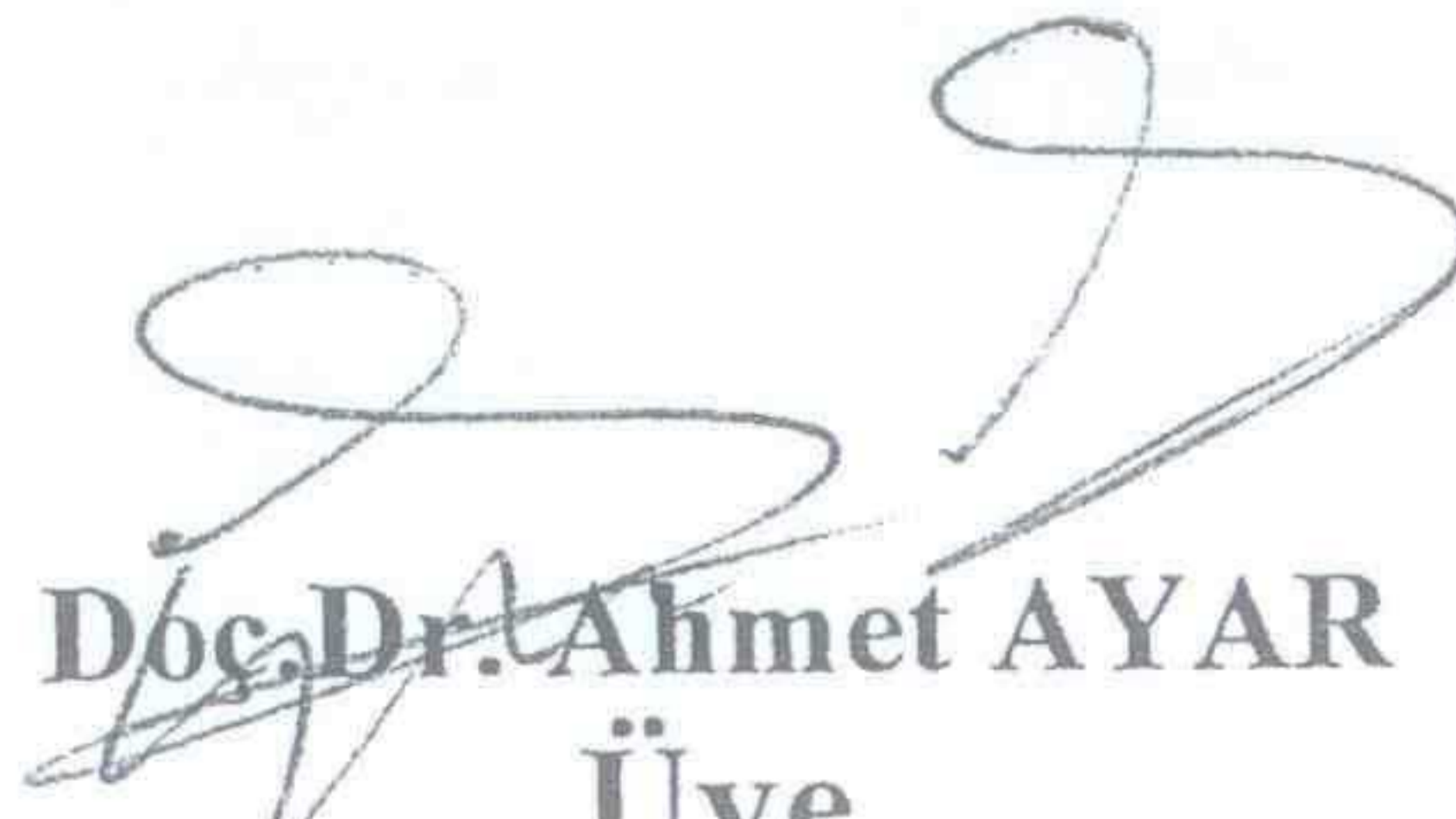
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda. Müh. Serpil KARACA

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez 16 / 06 / 2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

  
Yrd. Doç. Dr. Osman KOLA  
Jüri Başkanı

  
Doç. Dr. Ahmet AYAR  
Üye

  
Prof. Dr. Hasan FENERCİOĞLU  
Üye



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, araştırmanın düzenlenmesi, gerçekleştirilmesi ve değerlendirilmesi sırasında bana yol gösteren ve destekleyen, danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Osman KOLA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Değerli katkılarından ve desteklerinden dolayı, yüksek lisans tez jürimde yer alan Sayın Prof. Dr. Hasan FENERCİOĞLU ve Sayın Doç. Dr. Ahmet AYAR'a,

Çalışmalarım esnasında her türlü desteğini gördüğüm Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Cemal KAYA'ya,

Çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Hüseyin DURAN, Arş. Gör. Güliz YALDIRAK, Arş. Gör. Mine EREN'e ve diğer çalışma arkadaşlarıma,

Çalışmalarım süresince ilgi ve yardımlarını esirgemeyen bölüm başkanımız Sayın Doç. Dr. Ahmet AYAR ve tüm hocalarıma,

İlgi, sabır ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, babam Yücel KARACA, annem Fahriye KARACA, ablam Sibel KARACA, kardeşim Yücel KARACA ve nişanlım Serkan SİLİNDİR ile tüm yakınlarıma ve sevdiklerime,

Araştırmamıza maddi desteklerinden dolayı Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dekanlığına,

Destek ve katkılarından dolayı, Döhler Gıda A.Ş. (İstanbul), Kartal Kimya San. (İstanbul) ve Indukern İstanbul Kimya San. ve Tic. Ltd. Şti.(İstanbul) firmalarına teşekkürü bir borç bilirim.

Saygılarımla,

Gıda Müh. Serpil KARACA

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ .....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	xi
SUMMARY .....	xii
BÖLÜM 1. GİRİŞ .....	1
BÖLÜM 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	3
2.1. Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler.....	3
2.1.1. Meyve suyu ve benzeri ürünler ve tanımları.....	3
2.1.2. Türkiye’de meyve suyu ve benzeri içecek üretimi .....	4
2.1.3. Türkiye’de meyve suyu ve benzeri içecek tüketimi.....	6
2.2. Meyve Suyu ve Benzeri Ürünlerin Üretiminde Kullanılan Tatlandırıcılar .....	9
2.2.1. Tatlandırıcıların çeşitleri ve özellikleri .....	9
2.2.2. Tatlandırıcılar ile ilgili gelişmeler.....	11
2.3. Stevia Rebaudiana Bertoni .....	13
2.3.1. Stevia bitkisinin botanik özellikleri .....	13
2.3.2. Stevia yapraklarının bileşimi ve kimyasal özellikleri .....	14

2.3.3. Stevia yapraklarından steviol glikozitlerin üretimi .....	17
2.3.4. Stevia ile ilgili yasal düzenlemeler .....	19
2.3.5. Stevia'nın kullanım alanları .....	20
<b>BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOD.....</b>	<b>25</b>
3.1. Materyal .....	25
3.2. Teknolojik Metotlar .....	27
3.2.1. Stevia yapraklarından Rebaudioside A ve Stevioside Eldesi.....	27
3.2.2. Meyveli içecek (Limonata) üretimi.....	31
3.2.3. Gazlı içecek (Kola) üretimi .....	32
3.3. Analitik Metotlar .....	35
3.3.1. Stevia'dan elde edilen Rebaudioside A ve Stevioside glikozitlerin analizi .....	35
3.3.2. Askorbik asit analizi.....	36
3.3.3. Nem tayini .....	37
3.3.4. Suda çözünür kurumadde miktarı .....	37
3.3.5. Titrasyon asitliği.....	37
3.3.6. pH.....	37
3.3.7. Tat dengesi .....	39
3.3.8. Renk .....	39
3.3.9. Hidroksimetilfurfural (HMF) Tayini.....	39
3.3.10. Duyusal analizler.....	39
3.4. İstatistiksel Değerlendirme.....	40
<b>BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....</b>	<b>41</b>
4.1. Stevia Yapraklarından Rebaudioside A ve Stevioside Eldesi.....	41
4.1.1. Stevia ekstraktından elde edilen Rebaudioside A ve Stevioside miktarları .....	43

4.1.2. Meyveli içeceklerde (Limonata) Rebaudioside A ve Stevioside kullanımı .....	44
4.1.3. Gazlı içeceklerde (Kola) Rebaudioside A ve Stevioside kullanımı .....	44
4.2. Limonata ve Kola Örneklerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri ve Depolama Süresince Meydana Gelen Değişmeler .....	45
4.2.1. Meyveli içeceklerin (Limonata) bazı özellikleri ve depolamanın etkileri .....	45
4.2.2. Gazlı içeceklerin (Kola) bazı özellikleri ve depolamanın etkileri .....	47
4.3. Limonata ve Kola örneklerinin renk değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişmeler .....	49
4.3.1. Meyveli içeceklerin (Limonata) renk değerleri ve depolamanın etkileri .....	49
4.3.2. Gazlı içeceklerin (Kola) renk değerleri ve depolamanın etkileri ...	51
4.4. Meyveli İçeceklerde (Limonata) HMF Değerleri .....	53
4.5. Duyusal Analiz Sonuçları .....	54
4.5.1. Meyveli içeceklerin (Limonata) duyuşal özellikleri ve depolamanın etkileri .....	54
4.5.2. Gazlı içeceklerin (Kola) duyuşal özellikleri ve depolamanın etkileri .....	55
BÖLÜM 5. SONUÇ .....	57
KAYNAKLAR .....	59
EKLER .....	62
ÖZGEÇMİŞ .....	65

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Bx	: Briks
C	: Renk Farklılıkları (Chroma)
°C	: Santigrat
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
g	: Gram
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
JECFA	: Gıda Tarım Örgütü ve Dünya Sağlık Teşkilatı
Kcal	: Kilokalori
kg	: Kilogram
L	: Litre
m	: Metre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
µL	: Mikrolitre
SÇKM	: Suda Çözünür Kuru Madde
SAS	: İstatistiksel Analiz Programı
TA	: Titrasyon Asitliği
v	: Hacim
w	: Ağırlık



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Türkiye’de meyve suyu ve benzeri içeceklerin üretim miktarlarının dağılımı .....	5
Şekil 2.2.	Türkiye’de meyve suyu ve benzeri içecek üretiminin yıllara göre değişimi .....	6
Şekil 2.3.	Türkiye’de kişi başına yıllık meyve suyu ve benzeri içecek tüketimi .....	8
Şekil 2.4.	Türkiye’de meyve suyu tüketiminin tatlara göre dağılımı .....	8
Şekil 2.5.	Stevia rebaudiana bitkisi ve çiçekleri çiçeği .....	14
Şekil 2.6.	Stevia’den ekstrakte edilen steviol glikozitlerin kimyasal yapıları	16
Şekil 2.7.	Stevia yapraklarında ekstraksiyon işlemi akış diyagramı .....	18
Şekil 3.1.	Bir ay sonunda stevia bitkisine ait fidenin görünümü .....	25
Şekil 3.2.	Üç ay sonunda stevia bitkisine ait fidenin görünümü .....	26
Şekil 3.3.	Dört ay sonunda stevia bitkisine ait fidenin görünümü .....	26
Şekil 3.4.	HPLC (Hitachi LaChrom Elite HPLC) .....	28
Şekil 3.5.	Spektrofotometre (Schimadzu Mini DV-1240) .....	28
Şekil 3.6.	HPLC (Perkin Elmer).....	29
Şekil 3.7.	Stevia yapraklarına uygulanan ekstraksiyon işlemi akış şeması ...	30
Şekil 3.8.	Soda stream cihazı ve karbondioksit tüpü .....	33
Şekil 3.9.	Soda Stream cihazı karbondioksit tüpüne CO <sub>2</sub> gazı dolumu .....	34
Şekil 3.10.	Pet Şişe (250 ml) .....	34
Şekil 3.11.	Stevioside ve Rebaudioside A’ya ait standart çözeltilerin HPLC kromatogramları .....	35
Şekil 3.12.	Askorbik asit analizinde kullanılan izokratik akış ve HPLC koşulları .....	38
Şekil 3.13.	Askorbik asit standart çözeltilisinin HPLC kromatogramı .....	38

Şekil 4.1.	Kurutulmuş Stevia yapraklarından Rebaudioside A ve Stevioside'nin ekstraksiyonunda ayrıştırma ve çöktürme işlemleri (a- $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , b- betasiklodekstrin, c- bentonit) .....	42
Şekil 4.2.	Etanol ile glikozitlerin çöktürülmesi (a) ve toz halindeki glikozit bileşenleri (b) .....	42
Şekil 4.3.	$L^*a^*b^*$ renk uzayının şematik görünümü .....	50

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1.	Türkiye'nin yıllara göre meyve suyu ve benzeri içeceklerin üretim miktarları .....	5
Tablo 2.2.	Türkiye'de 2008 yılı itibarıyla yurtiçi toplam meyve suyu ve benzeri içecek tüketimi .....	7
Tablo 2.3.	Türkiye'de meyve suyu ve benzeri ürünlerin tüketimlerinin tatlara dağılımı .....	9
Tablo 2.4.	Doğal ve yapay tatlandırıcılar ve tatlılık düzeyleri .....	11
Tablo 2.5.	Stevia bitkisinin besin içeriği .....	15
Tablo 2.6.	Farklı ürünlerde kullanımı önerilen Rebaudioside A konsantrasyonları .....	24
Tablo 3.1.	Meyveli içecek (Limonata) üretiminde kullanılan başlıca bileşenler ve kullanım oranları (%) .....	32
Tablo 3.2.	Gazlı içecek (Kola) üretiminde kullanılan başlıca bileşenler ve kullanım oranları (%) .....	33
Tablo 4.1.	Kurutulmuş Stevia yapraklarından (100 gr) elde edilen ortalama glikozit miktarları .....	43
Tablo 4.2.	Taze ve yaşlandırma testine tabi tutulan Limonata örneklerinin Rebaudioside A ve Stevioside Miktarları (g/L) .....	44
Tablo 4.3.	Taze ve yaşlandırma testine tabi tutulan Kola örneklerinin Rebaudioside A ve Stevioside Miktarları (g/L) .....	45
Tablo 4.4.	Limonata örneklerinin suda çözünür kurumadde, titrasyon asitliği, pH, tat dengesi ve L-askorbik asit değerleri .....	46
Tablo 4.5.	Kola örneklerinin suda çözünür kurumadde, titrasyon asitliği, pH ve tat dengesi değerleri .....	48
Tablo 4.6.	Limonata Örneklerinin Renk Değerleri .....	50
Tablo 4.7.	Kola Örneklerinin Renk Değerleri .....	52
Tablo 4.8.	Limonata örneklerindeki HMF miktarları (mg/L) .....	53

Tablo 4.9.	Limonata örneklerinin duyusal değerlendirme sonuçları .....	54
Tablo 4.10.	Kola örneklerinin duyusal değerlendirme sonuçları .....	56



## ÖZET

Anahtar Kelimeler: Stevia Rebaudiana, Stevioside, Rebaudioside A, Ekstraksiyon, İçecek

Bu araştırmada, ülkemizde yetiştirilen Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinden elde edilen stevioside ve rebaudioside A miktarları belirlenmiştir. Glikozitlerin elde edilmesi için Stevia yaprakları sıcak su ve pektinaz ile ekstrakte edilmiş ve bileşenler alkol ile saflaştırılmıştır. Rebaudioside A ve Stevioside miktarları HPLC ile ölçülmüştür. Bunun yanında meyveli içecek olarak ülkemizde son zamanlarda büyük bir pazar payına sahip olan limonata ve gazlı bir içecek olarak kola ürünleri bu bileşenlerle hazırlanmıştır. Bu ürünlerin çözünür kuru madde, titrasyon asitliği, pH, tat, koku, renk ve görünüm özellikleri üzerinde tatlılık bileşenlerinin etkisi incelenmiş ve bu özellikler şeker ve yapay tatlandırıcıyla hazırlanan ürünlerin özellikleri ile karşılaştırılmıştır.

Uygulanan ekstraksiyon işlemi sonunda 100 g kuru stevia yaprağından %1.84 oranında ekstrakt elde edildiği ve bunun yaklaşık %51'inin Rebaudioside A ve %49'unun Stevioside'den oluştuğu belirlenmiştir.

Stevioside, rebaudioside A, şeker ve aspartam-asesülfam K ile hazırlanan ve 4°C ve 40°C'de 1 hafta depolanan kola ve limonata ürünlerinin SÇKM, titrasyon asitliği, pH ve renk değerleri incelendiğinde önemli bir farklılığın oluşmadığı tespit edilmiştir. Ürünlerin duyuşal değerlendirmesi sonucunda, şeker ile hazırlanan kola ve yapay tatlandırıcı ile hazırlanan limonata ürünleri en çok beğenilirken, stevioside ile hazırlanan ürünler en düşük puanı almıştır.

Limonata örneklerinin 4°C ve 40°C'de 1 hafta depolanması sonunda, içerdiği askorbik asit ve HMF miktarları ölçülmüş ve askorbik asitin en fazla yapay tatlandırıcılı üründe (%96.0-97.4 oranında) parçalandığı, en az stevioside ve rebaudioside A içeren üründe (%82-85 oranında) parçalandığı tespit edilmiştir. Ürünlerdeki HMF miktarı incelendiğinde, şekerli ürünün en yüksek HMF içeriğine (0.81 mg/L) sahip olduğu, stevioside ve yapay tatlandırıcı ile hazırlanan üründe ise HMF oluşmadığı tespit edilmiştir.

## **Using Stevioside And Rebaudioside A Extracted From Stevia Leaves As A Sweetener In Fruit Drinks And Fizzy Drinks**

### **SUMMARY**

Keywords: Stevia Rebaudiana, Stevioside, Rebaudioside A, Extraction, Beverage

In this study, quantities of Stevioside and Rebaudioside A that is obtained from Stevia rebaudiana (Bertoni) grown in our country were determined. Stevia leaves were extracted with hot water and pectinase to recover the sweet compounds and alcohol was used for purifying the compounds. The amounts of Rebaudioside A and Stevioside was measured by HPLC. Furthermore lemonade as a fruit juice which has a large market share in our country in recent days and cola as a fizzy drink were prepared with compounds extracted from Stevia. The effect of sweet compounds on properties such as soluble dry matter, titratable acidity, pH, taste, odour, colour and appearance of lemonade were investigated and compared with properties of lemonade and cola prepared by sugar and artificial sweeteners.

At the end of the extraction process of stevia leaves, 1,84 % percentage of stevia extract was obtained from 100 g dry stevia leaves. This extract contained rebaudioside A at a percentage of 51% and stevioside of 49%.

Investigation of dry matter, titratable acidity, pH and colour values of cola and lemonade that were prepared with stevioside, rebaudioside A, sugar and aspartame-acesulfam K and stored at 4°C and 40°C, showed no significant storage effect on the variables studied. Also the results of sensible evaluation of these products has shown that the most preferable products were cola with sugar and lemonade with artificial sweetener and the least preferable products were cola and lemonade with stevioside.

After storing the lemonade samples at 4°C and 40°C, the amount of ascorbic acid and HMF values were measured. It was found that the highest decomposition value (96.0-97.4%) of ascorbic acid was occurred in the product prepared with artificial sweetener and the lowest value (82-85%) occurred in the product prepared with stevioside and rebaudioside A. Also it was determined that lemonade with sugar contained the highest amount of HMF (0,81 mg/L) and lemonade with stevioside and with artificial sweetener did not contain any HMF.

## BÖLÜM 1. GİRİŞ

Gıda endüstrisinin en temel amaçlarından biri, dünyada değişerek gelişen bilinçli tüketici taleplerini karşılamaya yönelik çalışmaları yönlendirmektir [1]. Son yıllarda birçok ülkede diyet ya da enerjisi azaltılmış (orijinal gıdaya veya benzeri ürüne göre enerji değerinin en az %25 azaltılması) gıda tüketimindeki artış, yeni gıda alışkanlıklarının yerleşmeye başladığını göstermektedir. Gıda teknolojisindeki yoğun gelişmeler ve diyet gıdaların tüketimi alışkanlığının giderek toplumlarda yerleşmesi, gıda üreticilerini bu konuda sürekli artan talebi karşılamaya yöneltmektedir [2]. Gıda endüstrisinde yer alan firmalar ve çalışanları genel eğilime paralel olarak gıdalardaki şeker miktarını düşürmeyi (diyabet, obezite, kronik hastalıklar vb sebeplerle) hedeflemektedir. Gıda tatlandırıcıları bu sektörde geniş tüketici kitlesine hitap etmektedir. Bu açıdan sektör tüketiciye daha sağlıklı, doğal, besleyici özelliği olan ve kalori içeriği düşük tatlandırıcılar sunmaya çalışmaktadır [1].

Geçmiş yıllarda özellikle diyabet ve şişmanlık gibi bazı hastalıkları olan insanlar için düşük kalorili ürünler üretilmiş olmakla birlikte, ürün çeşidinin azlığı ve yüksek fiyattan satılması gibi olumsuzlukların yanında ürünlerin tat ve aromalarının yeteri kadar iyi olmayışı diğer bir olumsuzluk olarak görülmekteydi. Günümüzde ise bu tür ürünler makul fiyata satın alınabildiği gibi tat ve aromaları da önceki ürünlerle kıyaslandığında daha gelişmiş durumdadır [1]. Bununla birlikte tatlandırıcıların, günlük diyetle tüketilen gıdalar içerisinde önemli bir yeri olan içeceklerde kullanımı da son yıllarda oldukça büyük bir önem kazanmıştır.

Günümüzde, şekerin insan vücudu üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak ve ürün çeşitliliğini arttırmak amacıyla, birçok gıda sektöründe olduğu gibi içecek sektöründe de tatlandırıcıların kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu çalışma ile bir doğal tatlandırıcı kaynağı olan ve son yıllarda ülkemizde de yetiştirilmeye başlanan stevia rebaudiana bitkisinden elde edilen tatlandırıcıların meyveli ve gazlı içeceklerde kullanımı

incelenmiş ve bu bitkiden elde edilen ekstraktta tatlı bir yapıya sahip olan stevioside ve rebaudioside A bileşenlerinin miktarları tespit edilmiştir. Tatlılığa sahip bu bileşenlerin şeker veya yapay tatlandırıcılara göre avantajları da ortaya konmaya çalışılmış, meyveli (limonata) ve gazlı (kola) içeceklerde kullanımı araştırılmıştır.



## **BÖLÜM 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR**

Meyve ve sebze suları esas olarak içerdikleri vitamin, mineral ve antioksidan bileşenler nedeniyle sağlıklı beslenmenin vazgeçilmez temel besinleri arasındadır. Meyve ve sebze sularının da bu çerçevede tüm dünyada her gün tüketilmesi önerilmektedir. Bugün bu sektör dünyada önemli bir sanayi haline dönüşmüş ve dünya ticaretinde de önemli bir pay almaya başlamıştır [3].

### **2.1. Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler**

Meyve suyu ve benzeri içecekler genel olarak, içerdikleri meyve oranına göre dört ana kategoride incelenmektedir. Bunlar %100 meyve içeren meyve suyu, %25–99 arasında meyve oranına sahip meyve nektarı, %10–24 meyve oranına sahip meyveli içecek ve %0-9 meyve içeriğine sahip aromalı içecektir [4].

#### **2.1.1. Meyve suyu ve benzeri ürünler ve tanımları**

Türk Gıda Kodeksi “Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler Tebliği (Tebliğ No: 2006/56)”ne göre [5];

**Meyve suyu:** Sağlam, olgun, taze veya soğukta muhafaza edilmiş meyvelerden, tek meyveden veya daha fazla meyvenin karışımından elde edilen, elde edildiği meyve ve meyvelerin karakteristik renk, aroma ve tadına sahip, fermente olmamış ancak fermente olabilen ürünü,

**Konsantreden üretilen meyve suyu:** Meyve suyu konsantresine, su ve işleme sırasında ayrılan aromanın ve gerektiğinde pulp ve meyve keseciklerinin tekrar kazandırılmasıyla elde edilen ürünü,

**Meyve nektarı:** Meyve suyuna, konsantreden üretilen meyve suyuna, meyve suyu konsantresine, meyve suyu tozuna, meyve püresine veya bunların karışımına, su ve şekerlerin ve/veya balın ilave edilmesiyle elde edilen, ek hükümlerle belirtilen hükümlere uygun, fermente olmamış ancak fermente olabilen ürünü ifade etmek amacıyla kullanılmaktadır.

Ayrıca, Türk Gıda Kodeksi “Alkolsüz İçecekler Tebliği (Tebliğ No: 2007/26)”ne göre de [6];

**Meyveli içecek:** Meyve suyu ve/veya meyve püresi ve/veya bunların konsantresi ve/veya meyve tozu, su ve/veya diğer bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre gazlı veya gazsız olarak üretilen içeceği,

**Aromalı içecek:** Su, aroma maddeleri ve/veya diğer bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre gazlı veya gazsız olarak üretilen veya aromalı şurubun sulandırılması ile hazırlanan içeceği,

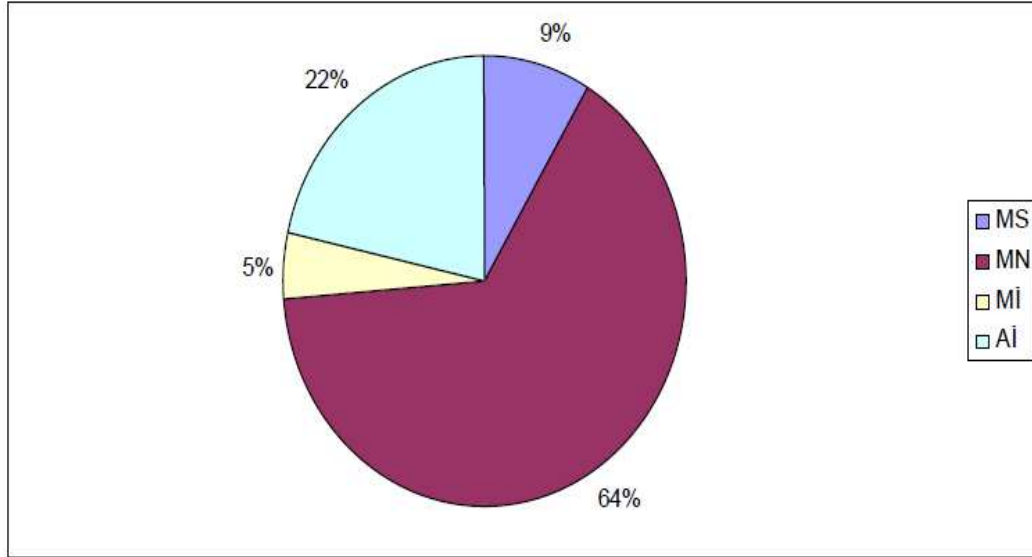
**Kola:** Su ve kendine özgü aroma maddeleri ve/veya diğer bileşenler ve/veya kafein ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre üretilen ve karbondioksit ile gazlandırılmış olan içeceği ifade etmektedir.

### 2.1.2. Türkiye’de meyve suyu ve benzeri içecek üretimi

Ülkemizde meyve suyu üretimi 1960’lı yılların sonlarında başlamıştır. Yıllar içinde teknolojik gelişmeler yakından takip edilmiş ve ürün çeşitlendirmesine gidilmiştir. İç pazarda özellikle şeftali, vişne, kayısı ve karışık meyve nektarları tüketilmekte iken, ihracatta ağırlıklı olarak elma suları önem kazanmıştır. Ancak son yıllarda değişen eğilimler doğrultusunda iç pazarda elma, nar, domates ve üzüm suyuna ve özellikle %100 meyve suyuna olan talebin artması bu ürünleri de iç pazarda kayda değer bir konuma getirmiştir [7; 8].

Türkiye’nin 2008 yılında yurt içi ve yurt dışı pazar için tüketime hazır içecek üretimi 821.6 milyon litredir. Bunun %64’ü meyve nektarlarından, %22’si aromalı

içeceklerden oluşmaktadır. %100 meyve suyu %9 pay alırken meyveli içecek %5 pay almıştır (şekil 2.1.) [4].



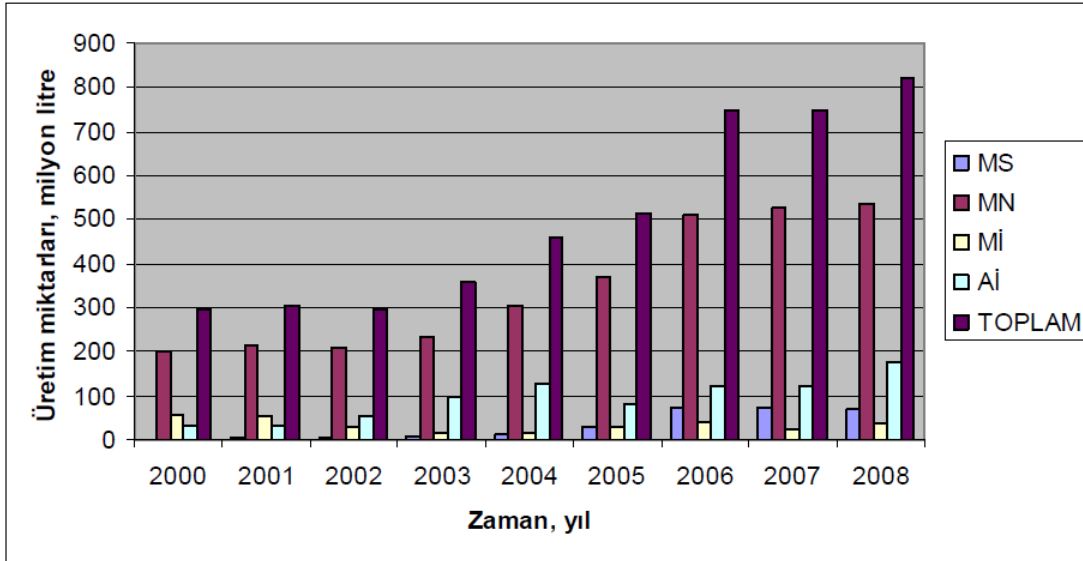
şekil 2.1. Türkiye’de meyve suyu ve benzeri içeceklerin üretim miktarlarının dağılımı (%) [MS: Meyve suyu, MN: Meyve nektarı, Mİ: Meyveli içecek, Aİ: Aromalı içecek] [4]

Ülkemizde 2000-2008 yılları arasında üretimi yapılan meyve suyu ve benzeri içeceklerin üretim miktarları Tablo 2.1.’de gösterilmektedir. Toplam üretimde 2000 yılından bu yana yaklaşık 2.8 kat, önceki yıla göre ise %9.8’lik bir artış gerçekleşmiştir [4].

Tablo 2.1. Türkiye’nin yıllara göre meyve suyu ve benzeri içeceklerin üretim miktarları (milyon litre) [4]

İÇECEK TİPİ	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
MS	1.9	3.9	5,6	9.3	12.2	30.6	74.7	73.4	70.8
MN	202.8	212.1	208.5	233.6	300.3	368.9	509.2	525.9	534.6
Mİ	56.7	51.5	27.2	16.0	17.4	29.6	41.0	25.7	38.8
Aİ	33.5	34.6	52.6	98.4	129.4	83.3	121.9	123.1	177.4
TOPLAM	294.9	302.1	293.9	357.3	459.3	512.4	746.8	748.1	821.6
İNDEKS(1)	100	102.4	99.7	121.1	155.7	173.8	253.2	253.7	328.8
Önceki yıla göre değişim (%)	0.0	+2.4	-2.7	+21.6	+28.5	+11.6	+45.7	+0.2	+9.8

Meyve suyu ve benzeri içeceklerin üretimindeki değişimler hem içecek tipine hem de toplam üretim olmak üzere Şekil 2.2.'de verilmektedir. Şekilde de görülebileceği gibi toplam üretim ve nektar üretimi 2000 yılından bu yana istikrarlı büyümesini sürdürmektedir. Toplam üretim miktarı düşük de olsa, meyve suları 2000–2008 yılları arasında kendi içinde yaklaşık 37 kat artarak oldukça önemli bir yükselme grafiği çizmektedir [4].



Şekil 2.2. Türkiye’de meyve suyu ve benzeri içecek üretiminin yıllara göre değişimi [4]

### 2.1.3. Türkiye’de meyve suyu ve benzeri içecek tüketimi

Yurt içi tüketime hazır meyve suyu ve benzeri ürün tüketimi 2008 yılı itibarıyla 776 milyon litredir. Bu değer, 2000 yılına göre %164; 2007 yılına göre ise %9.4 artış anlamına gelmektedir. Tüketimde en büyük payı %66.2 ile meyve nektarı almakta, bunu %22.3 ile aromalı içecek, %6.8 ile meyve suyu ve %4.7 ile de meyveli içecek takip etmektedir. İçecek kategorilerindeki değişim oranları farklılık göstermektedir. Meyveli içecek tüketimi 2007 yılından 2008 yılına kadar %49.8’lik bir artışla birinci sıradadır. Meyveli içeceği %43.7’lik artışla aromalı içecek izlemektedir. Bununla birlikte %100 meyve suyu tüketiminde %15,7’lik bir azalma görülmektedir. Meyve nektarında ise %2.3’lük bir artış söz konusudur (Tablo 2.2.) [4].



Tablo 2.2. Türkiye’de 2008 yılı itibarıyla yurtiçi toplam meyve suyu ve benzeri içecek tüketimi [4]

İÇEÇEK TİPİ	YURT İÇİ TÜKETİM							
	2006 MİLYON litre	% (2006)	2007 MİLYON litre	% (2007)	2006’ya GÖRE DEĞİŞİM (%)	2008 MİLYON litre	% (2008)	2007’ye GÖRE DEĞİŞİM (%)
MS	46.6	7.8	62.6	8.8	+ 34.3	52.8	6.8	- 15.7
MN	399.5	67.0	502.3	70.8	+ 25.7	513.8	66.2	+ 2.3
Mİ	30.4	5.1	24.1	3.4	- 20.7	36.1	4.7	+ 49.8
Aİ	119.8	20.1	120.6	17.0	+ 0.7	173.3	22.3	+ 43.7
TOPLAM	596.3	100	709.6	100.0	+ 19.0	776	100	+ 9.4

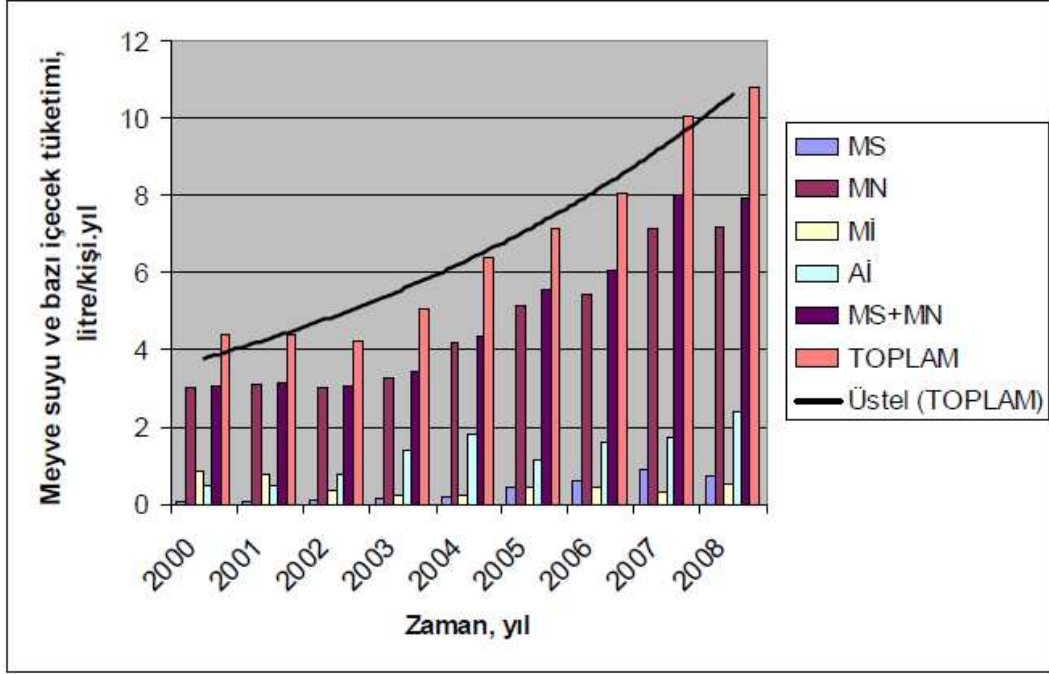
Tüketim tercihlerinde dikkat çekici olan 2000’li yılların başından bu yana hızla büyüyen meyve suyu kategorisinde bir azalma yaşanması ve nektarların büyüme hızının yavaşlamasıdır. Bunun altında yatan başlıca neden ise, yaşanan küresel krizin Dünya’da olduğu gibi Türkiye’de de tüketici tercihlerinin daha düşük meyve oranlı, dolayısıyla daha düşük fiyatlı ürünlere kaymasıdır. Buna ek olarak meyveli içeceklerdeki artışta etkisi olan bir diğer konu ise 2007 yılında pazara giren limonata’dır. Meyveli içecek kategorisinde yer alan limonata ambalaja girmesinin ardından ciddi bir tüketici kitlesi kazanmıştır. Bu nedenle, önümüzdeki yıllarda da meyveli içecek kategorisinde büyüme beklenmektedir [4].

Ülkemizde meyve suyu ve benzeri içeceklerin tüketimindeki artışlar Şekil 2.3.’de net bir şekilde görülmektedir. 2002 ve 2003 yıllarında yaşanan düşüş ile genel trendin altında kalınsa da, krize rağmen 2008 yılı da dahil olmak üzere diğer bütün yıllarda artış gözlenmektedir [4].

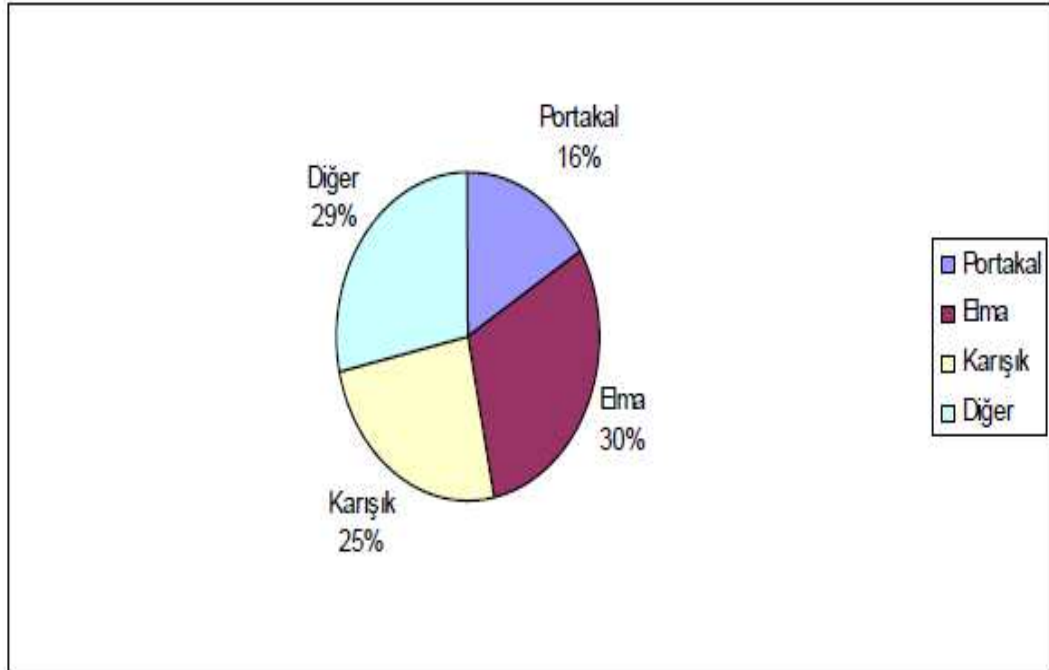
Tüketim tercihleri, kategorilere göre olduğu gibi tatlara göre de değişiklik göstermektedir. 2008 yılında %100 meyve suyu kategorisinde %30.05 ile elma ilk sırada, %24.76 ile karışık meyve suyu ikinci sırada ve %16.45 ile portakal üçüncü sırada yer almaktadır (Şekil 2.4.). Önceki yıllara göre yaşanan farklılık ilk sırada yer alan karışık meyve sularının, elmanın gerisinde kalmasıdır [4].

Tablo 2.3.’de her bir kategori için tüketim tercihlerinin tatlara göre dağılımı gösterilmektedir. Burada dikkat çekici olan, ülkemiz tüketicileri için klasik tatlar olan şeftali, vişne ve kayısının, pazarın yeni tatlar ile çeşitlenmesi ile pay

kaybetmesidir. Yeni tatların ve tasarımların tüketici beğenisine sunulmasının, pazarın büyümesine etkisi büyüktür [4].



Şekil 2.3. Türkiye’de kişi başına yıllık meyve suyu ve benzeri içecek tüketimi [4]



Şekil 2.4. Türkiye’de meyve suyu tüketiminin tatlara göre dağılımı [4]

Tablo 2.3. Türkiye’de meyve suyu ve benzeri ürünlerin tüketimlerinin tatlara dağılımı (%) [4]

TAT	MS	MN	Mİ	Aİ
KAYISI	-	16.01	49.41	12.78
ŞEFTALİ	-	36.65	22.07	45.41
VİŞNE	1.40	23.53	10.56	28.69
PORTAKAL	16.45	7.23	0.82	2.43
ELMA	30.05	0.09	0.66	0.02
DOMATES	6.35	-	-	-
KARIŞIK/ÇOKLU	24.76	16.09	8.91	0.75
ANANAS	1.53	0.04	1.79	0.64
NAR	8.79	0.21	-	0.39
ÜZÜM	8.13	-	0.72	-
KARADUT	0.76	-	-	-
AYVA	0.14	0.08	-	-
ÇİLEK	-	0.02	-	3.20
SEBZE	0.14	-	-	-
SEBZE+MEYVE	0.65	-	-	-
ARMUT	0.19	-	-	-
ICE TEA	-	-	0.79	-
SÜTLÜ KARIŞIK	-	-	1.27	-
KUŞRUBURNU	0.53	0.02	0.13	-
LİMONATA	-	-	2.87	-
LİMON	-	-	-	4.45
MANGO	-	0.01	-	1.18
DİĞER	0.13	0.02	-	0.06
TOPLAM	100.0	100.0	100.0	100.0

## 2.2. Meyve Suyu ve Benzeri Ürünlerin Üretiminde Kullanılan Tatlandırıcılar

### 2.2.1. Tatlandırıcıların çeşitleri ve özellikleri

Günümüzde şeker yerine kullanılan birçok tatlandırıcı bulunmaktadır. Fakat yiyecek ve içecek endüstrisi, daha güvenli ürün geliştirmek ve tüketicilerin beklentilerine cevap vermek için üretilen gıda ürünlerinin duyu kalitesini iyileştirme çalışmalarına sürekli olarak devam etmektedir [1].

En iyi tatlandırıcının bulunması yönündeki çalışmalar devam etse de henüz en ideal tatlandırıcı bulunamamıştır. Sakkaroz tatlandırıcılar içinde altın standart olarak görülmektedir. Fakat bazı ilaç ve sakız gibi ürünlerde sakkarozun kullanımını uygun değildir [9]. Alternatif tatlandırıcıların kullanımının başlıca nedenleri aşağıdaki şekilde sıralanabilir;

- Kalori ve karbonhidrat alımını kontrol etmek amacı ile tüketilen yiyecek ve içecek çeşitlerinde seçim şansı sağlamaktadır.

- b) Mevcut kiloyu korumaya ve zayıflamaya yardımcı olmaktadır.
- c) Şeker hastalarının şeker düzeylerini kontrol etmeye yardımcı olmaktadır.
- d) Diş çürümelerini kontrol etmeye yardımcı olmaktadır.
- e) Kozmetik ürünlerinin ve ilaçların kullanılabilirliğini arttırmaktadır.
- f) Ürün maliyetlerinin azaltılmasında önemli bir rol oynamaktadır.

İdeal bir tatlandırıcı en az şeker kadar tatlı, renksiz ve kokusuz olmalıdır. Kanserojenik olmamalıdır. Tatlı tadını hemen verebilmeli, istenmeyen tat kokuya neden olmamalıdır. Suda çözünebilmeli, asidik ve bazik koşullara ve ısı uygulamalarına karşı dayanıklı olmalıdır. Ürünün raf ömrü boyunca stabilitesini korumalıdır. Ürünün içerdiği bileşenlerle uyumlu olmalı ve bu bileşenlerle reaksiyona girmemelidir. Toksik olmamalı, tüketildikten sonra normal bir şekilde metabolize olmalı ve vücutta birikmeden atılmalıdır. İnsan sağlığı için güvenilir olduğu bilimsel olarak kanıtlanmış olmalıdır. Sakkaroz ve diğer tatlandırıcılara göre ucuz olmalı, kolayca üretilbilmeli ve depolama ve taşıma sırasında problem yaratmamalıdır [9].

Tatlandırıcılar doğal ve yapay tatlandırıcılar olmak üzere iki grupta incelenir. Doğal tatlandırıcılar, şeker, bal, melas gibi bitkilerden veya doğal materyallerden elde edilir. Aspartam, sakarin, sukraloz gibi yapay tatlandırıcılar ise doğal tatlandırıcı moleküllerinin kimyasal yöntemlerle üretilmesi ile elde edilir [10].

Yapay tatlandırıcılar kalorisiz olarak üretilirken doğal tatlandırıcıların çoğu şeker kadar kalori içermektedir. Fakat şeker alkollerini vücutta daha farklı metabolize olur ve oldukça düşük düzeyde kalori içerir. Bu nedenle kalorisini azaltılmış gıdaların üretiminde kullanılır [10].

Sakkaroz bütün tatlandırıcılar için bir standart oluşturmaktadır. Bütün diğer tatlandırıcıların tatlı tadı sakarozla göre verilir. Sakkarozun tatlılığı 1'e eşittir. Tablo 2.4.'de doğal ve yapay tatlandırıcılar ve tatlılık düzeyleri belirtilmiştir.

Tablo 2.4. Doğal ve yapay tatlandırıcılar ve tatlılık düzeyleri [10]

Tatlandırıcının Tipi	Tatlandırıcının Adı	Tatlılık Düzeyi
Yapay Tatlandırıcılar	Aspartam	160 – 200
	Asesülfam K	200
	Alitame	2000
	Sakarın	300
	Sukraloz	600
	Siklamat	30
	Dulcin	250
	Neohesperidin dihidrokalkon	1500
	Neotame	8000
	P-4000	4000
	Karrelam	160000
	Bernardam	180000
	Sukrononat	200000
	Lugdunam	220000
Doğal Tatlandırıcılar	Brazzein	2000
	Curculin	550
	Pentadin	500
	Glisirizin	50
	Mabinlin	100
	Monellin	3000
	Tamatin	2000 - 3000
	Tagatoz	0.92
	Stevia	250
	Hidrojene Nişasta Hidrolizatları	0.4 – 0.9
	İzomalt	0.45 – 0.65
	Laktitol	0.4
	Maltitol	0.9
	Mannitol	0.5
	Sorbitol	0.6
	Ksilitol	1
Eritrol	0.7	
Gliserol	0.6	

### 2.2.2. Tatlandırıcılar ile ilgili gelişmeler

Son iki yüz yıldır düşük kalorili şekerli ürünlerin tüketimi oldukça artmıştır. Sadece Birleşmiş Milletlerde 150 milyondan fazla insan bu ürünleri düzenli olarak tüketmektedir. Bu nedenle yüzlerce düşük kalorili ve şekerli ürün çeşidi bulunmaktadır. 1990'lı yılların sonlarında meydana gelen birkaç gelişmenin, bu ürünlerin sayısının artmasını kolaylaştıracağı beklenmektedir. Asesülfam K'nın

içeceklerde kullanımının, aspartam ve sukralozun ise tüm gıdalarda tatlandırıcı olarak kullanılmasının Birleşmiş Milletler tarafından onaylanması, poliollerin sakkaroz ile kıyaslandığında kalori değerini düşürücü etkisinin tüm dünyadaki denetim kurumlarınca kabul edilmesi buna bir örnektir. Bununla birlikte aspartam ve sakarin gibi bazı tatlandırıcıların insan sağlığı üzerinde olumsuz etki oluşturabileceği şüpheleri nedeni ile bu tatlandırıcılar üzerinde yapılan çalışmalar devam etmektedir [9].

1960'lı yıllarda siklamat ve sakarin içeceklerde ve diğer gıdalarda birlikte kullanılmaya başlanmıştır. Tatlandırıcıların birlikte kullanılması ile ilgili yaklaşım ilk olarak bu uygulama ile başlanmıştır. Bu tatlandırıcıların karışım halinde kullanılmasının en önemli avantajı sakarinin (sakkarozdan 300 kez daha tatlı), siklamatın (sakkarozdan 30 kez daha tatlı) tatlılık gücünü arttırması ve siklamatın, sakarinin ağızda bıraktığı istenmeyen tat kokuyu maskeleyesidir [9].

İki tatlandırıcının birlikte kullanılması ile sinerjik etki oluşur ve tatlılık düzeyleri, tek tek kullanıldıklarında gösterdikleri tatlılık düzeylerinin toplamından daha yüksektir. Sinerjik etki oluşumu birçok tatlandırıcı karışımı için geçerlidir. Gazlı içecek endüstrisinde diyet ürünlerin üretilmeye başlamasındaki en önemli faktör, siklamatın çok yaygın bir şekilde kullanılmasıdır. Fakat 1970 yılında Birleşmiş Milletlerde yasaklanması ile birlikte çok geniş bir pazar payına sahip olan diyet içecekler için yeni tatlandırıcılar geliştirme ihtiyaı ortaya çıkmıştır [9].

1970 yılında siklamat kullanımının durdurulmasından sonra, on yıl boyunca şekere alternatif olarak yalnızca sakarin kullanılmıştır. Fakat günümüzde kullanımı onaylanan aspartam, asesülfam K, sukraloz gibi tatlandırıcılar da diyet ürün formülasyonlarında yer almaktadır. İçeceklerde genellikle sakarin-aspartam, aspartam-asesülfam K ve sukraloz - aspartam kombinasyonları kullanılır. Bunun yanında asesülfam K-aspartam-sakarin ve aspartam – siklamat - asesülfam K l kombinasyonları halinde de kullanılabilir [9].

Polioller de şekersiz ürünlerde kullanılan tatlandırıcılar içinde önemli bir yere sahiptir. Fakat polioller sukrozdan daha az tatlıdır. Düşük kaloriye sahip polioller

diğer tatlandırıcılar ile birlikte kullanıldığında sinerjik etki oluşturur ve ürünün tadı üzerinde olumlu bir etki yaratır [9].

Bununla birlikte tatlandırıcılar ile ilgili ortaya çıkan tüm gelişmeler olumlu yönde değildir. Bu tatlandırıcıların gıdalarda kullanımı onaylanmış olmasına rağmen insan sağlığı üzerindeki etkileri ile ilgili şüpheler ve bu yönde yapılan çalışmalar devam etmektedir [9].

Yapay tatlandırıcıların birçoğunun ağızda acımsı ve metalimsi bir tat bıraktığı bilinmektedir. Bunun yanında fenil-ketonüri metabolik hastalığı olan kişilerin aspartam alımından kaçınmaları gerektiği ve yüksek miktarlarda sakarin kullanımının da, mesane kanseri riskini artırabileceği bildirilmiştir. Birçok suni tatlandırıcılar mevcut gıdalarda bulunmaktadır fakat toksikolojik çalışmalar henüz tamamlanmamıştır. Diğer yandan birçok tatlı ve düşük kalorili bileşikler doğada bulunmaktadır. Taumatın, glisirizin, ksilitol, phyllo dulcin, mogroside ve stevioside bu doğal ürünlerden bazılarıdır. Stevia bitkisinden elde edilen ürünler Japonya ve Paraguay gibi bazı ülkelerde uzun yıllar gıda ve ilaç olarak tüketilmektedir. Bugün de hala ticari olarak ilgi odağı durumundadır [1].

### **2.3. Stevia Rebaudiana Bertoni**

#### **2.3.1. Stevia bitkisinin botanik özellikleri**

*Stevia rebaudiana*, Paraguay ve Brezilya'da yetişen Asteraceae (Compositae) familyasına bağlı, yabani, küçük bir çalı türüdür. Nemli ortamları seven, 60-90 cm boyunda, ortalama 25°C'de ve bazı türleri 2300-2900 m yüksekliklerde yetişebilen tatlılık özelliğine sahip bir bitki türüdür. *Stevia rebaudiana*'nın anavatanı Güney Amerika'dır. Paraguay, Brezilya, Kolombiya, Meksika, Uruguay, Guatemala, Peru, Japonya ve Güney Kore'de yetiştirilmektedir. Ayrıca Kaliforniya ve İngiltere'de de yetiştirilmektedir. Kuzey Amerika'da tespit edilebilen 80'den fazla çeşidi, Güney Amerika'da ise 200'den fazla yerli türü olduğu tahmin edilmektedir. [1]



Şekil 2.5. Stevia rebaudiana bitkisi ve çiçeği

Bir bitki ticari üretim için 6 yıl boyunca kullanılabilir. Bu süre içerisinde yapraklar, yılda 5 kez hasat edilir [11]. Ham stevia yaprakları ve bundan elde edilen yeşil toz formu, sakkarozdan 10–15 kez daha tatlıdır. İyi kalitede bir yaprağın sakkarozdan 30 kat daha tatlı olduğu tahmin edilmektedir. Fakat ağızda hafif düzeyde acımsı tat bırakması olumsuz bir özelliği olarak ortaya çıkmaktadır [12].

### 2.3.2. Stevia yapraklarının bileşimi ve kimyasal özellikleri

Stevia yapraklarından kurutulmuş elde edilen ekstraktlar flavonoid, alkoloid, suda çözünen klorofil ve ksantofil, hidroksisinnamik asit (kafeik, klorojenik, vs), nötral suda çözünen oligosakkarit, serbest şeker, aminoasit, lipit, esansiyel yağlar ve iz elementleri (alüminyum, demir, çinko vs.) ihtiva etmektedirler [1].

Stevia'nın enerji değeri kurumadde esasına göre 2.7 kcal/g olarak ölçülmüştür. Bunun yanısıra, asesülfam K'nın enerji değeri 0, aspartamın 4 kcal/g, sakarinin 0 kcal/g ve sukralozun 0 kcal/g'dır. Sakkaroz tüketiminin günlük diyetdeki kalori miktarına katkısı oldukça yüksektir ve kilo artışına neden olur. Bu nedenle günlük diyetinde düşük kalorili bir tatlandırıcı olan stevianın kullanımı, alınan kalori miktarının azalmasını sağlamaktadır. Stevianın içerdiği diğer besin öğelerinin miktarları ise Tablo 2.5.'de belirtilmiştir. Tablo 2.5.'in incelenmesiyle de görülebileceği gibi, stevia iyi bir protein, mineral ve lif kaynağıdır. Stevia'da



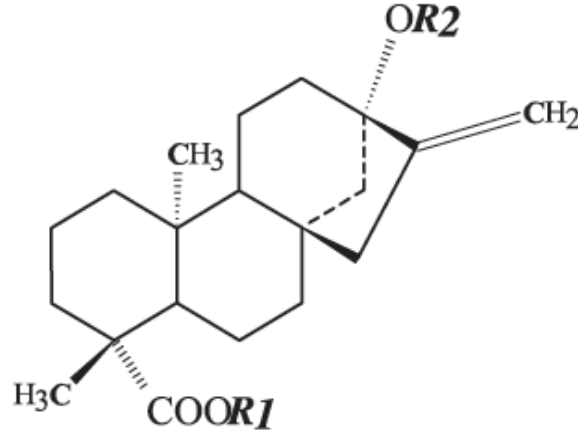
bulunan mineraller ise sırası ile kalsiyum 464.4 mg/100g, fosfor 11.4 mg/100g, demir 55.3mg/100g, sodyum 190 mg/100g ve potasyum 1800 mg/100g'dır. Bu bulgular stevianın, sağlığın korunması ve birçok metabolik prosesin düzenlenmesi için gerekli olan mineralleri içeren bir bileşen olduğunu ortaya koymaktadır. Buna rağmen stevianın yüksek okzalik asit içeriği, kalsiyum, demir ve yeşil yapraklı bitkilerde bulunan diğer besin öğelerinin biyoyararlılığının azalmasına neden olan anti-besinsel bir özelliği olarak ortaya çıkmaktadır [12].

Tablo 2.5: Stevia bitkisinin besin içeriği (kurumadde esasına göre; 100 g'da) [12]

<b>Bileşen Adı</b>	<b>Miktarı</b>
<b>Nem (g)</b>	7
<b>Enerji (kcal)</b>	270
<b>Protein (g)</b>	9.8
<b>Yağ (g)</b>	2.5
<b>Karbonhidrat (g)</b>	52
<b>Kül (g)</b>	10.5
<b>Ham lif</b>	18.5
<b>Mineraller</b>	
- <b>Kalsiyum (mg)</b>	464.4
- <b>Fosfor (mg)</b>	11.4
- <b>Demir (mg)</b>	55.3
- <b>Sodyum (mg)</b>	190
- <b>Potasyum (mg)</b>	1800
<b>Anti Besinsel Faktörler</b>	
- <b>Okzalik Asit (mg)</b>	2295
- <b>Taninler (mg)</b>	0.01

Stevia ekstraktı yüksek oranda diterpen steviol glikozitlerini içermektedir. Diterpen steviol glikozit bileşenleri; Steviol, Steviolbioside, Stevioside, Rebaudioside A, B, C, D, E, F, Rubusoside, Dulcoside A olarak tanımlanmıştır (Şekil 2.6.). Başlıca tatlılık özelliğine sahip bileşenler Stevioside ve Rebaudioside A'dır [13]. Stevioside'in tatlılık oranı, sakkarozdan 110–270 kez , Rebaudioside A'nın ise, 150–320 kez daha fazladır. Bunun yanında Rebaudioside C, sakkarozdan 40–60 kez, Dulcoside A ise 30 kez daha tatlıdır. Diğer steviol glikozitler de düşük oranda tatlılık özelliğine sahiptir. Stevia yapraklarında bulunan (kurumadde esasına göre) Stevioside, Rebaudioside A, Rebaudioside C ve Dulcoside A miktarları sırasıyla %9.1, %3.8,

%0.6 ve % 0.3'dür [14]. Steviol glikozit preparatları beyaz-açık sarı renkte, toz yapıdadır ve suda çözünebilir özelliindedir. Kokusuzdur veya kendine has kokusu olabilir [13].



Bileşik Adı	R1	R2
Steviol	H	H
Steviolbioside	H	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)
Stevioside	$\beta$ -Glc	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)
Rebaudioside A	$\beta$ -Glc	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)   $\beta$ -Glc(3→1)
Rebaudioside B	H	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)   $\beta$ -Glc(3→1)
Rebaudioside C (Dulcoside B)	$\beta$ -Glc	$\beta$ -Glc- $\alpha$ -Rhas(2→1)   $\beta$ -Glc(3→1)
Rebaudioside D	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)c	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)   $\beta$ -Glc(3→1)
Rebaudioside E	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)
Rebaudioside F	$\beta$ -Glc	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Xyl(2→1)   $\beta$ -Glc(3→1)
Dulcoside A	$\beta$ -Glc	$\beta$ -Glc- $\alpha$ -Rhas(2→1)

Şekil 2.6. Stevia'dan ekstrakte edilen steviol glikozitlerin kimyasal yapıları [13]

*S. Rebaudiana* bitkisinin kimyasal yapısını belirleme çalışmaları 20. yy'ın başlarında başlamıştır. Fakat, 1960'a kadar Rebaudioside A ve 1970'e kadar Stevioside'in

kimyasal yapıları tam olarak belirlenememiştir. 1970'li yıllarda yapılan bir çalışmada, tatlılık özelliğine sahip Rebaudioside A, B, C, D, E bileşenleri stevia'dan izole edilmiştir. Bununla birlikte, rebaudioside B ve steviolbioside'in *S. Rebaudiana* bitkisinin doğal bir bileşeni olmadığı, bitkiye uygulanan ekstraksiyon prosesi sırasında kısmi hidroliz sonucu oluştuğu yönünde kanıtlar elde edilmiştir [15].

### 2.3.3. Stevia yapraklarından steviol glikozitlerin üretimi

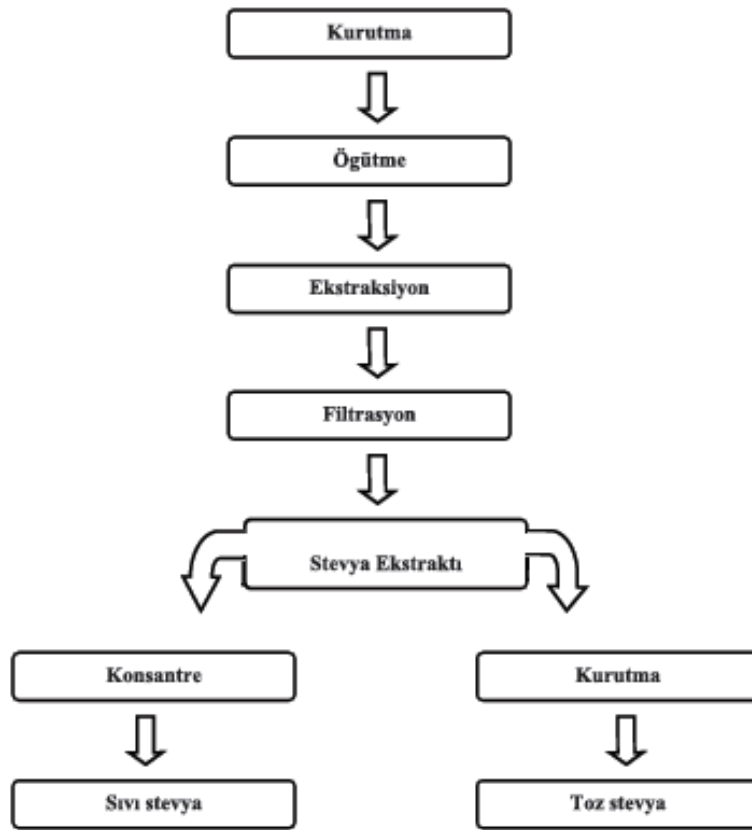
Stevia bitkisinden steviol glikozitlerin elde edilmesinde, stevia yaprakları sıcak su veya alkol ile ekstrakte edilmektedir. Bazı durumlarda esansiyel yağ, lipid ve diğer polar olmayan bileşenlerin uzaklaştırılması için yapraklara kloroform veya hekzan gibi polar olmayan çözücüler ile ayrıştırma işlemi uygulanır. Elde edilen ekstrakt tuz veya alkali çözeltiler ile çöktürülerek arıtılır ve konsantre edilir. Ardından konsantrat, glikozitlerin kristalizasyonu için metanol içinde tekrar çözündürülür. Bu ekstraksiyon işleminin yanısıra, glikozitlerin elde edilmesinde karbondioksit ile yapılan süper kritik akışkan ekstraksiyonu da kullanılmaktadır [13].

Günümüzde stevia ekstrakt üretimi için birçok patentli metot mevcut olmakla birlikte üretim akış diyagramları temel olarak birbirlerine çok yakındır (Şekil 2.7.) [1].

Ticari olarak üretiminde; stevia yaprakları sıcak su ile ekstrakte edilir. Elde edilen sulu ekstrakt alkol ile veya iyon değiştirici reçineler ile izole edilir ve saflaştırılır. Ardından sprey dryer ile kurutulur [13].

Kovylyaeva ve ark. [16] tarafından, Rusya ve Ukrayna da yetişen *S. Rebaudiana* yapraklarındaki stevioside, rebaudioside A ve C içeriklerinin tespit edilmesi üzerine bir çalışma yapılmıştır. Bu araştırmada, rebaudioside kompozisyonu analiz edilmeden önce, glikozitlerin tümü bitkiden izole edilmiştir. Rebaudioside A bileşenlerinin izolasyonundaki en karmaşık prosesin, sulu ekstraktların organik ve inorganik kalıntılardan (örneğin; klorofiller, ksantofiller,  $\beta$ -karotenler gibi renk pigmentleri, proteinler, organik asitler, reçineler, sesquiterpen laktonlar, vb.) ayrıştırılması işlemi olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada saflaştırma yöntemi olarak, kalıntıların hidroksitler ile çöktürülmesi ve glikozitlerin bütanol ile fraksiyonel

ekstraksiyonu kullanılmıştır. Evapore edilen sulu çözeltide kalıntıların koagüle edilmesi için çözeltiliye,  $\text{Ca(OH)}_2$  ve alüminyum klorit çözeltisi, ardından NaOH çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım filtre edildikten sonra glikozitler bütanol çözeltisi ile ekstrakte edilmiştir. Bütanol ekstraktları kuruyana kadar evapore edilmiştir. Elde edilen katı madde, tatlı glikozit bileşenlerini ve bütanol ekstraksiyonunda ayrılmayan renkli kalıntıları içermektedir. Daha sonra bu kalıntılar,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  kolon kromatografisi ile uzaklaştırılmıştır. Kolon kromatografisinde kullanılan en uygun çözücü bütanol-metanol-su karışımıdır. Alkol çözeltisi ile distilasyon işlemi sonunda elde edilen katı madde metanol çözeltisinde tekrar kristalize edilmiş ve stevioside kristalleri elde edilmiştir. Stevioside kristalizasyonu ardından kalan alkollü çözelti borik asit içeren silika jel kolondan geçirilmiştir. Böylece rebaudioside A ve C bileşenleri izole edilmiştir [16].



Şekil 2.7. Stevia yapraklarında ekstraksiyon işlemi akış diyagramı [1]

Vanek ve ark. [17]'nin yaptığı bir çalışmada, kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşan stevioside için kolay ve doğru sonuç veren bir analitik metot belirlenmiştir. Bu basit

yöntem, su ekstraksiyonu, hidrofobik kromatografi (Sep-Pak C<sub>18</sub> kolonu) ve asetonyitril-su çözeltisi kullanılan HPLC işlemlerini kapsamaktadır. Yöntemin uygulanabilirliği için stevia yapraklarındaki ve meyve çayındaki stevioside miktarları analiz edilmiştir. 20 adet poşet çayda yapılan analiz sonucu içerdiği stevioside miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemiştir (P<0,01). Meyveli çayda bulunan stevioside miktarı ortalama 8.14±2.71 mg/mL olarak ölçülmüştür. Bu çalışmada belirtilen metodun, hızlı sonuç vermesi ve organik çözücü tüketimini minimize etmesi nedeni ile çevre dostu bir metot olduğu kanıtlanmıştır [17].

#### 2.3.4. Stevia ile ilgili yasal düzenlemeler

Steviol glikozitlerin gıda katkı maddesi olarak kullanılması ve ADI değerlerinin belirlenmesi FAO/WHO Ekspert komitesi tarafından 51., 63., 68. ve 69. JECFA toplantılarında ele alınmıştır. 63. toplantıda, steviolün fareler üzerinde yapılan uzun süreli araştırma sonuçları baz alınarak ADI değeri geçici olarak 0-2 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir. ADI değerinin geçici olarak tespit edilmesinin nedeni, steviol glikozitlerin insanlar üzerindeki farmakolojik etkilerinin kesin olarak bilinmemesidir. JECFA, stevioside'in yüksek dozda kullanımı ile oluşan farmakolojik etkilerden elde edilen bazı sonuçlara göre, hipertansiyon ve diyabet hastalıkları için potansiyel bir tedavi olabileceğinin incelendiğini bildirmiştir. Fakat bu farmakolojik etkilerin düşük dozlu kullanımlarda da aynı etkiyi gösterdiği veya bazı insanlar üzerinde ters etki yapabileceği konusunda yeterli sonuç bulunmamaktadır. Bu nedenle 63. JECFA komitesi, steviol glikozitlerin, şeker hastaları, normal ve düşük tansiyonlu bireyler üzerindeki etkilerini inceleyen ek çalışmaların yapılmasını istemiştir. Bu çalışmaların sonuçları 2008 yılında gerçekleşen 68. ve 69. JECFA toplantısında değerlendirilmiştir. Buna göre araştırmalardan elde edilen bulguların yeterli olduğu ve steviol glikozit için ADI değeri 0-4 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir. Steviol glikozitler farklı moleküler ağırlıktaki bileşenlerin karışımıdır. Bu farklı moleküllerdeki aktif bileşenin steviol olması nedeni ile 0-4 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirtilen ADI değeri yalnızca karışımın içerdiği steviol miktarını ifade etmektedir [18].

Steviol glikozit spesifikasyonu JECFA tarafından hazırlanmıştır. 63. toplantıda yalnızca steviol glikozitin saflığı ve tanımı için geçici bir spesifikasyon belirtilmiştir. 68. toplantıda ise tam spesifikasyon hazırlanmıştır. Bu spesifikasyonda minimum saflık değeri, stevioside ve rebaudioside A'yı da içeren yedi steviol glikozit için %95 olarak belirlenmiştir ve rebaudioside C, dulcoside A, rubusoside, steviolbioside ve rebaudioside B, D, E ve F içeren steviol glikozit bileşiminin içerdiği rebaudioside A ve stevioside oranı %70'ten az olmamalıdır. Böylece, farklı türdeki stevia bitkilerinden steviol glikozit üretiminde JECFA spesifikasyonuna uyum sağlanabilmesi için önemli bir esneklik sağlanmıştır. 69. toplantıda spesifikasyon monografisinde, çözünürlük ve çözücü etanol miktarının limiti ile ilgili modifikasyon yapılmıştır [18].

### 2.3.5. Stevia'nın kullanım alanları

Stevia'dan elde edilen tatlandırıcılar; sakkarozaya göre 250-300 kat daha fazla tatlı olması, ısı ve pH stabilitesinin yüksek olması, pişirme ve fırın stabilitesinin olması, alkol içerisinde çözünmesi, ağızda metalimsi tadın olmaması gibi özelliklerinin yanında en büyük özelliği doğal doğal yollarla elde edilmesidir [1]. Ayrıca esmerleşmeye ve karamelizasyona neden olmadığı belirlenmiştir [13]. Bugün tüm sıcak-soğuk içeceklerde, reçel, komposto, muhallebi vb. gibi kaynatılarak pişirilen yiyeceklerde, pasta, kek, kurabiye gibi fırında yüksek sıcaklıkta pişirilen tüm unlu gıdaların içerisinde, deniz ürünlerinde, şekerleme sanayinde, bazı sebzelerde, çay şekeri yerine ve suşi, soya sosu, yoğurt gibi birçok gıda üretiminde kullanılmaktadır [1].

63. JECFA komitesinin, asitli gıdalarda kullanılan steviol glikozitlerin hidrolitik stabilitesi üzerine yapılan çalışmalarını incelemesi sonucu elde edilen bulgular aşağıda belirtilmiştir. Steviol glikozit içeren sitrik asit çözeltisinin (yaklaşık olarak 1000 mg/L'de, ortalama %29 stevioside, %62 rebaudioside A) 20°C'de 180 gün boyunca stabil kaldığı tespit edilmiştir. 80°C'de 8 saat sonunda pH'sı 4 ve 3 olan örneklerde sırası ile %4 ve %8 oranında parçalandığı tespit edilmiştir. Bu örneklerde 100°C'deki parçalanma oranının %10 ve %40'a yükseldiği belirtilmiştir. Ayrıca 100 °C' de pH'sı

6 olan örneklerde parçalanma oranı %4 olup pH 8'e yükseldiğinde parçalanma oranı %16'ya çıkmaktadır [13].

Saflık katsayısı %94 olan rebaudioside A içeren asitli içecekler (pH 3.8) 24 °C'de 1 yıl süreyle bekletilmiş ve herhangi bir parçalanma ürünü tespit edilmemiştir. Analizi yapılan örneklerde parçalanma ürünü olarak isosteviol bileşiği tanımlanmıştır [13].

Komite tarafından incelenen diğer araştırmaların çoğu, stevioside ve rebaudioside A'nın stabilitesi üzerine yapılan çalışmalardır. Fakat çalışmalarda kullanılan tatlandırıcıların saflık değerleri ile ilgili bilgi edinilememiştir. Araştırmalar sonucu elde edilen bulgular kısaca şöyle özetlenebilir [13]:

- 1) Stevioside içeren %4'lük hidroklorik asit çözeltisinde 5 saat sonunda tanımlanan hidroliz ürünleri; %49 steviol, %29 steviolbioside, %4 13-O-β-D-glukopiranozil-steviol ve %19 13-O-β-D-glukopiranozil-steviol-β-D-glukopiranozil esterleridir.
- 2) Stevioside veya rebaudioside A'nın sitrik asit veya fosforik asit çözeltilerinde 60°C ve 100°C'ye ısıtılmaları sonucu herhangi bir parçalanma ürünü tespit edilmemiştir.
- 3) Stevioside'in pH'sı 2.5 ve 3.0 olan asit çözeltilerinde 80°C ve 100°C'de 1 saat bekletilmesi sonucunda, pH'nın 2.5 ve sıcaklığın 100 °C olduğu koşullarda bekletilen örneklerde maksimum düzeyde (%10) kayıp olduğu tespit edilmiştir.
- 4) 650 mg/L oranında stevioside ve rebaudioside A içeren nötral çözeltilerin 100°C'de 13 saat bekletilmesi sonucunda parçalanmanın başladığı görülmüştür. Aynı oranda stevioside ve rebaudioside A içeren asit çözeltilerinde (sitrik asit pH 2.6; fosforik asit pH 2.4) 100°C'de 4 saat sonunda parçalanma oranı %40 olarak bildirilmiştir.
- 5) 130 mg/L stevioside içeren sitrik asit çözeltisinin oda sıcaklığında 6 ay bekletilmesi ile; pH 4'de %2.5, pH 3.0'de ise %10 kayıp olduğu belirtilmiştir.
- 6) 1000 mg/L oranında stevioside içeren sitrik asit çözeltisi (pH 2.6) 4°C ve 22°C'de bekletilmiş ve 4 ay sonunda stabil olduğu belirlenmiştir. Rebaudioside A içeren çözeltinin (pH 2.6) 22°C'de stevioside içeren çözeltiliye göre daha az stabil

olduğu, 3 ay sonunda bazı parçalanma ürünlerinin oluştuğu tespit edilmiştir. 37°C’de her iki tatlandırıcının da 2 ay sonunda parçalanmaya başladığı ve 4 ayda parçalanma oranının %15’e ulaştığı belirlenmiştir. Bu araştırmada elde edilen bulgulara göre; sitrik asit çözeltilerinde stevioside’in termal stabilitesinin rebaudioside A’dan daha iyi olduğu ileri sürülmüştür.

- 7) 1000 mg/L rebaudioside A içeren fosforik asit çözeltisinin (pH 2.6) termal stabilitesinin, 1000 mg/L stevioside içeren fosforik asit çözeltisinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Oda sıcaklığında, 500 mg/L stevioside içeren 10 g/L sitrik asit (pH 2.1) ve fosforik asit (pH 1.6) çözeltilerinde 1 ay sonra parçalanmanın başladığı, %5 lik asetik asit çözeltisinde (pH 2.6) ise stabil kaldığı belirlenmiştir. Fosforik asit çözeltisinde 4 ay sonunda parçalanma oranı %75’e ulaşırken, sitrik asit çözeltisinde bu oran %20 olarak ölçülmüştür. En yüksek stabilite asetik asit çözeltisinde görülmüştür [13].

Bu araştırmalardan elde edilen bulguları değerlendiren 68. JECFA komitesi, steviol glikozitlerin gıdalarda kullanıldığında (asitli içecekler dahil), üretim ve depolama koşullarında yeterli düzeyde termal ve hidrolitik stabiliteye sahip olduğu sonucuna varmıştır [13].

Kroyer [19] tarafından yapılan bir çalışmada, stevioside’in farklı proses ve depolama koşullarında stabilitesi ve bunun yanında askorbik asit, tiamin, riboflavin, piridoksin ve nikotinik asit gibi suda çözünen vitaminler ile, sakarin, siklamat, aspartam, asesülfam K, neohesperidin dihidrokalkon gibi diğer yaygın olarak kullanılan düşük kalorili tatlandırıcılar ile ve çay ve kahvede bulunan kafein ile etkileşime girdiğinde oluşturduğu etkiler incelenmiştir. Katı haldeki stevioside’in 120°C’de 1 saat inkübe edilmesi sonucu iyi bir stabiliteye sahip olduğu, 140°C’nin üzerindeki sıcaklıklarda ise parçalanmaya başladığı tespit edilmiştir. Stevioside çözeltisine 80 °C’de uygulanan ısıl işlem sonunda pH 2-10 aralığında stabil olduğu belirlenmiş buna rağmen güçlü asidik koşullarda (pH 1) stevioside konsantrasyonunda önemli bir azalma kaydedilmiştir. Suda çözünen vitaminlerin ayrı ayrı sulu çözeltileri ile stevioside’in 80 °C’de 4 saat inkübasyonu sonunda stevioside ve B vitaminlerinde



önemli bir değişme görülmemiştir. Bunun yanısıra, stevioside'in askorbik asidin parçalanması üzerine koruyucu bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Diğer düşük kalorili tatlandırıcılar ile ayrı ayrı sulu çözelti halinde oda sıcaklığında 4 ay inkübasyonu sonunda bu tatlandırıcılar ile stevioside arasında herhangi bir etkileşim görülmemiştir. Organik asit çözeltilerindeki stabilitesi incelendiğinde Stevioside'in düşük pH değerlerinde parçalanma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. Stevioside ile hazırlanan kahve ve çay örneklerine 80°C'de 4 saat boyunca uygulanan ısı işlem sonunda kafein ve stevioside içeriklerinde çok düşük düzeyde değişim gözlenmiştir. Pratik yaşamda bu ürünlere uygulanan hazırlama ve tüketim koşulları göz önüne alındığında, stevioside ve kafein içeriklerinde herhangi bir değişimin olmayacağı bildirilmiştir [19].

Stevia rebaudiana (Bertoni) bitkisinden elde edilen ve rebiana olarak da bilinen rebaudioside A tatlandırıcısının geliştirilmesi ve ticarileştirilmesi için Coca Cola ve Cargill firmaları tarafından başlatılan bir çalışmada; Clos ve ark. [20] tarafından rebiana stabilitesi ile ilgili kapsamlı bir çalışma yapılmıştır. Elde edilen bulgular sonucunda, daha önce yapılan bir çalışmada, rebaudioside A'nın yapısal homoloğu olan stevioside stabil iken rebaudioside A'nın güneş ışığına maruz kaldığında stabil olmadığını ileri süren tez çürütülmüştür. Yapılan bu çalışmada, güneş ışığına maruz bırakılan kola ve limon-lime içeceklerinde kullanılan stevioside ve rebaudioside A bileşenlerinde herhangi bir azalma veya bozulma tespit edilmemiştir [20].

Prakash ve ark. [15]'nin yaptığı bir çalışmada, üç boyutlu besin matriks modeli ile rebaudioside A'nın fonksiyonelliği ve stabilitesi incelenmiştir. Aspartam ve neotame üzerine yapılan çalışmalardan kazanılan deneyim ile rebaudioside A'nın stabilitesini etkileyen üç önemli faktör belirlenmiştir. Bunlar; ürünün nem içeriği, proses sıcaklığı ve ürünün pH'sıdır ve üç boyutlu matriksi temsil etmektedir. Bu çalışmada, gazlı alkolsüz içecekler, tatlandırıcı formülasyonları, sakız, yoğurt ve kek ürünleri incelenmiştir. Ürünler paketlenmiş ve 25°C'de %60 bağıl nem içeren ortamda depolanmıştır ve belirli periyotlarda kimyasal (HPLC) ve duyusal analizleri yapılmıştır. Ürünlerin duyusal özelliklerinin değerlendirmesi, 35-50 kişiden oluşan panel tarafından beş-nokta skalası kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen bulgular aşağıda kısaca özetlenmiştir [15]:

- 1) İçecekler: Kola ve limon-lime ürünlerinde rebaudioside A'nın tatlılık düzeyinin 26 hafta sonunda kabul edilebilir düzeyde olduğu belirlenmiştir ve birçok gazlı içeceğin 16 hafta içerisinde tüketildiği belirtilmiştir.
- 2) Gıdalarda kullanılan tatlandırıcılar: Rebaudioside A birçok tatlandırıcı formülasyonlarında test edilmiş ve en az 52 hafta stabil kaldığı tespit edilmiştir.
- 3) Sakız: Rebaudioside A'nın 26 hafta boyunca sakızlarda stabil ve fonksiyonel olduğu belirtilmiştir.
- 4) Sade Yoğurt: Uygulanan pastörizasyon (87.8°C'de 5 dak) ve fermentasyon işlemleri sonunda herhangi bir kaybın oluşmadığı belirlenmiş, 6 haftalık depolama sonunda (4°C'de) rebaudioside A'nın stabil olduğu tespit edilmiştir.
- 5) Beyaz Kek: Uygulanan ısıl işlem (176.7°C'de 20-25 dak) ve 25°C'de %60 bağıl nem içeren ortamda 5 gün depolama sonunda herhangi bir kayıp oluşmadığı görülmüştür.
- 6) Diğer Ürünler: Rebaudioside A, tahıl ve tahıl esaslı ürünlerde, fonksiyonel gıdalarda, ilaç formülasyonlarında, yenilebilir jellerde ve şekerleme formülasyonlarında başarı ile kullanılmıştır.

Farklı ürünler için önerilen Rebaudioside A konsantrasyonları, Tablo 2.6.'da belirtilmiştir [15]

Tablo 2.6. Farklı ürünlerde kullanımı önerilen Rebaudioside A konsantrasyonları [15]

Ürün Çeşidi	Konsantrasyon (mg/kg veya mg/L)
Gazlı alkolsüz içecekler	50 – 600
Alkollü içecekler	50 – 600
Toz içecekler	200 – 2000
Tabletop	800 – 4000
Fırıncılık Ürünleri	200 – 1000
Süt Ürünleri	150 – 1000
Sakız	300 – 6000
Şekerlemeler	100 – 1000
Tahıl Ürünleri	200 – 1000
Yenilebilir Jeller	200 – 1000
Nutraceuticals	200 – 1000
İlaçlar	50 – 1000

## BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOD

### 3.1. Materyal

Bu çalışmada, materyal olarak kullanılan “Stevia rebaudiana Bertoni” bitkisine ait kurutulmuş yapraklar “Mısır Çarşısı Baharat İthalat İhracat Ltd. Şti.” firmasından, fideler ise “Agrimed Biyoteknoloji” ve “Mine Flora Çiçekçilik” firmalarından temin edilmiştir. Fide olarak belirtilen firmalardan temini sağlandıktan sonra, bitkiler sera koşullarında yetiştirilmiş ve yaprakları araştırmalarda kullanılmıştır. Sera koşullarında yetiştirilen stevia bitkisine ait fidenin gelişimi Şekil 3.1.-3.3.’de görülmektedir.



Şekil 3.1. Bir ay sonunda stevia bitkisine ait fidenin görünümü



Şekil 3.2. Üç ay sonunda stevia bitkisine ait fidenin görünümü



Şekil 3.3. Dört ay sonunda stevia bitkisine ait fidenin görünümü

Meyveli içecek (Limonata) formülasyonlarının hazırlanması için gerekli olan limon suyu konsantresi (berrak), aroma (207127) ve emülsiyon (519145) ‘‘Döhler Gıda A.Ş.’’ firmasından, asitliği düzenleyici maddeler [sitrik asit (E330), sodyum sitrat (E 331)] ve askorbik asit (E 300) ‘‘Kartal Kimya San. ve Tic. A.Ş.’’ firmasından, kristal toz Şeker Adapazarı piyasasından, aspartam (E951) ve asesülfam K (E950) ‘‘Indukern İstanbul Kimya San. ve Tic. Ltd. Şti.’’ firmasından temin edilmiştir.

Gazlı içecek (Kola) formülasyonlarının hazırlanması için gerekli olan kola aroması (524072), karamel (E150d) ve fosforik asit (E338) ‘‘Döhler Gıda A.Ş.’’ firmasından, kristal toz Şeker Adapazarı piyasasından, aspartam (E951) ve asesülfam K (E950) ‘‘Indukern İstanbul Kimya San. ve Tic. Ltd. Şti.’’ firmasından, karbondioksit gazı ‘‘Linde Gaz A.Ş.’’ firmasından sağlanmıştır.

Meyveli ve gazlı içecek örneklerine ait bazı özelliklerin (Şeker, askorbik asit, vb.) belirmesinde kullanılan kromatografik ve spektrofotometrik ölçümler, Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde bulunan ‘‘Hitachi LaChrom Elite HPLC’’ model yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (Şekil 3.4.) ve ‘‘Schimadzu Mini DV-1240’’ model spektrofotometre (Şekil 3.5.) ile Gazi Osman PaŐa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde bulunan ‘‘Perkin Elmer’’ model yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (Şekil 3.6.) cihazları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kimyasal analizlerde ve standart çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan kimyasal sarf maddeleri ‘‘Sigma Chemical Co.’’ (St Louis, MO, USA) firmasından temin edilmiştir.

## **3.2. Teknolojik Metotlar**

### **3.2.1. Stevia yapraklarından Rebaudioside A ve Stevioside eldesi**

Sera koşullarında yetiştirilen stevia bitkisinden elde edilen yaprakların ekstraksiyon işlemi ‘‘US Patent No 2006/0134292’’ [14]’e göre gerçekleŐtirilmiŐ ve Şekil 3.7.’deki



akış şemasına uygun olarak Rebaudoiside A (Reb A) ve Stevioside'in ekstraksiyonu ve saflaştırılması sağlanmıştır.



Şekil 3.4. Hitachi Lachrom Elite model HPLC



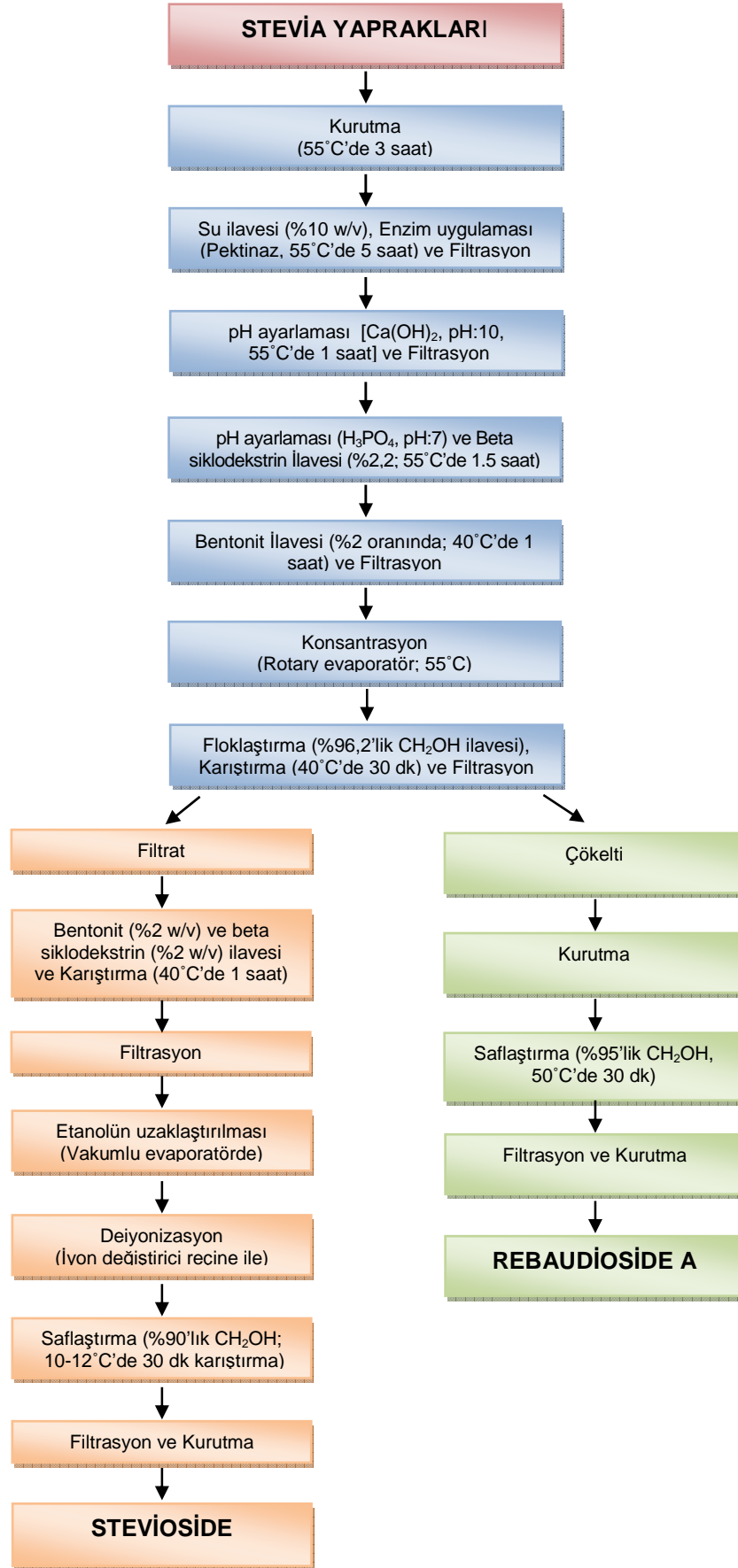
Şekil 3.5. Shimadzu mini DV-1240 spektrofotometre



Şekil 3.6. Perkin Elmer model HPLC

Bu amaçla, Stevia yaprakları vakumlu kurutucuda 55°C’de yaklaşık 3 saat boyunca, nem içeriği %5-8’e kadar kurutulmuştur. Daha sonra kurutulmuş stevia yapraklarından aşağıdaki şekilde ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.7.’den de görülebileceği gibi; ekstraksiyon işleminde, 1 kg kurutulmuş stevia yaprakları üzerine 10 L su (pH 6.5) ilave edilmiş ve 55°C’ye kadar ısıtılmıştır. Daha sonra, üzerine 20 g pektolitik enzim (PECTINEX Ultra-SPL) ilave edilmiş ve sıcaklığı 60°C’ye çıkarılarak 5 saat boyunca bekletilmiştir. Ekstraksiyon sonunda yapraklar filtre edilerek ayrılmış ve çözeltinin pH’sı kalsiyum hidroksit [Ca(OH)<sub>2</sub>] ile pH 10’a ayarlanmıştır. Daha sonra, çözeltinin sıcaklığı 55°C’ye çıkarılarak 1 saat bekletilmiştir. 1 saat sonunda yavaşça karıştırılarak oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve oluşan çökelti filtre edilerek ayrılmıştır. Filtratın pH’sı fosforik asit (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) ilavesi ile pH 7’ye ayarlanmış ve üzerine 220 g beta siklodekstrin ilave edilmiştir. Takiben, çözelti 55°C’de 1.5 saat süreyle karıştırılarak bekletilmiş ve ardından sıcaklığı 10°C’ye kadar soğutulmuş ve 1 saat süreyle bekletilmiştir. Oluşan çökelti filtre edilerek ayrılmıştır. Filtrat üzerine 200 g bentonit ilave edilmiş ve 40°C’de 1 saat bekletilmiştir. Oluşan çökelti filtre edilerek ayrılmış ve çözelti 50-55°C’de rotary evaporatörde konsantre edilerek şurup kıvamına getirilmiştir.



Şekil 3.7. Kurutulmuş Stevia yapraklarından Stevioside ve Rebaudioside A üretimi akış şeması



**Rebaudioside A'nın ayrılması ve saflaştırılması:** 50 g şurup üzerine 0.25 L %96.2'lik etanol çözeltisi ilave edilmiş ve 50°C'de 30 dakika süreyle yavaşça karıştırılmıştır. Daha sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve oluşan çökelti filtre edilerek ayrılmış ve kurutulmuştur. Oluşan tozun ağırlığının 14.2 g olduğu ve %84.4 Rebaudioside A, %11.2 Stevioside, %4.4 Rebaudioside C içerdiği belirlenmiştir.

Rebaudioside A'nın saflığını arttırmak amacıyla, elde edilen toz üzerine 1:5 oranında %95 lik etanol çözeltisi eklenmiş ve 50°C'de 30 dakika süreyle yavaşça karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığına soğutulmuş ve oluşan çökelti filtre edilerek ayrılmıştır. Elde edilen bu çökelti kurutulmuş ve Rebaudioside A eldesi gerçekleştirilmiştir.

**Stevioside'in ayrılması ve saflaştırılması:** Rebaudioside A'nın saflaştırılması sırasında ayrılan filtrat %2 (w/v) oranında bentonit ve %2 (w/v) oranında beta siklodekstrin ile karıştırılmış ve 40°C'de 1 saat bekletilmiştir. Elde edilen süspansiyon halindeki çözelti filtre edilmiş ve 1:1 oranında distile su ile karıştırılmıştır. Çözeltideki etanolün uzaklaştırılması için rotary evaporatör kullanılmıştır. Çözelti iyon değiştirici reçine kullanılarak deiyonize edilmiş ve konsantre edilerek kurutulmuştur. Oluşan 28.7 g tozun %93'ünün stevioside olduğu tespit edilmiştir. Saflığının artırılması amacıyla; elde edilen tozun üzerine 1:2 oranında %90'lık etanol çözeltisi ilave edilmiş ve 10-12°C'de 30 dakika süreyle yavaşça karıştırılmıştır. Oluşan çökelti filtre edilmiş ve vakum altında kurutulmuştur.

### 3.2.2. Meyveli içecek (Limonata) üretimi

Limonata üretiminde; Rebaudioside A, Stevioside, şeker (sakaroz), yapay tatlandırıcı (aspartam-asesülfam K) içeren dört ayrı formülasyon kullanılmıştır. Limonata üretimi sırasında kullanılan başlıca bileşenler ve kullanım oranları Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Meyveli içecek (Limonata) üretiminde kullanılan başlıca bileşenler ve kullanım oranları (%)

Hammadde Adı	Formülasyonlar ve Başlıca Bileşenler			
	I	II	III	IV
<b>Limon Suyu Konsantresi</b>	1.86	1.86	1.86	1.86
<b>Limon Emülsiyonu</b>	0.16	0.16	0.16	0.16
<b>Limon Aroması</b>	0.06	0.06	0.06	0.06
<b>Sitrik Asit</b>	0.44	0.44	0.44	0.44
<b>Sodyum Sitrata</b>	0.08	0.08	0.08	0.08
<b>Askorbik Asit</b>	0.02	0.02	0.02	0.02
<b>Rebaudioside A</b>	0.108	-	-	-
<b>Stevioside</b>	-	0.198	-	-
<b>Şeker</b>	-	-	12.68	-
<b>Aspartam</b>	-	-	-	0.029
<b>Asesülfam K</b>	-	-	-	0.0125

Tablo 3.1.'e göre hazırlanan limonata örnekleri, 80°C'de 10 dk pastörize edilmiştir. Pastörize edilen limonatalar 250 mL'lik ambalajlar içerisine doldurulduktan sonra +4°C'de depolanmıştır.

Elde edilen limonataların fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerinde raf ömrü sonunda meydana gelen değişmeleri belirlemek amacıyla; ürünler, etüv içerisinde 40°C'de 7 gün boyunca bekletilerek yaklaşık 6 aylık bir raf ömrüne denk bir yaşlandırma testi gerçekleştirilmiştir. Bu şekilde; taze hazırlanmış ve yaşlandırma testi uygulanmış örneklerde fiziksel, kimyasal ve duyuşal analizler uygulanmıştır.

### 3.2.3. Gazlı içecek (Kola) üretimi

Kola üretiminde; Rebaudioside A, Stevioside, şeker (sakaroz), yapay tatlandırıcı (aspartam-asesülfam K) içeren dört ayrı formülasyon kullanılmıştır. Kola üretimi sırasında kullanılan başlıca bileşenler ve kullanım oranları Tablo 3.2.'de verilmiştir.

Ürünlerin karbondioksitlendirilmesi işleminde "Soda Club Worldwide Trading Company" firması tarafından üretilen "Soda Stream Cihazı" kullanılmıştır (Şekil 3.8.). "Soda Stream" cihazında kullanılan karbondioksit tüpüne karbondioksit

gazının dolusunda; “Linde Gaz A.Ş.” firmasından temin edilen 35 kg’lık karbondioksit tüpü ve gaz aktarımını sağlayacak özel bir aparat kullanılmıştır. (Şekil 3.9.) Böylelikle, karbondioksit tüplerine 250 gr karbondioksit gazı dolumu yapılmıştır.

Tablo 3.2. Gazlı içecek (Kola) üretiminde kullanılan başlıca bileşenler ve kullanım oranları (%)

Hammadde Adı	Formülasyonlar ve Başlıca Bileşenler			
	I	II	III	IV
<b>Kola Base</b>	0.2	0.2	0.2	0.2
<b>Fosforik Asit</b>	0.1	0.1	0.1	0.1
<b>Karbondioksit</b>	0.84	0.84	0.84	0.84
<b>Rebaudioside A</b>	0.065			
<b>Stevioside</b>		0.098		
<b>Şeker</b>			9.4	
<b>Aspartam</b>				0.023
<b>Asesülfam K</b>				0.01



Şekil 3.8. Soda stream cihazı ve karbondioksit tüpü



Şekil 3.9. Soda Stream cihazı karbondioksit tüpüne CO<sub>2</sub> gazı dolumu

Karbodioksit doldurulan tüp cihaza yerleştirilmiş ve cihazın 1 L'lik özel su kabı soğuk su ile doldurulmuştur. Hazırlanan karbodioksitli su ile Tablo 3.2'de belirtilen formülasyonlar kullanılarak hazırlanan şuruplar 5:1 oranında karıştırılarak 250 mL'lik pet şişelere dolumu yapılmıştır (Şekil 3.10.). Hazırlanan ürünler +4°C'de depolanmıştır. Ayrıca, limonata da olduğu gibi hazırlanan ürünlere 40°C'de 7 gün süreyle yaşlandırma testi uygulanmıştır.

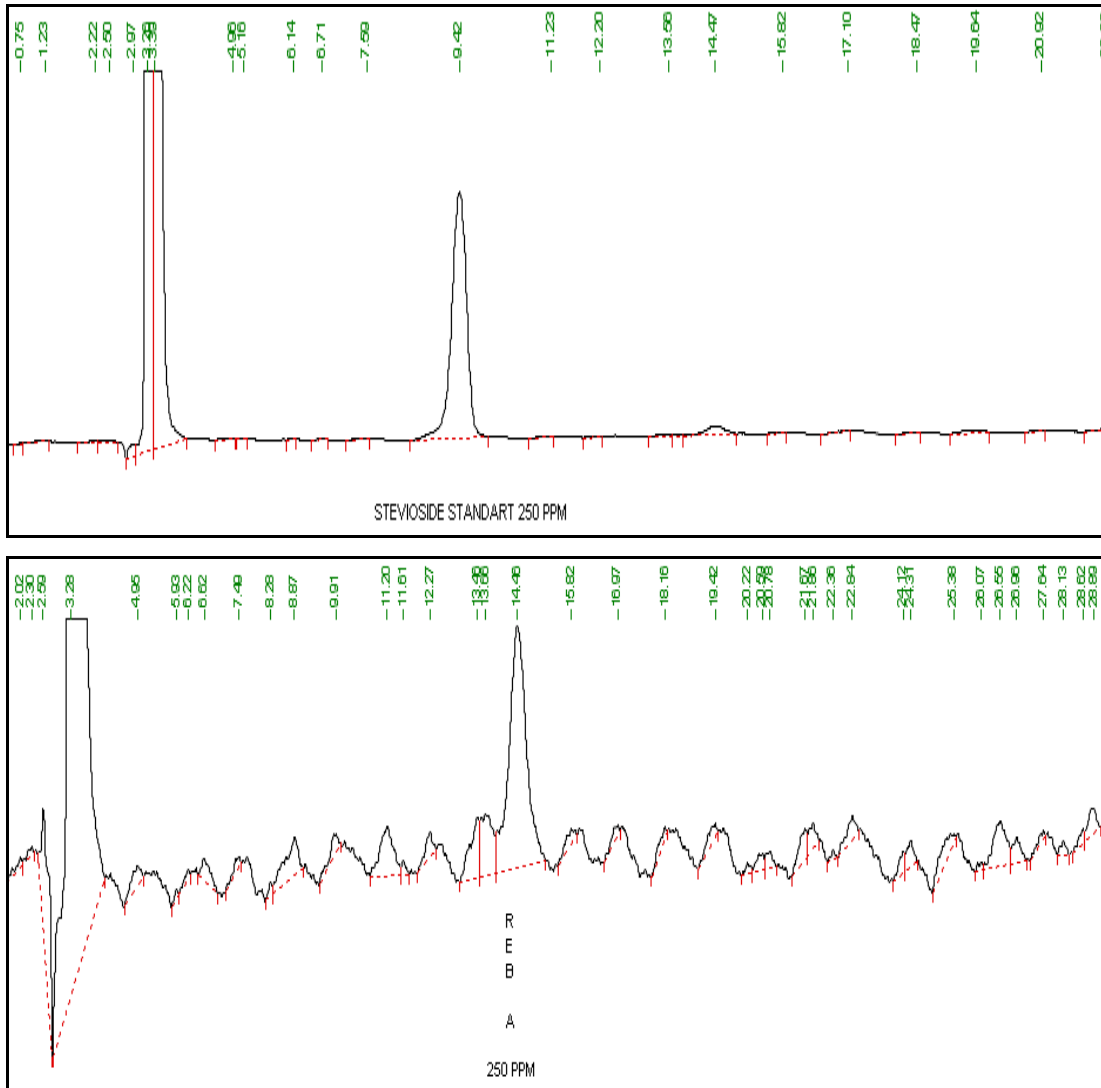


Şekil 3.10. Pet Şişe (250 ml)

### 3.3. Analitik Metotlar

#### 3.3.1. Stevia'dan elde edilen Rebaudioside A ve Stevioside glikozitlerin analizi

S.Rebaudiana Bertoni bitkisinden elde edilen ekstraktlar ile gazlı ve gazsız içeceklerdeki Steviol glikozitlerin tayini, Bartolome ve ark. [21]'na göre yapılmış, ancak analizde piklerin daha iyi ayırımını sağlamak amacıyla yöntemde bazı değişiklikler yapılmıştır. Elde edilen örneklerdeki glikozit miktarları, örneklerin alıkonma zamanına bağlı olarak tespit edilen pik alanlarına göre (Şekil 3.11.), daha önce hazırlanan Stevioside ve Rebaudioside A standart grafiklerinden hesaplanmış ve miktarlar mg/100g cinsinden belirtilmiştir [21].



Şekil 3.11. Stevioside ve Rebaudioside A'ya ait standart çözeltilerin HPLC kromatogramları

HPLC cihazında kullanılan kromatografi koşulları aşağıda verilmiştir:

Kromatograf	: HPLC (Perkin Elmer Series 200)
Dedektör	: Refraktif index (RI) detektörü (Perkin Elmer Series 200)
Kolon	: ChrometiSIL Spheribond amino kolon (250 x 4,6 mm; 5 µm)
Kolon sıcaklığı	: 30°C
Mobil faz çözeltisi	: %80 asetonitril + %20 saf su
Akış hızı	: İzokratik akış, 1 mL/dakika
Enjeksiyon hacmi	: 20 µL
İşlem süresi	: 25 dk

### 3.2.2. Askorbik asit analizi

Gazsız içeceklere (Limonata) ait örneklerin askorbik asit içeriğinin belirlenmesi, Kola (2010) tarafından uygulanan yöntemle göre yapılmıştır [22].

Limonata örneklerinden 5 mL alınarak test tüpüne aktarılmış ve üzerine 5 mL %2.5'lik m-fosforik asit çözeltisi eklenmiş ve karışım "Hettich Universal 320-R model" santrifüjde 10 dakika süre ile santrifüjlenmiştir. Santrifüj tüpündeki berrak kısımdan 0.5 mL alınmış ve %2.5'lik m-fosforik çözeltisi ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Bu karışım, 45 µm'lik teflon filtreden (Chromafil® Xtra PET-45/25 0.45 µm) geçirilmiş ve viallere doldurularak HPLC cihazında askorbik asit analizi gerçekleştirilmiştir. Askorbik asitlerin tanımlanmasında ve miktar tayininde askorbik asit standart çözeltisinin alıkonma süreleri ve konsantrasyonlarına göre kıyaslama yapılmıştır. Elde edilen bulgular mg/100 mL olarak ifade edilmiştir. HPLC cihazında kullanılan kromatografi koşulları (Şekil 3.12.) ve standart çözeltilere ait HPLC kromatogramı (Şekil 3.13.) aşağıda verilmiştir:

Kromatograf	: HPLC (Hitachi LaChrom Elite HPLC)
Dedektör	: DAD detektör (L-2455 Diode Array Detector)
Kolon	: Phenomenex Luna 5u C18 kolon (250×4.6 mm ID)
Kolon sıcaklığı	: 20°C
Dalga boyu	: 244 nm

Mobil faz çözeltisi : 3% metanol içeren 0.002 M'lık  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  (diamonyum hidrojen fosfat) çözeltisi

Akış hızı : İzokratik akış, 1.5 mL/dakika

Enjeksiyon hacmi : 10  $\mu\text{L}$

İşlem süresi : 10 dakika

### 3.3.3. Nem tayini

Nem tayini, “And” marka “Moisture Analyzer, MS-70” nem tayin cihazı kullanılarak 105°C’de gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sırasında, örneğin kurumadde kabı içerisinde homojen olarak dağılması ve yanmasını engellemek amacıyla sıvı gıdalar için kullanılan “Glass Fiber Sheet (AND AX-MX-32-2, Ø 78 mm)” kullanılmış ve sonuçlar % olarak ifade edilmiştir.

### 3.3.4. Suda çözünür kurumadde miktarı

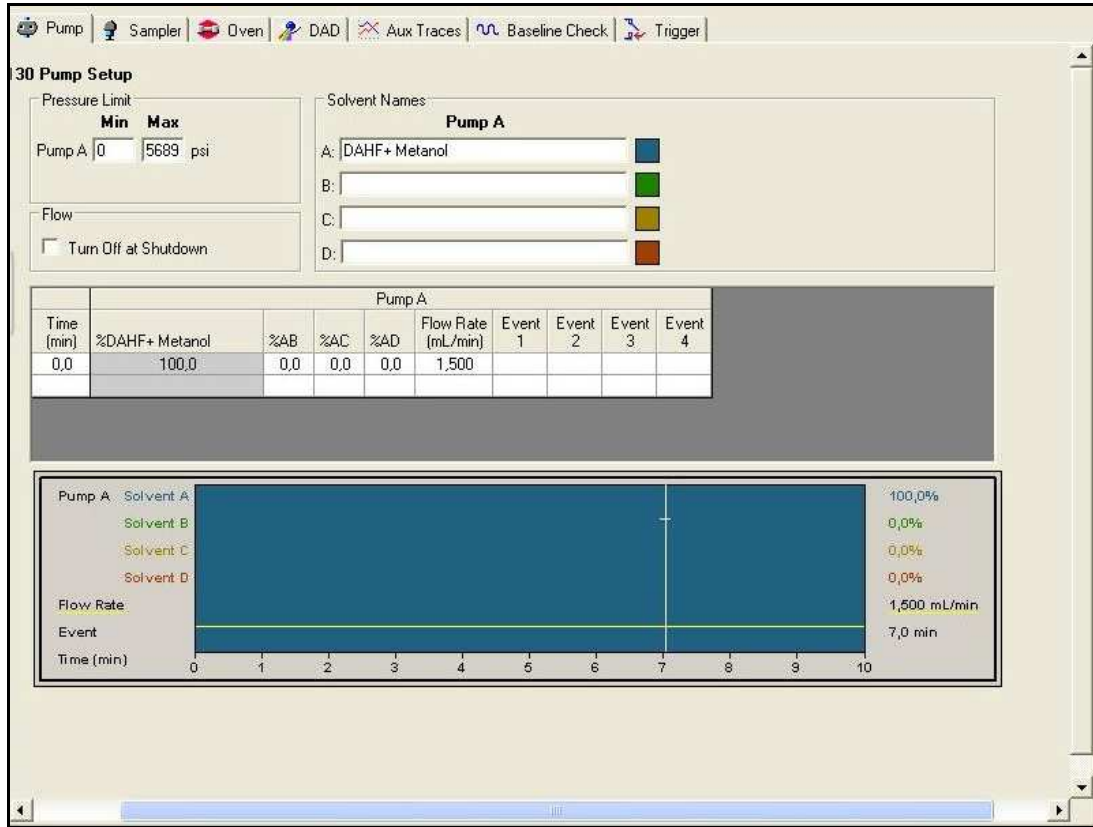
Suda çözünür kurumadde (SÇKM) miktarı, Abbe refraktometresi (WYA marka) ile ölçülmüş ve sıcaklık (20°C) ile asitlik değerleri esas alınarak gerekli düzeltmeler yapılmıştır [23]. Elde edilen bulgular °Briks olarak ifade edilmiştir.

### 3.3.5. Titrasyon asitliği

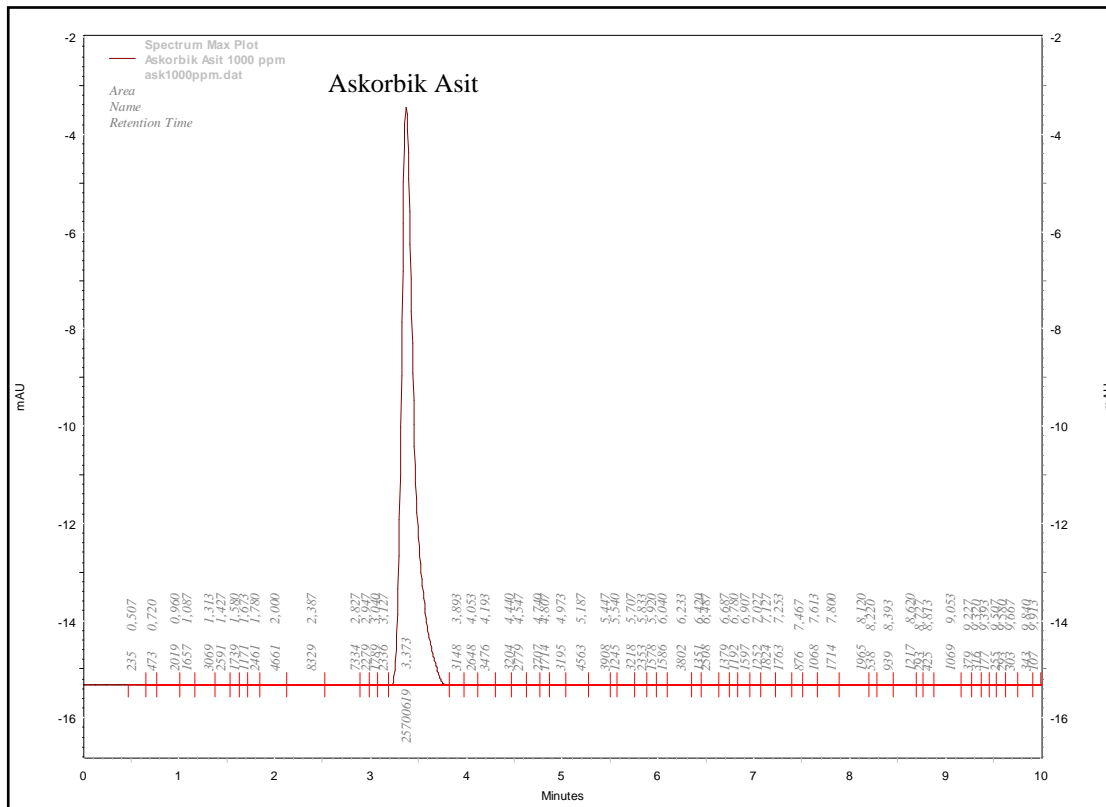
Titrasyon asitliği (TA), potansiyometrik titrasyon yöntemine göre [24] yapılmıştır. Titrasyon asitliği tayinde, homojen hale getirilen içecek örneklerinden 20 mL alınarak 0.1 N NaOH çözeltisi ile pH 8.1’e kadar titre edilmiş ve sonuçlar susuz sitrik asit cinsinden g/100 mL olarak ifade edilmiştir.

### 3.3.6. pH

pH ölçümlerinde, homojen hale getirilen kola ve limonata örneklerinden 100 mL’lik behere 20 mL alınarak pH metre (Hanna pH211) yardımı ile pH değerleri ölçülmüştür [25].



Şekil 3.12. Askorbik asit analizinde kullanılan izokratik akış ve HPLC koşulları



Şekil 3.13. Askorbik asit standart çözeltisinin HPLC kromatogramı



### 3.3.7. Tat dengesi

Tat dengesi, ölçülen suda çözünür kurumadde değerlerinin (SÇKM), titrasyon asitliği (TA) değerlerine bölünmesi (SÇKM/TA) sureti ile hesaplanmıştır [26].

### 3.3.8. Renk

Gazlı (Kola) ve gazsız (Limonata) içeceklerde renk ölçümünde kolorimetre (Minolta, model CR-400), CIE L\*, a\* ve b\* sistemi kullanılarak L\*, a\* ve b\* değerleri belirlenmiştir. Renk farklılıkları (kroma),  $C = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$  formülü yardımıyla hesaplanmıştır [27]. Parlaklık (hue angle ( $^{\circ}h$ )) dereceleri ise  $h = \arctanjant (b^*/a^*)$  veya  $\tan^{-1} (b^*/a^*)$  formüllerine göre hesaplanmıştır [28].

### 3.3.9. Hidroksimetilfurfural (HMF) Tayini

Taze hazırlanmış ve yaşlandırma testi uygulanmış limonata örneklerinde HMF miktarının belirlenmesi, Cemeroğlu (2007) tarafından uygulanan yöntemle yapılmıştır [29]. Bu amaçla, 50 mL'lik bir balon joje içerisine 25 mL içecek örneği ile 10 mL saf su, 1 mL Carrez I ve 1 mL Carrez II çözeltileri ilave edilip saf su ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. 10 dakika süreyle bekletilen örnekler daha sonra kaba filtre kağıdından süzülmüştür. Seyreltilen ve filtre edilen örnekten 2 test tüpüne 2'şer mL aktarılıp, her iki tüpe 5'er mL p-toluidin çözeltisi eklenmiştir. Tüplerden şahit olarak kullanılan birinci tüpe 1.0 mL saf su, ikinci tüpe 1.0 mL barbiturik asit çözeltisi ilave edilmiştir. Örneklerin absorbansı şahide karşı 550 nm'de UV/VIS spektrofotometrede ölçülmüştür. HMF standart grafiğinden örnekteki HMF miktarı belirlenmiş ve sonuçlar mg/L olarak ifade edilmiştir.

### 3.3.10. Duyusal analizler

Kola ve Limonata formüllerine ait örneklerin tat, koku, renk ve görünüm yönünden duyuşal özellikleri British Nutrition Foundation (2001) tarafından belirtilen 5 nokta hedonik skala yöntemi ile belirlenmiştir [30]. Duyusal analizler sırasında kullanılan değerlendirme formu ve değerlendirme kriterleri Ek-1 ve Ek-2'de belirtilmiştir.

### 3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Denemelerden elde edilen veriler, SAS istatistiksel analiz paket programı (The SAS System for Windows v 9.13, SAS Institute Inc.; SAS, 2002) ile tesadüf parselleri deneme planına göre varyans analizine tabi tutulmuş, farklı bulunan değerler Duncan çoklu karşılaştırma yöntemi ile belirlenmiştir [31].

İstatistiksel değerlendirme sonucunda, 0.01 ya da 0.05 güven sınırına göre birbirinden farklı önemli bulunan değerler, ilgili tablolarda farklı harflerle işaretlenmişlerdir.

## **BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA**

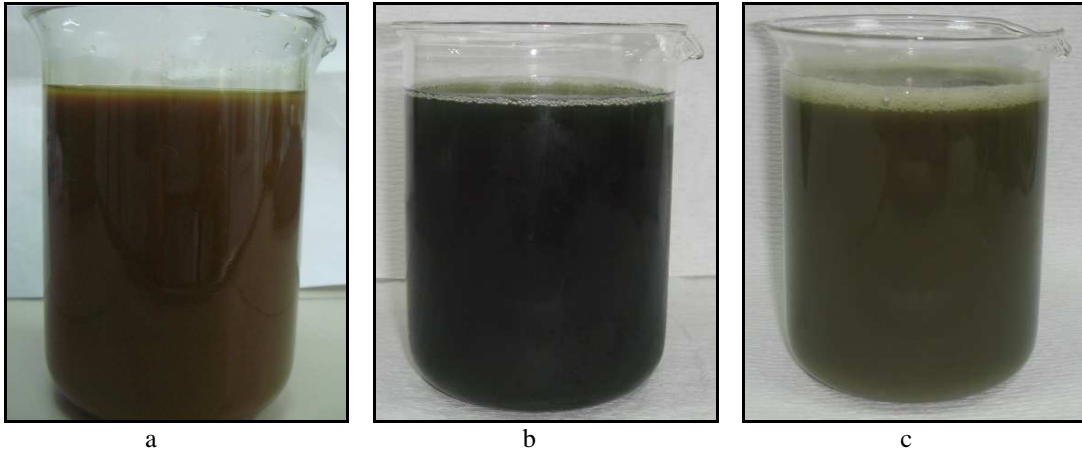
“Stevia rebaudiana Bertoni” bitkisinden elde edilen Stevioside ve Rebaudioside A kullanılarak üretilen gazlı (Kola) ve gazsız içeceklerin (Limonata), içecek sanayi açısından önemli bazı özellikleri ile raf ömrü sırasında meydana gelen değişimler ve elde edilen bulgular bu kısımda ele alınmıştır. Bunun yanısıra; Stevioside ve Rebaudioside A ile üretilen ürünlerin, şeker ve yapay tatlandırıcı (aspartam-asesülfam K) kullanılarak üretilen içeceklerle de kıyaslanması yapılmıştır.

### **4.1. Stevia Yapraklarından Rebaudioside A ve Stevioside Eldesi**

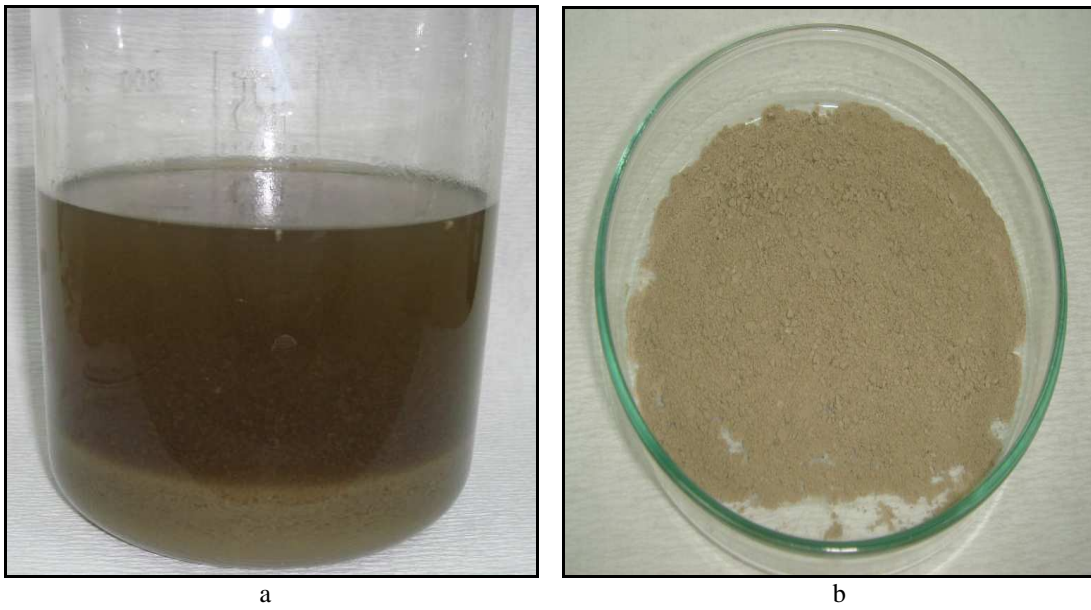
Sera koşullarında yetiştirilen Stevia bitkisinden elde edilen taze yaprakların nem miktarının ortalama %82.6 olduğu belirlenmiştir. Toplanan taze stevia yaprakları 55°C’de 3 saat süreyle kurutulmuş ve kurutulan yaprakların nem oranı ortalama %6.2 olarak tespit edilmiştir.

Metot kısmında belirtilen akış şemasına (bkz. Syf 31, Şekil 3.7.) göre; her ekstraksiyon işleminde 100 g kurutulmuş Stevia yaprağı kullanılarak, Rebaudioside A ve Stevioside ekstraksiyonu sağlanmıştır. Ekstraksiyon işleminde organik ve inorganik kalıntıların (örneğin; klorofiller, ksantofiller,  $\beta$ -karotenler gibi renk pigmentleri, proteinler, organik asitler, reçineler, sesquiterpen laktonlar, vb.) ayrıştırılmasında beta siklodekstrin ve bentonit, çözeltilerin pH’larının ayarlanması amacıyla da  $\text{Ca(OH)}_2$  ve  $\text{H}_3\text{PO}_4$  çözeltileri kullanılmış ve bu kalıntılar çöktürülerek uzaklaştırılmıştır (Şekil 4.1.).

Filtre edilen ekstrakt üzerine etanol çözeltisi ilave edilerek Rebaudioside A ve Stevioside moleküllerinin metot kısmında belirtilen akış şemasına (bkz. Syf 31, Şekil 3.7.) göre ayrı ayrı çöktürülmesi sağlanmıştır. Çöken glikozitler kurutularak toz haline getirilmiştir (Şekil 4.2.)



Şekil 4.1. Kurutulmuş Stevia yapraklarından Rebaudioside A ve Stevioside'nin ekstraksiyonunda ayırıştırma ve çöktürme işlemleri (a-  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , b- betasiklodekstrin, c- bentonit)



Şekil 4.2. Etanol ile glikozitlerin çöktürülmesi (a) ve toz halindeki glikozit bileşenleri (b)

Steviol glikozitlerin (Rebaudioside A ve Stevioside) ekstraksiyonunda kullanılan yöntemin özellikle renk maddelerinin uzaklaştırılmasında fazla etkili olmadığı ve elde edilen Rebaudioside A ve Stevioside glikozitlerin renklerinin beklenenin aksine (beyaz renk) daha koyu renkli olduğu görülmüştür. Bu nedenle, saflaştırma işlemlerinin daha etkin bir şekilde gerçekleştirilmesinin ve kullanılan ekstraksiyon işleminin geliştirilmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir.

#### 4.1.1. Stevia ekstraktından elde edilen Rebaudioside A ve Stevioside miktarları

Ekstraksiyon işlemi sonunda, 100 g kurutulmuş stevia yaprağından elde edilen toplam stevia ekstraktının içerdiği Stevioside ve Rebaudioside A miktarları (g) ve oranları (%) Tablo 4.1.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.1. Kurutulmuş Stevia yapraklarından (100 gr) elde edilen ortalama glikozit miktarları

Glikozitin Adı	Elde Edilen Ekstraktaki Oranları	
	Miktar (g)	Miktar (%)
<b>Rebaudioside A</b>	0.938	50.98
<b>Stevioside</b>	0.902	49.02
<b>TOPLAM</b>	1.840	100.00

Tablo 4.1.'in incelenmesiyle de görülebileceği gibi; 100 g kuru stevia yaprağından ortalama olarak %1.84 stevia ekstraktı elde edildiği ve bunun yaklaşık %51'inin Rebaudioside A ve %49'unun da Stevioside'den oluştuğu belirlenmiştir.

“US Patent No 2006/0134292” yöntemi ile 1 kg kuru Stevia yaprağına uygulanan ekstraksiyon işlemi sonunda, 10.1 g Rebaudioside A ve 26.7 g Stevioside elde edildiği belirtilmiştir [14]. Bu yöntemle göre elde edilen toplam stevia ekstraktının kurumadde esasına göre %3.7 olduğu ve bunun da %27.45'inin Rebaudioside A, %72.55'inin de Stevioside'den meydana geldiği tespit edilmiştir.

Yapılan ekstraksiyon sonunda elde edilen stevia ekstraktının “US Patent No 2006/0134292” yöntemine göre elde edilenden %49.7 oranında daha az olduğu belirlenmiştir. Elde edilen Rebaudioside A miktarının ise yaklaşık 1.9 kat daha fazla (~%54), Stevioside miktarının ise yaklaşık %68 oranında daha az olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.1.2. Meyveli içeceklerde (Limonata) Rebaudioside A ve Stevioside kullanımı

Rebaudioside A ve Stevioside ile hazırlanan taze ve yaşlandırma testi uygulanmış limonata örneklerindeki Stevioside ve Rebaudioside A miktarları Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Taze ve yaşlandırma testine tabi tutulan Limonata örneklerinin Rebaudioside A ve Stevioside Miktarları (g/L)

Glikozitin Adı	Depolama Koşulları	
	4°C'de 7 gün	40°C'de 7 gün
Rebaudioside A	2.44	2.55
Stevioside	0.23	0.26

Tablo 4.2.'den görülebileceği gibi göre; Rebaudioside A ile hazırlanan ve 4°C'de 1 hafta süreyle depolanan limonata örnekleri (taze) ortalama olarak 2.44 g/L rebaudioside A içerirken, 40°C'de 1 hafta süreyle depolanan örneklerin 2.55 g/L Rebaudioside A içerdiği tespit edilmiştir.

Stevioside ile hazırlanan limonata örneklerinde ise; 4°C'de 1 hafta süreyle depolanan limonata örneklerinin ortalama olarak 0.23 g/L Stevioside içerdiği, 40°C'de 1 hafta süreyle depolanan örneklerin ise ortalama olarak 0.26 g/L Stevioside içerdiği saptanmıştır (Tablo 4.2.).

Elde edilen bulguların birlikte değerlendirilmesi sonucu; hem Rebaudioside A hem de Stevioside içeren, 4°C ve 40°C'de 1 hafta süreyle depolanan örneklerde raf ömrü süresince belirgin bir farklılığın olmadığı görülmüştür.

#### 4.1.3. Gazlı içeceklerde (Kola) Rebaudioside A ve Stevioside kullanımı

Rebaudioside A ve Stevioside ile hazırlanan taze ve yaşlandırma testi uygulanmış gazlı bir içecek olan Kola örneklerindeki Stevioside ve Rebaudioside A miktarları Tablo 4.3.'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Taze ve yaşlandırma testine tabi tutulan Kola örneklerinin Rebaudioside A ve Stevioside Miktarları (g/L)

Glikozitin Adı	Depolama Koşulları	
	4°C'de 7 gün	40°C'de 7 gün
Rebaudioside A	0.60	0.82
Stevioside	0.14	0.16

Tablo 4.3.'ün incelenmesiyle de görülebileceği gibi; Rebaudioside A ile hazırlanan ve 4°C'de 1 hafta süreyle depolanan kola örnekleri ortalama olarak 0.60 g/L Rebaudioside A içerirken, 40°C'de 1 hafta süreyle depolanan örneklerin ise ortalama olarak 0.82 g/L Rebaudioside A içerdiği tespit edilmiştir. Buna göre; 4°C'de depolama sonucunda, Kola örneklerinde formülasyonda kullanılan Rebaudioside A miktarına göre %7.54 oranında azalma olduğu tespit edilmiştir. 40°C'de depolama sonucunda ise başlangıçta kullanılan Rebaudioside A miktarına göre kısmen Rebaudioside A içeriğinin arttığı, ancak, 4°C ve 40°C'deki bu sonuçların analiz hata sınırları içerisinde kaldığı ve başlangıçta kullanılan miktarlara göre önemli bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir.

Stevioside ile hazırlanan ve 4°C'de 1 hafta süreyle depolanan kola örnekleri ortalama olarak 0.14 g/L Rebaudioside A içerirken, 40°C'de 1 hafta süreyle depolanan örneklerin ise ortalama olarak 0.16 g/L Rebaudioside A içerdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.3.). 4°C'de depolanan Kola örneklerinde Stevioside miktarının başlangıçta kullanılan Stevioside miktarına göre %87.46, 40°C'de depolanan örneklerde ise %85.18 oranında azaldığı belirlenmiştir.

## 4.2. Limonata ve Kola Örneklerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri ve Depolama Süresince Meydana Gelen Değişmeler

### 4.2.1. Meyveli içeceklerin (Limonata) bazı özellikleri ve depolamanın etkileri

Rebaudioside A, Stevioside, şeker ve Aspartam-Asesülfam K kullanılarak hazırlanan taze ve yaşlandırma testi uygulanan limonata örneklerinin suda çözünür kurumadde

(°briks), titrasyon asitliği (g/100 mL), pH, tat dengesi (SÇKM/TA) ve L-askorbik asit değerleri Tablo 4.4.'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Limonata örneklerinin suda çözünür kurumadde, titrasyon asitliği, pH, tat dengesi ve L-askorbik asit değerleri

Özellikler	Depolama Koşulları	Kullanılan Tatlandırıcının Tipi			
		Rebaudioside A	Stevioside	Şeker	Aspartam-Asesülfam K
SÇKM (°briks)	4°C'de 7 gün	1.40 <sup>c(1)</sup>	1.50 <sup>b</sup>	13.10 <sup>a</sup>	1.40 <sup>c</sup>
	40°C'de 7 gün	1.40 <sup>c</sup>	1.50 <sup>b</sup>	13.10 <sup>a</sup>	1.40 <sup>c</sup>
Titrasyon Asitliği (g/100 mL)	4°C'de 7 gün	4.60 <sup>e</sup>	4.77 <sup>b</sup>	4.71 <sup>c</sup>	4.72 <sup>c</sup>
	40°C'de 7 gün	4.58 <sup>e</sup>	4.82 <sup>a</sup>	4.63 <sup>d</sup>	4.77 <sup>b</sup>
pH	4°C'de 7 gün	3.09 <sup>a</sup>	3.08 <sup>a</sup>	3.00 <sup>c</sup>	3.11 <sup>a</sup>
	40°C'de 7 gün	3.06 <sup>b</sup>	3.05 <sup>b</sup>	3.00 <sup>c</sup>	3.10 <sup>a</sup>
Tat Dengesi (SÇKM/TA)	4°C'de 7 gün	0.30 <sup>cd</sup>	0.32 <sup>c</sup>	2.78 <sup>b</sup>	0.30 <sup>cd</sup>
	40°C'de 7 gün	0.31 <sup>cd</sup>	0.31 <sup>cd</sup>	2.83 <sup>a</sup>	0.29 <sup>d</sup>
L-askorik asit (ppm)	4°C'de 7 gün	35.28 <sup>b</sup>	35.62 <sup>a</sup>	16.76 <sup>e</sup>	5.18 <sup>h</sup>
	40°C'de 7 gün	30.94 <sup>c</sup>	30.58 <sup>d</sup>	6.86 <sup>g</sup>	7.94 <sup>f</sup>

(1) Tabloda aynı satırda aynı harfle belirtilen değerler arasındaki farklar istatistiksel anlamda 0.05 güven sınırına göre önemsizdir.

Tablo 4.4.'ün incelenmesiyle de görülebileceği gibi; şekerli ürünlerin (~13 °briks) dışında diğer tatlandırıcılar (Rebaudioside A, Stevioside, Aspartam-Asesülfam K) ile hazırlanan limonata örneklerinin SÇKM içeriklerinin ortalama olarak 1.40-1.50 °briks arasında olduğu ve depolama süresince herhangi bir değişikliğin meydana gelmediği görülmüştür.

Benzer şekilde; Rebaudioside A, Stevioside, Şeker ve Aspartam-Asesülfam K ile hazırlanan limonata örneklerinin titrasyon asitliklerinin ortalama olarak 4.6-4.8 g/100 mL, pH değerlerinin ise ortalama olarak 3.0-3.1 arasında değiştiği ve depolama süresince herhangi bir değişikliğin meydana gelmediği belirlenmiştir (Tablo 4.4.).



Şekerli ürünlerin dışında, diğer tatlandırıcılar (Rebaudioside A, Stevioside, Aspartam-Asesülfam K) ile hazırlanan limonata örneklerinin tat dengesi değerlerinin ortalama olarak 0.3, şeker içeren örneklerin tat dengesi değerlerinin ise ortalama olarak 2.78-2.83 arasında olduğu ve depolama süresince limonata örneklerinin tat dengesi değerlerinde herhangi bir değişikliğin meydana gelmediği görülmüştür (Tablo 4.4.). Şeker içeren limonata örneklerinin tat dengesi değerlerinin diğer örneklere göre yüksek olmasının nedeni, formülde yer alan %12.7 oranındaki sakarozdan kaynaklanmaktadır.

Tablo 4.4.'ün incelenmesiyle de görülebileceği gibi; Rebaudioside A, Stevioside, Şeker ve Aspartam-Asesülfam K ile hazırlanan limonata örneklerinin içerdiği L-askorbik asit miktarlarının (ppm), 4°C ve 40°C'de 1 hafta süreyle yapılan depolama sonucu formülasyonda kullanılan L-askorbik asit miktarlarına (200 mg/L) göre azaldığı ve bu azalmanın en fazla özellikle yapay tatlandırıcı (Aspartam-Asesülfam K) kullanılarak hazırlanan limonata örneklerinde (%96.0-97.4 oranında) olduğu belirlenmiştir. Şeker içeren limonata örneklerindeki L-askorbik asit içeriğindeki azalmanın da %91.6-96.6 oranında olduğu saptanmıştır. Rebaudioside A ve Stevioside kullanılarak hazırlanan limonata örneklerindeki L-askorbik asit içeriğindeki azalmanın ise %82-85 oranında değiştiği tespit edilmiştir.

Elde edilen bulgulardan; 4°C'de depolama sonucunda, L-askorbik asit içeriğindeki parçalanma oranının Stevioside ve Rebaudioside A içeren ürünlerde en az düzeyde olduğu belirlenmiştir. Bunu, şeker ve yapay tatlandırıcı içeren limonata örneklerinin takip ettiği görülmüştür. Bununla birlikte; 4°C'de ve 40°C'de yapılan depolama sonucu, belirlenen L-askorbik asit değerlerinin birbirine yakın olduğu ve bu nedenle, depolama koşulları ve raf ömrü süresinin örneklerin askorbik asit içeriği üzerindeki etkisinin düşük olduğunu ve askorbik asidin büyük ölçüde ürüne uygulanan pastörizasyon işlemi sırasında parçalandığı kanısına varılmıştır.

#### **4.2.2. Gazlı içeceklerin (Kola) bazı özellikleri ve depolamanın etkileri**

Rebaudioside A, Stevioside, şeker ve Aspartam-Asesülfam K kullanılarak hazırlanan taze ve yaşlandırma testi uygulanan kola örneklerinin suda çözünür kurumadde

(°briks), titrasyon asitliği (g/100 mL), pH ve tat dengesi (SÇKM/TA) değerleri Tablo 4.5.'de verilmiştir.

Tablo 4.5. Kola örneklerinin suda çözünür kurumadde, titrasyon asitliği, pH ve tat dengesi değerleri

Özellikler	Depolama Koşulları	Kullanılan Tatlandırıcının Tipi			
		Rebaudioside A	Stevioside	Şeker	Aspartam-Asesülfam K
SÇKM (°briks)	4°C'de 7 gün	0.10 <sup>c(1)</sup>	0.20 <sup>b</sup>	9.60 <sup>a</sup>	0.10 <sup>c</sup>
	40°C'de 7 gün	0.10 <sup>c</sup>	0.20 <sup>b</sup>	9.60 <sup>a</sup>	0.10 <sup>c</sup>
Titrasyon Asitliği (g/100 ml)	4°C'de 7 gün	0.74 <sup>a</sup>	0.75 <sup>a</sup>	0.76 <sup>a</sup>	0.75 <sup>a</sup>
	40°C'de 7 gün	0.74 <sup>a</sup>	0.76 <sup>a</sup>	0.76 <sup>a</sup>	0.75 <sup>a</sup>
pH	4°C'de 7 gün	2.64 <sup>b</sup>	2.62 <sup>c</sup>	2.55 <sup>d</sup>	2.67 <sup>a</sup>
	40°C'de 7 gün	2.64 <sup>b</sup>	2.61 <sup>c</sup>	2.56 <sup>d</sup>	2.67 <sup>a</sup>
Tat Dengesi (SÇKM/TA)	4°C'de 7 gün	0.14 <sup>d</sup>	0.27 <sup>c</sup>	12.92 <sup>a</sup>	0.13 <sup>d</sup>
	40°C'de 7 gün	0.14 <sup>d</sup>	0.27 <sup>c</sup>	12.68 <sup>b</sup>	0.13 <sup>d</sup>

(1) Tabloda aynı satırda aynı harfle belirtilen değerler arasındaki farklar istatistiksel anlamda 0.05 güven sınırına göre önemsizdir.

Tablo 4.5.'in incelenmesiyle de görülebileceği gibi; şekerli ürünlerin (~10 °briks) dışında diğer tatlandırıcılar (Rebaudioside A, Stevioside, Aspartam-Asesülfam K) ile hazırlanan kola örneklerinin SÇKM içeriklerinin ortalama olarak 0.1-0.2 °briks arasında olduğu ve depolama süresince herhangi bir değişikliğin meydana gelmediği görülmüştür. Stevioside, rebaudioside A ve aspartam-asesülfam K ile üretilen Kola örneklerinin SÇKM içeriklerinin, Limonata örneklerine göre daha düşük olmasının sebebinin, limonata formüllerinde yer alan yaklaşık %2 oranındaki limon suyu konsantrinden kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Rebaudioside A, Stevioside, Şeker ve Aspartam-Asesülfam K ile hazırlanan kola örneklerinin titrasyon asitliklerinin ortalama olarak 0.74-0.76 g/100 mL, pH değerlerinin ise ortalama olarak 2.55-2.67 arasında değiştiği ve depolama süresince herhangi bir değişikliğin meydana gelmediği belirlenmiştir (Tablo 4.5.).

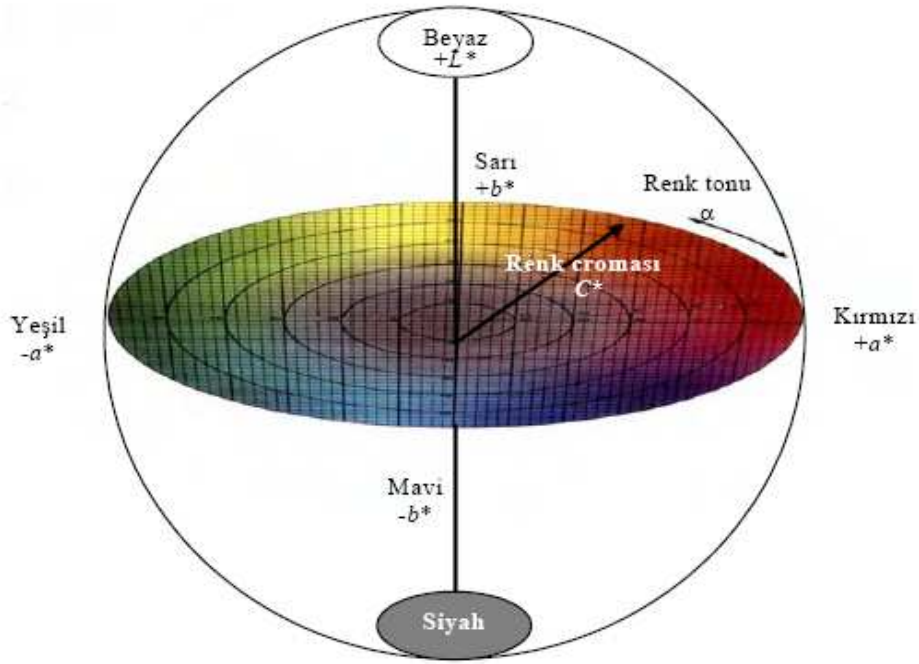
Şekerli ürünlerin dışında, diğer tatlandırıcılar (Rebaudioside A, Stevioside, Aspartam-Asesülfam K) ile hazırlanan kola örneklerinin tat dengesi değerlerinin ortalama olarak 0.13-0.27, şeker içeren örneklerin tat dengesi değerlerinin ise ortalama olarak 12.68-12.92 arasında olduğu ve depolama süresince kola örneklerinin tat dengesi değerlerinde herhangi bir değişikliğin meydana gelmediği görülmüştür. Şeker içeren limonata örneklerinin tat dengesi değerlerinin diğer örneklere göre yüksek olmasının nedeni, formülde yer alan %9.4 oranındaki sakarozdan kaynaklanmaktadır.

### **4.3. Limonata ve Kola örneklerinin renk değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişimler**

$L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  CIE (*Commission Internationale de L'Eclairage: Uluslararası Aydınlatma Komisyonu*) tarafından kabul edilen uluslararası renk uzayıdır. Bu uzayda  $L^*$  lüminisans veya parlaklığı temsil etmekte ve 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değişen değerler alabilmektedir.  $a^*$  ve  $b^*$  bileşenleri ise negatif değerler için yeşil ve maviyi, pozitif değerler için ise kırmızı ve sarıyı temsil etmektedirler.  $L$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  uzayında  $a^*$  ve  $b^*$  eksenleri kullanılarak matematiksel olarak hesaplanabilen Hue açısı ise  $0^\circ$  ile  $360^\circ$  arasında değişmekte olup,  $0^\circ$  kırmızı-mor,  $90^\circ$  sarı,  $180^\circ$  mavimsi-yeşil ve  $270^\circ$  ise mavi rengi temsil etmektedir (Şekil 4.3.). Literatürde CIE'nin önermiş olduğu  $L$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  uzayı veya HunterLab tarafından önerilen Lab uzayı gıdaların rengini temsil etmek için kullanılmaktadır.

#### **4.3.1. Meyveli içeceklerin (Limonata) renk değerleri ve depolamanın etkileri**

Rebaudioside A, stevioside, şeker ve aspartam-asesülfam K ile hazırlanan taze hazırlanmış ve yaşlandırma testi uygulanmış limonata örneklerinin renk ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , C ve Hue) değerleri Tablo 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4.3. L\*a\*b\* renk uzayının şematik görünümü [32]

Tablo 4.6. Limonata örneklerinin renk değerleri

Renk Değerleri	Depolama Koşulları	Kullanılan Tatlandırıcının Tipi			
		Rebaudioside A	Stevioside	Şeker	Aspartam-Asesülfam K
L*	4°C'de 7 gün	25.40 <sup>a(1)</sup>	23.03 <sup>d</sup>	23.36 <sup>c</sup>	22.34 <sup>g</sup>
	40°C'de 7 gün	22.39 <sup>f</sup>	22.11 <sup>h</sup>	24.20 <sup>b</sup>	21.61 <sup>e</sup>
a*	4°C'de 7 gün	-0.03 <sup>c</sup>	-0.19 <sup>e</sup>	0.02 <sup>b</sup>	-0.13 <sup>d</sup>
	40°C'de 7 gün	-0.22 <sup>f</sup>	-0.27 <sup>g</sup>	0.06 <sup>a</sup>	-0.21 <sup>ef</sup>
b*	4°C'de 7 gün	9.02 <sup>a</sup>	6.98 <sup>d</sup>	7.71 <sup>c</sup>	6.64 <sup>e</sup>
	40°C'de 7 gün	6.60 <sup>f</sup>	6.14 <sup>g</sup>	8.12 <sup>b</sup>	5.90 <sup>h</sup>
Chroma	4°C'de 7 gün	8.99 <sup>a</sup>	6.93 <sup>d</sup>	7.79 <sup>c</sup>	6.60 <sup>e</sup>
	40°C'de 7 gün	6.59 <sup>e</sup>	6.07 <sup>f</sup>	8.11 <sup>b</sup>	5.84 <sup>g</sup>
Hue	4°C'de 7 gün	89.81 <sup>b</sup>	88.18 <sup>f</sup>	89.85 <sup>a</sup>	88.78 <sup>d</sup>
	40°C'de 7 gün	88.00 <sup>g</sup>	87.74 <sup>h</sup>	89.51 <sup>c</sup>	88.23 <sup>e</sup>

(1) Tabloda aynı satırda aynı harfle belirtilen değerler arasındaki farklar istatistiksel anlamda 0.05 güven sınırına göre önemsizdir.

Tablo 4.6.'nın incelenmesiyle de görülebileceği gibi; Rebaudioside A, stevioside, şeker ve aspartam-asesülfam K kullanılarak hazırlanan limonata örneklerinin renk değerlerinde ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Chroma, °Hue) önemli bir farklılığın olmadığı ve depolama sonucu renk değerlerinde çok az bir azalma meydana geldiği, ancak limonataların renklerinde belirgin bir farklılığın bulunmadığı saptanmıştır.

Hazırlanan limonataların renk değerlerine ilişkin  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  ve Chroma değerlerinin sırasıyla 21.6-25.4, (-)0.27- (+)0.06, 5.9-9.0 ve 5.8-9.0 arasında değiştiği görülmüştür (Tablo 4.6.). Hue değerlerinin ise, tüm limonata çeşitlerinde 87.74 ile 89.85 arasında olduğu hesaplanmıştır.

#### **4.3.2. Gazlı içeceklerin (Kola) renk değerleri ve depolamanın etkileri**

Rebaudioside A, stevioside, şeker ve aspartam-asesülfam K ile hazırlanan taze hazırlanmış ve yaşlandırma testi uygulanmış kola örneklerinin renk ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , C ve Hue) değerleri Tablo 4.7.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.7.'nin incelenmesiyle de görülebileceği gibi; renginin açıklığını ve parlaklığını ifade eden  $L^*$  değerinin en yüksek Rebaudioside A ile üretilen örneklerde olduğu (20.90), dolayısıyla diğer tatlandırıcılarla üretilen kola örneklerine göre daha açık bir renge sahip olduğu belirlenmiştir.  $L^*$  değeri açısından, diğer tatlandırıcılarla üretilen (stevioside, şeker ve aspartam-asesülfam K) kola örnekleri arasında belirgin bir farklılığın olmadığı ve  $L^*$  değerlerinin 13.31-14.06 arasında değiştiği görülmüştür. Bununla birlikte; yaşlandırma testi sonucunda, Rebaudioside A ile üretilen kola örneklerinin  $L^*$  değerlerinin %36.4 oranında azaldığı ve diğer tatlandırıcılarla üretilen örneklerin  $L^*$  değerlerinde ise herhangi bir değişimin olmadığı ve tüm örneklerin  $L^*$  değerlerinin 13.30 ile 13.90 arasında değiştiği saptanmıştır. Elde edilen bulgulardan, kola örneklerinin siyaha yakın koyu renklerde olduğu tespit edilmiştir.

Kola örneklerinin  $a^*$  değerlerinin 1.08 ile 3.07 arasında değiştiği ve kullanılan tatlandırıcılar arasında belirgin bir farklılığın bulunmadığı ve  $a^*$  değerinin en yüksek yapay tatlandırıcı kullanılan örneklerde olduğu saptanmıştır (Tablo 4.7.).

Yaşlandırma testi sonucunda Rebaudioside A ile üretilen kola örneklerinde a\* değerlerinin arttığı, diğer tatlandırıcılarla üretilenler de ise azalma olduğu belirlenmiştir. Ancak, bu artış ya da azalmaların önemli düzeyde olmadığı görülmüştür. b\* değerleri bakımından ise; Rebaudioside A ile üretilen kola örneklerinin b\* değerinin 9.46 olduğu, ancak yaşlandırma testi sonucu önemli düzeyde azalarak 1.86'ya düştüğü belirlenmiştir (Tablo 4.7). Bununla birlikte; diğer tatlandırıcılarla (stevioside, şeker ve aspartam-asesülfam K) üretilen kolaların b\* değerlerinin 1.77-1.91 arasında değiştiği ve yaşlandırma testi sonucunda örneklerin b\* değerlerinde kısmen bir azalma olduğu, ancak, bu azalmanın önemli olmadığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde, içeceklerde renk yoğunluğunu ifade eden Chroma değerlerinde de, b\*'deki gibi benzer bulgular elde edilmiştir.

Tablo 4.7. Kola örneklerinin renk değerleri

Renk Değerleri	Depolama Koşulları	Kullanılan Tatlandırıcının Tipi			
		Rebaudioside A	Stevioside	Şeker	Aspartam-Asesülfam K
L*	4°C'de 7 gün	20.90 <sup>a(1)</sup>	13.31 <sup>g</sup>	14.06 <sup>b</sup>	13.70 <sup>d</sup>
	40°C'de 7 gün	13.30 <sup>g</sup>	13.55 <sup>e</sup>	13.93 <sup>c</sup>	13.35 <sup>f</sup>
a*	4°C'de 7 gün	1.08 <sup>h</sup>	2.03 <sup>d</sup>	2.11 <sup>c</sup>	3.07 <sup>a</sup>
	40°C'de 7 gün	2.23 <sup>b</sup>	1.38 <sup>g</sup>	1.54 <sup>f</sup>	1.68 <sup>e</sup>
b*	4°C'de 7 gün	9.46 <sup>a</sup>	1.91 <sup>b</sup>	1.77 <sup>e</sup>	1.82 <sup>d</sup>
	40°C'de 7 gün	1.86 <sup>c</sup>	1.41 <sup>f</sup>	1.42 <sup>f</sup>	1.37 <sup>g</sup>
Chroma	4°C'de 7 gün	9.67 <sup>a</sup>	2.81 <sup>c</sup>	2.66 <sup>d</sup>	3.28 <sup>b</sup>
	40°C'de 7 gün	2.80 <sup>c</sup>	1.87 <sup>g</sup>	1.98 <sup>f</sup>	2.22 <sup>e</sup>
Hue	4°C'de 7 gün	83.88 <sup>a</sup>	44.57 <sup>c</sup>	38.90 <sup>d</sup>	29.61 <sup>g</sup>
	40°C'de 7 gün	38.47 <sup>e</sup>	46.95 <sup>b</sup>	44.59 <sup>c</sup>	35.48 <sup>f</sup>

(1) Tabloda aynı satırda aynı harfle belirtilen değerler arasındaki farklar istatistiksel anlamda 0.05 güven sınırına göre önemsizdir.

Tablo 4.7.'nin incelenmesiyle de görülebileceği gibi; rengin saflığını ve homojenliğini ifade eden Hue açısının 29.61-83.88 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Hue açısı değeri bakımından en yüksek değerin Rebaudioside A ile üretilen örneklerde olduğu ve bunu sırasıyla Stevioside, şeker ve yapay tatlandırıcı kullanılarak üretilen kola örneklerinin izlediği tespit edilmiştir. Dolayısıyla örneklerin kırmızı-mor renk değerlerinin yüksek olduğu görülmüştür. Yaşlandırma testi sonucunda; Rebaudioside A ile hazırlanan kola örneklerinin Hue değerlerinin %54.1 oranında azaldığı, buna karşın diğer tatlandırıcılarla (stevioside, şeker ve aspartam-asesülfam K) üretilen kolaların ise Hue değerlerinin kısmen arttığı ancak önemli düzeyde bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir.

#### 4.4. Meyveli İçeceklerde (Limonata) HMF Değerleri

Rebaudioside A, stevioside, şeker ve aspartam-asesülfam K ile hazırlanan taze hazırlanmış ve yaşlandırma testi uygulanmış limonata örneklerinin HMF miktarları Tablo 4.8.'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Limonata örneklerindeki HMF miktarları (mg/L)

Tatlandırıcının Tipi	Depolama Koşulları	HMF Miktarı (mg/L)
Stevioside	4°C'de 7 gün	0 <sup>c(1)</sup>
	40°C'de 7 gün	0 <sup>c</sup>
Rebaudioside A	4°C'de 7 gün	0 <sup>c</sup>
	40°C'de 7 gün	0.16 <sup>b</sup>
Şeker	4°C'de 7 gün	0.81 <sup>a</sup>
	40°C'de 7 gün	0.81 <sup>a</sup>
Aspartam-Asesülfam K	4°C'de 7 gün	0 <sup>c</sup>
	40°C'de 7 gün	0 <sup>c</sup>

(1) Tabloda aynı sütunda aynı harfle belirtilen değerler arasındaki farklar istatistiksel anlamda 0.05 güven sınırına göre önemsizdir.

Tablo 4.8.'in incelenmesiyle de görülebileceği gibi; şeker ile hazırlanan limonata örneklerinin, diğer tatlandırıcılarla hazırlananlara göre daha fazla HMF içerdiği tespit edilmiştir. Stevioside ve aspartam-asesülfam K ile hazırlanan limonatalarda 4°C'de

ve 40°C'de depolama sonucunda HMF oluşumu saptanamamıştır.. Rebaudioside A ile hazırlanan üründe ise 4°C'de depolama sonunda HMF oluşumu görülmezken, 40°C'de depolama sonunda HMF oluşumu tespit edilmiştir. Bununla birlikte oluşan HMF miktarının şekerli üründeki HMF miktarına göre yaklaşık %80 daha az olduğu belirlenmiştir.

#### 4.5. Duyusal Analiz Sonuçları

##### 4.5.1. Meyveli içeceklerin (Limonata) duyusal özellikleri ve depolamanın etkileri

Stevioside, Rebaudioside A, şeker ve aspartam-asesülfam K ile hazırlanan taze ve yaşlandırma testi uygulanmış limonata örneklerinin duyusal özelliklerinin değerlendirme sonuçları Tablo 4.9.'da verilmiştir.

Tablo 4.9. Limonata örneklerinin duyusal değerlendirme sonuçları

Kriterler	Depolama Koşulları	Kullanılan Tatlandırıcının Tipi			
		Rebaudioside A	Stevioside	Şeker	Aspartam-Asesülfam K
Tat	4°C'de 7 gün	3.50 <sup>b(1)</sup>	2.50 <sup>e</sup>	3.50 <sup>b</sup>	3.75 <sup>a</sup>
	40°C'de 7 gün	2.75 <sup>d</sup>	2.50 <sup>e</sup>	3.75 <sup>a</sup>	3.25 <sup>c</sup>
Koku	4°C'de 7 gün	4.00 <sup>a</sup>	3.50 <sup>b</sup>	4.00 <sup>a</sup>	4.00 <sup>a</sup>
	40°C'de 7 gün	3.00 <sup>d</sup>	3.25 <sup>c</sup>	4.00 <sup>a</sup>	3.25 <sup>c</sup>
Renk	4°C'de 7 gün	4.25 <sup>b</sup>	3.75 <sup>d</sup>	3.50 <sup>e</sup>	4.00 <sup>c</sup>
	40°C'de 7 gün	3.75 <sup>d</sup>	3.50 <sup>e</sup>	4.50 <sup>a</sup>	3.75 <sup>d</sup>
Görünüm	4°C'de 7 gün	4.25 <sup>a</sup>	3.75 <sup>c</sup>	3.75 <sup>c</sup>	4.25 <sup>a</sup>
	40°C'de 7 gün	4.00 <sup>b</sup>	4.25 <sup>a</sup>	4.25 <sup>a</sup>	4.00 <sup>b</sup>
Kabul edilebilirlik	4°C'de 7 gün	3.75 <sup>b</sup>	3.00 <sup>c</sup>	3.75 <sup>b</sup>	4.00 <sup>a</sup>
	40°C'de 7 gün	2.75 <sup>d</sup>	2.25 <sup>e</sup>	4.00 <sup>a</sup>	3.75 <sup>b</sup>

(1) Tabloda aynı satırda aynı harfle belirtilen değerler arasındaki farklar istatistiksel anlamda 0.05 güven sınırına göre önemsizdir.



Değerlendirme kriterleri (tat, koku renk, görünüm, kabul edilebilirlik), beğeni derecesine göre 1-5 arası puanlama sistemi kullanılarak değerlendirilmiştir (1: Çok kötü, 2: Kötü, 3: Orta, 4: İyi, 5: Çok iyi). Elde edilen bulgulara göre; genel itibarıyla, 4°C’de depolanan ürünlerden en çok beğenilen ürün yapay tatlandırıcı ile hazırlanan limonata örnekleri olmuştur. Rebaudioside A ve şeker ile hazırlanan ürünler ise aynı derecede beğenilmiştir. Stevioside ile hazırlanan örnekler ise en düşük puanı almıştır. Bununla birlikte; her ürün kendi içinde kıyaslandığında yaşlandırma testi uygulanan ürünlerin kabul edilebilirlik değerlerinin azaldığı görülmüştür. Bu azalmanın en fazla %26.6’lık oran ile Rebaudioside A ile hazırlanan limonata örneklerinde meydana geldiği tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla; %25 oranında azalma ile stevioside içeren örneklerin ve %6.25 oranında azalma ile yapay tatlandırıcı kullanılarak hazırlanan örneklerin izlediği belirlenmiştir.

#### **4.5.2. Gazlı içeceklerin (Kola) duyuşsal özellikleri ve depolamanın etkileri**

Stevioside, Rebaudioside A, şeker ve aspartam-asesülfam K ile hazırlanan taze hazırlanmış ve yaşlandırma testi uygulanmış kola örneklerinin duyuşsal özelliklerinin değerlendirme sonuçları Tablo 4.10’da verilmiştir.

Limonata örneklerinde olduğu gibi, kola örneklerinin duyuşsal özellikleri de (tat, koku, renk, görünüm, kabul edilebilirlik), beğeni derecesine göre 1-5 arası puanlama sistemi kullanılarak değerlendirilmiştir (1: Çok kötü, 2: Kötü, 3: Orta, 4: İyi, 5: Çok iyi). 4°C’de depolanan ürünlerden en çok beğenilen örnekler, sırasıyla şekerli, yapay tatlandırıcı, Rebaudioside A ve Stevioside içeren kola örnekleri olmuştur. Ayrıca, aynı tatlandırıcı ile hazırlanan örnekler depolama koşullarına göre kıyaslandığında, kabul edilebilirlik değerinin en fazla şekerli ürünlerde değişkenlik (% 14.3) gösterdiği belirlenmiştir. Bu değer, Rebaudioside A ile hazırlanan ürün için %5.3, stevioside ile hazırlanan ürün için %0.0 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.10. Kola örneklerinin duyuşal değerlendirme sonuçları

Kriterler	Depolama Koşulları	Kullanılan Tatlandırıcının Tipi			
		Rebaudioside A	Stevioside	Şeker	Aspartam-Asesülfam K
Tat	4°C'de 7 gün	3.4 <sup>d(1)</sup>	2.8 <sup>e</sup>	3.8 <sup>b</sup>	3.8 <sup>b</sup>
	40°C'de 7 gün	3.6 <sup>c</sup>	2.6 <sup>f</sup>	3.4 <sup>d</sup>	4.2 <sup>a</sup>
Koku	4°C'de 7 gün	4.2 <sup>b</sup>	4.0 <sup>c</sup>	4.2 <sup>b</sup>	4.0 <sup>d</sup>
	40°C'de 7 gün	3.8 <sup>d</sup>	3.2 <sup>e</sup>	4.2 <sup>b</sup>	4.4 <sup>a</sup>
Renk	4°C'de 7 gün	4.4 <sup>c</sup>	4.2 <sup>d</sup>	4.6 <sup>b</sup>	4.6 <sup>b</sup>
	40°C'de 7 gün	4.4 <sup>c</sup>	4.2 <sup>d</sup>	4.4 <sup>c</sup>	4.8 <sup>a</sup>
Görünüm	4°C'de 7 gün	4.6 <sup>b</sup>	4.0 <sup>e</sup>	4.6 <sup>b</sup>	4.8 <sup>a</sup>
	40°C'de 7 gün	4.2 <sup>d</sup>	4.0 <sup>e</sup>	4.4 <sup>c</sup>	4.8 <sup>a</sup>
Kabul edilebilirlik	4°C'de 7 gün	3.8 <sup>c</sup>	2.6 <sup>e</sup>	4.2 <sup>a</sup>	4.0 <sup>b</sup>
	40°C'de 7 gün	3.6 <sup>d</sup>	2.6 <sup>e</sup>	3.6 <sup>d</sup>	4.2 <sup>a</sup>

(1) Tabloda aynı satırda aynı harfle belirtilen değerler arasındaki farklar istatistiksel anlamda 0.05 güven sınırına göre önemsizdir.

## BÖLÜM 5. SONUÇ

Kuru Stevia yapraklarından ekstraksiyonla elde edilen Rebaudioside A ve Stevioside ile bu doğal tatlandırıcıların gazlı bir içecek olan “Kola” ve gazsız bir içecek olan “Limonata” (limonlu içecek)’da kullanılması ve bu içeceklerin raf ömrü süresince önemli bazı özelliklerinde meydana gelen değişimler birlikte değerlendirildiğinde;

- Ekstraksiyon işlemi sonunda, 100 g kuru stevia yaprağından ortalama olarak %1.84 stevia ekstraktı elde edildiği ve bunun yaklaşık %51’inin Rebaudioside A ve %49’unun da Stevioside’den oluştuğu,
- Rebaudioside A ve Stevioside ile hazırlanan limonata ve kola örneklerinde farklı depolama koşullarında, glikozit yapısındaki bileşenlerde belirgin bir farklılığın meydana gelmediği,
- Farklı tatlandırıcılar (Rebaudioside A, Stevioside, şeker ve Aspartam-Asesülfam K) ile hazırlanan limonata ve kola örneklerinde, 4°C ve 40°C’de depolama sonunda SÇKM, titrasyon asitliği, pH, tat dengesi ve renk (L, a\*, b\*, C ve Hue) değerlerinde önemli bir değişim olmadığı,
- Şeker ile hazırlanan ürünlerin sakaroz içermesi nedeni ile SÇKM ve tat dengesi değerlerinin, diğer tatlandırıcılar ile hazırlanan ürünlere göre daha yüksek olduğu,
- Limonata örneklerinin, 4°C ve 40°C’de 1 hafta depolama sonunda, içerdiği askorbik asit miktarının azaldığı ve azalmanın en fazla yapay tatlandırıcı ile hazırlanan üründe, en az ise Rebaudioside A ve Stevioside içeren ürünlere meydana geldiği ve askorbik asitteki parçalanmanın büyük oranda uygulanan ısıl işlem sırasında gerçekleştiği,

belirlenmiştir. Yapılan duyu analizler sonucunda ise;

- Limonata örneklerinde en fazla yapay tatlandırıcı ile hazırlanan ürünlerin beğenildiği ve Stevioside ile hazırlanan ürünlerin ise en düşük puanı aldığı,
  - Yaşlandırma testi sonunda, limonataların kabul edilebilirlik değerinde meydana gelen azalmanın en fazla Rebaudioside A ile hazırlanan ürünlerde olduğu ve en az azalmanın ise yapay tatlandırıcılı ürünlerde olduğu,
  - Kola örneklerinde ise en çok beğenilen ürünün şekerli ürünlerde olduğu, en az beğenilen ürünlerin ise Stevioside ile hazırlanan ürünler olduğu,
  - Yaşlandırma testi sonunda, şeker ile hazırlanan kola örneklerinde ürünün kabul edilebilirlik değerinin azaldığı (%14.3), Stevioside içeren kolalarda ise kabul edilebilirlik değerinin değişmediği,
- tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, Rebaudioside A, Stevioside, şeker ve yapay tatlandırıcılar ile hazırlanan ürünlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri arasında önemli bir farklılığın bulunmadığı, ürünlerin duyusal özellikleri incelendiğinde ise Stevioside ve Rebaudioside A ile hazırlanan ürünlerin beğeni derecesinin şekerli ve yapay tatlandırıcılı ürünlere göre düşük olmasına karşın, kabul edilebilirliklerinin yine de yüksek olduğu görülmüştür. Özellikle, yapraklara uygulanan ekstraksiyon yönteminin, glikozit bileşenlerinin miktarını ve saflık derecesini artırıcı yönde geliştirilmesiyle bu doğal tatlandırıcıların kabul edilebilirlik derecelerinin daha da artırılabilmesi düşünülmektedir. Bununla birlikte; Rebaudioside A ve Stevioside'nin doğal bir tatlandırıcı olarak birçok gıda maddesinde, özellikle içeceklerde ve sıvı gıdalarda, kolaylıkla kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- [1] İNANÇ, A.L. ve ÇINAR, İ., Alternatif Doğal Tatlandırıcı: Stevia, Gıda, Cilt: 34, Sayı: 6, Sayfa: 411-415, 2009.
- [2] YAPAR, B., Diyet Gıda Ürünleri, Dış Ticaret Şubesi Araştırma Merkezi, 2004.
- [3] PALA, M., Dünya Meyve Suyu Kongresi İstanbul'da Yapılıyor, Gıda Teknolojisi Dergisi, Cilt: 14, Sayı: 4, Sayfa: 4, 2010.
- [4] MEYED, Türkiye Meyve Suyu Endüstrisi İstatistik Değerlendirme 2000-2008, <http://www.meyed.org.tr>, 2010.
- [5] KKG, Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler Tebliği 2006/56, Türk Gıda Kodeksi, 2006.
- [6] KKG, Alkolsüz İçecekler Tebliği 2007/26, Türk Gıda Kodeksi, 2007.
- [7] YILMAZ, N., Meyve Suları. T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi, 2008.
- [8] YÜCEL, H., Türkiye Meyve Suyu Sektörü. Gıda Teknolojisi, Cilt: 14, Sayı: 4, Sayfa: 86-87, 2010.
- [9] NABORS, L.B., Alternative Sweeteners, Cilt: 3, Food Trade Press Ltd., Sayfa: 1-5, USA, 2001.
- [10] ANON., A Guide To Low-Calorie & No-Calorie Sweeteners, <http://www.thenibble.com/REVIEWS/diet/sweeteners.asp>, 2010.
- [11] ANON., Botanical Characters, [http://www.freewebs.com/stevia\\_egypt/generalinformation.htm](http://www.freewebs.com/stevia_egypt/generalinformation.htm), 2010.
- [12] SAVITA, S.M., SHEELA, K., SUNANDA, S., SHANKAR, A.G. ve RAMAKRISHNA, P., Stevia Rebaudiana – A Functional Component for Food Industry, Journal of Human and Ecology, Cilt: 15, Sayı: 4, Sayfa: 261- 264, 2004.

- [13] WALLIN, H., Steviol Glycosides Chemical and Technical Assessment. JECFA, Sayfa: 1-7, 2007.
- [14] ABELYAN, V.H., GHOSHIKYAN, V.T., MARKOSYAN, A.A., ADAMYAN, M.O. ve ABELYAN, L.A., Extraction, Separation and Modification of Sweet Glycosides From The Stevia Rebaudiana Plant, United States Patent Application Publication, US 2006 / 0134292 A1, Stevian Biotechnology Corporation, Sayfa: 1-19, Malezya, 2006.
- [15] PRAKASH, I., DUBOIS, G.E., CLOS, J.F., WILKENS, K.L. ve FOSDICK, L.E., Development of Rebiana, a Natural, Non-Caloric Sweetener, Food and Chemical Toxicology, Sayı: 46, Sayfa: 75 – 82, 2008.
- [16] KOVYLYAEVA, G.I., BAKALEINIK, G.A., STROBYKINA, I.YU., GUBSKAYA, V.I., SHARIPOVA, R.R., AL'FONSOV, V.A., KATAEV, V.E. ve TOLSTIKOV, A.G., Glycosides From Stevia Rebaudiana. Chemistry of Natural Compounds, Cilt: 43, Sayı: 1, Sayfa: 81-85, 2007.
- [17] VANEK, T., NEPOVIM, A. ve VALICEK, P., Determination of Stevioside in Plant Material and Fruit Teas, Journal of Food Composition and Analysis, Sayı: 4, Sayfa: 383-388, 2001.
- [18] FAO, Steviol Glycosides (INS 960). [http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/FACTSHEET\\_STEVIOLGLYCOSIDES\\_final1.pdf](http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/FACTSHEET_STEVIOLGLYCOSIDES_final1.pdf), 2010.
- [19] KROYER, G. Th., The Low Calorie Sweetener Stevioside: Stability and Interaction with Food Ingredients, Lebensm-Wiss. u. – Technology, Sayı: 32, Sayfa: 509 – 512, 1999.
- [20] CLOS, J.F., DUBOIS, G.E. ve PRAKASH, I., Photostability of Rebaudioside A and Stevioside in Beverages. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Sayı: 56, Sayfa: 8507 – 8513, 2008.
- [21] BARTOLOME, A.P., RUPEREZ, P. ve FUSTER, C., Pineapple fruit: "Morphological Characteristics, Chemical Composition And Sensory Analysis Of Red Spanish And Smooth Cayenne Cultivars". Food Chemistry, 53 75-79, 1995.
- [22] KOLA, O., Physical and Chemical Characteristics of the Ripe Pepino (*Solanum muricatum*) Fruit Grown in Turkey. Journal of Food, Agriculture & Environment, 8 (2): 168-171, 2010.
- [23] CEMEROĞLU, B., Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metodları. Biltav Yayıncılık, Ankara 1992.

- [24] IFFJP, 1968a. Determination of titratable acid. International Federation of Fruit Juice Producers (IFFJP). IFFJP, Analyses No: 3, 1968.
- [25] IFFJP, 1968b. Measurement of pH-value. International Federation of Fruit Juice Producers (IFFJP). IFFJP, Analyses No: 11, 1968.
- [26] ALTAN, A., 1981. Pastörize Portakal Suyu üretiminde ticari pektinaz preparatları. No:34, Ankara, Sayfa: 168-171.
- [27] MCGUIRE, R., Reporting of Objective Colour Measurements, Horticultural Science, Sayı: 27, Sayfa: 1254-1255, 1992.
- [28] HUYSKENS-KEIL, S., PRONO-WIDAYAT, H., LUDDERS, P. ve SCHREINER, M., Postharvest quality of pepino (*Solanum muricatum* Ait.) fruit in controlled atmosphere storage, Journal of Food Engineering, 77, 628-634, 2006.
- [29] CEMEROĞLU, B., Gıda analizleri. Kültür ve Turizm Bakanlığı Yayınları, s.167-172, 2007.
- [30] ANON, BNF Sensory Evaluation Hedonic Scale. British Nutrition Foundation, 2001.
- [31] SAS, JMP® User's Guide, Version 9.1.3. Cary, N.C.: SAS Inst. Inc., 2002.
- [32] SOYSAL, Y., İşletme ölçeğinde çeşitli tıbbi ve aromatik bitkilerin kurutulmasına yönelik bir araştırma. Ç. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Makineleri Anabilim Dalı doktora tezi. Adana, 2000.

## **EKLER**



Ek-1. Duyusal Değerlendirme Testi Formu

**DUYUSAL DEğERLENDİRME TESTİ**

ÜRÜN KODU	TAT	KOKU	RENK	GÖRÜNÜM	GENEL DEğERLENDİRME	YORUM
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						

Verilen örneklere 1-5 arasında puanlama yaparak, ekteki kriterlerine göre değerlendiriniz.

5: Çok İyi, 4: İyi, 3: Orta, 2: Kötü, 1: Çok Kötü

TEŞEKKÜRLER...

## DEğERLENDİRME KRİTERLERİ

### **Tat** \_\_\_\_\_ :

Ürüne özgü (hoş a giden) bir tat ve aroma  
Ürünün tat ve aromasının değişmesi veya baskılanması  
Üründe ağızda kalan bir tat oluşumu  
Üründe acılaşma oluşumu ve istenmeyen tat ve aroma oluşumu

### **Koku** \_\_\_\_\_ :

Ürünün kendine özgü kokusu  
Ürüne özgü kokunun değişmesi veya baskılanması  
Üründe istenmeyen koku oluşumu

### **Renk** \_\_\_\_\_ :

Ürünün kendine özgü rengi ve parlaklığı  
Ürünün renginin oksidasyon sonucu açılması  
Üründe esmerleşme meydana gelmesi

### **Görünüm** \_\_\_\_\_ :

Kola ürününün berrak olması, limonata ürününün ise bulanık olması  
Üründe tortu veya yabancı madde oluşumu

## ÖZGEÇMİŞ

Serpil Karaca, 13.11.1984'te Sakarya'da doğdu. İlk ve orta öğretimini Sakarya'da, lise eğitimini Balıkesir, Sırrı Yırcalı Anadolu Lisesi'nde tamamladı. Lisans eğitimini Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünde 2006 yılında tamamladı. 2007 – 2009 yılları arasında Ülker Della Gıda San. ve Tic. A.Ş.'de Ar-Ge Mühendisi olarak görev yaptı. 2008 yılında Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde yüksek lisans eğitimine başladı.