

# TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU

LİSE SEVİYESİ FİKİR KATEGORİSİ

TAKIM ADI

Diyabete Karşı Zafer

PROJE ADI

Stevya (*Stevia rebaudiana*) Yapraklarında Bulunan “Diterpen  
Glikozit’lerin (Steviol Glikozit’lerin)” İnce Tabaka Kromatografi  
Yöntemiyle Belirlenmesi, Unlu, Sütü ve Fındıklı Gıdaların  
Yapımında Kullanılabilirliğinin Araştırılması

BAŞVURU ID

411949

## İçindekiler

1.	Proje Özeti (Proje Tanımı) .....	3
2.	Problem/Sorun .....	3
3.	Çözüm .....	3
4.	Yöntem .....	4
4.1.	Özütleme .....	5
4.2.	Süzme .....	5
4.3.	Spektroskopik Analiz .....	5
4.4.	Kağıt Kromatografisi Analizi .....	6
4.5.	İnce Tabaka Kromatografisi Analizi .....	6
4.5.1.	n-Hekzan ile Özütleme .....	7
4.5.2.	Kloroform ile özütleme .....	8
4.6.	İnce Tabaka Kromatografisinde Tabakaların Hazırlanması .....	8
4.7.	İnce Tabaka Kromatografisinde Tabakaların Üzerine Numunelerin Uygulanması ve Analiz .....	9
4.8.	İnce Tabaka Kromatografisinde Tabakaların Üzerindeki Noktaların Tespit Edilmesi .....	9
4.9.	Kek Yapımı .....	10
4.10.	Bulgular .....	11
5.	Yenilikçi (İnovatif) Yönü .....	12
6.	Uygulanabilirlik .....	12
7.	Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması .....	13
7.1.	Tahmini Maliyet .....	13
7.2.	Proje İş-Zaman Çizelgesi .....	14
8.	Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar) .....	14
9.	Riskler .....	14
10.	Kaynaklar.....	15

## 1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

Bu çalışmada, *Stevia rebaudiana* bitkisindeki diterpen glikozitlerin belirlenmesi, tatlı gıdalarda kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlandı. Aktardan alınan stevyaya yaprakları, 60 °C su banyosunda, özütlendi, soğutuldu, süzüldü ve (1:100) oranında seyreltilerek UV-VIS spektrofotometresi ile 380, 430, 480, 530, 580, 630 ve 680 nm dalga boylarında absorbansları ölçüldü. En yüksek absorbans 380 nm'de bulundu. Kağıt kromatografisi için metanol-su (5:1) hareketli faz çözeltisinde renk ayırımı net olmadı.

Sulu özütte az da olsa bulunan yağlar ve lipitler n-hekzan, su fazında çözünen klorofil, ksantofil, vb. bileşikler, kloroform ile ayrıldı. Bitkinin sulu özütü 1, n-hekzan fazı 2 ve kloroform fazı 3 ile işaretlendi, toplam altı tane ince tabaka kromatografisi plağı hazırlandı. Hareketli faz olarak, kloroform:metanol:su (15:10:2) çözücüsü kullanıldı. Lekelerin gözlenmesi için ilk üç plakaya %5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, diğer üç plakaya iyot çözeltisi püskürtüldü. 3 numaralı numunede leke gözlenmedi. 1 ve 2 numaralı plakalarda, leke uzaklıkları ve çözücünün sürüklendiği uzaklık cetvelle ölçüldü, R<sub>f</sub> değerleri hesaplandı. Birinci leke her iki çözücü ortamında da net olarak gözlemlendi. Hazırlanan iyot çözeltisinin yoğun olması nedeniyle ikinci leke tam gözlenemedi. İyotun buhar olarak kullanılmasının doğru olacağı düşünüldü. Kromatogramda iki farklı lekenin oluşmasından iki farklı yapıda aromatik bileşiğin olduğu belirlendi.

Stevya yapraklarının sulu özütü ile yapılan kekta, metalimsi bir tad alınmadı, kek parçalanmadı, dağılmadı, yumuşak veya kırılğan olmadı. Ayrıca; inülin ile yapılan sütlaç tatlısına, muz aromalı süt ve kremalı fındık ezmesine tatlandırıcı olarak stevyaya özütü ilave edildi. Tüm ürünlerde hoş bir aroma tadı hissedildi. Özetle, stevyaya özütüne çeşitli hidrokoloidler eklendiğinde mısır şurubuna alternatif sağlıklı bir tatlandırıcı olduğu düşünüldü.

## 2. Problem/Sorun

Günümüzde şeker yerine kullanılan birçok tatlandırıcılar ve çalışmalar mevcuttur. Geçmiş yıllarda özellikle diyabet ve şişmanlık gibi bazı hastalıkları olan insanlar için düşük kalorili ürünler üretilmiş olmakla birlikte ürün çeşidinin azlığı ve yüksek fiyattan satılması gibi olumsuzlukların yanında ürünlerin tat ve aromalarının da yeteri kadar iyi olmaması diğer bir olumsuzluktur. Günümüzde, bu ürünler tat ve aroma bakımından daha gelişmiş olarak makul fiyata satın alınabilmektedir. Yapay tatlandırıcıların birçoğunun **ağızda acımsı ve metalimsi bir tat bıraktığı, fenilketonüri hastalığı** olan kişilerin **aspartam** alımından kaçınmaları ve yüksek miktarlarda **sakarın** kullanımının **mesane kanseri** riskini arttırdığı bilinmektedir. Mevcut gıdalarda bulunan birçok yapay tatlandırıcılar ile ilgili **toksikolojik** çalışmalar devam ederken, doğada bulunan çok tatlı ve düşük kalorili ürünler ile ilgili çalışmalar önem kazanmaktadır. Ayrıca düzensiz beslenmenin ve yapay tatlandırıcılarla yapılan şekerli yiyeceklere eğilimin gün geçtikçe artması, toplumda diyabetli hasta oranının artmasına neden olmakta ve sağlıklı yaşamı tehdit etmektedir. **Diyabetin** yaşam boyunca tedavi edilmesi gereken bir hastalık olduğu düşünüldüğünde, bu durum devletin sağlık harcamalarına ayırdığı payın her geçen gün daha fazla olması anlamına gelmektedir.

## 3. Çözüm

Stevya bitkisinden elde edilen ürünlerin Japonya ve Paraguay gibi bazı ülkelerde uzun yıllardan beri gıda ve ilaç olarak tüketilmesi, bitkinin ticari bitkiler arasında yer almasını sağlamıştır. Bazı araştırmacılara göre, stevya yapraklarında bulunan ana tatlandırıcı bileşik, stevioside glikozitinin **antihipertansiyon, antihiperglisemik, ve antihuman rotavirus hastalıkları iyileştirici** özelliği bulunduğu, **mutajenik özelliğinin olmadığı** saptanmıştır. Stevyadan elde edilen bir ürünün kuvvetli bir **antioksidan** özelliği tespit edilmiştir. **Kanserojenik** olabileceği ile ilgili bir **bulgu da mevcut değildir. Gebelikte kullanımında bir yan etki gözlenmemiştir.**

Stevya yapraklarında bulunan tatlandırıcıların; sakkarozaya göre **250-300 kat daha fazla tatlı olması, ısı ve pH stabilitesinin fazla olması, alkolde ve suda çözünmesi, ağızda metalimsi bir tat bırakmaması ve rahatsız edici kokusunun olmaması** gibi özelliklerinin yanında, doğal yollarla elde edilmesi de bu tatlandırıcıların bulunduğu stevya bitkisinin önemini arttırmaktadır. Stevya yapraklarında bulunan tatlandırıcılar bugün tüm sıcak ve soğuk içeceklerde, reçel komposto, muhallebi vb. gibi kaynatılarak pişirilen yiyeceklerde, pasta kek, kurabiye gibi fırında yüksek ısıda pişirilen tüm unlu gıdaların içerisinde, deniz ürünlerinde, şekerleme sanayinde bazı sebzelerde çay şekeri yerine, suşi, soya sosu, yoğurt, dondurma ve çikolata gibi birçok gıda üretiminde kullanılmaktadır. Yapılan literatür araştırmasında stevya bitkisinin tatlandırıcı olarak kullanıldığı **kremalı fındık ezmesine** rastlanmamıştır.

*Stevia rebaudiana bentoni* bitkisinin yüksek diterpen içeren türlerinin gen yapısı ve yetiştirme koşulları ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Mikro koşullarda üretimi, karşılaştırmalı analizi, izolasyonu ve maliyet unsurlarının hesaplanması ile ilgili bir diğer çalışma mevcuttur.

#### 4. Yöntem

Çalışmada, kullanılan stevya bitkisi yaprakları, aktar tabir edebileceğimiz yerden paketlenmiş olarak temin edildi (Resim 1).



Resim 1: Stevya bitkisinin yaprakları

20 gramlık paket halinde bulunan yapraklar (30.12.2022 son tüketim tarihli ve menşei Türkiye) satın alındı. Konu ile ilgili literatür araştırması Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi ve Orta Doğu Teknik Üniversitesi kütüphanelerinde tamamlandı. Deneysel çalışmalar Orta Doğu Teknik Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Araştırma Laboratuvarı'nda ve aynı üniversitenin Fen Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya ve Biyokimya Araştırma laboratuvarlarında tamamlandı. Bu laboratuvarlarda stevya yapraklarının, 0,0001 g hassasiyette analitik terazide tartımından sonra infüzyon, ayırma, süzme, spektroskopik ve kromatografik analizleri yapıldı. Çözücü olarak kullanılan distille su laboratuvardan temin edildi. Çalışmada, sabit fazı katı, hareketli fazı sıvı olan kağıt

kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi yöntemleri kullanıldı. Hareketli fazda karakteristik renkler veren maddeler, leke şeklinde silika plaka üzerinde gözlemlendi. Çözücü içinde farklı hızda sürüklenerek farklı noktalarda leke oluşturan maddelerin işaret çizgisinden itibaren sürüklendiği nokta cetvelle ölçüldü. Referans olarak çözücünün sürüklendiği en son nokta da cetvelle ölçüldü. Ölçümler cm cinsinden kaydedildi. Lekenin tam ortasından alınan uzaklığın çözücün uzaklığına oranı oluşan lekeye ait maddenin sürüklenme değeri, ( $R_f$ ) olarak kaydedildi.

#### 4.1. Özütleme

Özütleme işleminde; darası alınan 500 mL'lik erlen kullanıldı. Tartım sonunda kuru stevya yapraklarının kütlesi 27,7307 gram bulundu. Yaprakların üzerine ve 250 mL distile su ilave ettikten sonra beherin ağzı alüminyum folyo ile kapatılıp 60 °C sıcaklıktaki su banyosunda, 80 dakika boyunca özütlendi. (Resim 2) ve (Resim 3).



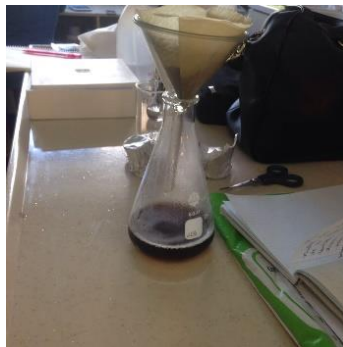
Resim 2: Stevya yapraklarının tartılması.



Resim 3: Stevya yapraklarının özütlenmesi.

#### 4.2. Süzme

Özütleme işleminden sonra, oda sıcaklığına kadar soğutulan karışım, cam huni yardımı ile kaba filtre kağıdından geçirilerek süzüldü (Resim 4). Süzme işlemi sonunda toplanan özütün hacmi 248 mL olarak ölçüldü.



Resim 4 : Stevya yapraklarının infüzyon sonrası süzülmesi.

#### 4.3. Spektroskopik Analiz

Spektroskopik analiz için, 248 mL'lik özütten 1 mL alındı, 100 mL'ye seyreltilti. Hazırlanan numunenin, UV-VIS spektrofotometresi ile 380, 430, 480, 530, 580, 630 ve 680 nm dalga boylarında absorbans ölçümleri yapıldı (Resim 5). Sonuçlar listelendi (Resim 6).



Resim 5: Absorbans ölçümünde kullanılan UV-VIS Spektrofotometri

Wavelength	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	C1	C2
22.0	-0.001	-0.002	-0.002	0.000	-0.001	-0.001	0.000	1.000	1.000
22.0	0.334	0.067	0.023	0.011	0.011	0.011	0.011	1.000	1.000

Resim 6: Spektrofotometrik sonuçlar

#### 4.4. Kağıt Kromatografisi Analizi

Kromatografik analiz için, süzme işlemi sonunda 248 mL kalan özütün hacmi 100 mL kalıncaya kadar 50 °C sıcaklığındaki etüvde 2 saat bekletildi. Kağıt kromatografi için, 5 mL metanol, 1 mL saf sudan oluşan hareketli faz çözeltisi hazırlandı. (Resim 7). Küvet olarak 250 mL'lik mezür kullanıldı. Kromatografi kağıdında işaretlenen yere 100 mL'lik özütten 1 mL'lik pipetle iki damla damlatıldı. Kağıt yüzeyinde sürüklenen maddelerin renkleri damlalar halinde gözlemlendi, ancak renk ayrımı net olmadı. Bu nedenle kağıt kromatografi üzerinde ölçüm yapılamadı.



Resim 7: Kağıt kromatografisi deney düzeneyi

#### 4.5. İnce Tabaka Kromatografisi Analizi

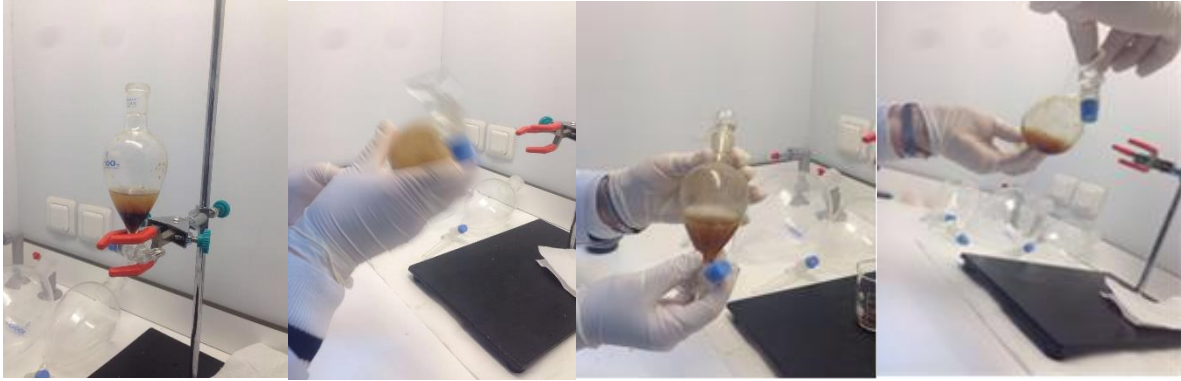
Özütün, renk şiddetinin yeterli olmaması nedeniyle 100 mL'lik karışımın tamamı, dibi yuvarlak, darası bilinen balona alındı ve tartıldı. Özütün kütlesi 53,1960 gram olarak kaydedildi. Balon, 40 °C'lik su banyosunda, dakikada 90 devir yapabilen dönen başlıklı buharlaştırıcıya bağlandı, hacim, 52 mL kalıncaya kadar karışımın suyu uçuruldu (Resim 8).



Resim 8: Dönen başlıklı evaporatör.

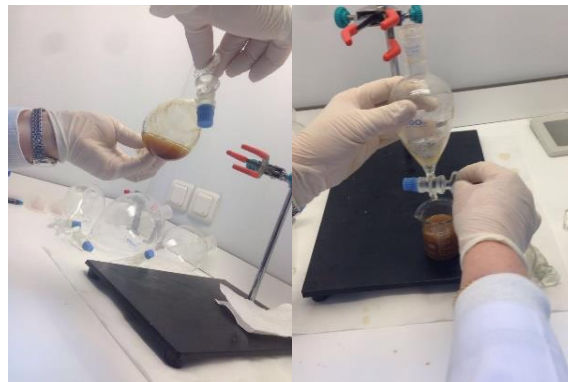
#### 4.5.1. n-Hekzan ile Özütleme

Sulu özüte çok az da olsa geçen yağların ve lipitlerin çözünmesi için dönen başlıklı buharlaştırıcıda 52 mL kalıncaya kadar suyu uçurulan özütten 10 mL alınarak çeker ocakta hazırlanan düzenekteki ayırma hunisine koyuldu. Üzerine 10 mL n-hekzan (Merck, %99,98 saflıkta) ilave edildi (Resim 9).



Resim 9: Stevya özütünden n-hekzan ile yağların ayrılması.

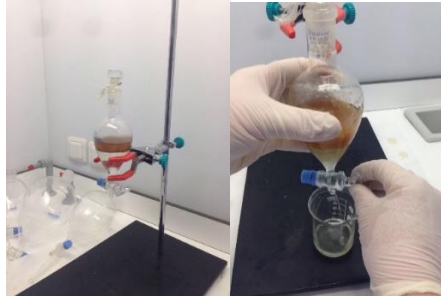
Huni çalkalanarak gaz çıkışı sağlandıktan sonra, faz ayrılması için 30 dakika bekletildi. Faz ayrılmasının net olmaması nedeniyle 15 mL daha n-hekzan ilave edildi ve tekrar çalkalanarak gaz çıkışı sağlandıktan sonra 30 dakika daha bekletildi. Alttaki bulunan sulu faz alındı ve ikinci özütleme işlemini yapmak üzere n-hekzan fazına 15 mL daha n-hekzan ilave edilerek aynı düzenekte 30 dakika daha bekletildi. İkinci özütleme ile altta bulunan sulu faz alınarak birinci özütlemeden elde edilen sulu faz ile birleştirildi (Resim 10). Ayırma hunisinde kalan n-hekzan fazı da kapalı bir kaptaki biriktirildi.



Resim 10 : n-hekzan fazından sulu fazın ayrılması.

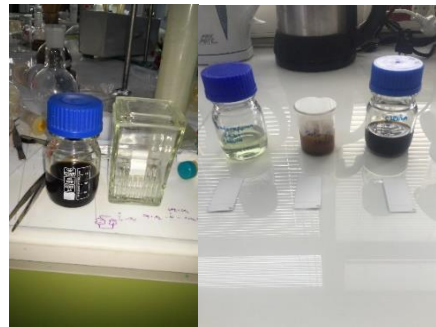
#### 4.5.2. Kloroform ile özütleme

Özütleme sonunda elde edilen sulu faz ayırma hunisine alınarak, suda çözünen klorofil, ksantofil, vb. bileşikleri ayırmak amacıyla üzerine 25 mL kloroform (Merck, %99,98 saflıkta) ilave edildi (Resim 11).



Resim 11: Sulu fazdan kloroform fazının ayrılması

Faz ayrılmasını sağlamak amacıyla huninin ağzı kapalı olarak çeker ocakta yaklaşık 18 saat bekletildi. Su fazından kloroform fazına geçen bileşiklerin ayrılmasından sonra, sulu faz ayrılarak huniden alındı. 10 mL kloroform ile ikinci özütleme işlemi yapıldıktan sonra, kloroform ve sulu karışımlar farklı numune kaplarında depolandı. 52 mL kalıncaya kadar suyu uçurulan sulu özüt, (bitkinin saf su ile yapılan özütü) 1, bu özütün n-hekzan ve kloroform ile ayrılmasından elde edilen sulu karışım 2 ve kloroform fazı 3 ile işaretlenerek, karışımlar ince tabaka kromatografisinde analize hazırlandı (Resim 12).



Resim 12: İnce tabaka kromatografisi ve numuneler

İnce tabaka kromatografisiyle ayrımada ortamı, 250-500  $\mu\text{m}$  kalınlığında içinde sabit fazı taşıyan katı madde (silika plaka) ve kloroform: metanol-su (15:10:2) oranında hareketli fazı oluşturan çözücü hazırlandı. Analiz, içinde plakaların ve hareketli fazın olduğu, şale adı verilen cam küvette yapıldı. Analizlerde lekelerin görünmesini sağlamak amacıyla, %5  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Merck, %99,98 saflıkta) ve %95 saf sudan oluşan çözelti ile %2  $\text{I}_2$ , %2,50 NaI, %50  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  ve %45,50 saf sudan oluşan çözeltiler hazırlandı. %5  $\text{H}_2\text{SO}_4$  çözeltilerinden 1 mL, etil alkollü iyot çözeltilerinden de 2 mL alınarak 5 mL'ye tamamlanan seyreltik iyot çözeltisi kullanıldı.

#### 4.6. İnce Tabaka Kromatografisinde Tabakaların Hazırlanması

İnce tabaka kromatografisinde kullanılan tabakalar, Organik Kimya ve Biyokimya Araştırma Laboratuvarları'ndan temin edildi. Bütün plaka halinde bulunan tabakalardan 3 karışım için de uygun boyutta 6 adet dikdörtgen plakalar kesildi.



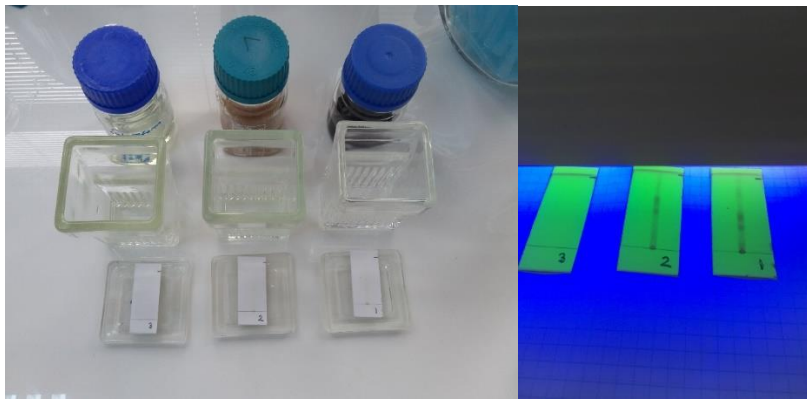
#### 4.7. İnce Tabaka Kromatografisinde Tabakaların Üzerine Numunelerin Uygulanması ve Analiz

Her bir plaka için hazırlanan cam küvetlere hareketli faz çözücü karışımından 4'er mL (plakaların işaret çizgisini geçmeyecek hacimde) ilave edildi ve küvetlerin ağzı kapatıldı. Bitkinin saf su ile yapılan özütü 1, bu özütün n-hekzan ve kloroform ile ayrılmasından elde edilen sulu karışım 2 ve kloroform fazı 3 ile adlandırılan analiz numunelerinden kılcal cam boru ile alınan örnekler kesilen dikdörtgen plakaların her birinde aynı olan işaret çizgisine damlatıldı ve kuruması için çok kısa bir süre bekletildi (Resim 13).



Resim 13: Numuneler damlatıldıktan sonra, oda sıcaklığında bekletilen ve daha sonra kromatografi küvetine koyulan plakalar

Plakaların her biri küvetlere yerleştirildi. Küvette bulunan çözücü ile ıslanan ve üzerinde renkli lekeler oluşan 1 ve 2 numaralı plakalar kısa süre sonra plakanın sonunda işaretlenen yere kadar ıslandı. 3 numaralı plakada renkli lekeler gözlenmedi (Resim 14). Plakalar küvetten çıkarılarak cam kapak üzerinde kurutuldu. UV (mor ötesi) lambası ile plakalara bakıldı. 1 ve 2 numaralı plakalarda renkli lekeler gözlemlendi. 3 numaralı plakada UV lambası ile de leke gözlenmedi (Resim 15).



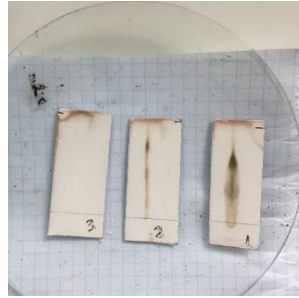
Resim 14: Oda sıcaklığında kurutulmuş numuneler Resim 15: Numunelerin UV lambası görüntüsü

#### 4.8. İnce Tabaka Kromatografisinde Tabakaların Üzerindeki Noktaların Tespit Edilmesi

Oda koşullarında kurutulmuş plakalara %5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck, %99,98 saflıkta) ve %95 saf sudan oluşan karışım püskürtülerek 10 dakika 107°C'lik etüvde kurutuldu. 1 ve 2 numaralı

plakada 2'şer adet renkli leke tespit edildi (Resim 16). İşaret çizgisi ile lekelerin odak noktaları arasında kalan uzaklık cetvelle ölçüldü. Plaka üzerinde işaret çizgisi ile çözücünün ıslattığı en üst nokta arasındaki uzaklık aynı cetvelle ölçüldü.

Numaralandırılmış diğer 3 plakaya da aynı yöntemle her bir numune damlatılarak hareketli fazın olduğu küvetlere yerleştirildi ve aynı süre küvette bekletildikten sonra çıkarılıp oda sıcaklığında kurutuldu. Numunelerin üzerine seyreltik iyot çözeltisi ile hazırlanan karışım püskürtülerek diğer numunelerde olduğu gibi 10 dakika 107°C'lik etüvde kurutuldu. 1 ve 2 numaralı plakada 2'şer adet renkli leke tespit edildi. İşaret çizgisi ile lekelerin odak noktaları arasında kalan uzaklık cetvelle ölçüldü. Plaka üzerinde işaret çizgisi ile çözücünün ıslattığı en üst nokta arasındaki uzaklık da aynı cetvelle ölçüldü.



Resim 16: %5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözücüsü ile plakalar

Aktardan alınan stevya yapraklarının 40 gramı, yarım demlik satın alınan içme suyu ile elektrikli çay makinasının demliğinde 30 dakikalık sürelerde üç kez özütlendi (Resim 17).



Resim 17: Stevya yapraklarının içme suyu ile özütlenmesi

Özütler 150,7 gramlık kaptaki biriktirildi (Resim 18). Özütlerin, önce fırında 25 °C de daha sonra kaloriferin üzerinde suyu uçuruldu (Resim 19 ve 20).



Resim 18: Stevya özütünün süzülmesi



Resim 19 ve 20: Özütün kurutulması



Kurutulmuş özüt tartıldı ve 166,5 gram olarak kaydedildi. Yapraklarda bulunan maddelerin suda çözünen kısmı 15,8 gram olarak kaydedildi. 100 g un, 200 mL süt, 90 mL

ayçiçek yağı, 60 g yumurta, 5 g şekerli vanilin ve 10 g kabartma tozu (sodyum bikarbonat,  $\text{NaHCO}_3$ ) ile kek yapıldı ve kek karışımının içerisine bu 15.8 gramlık özüt eklendi (Resim 21, 22).



Resim 21: Kek malzemeleri



Resim 22: Kek hamuru

180 °C'ye ayarlanmış konvansiyonel fırında 45 dakikalık pişme süresinden sonra kek, %45 bağıl nem ve 22 °C oda koşullarında soğutuldu (Resim 23, 24).



Resim 23: Kekin pişirilmesi



Resim 24: Oda sıcaklığına kadar soğumuş kek

#### 4.9. Bulgular

UV-VIS spektrofotometri ile 380, 430, 480, 530, 580, 630 ve 680 nm dalga boylarında yapılan absorban ölçümünde, en yüksek absorban değeri 380 nm'de bulundu. Çoklu doymamış bağların ve aromatik grupların bu dalga boyunda yüksek absorban değeri verdiği bilinmektedir.

İnce tabaka kromatografisi ile yapılan analiz sonucunda, renkli lekelerin gözlemlendiği, %5  $\text{H}_2\text{SO}_4$  çözeltisi püskürtüldükten sonra, etüvde kurutulan 1 ve 2 numaralı plakalarda sürüklenen leke uzaklıkları cetvelle ölçüldükten sonra bulunan değerleri. aşağıdaki tabloda gösterildi (Tablo 1). Çözücünün sürüklendiği uzaklık cetvelle ölçüldü ve cm olarak kaydedildi.

Tablo 1: %5  $\text{H}_2\text{SO}_4$  çözeltisi püskürtüldükten sonra plakalarda maddelerin sürüklendiği uzaklık.

Leke Uzaklığı → Plaka Numarası ↓	Çözücünün sürüklendiği uzaklık (cm)	Birinci Leke (cm)	İkinci Leke (cm)
1 Numaralı Plaka	3,6	1,1	2,4
2 Numaralı Plaka	3,8	1,9	2,9

İnce tabaka kromatografi ile yapılan analiz sonucunda, renkli lekelerin gözlemlendiği, iyot çözeltisi püskürtüldükten sonra, etüvde kurutulan 1 ve 2 numaralı plakalarda sürüklenen leke uzaklıkları cetvelle ölçüldükten sonra bulunan değerleri. aşağıdaki tabloda gösterildi (Tablo 2).

Tablo 2: İyot çözeltisi püskürtüldükten sonra plakalarda maddelerin sürüklendiği uzaklık.

Leke Uzaklığı → Plaka Numarası ↓	Çözücünün sürüklendiği uzaklık (cm)	Birinci Leke (cm)	İkinci Leke (cm)
1 Numaralı Plaka	3,5	1,1	2,2
2 Numaralı Plaka	3,6	0,4	2,2

$$R_f \text{ değerleri} = (\text{lekenin uzaklığı}) / \text{çözücünün uzaklığı}$$

Eşitliğinden bulundu. Buna göre %5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi ve iyot çözeltisi püskürtüldükten sonra R<sub>f</sub> değerleri ayrı ayrı hesaplandı, listelendi (Tablo 3) ve (Tablo 4).

Tablo 3: %5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi püskürtüldükten sonra hesaplanan R<sub>f</sub> değerleri

R <sub>f</sub> Değeri → Plaka Numarası ↓	Birinci Lekenin R <sub>f</sub> Değeri	İkinci Lekenin R <sub>f</sub> Değeri
1 Numaralı Plaka	(1,1/3,6) = 0,306	(2,4/3,7) = 0,649
2 Numaralı Plaka	(1,9/3,8) = 0,500	(2,9/3,8) = 0,763

Tablo 4: İyot çözeltisi püskürtüldükten sonra hesaplanan R<sub>f</sub> değerleri.

R <sub>f</sub> Değeri → Plaka Numarası ↓	Birinci Lekenin R <sub>f</sub> değeri	İkinci Lekenin R <sub>f</sub> değeri
1 Numaralı Plaka	(1,1/3,5) = 0,314	(2,2/3,5) = 0,623
2 Numaralı Plaka	(0,4/3,6) = 0,111	(2,2/3,6) = 0,611

## 5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Türkiye’de şeker elde edilen en önemli bitki şeker pancarıdır. Şeker pancarının sulu arazide yetiştiği, pancar ekiminde kullanılan gübre, ilaç vb. maliyetlerin oldukça yüksek olduğu da bir gerçektir. **İklim değişikliğinin yağışlarda azalmaya neden olduğu, sulu tarım arazilerinin miktarının az olduğu göz önüne alındığında sıcak, kurak, verimi düşük arazilerde stevya ekiminin yapılması ekonomik katkıdır.** Gastronomi yönünden oldukça zengin bir mutfağa sahip ülkemizde, stevyanın mısır şurubundan elde edilen sıvı tatlandırıcıya alternatif olarak önemli bir boşluğu dolduracağı düşünülebilir. *Stevia rebaudiana bentoni* bitkisinin yüksek diterpen içeren türlerinin gen yapısı ve yetiştirme koşulları ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Mikro koşullarda üretimi, karşılaştırmalı analizi, izolasyonu ve maliyet unsurlarının hesaplanması ile ilgili çalışma mevcuttur.

## 6. Uygulanabilirlik

Stevya yaprağından elde edilen özütten yapılan kekin tekstür özellikleri incelendiğinde, sadece şeker ile yapılmış olan kontrol grubu kek ile bir fark hissedilmedi. Tat olarak, birçok tatlandırıcının sebep olduğu ağızda kalan metalik tadın stevyalı kekte gözlenmemesi istenen bir durum oldu ve kontrol kekinin tadıyla benzer bir tat alındı. Duyusal olarak test edilen kontrol ve örneklem grubu arasında tek farkın renk olduğu gözlemlendi. Bunun sebebi olarak da sulu özütlenme sırasında geçen renk maddelerinin olduğu düşünüldü. Diğer özelliklerin benzer

olması stevyanın önemli bir tatlandırıcı olduğunu kuvvetlendirdi. Ayrıca, şeker tadının kişiye göre değiştiği göz önüne alındığında, sütlaç tatlısında, muz aromalı süt ve kakaolu kremalı fındık ezmesinde hoş bir aroma tadı hissedildi. Özetle, **stevya özütünün çeşitli hidrokolloidlerle desteklendiğinde mısır şurubuna her yönüyle alternatif sağlıklı bir tatlandırıcı** olabileceği düşünüldü.

## 7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

### Tahmini Maliyet

Kullanılan Malzeme	Kullanılan Miktar	Malzemenin Temin Edildiği Yer	Fiyatı (TL)
Stevya	10 paket 200 g	Aktar	10 x 20 = 200
60 °C su banyosu	1 adet	ODTÜ Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü	-
UV-VIS spektrofotometresi	1 adet		
Distile su	2000 mL		
Alüminyum folye	1 Tabaka		
Kaba filitre kağıdı	1 Tabaka		
0,0001 hassasiyette analitik terazi	1 adet	ODTÜ Fen Fakültesi Kimya Bölümü Organik ve Biyokimya Araştırma Laboratuvarları	-
Kromatografi kağıdı	1 Tabaka		
Metanol (Merck %99,98 saflıkta)	5 mL		
Küvet olarak 250 mL'lik mezür	1 adet		
Dönen başlıklı buharlaştırıcı	1 adet		
n-hekzan (Merck %99,98 saflıkta)	40 mL		
Kloroform (Merck %99,98 saflıkta)	35 mL		
TLC silika plaka (250-500 µm kalınlığında)	1 Tabaka		
kloroform: metanol: su çözeltisi (15:10:2)	27 mL		
Şale adı verilen cam küvet (TLC için)	6 adet		
Seyreltik asit çözeltisi (%5 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Merck %99,98 saflıkta ve %95 saf su)	100 mL		
Etil alkollü iyot çözeltisi (%2 I <sub>2</sub> (İyot) %2,50 NaI (Sodyum İyodür) %50 C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH (etil alkol) ve % 45,50 saf su)	50 mL		
Seyreltik iyot çözeltisi (1 mL %5 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 2 mL etil alkollü iyot çözeltisi +2 mL distile su)	50 mL		
UV (mor ötesi) lambası	1 adet		
Etil alkollü iyot çözeltisi	50 mL		
Beher, mezür, erlen, cam balon, ayırma hunileri vb. cam malzemeler. piset, bağıt ...	gerektiği kadar		
<b>Kek</b> : (100 g un+200 mL süt + 90 mL ayçiçek yağı + 60 g yumurta + 5 g şekerli vanilin + 10 g NaHCO <sub>3</sub> + 20 g stevya yaprağı sulu özütü)	1 adet kek		
<b>Sütlaç</b> : (10 g inülin + 500 mL süt + 1 su bardağı şeker + 20 g stevya yaprağı sulu özütü)	4 kase sütlaç	Mutfakta yapıldı	42
<b>Muz aromalı süt</b> : (500 mL süt + 120 g muz + 20 g stevya yaprağı sulu özütü)	3 su bardağı		35

<b>Kremalı fındık ezmesi</b> : (100 gram fındık + 100 g kakao + 250 mL süt + bir paket vanilin + 20 g stevya yaprağı sulu özütü)	3 su bardağı	Mutfakta yapıldı	45
<b>Toplam</b>			347

### Proje İş-Zaman Çizelgesi

İşin Tanımı↓	Aylar→													
	Nisan 2021	Mayıs 2021	Haziran 2021	Temmuz 2021	Ağustos 2021	Eylül 2021	Ekim 2021	Kasım 2021	Aralık 2021	Ocak 2022	Şubat 2022	Mart 2022	Nisan 2022	Mayıs 2022
Literatür Taraması														
Verilerin Toplanması ve Analizi														
Deneysel Çalışmalar														
Özüt ile Unlu, Sütlü ve Fındıklı Gıdaların Yapımı														
Proje Ön Değerlendirme Raporu Yazımı ve Sisteme Giriş														
Proje Detay Raporu Yazımı ve Sisteme Giriş														

### 8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar)

Stevya yapraklarından elde edilen sulu özüt, mısır şurubunun ve pancardan elde edilen şekerin kullanıldığı tüm sütlü, unlu ve meyveli tatlı gıdalarda sağlıklı bir tatlandırıcı olarak kullanılabilir. Özellikle diyabetli hastaların tükettiği gıdalarda önemli tatlandırıcıdır.

### 9. Riskler

Risk↓	Çözüm →	Kolaylıkla Çözülebilir	Maliyet Gerektirir	Zaman ve Maliyet Gerektirir
Stevya bitkisinin ekimi ve hasadı				
Stevya bitkisinin depolanması ve nakliyesi				
Stevya bitkisinden steviol glikozitlerin özütlenmesi				
Özütün ambalajlanması				
Özütün tatlandırıcı olarak satışı				
Özütün tatlandırıcı olarak unlu, sütlü, meyveli tatlılarda ve içeceklerde kullanımı				
Pazar oluşumu ve satış				

## 10. Kaynaklar

- CARDOSO JMP., BOLİNİ HMA., [2007]. **Different sweeteners in peach nectar: ideal an equivalent sweetness.** *Food Res. Int.* 40(2007): 1249-1253.
- CORTES R., HERNANDEZ-CERUELOS A., TORRES-VALENCIA JM., GONZALEZ-AVILA M., ARRIAGA-ALBA M., MMADRIGAL-BUJAI DAR E., [2007]. **Antimutagenicity of stevia pilosa and stevia eupatoria evaluated with the ames test.** *Toxicology in vitro*, 21(4): 691-697.
- DAS S., DAS AK., MURPHY RA., PUNWANI IC., NASUTION MP., KINGHORN AD., [1992]. **Evaluation of the cariogenic potential of the intense natural sweeteners Stevioside and rebaudioside,** *A. Caries Res.* 26:363-366.
- DEMİREL ÖZBEK Y., AKIN Ö., [2021]. **Gebelikte Stevia Kullanımı, Araştırma Türü: Derleme** 2021;2(1): 76 – 92 Geliş Tarihi: 24.11.2020 Kabul Tarihi: 26.04.2021, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Rize, Türkiye 2 Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Doğum ve Kadın Hastalıkları Hemşireliği Anabilim Dalı, Rize, Türkiye.
- DİNÇEL E., ÜNVER ALÇAY A., BADAYMAN M., [2018]. **Bir Biyo-Tatlandırıcı Olarak Stevia,** İstanbul Aydın Üniversitesi ABMYO Gıda Teknolojisi Programı, *Aydın Gastronomy*, 2 (2):1-8, 2018.
- ECEM ÖRKÜ Ş., [2020]. **Aspartam, Sakarin, Sükraloz Ve Asesülfam-K Tatlandırıcılarının Glukoz Toleransı Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi** *Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme Ve Diyetetik Anabilim Dalı Doktora Tezi*, İstanbul 2020.
- FDA. [2006] Sweeteners. [http://www.fda.gov/fdac/features/2006/406\\_sweeteners.html](http://www.fda.gov/fdac/features/2006/406_sweeteners.html) (01.12.2008).
- GEUNS JMC., [2003]. **Stevioside.** *Phytochemistry*, 64(2003): 913-921.
- GEVREK Z., [2019]. **Türkiye’de Farklı Bölgelerde Yetiştirilen Stevia Bitkisinin Steviol Glikozit İçeriklerinin Belirlenmesi,** *Alparslan Türkeş Bilim Ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi*, Adana 2019.
- GİRİTLİOĞLU E., DİZLEK H., [2018]. **Sakaroz İkamesi Olarak Farklı Tip Ve Düzeylerde Şeker Otu (Stevia Rebaudiana Bertoni) Bazlı Tatlandırıcı Kullanılmasının Bisküvi Nitelikleri Üzerine Etkileri.** *GIDA* (2018) 43 (1): 21-33 doi: 10.15237/gida.GD17076.
- GOYAL, S. K., Samsher & GOYAL R. K., [2010]. **Stevia (Stevia rebaudiana) a bio-sweetener: a review,** *International journal of Food Sciences and Nutrition*, February 2010; 61(1):1-10.
- HAGIWARA A., FUKUSHIMA S., KITAORI M., SHIBATA M., ITO N., [1984]. **Effects of three sweeteners on rat urinary bladder carcinogenesis initiated by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine.** *Gann J*, 75: 763-768
- İNANÇ A. L., ÇINAR İ., [2009]. **Alternatif doğal tatlandırıcı: Stevia,** *Gıda* (2009) 34 (6): 411-415
- KALAYCI Z., KAMARLI ALTUN H., ÇOBAN A.Y., [2021]. **Antioxidant, Antimicrobial and Antidiabetic Properties of Stevia rebaudiana (Bertoni): Systematic Review,**

- Journal of Literature Pharmacy Sciences*, 2021;10(2):268-75.
- KAPLAN B., [2018]. **Stevia Rebaudiana Bertoni Bitkisinde Yüksek Rebaudiosid A Ve Steviosid Diterpen Glikozitlerini İçeren Genotiplerin Seleksiyon Yoluyla Islahı** T.C. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Doktora Tezi Şubat 2018 Antalya.
- KARAGÖZ Ş. DEMİRDÖVEN A., [2018]. **Stevia rebaudiana Bitkisinin Tatlandırıcı, Antioksidan ve Antimikrobiyal Özellikleri**, *Akademik Gıda* 16(4) (2018) 431-438, DOI: 10.24323/akademik-gida.505522 *Derleme Makale*, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Zile Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tokat Geliş Tarihi : 11.03.2016, Kabul Tarihi : 01.04.2017
- KAUR G., PANDHAİR V., CHEEMA G. S., [2014]. **Extraction and characterization of steviol glycosides from Stevia rebaudiana bertoni leaves.** *Journal of Medicinal Plants Studies*, ISSN 2320-3862, JMPS 2014: 2(5): 41-45 2014 JMPS Received: 02.09.2014, Accepted: 16.09.2014.
- KINGHORN AD., WU CD. And SOEJARTO DD., [2001]. **Alternative Sweeteners (3.ed), revised and expanded, In: Stevioside, O'Brien Nabors, L. (ed), Dekker, New York, pp.167-183.**
- KIZILASLAN N., [2017]. **Tatlandırıcılar ve Metabolizma Hastalıklarıyla İlişkisi**, Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, 34810 İstanbul, Türkiye, *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(2): 191-198, 2017
- KLONGPANICHPAK S., TEMCHAROEN P., TOSKULKAO C., APIBAL S., GLINSUKON T., [1997]. **Lack of mutagenicity of Stevioside and Steviol in salmonella typhimurium TA98 and TA100.** *J Med Assoc Thai*, 80(1): 121-128.
- KOMISSARENKO NF., DERKACH AI., KOVALYOV IP. and BUBLİK NP. [1994]. **Diterpene glycosides and phenylpropanoids of stevia rebaudiana bertoni**, *Rast Res*,1(2): 53-64.
- LEE CN., WONG K., LIU J., CHEN Y., CHAN P., [2001]. **Inhibitory effect of stevioside on calcium influx to produce anti-hypertention.** *Planta Medica*, 67:796-799.
- MADAN S., AHMAD S., SINGH G. N., KOHLİ K., KUMAR Y., SINGH R. and GARG M., **Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni)-A Review**, [2010]. *Indian Journal of Natural Products and Resources* vol. 1(3), pp. 267-286, September 2010.
- NABOR L.O., [2002]. **Sweet choices: sugar replacements for food and beverages.** *Food Tech*. 56(7): 28-35.
- NABOR OL., GELARDI RC., [1986]. *Alternative sweeteners.* Marcel Dekker, New York.
- NABORS LO., LEMIEUX R., [1993]. **History of the commercial development of low-calorie foods.** In A. M. Altschul (ed). *Low Calorie Foods Handbook.* Marcel Dekker Inc. New York.
- NUNES APM., FERREIRA-MACHADO SC., NUNES RM. NANTAS FJS., DE MATTAS JCP., CALDERIA-DE\_ARAUJO A., [2007]. **Analysis of genotoxic potentiality of stevioside by comet assay.** *Food and Chem Toxicol*, 45(2007): 662-666.
- ÖZCİMDER M.; DEMİRCİ A., [2008]. **Kimyada Ayırma Yöntemleri**, Ankara, 2008
- PEZZUTO JM., COMPADRE CM., SWANSON SM., NANAYAKKARA D., KINGHORN AD., [1985]. **Metabolically activated Steviol the aglycone of Stevioside, is**



- mutagenic.** *Proc Natl Acad Sci* [in USA], 82: 2478-2482.
- POL J., HOHNOVA B, HYOTYLAINEN T., [2007]. Characterisation of stevia rebaudiana by comprehensive two-dimensional liquid chromatography time-of-flight massspectrometry. *J of Chromatogr A*, 1150(1-2): 85-92.
- PORTMANN MO., KILCAST D., [1998]. **Descriptive profiles of synergistic mixture of bulk and intense sweeteners.** *Food Quality and Preference* 9(4): 221-229.
- SHARMA S., WALIA S., SINGH B. and KUMAR R., [2016]. **Comprehensive review on agro Technologies of low-calorie natural sweetener stevia (Stevia rebaudiana bertonii): a boon to diabetic patients,** *J Sci Food Agric* 2016; 96: 1867-1879.
- SMITH J. and VANSTADIN H. [1992]. **Subcellular pathway for glycoside synthesis.** *South Afr J sci*,88:206.
- TADHANI MB., PATEL VH., SUBHASH R., [2007]. **In vitro antioxidant Activities of Stevia rebaudiana leaves and callus.** *J. Food Compos Anal.* 20(2007): 323-329.
- TOYODA K., MATSUI H., SHODA T., UNEYAMA C., TAKADA K., TAKAHASHI M., [1997]. **Assessment of the carcinogenicity of Stevioside in F344 rats.** *Food Chem Toxicol*, 35: 597-603.
- WEIHRAUCH MR., DIEHL-ANN V., [2004]. **Artificial sweeteners-do they bear a carcinogenic risk?** *Ann Oncology*, 15(10): 1460-1465.
- YÜCESAN B., ALTUĞ C., GÜREL S., [2016]. **Stevia'nın (Stevia rebaudiana Bertoni) In Vitro Koşullarda Üretimi, Tatlandırıcı Bileşiklerinin Karşılaştırmalı Analizi, İzolasyonu, Saflaştırılması ve Maliyet Unsurlarının Hesaplanması,** *Program Kodu: 3001 Proje No: 1140006*, 2016 Bolu.
- YÜKSEL G., [2019]. **Şeker Otu (Stevia rebaudiana) ve Ürünlerinin Kek ve Kurabiyede Şeker Yerine Kullanılabilirliğinin Belirlenmesi,** *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya 2019*