

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**STEVİA EKSTRAKTLARI KATKILANARAK HAZIRLANAN NEKTAR
VE MEYVELİ İÇECEKLERİN BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Melis YILDIZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2019

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**STEVİA EKSTRAKTLARI KATKILANARAK HAZIRLANAN NEKTAR
VE MEYVELİ İÇECEKLERİN BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Melis YILDIZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2019

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STEVİA EKSTRAKTLARI KATKILANARAK HAZIRLANAN NEKTAR
VE MEYVELİ İÇECEKLERİN BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ

Melis YILDIZ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 22/06/2017 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa KARHAN(Danışman)



Dr.Öğr.Üyesi MEHMET TORUN



Dr.Öğr.Üyesi Aslı Arslan KULCAN



ÖZET

STEVIA EKSTRAKTLARI KATKILANARAK HAZIRLANAN NEKTAR VE MEYVELİ İÇECEKLERİN BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Melis YILDIZ

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği

Danışman: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

Haziran 2019; 55 sayfa

Tatlandırıcılar günlük yaşamda yaygın kullanılan şekerlerin yerini almak üzere üretilen, aynı miktardaki şekerden daha tatlı olan ve daha az enerji içeren yapay veya doğal bileşiklerdir. Birçok tatlandırıcının yüksek oranlarda tüketimi laksatif etkiye neden olduğu ve sağlık üzerine olumsuz etkilerinin olması şüphesi ile alternatif kaynaklara gereksinim duyulmuştur. Sakkarozdan 200-300 kat daha fazla tatlı olması, insan sağlığı üzerine olumsuz bir etkisinin bulunmaması, düşük kalorili ve doğal olması, obezite, şeker hastalığı gibi hastalıklarla mücadelede destekçi olması nedeni ile Şeker otu olarak da bilinen *Stevia rebaudiana* bitkisi alternatif doğal tatlandırıcı olarak pek çok ülkede gıda formülasyonlarında yer almaktadır.

Literatürde stevia ekstraktları ile tatlandırılmış ürünlerin üretimi ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Çoğu araştırma genellikle çikolata, bisküvi, kurabiye, yoğurt, süt ve kahve formülasyonları üzerine yapılmıştır. Bu çalışmada farklı olarak saflaştırılmış rebaudiosit A yerine, daha düşük maliyetle ve daha sağlıklı olduğu düşünülen, su ile ekstrakte edilmiş ve ultrafiltrasyon ile zenginleştirilerek konsantre edilmiş bütün haldeki stevia ekstraktları kullanılarak uygun meyve bazlı içecek formülasyonlarının geliştirilmesi ve en iyi formülasyonun tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada öğütülmüş stevia yaprakları kullanılarak ekstraksiyon ve santrifüj işlemi yapılmış, ekstraktlar diafiltrasyon ve nanofiltrasyon işlemleri ile zenginleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi 1:10 yaprak:su oranında 40°C’de 30 dakikada, santrifüj işlemi 2900xg kuvvetinde 25°C’de 30 dakikada gerçekleştirilmiştir. Diafiltrasyon için 100 kDa ayırma sınırına sahip polietersülfon membran, nanofiltrasyon için 5 kDa ayırma sınırına sahip hidrosart membran kullanılmıştır. Diafiltrasyon sonucunda elde edilen permeat akıları 1:1 oranında karıştırılarak nanofiltrasyon işlemi uygulanmış ve ürün formülasyonlarında retentat akısı kullanılmıştır.

Meyve suyu üretimi için materyal olarak vişne, nar, portakal ve limon konsantreleri, zenginleştirilmiş stevia ekstraktı, şeker ve su kullanılmıştır. Stevia ekstraktının şeker eşdeğeri hesaplanarak %50, %30, %10 ve %0 enerjisi azaltılmış ürün formülasyonu geliştirilmiştir. İçecekler, nektarlar %35-50 ve meyveli içecekler (Limon) %10 meyve unsuru içecek şekilde üretilmiştir. Karıştırma ile homojen hale gelen içecekler cam şişelere doldurularak 4°C’de bekletilmiştir.

Üretilen içeceklerde; suda çözünür kuru madde, pH, titrasyon asitliği, renk analizi, duyusal analiz ve HPLC yöntemi ile steviosit ve reb A tayini yapılarak ürünlerin kimyasal kompozisyonu ve tüketici beğenisi belirlenmiştir. Elde edilen bulgular içecek formülasyonlarında kullanılan stevia ekstraktının otsu kokusunun ve acı tadının uzaklaştırılmasında diafiltrasyon ve nanofiltrasyon işlemlerinin başarılı olduğunu göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Meyve Suyu, Steviol glikozitler, Tatlandırıcı, Ultrafiltrasyon

JÜRİ: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

Dr.Öğr.Üyesi Mehmet TORUN

Dr.Öğr.Üyesi Aslı Arslan KULCAN

ABSTRACT

DETERMINATION OF SOME QUALITY CHARACTERISTICS OF NECTAR AND FRUIT DRINKS PREPARED WITH STEVIA EXTRACTS

Melis YILDIZ

MSc. Thesis in FOOD ENGINEERING

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

June 2019; 55 pages

Sweeteners are artificial or natural compounds produced to replace sugars commonly used in everyday life, which are sweeter than the same amount of sugar and contain less energy. Consumption at high levels of many sweeteners has caused laxative and negative health effects; so alternative sources were needed. *Stevia rebaudiana*, also known as sugar herb, is an alternative natural sweetener in many countries because it is 200-300 times more sweet than sucrose, has no negative effect on human health, it is low in calories and natural, it is favorable to the fight against diseases such as obesity and diabetes by food formulations.

There are studies on the production of products sweetened with stevia extracts in the literature. Most of the research was done on chocolate, biscuits, cookies, yogurt, milk and coffee. Differently in this study, it was aimed to develop the appropriate fruit juice based beverage formulations and to determine the best formulation according to the results of the analysis by using the complete stevia extracts, which were extracted with water and were enriched with ultrafiltration, considered to be healthier and less costly than rebaudioside A.

In this study, ground stevia leaves were extracted and centrifuged and the extracts were enriched the content with diafiltration and nanofiltration processes. Extraction process was carried out at a ratio of 1:10 leaves: water for 30 minutes at 40 °C, centrifugation process at 2900xg for 25 minutes at 25 °C. For diafiltration, a polyethersulfone membrane (100 kDa MWCO) and a hydrosart membrane (5 kDa MWCO) were used for nanofiltration. The permeates obtained as a result of diafiltration were mixed with 1:1 ratio and nanofiltration process was applied and retentate was used in product formulations.

For fruit juice production concentrated juices of sour cherry, pomegranate, orange and lemon, were reconstituted using stevia extract, sugar and water. The sugar equivalent of stevia extract was calculated and 50%, 30%, 10% and 0% energy reduced product formulation was developed. Drinks, nectars 35-50% and fruit drinks (Lemon) is produced to contain 10% fruit. The drinks which became homogeneous by mixing were filled into glass bottles and kept at 4 °C.

In addition to descriptive analyses such as water-soluble dry matter, pH value, titratable acidity, color and sensory analyses stevioside and rebA content of samples produced were determined by HPLC method. Thus, the chemical composition and consumer appreciation of products were determined. The results showed that diafiltration and nanofiltration processes were successful in removing the herbaceous odor and bitter aftertaste of stevia extract used in beverage formulations.

KEYWORDS: Fruit Juice, Steviol glycosides, Stweetener, Ultrafiltration

COMMITTEE: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

Assist. Prof. Dr. Mehmet TORUN

Assist. Prof. Dr. Aşlı Arslan KULCAN



ÖNSÖZ

Günümüzde şekerli gıdalara yönelik artan ilgi ve talep beraberinde çeşitli sağlık sorunlarını da getirmiştir. Bunların en önemlileri obezite ve diyabettir. Vücut ağırlığı kontrolünün sağlanması amacıyla şeker yerine kullanılan düşük kalorili yapay tatlandırıcıların tüketiminin sağlıklı olduğu konusunda hala bazı şüpheler vardır. Bu nedenle tüketiciler doğal ve sağlıklı tatlandırıcı arayışına girmiştir. Giderek dünya üzerinde üretimi ve tüketimi yaygınlaşan *Stevia rebaudiana* bitkisi ekstraktları, düşük kalorili ve tüketime uygunluğu ile doğal tatlandırıcı olarak pek çok üründe ekstrakt ve toz olarak çeşitli formlarda yer almıştır. Ülkemizde piyasaya arz edilen stevia içeren ürünlerin büyük bir bölümü ithal olarak temin edilmektedir. Yapılan bu çalışmanın ülkemizdeki stevia katkılı ürünlere dikkat çekmesini; stevia ekstraktlarının çeşitli gıda ürünlerinde kullanılarak marketlerde yerli üretim olarak yer almasına olanak sağlamasını dilerim.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa KARHAN'a, ekip arkadaşlarım, yakın dostlarım ve değerli hocalarıma, hammadde tedariklerinden dolayı Güney Agripark Bitki Araştırma ve Biyolojik Mücadele San. ve Tic. Ltd. Şti'ye ve Dimes Gıda San. ve Tic. A.Ş'ye, teşekkür ederim.

Her zaman maddi ve manevi açıdan yanımda olan, çalışmalarına devam etmemi sağlayan, beni bugünlere getiren canım aileme sonsuz teşekkür ve minnet sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	3
2.1. Stevia Bitkisi ve Özellikleri	3
2.2. Stevia Bitkisinden Ekstrakt Üretimi.....	6
2.3. Stevia Ekstraktlarının Saflaştırılması ve Zenginleştirilmesi	8
2.4. Stevia Katkılı Ürünler	10
3. MATERYAL VE METOT.....	13
3.1. Materyal.....	13
3.2. Metot	13
3.2.1. Stevia yapraklarından steviol glikozitlerin ekstraksiyonu.....	13
3.2.2. Stevia ekstraktları katkılanarak nektar ve meyveli içeceklerin üretimi.....	16
3.2.3. Analiz yöntemleri	17
3.2.3.1. Suda çözünür kuru madde tayini.....	17
3.2.3.2. pH tayini.....	18
3.2.3.3. Toplam asitlik tayini	18
3.2.3.4. Renk analizi	18
3.2.3.5. Duyusal analiz.....	18
3.2.3.6. Steviol glikozitlerin HPLC ile belirlenmesi.....	19
3.2.3.7. İstatistiksel analiz.....	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	22
4.1. Analiz Sonuçları	22
4.1.1. Tanımlayıcı analizler	22

4.1.2. Enerjisi azaltılmış meyve bazlı içeceklerin renk değerlerinin karşılaştırılması	24
4.1.3. Enerjisi azaltılmış meyve bazlı içeceklerin duyuşal değerdendirmeş	27
4.1.4. Enerjisi azaltılmış meyve bazlı içeceklerin steviosit ve rebaudiosit A miktarları.....	33
5. SONUÇLAR	36
6. KAYNAKLAR.....	38
7. EKLER.....	43
ÖZGEÇMİŞ	

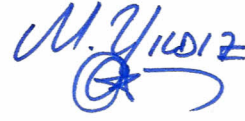


AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Stevia Ekstraktları Katkılanarak Hazırlanan Nektar ve Meyveli İçeceklerin Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

20/06/2019

Melis YILDIZ



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°Bx	: Brix
dk	: Dakika
g	: Gram
kDa	: Kilodalton
L	: Litre
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
nm	: Nanometre
P	: Permeat
R	: Retentat
rcf	: Rölatif santrifüj kuvveti
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
s	: Saniye

Tezde ondalık ayırıcı olarak “.” Kullanılmıştır.

Kısaltmalar

HPLC	: Yüksek Performanslı sıvı kromatografisi
HYDRO	: Hidrosart
PESU	: Polietersülfon
Reb A	: Rebaudiosit A
UF	: Ultrafiltrasyon
MWCO	: Membran filtre ayırma sınırı (Molecular Weight Cut Off)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni bitkisi (Anonim 2017)	3
Şekil 2.2. Steviolün ve steviol glikozitlerin kimyasal yapısı (Geuns 2003)	4
Şekil 2.3. Endüstride kullanılan membran prosesleri (Anonim 2019).....	8
Şekil 3.1. Kurutulmuş, ayıklanmış ve öğütülmüş stevia yaprakları	13
Şekil 3.2. Stevia ekstraktlarına uygulanan diafiltrasyon ve nanofiltrasyon işlemleri.....	14
Şekil 3.3. Stevia ekstraktlarının 100 kDa ayırma sınırına sahip membran ile diafiltrasyonu.....	14
Şekil 3.4. Ekstraktların 5 kDa ayırma sınırına sahip membran ile nanofiltrasyonu	15
Şekil 3.5. Meyveli içecek üretiminde kullanılan retentat akısı (R3)	15
Şekil 3.6. Panelistler tarafından yapılan duyusal analiz	19
Şekil 3.7. Panelistlere sunulan %50 enerjisi azaltılmış portakal meyveli içeceğinde ağız salgısı örneği alma.....	20
Şekil 4.1. Vişne, limon, nar ve portakal meyveli içeceklerin duyusal değerlendirme sonuçları	32
Şekil 4.2. Stevia ekstraktı katkısıyla enerji değeri %50 azaltılmış meyveli içeceklerde reb A'nın ağızda kalıcılık düzeyi	34
Şekil 4.3. Stevia ekstraktı katkısıyla enerji değeri %50 azaltılmış meyveli içeceklerde steviositin ağızda kalıcılık düzeyi	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Vişne, nar ve portakal meyveli içeceklerinin formülasyonu	17
Çizelge 3.2. Limon meyveli içecek formülasyonu	17
Çizelge 3.3. Duyusal değerlendirme formu	19
Çizelge 4.1. Meyveli içecek üretiminde kullanılan stevia ekstraktında ana steviol glikozit bileşenleri	22
Çizelge 4.2. Enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin suda çözünür kuru madde, pH değeri ve titrasyon asitliği değerleri	22
Çizelge 4.3. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin pH değerine ait varyans analiz sonuçları	23
Çizelge 4.4. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin, toplam asitlik değerine ait varyans analiz sonuçları	24
Çizelge 4.5. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin L*, a*, b* renk değerleri.....	25
Çizelge 4.6. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin renk değerlerine ait varyans analiz sonuçları	25
Çizelge 4.7. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin, renk değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi analiz sonuçları.....	26
Çizelge 4.8. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklere ait duyusal analiz sonuçları	28
Çizelge 4.9. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin, duyusal özellik değerlerine ait varyans analiz sonuçları	29
Çizelge 4.10. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin, duyusal özellik değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	30
Çizelge 4.11. %50 enerjisi düşürülmüş meyveli içecekler ve farklı zamanlarda toplanan ağız salgısı örneklerinin HPLC analiz sonuçları	33
Çizelge 4.12. %50 enerjisi azaltılmış ürünlerde reb A ve steviositin zamana bağlı olarak ağızda kalıcılıkları.....	33

1. GİRİŞ

Günümüzde pek çok gıdanın üretiminde şeker katkılanmakta olup, artan obezite, diyabet hastalığı ve çeşitli kronik rahatsızlıklar nedeniyle şeker yerine ikame olabilecek sağlıklı, doğal ve enerjisi düşük tatlandırıcı arayışları hız kazanmıştır. Düşük maliyetinden dolayı kullanımı tercih edilen yapay tatlandırıcıların tüketiminin laksatif etkiye neden olması, ilgili mevzuatlar gereği ürünlerde belli düzeyin üzerinde kullanılamaması ve insanların yapay katkılardan uzak durmak istemeleri doğal tatlandırıcılara yönelimi artırmıştır.

Doğal tatlandırıcı glikozitleri içeren *Stevia rebaudiana* ilk olarak Güney Amerika'nın belli bölgelerinde keşfedilmiş çok yıllık çalı formunda bir bitkidir. Ülkemizde üretilen ya da ithal edilen gıdalarda yer alan her türlü bitkinin ve ürünlerde kullanılan kısmının Tarım ve Orman Bakanlığı'nın yayınladığı bitki listesinde pozitif (P) olarak yer alması gerekmektedir. Özellikle takviye edici gıdalarda etken madde olarak belirtilen her bitkinin bu listede yer alması zorunludur. Aksi halde takviye edici gıda başvurusu onaylanmamaktadır. Listede olmayan veya negatif (N) olarak belirtilen bitkilerin ürünlerde kullanımına izin verilmemektedir. Türkiye'de şeker otu olarak bilinen stevia bitkisi Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından yayınlanan Bitki Listesinde "pozitif" olarak yer almaktadır. Aynı zamanda tatlandırıcı olarak kullanımının Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'ne göre uygun olduğu bildirilmiş ve E960 kodu ile pek çok üründe kullanımına izin verilmiştir (Gedik ve Tansı 2017).

Stevia bitkisi üzerinde günümüze kadar yapılan çalışmalar sağlık açısından herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığını göstermiştir. Steviol glikozitlerin sakkaroya göre ortalama 200-300 kat daha fazla bağıl tatlılık göstermesi, sıfır kalorili olması, pH ve ısıl stabilitesinin yüksek olması fırıncılık ürünleri, içecekler, reçeller, kompostolar gibi ürünlerde kalori azaltmaya yönelik kullanılabilirliğini mümkün kılmaktadır (Oliveira vd. 2012).

Stevia bitkinin yapısında bulunan steviol glikozitler (SGs) içinde steviosit ve rebaudiosit A (reb A) en önemli fraksiyonlardır. Saflaştırılmış reb A pek çok ülkede ticari olarak üretilip yurt dışına pazarlanmaktadır. Ülkemizde marketlerde tatlandırıcı olarak satışı yapılan stevia içeren ürünler genel olarak ithal olup bağıl tatlılığı sakkaroya göre 200-300 kat kabul edilen saflaştırılmış reb A içermektedir. Saflaştırma prosesinin maliyetinin yüksek olması ürün fiyatlarına da yansımaktadır. Aynı zamanda saflaştırma işlemiyle birlikte bitki ekstraktında bulunan diğer steviol glikozitler, fenolik bileşikler ve minerallerde uzaklaştırılmaktadır.

Bu tez çalışmasında ülkemizde üretilen stevia yaprakları kullanılarak düşük maliyetli, kimyasal işlem uygulanmamış, farklı ürün formülasyonlarında kullanılmaya uygun stevia ekstraktı üretmek ve bu ekstraktların çeşitli içeceklerin üretimine uygunluğunun araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada öğütülmüş kuru stevia yaprakları kullanılarak ekstraksiyon ve santrifüj işlemleri yapılmış, elde edilen ekstraktlar diafiltrasyon ve nanofiltrasyon teknikleri ile zenginleştirilmiştir. Diafiltrasyon için 100 kDa (MWCO) ayırma sınırına sahip polietersülfon membran, nanofiltrasyon için ise 5 kDa (MWC ayırma sınırına sahip hidrosart membran kullanılmıştır. Diafiltrasyon sonucunda elde edilen permeat akıları 1:1 oranında karıştırılarak nanofiltrasyon işlemi uygulanmış ve ürün formülasyonlarında retentat akısı kullanılmıştır.

Meyve suyu üretimi için materyal olarak vişne, nar, portakal ve limon konsantreleri, zenginleştirilmiş stevia ekstraktı, şeker ve su kullanılarak %0, %10, %30 ve %50 enerjisi azaltılmış ürün formülasyonu geliştirilmiştir. İçecekler, nektarlar %35-50 ve meyveli içecekler (Limon) %10 meyve unsuru içerecek şekilde üretilmiş ve cam şişelere doldurularak 4°C’de bekletilmiştir.

Üretilen içeceklerde; suda çözünür kuru madde (brix), pH, titrasyon asitliği, renk ve duyu analizler ile HPLC yöntemi ile steviosit ve reb A tayini yapılarak ürünlerin kimyasal kompozisyonu ve tüketici beğenisi belirlenmiştir.

Literatürde stevia'nın tatlandırıcı olarak kullanıldığı çalışmalarda saflaştırılmış ve ticari olarak temin edilen reb A kullanılmıştır. Bu çalışmada ise kimyasal saflaştırma yöntemi kullanılmadan, yalnızca membran teknikleri ile steviol glikozitlerin arttırıldığı, bununla birlikte istenmeyen otsu koku ve bazı safsızlıkların uzaklaştırılması sonucu lezzetin kabul edilebilir düzeye getirilmiş olduğu stevia ekstraktı içecek formülasyonlarında kullanılmıştır. Bu bakımdan tez özgün bir nitelik taşımaktadır. Ayrıca ülkemizde meyve suyu ve meyveli içeceklerin formülasyonlarında stevia ekstraktının ilk defa kullanılmış olması da çalışmanın bir diğer özgün yönünü oluşturmaktadır. Bununla birlikte tez çalışmasında üretilen kalorisi azaltılmış meyve sularının diyabet, obezite ve diğer bazı kronik rahatsızlıkları bulunan kişiler için alternatif ürünler olacağı, kullanılan zenginleştirilmiş stevia ekstraktının diğer pek çok ürün grubunda da kullanılarak tez sonuçlarının ilgili endüstri için potansiyel bir kaynak olacağı düşünülmektedir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Stevia Bitkisi ve Özellikleri

Türkiye’de şeker otu olarak da bilinen *Stevia rebaudiana* Bertoni bitkisi (Şekil 2.1), ilk olarak Güney Amerika’nın belli bölgelerinde (Paraguay ve Brezilya) yetiştirilmeye başlanmıştır (Geuns 2003). Stevia bitkisi boyutları bir metreye kadar ulaşabilen kırılğan bir yapıya sahip çok yıllık çalı formunda bir bitkidir. Hızlı büyüme için ihtiyaç duydukları ideal sıcaklık 20-24°C’dir ve 9°C’nin altındaki sıcaklıklara tolerans göstermezler. Akdeniz iklimi ve ılıman iklimler stevia yetiştiriciliği için uygun iklimlerdir (Lemus-Mondaca vd. 2012).



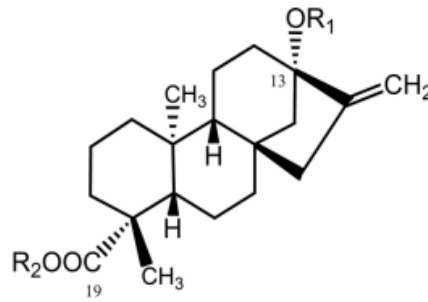
Şekil 2.1. *Stevia rebaudiana* Bertoni bitkisi (Anonim 2017)

Avrupa Komisyonu yeterli çalışma olmadığı için 1991 yılında stevia bitkisinin gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmasını reddetmiştir. Ancak 2008 yılında saflaştırılmış steviol glikozitlerin güvenilirliğini destekleyen çalışmalarla birlikte Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi (JECFA) saf steviol glikozitlerin (>%95) güvenilirliğini onaylamıştır. JECFA tarafından belirtilen günlük alım miktarı steviosit için 0-4 mg/kg vücut ağırlığı, rebaudiosit A için 12 mg/kg vücut ağırlığı veya 60 kg ağırlığındaki kadınlar için 720 mg, 70 kg ağırlığındaki erkekler için 840 mg olarak belirlenmiştir (Anonim 2011).

Son raporlara göre stevia yetiştiriciliği ve kullanımı Çin, Brezilya, Paraguay, Meksika, Rusya, Endonezya, Kore, ABD, Kanada ve Arjantin dahil olmak üzere dünyanın pek çok bölgesine yayılmış durumdadır. Çin dünyada en büyük stevia üreticisi konumunda bulunmakla birlikte üretilen stevia’nın yaklaşık %80’i ihraç edilmektedir. Ülkemizde ise ilk defa 2009 yılında Antalya’da yetiştirilmeye başlanmış olmakla birlikte değişik bölgelerde deneme amaçlı ekimi ve üretimi yapılmaktadır (Tursun vd. 2017).

Piyasa raporlarına göre, stevia kaynaklı tatlandırıcıların küresel satışı 2013 yılında 3500 ton olurken 2017 yılında yaklaşık olarak 10.000 tona çıktığı bilinmektedir Aynı zamanda stevia bitkisinin yiyecek ve içecek üretiminde katkı maddesi olarak kullanım değeri 2013 yılında 110 milyon dolar olarak gerçekleşmiş ve 2017 yılında 275 milyon dolara ulaşmıştır (Anonim 2014).

Stevia cinsinde yaklaşık 230 tür olmasına rağmen steviol glikozitlerin varlığından dolayı *S. rebaudiana* ve *S. phlebophylla* diğer türlere göre tatlılık açısından daha çok önem taşımaktadır. Stevia bitkisinin kurutulmuş yaprakları, sakkarozdan yaklaşık 200-300 kat daha fazla tatlılığa sahip glikozitleri içermektedir. Stevia ekstraktları, terapötik özelliklere sahip olmanın yanı sıra, antioksidan, antimikrobiyal ve antifungal aktivitelere de sahiptir. Steviosit ve rebaudiosit A, majör tatlandırıcı bileşiklerdir. Steviosit, bir steviol halkasına bağlı üç D-glikoz molekülüne sahipken, rebaudiosit A, dört adet glikoz bulundurmaktadır. Düşük konsantrasyonda bulunan diğer steviol glikozitler; steviolbiosit, rebaudiosit B, C, D, E, F, rubusosit ve dulkosit A'dır (Şekil 2.2).



Compound name	R ₁ (C-13)	R ₂ (C-19)	Formula	Mass
Steviol	H	H	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	318.22
Steviol mono-glucoside	β-Glc	H	C ₂₆ H ₄₀ O ₈	480.27
Steviol mono-glucosyl ester	H	β-Glc	C ₂₆ H ₄₀ O ₈	480.27
Rubusoside	β-Glc	β-Glc	C ₃₂ H ₅₀ O ₁₃	642.33
Steviolbioside	β-Glc-(2→1)-β-Glc	H	C ₃₂ H ₅₀ O ₁₃	642.33
Stevioside	β-Glc-(2→1)-β-Glc	β-Glc	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈	804.38
Rebaudioside A	β-Glc-(2→1)-β-Glc \\(3→1)-β-Glc	β-Glc	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	966.43
Rebaudioside B	β-Glc-(2→1)-β-Glc \\(3→1)-β-Glc	H	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈	804.38
Rebaudioside C	β-Glc-(2→1)-α-Rha \\(3→1)-β-Glc	β-Glc	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₂	950.44
Rebaudioside D	β-Glc-(2→1)-β-Glc \\(3→1)-β-Glc	β-Glc-(2→1)-β-Glc	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₈	1128.48
Rebaudioside F	β-Glc-(2→1)-β-Xyl \\(3→1)-β-Glc	β-Glc	C ₄₃ H ₆₈ O ₂₂	936.42
Dulcoside A	β-Glc-(2→1)-α-Rha	β-Glc	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₇	788.38

Şekil 2.2. Steviolün ve steviol glikozitlerin kimyasal yapısı (Geuns 2003)

Steviosit, stevia yapraklarının kuru maddesinde ortalama %4-20 oranında bulunmaktadır. Bu oran bitkinin türlerine ve temel tarımsal tekniklere göre değişmektedir. Reb A, steviosite kıyasla genellikle daha az oranda bulunup bağlı tatlılığı daha yüksektir (Kumar vd. 2012; Šic Žlabur vd. 2013). Steviol glikozitlerin yüksek sıcaklıklara dayanıklı olması yüksek ısı işlem uygulanan gıdalarda kullanımını uygun hale getirmektedir. *S. rebaudiana*, folik asit, C vitamini ve önemli bazı amino asitleri de

içermektedir. Stevia katkılı ürünler diyetlerinde karbonhidrat alımını kısıtlamak zorunda olan kişilere alternatif bir beslenme yolu açmaktadır (Brandle ve Telmer 2007; Lemus-Mondaca vd. 2012; Bursac Kovačević vd. 2018).

Stevia ekstraktları genellikle yüksek oranda, steviosit ve rebaudiosit A içerirken diğer steviol glikozitleri daha az miktarda içermektedir. Stevia ekstraktlarının bileşimi, toprak ve iklimden etkilenen yaprakların bileşimine ve ayrıca kullanılan ekstraksiyon ve saflaştırma işlemlerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Dünyanın farklı yerlerinden ticari olarak temin edilebilen stevia ürünleri ana bileşen olarak büyük oranda steviosit ve rebaudiosit A içermektedir. Çoğu ticari üründe steviosit ve rebaudiosit A ürünün yaklaşık %80'den fazlasını oluşturmaktadır (Anonim 2004).

Khiranoi vd. (2017), *S. rebaudiana* bitkisinin kuru yapraklarının 100 mg'ında 51-56 mg karbonhidrat, 11-16 mg protein, 17-19 mg ham lif, 3-5 mg yağ ve 7-11 mg kül bulunduğunu tespit etmişlerdir Fas'ta 6 farklı alanda yetiştirilen stevia yapraklarının mineral kompozisyonunun belirlendiği bir araştırma sonucunda yaprakların potasyum, kalsiyum, sodyum ve magnezyum bakımından diğer minerallerden daha zengin olduğu rapor edilmiştir.

Bir başka çalışmada ise stevia yapraklarının kuru ağırlık bazında %62 karbonhidrat, %11 protein, %15 ham lif, %3 yağ ve %7 kül içerdiği, mineral maddeler içinde 100 g kuru ağırlıkta 21 mg potasyum, 17 mg kalsiyum, 14 mg sodyum ve 3 mg magnezyum belirlenmiştir (Esmat Abou-Arab vd. 2010).

Sulu stevia ekstraktlarının antioksidan kapasitesi ve biyoaktif kompozisyonu üzerine yapılan çalışmada yapraklarda yüksek miktarda folik asit, C vitamini ve hidroksil radikalleri tespit edilmiştir (Kim vd. 2011).

Kroyer (1999) steviol glikozitlerin temel stabilitesi üzerine yaptığı çalışmada bir saat boyunca yüksek sıcaklıkta inkübe edilen katı steviositin 120°C'ye kadar iyi stabilite gösterdiğini ancak 140°C'yi aşan sıcaklıklarda bozulma meydana geldiğini bildirmiştir. Sulu çözeltilerde ise glikozitlerin 80°C'ye kadar 2-10 pH aralığında stabilitesini koruduğu, askorbik asitin degradasyonuna karşı koruyucu etkisinin olduğu görülmüştür. Güçlü asidik koşullar altında steviosit konsantrasyonunda önemli bir azalma saptanmıştır.

Tatlandırıcılık özelliklerinden dolayı steviol glikozitler çeşitli gıdalarda, içeceklerde ve tıpta kullanılmaktadır. Tüketicinin sağlıklı gıdaları tercih etmesi düşük kalorili ve doğal tatlandırıcılara olan ilgiyi artırmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda farklı dozlarda sakkaroz yerine kullanılan stevia'nın fareler üzerinde vücut ağırlığı yönetimi ile çeşitli hematolojik ve biyokimyasal özelliklerine etkisi incelenmiştir (Abo Elnaga vd. 2016). Sonuçlar kontrol örneği ile karşılaştırıldığında 500 mg steviol glikozit/kg vücut ağırlığı dozunun kandaki glikoz seviyesini kontrol ederek kilo vermede güvenli bir doz olduğu tespit edilmiştir.

Birçok ülkede çeşitli ticari ürünlerin tatlandırılmasında steviosit ve benzer glikozitler yaygın olarak kullanılmaktadır. ABD'de yaprak veya ekstrakte edilmiş sulu formun gıda takviyesi olarak kullanılmasına izin verilmektedir. Düşük kalorili ve doğal tatlandırıcı olmasının yanı sıra antitümör ve antikanser, antihipertansif, antihiperglisemik,

anti-diyare ve enzim inhibitör aktiviteleri gibi bazı önemli farmakolojik aktiviteler gösterdikleri de bildirilmiştir (Brahmachari vd. 2010; Lemus-Mondaca vd. 2012).

S. rebaudiana Bertoni bitkisinin yapraklarından elde edilen steviol glikozitler yüksek tatlılığa sahip olmalarından dolayı sakkaroz ve yapay tatlandırıcılar için mükemmel biyo-alternatifler olarak kabul edilmektedir. İnsan sağlığı için yararlı özelliklere sahip olmaları nedeniyle gıda ve eczacılık alanlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Obezite, diyabet, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalık, hipoglisemi ve diş sağlığı için tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. *S. rebaudiana* yapraklarının nevroalji, anemi, lumbago, romatizma ve amnezi tedavisinde olumlu bir etkisi olduğu görülmüştür. Aynı zamanda egzama, dermatit gibi deri hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır. Stevia tatlandırıcılarının hafif bir acı tada sahip olmaları özellikle gıda endüstrisi açısından ticarileştirilememesindeki en büyük engel olarak görülmektedir. Bu bakımdan bu problemin çözümüne yönelik çalışmalar önem taşımaktadır. Kimyasal ve enzimatik modifikasyon ile karbonhidrat kısımları modifiye edilerek steviol glikozitlerin tat kalitesi geliştirilmiştir (Gerwig vd. 2016).

Obezite sorunu gibi metabolik bozukların artması düşük kalorili tatlandırıcılara yönelimi artırmıştır. Stevia, aspartam ve sakkaroz içeren gıda tüketimleri sonunda tokluk ve insülin düzeyi üzerine yapılan çalışmada steviol glikozitlerin yemek sonrası insülin ve glikoz düzeyini önemli ölçüde düşürdüğü gözlemlenmiştir (Anton vd. 2010).

Daha önce tedavi görmemiş hafif hipertansif hastalarda stevia yapraklarından elde edilen ham ekstraktın antihipertansif etkisinin incelendiği bir çalışmada seçilen gönüllülere 24 hafta boyunca farklı miktarlarda ham ekstrakt verilmiş ve kan basıncı ölçülmüştür. Sonuçlar ham ekstraktın güvenli olduğunu ve tatlandırıcı olarak başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir (Ferri vd. 2006). Steviol glikozitlerin DNA hasarı önleme aktivitesi ve antioksidan potansiyeli üzerine yapılan çalışma sonucunda potansiyel doğal antioksidan kaynağı olarak faydalı olabileceği saptanmıştır (Ghanta vd. 2007).

Stevia ekstraktlarının toksikolojisi üzerine yapılan bir çalışmada da dişi ve erkek fareler üzerinde yapılan deneyde %95.2 saflıkta %0 (kontrol), %0.1, %0.3 ve %1'lik stevia ekstraktı kullanılmıştır. Kullanılan dozlardan orta doz her iki cinsten hafif büyüme geriliğine, yüksek doz ise geçici büyüme geriliğine neden olmuştur. Uygulanan deney koşulları altında deneklere etki etmeyen en yüksek miktar 550 mg/kg olarak tespit edilmiştir (Yamada vd. 1985).

Diyabetik Goto-Kazani fareleri üzerinde yapılan bir çalışmada ise stevia bitkisi yapraklarında bulunan steviosit glikozitinin antihiperglisemik ve kan basıncını düşürücü etkisi olduğu tespit edilmiştir (Jeppesen vd. 2003).

2.2. Stevia Bitkisinden Ekstrakt Üretimi

Stevia bitkisinin ürün formülasyonlarında kullanılabilmesi için birkaç işlem basamaklarından geçmesi gerekmektedir. Bunlardan en önemlisi ekstraksiyon işlemidir. Ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi, çözgen madde ve uygulanan farklı işlemler ekstraksiyon verimini ve stevia ekstraktlarında bulunan steviol glikozit dağılımını etkilemektedir.

Rai vd. (2012) kuru stevia yapraklarında bulunan steviol glikozitleri (SGs) su ile ekstrakte ederek, proses parametrelerinin yanıt yüzey metodolojisi ile optimizasyon çalışması yapmıştır. Kuru stevia yapraklarından steviol glikozitlerin ekstraksiyonu için sıcak su ekstraksiyon işlemi kullanılmıştır, bağımsız değişkenler olarak yaprak su oranı (1:5-1:20), ısıtma süresi (10-120 dakika) ve sıcaklık (30-90°C) belirlenmiştir. Bu bağımsız değişkenlerin elde edilen ekstraktaki steviol glikozitlerin konsantrasyonu ve ekstrakt rengi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda optimum koşullar olarak su sıcaklığı 78°C, ekstraksiyon süresi 56 dakika ve yaprak su oranı 1:14 (g: mL) olarak belirlenmiştir.

Steviol glikozitlerin ekstraksiyonunda 2 farklı çözücü kullanılarak basınç altında ekstraksiyon yapıldığı çalışmada, ekstraktlar sıvı kromatografisinin ardından UV ve kütle spektrometresi ile analiz edilmiştir. Analiz edilen ekstraktaki steviol glikozitlerin tespit sınırı, UV saptaması için 30 ng, MS saptaması için 2 ng olarak belirlenmiştir. Steviol glikozitlerin termal bozunma düzeyi 70-160°C aralığında çözücü olarak kullanılan su ve metanol için aynı bulunmuştur. 110-160°C aralığında metanolün, steviol glikozitlerin eldesinde en iyi sonucu verdiği belirlenmiştir (Pól vd. 2007).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile steviosit ve rebaudiosit A eldesinin yanıt yüzey metodolojisi ve yapay sinir ağı modellemesi kullanılarak 5 seviyeli ve 3 faktörlü bir merkezi kompozit tasarım ile optimizasyon çalışması yapılmıştır. Yapay sinir ağı modeli, yanıt yüzey metodoloji yöntemine göre steviol glikozitlerin eldesinde daha yüksek verimlilik gösterdiği tespit edilmiştir (Ameer vd. 2017).

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi, ultrases ve mikrodalga enerjisi kullanılarak farklı sıcaklık (50-100°C), süre (1-40 dakika) ve mikrodalga güçlerinde (1.98-3.30 W/g ekstrakt) yapılan ekstraksiyon işlemi sonunda steviol glikozit verimi ve antioksidan kapasitesi incelenmiştir. Steviol glikozit ve antioksidan arasındaki negatif korelasyon sebebi ile iki bileşik grubu için yüksek verim elde edilen bir yöntem belirlenememiştir. Steviol glikozitlerde en yüksek verim mikrodalga enerjisi kullanılarak (3.30W/g ekstrakt, 2 dakika), antioksidan bakımından en iyi sonuç ise geleneksel yöntem (90°C 1 dakika) kullanılarak elde edilmiştir (Periche vd. 2015).

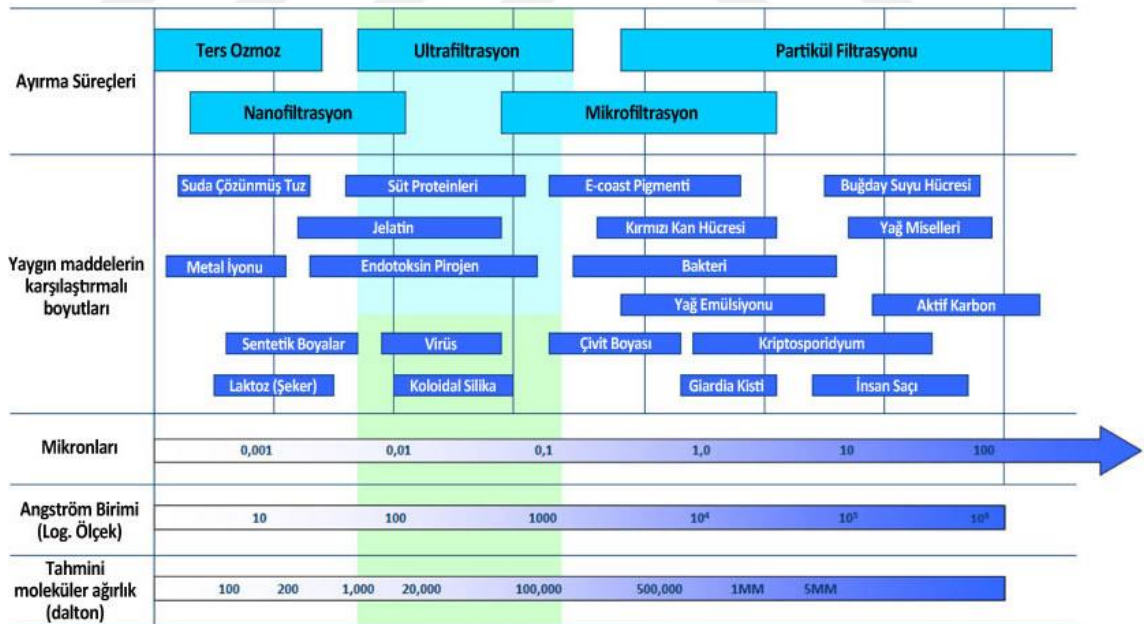
Enzimatik ekstraksiyon için stevia yapraklarından elde edilen ekstrakta selüloz, pektinaz ve hemiselülaz gibi enzimler kullanılarak enzim konsantrasyonu, inkübasyon süresi ve sıcaklık gibi çeşitli parametrelerle optimizasyon çalışması yapılmıştır. Hemiselülazın, selüloz ($359 \pm 0.30 \mu\text{g}$) ve pektinazlara ($333 \pm 0.55 \mu\text{g}$) kıyasla 1 saat içinde en yüksek steviosit verimini ($369.23 \pm 0.11 \mu\text{g}$) verdiği gözlemlenmiştir. Yapılan enzim uygulamaları en iyi koşullar altında yapılan normal ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında verimde belirgin bir artış (35 kat) gözlemlenmiştir. Her biri % 2 oranında ayarlanmış pektinaz, selüloz ve hemiselülaz karışımlarının 51-54°C'de 36-45 dakikada en iyi sonuçları verdiği görülmüştür (Puri vd. 2012).

2.3. Stevia Ekstraktlarının Saflaştırılması ve Zenginleştirilmesi

Stevia ekstraktlarının acı tat ve otsu kokularından dolayı doğrudan ürün formülasyonlarında kullanılması mümkün olmamaktadır. Çeşitli prosesler yardımıyla stevia ekstraktı işlenip ürün formülasyonlarına uygun hale getirilmektedir. Stevia ekstraktlarının saflaştırılması ve zenginleştirilmesi amacıyla membran prosesler yaygın olarak kullanılmaktadır.

Membran prosesler bileşenlerin molekül ağırlıkları ve boyutlarına göre ayırım yapan sistemlerdir. Gözenek boyutları ve basınç kuvvetine göre mikrofiltrasyon, ultrafiltrasyon, nanofiltrasyon ve ters ozmoz olarak sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.4). Ultrafiltrasyon veya mikrofiltrasyon işlemlerinde membranlar su ve suda çözünmüş maddelerin çoğunun geçişine izin verirken tuz, mikroorganizma ve benzeri boyuttaki diğer büyük bileşenleri tutmaktadır. Ultrafiltrasyonda membran gözenek çapı 0.01 – 0.1 µm arasında değişmektedir ve moleküler ağırlıkları, 1000-100000 Da arasında değişen maddeler tutulmaktadır. Nanofiltrasyonda 0.001-0.005 µm'den küçük çaplı bileşiklerin ayırımı yapılmaktadır ve genellikle sularda renk, koku ve tat oluşturan bileşenlerin giderilmesi için kullanılmaktadır (Aslan 2016).

Filtrasyon işleminden sonra membrandan geçen kısım permeat akısı, geçemeyen kısım ise retentat akısı olarak adlandırılmaktadır. Diafiltrasyon işlemi iki kademeli filtrasyon olarak tanımlanmaktadır. Birinci kademe filtrasyon sonrasında elde edilen retentat akısı beslenen ürün ile birleştirilerek ikinci kez aynı membrandan geçirilmektedir.



Şekil 2.3. Endüstride kullanılan membran prosesleri (Anonim 2019)

Mevcut proseslerde organik çözücüler kullanılarak stevia yapraklarından glikozit bazlı tatlandırıcıların ekstraksiyonu ve rafine edilmesi pek çok işlem basamağı içermektedir. Zhang vd. (2000) tarafından yapılan çalışmada işlem basamaklarını ve kimyasal kullanımını azaltmak için çok aşamalı membran sistemleri kullanılmıştır. Elde

edilen sonuçlara göre stevia ekstraktlarında bulunan acı tattan sorumlu olan bileşenlerin (aromatik ve uçucu yağlar, tanenler ve flavonoidler) nanofiltrasyon uygulaması ile uzaklaştırılabileceği tespit edilmiştir.

Stevia ham ekstraktlarının saflaştırılması için membran filtrasyon ile birleştirilmiş modifiye zeolitlerle (CaX) adsorpsiyon uygulamıştır. Ultrafiltrasyon işleminde 0.05, 0.1 ve 0.2 µm gözeneklere sahip membranlar ile 2, 4 ve 6 bar basınçta çalışılmış; 6 bar basınç ve 0.2 µm gözenek boyutu steviositin geri kazanılmasında (%91.75) en iyi sonucu vermiştir (Vieira da Silva Medeiros vd. 2007).

Stevia bitkisinin yapısında bulunan tatlandırıcı bileşenlerin saflaştırılması için ticari ve özel yapılmış polietersülfon (PESU) membranları nanofiltrasyon, ultrafiltrasyon ve mikrofiltrasyon uygulanarak stevia ekstraktlarının saflaştırılmasında kullanılmış ve %37 saflık ve %30 verim elde edilmiştir (Vanneste vd. 2011).

Stevia ekstraktlarının berraklaştırılmasında 5, 10, 30 ve 100 kDa membranlar kullanılarak yapılan ultrafiltrasyon işleminde permeat akısı ve kalitesine bakılarak steviositin geri kazanımında 30 kDa membranların en uygun olduğu tespit edilmiştir. Düşük çalışma basınçlarında %45 oranında steviosit geri kazanım elde edilirken yüksek basınçta permeat içindeki steviosit miktarının belirgin bir şekilde azaldığı görülmüştür (Chhaya vd. 2012).

Membran ve iyon değiştirici reçine kullanılarak steviositin saflaştırılması üzerine yapılan çalışmada stevia ekstraktlarındaki pigmentlerin %96'sından fazlası uzaklaştırılmış ve steviosit miktarı %45 oranında geri kazanılmıştır. Ultrafiltrasyon (UF) sonrasında kazanılan retentat diafiltrasyon (DF), permeat ise ters ozmoz (TO) ile konstanre edilmiş ve iyon değiştirici reçine kullanılarak konsantre saflaştırılmıştır. Membran proseslerinde %46 oranında steviosit saflığı ve %90'dan fazla steviosit geri kazanımı elde edilmiş, iyon değiştirici reçine prosesi ile ürün saflığı %90'a çıkarılmıştır. İyon değiştirici reçineler olarak ilk tabakada eşit miktarlarda Amberlite IR-120 (güçlü katyon değiştirici) ve IRA-410 (güçlü anyon değiştirici), ikinci tabakada RC-50 (zayıf katyon değiştirici) ve IRA-458 (zayıf anyon değiştirici) karışımı kullanılmıştır (Fuh ve Chiang 2006).

Sulu stevia ekstraktlarında rebaudiosit A'nın ultrafiltrasyon yolu ile saflaştırılmasında 10, 20, 30 ve 50 kDa moleküler ayırma sınırına sahip membranlar kullanılarak permeat akısı ve kalitesi bakımından renk, saflık, toplam kuru madde, berraklık ve seçicilik araştırılmıştır. Bu çalışmada reb A ayrımı için en etkili membranın 30 kDa ayırma sınırına sahip membran olduğu belirlenmiştir (Das vd. 2015). Yapılan başka bir reb A saflaştırma çalışmasında makro gözenekli adsorpsiyon reçine karışımı (HPD750-LSA40-LSA30-DS401) kullanılarak saflığın %60'dan %97'ye yükseldiği saptanmıştır (Li vd. 2012).

Stevia bitkisinden toplam karbonhidrat verimini artırmak için ultrases destekli stevia ekstraksiyonu yapılmış ve optimize etmek için yanıt yüzeyi metodolojisi kullanılmıştır. Sonuçlar optimum ekstraksiyon koşullarının 68°C'de, 60W gücünde 32 dakika olduğunu göstermiştir. Normal ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında ultrases destekli ekstraksiyonun verimi ve reb A miktarını artırdığı ve ekstraktların daha iyi kaliteye sahip olduğu görülmüştür (Liu vd. 2010).

Stevia bitkisinden çeşitli saflaştırma ve zenginleştirme prosesleri sonucunda elde edilen steviol glikozitlerin miktarı bitkinin cinsine, yetiştirildiği ortama ve uygulanan proseslere göre değişiklik göstermektedir. Günümüze kadar majör steviol glikozitler olan reb A ve steviosit saflaştırması üzerine bazı çalışmalar yapılmıştır. Araştırmalarda kullanılan stevia bitkisinin ve uygulanan proseslerin farklılık göstermesi, farklı miktarlarda reb A ve steviosit tespit edilmesine sebep olmuştur.

Reis vd. (2009) tarafından farklı gözenek boyutlarına sahip membranlar ile farklı basınç değerlerinde stevia ekstraktlarının saflaştırılması çalışılmıştır. Ortalama steviosit ve reb A konsantrasyonları sırasıyla 25.233 g/L ve 20.570 g/L bulunmuştur.

Stevia ekstraktının zenginleştirilmesi üzerine yapılan bir diğer çalışmada farklı stevia ekstraktının farklı basınç ve karıştırma hızlarında 30 kDa ayırma sınırına sahip membran ile yapılan filtrasyon işlemi sonrasında edilen permeat akışının steviosit miktarının en fazla 8.43 g/L olduğu belirtilmiştir (Chhaya vd. 2012).

Das vd. (2015) tarafından reb A'nın saflaştırılması üzerine yapılan çalışmada 10, 20, 30 ve 50 kDa ayırma sınırına sahip membranlar kullanılmış ve en etkili membranın 30 kDa ayırma sınırına sahip membran olduğu bulunmuştur. Farklı basınçlarda 30 kDa membrandan geçirilen ekstraktın permeat kısmı incelenmiş ve en yüksek reb A ve steviosit miktarları %43.43 ile %44.22 olarak tespit edilmiştir.

Stevia ekstraktlarının durultması üzerine yapılan bir çalışmada 0.2µm'lik membran kullanılarak stevia ekstraktlarının filtrasyondan önce ve sonra reb A ve steviosit miktarları belirlenmiştir. Filtrasyondan önce reb A miktarı 4.61g/L, filtrasyondan sonra 3.94 g/L, filtrasyondan önce steviosit miktarı 0.66 g/L, filtrasyondan sonra 0.57g/L olarak tespit edilmiştir (Martínez-Alvarado vd. 2017).

2.4. Stevia Katkılı Ürünler

Gıda endüstrisinde, düşük şekerli ürünlere yönelik tüketici ilgisi gün geçtikçe artmaktadır. Gıda üreticileri tüketicilerin istekleri doğrultusunda sağlıklı ve düşük kalorili yeni ürünler geliştirme arayışlarına girmiştir. Organik ve düşük şekerli ürünlerin tüketiciler tarafından daha sık tercih edildiği tespit edilmiştir. Bu doğrultuda düşük şekerli diyet soda, şekersiz sakız, meyve suları, kurabiye, dondurma, aromalı süt, makarna sosu gibi ürünler üretilmeye başlanmıştır (Oliveira vd. 2012). Ayrıca Japonya'da kurutulmuş deniz ürünleri, soya sosu, salatalık turşusu, baharat, meyve bazlı içecek, yoğurt, dondurma, şerbet ve şekerleme ürünlerinde de steviol glikozitler sıklıkla kullanılmaktadır (Mizutani ve Tanaka 2002).

Carbonell-Capella vd. (2013) tarafından farklı oranlarda stevia ürünleriyle tatlandırılmış meyve suyu karışımlarına (papaya (% 32.5, v/v), mango (% 10, v/v) ve portakal (% 7.5, v/v) sterilizasyon işlemi uygulanmıştır. Bu çalışmada 14 dakika 300 MPa basınçta gerçekleştirilen işlemin içeceklerdeki en iyi antioksidan içeriği ve rengi sağladığı tespit edilmiştir.

Stevia ürünleriyle tatlandırılmış meyve suyuna diyet lifi (β -glukan) ve misket limon aroması eklenilerek duyuşal özellikteki değışiklikler ve bunların tüketici beğenileri, istekleri ve duyuşal memnuniyetleri araştırılmıştır. Misket limonun eklenmesi steviol glikozitlerin ağızda bıraktığı tadı maskeleydiği belirlenmiştir (Mielby vd. 2016).

Sakkaroz ve yeşil stevia tozu ilave edilerek tatlandırılmış meyve suyunda kullanılan tatlandırıcıların soğuk depolama sonrası besleme kalitesindeki farklılıklar araştırılmıştır. Yeşil stevia tozu ile tatlandırılmış meyve sularının sakkaroz ile tatlandırılmış meyve sularından daha fazla C vitamini içerdiği, toplam fenolik madde içeriğinin %6 ve antioksidan kapasitesinin %3 daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu ürünlerde 30 ve 60 günlük depolama sonunda biyoaktif kompozisyon ve antioksidan kapasitesinde steviol glikozitler hariç önemli bir düşüş olmamıştır (Zlabur vd. 2018).

Stevia ve diğer tatlandırıcıların vanilyalı yoğurt için uygun konsantrasyonlarını belirlemek için yapılan bir araştırmada 3 farklı seviyede sukroz, aspartam, eritritol, stevia (%95 rebA) tatlandırıcısı ve %95 maltodekstrin ve steviol glikozit karışımı kullanılmıştır. Analiz sonuçlara göre %0.7 stevia içeren maltodekstrin ve %95 steviol glikozit içeren karışımın vanilyalı yoğurt üretimi için yeterli olduğu saptanmıştır (Narayanan vd. 2014).

Sakkaroz içermeyen beyaz çikolata örneğine sukraloz(Su) ve steviosit (St) eklenerek termal özellikleri, mikroyapısı, su içeriği ve dokusu üzerine çalışma yapılmıştır. %100 Su ve %50+Su %50 steviol glikozit içeren numunelerde, yağın yüzeye daha kolay yayılabildiği, %100 steviol glikozit ve %75 steviol glikozit +%25 su içeren numunelerin sıcaklık artışı ile erime entalpisinin en küçük düşüşü gösterdiği tespit edilmiştir (Rodriguez Furlán vd. 2017).

Steviol glikozit içeriği %0, %50 ve %100 olan şekeriz bisküvilerin fizikokimyasal ve duyuşal değerdirmeleri araştırılmıştır. Sonuçlar, bisküvi formülasyonundaki steviosit ikamesinin kül, yağ ve protein üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığını ancak pH ve nem içeriğini belirgin olarak artırdığını göstermiştir. Sakkarozun steviosit ile değıştirilmesinin bisküvi formülasyonunda kalori düzeyini %15'e kadar düşürdüğü, çap ve genleşme katsayısını azalttığı, sıklığı ve su aktivitesini artırdığı, doku sertliğini azaltırken esnekliği önemli ölçüde artırdığı tespit edilmiştir (Garavand vd. 2014).

Kulthe vd. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada %0, 10, 15, 20 ve 25 oranında soya unu, %0, 15, 20, 25 ve 30 oranında öğütölmüş toz stevia kullanılarak yüksek proteinli düşük kalorili kurabiye üretilmiş, %20 soya unu ve %20 öğütölmüş stevia ile hazırlanan kurabiyeler duyuşal nitelik bakımından maksimum puan almıştır. Stevia yapraklarının sulu ekstraktı kullanılarak yulaf ezmesi kurabiye yapılmış, duyuşal, beslenme ve biyolojik özellikleri değerdendirilmiştir. Sakkaroz ile değıştirilen stevia ekstrakt katkılı kurabiyelerin metabolik sendromla ilişkili hastalıkların (kalp ve şeker hastalığı, diyabet, obezite) önlenmesi için bir alternatif olduğunu görölmüştür (Góngora Salazar vd. 2018).

Düşük kalorili elma üretimi amacıyla malay elmalarında bulunan yüksek kalorili şekerlerin, düşük kalorili doğal tatlandırıcılar ile değıştirilmesi amacıyla çift aşamalı şeker ikamesi yöntemi kullanılmıştır. Birinci aşamada yüksek kalorili şekerler (sakkaroz, fruktoz ve glikoz) meyve örneklerinden kısmen uzaklaştırılmış ikinci aşamada ise tatlılığı

korumak için düşük kalorili tatlandırıcılar (steviosit ve rebaudiosit) kullanılmıştır (Oliveira vd. 2012).

Farklı tatlandırıcılar (aspartam, asesulfam-K, siklamat, sakarin, stevia ve sukraloz) ve bunların kombinasyonlarını içeren, tatlılık değeri %11.5 w/w sakkarozla eşit olacak şekilde üretilen çilek aromalı yoğurtlar duyuşal olarak test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar asesulfam-K ve stevia'nın kombinasyonlarının kullanılabilirliğini göstermiştir (Reis vd. 2011).

Stevia (%95 rebA), neotam, aspartam, neosukraloz ve sukraloz ile tatlandırılmış çikolatalı süt içeceğinde, ideal sakkaroz konstantrasyonu ve tatlılık eşdeğeri referans alınarak tatlandırıcıların sıcaklık ve yağ içeriği üzerine etkisi araştırılmış, sıcaklık arttıkça stevia ve sukraloz için tatlandırma gücünde azalmalar tespit edilmiştir (Paixão vd. 2014).

Süt ve kahve ürünleri üzerinde tatlandırıcıların tatlılık potansiyeli ve sinerjisi araştırılmış, stevia tatlandırıcılı kahve örnekleri tatlılık ve kalıcı tatlılık haricinde duyuşal özellik bakımından sakkaroz kahvelerle benzer bulunurken, süt ürünü üzerinde acı tat bıraktığı tespit edilmiştir (Choi ve Chung 2015).

Sakkaroz alternatif olarak doğal tatlandırıcılarla formüle edilmiş çikolatalar fiziksel, biyoaktif ve duyuşal kalite parametreleri bakımından değerlendirilmiş, stevia ve nane içeren çikolatalarda özellikle ağız kokusu, tatlılık ve bitkisel aroma açısından kontrol örneğine en yakın duyuşal özelliği gösterdiği tespit edilmiştir (Belščak-Cvitanović vd. 2015).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Stevia yaprakları kuru olarak Akdeniz Üniversitesi Antalya Teknokenti'nde faaliyet gösteren Güney Agripark Bitki Araştırma ve Biyolojik Mücadele San. ve Tic. Ltd. Şti tarafından sağlanmıştır. Vişne, limon, nar ve portakal konsantreleri Dimes Gıda San. ve Tic. A.Ş'den temin edilmiştir. Meyve bazlı içecekler endüstriyel meyve suyu üretim esaslarına göre meyve konsantrelerinden ayarlama yoluyla üretilmiştir.

3.2. Metot

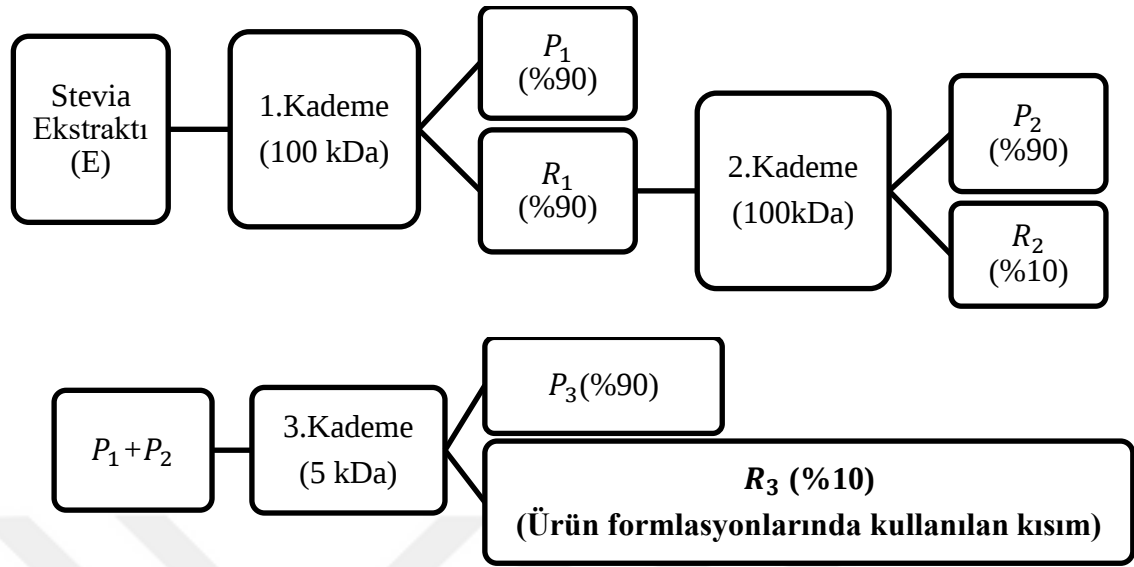
3.2.1. Stevia yapraklarından steviol glikozitlerin ekstraksiyonu

Kuru stevia yaprakları yabancı maddelerden ayıklanarak laboratuvar tipi öğütücü (Waring, ABD) yardımı ile parçalanmıştır. Öğütülmüş stevia yaprakları (Şekil 3.1) ekstraksiyon işlemi için 1:10 öğütülmüş yaprak:su oranında karıştırılarak 40°C'de 30 dakika su banyosunda bekletilmiş daha sonra 2900xg kuvvetinde 25°C'de 30 dakika santrifüj edilerek kaba filtre kâğıdından geçirilmiştir.

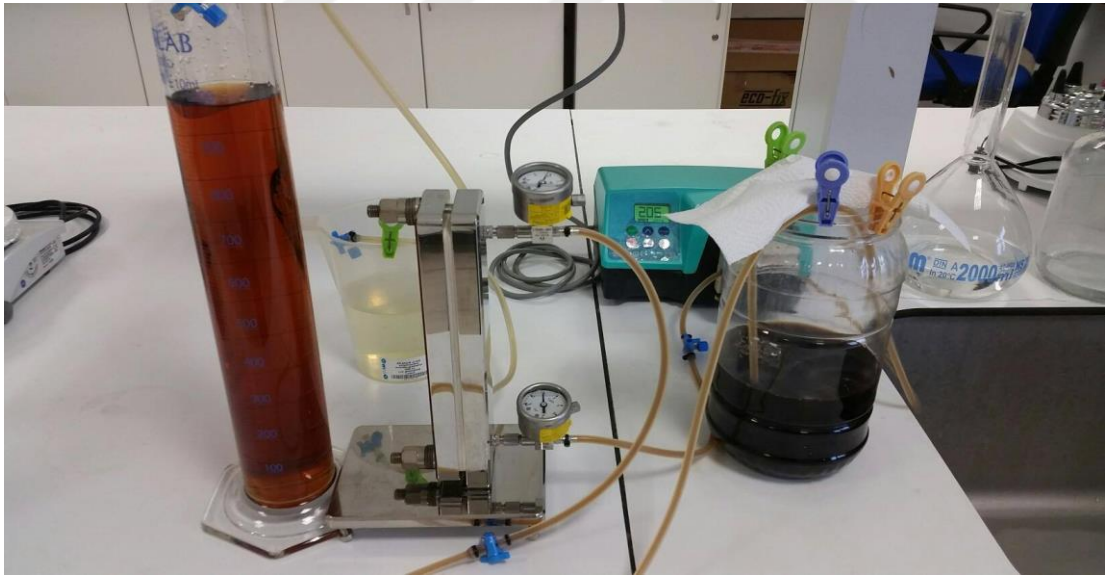


Şekil 3.1. Kurutulmuş, ayıklanmış ve öğütülmüş stevia yaprakları

Ekstrektlerde olumsuz olarak hissedilen acı tat ve otsu kokunun giderilmesi amacı ile yapılan ön denemeler sonucunda bulunan ayırma sınırları ile diafiltrasyon, konsantre etme amacı ile de nanofiltrasyon uygulanmıştır. Bu amaçla ilk olarak 100 kDa ayırma sınırına sahip polietersülfon (PESU) membran kullanılarak, %90'lık permeat akısı (P_1) ayrılmış; %10'luk retantat akısı (R_1) başlangıç hacmine eşit olacak şekilde saf su ile sulandırılmıştır. Sulandırılan ekstrakt diafiltrasyon amacıyla 100 kDa ayırma sınırına sahip membrandan geçirilmiştir (Şekil 3.2). Diafiltrasyon (çift kademeli filtrasyon) sonucunda ilk filtrasyondan elde edilen %90'lık permeat akısı (P_1) ve ikinci filtrasyon sonucu elde edilen %90'lık permeat akısı (P_2) eşit oranda karıştırılarak 5 kDa (HIDROSART, Nanofiltrasyon) ayırma sınırına sahip membrandan geçirilmiştir (Şekil 3.3, Şekil 3.4).



Şekil 3.2. Stevia ekstraktlarına uygulanan diafiltrasyon ve nanofiltrasyon işlemleri



Şekil 3.3. Stevia ekstraktlarının 100 kDa ayırma sınırına sahip membran ile diafiltrasyonu



Şekil 3.4. Ekstraktların 5 kDa ayırma sınırına sahip membran ile nanofiltrasyonu

Üçüncü kademe sonucunda elde edilen %10'luk retentat akısı (R_3) ile %90'luk permeat akısı (P_3) analiz edilmiştir. Retentat akısı (R_3), permeat akısındaki (P_3) Reb A baz alınarak aynı miktarda Reb A içerecek şekilde sulandırılmış acı tat ve otsu koku değerlendirmesi yapılmıştır. Değerlendirme sonucunda aynı miktarda Reb A içeren permeat akısında (P_3) otsu kokunun arttığı ve acı tadın kaldığı, retentat akısında (R_3) ise otsu kokunun kaybolduğu, acı tadın ise kabul edilebilir bir düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. Retentat akısının (R_3) şeker eşdeğeri hesaplanarak ürün meyveli içecek ürün formülasyonlarında şeker yerine ikame edilmek için kullanılmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Meyveli içecek üretiminde kullanılan retentat akısı (R_3)

3.2.2. Stevia ekstraktları katkılanarak nektar ve meyveli içeceklerin üretimi

Meyveli içecek üretimi için Dimes Gıda San. ve Tic. A.Ş.' den temin edilen vişne (65°Bx), nar (65°Bx), portakal (65°Bx) ve limon (41°Bx), konsantreleri kullanılmıştır. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'ne göre nektar ve meyveli içeceklere katkılanacak steviol glikozitlerin miktarı maksimum 0.2 g/L olarak belirlenmiştir. Steviol glikozitler yaklaşık olarak sakarozdan 300 kat daha fazla bağl tatlılığa sahiptir. Dolayısıyla, 0.2 g/L steviol glikozit 60 g sakkarozla eşdeğer sayılmaktadır. Filtrasyon işlemlerinden sonra elde edilen stevia ekstraktı analiz edilmiş ve 60 g/L steviol glikozit içerdiği tespit edilmiştir. Üretilen stevia ekstraktından 3.3 g alındığında bu içerik 0.2 g/L steviol glikozit içermektedir. Bu durumda eklendiği ürüne yaklaşık %6 şekerle eşdeğer tatlılık kazandırmaktadır.

Her bir meyveli içecek türü için %0 (kontrol), %10, %30 ve %50 enerjisi azaltılmış ürün formülasyonu oluşturulmuştur. Eklenen stevia ekstrakt miktarı üretilen %50 enerjisi düşürülmüş meyveli içeceklerde toplam steviol glikozit miktarı en fazla 0.2 g/L olacak şekilde hesaplanmıştır. Nektarlar %35-50, meyveli içecekler (Limon) %10 meyve unsuru içerecek şekilde farklı oranlarda meyve suyu konsantresi, şeker, stevia ekstraktı ve su eklenerek ayarlanmıştır. Homojen yapı elde edildikten sonra meyveli içecekler cam şişelere koyularak 4°C'de buzdolabında bekletilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Meyve Suyu ve Benzeri Ürünler Tebliği'ne göre meyve sularının brix değerinin 12 ile 13.5 arasında olması gerekmektedir. Vişne, nar, portakal ve limon meyveli içecekler yaklaşık 12 brix olacak şekilde üretilmiştir.

Vişne, nar ve portakal meyve bazlı içeceklerin ürün formülasyonları Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Portakal içeceği, vişne ve nar içeceği üretim formülasyonuna göre denenmiş fakat asitliği yetersiz bulunmuştur. Asitlik düzeyini 7 g/L (sitrik asit cinsinden) seviyesinde dengelemek için portakallı içeceklere 3 g/L düzeyinde limon konsantresi eklenmiştir. Limon içeceği üretiminde ise konsantre miktarı %2.5 olacak şekilde formüle edilmiştir (Çizelge 3.2).

Meyve suyu ve nektar tanımında su, şeker ve asitliği düzenleyici dışında hiçbir katkı bulunmadığı için tüm enerjisi azaltılmış örnekler meyve bazlı içecek veya meyveli içecek olarak tanımlanmıştır.

Vişne, nar, portakal ve limon içecekleri sırasıyla V, N, P, L harfleri ile kodlanmıştır. %0 (kontrol), %10, %30 ve %50 enerjisi azaltılmış örnekler ise meyve türüne ait harfin yanına sırası ile K, 10, 30 ve 50 şeklinde yazılarak belirtilmiştir. Her bir içecek kendi meyve grubu içerisinde değerlendirilmiştir

Çizelge 3.1. Vişne, nar ve portakal meyveli içeceklerinin formülasyonu

Ürün	Konsantre Miktarı (g)	Şeker Miktarı (g)	Stevia Ekstrakt Miktarı (g)	Su Miktarı (g)
Kontrol Grubu (%0 Enerjisi Azaltılmış)	100+3g*	60	-	840
%10 Enerjisi Azaltılmış	100+3g*	47.5	0.68	852
%30 Enerjisi Azaltılmış	100+3g*	22.5	2.06	875.5
%50 Enerjisi Azaltılmış	100+3g*	-	3.4	896

*Sadece portakal meyveli içecek üretiminde asitliği dengelemek için 3g/L düzeyinde limon konsantresi eklenmiştir.

Çizelge 3.2. Limon meyveli içecek formülasyonu

Ürün	Konsantre Miktarı (g)	Şeker Miktarı (g)	Stevia Ekstrakt Miktarı (g)	Su Miktarı (g)
Kontrol Grubu (%0 Enerjisi Azaltılmış)	25	115	-	860
%10 Enerjisi Azaltılmış	25	102.25	0.68	872
%30 Enerjisi Azaltılmış	25	77.25	2.06	895
%50 Enerjisi Azaltılmış	25	52.25	2.4	919

3.2.3. Analiz yöntemleri

3.2.3.1. Suda çözünür kuru madde tayini

Stevia ekstraktları katkılanarak hazırlanan tüm içeceklerde suda çözünür kuru madde tayini dijital refraktometre (Isolab, Almanya) kullanılarak tespit edilmiştir (Cemeroğlu 2007).

3.2.3.2. pH tayini

Tüm içeceklerde pH tayini oda sıcaklığında 10 mL içecek örneğine pH metrenin (FE20-Five easy, Mettler-Toledo, Ohio, ABD) cam elektrotunun daldırılmasıyla yapılmıştır.

3.2.3.3. Toplam asitlik tayini

Stevia ekstraktları katkılanarak hazırlanan nektar ve meyveli içeceklerden belli miktarda alınıp, pH 8,1 oluncaya kadar 0,1 N NaOH (Merck, Almanya) ile titre edilerek toplam asitlik tayini yapılmıştır. Toplam asit miktarı susuz sitrik asit cinsinden aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2007).

$$\text{Titrasyon asitliği (\%)} = (V \times F \times 100 / M) \times E$$

V: Harcanan 0,1 N NaOH miktarı (mL)

F: 1

E: 1 ml 0,1 N NaOH'in susuz sitrik asit cinsinden eşdeğer asit miktarı

M: Titre edilen örneğin gerçek miktarı (mL)

3.2.3.4. Renk analizi

Farklı oranlarda stevia ekstraktı içeren içeceklerin renk analizi, Hunter Lab UltraScan VIS cihazı (Hunter Associates Laboratory Inc., USA) kullanılarak yapılmıştır. L* değeri parlaklığı, a* değeri kırmızılık-yeşillik, b* değeri ise sarılık-mavilik temsil etmektedir.

3.2.3.5. Duyusal analiz

Farklı enerji düzeylerinde üretilen vişne, nar, portakal ve limon içecekleri 4°C deki buzdolabından çıkartılarak soğuk olarak cam bardaklarda sigara içmeyen 1 erkek 9 kadından oluşan 10 kişilik panelist grubuna sunulmuştur. Örnekler arasında geçiş sırasında ağızda oluşan tadın nötrlenmesi için panelistlere tuzsuz ve tatsız kraker verilmiştir. Panelistlerden örnekleri renk, bulanıklık, tat/lezzet, ağızda bıraktığı his ve toplam beğeni bakımından 1 (çok kötü) ile 5 (çok iyi) arasında puan vererek değerlendirmeleri istenmiştir (Şekil 3.6). Duyusal analizlerde kullanılan değerlendirme formu Çizelge 3.3'de verilmiştir.



Şekil 3.6. Panelistler tarafından yapılan duyusal analiz

Çizelge 3.3. Duyusal değerlendirme formu

Örnek Kodu	Renk	Bulanıklık	Tat/Lezzet	Ağızda Bıraktığı His	Toplam Beğeni
Not: Her özelliği beğeni ile paralel olarak 1'den 5'e kadar puanlandırınız. (5). Çok iyi, (4). İyi, (3). Orta, (2). Kötü, (1). Çok kötü					

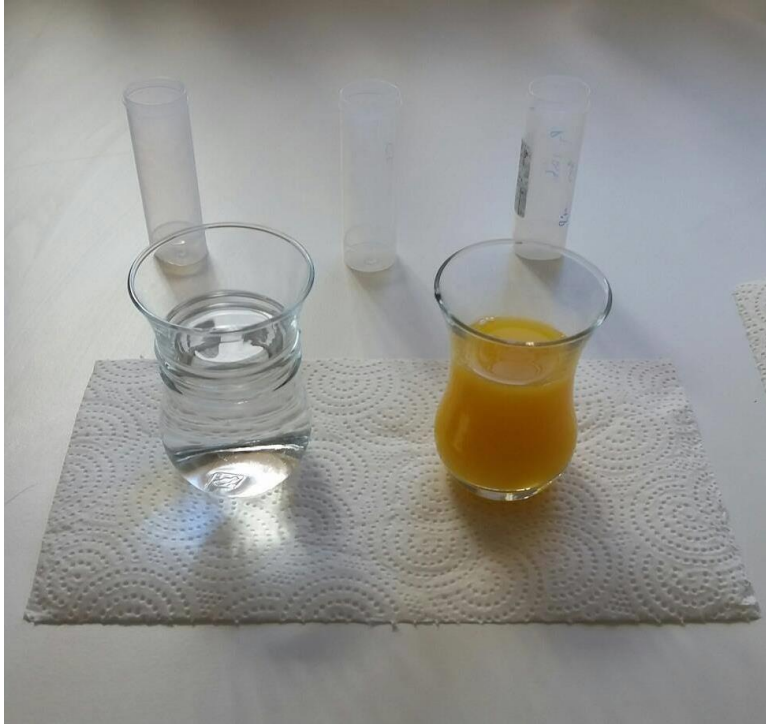
3.2.3.6. Steviol glikozitlerin HPLC ile belirlenmesi

Steviol glikozit dağılımı HPLC ile harici standart metodu kullanılarak izokratik koşullarda belirlenmiştir (Anonim 2012). Analizde Shimadzu marka HPLC cihazı (LC 20 AD), Nucleodur MN C18ec kolon (5 µm, 250 x 4.6 mm, ID) ve diode array dedektör sistemi (210 nm) ile birlikte kullanılmıştır. Hareketli faz olarak asetonitril (HPLC saflığında) ve sodyum fosfat tamponu (pH 2.6) karışımı (32:68) kullanılmıştır. Hareketli faz akış hızı 0.8 mL/dakika, örnek enjeksiyon hacmi 10 µl, kolon sıcaklığı 40°C'dir. Örnekler 0.45 µm'lik filtreden geçirilmiş, 210 nm dalga boyunda analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre ağız salgısı örneklerinin steviol glikozit miktarları kontrol grubu kabul edilen %50 enerjisi düşürülmüş meyveli içeceklerle kıyaslanarak ağızda kalıcılık değerleri hesaplanmıştır.

Bu çalışma için Akdeniz Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu'ndan etik uygunluk belgesi istenmiş ve kurulun 01/11/2018 tarihli 14 nolu toplantısında oy birliği ile uygunluk belgesi verilmiştir (EK 9).

Meyve bazlı içeceklerin tüketimleri sırasında yapısındaki bileşiklerin ağız içerisindeki salınımını belirlemek amacıyla her meyve grubundan %50 enerjisi düşürülmüş içecek kullanılarak 10 kişilik panelist grubundan ağız salgısı örnekleri alınarak analiz edilmiştir. Ön denemede 5 mL meyveli içecek ağızda 5 saniye bekletilmiş 30., 60., ve 90. saniyede salgı örnekleri alınarak HPLC'de analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre 30. saniyede alınan salgı örneğinde steviol glikozit miktarının tespit edilemeyecek kadar az olduğu 60. ve 90. saniyelerde ise tespit edilemediği görülmüştür. Analiz şartlarında değişiklik yapılarak panelistlere sunulacak meyveli içecek miktarı artırılmış, ağız salgısı örneklerinin alım zamanları ise azaltılmıştır.

Duyusal analizde 10 kişilik panelist grubundan ilk olarak ağız içinde bulunan artıkların kaba olarak giderilmesi amacıyla verilen suyu üç yudumda içmeleri, her yudumda suyu ağızlarında 5 saniye dolaştırarak yutmaları istenmiştir. Daha sonra 50 mL %50 enerjisi azaltılmış içecek örneklerini iki yudumda içmeleri istenmiştir. İlk yudumda ağız içini şartlamak amacıyla 5 saniye, 2. yudumda ise 10 saniye ağızlarının içinde gezdirip yutmaları, daha sonra 10., 20. ve 40. saniyede örnek tüplerine ağız salgısı bırakmaları istenmiştir (Şekil 3.7). Analiz, sonuçların doğruluğu için iki tekerrür ve iki paralel olarak farklı günlerde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.7. Panelistlere sunulan %50 enerjisi azaltılmış portakal meyveli içeceğinde ağız salgısı örneği alma

Örnek hazırlamada salgı örneklerinin viskoz yapılarından dolayı 0.45 µm'lik filtreden geçemedikleri görülmüştür. Örnekler ependorf tüplere aktararak 5 dakika, 14.000 rölatif santrifüj kuvvetinde (rcf) santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmının analiz için uygun olmadığı görülmüş santrifüj süresi 10 dakika, rcf ise 16.000'e çıkarılmıştır. Analizde kullanılacak olan süpernatant kısmının HPLC örnek hazırlama aşaması için uygun olduğu görülmüştür. Örnekler 10 kat seyreltilip HPLC ile analiz edilmiştir (Potineni ve Peterson, 2008).

3.2.3.7. İstatistiksel analiz

HPLC ile steviosit ve rebaudiosit A tayini dışında bütün analizler üç tekekkür ve üç paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilere varyans analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. Tüm istatistik hesaplamalar SAS istatistik programı (Statistical Analysis System, version 9.00, 2002, USA) ile yapılmış olup değerler ortalama $\pm$ standart hata şeklinde verilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

İçecek formülasyonlarında kullanılan retentat akısının steviosit ve reb A içeriği Çizelge 4.1’ de verilmiştir. Reb A ve steviosit dışında diğer steviol glikozitlerinde varlığı düşünülerek stevia ekstraktının yaklaşık olarak toplam 60 g/L steviol glikozit içerdiği kabul edilmiştir.

Çizelge 4.1. Meyveli içecek üretiminde kullanılan stevia ekstraktında ana steviol glikozit bileşenleri

Kullanılan Kısım	Reb A (g/L)	Steviosit (g/L)
Retantat (R_3)	29.995	28.105

4.1. Analiz Sonuçları

4.1.1. Tanımlayıcı analizler

Her bir meyve bazlı içecek için hazırlanan %0 (kontrol), %10, %30 ve %50 enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin tanımlayıcı özellikleri olan suda çözünür kuru madde, pH ve toplam asitlik değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin suda çözünür kuru madde, pH değeri ve titrasyon asitliği değerleri

Meyve Suyu	Bx°	pH	Titrasyon Asitliği
VK	11.767 ^a ± 0.066	3.342 ^a ± 0.066	0.710 ^a ± 0.034
V10	10.667 ^b ± 0.033	3.274 ^a ± 0.098	0.695 ^a ± 0.034
V30	8.144 ^c ± 0.039	3.354 ^a ± 0.077	0.694 ^a ± 0.031
V50	5.856 ^d ± 0.029	3.334 ^a ± 0.041	0.686 ^a ± 0.032
NK	11.667 ^a ± 0.033	3.244 ^a ± 0.083	0.704 ^a ± 0.034
N10	10.433 ^b ± 0,033	3.250 ^a ± 0.048	0.695 ^a ± 0.035
N30	7.900 ^c ± 0,057	3.264 ^a ± 0.033	0.693 ^a ± 0.036
N50	5.611 ^d ± 0.011	3.286 ^a ± 0.025	0.683 ^a ± 0.032
PK	11.100 ^a ± 0,115	3.536 ^a ± 0.025	0.586 ^a ± 0.024
P10	9.767 ^b ± 0,126	3.526 ^a ± 0.044	0.570 ^a ± 0.030
P30	7.300 ^c ± 0,100	3.574 ^a ± 0.022	0.570 ^a ± 0.029
P50	5.022 ^d ± 0,098	3.602 ^a ± 0.026	0.567 ^a ± 0.025
LK	11.467 ^a ± 0,033	2.607 ^a ± 0.026	0.769 ^a ± 0.054
L10	10.178 ^b ± 0,022	2.604 ^a ± 0.033	0.759 ^a ± 0.042
L30	7.644 ^c ± 0,044	2.644 ^a ± 0.012	0.750 ^a ± 0.044
L50	5.111 ^d ± 0,055	2.610 ^a ± 0.126	0.741 ^a ± 0.041

Değerler üzerinde bulunan farklı harfler örneklerin kendi grubu içindeki değerinin p<0.05 seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Meyve bazlı içeceklerin şeker ve enerji düzeylerine bağlı olarak suda çözünür kuru madde miktarlarında farklılık oluşmuştur. Cadena vd. (2013) tarafından farklı tatlandırıcılar kullanılarak üretilen mango meyve sularında stevia (%97 rebaudiosit) katkılı meyve suyunun brix değeri 7.83 olarak bulunmuştur. 0., 60. ve 120. günde incelenen örneklerde depolama boyunca stevia miktarının sabit kaldığı tespit edilmiştir. Dutra ve Bolini (2013) tarafından yapılan benzer çalışmada ise %40, %60, %80 ve %95 rebaudiosit A içeren stevia ekstraktı katkılanarak meyve suyu üretilmiş ve brix değeri sırası ile 2.97, 2.93, 3.20 ve 3.03 olarak saptanmıştır. Çizelge 4.2 incelendiğinde bulguların literatürle uyumlu olduğu görülmektedir. Kontrol grubu ve enerjisi azaltılmış örneklerin pH varyans analiz sonuçları Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin pH değerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	SD	pH	
		KO	F
Vişne	3	0.004	0.28
Hata	8	0.013	
Nar	3	0.001	0.12
Hata	8	0.008	
Portakal	3	0.004	1.35
Hata	8	0.003	
Limon	3	0.001	0.50
Hata	8	0.002	

Varyans analizi sonuçlarına göre farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerde eklenen stevia ekstraktı miktarının içeceklerin pH değeri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Kontrol grubu, %10, %30 ve %50 enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerde pH değerlerinin her meyveli içecek grubu içinde birbirlerine yakın olduğu görülmüştür. Bu durum şeker yerine ikame edilen stevia ekstraktının pH değerinin nötre yakın olması ve eklenen ekstrakt miktarının az olmasından kaynaklanmaktadır.

Rocha ve Bolini (2015) tarafından yapılan çalışmada sakkaroz, aspartam, sükraloze, stevia, siklamat/sakarın (2:1) ve neotam tatlandırıcıları ve çarkıfelek meyvesi kullanılarak meyve suyu üretilmiştir. Farklı tatlandırıcıların pH değeri üzerindeki etkilerinin istatistiksel olarak önemsiz bulunduğu belirlenmiştir. En yüksek pH değerinin aspartam en düşük pH değerinin ise sükraloze katkılı meyve sularında olduğu tespit edilmiştir. Stevia katkılı meyve suyunda pH değeri 2.80 olarak bulunmuştur.

Cadena vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada başlangıç pH değeri 4.10 olan stevia (%97 rebaudiosit) katkılı mango meyve sularında depolamaya bağlı pH değişimi incelenmiş ve depolama şartlarından kaynaklı farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Dutra ve Bolini (2013) tarafından %40, %60, %80 ve %95 rebaudiosit A içeren stevia ekstraktı katkılanarak meyve suyu üretilmiş ve pH değeri sırası ile 3.58, 3.57, 3.46 ve 3.43 olarak belirlenmiştir.

Toplam asitlik açısından örneklerin karşılaştırılması amacıyla her bir meyveli içecek kendi meyve grubu içerisinde değerlendirilmiş, analiz sonuçları susuz sitrik asit cinsinden hesaplanmıştır. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerde, eklenen stevia ekstrakt miktarının toplam asitlik üzerine etkisine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin, toplam asitlik değerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	SD	Titrasyon Asitliği (g/100mL)	
		KO	F
Vişne	3	0.000	0.10
Hata	8	0.003	
Nar	3	0.000	0.06
Hata	8	0.003	
Portakal	3	0.000	0.10
Hata	8	0.002	
Limon	3	0.000	0.07
Hata	8	0.006	

Varyans analizi sonuçlarına göre eklenen stevia ekstraktı miktarının içeceklerin titrasyon asitliği değeri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerde titrasyon asitliği değerlerinin birbirlerine yakın olduğu görülmüştür. Kontrol grubu örneklerin titrasyon asitliğinin yüksek, %50 enerjisi azaltılmış içecek gruplarının ise düşük olduğu görülmektedir.

Önceki çalışmalarda farklı tatlandırıcılar kullanılarak üretilen meyve suyu örneklerinde titrasyon asitliği incelenmiş; stevia katkılı meyve sularında titrasyon asitliği %0.5262 olarak tespit edilmiştir (Rocha ve Bolini 2015).

Cadena vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada başlangıç titrasyon asitliği %0.1538 olan stevia (%97 reb A) katkılı mango meyve sularında depolamaya bağlı titrasyon asitliği (%) değişimi incelenmiş ve fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Dutra ve Bolini (2013) ise %40, %60, %80 ve %95 rebaudiosit A içeren stevia ekstraktı katkılanarak üretilen meyve sularında titrasyon asitliğini sırası ile 0.258, 0.250, 0.220 ve 0.224 olarak saptanmış, örnekler arasında farkı istatistiksel olarak önemsiz bulmuştur.

4.1.2. Enerjisi azaltılmış meyve bazlı içeceklerin renk değerlerinin karşılaştırılması

Her bir meyveli içecek grubu için kontrol, %10, %30 ve %50 enerjisi azaltılmış örneklerde yapılan renk analizi sonucu elde edilen değerler Çizelge 4.5’de, bu değerlere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.6’de, değerlerin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları ise Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin L*, a*, b* renk değerleri

Meyve suyu	L*	a*	b*
VK	1.380 ± 0.129	9.010 ± 0.907	2.230 ± 0.301
V10	1.434 ± 0.003	9.452 ± 0.031	2.313 ± 0.106
V30	1.347 ± 0.006	8.854 ± 0.127	2.194 ± 0.094
V50	1.273 ± 0.005	8.271 ± 0.037	2.051 ± 0.080
NK	24.320 ± 0.697	49.393 ± 0.956	41.353 ± 1.102
N10	25.370 ± 0.080	50.614 ± 0.182	43.080 ± 0.062
N30	24.982 ± 0.083	50.151 ± 0.108	42.489 ± 0.241
N50	24.879 ± 0.144	50.060 ± 0.069	42.284 ± 0.225
PK	3.336 ± 0.012	7.397 ± 0.000	5.610 ± 0.075
P10	3.273 ± 0.033	7.169 ± 0.076	5.497 ± 0.101
P30	2.934 ± 0.041	6.642 ± 0.107	4.917 ± 0.098
P50	2.619 ± 0.051	6.124 ± 0.150	4.366 ± 0.051
LK	34.050 ± 0.337	2.803 ± 0.023	18.683 ± 0.062
L10	32.879 ± 0.461	2.811 ± 0.029	19.794 ± 0.128
L30	30.766 ± 0.464	2.820 ± 0.029	21.753 ± 0.203
L50	29.682 ± 0.099	3.028 ± 0.026	23.352 ± 0.097

Çizelge 4.6. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin renk değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	SD	L*		a*		b*	
		KO	F	KO	F	KO	F
Vişne	3	0.013	1.08	0.714	1.13	0.035	0.41
Hata	8	0.012		0.631		0.088	
Nar	3	0.594	1.44	0.760	1.05	1.540	1.55
Hata	8	0.390		0.723		0.996	
Portakal	3	0.330	78.51**	0.970	32.28**	0.990	43.83**
Hata	8	0.004		0.030		0.022	
Limon	3	11.775	28.43**	0.035	15.62**	12.878	240.48**
Hata	8	0.414		0.002		0.053	

** p<0.01 seviyesinde önemliliği ifade eder.

Çizelge 4.7. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin, renk değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi analiz sonuçları

Meyve Suyu	L*	a*	b*
VK	1.380 ^a ± 0.130	9.010 ^a ± 0.907	2.230 ^a ± 0.302
V10	1.434 ^a ± 0.003	9.452 ^a ± 0.031	2.313 ^a ± 0.106
V30	1.346 ^a ± 0.007	8.854 ^a ± 0.128	2.195 ^a ± 0.094
V50	1.273 ^a ± 0.006	8.271 ^a ± 0.037	2.051 ^a ± 0.081
NK	24.320 ^a ± 0.698	49.393 ^a ± 0.957	41.353 ^a ± 1.102
N10	25.370 ^a ± 0.080	50.614 ^a ± 0.182	43.080 ^a ± 0.063
N30	24.982 ^a ± 0.084	50.151 ^a ± 0.108	42.489 ^a ± 0.241
N50	24.879 ^a ± 0.144	50.060 ^a ± 0.070	42.284 ^a ± 0.225
PK	3.336 ^a ± 0.012	7.397 ^a ± 0.000	5.610 ^a ± 0.087
P10	3.273 ^a ± 0.034	7.169 ^a ± 0.077	5.491 ^a ± 0.102
P30	2.934 ^b ± 0.042	6.642 ^b ± 0.108	4.917 ^b ± 0.098
P50	2.619 ^c ± 0.051	6.125 ^c ± 0.150	4.366 ^c ± 0.051
LK	34.050 ^a ± 0.338	2.804 ^b ± 0.023	18.683 ^d ± 0.063
L10	32.879 ^a ± 0.461	2.811 ^b ± 0.030	19.794 ^c ± 0.129
L30	30.766 ^b ± 0.464	2.820 ^b ± 0.030	21.753 ^b ± 0.203
L50	29.682 ^b ± 0.099	3.028 ^a ± 0.027	23.352 ^a ± 0.098

Değerler üzerinde bulunan farklı harfler örneklerin kendi grubu içindeki değerinin p<0.05 seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Varyans analizi sonuçlarına göre eklenen stevia ekstrakt miktarının renk değerleri üzerinde portakal ve limon meyveli içecek gruplarında önemli (p<0.01), vişne ve nar meyveli içeceklerinde ise önemsiz olduğu belirlenmiştir.

L değeri parlaklığı, a değeri kırmızılık ve yeşillik, b değeri ise sarılık ve mavilik belirtmekte olup, her üç değer de 0 ile 100 arasında değişkenlik göstermektedir. L değerinin 0 olması siyahı, 100 olması beyazı temsil etmektedir. Burada a değerinin artması kırmızılığın, azalması yeşillik arttığı, b değerinin artması sarılığın, azalması ise maviliğin arttığı göstergesidir. Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre limon içeceklerinde eklenen stevia ekstrakt miktarının artması ile L* değerinin azaldığı, a* ve b* değerlerinin ise arttığı görülmüştür. Enerji değeri %50 enerjisi azaltılmış limonlu içeceklerin kontrol grubuna göre koyu renkte olması duyu analizde panelistler tarafından kontrol grubuna göre daha fazla beğenilmesine neden olmuştur. Portakal içeceklerinde ise eklenen stevia ekstrakt miktarının artması ile L*, a* ve b* değerlerinin azaldığı görülmüştür. Portakal ve limon içeceklerin renklerinin nar ve vişne meyveli içecek örneklerine göre daha açık olması ve eklenen stevia ekstraktının renkli (bkz. Şekil 3.5) olmasından dolayı portakal ve limon meyveli içeceklerinde renk değerleri arasında fark oluşmuştur. Vişne ve nar içecek gruplarının hakim renk maddeleri antosiyaninler olduğu için eklenen stevia ekstraktının renginden etkilenmediği düşünülmüştür.

Günümüze kadar yapılan bazı çalışmalarda değişik meyve sularında farklı sonuçlar elde edilmiştir. Stevia ekstraktı ve saflaştırılmış reb A katkılarının renk üzerinde etkisini meyve suyunun hakim renk maddesinin belirlediği düşünülmüştür. Genel olarak meyve suyu formüllerine eklenen stevia ekstrakt miktarı düşük olduğu için renk üzerinde farklılık duyu olarak fark edilememektedir. Bu sonuçlar stevia ekstraktının renginin

ürün formülasyonu çalışmaları açısından dikkate alınmayacak bir özellik olduğunu düşündürmektedir. Birçok şekerli gıdanın üretiminde stevia ürünlerinin kullanımı sınırlıdır. Nitekim Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'ne göre meyve bazlı içeceklerde stevia ürünlerinin katkılanma limiti 200 ppm olarak sınırlandırılmıştır.

Rocha ve Bolini (2015) tarafından yapılan çalışmada stevia katkılı meyve sularında L^* , a^* ve b^* değerleri sırası ile 41.226, 5.787 ve 29.213 olarak tespit edilmiştir. Sakkaroz katkılı meyve suyu örneklerinin renk değerleri ile karşılaştırıldığında L^* , a^* ve b^* değerlerinin azaldığı bildirilmiştir.

Cadena vd (2013)'ne göre ise L^* , a^* ve b^* değerleri sırası ile 51.06, 4.29 ve 17.16 olan stevia katkılı mango meyve sularında zamanla L^* değerinin düştüğü, a^* ve b^* değerinin ise yükseldiği saptanmıştır.

Benzer bir çalışmada %40, %60, %80 ve %95 rebaudiosit A içeren stevia ekstraktı katkılanarak üretilen meyve sularında %95 reb A içeren örneklerde L^* , a^* ve b^* değerleri sırası ile 36.85, 13.80 ve 13.14 olarak bulunmuştur (Dutra ve Bolini 2013).

Garavand vd. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada şeker yerine ikame edilen steviositin bisküvi örneklerinin renk değeri üzerine etkisi araştırılmış ve %0, %50 ve %100 steviosit içeren bisküviler üretilmiştir. Steviosit miktarının artmasıyla birlikte L^* ve b^* değerinde artma, a^* değerinde ise azalma tespit edilmiştir.

Malezya'nın geleneksel keki olan kuih baulu kekinin üretiminde şeker yerine %35, %40, %45 ve %50 reb A ikame edilerek renk analizi yapılmış ve L^* değerinin kontrol grubundan yüksek olduğu görülmüştür (Hamzah vd. 2013).

4.1.3. Enerjisi azaltılmış meyve bazlı içeceklerin duyusal değerlendirilmesi

Her bir meyveli içecek grubunda kontrol, %10, %30 ve %50 enerjisi azaltılmış örneklerde yapılan duyusal analiz sonuçlarına ait değerler Çizelge 4.8'de, varyans analiz sonuçları Çizelge 4.9'de, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları ise Çizelge 4.10'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklere ait duyusal analiz sonuçları

Meyve Suyu	Renk	Bulanıklık	Tat/Lezzet	Ağızda Bıraktığı His	Toplam Beğeni
VK	4,87	4,5	4,3	4,3	4,3
V10	4,73	4,4	4,4	4,4	4,5
V30	4,83	4,4	4,4	4,4	4,5
V50	4,63	4,3	3,8	3,7	3,8
NK	4,57	4,8	4,2	4,1	4,2
N10	4,57	4,8	4	3,8	3,9
N30	4,67	4,7	3,9	3,7	3,8
N50	4,57	4,7	3,4	3,2	3,4
PK	4,3	4,2	3,9	3,8	3,8
P10	4,6	4,1	3,5	3,4	3,7
P30	4,47	4,1	3,4	3,3	3,5
P50	4,37	4,1	3,4	3,3	3,4
LK	4,7	4	4,5	4,4	4,4
L10	4,7	4,2	4,6	4,6	4,7
L30	4,53	4	4,3	4,1	4,3
L50	4,63	3,9	4,2	3,9	3,9

Çizelge 4.9. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin, duyuşsal özellik değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	SD	Renk		Bulanıklık		Tat/Lezzet		Ağızda Bıraktığı His		Toplam Beğeni	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Vişne	3	0.033	2.50	0.009	0.06	0.227	2.44	0.276	5.72*	0.313	4.32*
Hata	8	0.013		0.150		0.093		0.048		0.072	
Nar	3	0.007	0.47	0.011	0.46	0.370	3.19	0.389	5.38*	0.353	2.81
Hata	8	0.158		0.024		0.115		0.075		0.125	
Portakal	3	0.018	0.31	0.007	0.16	0.126	2.49	0,147	3.47	0.107	3.15
Hata	8	0.059		0.048		0.058		0.045		0.034	
Limon	3	0.051	1.75	0.045	2.09	0.076	2.00	0.257	8.84**	0.278	12.40**
Hata	8	0.029		0.021		0.038		0.029		0.025	

*0.01 < p < 0.05. ** p < 0.01 seviyesinde önemliliği ifade eder.

Çizelge 4.10. Farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerin, duyu özellik değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

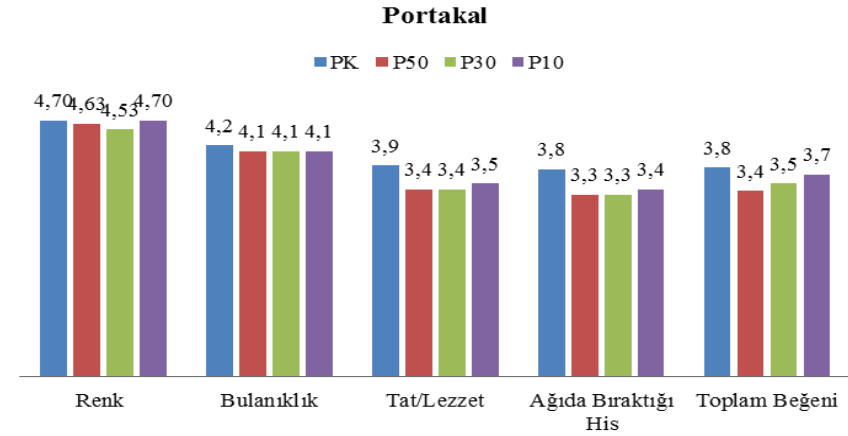
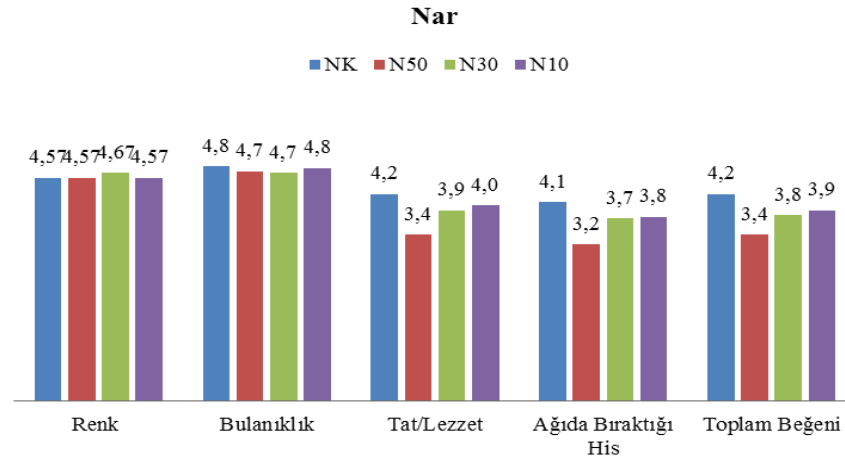
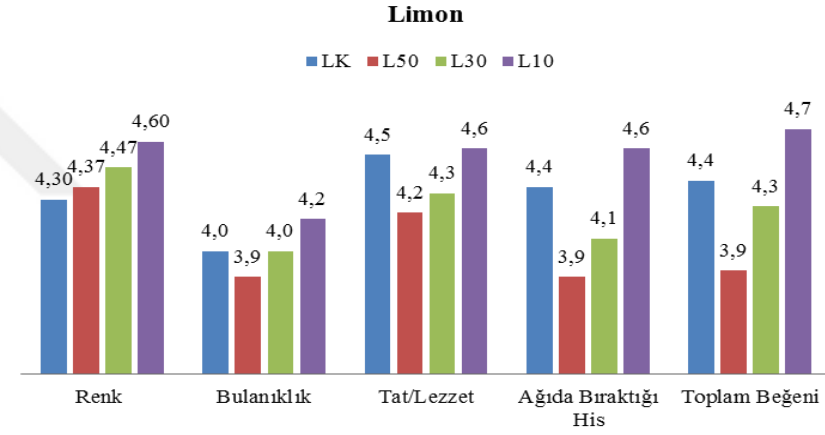
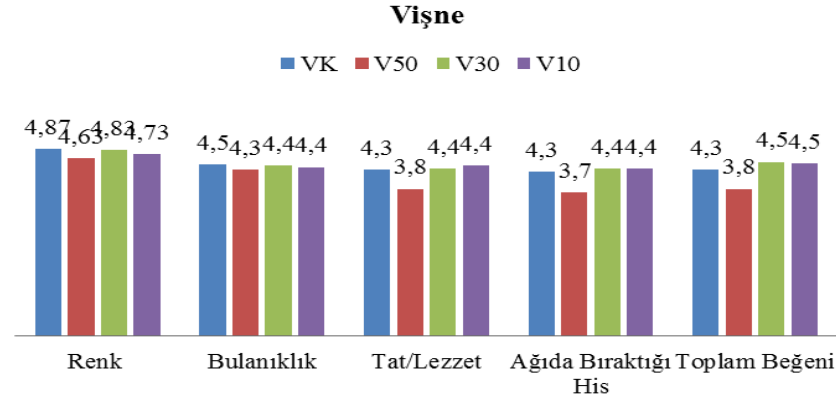
Meyve Suyu	Renk	Bulanıklık	Tat/Lezzet	Ağızda Bıraktığı His	Toplam Beğeni
VK	4.867 ^a ± 0.088	4.467 ^a ± 0.285	4.333 ^a ± 0.186	4.267 ^a ± 0.120	4.333 ^{ab} ± 0.203
V10	4.733 ^{ab} ± 0.033	4.400 ^a ± 0.173	4.433 ^a ± 0.219	4.367 ^a ± 0.167	4.500 ^a ± 0.153
V30	4.833 ^{ab} ± 0.033	4.433 ^a ± 0.186	4.367 ^a ± 0.186	4.367 ^a ± 0.145	4.533 ^a ± 0.120
V50	4.633 ^b ± 0.088	4.333 ^a ± 0.233	3.833 ^a ± 0.088	3.733 ^b ± 0.033	3.833 ^b ± 0.133
NK	4.567 ^a ± 0.033	4.800 ^a ± 0.058	4.233 ^a ± 0.167	4.067 ^a ± 0.186	4.233 ^a ± 0.219
N10	4.567 ^a ± 0.088	4.767 ^a ± 0.133	4.00 ^{ab} ± 0.100	3.767 ^a ± 0.133	3.900 ^{ab} ± 0.115
N30	4.667 ^a ± 0.088	4.667 ^a ± 0.088	3.900 ^{ab} ± 0.115	3.733 ^a ± 0.145	3.800 ^{ab} ± 0.115
N50	4.567 ^a ± 0.067	4.700 ^a ± 0.058	3.400 ^b ± 0.321	3.200 ^b ± 0.153	3.400 ^{ab} ± 0.306
PK	4.700 ^a ± 0.115	4.233 ^a ± 0.167	3.867 ^a ± 0.033	3.800 ^a ± 0.115	3.833 ^a ± 0.088
P10	4.700 ^a ± 0.153	4.133 ^a ± 0.145	3.533 ^a ± 0.176	3.433 ^{ab} ± 0.145	3.700 ^{ab} ± 0.153
P30	4.533 ^a ± 0.186	4.133 ^a ± 0.088	3.433 ^a ± 0.167	3.333 ^b ± 0.145	3.533 ^{ab} ± 0.120
P50	4.633 ^a ± 0.088	4.133 ^a ± 0.088	3.433 ^a ± 0.088	3.333 ^b ± 0.033	3.400 ^b ± 0.000
LK	4.300 ^a ± 0.153	4.033 ^{ab} ± 0.067	4.533 ^a ± 0.033	4.367 ^{ab} ± 0.033	4.400 ^{ab} ± 0.153
L10	4.600 ^a ± 0.000	4.200 ^a ± 0.058	4.567 ^a ± 0.145	4.567 ^a ± 0.033	4.667 ^a ± 0.033
L30	4.467 ^a ± 0.088	4.033 ^{ab} ± 0.133	4.333 ^a ± 0.145	4.100 ^{bc} ± 0.153	4.267 ^{ab} ± 0.033
L50	4.367 ^a ± 0.088	3.900 ^b ± 0.058	4.233 ^a ± 0.088	3.900 ^c ± 0.115	3.933 ^c ± 0.067

Değerler üzerinde bulunan farklı harfler örneklerin kendi grubu içindeki değerinin p<0.05 seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Varyans analizi sonuçlarına göre farklı oranlarda enerjisi azaltılmış meyveli içeceklerde eklenen stevia ekstrakt miktarının vişne, nar ve limon içeceklerinde ağızda bıraktığı his bakımından, vişne ve limon içeceklerinde ise toplam beğeni bakımından önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma testi sonuçları incelendiğinde renk bakımından vişneli içeceklerde VK, narlı içeceklerde N30, portakallı içeceklerde PK ve P10, limonlu içeceklerde L10 kodlu örnekler, bulanıklık bakımından vişneli içeceklerde VK, narlı içeceklerde NK, portakallı içeceklerde PK, limonlu içeceklerde L10 kodlu örnekler en yüksek puanı almıştır. Tat/lezzet bakımından vişneli içeceklerde V10, narlı içeceklerde NK, portakallı içeceklerde PK, limonlu içeceklerde L10 kodlu örnekler, ağızda bıraktığı his bakımından vişneli içeceklerde V30 ve V10, narlı içeceklerde NK, portakallı içeceklerde PK, limonlu içeceklerde L10 kodlu örnekler en yüksek puanı almıştır.

Duyusal analizdeki renk, bulanıklık, tat/lezzet ve ağızda bıraktığı his kriterlerinin puanlarının birbirine yakın olması panelistlerin, farklı oranlarda enerjisi azaltılmış içeceklerdeki farklılığı ayırt etmekte güçlük çektiğini, toplam beğenilerin kontrol gruplarına yakın olması enerjisi azaltılmış içeceklerin tüketici tarafından yüksek oranda kabul edildiğini göstermiştir (Şekil 4.1). Böylece içeceklerde kullanılan stevia ekstraktlarına uygulanan diafiltrasyon ve nanofiltrasyon işlemlerinin tüketici değerlendirmesi ile başarılı olduğu görülmüştür. Nitekim daha önceki bölümlerde belirtildiği gibi ekstraktların hazırlanmasında uygulanan 100 kDa ayırma sınırındaki diafiltrasyon ve 5 kDa ayırma sınırındaki nanofiltrasyonla stevia bitkisinden kaynaklanan otsu koku tamamen uzaklaştırılırken acılık ve koyu renk kısmen azaltılmış ve ekstraktın ürün formülasyonlarında kullanılabilir durumda olduğuna karar verilmiştir. Stevia ürünlerinin şekerlerle beraber kullanılması durumunda acılığının maskelenmesi yanında bağıl tatlılığının da arttığı bilinmektedir. Dolayısıyla enerjisi azaltılmış ürünlerde başarılı bir şekilde kullanılabileceği duyusal olarak değerlendirilmiş ve kanıtlanmıştır.



Şekil 4.1. Vişne, limon, nar ve portakal meyveli içeceklerin duyuşal değerlendirme sonuçları

4.1.4. Enerjisi azaltılmış meyve bazlı içeceklerin steviosit ve rebaudiosit A miktarları

Duyusal analiz sonuçlarına göre enerjisi azaltılmış tüm meyveli içecek örnekleri kısmen veya tamamen başarılı bulunmuştur. Tüm örneklerde toplam beğeni değerinin kabul edilebilir sınırlar içerisinde olduğu Çizelge 4.10 incelendiğinde görülmektedir. Dolayısıyla ağızda kalıcılık açısından enerjisi en fazla düşürülmüş %50 stevia ekstraktı içeren meyveli içeceklerde steviol glikozitlerin ağızda kalıcılık düzeyi tespit edilmiştir.

Panelistlere sunulan %50 enerjisi düşürülmüş vişne, nar, portakal ve limon içeceklerinden 10., 20. ve 40. saniyede toplanan ağız salgısı örneklerinin HPLC analiz sonuçları Çizelge 4.11’de gösterilmiştir. Farklı sürelerde alınan salgı örnekleri kontrol grubu ile kıyaslanarak ağızda kalıcılıkları hesaplanmıştır (Çizelge 4.12). Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan steviosit ve rebaudiosit A standartları HPLC’ de analiz edilerek standart kurve oluşturulmuş ve sonuçlar mg/L cinsinden verilmiştir.

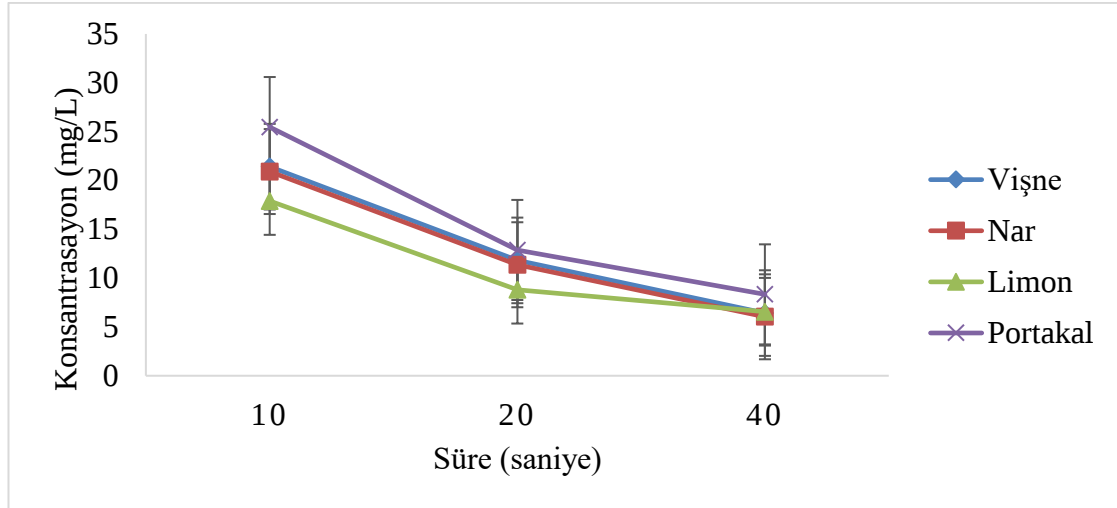
Çizelge 4.11. %50 enerjisi düşürülmüş meyveli içecekler ve farklı zamanlarda toplanan ağız salgısı örneklerinin HPLC analiz sonuçları

	%50 enerjisi azaltılmış meyveli içecekler			Reb A (mg/L)			Steviosit (mg/L)	
Meyveli içecek	Reb A (mg/L)	Steviosit (mg/L)	10.sn	20.sn	40.sn	10.sn	20.sn	40.sn
Vişne	81.130	93.357	21.409	11.810	6.419	23.038	13.224	8.016
Nar	77.352	86.675	20.910	11.367	6.036	23.461	13.098	9.723
Limon	66.772	84.656	17.894	8.810	6.556	21.946	10.914	7.059
Portakal	100.030	88.214	25.465	12.881	8.333	26.292	14.352	9.643

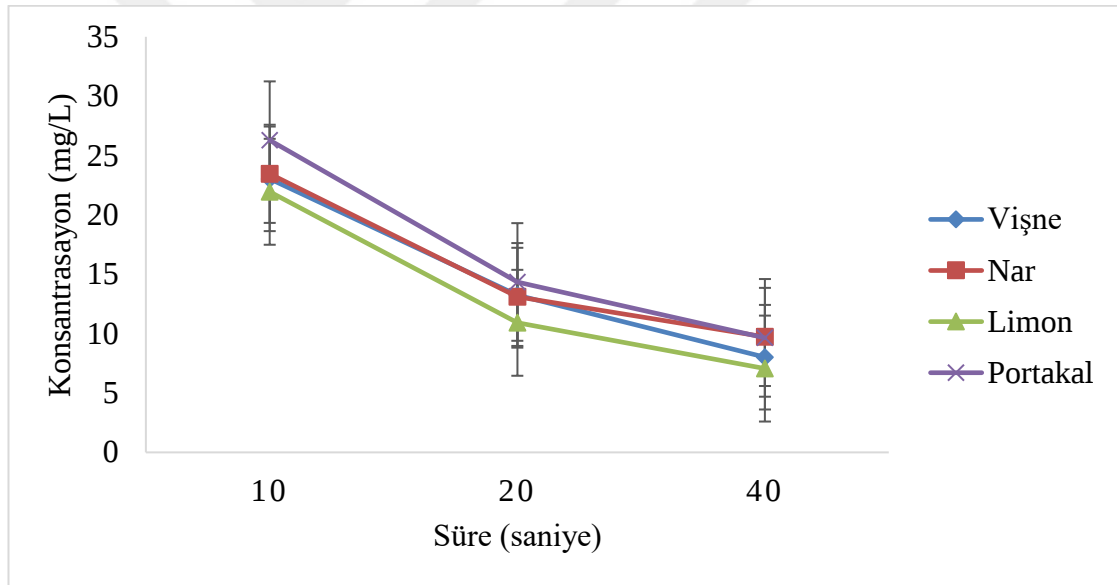
Çizelge 4.12. %50 enerjisi azaltılmış ürünlerde reb A ve steviositin zamana bağlı olarak ağızda kalıcılıkları

	RebA (%)			Steviosit (%)		
	10.sn	20.sn	40.sn	10.sn	20.sn	40.sn
Vişne	26.4	14.6	7.9	24.7	14.2	8.6
Nar	27.0	14.7	7.8	27.1	15.1	11.2
Limon	26.8	13.2	9.8	25.9	12.9	8.3
Portakal	25.5	12.9	8.3	29.8	16.3	10.9

İçeceklerde bulunan reb A’nın zamana bağlı olarak ağızda kalıcılığına bakıldığında en yüksek değer 10. ve 40. saniye itibarıyla limonlu içekte, 20. saniye itibarıyla nar içeceğinde olduğu görülmüştür. Steviositin ağızda kalıcılığına bakıldığında ise en yüksek değer 10. ve 20. saniye itibarıyla portakal içeceğinde, 40. saniye itibarıyla nar içeceğinde olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. Stevia ekstraktı katkısıyla enerji değeri %50 azaltılmış meyveli içeceklerde reb A'nın ağızda kalıcılık düzeyi



Şekil 4.3. Stevia ekstraktı katkısıyla enerji değeri %50 azaltılmış meyveli içeceklerde steviositin ağızda kalıcılık düzeyi

Şekil 4.1 ve Şekil 4.2 incelendiğinde meyveli içecek örnekleri tüketildikten sonra steviol glikozitlerin önemli süre ağızda kaldığı görülmektedir. Majör steviol glikozitler olan reb A ve steviositte bu durumun benzer olduğu belirlenmiştir. Son zamanlarda steviol glikozitlerin özellikle ağız sağlığına olumlu etkileri tartışılmaktadır. Nitekim World Stevia Organization (WSO) tarafından düzenlenen yıllık toplantılarda bu konu daha fazla gündeme alınmaktadır. WSO tarafından 2019 yılında düzenlenen toplantıda (wso-site.com) ana temalardan biri de stevia ekstraktlarının insan sağlığı üzerine olumlu etkileridir.

Sonuçlar incelendiğinde portakal ve nar içeceklerinde 40. saniyede alınan salgı örneklerindeki steviositin ağızda kalıcılığının, vişne ve limon içeceklerinin steviosit kalıcılığından fazla olduğu görülmüştür. Bu durum yapılan duyusal analiz ile karşılaştırıldığında steviositin ağızda kalıcılığının reb A'nın ağızda kalıcılığından fazla olması, portakal ve nar içecek örneklerinde panelistler tarafından olumsuz olarak değerlendirilmiştir. Vişne ve limon içecek örneklerinin panelistler tarafından portakal ve nar ieceğinden daha fazla beğenilmesi steviositin ağızda kalıcılığının uzun süre devam etmemesi ve reb A'nın kalıcılığının steviosite yakın veya steviositten fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Steviositin ağızda kalıcılığının en az olduğu enerjisi azaltılmış limonlu içecekler duyusal analizde panelistler tarafından en yüksek puanı almıştır. Bunun sebebi stevianın yapısında bulunan steviositin kısmen acı tada sahip olması; buna karşın reb A'nın da steviosite göre daha tatlı olmasıdır.



5. SONUÇLAR

Bu çalışmada, *Stevia rebaudiana* bitki ekstraktı kullanılarak enerjisi azaltılmış içecek üretimi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda vişne, nar, portakal ve limon konsantreleri kullanılarak %0, %10, %30 ve %50 enerjisi azaltılmış içecekler üretilmiştir. Üretimler vişne, nar ve portakallı içeceklerde %10 konsantre, limonlu içeceklerde ise %2.5 konsantre içecek şekilde yapılmıştır. Enerjisi düşürülmüş içeceklere eklenecek stevia ekstraktı içeceklerde maksimum 0.2g/L steviol glikozit olacak şekilde belirlenmiş ve şeker eşdeğerliği hesaplanmıştır.

Üretilen içeceklerde suda çözünür kuru maddenin 5.0 ile 11.7 arasında, pH değerinin 2.6 ile 3.6 arasında, susuz sitrik asit cinsinden hesaplanan toplam asitlik değerlerinin %0.56 ile %0.76 arasında değiştiği görülmüştür. Eklenen stevia ekstraktının portakal ve limon içeceklerinin rengini etkilediği, vişne ve nar içeceklerinde ise antosiyaninlerin koyu renginin diğer renkleri maskeleyesinden dolayı önemli derecede etkilemediği görülmüştür.

Panelistlerden alınan ağız salgısı örnekleri incelenmiş ve reb A ve steviositin ağızda kalıcılıklarının 10. saniyede %24.7 ile %29, 20. saniyede %16.3 ile %12.9, 40. saniyede ise %8.3 ile %11.2 arasında olduğu görülmüştür. Elde edilen kromatogramdan alınan sonuçlar duyu analizi sonuçlarıyla karşılaştırıldığında reb A'ya göre kısmen daha acı olan steviositin, portakal ve nar içeceklerinde ağızda kalıcılığının vişne ve limon içeceklerine göre yüksek olması nedeniyle panelistler tarafından daha az beğenilmesine neden olduğu düşünülmüştür. Steviosit açısından en düşük kalıcılığa sahip olan limonlu içeceklerin duyu analizde panelistler tarafından en yüksek puanı alması buna bağlanmıştır.

Duyu olarak panelistler tarafından değerlendirilen enerjisi azaltılmış içecekler kontrol gruplarına yakın bir beğeni elde etmiştir. Sonuçlar birçok panelistin kontrol grupları ile enerjisi azaltılmış ürünleri birbirlerinden ayırmakta güçlük çektiğini göstermektedir. Sonuç olarak; yapılan bu çalışmada membran ayırma ve zenginleştirme teknikleriyle zenginleştirilmiş stevia ekstraktlarının içecek formülasyonlarında başarılı bir şekilde kullanılabileceği görülmüş olup, alternatif ürünlerin üretimine olanak sağlayacağı düşünülmüştür.

Zenginleştirilmiş stevia ekstraktları kullanılarak bazı meyveli içeceklerin enerjilerinin azaltılması ve içerdiği steviol glikozitlerin tüketim sonrası ağızda kalıcılık düzeyinin belirlenmesi, bu çalışmanın en önemli temel amacı olmuştur. Çalışma sonucunda saflaştırılmış reb A yerine fiziksel yollarla kısmen saflaştırılmış ve zenginleştirilmiş stevia ekstraktlarının kullanılabileceği belirlenmiştir. Saflaştırılmış reb A yerine stevia ekstraktlarının doğrudan kullanımı üzerine çeşitli tartışmalar yapıldığı günümüzde bu sonuçlar diğer gıdaların üretiminde stevia ekstraktlarının doğrudan kullanılması için örnek teşkil etmiştir. Stevia ürünleri temalı değişik bilimsel toplantılarda (wso-site.com, www.eustas.org) reb A dışındaki diğer steviol glikozitlerin insan sağlığı üzerine olumlu etkilerinin bulunduğu tartışılmaya başlamıştır. Bu kapsamda, bu tez çalışması ile ulaşılan sonuçların gelecek çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

Geleceğe yönelik çalışmalarda stevia bitkisinin otsu kokudan sorumlu bileşiklerinin belirlenmesi ve değişik membran kombinasyonlarının steviol glikozit dağılımı üzerine etkisinin ve fenolik madde dağılımlarının araştırılması düşünülmektedir.



6. KAYNAKLAR

- Abo Elnaga, N.I.E., Massoud, M.I., Yousef, M.I. and Mohamed, H.H.A. 2016. Effect of stevia sweetener consumption as non-caloric sweetening on body weight gain and biochemical's parameters in overweight female rats. *Annals of Agricultural Sciences*, 61 (1): 155-163.
- Ameer, K., Bae, S.-W., Jo, Y., Lee, H.-G., Ameer, A. and Kwon, J.-H. 2017. Optimization of microwave-assisted extraction of total extract, stevioside and rebaudioside-A from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) leaves, using response surface methodology (RSM) and artificial neural network (ANN) modelling. *Food Chemistry*, 229 198-207.
- Anonim 2019. <http://www.hazarsu.com> (Son erişim tarihi: 03.06.2019)
- Anonymous 2004. <http://www.fao.org> (Son erişim tarihi: 18.05.2019)
- Anonymous 2011. <https://www.eufic.org>. (Son erişim tarihi: 25.04.2019)
- Anonymous 2012. Analysis of Steviol Glycosides in Stevia Extract. Shimadzu Application News, No: L439.
- Anonymous 2014. <https://www.mintel.com> (Son erişim tarihi: 03.06.2019)
- Anonymous 2017. <https://www.premierseedsdirect.com> (Son erişim tarihi: 03.06.2019)
- Anton, S.D., Martin, C.K., Han, H., Coulon, S., Cefalu, W.T., Geiselman, P. and Williamson, D.A. 2010. Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite*, 55 (1): 37-43.
- Aslan, M. 2016. Membran Teknolojileri. Türkiye Çevre Koruma Vakfı, Ümitköy, Ankara, 275 s.
- Belščak-Cvitanović, A., Komes, D., Dujmović, M., Karlović, S., Biškić, M., Brnčić, M. and Ježek, D. 2015. Physical, bioactive and sensory quality parameters of reduced sugar chocolates formulated with natural sweeteners as sucrose alternatives. *Food Chemistry*, 167 61-70.
- Brahmachari, G., Mandal, L.C., Roy, R., Mondal, S. and Brahmachari, A.K. 2010. Stevioside and Related Compounds – Molecules of Pharmaceutical Promise: A Critical Overview. *Archiv der Pharmazie*, 344 (1): 5-19.
- Brandle, J.E. and Telmer, P.G. 2007. Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry*, 68 (14): 1855-1863.
- Bursać Kovačević, D., Maras, M., Barba, F.J., Granato, D., Roohinejad, S., Mallikarjunan, K., Montesano, D., Lorenzo, J.M. and Putnik, P. 2018. Innovative technologies for the recovery of phytochemicals from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves: A review. *Food Chemistry*, 268 513-521.
- Cadena, R.S., Cruz, A.G., Netto, R.R., Castro, W.F., Faria, J.D.A.F. and Bolini, H.M.A. 2013. Sensory profile and physicochemical characteristics of mango nectar sweetened with high intensity sweeteners throughout storage time. *Food Research International*, 54 (2): 1670-1679.
- Carbonell-Capella, J.M., Barba, F.J., Esteve, M.J. and Frígola, A. 2013. High pressure processing of fruit juice mixture sweetened with *Stevia rebaudiana* Bertoni:

- Optimal retention of physical and nutritional quality. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 18 48-56.
- Cemeroglu, B. 2007. Gıda Analizlerinde Genel Yöntemler. Gıda Analizleri (Food Analysis), ed. By B. Cemeroglu, GTD Yayınları, (34): 45-128
- Chhaya, Sharma, C., Mondal, S., Majumdar, G.C. and De, S. 2012. Clarification of Stevia extract by ultrafiltration: Selection criteria of the membrane and effects of operating conditions. *Food and Bioproducts Processing*, 90 (3): 525-532.
- Choi, J.-H. and Chung, S.-J. 2015. Sweetness potency and sweetness synergism of sweeteners in milk and coffee systems. *Food Research International*, 74 168-176.
- Das, A., Paul, D., Golder, A.K. and Das, C. 2015. Separation of Rebaudioside-A from stevia extract: Membrane selection, assessment of permeate quality and fouling behavior in laminar flow regime. *Separation and Purification Technology*, 144 8-15.
- Dutra, M.B.D.L. and Bolini, H.M.A. 2013. Sensory and physicochemical evaluation of acerola nectar sweetened with sucrose and different sweeteners. *Food Science and Technology*, 33 612-618.
- Esmat Abou-Arab, A., Azza, A. and Ferial, M. 2010. Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from *Stevia rebaudiana* bertonii plants.
- Ferri, L.A.F., Alves-Do-Prado, W., Yamada, S.S., Gazola, S., Batista, M.R. and Bazotte, R.B. 2006. Investigation of the antihypertensive effect of oral crude stevioside in patients with mild essential hypertension. *Phytotherapy Research*, 20 (9): 732-736.
- Fuh, W.S. and Chiang, B.H. 2006. Purification of Steviosides by Membrane and Ion Exchange Processes. *Journal of Food Science* 1454-1457 s.
- Garavand, F., Vatankhah, M., Elhamirad, A. and Yaghbani, M. 2014. Influence of sugar replacement by stevioside on physicochemical and sensory properties of biscuits. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*
- Gedik, S. ve Tansı, L., S. Çukurova Koşullarında Bitki Yoğunluğu ve Bitki Yaşının Şeker Otu (*Stevia rebaudiana* Bertoni)'nın Verimine Etkisi. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Dergisi*, 7(3): 285-292, 2017.
- Gerwig, G.J., Te Poele, E.M., Dijkhuizen, L. and Kamerling, J.P. 2016. Chapter One - Stevia Glycosides: Chemical and Enzymatic Modifications of Their Carbohydrate Moieties to Improve the Sweet-Tasting Quality. in: D.C. Baker (Ed.), *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. Academic Press, 1-72 s.
- Geuns, J.M.C. 2003. Stevioside. *Phytochemistry*, 64 (5): 913-921.
- Ghanta, S., Banerjee, A., Poddar, A. and Chattopadhyay, S. 2007. Oxidative DNA Damage Preventive Activity and Antioxidant Potential of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, a Natural Sweetener. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (26): 10962-10967.
- Góngora Salazar, V.A., Vázquez Encalada, S., Corona Cruz, A. and Segura Campos, M.R. 2018. *Stevia rebaudiana*: A sweetener and potential bioactive ingredient in the development of functional cookies. *Journal of Functional Foods*, 44 183-190.

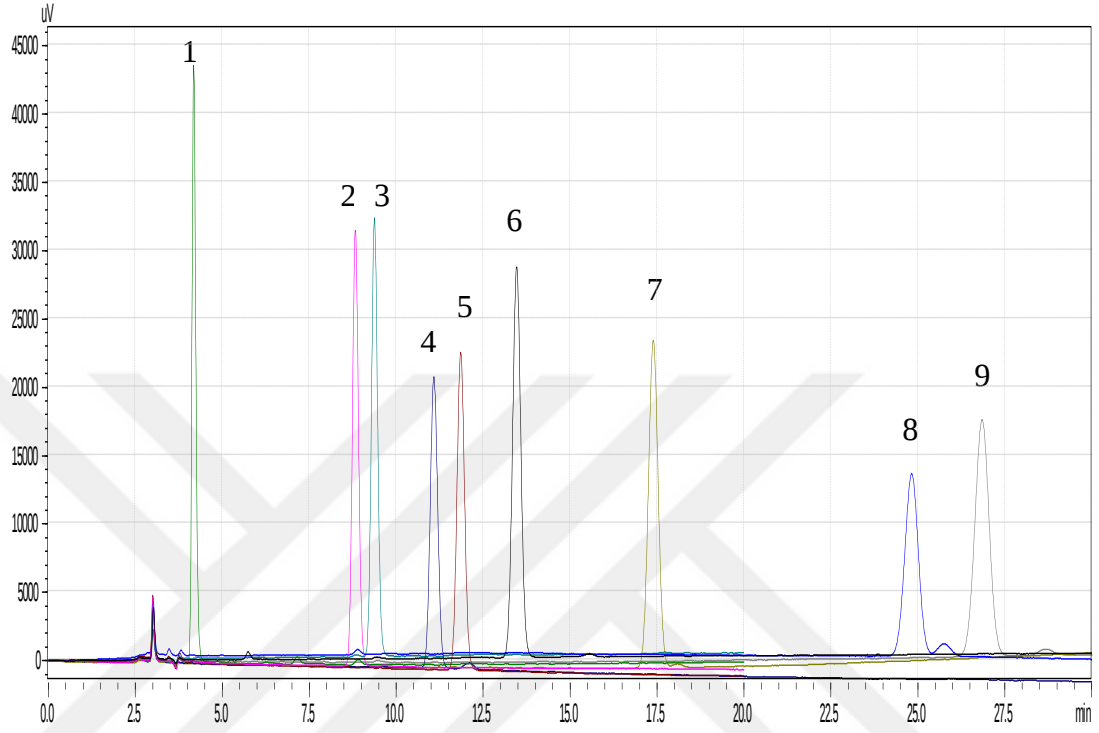
- Hamzah, Y., Farhanah Mohd Aluwi, N. And Wan Sembok, W.Z. 2013. Effect of Stevia as a Sweetener Substitution on the Quality of Kuih Baulu s. 13th Asean Food Conference, 10p. 9-11 September, Singapore.
- Jeppesen, P.B., Gregersen, S., Rolfsen, S.E.D., Jepsen, M., Colombo, M., Agger, A., Xiao, J., Kruhøffer, M., Ørntoft, T. and Hermansen, K. 2003. Antihyperglycemic and blood pressure-reducing effects of stevioside in the diabetic Goto-Kakizaki rat. *Metabolism*, 52 (3): 372-378.
- Khiraoui, A., Bakha, M., Amchra, F., Ourouadi, S., Abdelali, B., Al-Faiz, C. and Hasib, A. 2017. Nutritional and biochemical properties of natural sweeteners of six cultivars of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves grown in Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 1015-1022 s.
- Kim, I.-S., Yang, M., Lee, O.-H. and Kang, S.-N. 2011. The antioxidant activity and the bioactive compound content of *Stevia rebaudiana* water extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 44 (5): 1328-1332.
- Kroyer, G.T. 1999. The Low Calorie Sweetener Stevioside: Stability and Interaction with Food Ingredients. *LWT - Food Science and Technology*, 32 (8): 509-512.
- Kulthe, A.A., Pawar, V.D., Kotecha, P.M., Chavan, U.D. and Bansode, V.V. 2014. Development of high protein and low calorie cookies. *Journal of food science and technology*, 51 (1): 153-157.
- Kumar, H., Kaul, K., Bajpai-Gupta, S., Kaul, V.K. and Kumar, S. 2012. A comprehensive analysis of fifteen genes of steviol glycosides biosynthesis pathway in *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Gene*, 492 (1): 276-284.
- Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L. and Ah-Hen, K. 2012. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132 (3): 1121-1132.
- Li, J., Chen, Z. and DI, D. 2012. Preparative separation and purification of Rebaudioside A from *Stevia rebaudiana* Bertoni crude extracts by mixed bed of macroporous adsorption resins. *Food Chemistry*, 132 (1): 268-276.
- Liu, J., Li, J.-W. and Tang, J. 2010. Ultrasonically assisted extraction of total Carbohydrates from *Stevia rebaudiana* Bertoni and identification of extracts. *Food and Bioproducts Processing*, 215-221 s.
- Martínez-Alvarado, J.C., Torrestiana-Sánchez, B. And Aguilar-Uscanga, M.G. 2017. Isolation of steviol glycosides by a two-step membrane process operating under sustainable flux. *Food and Bioproducts Processing*, 101 223-230
- Mielby, L.H., Andersen, B.V., Jensen, S., Kildegaard, H., Kuznetsova, A., Eggers, N., Brockhoff, P.B. and Byrne, D.V. 2016. Changes in sensory characteristics and their relation with consumers' liking, wanting and sensory satisfaction: Using dietary fibre and lime flavour in *Stevia rebaudiana* sweetened fruit beverages. *Food Research International*, 82 14-21.
- Mizutani, K., Tanaka, O., 2002. ‘‘Use of *Stevia rebaudiana* sweeteners in Japan’’ *Stevia-Thegenus Stevia*. Editör: Kinghorn, A.D. New York ve London: Taylor & Francis

- Narayanan, P., Chinnasamy, B., Jin, L. and Clark, S. 2014. Use of just-about-right scales and penalty analysis to determine appropriate concentrations of stevia sweeteners for vanilla yogurt. *Journal of Dairy Science*, 97 (6): 3262-3272.
- Oliveira, F.I.P., Rodrigues, S. and Fernandes, F.A.N. 2012. Production of low calorie Malay apples by dual stage sugar substitution with Stevia-based sweetener. *Food and Bioproducts Processing*, 90 (4): 713-718.
- Paixão, J.A., Rodrigues, J.B., Esmerino, E., Cruz, A. and Bolini, H. 2014. Influence of temperature and fat content on ideal sucrose concentration, sweetening power, and sweetness equivalence of different sweeteners in chocolate milk beverages. *Journal of Dairy Science*, 97 :7344–7353
- Periche, A., Castelló, M.L., Heredia, A. and Escriche, I. 2015. Influence of Extraction Methods on the Yield of Steviol Glycosides and Antioxidants in *Stevia rebaudiana* Extracts. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70 (2): 119-127.
- Reis, M.H.M., Da Silva, F.V., Andrade, C.M.G., Rezende, S.L., Wolf Maciel, M.R. And Bergamasco, R. 2009. Clarification And Purification Of Aqueous Stevia Extract Using Membrane Separation Process. *Journal Of Food Process Engineering*, 32 (3): 338-354.
- Rocha, I.F.D.O. and Bolini, H.M.A. 2015. Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by descriptive analysis and acceptance. *Food Science & Nutrition*, 3 (2): 129-139
- Pól, J., Varad'ová Ostrá, E., Karásek, P., Roth, M., Benešová, K., Kotlaříková, P. and Čáslavský, J. 2007. Comparison of two different solvents employed for pressurised fluid extraction of stevioside from *Stevia rebaudiana*: methanol versus water. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388 (8): 1847-1857.
- Puri, M., Sharma, D., Barrow, C.J. and Tiwary, A.K. 2012. Optimisation of novel method for the extraction of steviosides from *Stevia rebaudiana* leaves. *Food Chemistry*, 132 (3): 1113-1120.
- Rai, C., C. Majumdar, G. and De, S. 2012. Optimization of Process Parameters for Water Extraction of Stevioside using Response Surface Methodology. *Separation Science and Technology*, 47(7): 1014-1022 s.
- Reis, R., P.R. Minim, V., Bolini, H., R.P. Dias, B., Minim, L. and Berger Ceresino, E. 2011. Sweetness equivalence of different sweeteners in Strawberry-flavored yogurt. *Journal of Food Quality*, 34(3): 163-170 s.
- Rodriguez Furlán, L., Baracco, Y., Lecot, J., Noemi, Z. and Campderros, M. 2017. Effect of sweetener combination and storage temperature on physicochemical properties of sucrose free white chocolates. *Food Chemistry*, 229
- Šic Žlabur, J., Voća, S., Dobričević, N., Ježek, D., Bosiljkov, T. and Brncic, M. 2013. *Stevia rebaudiana* Bertoni - A Review of Nutritional and Biochemical Properties of Natural Sweetener. 25-30 s.
- Tursun, A., O., Türk, E. ve Uremis, I. Şekerotu (*Stevia rebaudiana* Bertoni) ve Oğulotu (*Melissa officinalis* L.) Bitkilerinin Farklı Sıcaklık ve CO2 Konsantrasyonlarına Tepkilerinin Araştırılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(2):49-60 (2017).

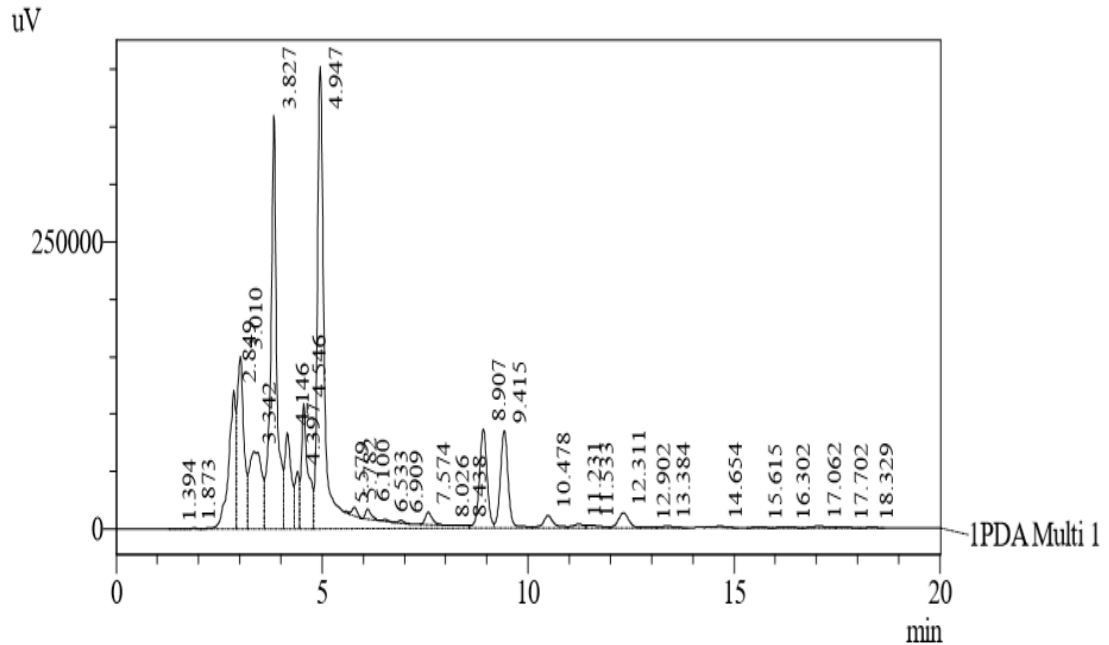
- Vanneste, J., Sotto, A., Courtin, C.M., Van Craeyveld, V., Bernaerts, K., Van Impe, J., Vandeur, J., Taes, S. and Van Der Bruggen, B. 2011. Application of tailor-made membranes in a multi-stage process for the purification of sweeteners from *Stevia rebaudiana*. *Journal of Food Engineering*, 103 (3): 285-293.
- Vieira Da Silva Medeiros, F., Bergamasco, R., Andrade, C., Pinheiro, N., Fernandes-Machado, N., Reis, M., Alberto De Araújo, Á. and Lemanski Rezende, S. 2007. Purification Process of Stevioside Using Zeolites and Membranes s. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 5(1)
- Yamada, A., Ohgaki, S., Noda, T. and Shimizu, M. 1985. Chronic Toxicity Study of Dietary Stevia Extracts in F344 Rats.169-183_161 s.
- Zhang, S.Q., Kumar, A. and Kutowy, O. 2000. Membrane-based separation scheme for processing sweeteners from stevia leaves. *Food Research International*, 33 (7): 617-620.
- Zlabur, J.S., Dobricevic, N., Galic, A., Pliestic, S. and Voca, S. 2018. The influence of natural sweetener (*Stevia rebaudiana* Bertoni) on bioactive compounds content in chokeberry juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42 (1): 8.

7. EKLER

EK-1 Steviol glikozitlerin standartlarına ait kromatogram (reb D (1), reb A (2), steviosit (3), reb B (4), reb C (5), dulkosit A (6), rubusosit (7), reb B (8), steviolbiosit (9))



EK-2 Ham stevia ekstraktına ait kromatogram



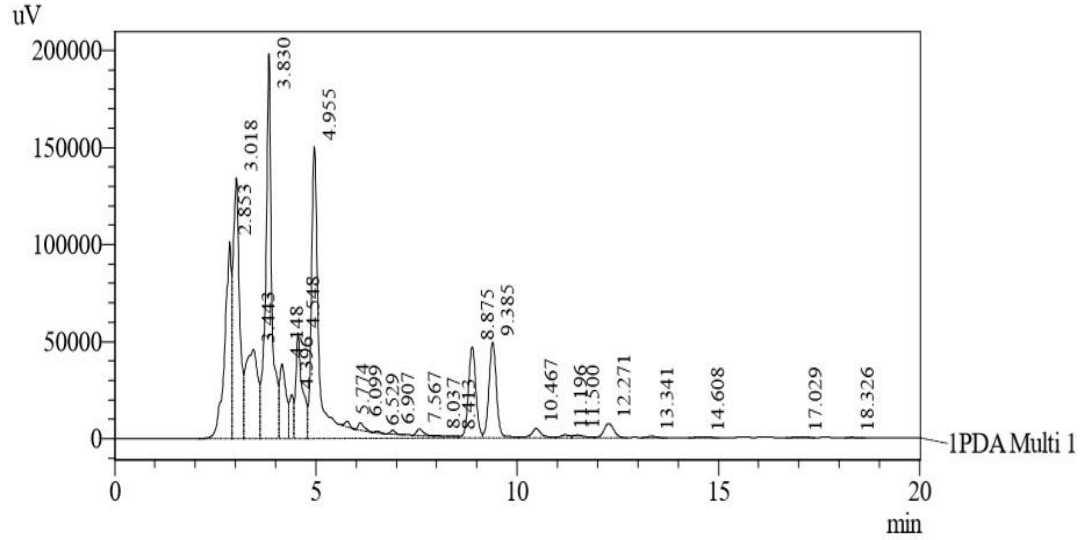
1 PDA Multi 1 / 210nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 210nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.394	1030	111	0.005	0.007
2	1.873	8525	1037	0.044	0.066
3	2.849	1443330	121075	7.400	7.649
4	3.010	1709073	150538	8.762	9.511
5	3.342	1389761	67292	7.125	4.251
6	3.827	3699265	359263	18.966	22.698
7	4.146	924934	83527	4.742	5.277
8	4.397	371733	49596	1.906	3.133
9	4.546	1229329	108860	6.303	6.878
10	4.947	5489084	402376	28.142	25.421
11	5.579	4382	721	0.022	0.046
12	5.782	62226	7406	0.319	0.468
13	6.100	87508	8840	0.449	0.558
14	6.533	13214	1504	0.068	0.095
15	6.909	19009	2265	0.097	0.143
16	7.574	127678	10779	0.655	0.681
17	8.026	2707	359	0.014	0.023
18	8.438	5241	573	0.027	0.036
19	Reb A → 8.907	1138133	86365	5.835	5.456
20	Steviosit → 9.415	1127363	85021	5.780	5.371
21	10.478	195962	10958	1.005	0.692
22	11.231	61204	3240	0.314	0.205
23	11.533	55869	2466	0.286	0.156

EK-3 Birinci kademe filtrasyon sonrasında (100 kDa) elde edilen permeat (P_1) akısına ait kromatogram

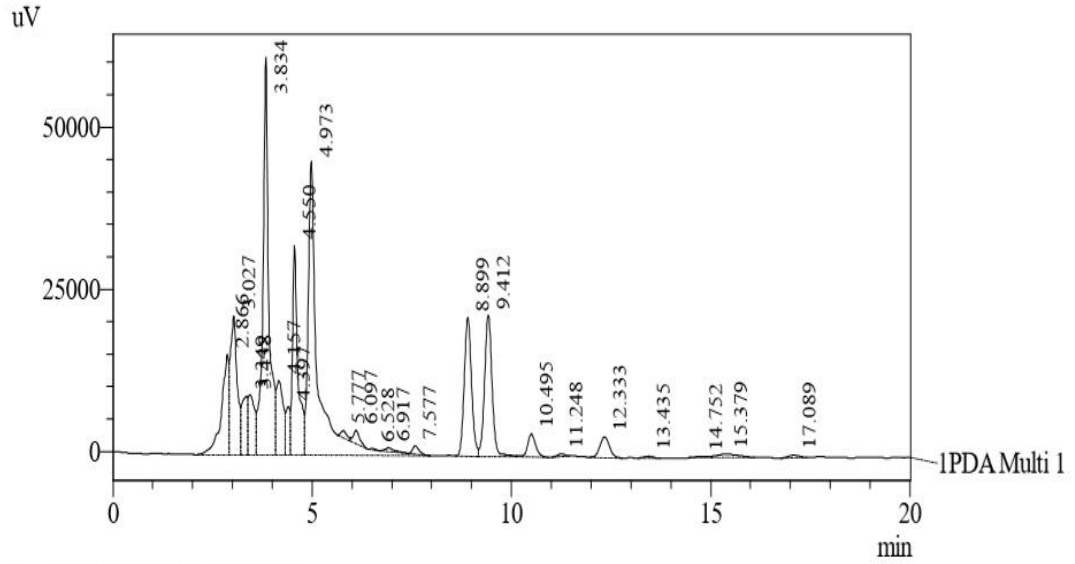


PeakTable

PDA Ch1 210nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.853	1177964	101503	10.895	11.631
2	3.018	1493295	134168	13.811	15.374
3	3.443	930694	46163	8.608	5.290
4	3.830	2067169	198388	19.119	22.732
5	4.148	433664	38424	4.011	4.403
6	4.396	171875	22510	1.590	2.579
7	4.548	619364	54552	5.728	6.251
8	4.955	2242667	150581	20.742	17.254
9	5.774	23850	2890	0.221	0.331
10	6.099	40899	3958	0.378	0.454
11	6.529	6609	736	0.061	0.084
12	6.907	17084	1985	0.158	0.227
13	7.567	39516	3376	0.365	0.387
14	8.037	2044	258	0.019	0.030
15	8.413	1284	142	0.012	0.016
16	Reb A → 8.875	612743	47092	5.667	5.396
17	Steviosit → 9.385	646782	49332	5.982	5.653
18	10.467	82075	4750	0.759	0.544
19	11.196	22346	1424	0.207	0.163
20	11.500	25809	1359	0.239	0.156
21	12.271	122603	7369	1.134	0.844
22	13.341	10254	618	0.095	0.071
23	14.608	10284	509	0.095	0.058

EK-4 İkinci kademe filtrasyon sonrasında (100 kDa) elde edilen permeat (P_2) akısına ait kromatogram



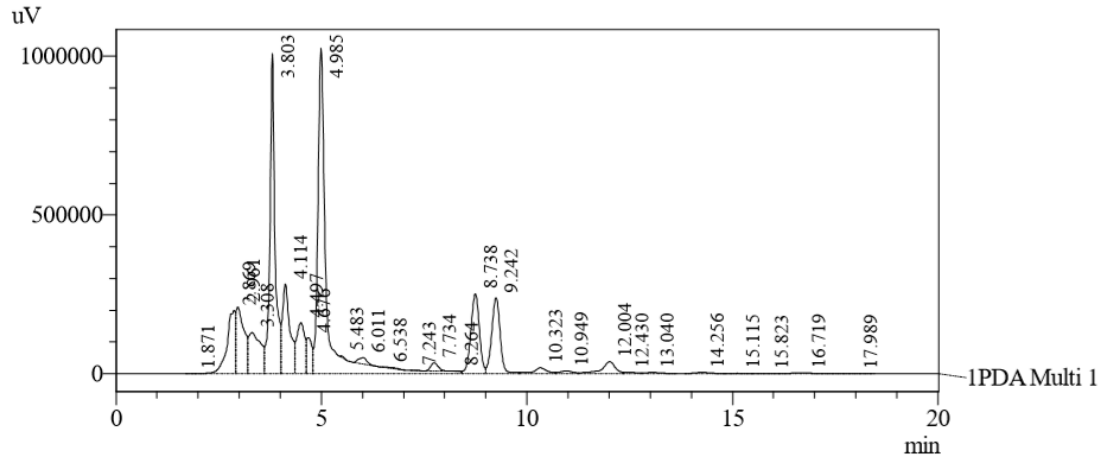
1 PDA Multi 1 / 210nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 210nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.866	197179	15461	5.913	5.728
2	3.027	256212	21386	7.684	7.924
3	3.349	87519	9009	2.625	3.338
4	3.438	105136	9279	3.153	3.438
5	3.834	634806	61352	19.038	22.731
6	4.157	139557	11428	4.185	4.234
7	4.397	50021	7471	1.500	2.768
8	4.550	310514	32265	9.312	11.954
9	4.973	782926	45338	23.480	16.798
10	5.777	12646	1105	0.379	0.409
11	6.097	22319	2034	0.669	0.754
12	6.528	1261	157	0.038	0.058
13	6.917	9433	568	0.283	0.211
14	7.577	14337	1266	0.430	0.469
15	Reb A → 8.899	275279	21369	8.255	7.917
16	Steviosit → 9.412	289857	21852	8.693	8.096
17	10.495	50477	3556	1.514	1.317
18	11.248	5411	422	0.162	0.157
19	12.333	52747	3192	1.582	1.183
20	13.435	4726	308	0.142	0.114
21	14.752	4793	179	0.144	0.066
22	15.379	20154	520	0.604	0.193
23	17.089	7190	383	0.216	0.142

EK-5 Nanofiltrasyon sonrasında (5 kDa) elde edilen retentat (R_3) akısına ait kromatogram

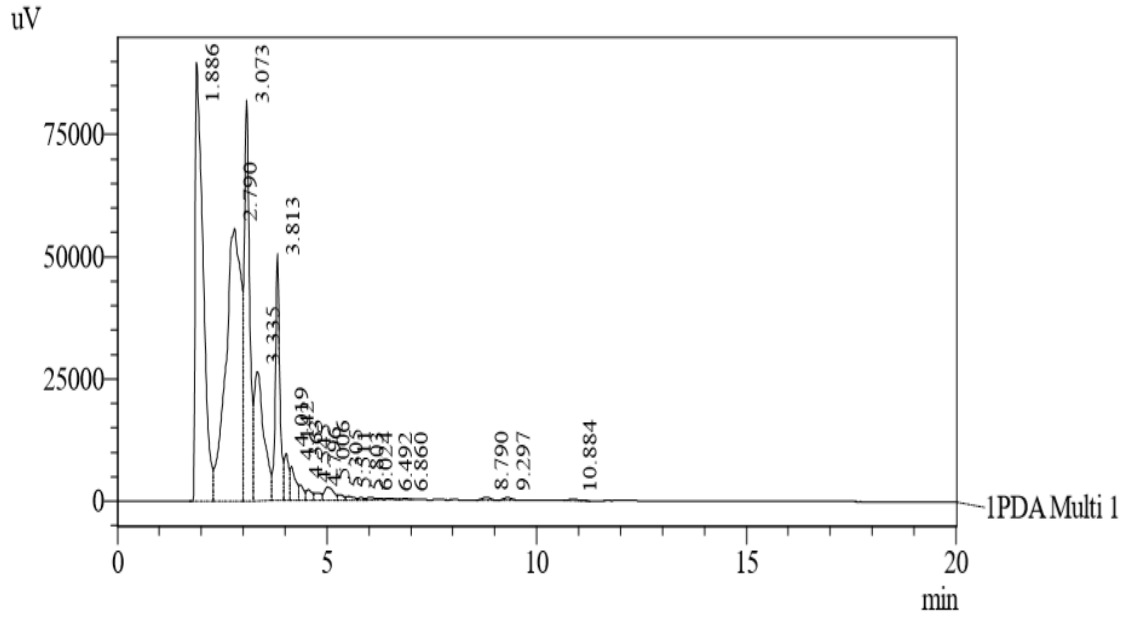


PeakTable

PDA Ch1 210nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.871	2388	422	0.005	0.011
2	2.869	2840163	198655	5.860	5.289
3	2.961	2909491	210477	6.003	5.604
4	3.308	2607260	129330	5.380	3.444
5	3.803	8637848	1009989	17.823	26.892
6	4.114	3629845	283688	7.490	7.553
7	4.497	2209879	160945	4.560	4.285
8	4.676	1035706	113960	2.137	3.034
9	4.985	15152017	1026106	31.264	27.321
10	5.483	19965	3005	0.041	0.080
11	6.011	300306	21078	0.620	0.561
12	6.538	48442	1310	0.100	0.035
13	7.243	5024	391	0.010	0.010
14	7.734	338202	26178	0.698	0.697
15	8.264	10771	1256	0.022	0.033
16	Reb A → 8.738	3599484	251157	7.427	6.687
17	Steviosit → 9.242	3372594	239200	6.959	6.369
18	10.323	389169	18043	0.803	0.480
19	10.949	181409	8654	0.374	0.230
20	12.004	834904	37254	1.723	0.992
21	12.430	83882	4439	0.173	0.118
22	13.040	69343	3243	0.143	0.086
23	14.256	74551	3419	0.154	0.091

EK-6 Stevia ekstraktı katkılı %50 enerjisi azaltılmış vişneli içecekte 10. saniyede alınan ağız salgısı örneğine ait kromatogram



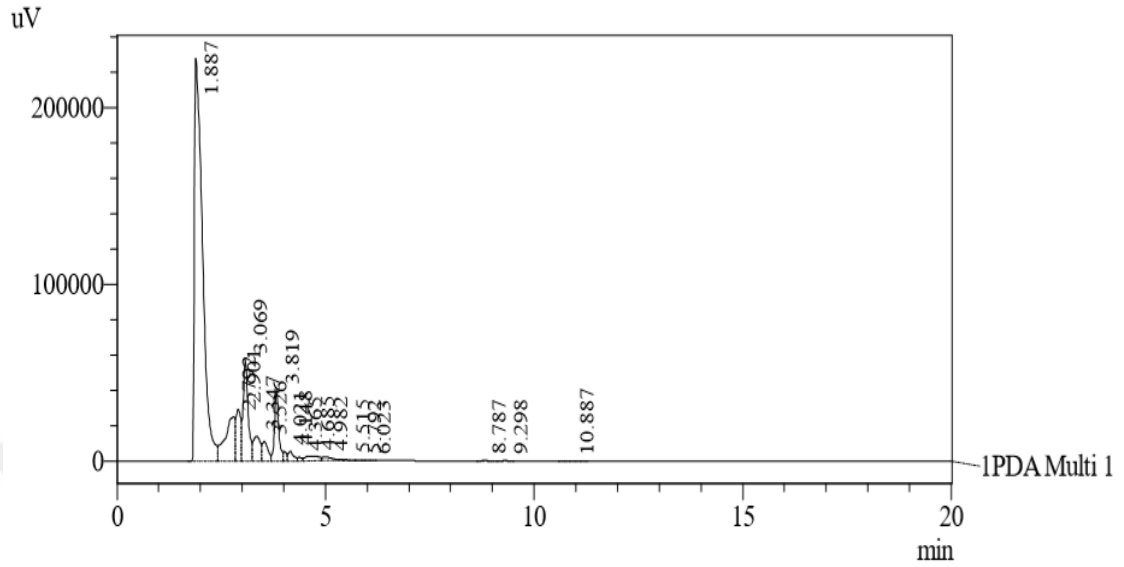
1 PDA Multi 1 / 210nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 210nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.886	1172069	89784	26.485	26.804
2	2.790	1430429	55671	32.323	16.620
3	3.073	733965	81879	16.585	24.444
4	3.335	422772	26392	9.553	7.879
5	3.813	369581	50479	8.351	15.070
6	4.019	68603	9571	1.550	2.857
7	4.142	66364	6964	1.500	2.079
8	4.363	22959	3180	0.519	0.949
9	4.545	22084	2157	0.499	0.644
10	4.796	17372	1513	0.393	0.452
11	5.006	41243	2674	0.932	0.798
12	5.305	11276	1120	0.255	0.334
13	5.511	9690	767	0.219	0.229
14	5.803	4724	418	0.107	0.125
15	6.024	8036	454	0.182	0.136
16	6.492	3542	284	0.080	0.085
17	6.860	2055	196	0.046	0.059
18	Reb A → 8.790	7939	630	0.179	0.188
19	Steviosit → 9.297	6557	558	0.148	0.167
20	10.884	4173	272	0.094	0.081
Total		4425433	334963	100.000	100.000

EK-7 Stevia ekstraktı katkılı %50 enerjisi azaltılmış vişneli içecekte 20. saniyede alınan ağız salgısı örneğine ait kromatogram



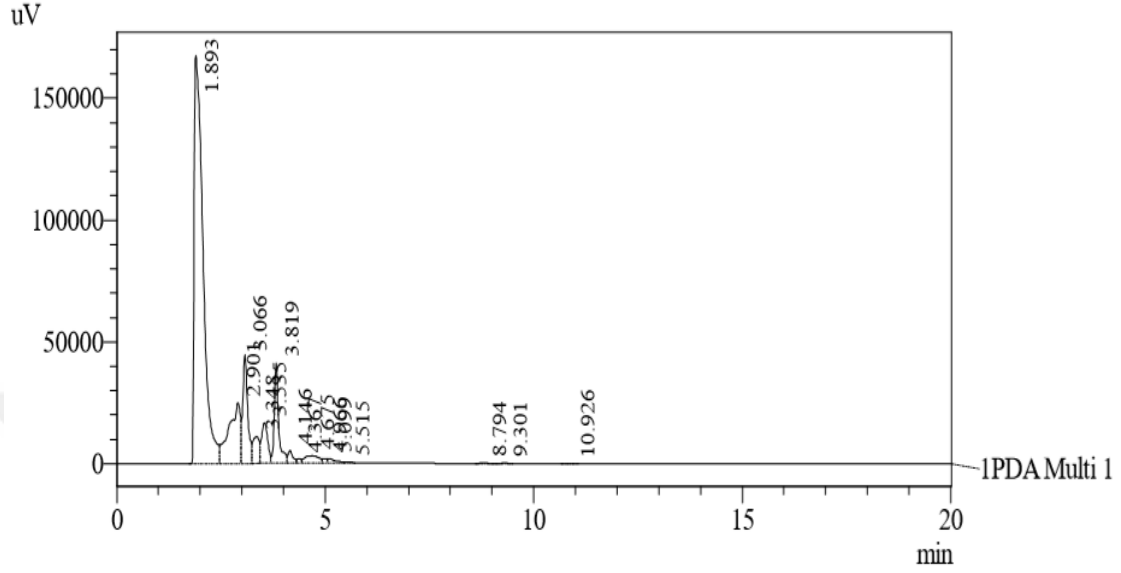
1 PDA Multi 1 / 210nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 210nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.887	3079777	228043	61.945	53.963
2	2.792	423886	25048	8.526	5.927
3	2.901	236762	29079	4.762	6.881
4	3.069	474317	56877	9.540	13.459
5	3.347	162968	13885	3.278	3.286
6	3.526	105007	11009	2.112	2.605
7	3.819	275864	39862	5.549	9.433
8	4.021	30331	5248	0.610	1.242
9	4.148	48827	5469	0.982	1.294
10	4.365	14650	1942	0.295	0.460
11	4.685	64140	2749	1.290	0.651
12	4.982	39549	2033	0.795	0.481
13	5.515	4933	423	0.099	0.100
14	5.792	1819	179	0.037	0.042
15	6.023	1185	131	0.024	0.031
16	Reb A → 8.787	2767	243	0.056	0.058
17	Steviosit → 9.298	2431	219	0.049	0.052
18	10.887	2589	148	0.052	0.035
Total		4971802	422590	100.000	100.000

EK-8 Stevia ekstraktı katkılı %50 enerjisi azaltılmış vişneli içecekte 40. saniyede alınan ağız salgısı örneğine ait kromatogram



PeakTable

PDA Ch1 210nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.893	2481228	167695	60.731	52.322
2	2.901	482919	25009	11.820	7.803
3	3.066	366876	44587	8.980	13.911
4	3.348	115104	11012	2.817	3.436
5	3.535	170725	16683	4.179	5.205
6	3.819	295917	41176	7.243	12.847
7	4.146	42782	5217	1.047	1.628
8	4.367	12389	1733	0.303	0.541
9	4.675	71272	2961	1.744	0.924
10	4.966	13964	1865	0.342	0.582
11	5.099	23495	1779	0.575	0.555
12	5.515	3997	374	0.098	0.117
13	Reb A → 8.794	2292	190	0.056	0.059
14	Steviosit → 9.301	1756	157	0.043	0.049
15	10.926	884	68	0.022	0.021
Total		4085600	320507	100.000	100.000

EK-9 Fen ve Mühendislik Bilimleri Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu tarafından verilen etik kurul onay belgesi

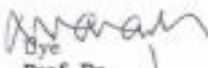
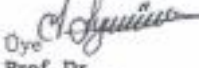
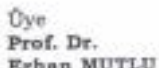
T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
Fen ve Mühendislik Bilimleri Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu

Toplantı Tarih : 01/11/2018
Toplantı Sayısı : 14

Akdeniz Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu **14/1** sayılı gündem ile 01/11/2018 tarihinde toplanmış ve aşağıdaki karar alınmıştır.

KARAR 1:

Üniversitemiz Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi **Prof. Dr. Mustafa KARHAN**'ın danışmanlığını, **Melis YILDIZ**'in araştırmacılığını üstlendiği, "Zenginleştirilmiş Stevia Ekstraktları Katkılanarak Üretilen Tatlandırılmış Sakızların, Fırıncılık Ürünlerinin Ve Meyve Bazlı İçeceklerin Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi Ve Formülasyonların Geliştirilmesi" başlıklı bilimsel araştırma projesi çalışmasının uygulanmasının, Üniversitemiz Fen ve Mühendislik Bilimleri Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu tarafından, **etik** olarak uygun olduğuna katılanların oy birliği ile karar verilmiştir.

 Başkan Prof. Dr. M. Gürhan YALÇIN	 Başkan Yrd. Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN	 Raportör Prof. Dr. Nuray KAYA
 Üye Prof. Dr. Murad ÇANAKÇI	 Üye Prof. Dr. Sibel TUNÇ	 Üye Prof. Dr. Erhan MUTLU (izinli)
Üye Prof. Dr. Nedim MUTLU (izinli)		

EK-10 Duyusal analiz için panelistlere sunulan aydınlatılmış onam formu

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA VE YAYIN ETİĞİ KURULU

AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Katılımcı / Gönüllünün Protokol Numarası:

1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:

a. Araştırmanın Adı: Zenginleştirilmiş stevia ekstraktları katkılanarak üretilen tatlandırılmış sakızların, fırıncılık ürünlerinin ve meyve bazlı içeceklerin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi ve formülasyonların geliştirilmesi

b. Araştırmanın İçeriği: Stevia ekstraktları ile değişik tat düzeylerinde sakız ve bisküviler; konsantre sıvı stevia ekstraktlarıyla da meyve nektarları ve meyveli içecekler üretilenektir. Tüm örneklerin kimyasal, fiziksel ve duyusal analizleri yapılarak elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilecektir. Çalışmanın “Zenginleştirilmiş stevia ekstraktları katkılanarak üretilen meyve bazlı içeceklerin bazı kimyasal, fiziksel ve duyusal özelliklerinin belirlenmesi ve uygun formülasyonların geliştirilmesi” bölümü Yüksek Lisans Tezi (Tez başlığı: Stevia ekstraktları katkılanarak hazırlanan nektar ve meyveli içeceklerin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi) niteliğinde yürütülecektir.

c. Araştırmanın Amacı: Safılaştırılmış rebaudiosid A yerine, daha düşük maliyetle ve daha sağlıklı olduğu düşünülen, su ile ekstrakte edilmiş ve zenginleştirilmiş bütün haldeki stevia ekstraktları kullanılarak uygun gıda formülasyonlarının geliştirilmesi amaçlanmıştır. Belirlenecek uygun ürün formülasyonların bilimsel ve endüstriyel çalışmalara katkı sağlaması beklenmektedir.

d. Araştırmanın Nedeni:

☒ Bilimsel araştırma

☒ Tez çalışması

e. Araştırmanın Öngörülen Süresi: 12 Ay

f. Araştırmaya Katılması Beklenen Katılımcı/Gönüllü Sayısı: 20

g. Araştırmada İzlenecek Deneysel İşlemler:

Formülasyon çalışmaları yapılacak gıdalarda HPLC ile steviol glikozit analizleri yapılacak, bununla beraber duyusal analizde renk, görünüş, bağıl tatlılık ve satın alma tercihi gibi niteliklere cevap aranacaktır. 20 gönüllü katılımcı ile duyusal panel yapılacaktır. Panelistlerin isimleri ve cinsiyetleri gibi kişisel bilgileri sorulmayacak ve

araştırmanın hiçbir aşamasında kişisel bilgileri yer almayacaktır. Ancak panelistler Gıda Mühendisliği alanında en az lisans düzeyinde eğitim almış kişilerden seçilecektir. Panelistlerden duyusal analiz panelinde, doğal stevia ekstraktlarıyla tatlandırılmış sakız, bisküvi ve meyve bazlı içeceklerin renk, tat ve koku, tekstürel yapı ve genel satın alma isteği açısından değerlendirmelerine göre 1-5 arasında (1 en düşük, 5 en yüksek) puan vermeleri beklenecek ve kendilerine verilen örnek kaplarına 5 dakika ara ile toplam 20 dakika içerisinde ağız salgılarından örnek bırakmaları istenecektir. Bu şekilde elde edilen ağız salgılarında steviol glikozit varlığı belirlenerek ürünlerin ağızda bıraktığı tadın devamlılığı test edilecektir.

2. Gönüllünün/Katılımcının Uygulama Sırasında Karşılaşabileceği Riskler ve Rahatsızlıklar:

Yukarıda açıklanan araştırma sırasında uygulanacak olan işlemlerin bana aşağıda belirtilen riskleri ve rahatsızlıkları getirebileceğinin bilincindeyim:

Fırıncılık ürünü örneği olarak duyusal analiz panelinde test edilecek bisküvilerin gluten içermesi nedeniyle gluten intoleransı (çölyak hastaları için) ile karşılaşılabilir. Doğal tatlandırıcı olarak kullanılan stevia ekstraktlarına karşı alerjik durum görülebilir (bu konuda günümüze kadar herhangi bir tanıya rastlanmamıştır)

3. Gönüllüler/Katılımcılar İçin Araştırmadan Beklenen Yarar:

Bilimsel çalışma sonuçlarının toplum yararına dönüşmesi

4. Araştırma Konusundaki Soruların Cevaplandırılması:

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ile haklarım konusunda bilgi almak için aşağıda belirtilen kişiyle bağlantı kurmam yeterli olacaktır.

Adı- Soyadı: Prof. Dr. Mustafa Karhan

Telefon: 533-7473932

5. Zararların Karşılanması:

Bu çalışmaya katıldığım için zarar göreceğim olursam, gerekli olan tıbbi bakımın sorumlu araştırmacı tarafından yerine getirileceği, uygulanan işleme bağlı olarak gelişebilecek her tür hasara (sakatlanma ve ölüm dahil) karşı güvencede olduğum, masraflarımın Mustafa Karhan tarafından karşılanacağı bana bildirildi.

6. Araştırma Giderleri:

Araştırma kapsamındaki bütün işlemler için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

7. Gönüllülük, Çalışmayı Reddetme ve Çalışmadan Çekilme Hakkı, Çalışmadan Çıkarılma:

- a. Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.
- b. Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.
- c. Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.
- d. Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle ya da araştırma prosedürüne bağlı olarak onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

8. Gizlilik:

Çalışmanın sonuçları sadece bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

9. Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye / katılımcıya verilmesi gereken bilgileri gösteren Aydınlatılmış Onam Formu adlı metni kendi anadilimde okudum ya da bana okunmasını sağladım. Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı. Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım. Çalışmaya katılmadığım ya da katıldıktan sonra çekildiğim durumda, hiçbir yasal hakkımdan vazgeçmiş olmayacağım. Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

Gönüllünün / katılımcının Adı- Soyadı:

Yaş ve Cinsiyeti:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

.....

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için;

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

.....

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Onam alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı- Soyadı:

İmzası:

Görevi:

Tarih:

ÖZGEÇMİŞ

MELİS YILDIZ
melis.yildiz@hotmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2016-2019	Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2012-2016	Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya