

STEVIA; FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ VE GIDALARDA KULLANIM OLANAKLARI

Pınar Balkır*

Ege Üniversitesi, Ege Meslek Yüksekokulu, İzmir

Geliş tarihi / Received: 13.04.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 06.05.2016

Kabul tarihi / Accepted: 11.05.2016

Özet

İlk olarak Paraguay'da hasat edilen, *Stevia rebaudiana* Bertoni bitkisinin yapraklarından elde edilen steviol glikozitler, sakkarozun yaklaşık 300 katı kadar tatlılığa sahiptir. Stevia bitkisi içerisinde, bitki yaprağının kurumaddesinin yaklaşık %30'a kadarlık kısmını oluşturan on bir temel glikozit bulunmaktadır. Bunun yanı sıra kalori içermemesi ve sağlık üzerinde çeşitli olumlu etkilere sahip olması nedeniyle son yıllarda dünyanın birçok yerinde doğal tatlandırıcı olarak kullanımı yaygınlaşmıştır. Üstelik steviol glikozitler, gıdaların işlenmesi ve depolanması sırasında tatlılığını koruma ve çok farklı işlem koşullarında stabilitesini kaybetmeme gibi özellikleri açısından üreticilere avantaj sağlamaktadır. Günümüzde dünyanın birçok yerinde stevia çay, alkolsüz içecekler, meyve suları, yoğurt, soya sütü, fırınlanmış ürünler, tahıl ürünleri, salata sosları, şekerleme ürünleri gibi birçok işlenmiş gıda ürünlerinde kullanımının yanı sıra, sofraya şeker olarak da karşımıza çıkmaktadır. Stevia'nın botanik özellikleri, sağlık üzerindeki etkileri, yapraklarından tatlandırıcı ekstraksiyonu ve gıdalarda şeker yerine kullanım olanaklarının ele alındığı bu derlemenin, yakın gelecekte ülkemizde yapılacak araştırmalara ışık tutacağı düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Stevia, steviol glikozit, steviozite, rebaudiozite A, tatlandırıcı

STEVIA; FUNCTIONAL PROPERTIES AND USE IN FOOD SYSTEMS

Abstract

Steviol glucosides, extracted from the leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni native to Paraguay, are nearly 300 times sweeter than sucrose. There are eleven main glycosides in the stevia plant, which comprise up to 30% of the dry weight of the plant leave. Despite intense sweetness, non-caloric and suggested to exert beneficial effects on human health, resulted in their wide use as natural sweeteners in various foods all over the world. Steviol glycosides have additional qualities that are beneficial to manufacturers. They tend to maintain their sweetness during normal conditions of food processing and storage and are stable across a broad spectrum of manufacturing conditions. Today, stevia can be found in hundreds of food and beverage products from around the world including teas, soft drinks, juices, yogurt, soymilk, baked goods, cereal, salad dressings, confections and as a tabletop sweetener. In this review, the purpose of which is considered to highlight recent research in this area, the botanical aspects, health concerns of stevia consumption, the extraction methods and the use of steviol glucosides as sweeteners in foods are discussed.

Keywords: Stevia, steviol glycoside, steviozite, rebaudioside A, sweetener

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ pinar.balkir@ege.edu.tr,

☎ (+90) 232 311 4031,

☎ (+90) 232 388 7599

GİRİŞ

Stevia rebaudiana Bertoni, ilk olarak Paraguay'ın kuzey doğusunda yer alan Amambay bölgesinde hasat edilen ve *Asteraceae* (papatyagiller) veya *Chrysantemum* (kasımpatı) familyasına ait olan, dallı yapıda bir bitkidir. 1899 yılında Moisés Santiago Bertoni tarafından botanik olarak sınıflandırılmış ve detaylı olarak tanımlanmıştır. Önceleri *Eupatorium rebaudianum* olarak adlandırılan bu bitki, 1905 yılında *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni adını almıştır. Yapraklardan tatlı bileşen 1909 yılında izole edilmiş ve 1931'de saflaştırılarak stevözit elde edilmiştir. 1952'de ise kimyasal yapısı incelenerek bir diterpen glikozit olduğu tanımlanmıştır. 1970'li yıllarda ise steviozitten daha da tatlandırma yeteneğine sahip olan rebaudiozit A gibi diğer bileşikler de izole edilmiştir. Brezilya ve Arjantin'de de bol miktarda bulunmakla birlikte günümüzde Kanada, Asya ve Avrupa'nın bazı bölgeleri olmak üzere dünyanın birçok yerinde 200'den fazla *Stevia* türünün tarımı yaygınlaşmıştır (1-3). Bu bitki, Güney Amerika'daki Guarani yerlileri tarafından yüzyıllar boyunca bitkisel ilaç ve içeceklerdeki acı tadı baskılamak amacıyla kullanılmıştır (4).

Stevia, odunsu bir gövde üzerinde yer alan hafif tüylü yapraklara ve açık mor renkte çiçeklere sahiptir. *Stevia* yaprakları, ent-kaurene diterpen glikozitlerden tatlı steviol glikozitleri bol miktarda içermektedir, bu miktar yaprak kuru ağırlığının genellikle %4-20'si arasında değişmekle birlikte %30'una kadar ulaşabilmektedir. Bu tatlı bileşenlerin yanı sıra, yapraklarda rebaudiozit A (%2-4), rebaudiozit C (%1-2), dulkozit A (% 0.4-0.7) gibi temel glikositler ve ayrıca flavonoidler, alkaloidler, hidrokisisinamik asit, vitaminler, fitosteroller, esansiyel yağlar gibi önemli fitokimyasal bileşikler de yer almaktadır. 230 *Stevia* türünden sadece *Rebaudiana* ve *Phlebophylla* cinsleri steviol glikozit üretmektedir. (2, 5, 6). Sakkarozun yaklaşık 300 katı kadar tatlılığa sahiptir (7). Steviol glikozitler aynı zamanda kalorisiz olduğu için, Çin, Japonya, Kore, Avustralya, Yeni Zelanda ve çoğu Avrupa Birliği üyesi ülkede, alkolsüz içecekler, soju, soya sosu, yoğurt ve birçok gıdalarda doğal tatlandırıcı olarak kullanılırken, Amerika Birleşik Devletleri'nde gıda takviyesi ve Bangladeş'te ise antidiyabetik çaylar gibi farklı kullanım alanları bulmuştur (5, 8, 9). Steviol glikozitlerin yüksek asit konsantrasyonlarında ve mikroorganizma varlığında hidrolizasyonu gerçekleşebilir ve steviol ortaya çıkar. Örneğin rebaudiozit A, kalın bağırsaklarda kolon mikroorganizmaları tarafından steviozite metabolize edilir ve önce steviol sonra da steviol glukuronide dönüştürülerek vücuttan atılır (10).

Lopes ve ark. (11), *Stevia rebaudiana* Bertoni köklerinden inülin elde etmiş, gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi ve yüksek manyetik rezonans yöntemleriyle incelendiğinde, elde edilen inülinin çözünürlük, ısıl stabilite, tatlandırma gücü ve prebiyotik özellik gibi önemli özellikler üzerinde etkili olan polimerizasyon derecesi yüksek moleküler yapıda olduğu ve stevianın yüksek polimerizasyon derecesine sahip inülin açısından iyi bir potansiyele sahip olduğu sonucuna varmışlardır.

STEVİANIN FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ VE İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Stevianın insan sağlığı açısından güvenilirliği, 200'ün üzerinde yapılan titiz araştırmalar sonucunda kanıtlanmış ve FDA ve FAO/WHO Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi tarafından "güvenli" olarak tanımlanmış ve günlük kabul edilebilir doz 4 mg steviol/vücut ağırlığı veya 10 mg steviozit/vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir (10, 12). Rebaudiozit A'nın molekül ağırlığı 967 olup steviolün molekül ağırlığının (318) üç katı kadardır. Toksikolojik çalışmalar sonucunda steviozitin tatlandırıcı olarak kullanıldığında mutajenik, teratojenik ve kanserojen olmadığı ve alerjik reaksiyonlara yol açmadığı görülmüştür (13). Üstelik ksilitol veya sorbitol gibi diğer tatlandırıcılarda olduğu gibi steviol glikozitlere zamanla tolerans kazanım da gerçekleşmemektedir (14).

Stevianın sağlık açısından güvenli olduğu tekrarlı çalışmalar sonucunda görülmüştür. *Stevia* yapraklarının ekstraktları ve en etkin biyoaktif bileşenleri olan steviozit ve steviol üzerinde yoğun genetik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda ne steviozitin ne de steviolün DNA ile doğrudan etkileşime girmediği, insanlarda genotoksik bir hasar oluşturmadığı ve çok yüksek dozlarda vücuda alındığında bile klastojenik (kromozom yapısını değiştirebilen) etki göstermediği gözlenmiştir (15).

Stevianın, oldukça yüksek tatlandırma gücüne sahip olmasına karşın, dişlerde herhangi bir sorun oluşturmadığı gibi plak oluşumunu da engelleyici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (10). Stevianın kalorisiz olması şekeri steviol yapısına bağlayan β-glukosidik ester bağlarının insan bağırsak sisteminde hidrolize edilememesinden kaynaklanmaktadır (16). Anton ve ark. (17), 18-50 yaş arası seçilen 19 sağlıklı ve 19 obez üzerinde yaptıkları çalışmada, *Stevia*, aspartam ve sakkarozun, insanlarda gıda tüketimi, doyunluk, postprandial glukoz ve insülin düzeyleri üzerindeki etkilerini karşılaştırmalı olarak ortaya koymuşlardır. *Stevia* postprandial glukoz seviyesini sakkarozu göre

önemli düzeyde ve postprandial insülin düzeyini ise hem aspartama hem de sakkarozu göre önemli ölçüde düşürmüştür. Ayrıca, stevia katkılı gıda alımından sonra hissedilen doyumluk hissinin, yüksek oranda sakkaroz alımı sonrası ile aynı düzeyde olduğu belirtilmiştir.

Şeker katkılı yiyecek ve içecekler yüksek miktarda kalori sağlamakla kalmayıp, obezite ve Tip 2 diyabet, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, felç ve bazı kanser tiplerine yakalanma riskini de beraberinde getirmektedir. Stevia ve steviozit, diabetes mellitus, obezite, hipertansiyon, enfeksiyöz hastalıklar, nöralji, romatizma, egzama, dermatit, anmezi ve kanser tedavisi amacıyla sakkaroz yerine ikame olarak kullanılmaktadır. Steviozitin pankreastaki insülin salınımını artırdığı ve diyabet ve karbonhidrat metabolizması ile ilgili diğer hastalıkları tedavi edici etkisini ortaya çıkardığı belirtilmiştir (18). Steviozit aynı zamanda bakterisidal etki gösterir ve *Escherichia coli*'nin gelişimini engeller (8, 19). Ayrıca *S. rebaudiana* yapraklarının sıcak suda ekstraktının rotavirüslerin (HRV) çoğalması üzerinde engelleyici etkisi olduğu görülmüştür (20). Barba ve ark. (21) tarafından yürütülen bir çalışmada, %2.5 oranında Stevia eklenmiş meyve özütüne 453 MPa basınç ve 5 dakika süre koşullarında yüksek basınç uygulaması sonucu *Listeria monocytogenes* sayısında 5 logaritmik birim düşüş sağlanırken, oksidatif enzimler de inaktive edilmiştir. Stevia içermeyen örneklerde toplam fenolik madde içeriği 185.5 ± 7.1 ppm iken, %1.25 ve %2.5 stevia katkılı örneklerde sırasıyla 2261.1 ± 41.7 ppm ve 4050.8 ± 42.7 ppm olduğu görülmüştür. Ayrıca toplam fenol ve antioksidan kapasitesinin en yüksek düzeyde tutulabildiği de görülmüştür.

Stevia genotipinin antioksidan aktivitesi üzerine önemli ölçüde etkisi olduğu, özellikle rebaudiozit A ile toplam fenol içeriği ve antioksidan kapasitesi arasında önemli bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (22). Ayrıca, özellikle bitkisel karışımlarda duyuşsal özellikleri iyileştirmesinin yanı sıra, stevia içeren karışımların içermeyenlere göre önemli ölçüde fenolik madde miktarını ve antioksidan aktiviteyi arttırdığı bildirilmiştir (23). Tadhani ve ark. (24), yaptıkları çalışmada stevia bitkisinin güçlü antioksidan etki gösterdiğini ve zengin bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceğini kanıtlamışlardır. Benzer şekilde Shukla ve ark. (25) stevianın çok yüksek antioksidan etkiye sahip olduğunu görmüş, Barba ve ark. (21) ise stevianın çok güçlü antioksidan etkisinin yanı sıra yüksek oranda fenolik bileşen içeriğine sahip bir katkı olarak ticari kullanıma uygun olduğunu belirtmiştir.

Komes ve ark. (23), böğürtlen yaprağı ve kurutulmuş elma, erik, incir, üzüm, kayısı, havuç, tatlı patates, stevia yaprağı ve meyan kökü gibi doğal tatlandırıcılardan oluşan karışımların besin değeri, biyoaktif özellikleri, biyolojik aktivitesi ve duyuşsal özelliklerini incelemişlerdir. Bu karışımlarda stevia katkılı örneklerde fenolik bileşiklerin varlığı araştırıldığında, en yüksek oranda klorojenik asit miktarının kurutulmuş elmalardan sonra en çok stevia yapraklarında bulunduğu gözlenmiştir. Bir başka çalışmada, *Stevia rebaudiana* Bertoni yapraklarından elde edilen sulu özüt, sodyum aljinat ile ıslak enkapsülasyon ve dondurarak kurutma yöntemleriyle enkapsüle edilerek, toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Her iki enkapsülasyon yöntemiyle de elde edilen kapsüller +4°C'de 30 gün depolama sürecinde toplam fenolik madde içeriği açısından stabilite göstermiş ve antioksidan aktivitesini korumuştur. Stevia özütünün aljinat ile kaplanması işleminin, gıda endüstrisinde doğal antioksidan madde sağlanması açısından gelecek vadede bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır (26).

Sharma ve ark. (27), Tip 2 diyabetik fareler üzerinde yaptıkları çalışmalarında, *Stevia rebaudiana* Bertoni'nin yüksek kan glukoz seviyesini düşürdüğünü, oksidasyonu azaltıcı enzimlerin fonksiyonunu arttırdığını ve diyabetik hücrelerde hücre bütünlüğünü korumaya katkıda bulunduğunu görmüşlerdir.

Koyama ve ark. (28), stevia karışımının ve enzim modifiye stevianın insan sindirim sisteminde nasıl metabolize olduğunu araştırmak amacıyla yaptıkları *in vitro* çalışmada stevia karışımının, steviozit ve rebaudiozit A'nın ve enzim modifiye stevianın 24 saat içerisinde elimine olduğunu ancak steviolün yok olmadığını göstermiştir. Stevia karışımı, steviozit ve rebaudiozit A insan bağırsak mikroflorası tarafından steviole parçalandığı sonucuna varılmıştır ve bu sonucun daha önce yapılan fare denemelerinden elde edilen sonuçlarla tutarlı olduğu bildirilmiştir.

STEVİOL GLİKOZİT EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ

S. rebaudiana yapraklarından steviozit ekstraksiyonunda su ve alkol ile ekstrakte edip ardından çöktürme, pıhtılaştırma ve kristalizasyon uygulanması gibi geleneksel yöntemler kullanılmaktadır. Biyoaktif maddelerin ekstraksiyonunda modern ekstraksiyon yöntemleri olarak, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, basınçlı sıcak su ekstraksiyonu, süperkritik akışkan ekstraksiyonu,

mikrodalga destekli ekstraksiyon, hatta son yıllarda bitkisel biyoaktif maddelerin ekstrasyonunda enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır (18).

Zang ve ark. (29), stevia yapraklarından su ile ekstrakte edilen glikozitleri membran yöntemiyle konsantre etmişlerdir. Ekstraktlarda bulunan asılı partiküller ve yüksek molekül ağırlıklı partiküller 0.3-0.8 µm çapında gözeneklere sahip laboratuvar tipi seramik filtre ile uzaklaştırılmıştır. Çok aşamalı membran prosesinin glikozitlerin konsantrasyonunda başarı ile kullanılabilmesi sonucuna varmışlardır.

Erkücü ve ark. (30), stevia yapraklarından glikozit eldesinde süperkritik akışkan ekstraksiyonu yöntemini kullanmışlardır. Bu yöntemle ekstrakte edilen steviozit ve rebaudiozid miktarlarının, su ile elde edilen özüt miktarlarına çok yakın ve etanol ile elde edilen miktarlardan da biraz daha yüksek olduğu görülmüştür. Her ne kadar süperkritik sıvı ekstraksiyon sisteminin yatırım masrafı geleneksel sisteme oranla yüksek olsa da, bu yöntemle elde edilen özütlerde istenmeyen ya da aromayı bozan bileşenler olmaması ve yüksek kalite nedeniyle geri dönüşün hızlı olacağı da dikkate alındığında, çözgen ekstraksiyonuna göre iyi bir alternatif olabileceğini belirtmişlerdir. Öztürk ve ark. (31) *Stevia rebaudiana* yapraklarından süperkritik su ekstraksiyonu ile steviol glikozit elde edildiği çalışmalarında optimum ekstraksiyon koşullarının 125°C sıcaklık, 45 dakika süre ve 4 ml/dk akış hızı olarak belirlemiştir. Söz konusu koşullarda 36.87 mg/g steviozid ve 35/68 mg/g rebaudiozid A elde edilmiştir.

Çözgen ekstraksiyonunda, steviozid ve rebaudiozid ekstraksiyon verimini ve etkinliğini arttırmak amacıyla yapılan bir çalışmada, kuru stevia yapraklarından steviol glikozit elde etmek amacıyla hızlandırılmış ve otomatize edilmiş çözgen ekstraksiyon işlem parametrelerinin optimize edilmesi amaçlanmıştır. Araştırmada yanıt-yüzey yöntemi ile ekstraksiyon sıcaklığı, statik süre ve döngü sayısının steviozid ve rebaudiozid A verimi üzerindeki etkileri incelenmiştir. İşlem sırasında söz konusu her bir faktörün etkili olduğu ve bu yöntemde optimum parametrelerin 100°C'de 4 dakikalık tek bir işlem olarak saptandığı ve bu koşullardaki verimin %91.8±3.4 olduğu ifade edilmiştir (32).

Puri ve ark. (18), *S. rebaudiana* yapraklarından steviozid ekstraksiyonunda enzim destekli ekstraksiyon yöntemini kullanmış, bu amaçla pektinaz ve hemiselülaz enzimi ile farklı konsantrasyon, sıcaklık ve sürede ekstraksiyon denemeleri gerçekleştirmişlerdir. Enzim destekli

yöntemde verimin çözgen ekstraksiyonuna göre çok daha yüksek olduğunu göstermiştir. En yüksek ekstraksiyon veriminin ise hemiselülaz enzimi ile 60°C'de 1 saat koşullarında elde edildiğini, bu yöntemin çözgen ekstraksiyonuna iyi bir alternatif olabileceğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde, Adari ve ark. (33), stevia yapraklarını selüloz ile işleme soktukten sonra çözünür nişasta eklemiş ve bu şekilde steviozitin transglukolizasyonu ile ekstrakte edilen rebaudiozid A oranı %4'den %66'ya yükselmiş, ardından uygulanan çoklu kolon kromatografisi ile %95 oranında saf rebaudiozid A elde edilmiştir.

Sheng ve ark. (34), sakkarit bazlı sabit bir fazın kullanıldığı hidrofilik interaksiyon sıvı kromatografisi yöntemi ile oligosakkaritlerin ve glikopeptitlerin ekstraksiyonu üzerine araştırmalar yapmıştır. Bir silika jel üzerine yüksek molekül ağırlıklı polisakkaridin immobilize edildiği bu yöntem ile steviadan steviozid, rebaudiozid A ve rebaudiozid C'nin sıvı fazları etkin bir şekilde elde edilmiştir.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada steviol glikozitlerin yanı sıra, iki steviadan aminoasit bazlı tatlandırıcı elde edilmiştir. Steviozitten çözgen ekstraksiyonuyla stevia glisin etil ester ve stevia-L-alanin metil esterinin sentezlendiği bu çalışmada, elde edilen tatlandırıcıların saflığı yüksek performans sıvı kromatografisi yöntemiyle (HPLC) test edilmiş, ayrıca sulu çözeltilerinin duyu özellikleri sakkaroz ile karşılaştırmalı olarak belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, bu yeni tipte tatlandırıcıların akut toksisite, erime noktası, çözünürlük ve ısıl stabilitesi de test edilmiştir. Tatlandırıcıların, 100°C'de 2 saat süresince asidik, bazik ve nötral çözeltilerde stabil olduğu, yine steviozidlerde olduğu gibi sakkarozu göre çok daha yoğun tatlandırma kapasitesine sahip olduğu ancak steviozidlerde görülen acı tat kusuruna sahip olmadığı anlaşılmıştır. Aminoasit yapısındaki bu iki yeni tatlandırıcının gıda sanayinde düşük kalorili ürün eldesinde başarıyla kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır (35).

STEVİANIN GIDALARDA TATLANDIRICI OLARAK KULLANIM ALANLARI

Steviol glikozitler çay, alkolsüz içecekler, meyve suları, yoğurt, soya sütü, fırınlanmış ürünler, tahıl ürünleri, salata sosları, şekerlemeler gibi çeşitli gıdalarda katkı olarak ve sofraya şeker olarak kullanılmaktadır (10). Ancak, hala bazı ülkelerde birçok faktöre bağlı olarak yasal kullanım hakkı kazanamamıştır. Son yıllarda yapılan klinik ve toksisite çalışmaları steviol glikozitlerin "gıda saflığında" tanımına uygun özellikleri karşıladığını kanıtlamıştır (36).

Steviozid ve rebaudiozid A'nın gazlı içeceklerde kullanımının araştırıldığı bir çalışmada fosforik asit ve sitrik asit ile asitlendirilen içeceklerin kimyasal, duyuşsal ve mikrobiyolojik stabilitesi araştırılmıştır. Oda sıcaklığında depolama sonucu steviozid katkılı içeceklerde 5 ay, rebaudiozid katkılı içeceklerde ise 3 ay boyunca, araştırılan özellikler açısından herhangi bir bozulma gözlenmemiştir. Ancak depolama sıcaklığı 37°C'ye çıkarıldığında her iki steviol glikozit ile tatlandırılan örneklerde 2 ay sonra kimyasal bozulmalar gerçekleştiği tespit edilmiştir. Örnekler bir hafta boyunca güneş ışığına maruz bırakıldığında rebaudiozid A miktarında %20 kadar kayıp gerçekleştiği, 60°C'de 6 gün boyunca ısıtma ile de her iki tatlandırıcı miktarında %0-6 oranında bir kayıp gerçekleştiği gözlenmiştir (37).

Kerzicnik ve ark. (38), farklı oranlarda stevia ve sakkaroz ile tatlandırılmış çeşitli gıda örneklerinin duyuşsal özelliklerini araştırmış ve otuz üç gönüllüden oluşan panel ile çalışmıştır. En yüksek puanları %100 stevia ve %25 stevia + %75 sakkaroz ile tatlandırılmış örneklerin aldığı görülmüştür. Üstelik stevia'nın pişmiş gıda ürünlerinde de tatlandırma özelliğini kaybetmeksizin ve ürünün duyuşsal özelliklerini olumsuz yönde etkilemeksizin sakkaroz yerine tamamen ya da kısmen ikame olarak kullanılabilceği sonucuna da varılmıştır.

Kroyer (39), 0.5 g/l oranında steviozid katkılı çay ve kahve örneklerinde 80°C'de 4 saat boyunca steviozitin stabilitesini ve kafein ile etkileşimini araştırmak amacıyla bir saat aralıklarla örnek olarak bir dizi analizler yapmış ve 4 saat boyunca önemli bir değişiklik kaydetmemiştir. Ancak sıcaklık yükseltildiğinde, 140°C'den sonra bozunmalar başlamış ve 200°C'de ise tamamen bozunma gerçekleşmiştir. Bu durumda, steviozitin yüksek sıcaklıklarda üretilen fırın ürünleri ya da diğer gıda ürünlerinde kullanımında bazı sakıncaların doğacağı düşünülebilir. Ancak, steviozitin B grubu ve C vitaminleri ile de önemli bir etkileşime girmediği kaydedilmiştir.

De Melo ve ark. (40), şeker ilavesiz ve sükraloz ve steviozid katkılı %25 oranında kalorisi azaltılmış sütlü çikolataların duyuşsal özellikleri üzerinde laboratuvar ölçekli araştırma yapmışlardır. Örnekler arasında parlaklık, kakao aroması, tereyağı aroması ve kakao lezzeti açısından önemli bir fark olmadığı görülmüştür. Ancak, sükraloz katkılı örneklerin steviozid katkılı örneklere oranla kabul edilebilirliğinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Her iki tatlandırıcı katkılı örnekte de acı tat gelişimi gözlenmekle birlikte, bu durumun steviozid katkılı örneklerde daha yoğun olduğu

belirlenmiştir. Benzer şekilde Bollini-Cardello ve ark (41) tarafından yapılan çalışmada da, stevia yapraklarından elde edilen ekstraktlarda, konsantrasyon artışıyla beraber acı tat algısının da arttığı belirlenmiştir. Hatta algılanan bu acı tadın, ilk başta %20 sakkaroz tatlılığına denk gelen tatlı lezzeti baskıladığı bildirilmiştir. Mielby ve ark. (42), *Stevia rebaudiana* katkılı meyveli içeceklerde duyuşsal değerlendirme yapmış ve stevia'nın neden olduğu acılık lezzet kusurunun limon aroması katkısı ile bir derece düzeltilebildiğini görmüşlerdir.

Steviol glikozitlerin neden olduğu acılık kusuruna çözüm getirmek amacıyla yapılan bir çalışmada, steviol glikozitler, püskürtmeyle, dondurarak ve etüvde kurutma yöntemleri kullanılarak, farklı oranlarda karıştırılmış maltodekstrin ve inülinde oluşan bir kaplama maddesi ile enkapsüle edilmiştir. Çalışmada %2.5 lik steviol glikozit çözeltisi kullanılmıştır. Tüm kurutma işlemleri sırasında steviol glikozitler kimyasal bütünlüğünü korurken, fizikokimyasal ve duyuşsal özellikler açısından en iyi sonuçların püskürtmeyle kurutma ile enkapsüle edilmiş örneklerden elde edildiği sonucuna varılmıştır (43).

Guggisberg ve ark. (44), set tip yoğurtlarda %8 sakkaroz yerine farklı oranlarda stevia ve izomaltuloz karışımı ve palatinoz (%8) kullanarak, söz konusu şeker ikamelerinin yoğurtların kalite özellikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Katkıların hiçbirinin yoğurt üretim prosesi veya pH üzerinde olumsuz bir etki göstermediği belirtilmiştir. Sadece stevia katılmış ürünlerde acılık ve istenmeyen lezzet oluşumu gözlenmiştir. Bu istenmeyen lezzet, çeşitli panelistler tarafından, "küflü", "kartonumsu", "metalik" ve "yapay" olarak değerlendirilmiştir. Bununla birlikte en iyi kombinasyonun %0.025 stevia karışımı olduğu belirtilmiştir.

Oliveira ve ark. (45), Malaya elmalarından yüksek kalorili şekerleri uzaklaştırarak yerine düşük kalorili steviozid ve rebaudiozid kullanmışlardır. Bu amaçla ilk aşamada elmalardan destile su içerisinde 20 dakika süreyle ultrason yardımıyla şekerin uzaklaştırıldığı ve ozmotik yöntemle stevia bazlı tatlandırıcıların başarı ile elmalara katılabildiği sonucuna varmışlardır. Üstelik bu şekilde toplam kaloride % 40.2'lik bir azalma sağlanabilmiştir. Benzer şekilde Garcia-Noguera ve ark. (46) da iki aşamalı şeker ikame yöntemi ile çilek örneklerinden yüksek kalorili şekerleri kısmen uzaklaştırarak düşük kalorili steviozid ve rebaudiozid ile tatlandırmışlardır. En iyi sonuçların çileklerden doğal şekerlerin uzaklaştırılması ve stevia bazlı tatlandırıcıların ikame edilmesi aşamasında ultrason

desteği kullanıldığında elde edildiği gözlenmiştir. Torres ve ark. (47), kestane ve pirinç unlarından glutensiz jöle yapımında, tatlandırıcı olarak sakkaroz, stevia ve ksilitol kullanımının ürünün yapısal, tekstürel ve reolojik özellikleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Sakkaroz ve ksilitol jel sıklığını önemli ölçüde azaltırken, stevianın etkisinin çok düşük olduğu gözlenmiştir.

Weber ve Hekmat (48), farklı tatlandırıcıların probiyotik yoğurtların duyuşal özellikleri ve *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 gelişimi üzerine etkisini araştırmışlardır. % 0.12 stevia, %0.12 stevia-inulin-krom (SIC), %1.0 sükraloz, %5.0 sakkaroz, % 6.0 ksilitol katkı ve tatlandırıcı içermeyen kontrol örneklerinde, 28 günlük depolama süreci boyunca *L. rhamnosus* GR-1 sayısının 10^8 - 10^9 kob/ml düzeyinde olduğunu görmüşlerdir. Stevia içeren örneğin stevia-inülin-krom içerene göre daha yüksek duyuşal puanlara sahip olduğu gözlenmiştir. Ancak sükraloz katkı yoğurt örneklerinin duyuşal özellikler açısından en yüksek puanları alması ve sakkarozun lezzet dışındaki diğer duyuşal özellikler açısından steviaya göre daha çok tercih edilmesi, stevianın daha yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında daha başarılı sonuçlar elde edilebileceğini ve bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerekliliğini ortaya koymuştur.

Son yıllarda steviol glikozitlerin gıdalarda tatlandırıcı olarak kullanımı ile ilgili şüphesiz sanayide de yoğun çalışmalar başlatılmıştır. Clos ve ark. (49) tarafından yürütölen çalışmada, *Stevia rebaudiana*'dan elde edilen rebaudiozit A'nın geliştirilmesi ve ticari olarak yaygınlaştırılması hedeflenmiştir. Bu çalışmalarda saflık derecesi %97'den yüksek olan ve rebiana olarak da bilinen rebaudiozit A kullanılmıştır. Ayrıca, söz konusu tatlandırıcının stabilitesini belirlemek amacıyla içecek örnekleri güneş ışığına maruz bırakılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen bulguların aksine, rebiana'nın ışığa karşı stabil olduğu belirlenmiştir.

Carbonel-Capella ve ark. (50), portakal, mango ve papaya meyveleri ile hazırlanan ve %1.25 - %2.5 *Stevia rebaudiana* ile tatlandırılmış meyve sularına 300, 400 ve 500 MPa ve 5-15 dakika süre koşullarında yüksek basınç uygulamışlardır. 300 MPa basınçta 14 dakika süreyle uygulanan yüksek basınç işleminin %1.7 stevia içeren meyve suyu karışımı örneklerinde en yüksek miktarda antioksidan miktarına (stevia içermeyen örneklerin 15 katı kadar) ve en üstün renk özelliklerine sahip bir ürün eldesine olanak tanıdığı sonucuna varılmıştır.

Şekersiz çikolata üretiminde çeşitli tatlandırıcıların ürünün reolojik ve erime özellikleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, referans olarak sakkaroz kullanılmış ve denemelerde stevia ve tomatın özütü ile tatlandırılmış inülin ve polidekstroz karışımı kullanılmıştır. Stevia ile tatlandırılan örneklerin referans ile benzer erime ve reolojik özellikler gösterdiği görölmüştür (51).

Tek tip glikozit ile çalışıldığında duyuşal açıdan tercih edilmediği yapılan çalışmalar sonucunda anlaşılmıştır. Her ürün için doğru kombinasyonun ve kullanım oranının belirlenmesi ve farklı formölasyon veya katkıların yardımıyla lezzet kusurlarının giderilmesi amacıyla bir dizi çalışmalar yürütölməsi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Barriocanal, L, Palacios, M, Benitez, G, Benitez, S, Jimenez, J, Jimenez, N. 2008. Apparent lack of pharmacological effect of steviol glycosides used as sweeteners in humans, a pilot study of repeated exposures in some normotensive and hypotensive individuals and in type 1 and type 2 diabetics. *Regul Toxicol Pharm*, 51, 37-41.
2. Lemus-Mondaca, R, Vega-Gálvez, A, Zura-Bravo, L, 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 Chem*, 132, 1121-1132.
3. Shivanna, N, Naika, M, Khanum, F, Kaul, VK. 2013. Antioxidant, anti-diabetic and renal protective properties of Stevia *rebaudiana*. *J Diabetes Complicat*, 27, 103-113.
4. Ramesh, K, Singh, V, Megeji, NW. 2006. Cultivation of Stevia [*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni]: A Comprehensive Review. *Adv Agron*, 89, 137-177.
5. Kumar, H, Kaul, K, Bajpai-Gupta, S, Kaul, VK, Kumar, S. 2012. A comprehensive analysis of fifteen genes of steviol glycosides biosynthesis pathway in *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Gene*, 492, 276-284.
6. Serfaty, M, Ibdah, M, Fischer, R, Chaimovitsh, D, Saranga, Y. 2013. Dynamics of yield components and steviozite production in *Stevia rebaudiana* grown under different planting times, plant stands and harvest regime. *Ind Crop Prod*, 50, 731-736.
7. Madan, S, Ahmad, S, Singh, GN, Kohli, K, Kumar, Y, Garg, M. 2010. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni-A Review, *Indian J Nat Prod Resour*, 1(3), 267-286.

8. Pól, J, Hannova, B, Hyötyläinen, T. 2007. Characterisation of *Stevia rebaudiana* by comprehensive two-dimensional liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1150, 85-92.
9. Siddique, AB, Rahman, SMM, Hossain, MA. 2012. Chemical composition of essential oil by different extraction methods and fatty acid analysis of the leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Arab J Chem*, 10, 10-16.
10. Anonymous. 2013. www.globalstevia institute.com.
11. Lopes, SMS, Krausova, G, Rada, V, Gonçalves, JE, Gonçalves, RAÇ, de Oliveira, AJB. 2015. Isolation and characterization of inulin with a high degree of polymerization from roots of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *Carbohydr Res*, 411, 15-21.
12. Palazzo, AB, Carvalho, MAR., Efraim, P, Bolini, HMA. 2011. Determination of isosweetness concentration of sucralose, rebaudioside and neotame as sucrose substitutes in new diet chocolate formulations using the time-intensity analysis. *J Sens Stud*, 26, 291-297.
13. Renwick, AG. 2008. The use of a sweetener substitution method to predict dietary exposures for the intense sweetener rebaudioside A. *Food Chem Toxicol*, 46, 561-569.
14. Bondarev, N, Reshetnyak, O, Nosov, A. 2001. Peculiarities of diterpenoid steviol glycoside production in in vitro cultures of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Plant Sci*, 161(1), 155-163.
15. Thomas, JE, Glade, MJ. 2010. Stevia: It's not just about calories. *Open Obes J*, 2, 101-109.
16. Jookan, E, Monballiu, A, Ruis, A, Moons, N, de Borggraef, W, Dehaen, W, Meesschaert, B. 2013. Microbial degradation of steviol derived from steviol glycosides. *7th Stevia Symposium 2013, Knowledge on Tour in Europe, at Toulouse*, 7.
17. Anton, SD, Martin, CK, Han, H, Coulon, S, Cefalu, WT, Geiselman, P, Williamson, DA. 2010. Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite*, 55, 37-43.
18. Puri, M, Sharma, D, Barrow, CJ, Tiwary, AK. 2012. Optimisation of novel method for the extraction of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* leaves. *Food Chem*, 132, 1113-1120.
19. Kim, IS, Yang, M, Lee, OH, Kang, SN. 2011. The antioxidant activity and the bioactive compound content of *Stevia rebaudiana* water extracts. *Food Sci Technol-LEB*, 44, 1328-1332.
20. de Oliveira, AJB, Cordeiro, LMC, Gonçalves, RAC, Ceole, LF, Ueda-Nakamura, T, Lacomini, M. 2013. Structure and antiviral activity of arabinogalactan with (1→6)-β-d-galactan core from *Stevia rebaudiana* leaves. *Carbohydr Polym*, 94, 179-184.
21. Barba, FJ, Esteve, M., Frigola, A. 2014. Bioactive components from leaf vegetable products. *Stud Natur Prods Chem*, 41, 321-346.
22. Tavarini, S, Ribuoli, M, Bimbatti, M, Angelini, LG. 2010. Functional components from *Stevia rebaudiana* Bert. Leaves. *J Biotechnol, Special Abstracts*, 150S, 326.
23. Komes, D, Belscak-Cvitanovic, A, Ljubicic, I, Durgo, K, Cindric, I, Busic, A, Vojvodic, A. 2014. Formulation of blackberry leaf mixtures for preparations of infusion with plant derived sources of sweeteners. *Food Chem*, 151, 385-393.
24. Tadhani, M.B., Patel, V.H., Subhash, R., 2007. In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus, *J Food Comp Anal*, 20: 323-329.
25. Shukla, S, Mehta, A, Mehta, P, Bajpai, VK. 2012. Antioxidant ability and total phenolic content of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Exp Toxicol Pathol*, 64, 807-811.
26. Arriola, ND, de Medeiros, M, Prudencio, ES, Müller, CMO, de Mello Castanho Amboni, RD. 2016. Encapsulation of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni with sodium alginate and its impact on phenolic content. *Food Biosci*, 13, 32-40.
27. Sharma, R, Yadav, R, Manivannan, E. 2012. Study of effect of *Stevia rebaudiana* bertoni on oxidative stress in type-2 diabetic rat models, *Biomed Aging Pathol*, 2, 126-131.
28. Koyama, E, Kitazawa, K, Otori, Y, Kakegawa, K, Fujino, A, Ui, M. 2003. In vitro metabolism of the glycosidic sweeteners, stevia mixture and enzymatically modified stevia in human intestinal microflora. *Food Chem Toxicol*, 41 (3), 359-375.
29. Zang, SQ, Kumar, A, Kutow, O. 2000. Membrane-based separation scheme for processing sweeteners from stevia leaves. *Food Res Int*, 33, 617-620.
30. Erköçük, A, Akgün, IH, Yeşil-Çeliktaş, O. 2009. Supercritical CO₂ extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* leaves: Identification and optimization. *J Supercrit Fluids*, 51, 29-35.

31. Öztürk, EY, Tag, Ö, Yesil Çeliktas, Ö. 2014. Subcritical water extraction of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* leaves and characterization of the raffinate phase. *J Supercrit Fluids*, 95, 422-430.
32. Jentzer, JB, Alignan, M, Vaca-Garcia, C, Rigal, L, Vilarem, G. 2014. Response surface methodology to optimise Accelerated Solvent Extraction of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *Food Chem*, 561-567.
33. Adari, BR, Alavala, S, George, SA, Meshram, HM, Tiwari, AK, Sarma, AVS. 2016. Synthesis of rebaudioside-A by enzymatic transglycosylation of steviol glycoside present in the leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Food Chem*, 200,154-158.
34. Sheng, Q, Su, X, Li, X, Ke, Y, Liang, X. 2014. A dextran-bonded stationary phase for saccharide separation. *J Chromatogr A*, 1345, 57-67.
35. Khattab, SN, Mona, MI, Jad, YES, Bekhit, AA, El-Faham, A. 2015. Production and physicochemical assessment of new stevia amino acid sweeteners from the natural steviol glycoside. *Food Chem*, 173, 979-985.
36. Carakostas, MC, Curry, L., Boileau, AC, Brusick, DJ. 2008. Overview: The history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages. *Food Chem Toxicol*, 46 (2008), 1-10.
37. Chang, SS, Cook, JM. 1983. Stability studies of Steviol glycoside and Rebaudioside A in carbonated beverages. *J Agric Food Chem*, 31,409-412.
38. Kerzicnik, L, Stendell, N, McMuney, M, Hagan, D. 1999. Food Characteristics of Recipes Using Stevia Sweetener - A Proposed Herbal Sugar Substitute. *J Am Diet Assoc*, 99 (9), Supplement, p: A29.
39. Kroyer, GT. 1999. The low calorie sweetener Steviol glycoside: Stability and interaction with food ingredients. *Lebensm Wiss Technol*, 32, 509-512.
40. De Melo, LLMM, Bolini, HMA, Efraim, P. 2009. Sensory profile, acceptability, and their relationship for diabetic/reduced calorie chocolates. *Food Qual Prefer*, 20, 138-143.
41. Bolini-Cardello, HMA, Da Silva, MAPA, Damasio, M H. 1999. Measurement of the relative sweetness of stevia extract, aspartame and cyclamate/saccharin blend as compared to sucrose at different concentrations. *Plant Food Hum Nutr*, 54, 119-130.
42. Mielby, LH, Andersen, BV, Jensen, S, Kildegaard, H, Kuznetsova, A, Eggers, N, Brockhoff, PB, Byrne, DV. 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 Res Int*, 82, 14-21.
43. Chranioti, C, Chanioti, S, Tzia, C. 2016. Comparison of spray, freeze and oven drying as a means of reducing bitter aftertaste of steviol glycosides (derived from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant) – Evaluation of the final products. *Food Chem*, 190, 1151-1158.
44. Guggisberg, D, Piccinalli, P, Schreirer, K. 2011. Effects of sugar substitution with Stevia, Actilight™ and Stevia combinations or Palatinose™ on rheological and sensory characteristics of low-fat and whole milk set yoghurt. *Int Dairy J*, 21, 636-644.
45. Oliveira, FIP, Rodriguez, S, Fernandes, FAN. 2012. Production of low calorie Malay apples by dual stage sugar substitution with Stevia-based sweetener. *Food Bioprod Process*, 90,713-718.
46. Garcia-Noguera, J, Weller, CL, Oliveira, FIP, Fernandes, FAN. 2010. Dual-stage sugar substitution in strawberries with a *Stevia*-based sweetener. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 11 (1), 225-230.
47. Torres, MD, Raymundo, A, Sousa, I. 2013. Effect of sucrose, stevia and xylitol on rheological properties of gels from blends of chestnut and rice flours. *Carbohydr Polyme*, 98, 249-256.
48. Weber, A, Hekmat, S. 2013. The Effect of *Stevia rebaudiana* on the Growth and Survival of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and Sensory Properties of Probiotic Yogurt. *J Food Res*, 2 (2), 136-143.
49. Clos, JF, DuBois, GE, Prakash, I. 2008. Photostability of Rebaudioside A and Steviol glycoside in beverages. *J Agric Food Chem*, 56, 8507-8513.
50. Carbonel-Capella, JM, Francisco, JB, Esteve, MJ, Frigola, A. 2013. High pressure processing of fruit juice mixture sweetened by *Stevia Rebaudiana* Bertoni: Optimal retention of physical and nutritional quality. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 18, 48-56.
51. Aidoo, RP, Afoakwa, EO, Dewettinck, K. 2015. Rheological properties, melting behaviours and physical quality characteristics of sugar-free chocolates processed using inulin/polydextrose bulking mixtures sweetened with stevia and thaumatin extracts. *Food Sci Technol LEB*, 62, 591-597.