

Türkiye’de Gemlik Çeşidi Zeytinyağlarının Coğrafi Kökeninin Metabolomik Yaklaşımla Belirlenmesi

Filiz ÇAVUŞ^{1*}  Nurcan A. GÜZELSOY²  Özgür DURSUN³  Önder ERALP⁴ 

^{1,2}Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, Bursa/ TÜRKİYE
^{3,4}Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü, İzmir/ TÜRKİYE

¹<https://orcid.org/0000-0002-8742-1857> ²<https://orcid.org/0000-0002-6843-6076>

³<https://orcid.org/0000-0001-6849-3946> ⁴<https://orcid.org/0000-0002-3155-2022>

*Corresponding author (Sorumlu yazar): filiz.cavus@tarimorman.gov.tr

Received (Geliş tarihi): 26.01. 2026

Accepted (Kabul tarihi): 17.06.2026

Online:29.06.2026

ÖZ: Bu çalışmada, Türkiye’de yetiştirilen Gemlik çeşidi zeytinlerden elde edilen zeytinyağlarının coğrafi kökeninin belirlenmesinde MS tabanlı hedefsiz metabolomik yaklaşımların uygulanabilirliği araştırılmıştır. Üç farklı hasat sezonu boyunca dört farklı coğrafi bölgede zeytin üretiminin en fazla olduğu 5 ilden temin edilen zeytinyağı örnekleri, polar ve uçucu bileşen profilleri açısından analiz edilmiştir. Elde edilen yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrik veriler, temel bileşen analizi (PCA), hiyerarşik küme analizi (HCA) ve kısmi en küçük kareler diskriminant analizi (PLS-DA) kullanılarak değerlendirilmiştir. PCA ve HCA sonuçları, Gemlik çeşidi zeytinyağlarının yetiştirildikleri coğrafi bölgeye bağlı olarak belirgin kümeler oluşturduğunu ortaya koymuştur. PLS-DA modeli ile gerçekleştirilen sınıflandırma çalışmalarında, örneklerin coğrafi kökenleri yüksek doğruluk oranlarıyla tahmin edilmiştir. Elde edilen bulgular, Gemlik çeşidi zeytinyağlarının metabolomik parmak izlerinin coğrafi köken doğrulamasında etkin biçimde kullanılabileceğini göstermektedir. Bu çalışma, coğrafi işaretli zeytinyağlarının korunması, taşışın önlenmesi ve gıda izlenebilirliğinin artırılmasına yönelik metabolomik temelli yaklaşımlar için bilimsel bir altyapı sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Gemlik zeytini, zeytinyağı, metabolomik, hedefi belirsiz tarama, istatistiksel analiz.

Determination of The Geographical Origin of Gemlik Variety Olive Oils in Türkiye by Metabolomics Approach

ABSTRACT: In this study, the applicability of MS-based non-targeted metabolomic approaches was investigated for determining the geographical origin of olive oils obtained from Gemlik variety olives grown in Türkiye. Olive oil samples obtained from the five provinces with the highest olive production in four different geographical regions during three different harvest seasons were analyzed in terms of their polar and volatile component profiles. The high-resolution mass spectrometric data obtained were evaluated using principal component analysis (PCA), hierarchical cluster analysis (HCA), and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA). PCA and HCA results revealed that Gemlik variety olive oils formed distinct clusters based on their geographical origin. Classification studies performed using the PLS-DA model accurately predicted the geographical origin of the samples with high accuracy rates. The findings indicate that the metabolomic fingerprints of Gemlik variety olive oils can be effectively used in geographical origin verification. This study provides a scientific basis for metabolomics-based approaches to the protection of geographically indicated olive oils, the prevention of adulteration, and the improvement of food traceability.

Keywords: Gemlik olive, olive oil, metabolomics, untargeted screening, statistical analysis.

GİRİŞ

Zeytinyağı; kimyasal bileşimi, duyu özellikleri ve besleyici değeri nedeniyle yüksek katma değere sahip bir gıda ürünü olup özellikle Akdeniz ülkelerinde ekonomik ve kültürel açıdan önemli bir yere sahiptir

(Yubero-Serrano ve ark., 2019). Zeytinyağının kalite özellikleri; zeytin çeşidi, iklim koşulları, yetiştirildiği coğrafi bölge, hasat zamanı ve üretim teknolojisi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Sevim ve ark., 2022). Bu durum, zeytinyağlarının

coğrafi kökeninin doğrulanmasını hem tüketici güveninin sağlanması hem de coğrafi işaretli ürünlerin korunması açısından kritik hale getirmektedir.

Türkiye, dünya zeytin üretiminde önde gelen ülkeler arasında yer almakta olup, Gemlik çeşidi yüksek yağ verimi ve karakteristik duyu özellikleri nedeniyle yaygın olarak yetiştirilmektedir (Özkan, 2023). Ancak Gemlik çeşidinden elde edilen zeytinyağlarının farklı coğrafi bölgelerde üretilmesi, bu yağların coğrafi kökeninin güvenilir analitik yöntemlerle doğrulanmasını gerekli kılmaktadır. Coğrafi işaretli ve katma değeri yüksek ürünlerde taklit ve taşış riskinin bulunması, zeytinyağlarının coğrafi orijinin belirlenmesinin bilimsel temelli yaklaşımlarla ortaya konulmasını zorunlu hale getirmektedir (Cuadros-Rodríguez ve ark., 2016).

Zeytinyağının coğrafi orijinini belirlemek ve taşış tespit etmek amacıyla identifikasyon ve parmak izi temelli çeşitli analitik yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu kapsamda triaçilgliseroller, steroller ve hidrokarbonlar gibi bileşenlerin yanı sıra metabolomik ve elektronik burun temelli yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır (Benincasa ve ark., 2007; Forina ve ark., 2007). Özellikle metabolomik yaklaşımlar, küçük moleküllü metabolitlerin yüksek verimli analitik tekniklerle tespit edilmesine olanak sağlamakta; hedeflenmiş veya hedefsiz tarama stratejileri ile uygulanmaktadır (Bajoub, 2016). Hedefsiz metabolomik analizlerde, LC-QTOF-MS ve GC-QTOF-MS gibi yüksek çözünürlüklü sistemlerden elde edilen karmaşık veri setlerinin değerlendirilmesinde kemometrik yöntemler etkin biçimde kullanılmaktadır (Goodacre ve ark., 2007).

Literatürde, yağ asidi kompozisyonunun zeytinyağı karakterizasyonu için temel bilgiler sunduğu; ancak kimyasal olarak benzer örneklerin ayırt edilmesinde tek başına yeterli olmadığı, bu nedenle yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisi teknikleri (LC-QTOF-MS ve GC-QTOF-MS) ile elde edilen verilerin kemometrik yöntemlerle birlikte değerlendirilmesinin giderek yaygınlaştığı bildirilmektedir (Hajnajafi ve Iqbal, 2025). Türkiye’de zeytinyağlarının coğrafi ve çeşit bazlı sınıflandırılmasına yönelik kemometrik destekli çalışmaların sınırlı sayıda olması, çoklu

bileşenlere dayalı metabolomik yaklaşımlara olan ihtiyacı ortaya koymaktadır (Dıraman ve ark., 2009; Gürdeniz ve ark., 2008). Son yıllarda, hedefsiz metabolomik analizlerin coğrafi orijin belirlemede güçlü bir araç olduğu ve kökene özgü metabolik parmak izlerinin başarıyla tanımlanabildiği bildirilmektedir (Gerhardt ve ark., 2017). Bu çalışmanın amacı, Gemlik çeşidi zeytinyağlarının coğrafi orijinin belirlenmesinde LC-QTOF-MS ve GC-QTOF-MS tabanlı hedefsiz metabolomik yaklaşımların etkinliğini ortaya koymaktır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Zeytin örneklerinin temini

Zeytin örnekleri, ardışık 3 hasat yılı (2019, 2021, 2021) boyunca Kasım–Aralık aylarında Antalya (Serik, Aksu, Manavgat), Hatay (Altınözü, Belen, Reyhanlı), Manisa (Akhisar, Salihli, Saruhanlı), Bursa (Gemlik, Orhangazi, İznik) ve Urfa (Merkez, Viranşehir, Bozova) illerinden temin edilmiştir. Zeytin örnekleri her yıl aynı bahçelerden elle toplanmış ve bahçe seçiminde yükseklik ve koordinatlar dikkate alınmıştır. Bahçelerden tesadüfi örnekleme metodu ile her bahçeyi temsil edecek şekilde 3’er ağaçtan örnekler toplanmış ve hastalıklı ağaçlardan zeytin örnekleri alınmamıştır. Ancak, böcek zararına uğramış ağaçlar bölgeyi temsil etmeleri açısından örneklemeye dahil edilmiştir. Çalışma kapsamında toplam 200 adet Gemlik çeşidi zeytin örneği kullanılmıştır. Zeytinler, 3-4 olgunluk indeksinde toplanmış olup, hava alan plastik delikli kasalarda taşıma işlemi gerçekleştirilmiştir. Sıkım işlemi gerçekleştirilene kadar 15 °C de depolarda muhafaza edilmişlerdir.

Zeytinyağı eldesi

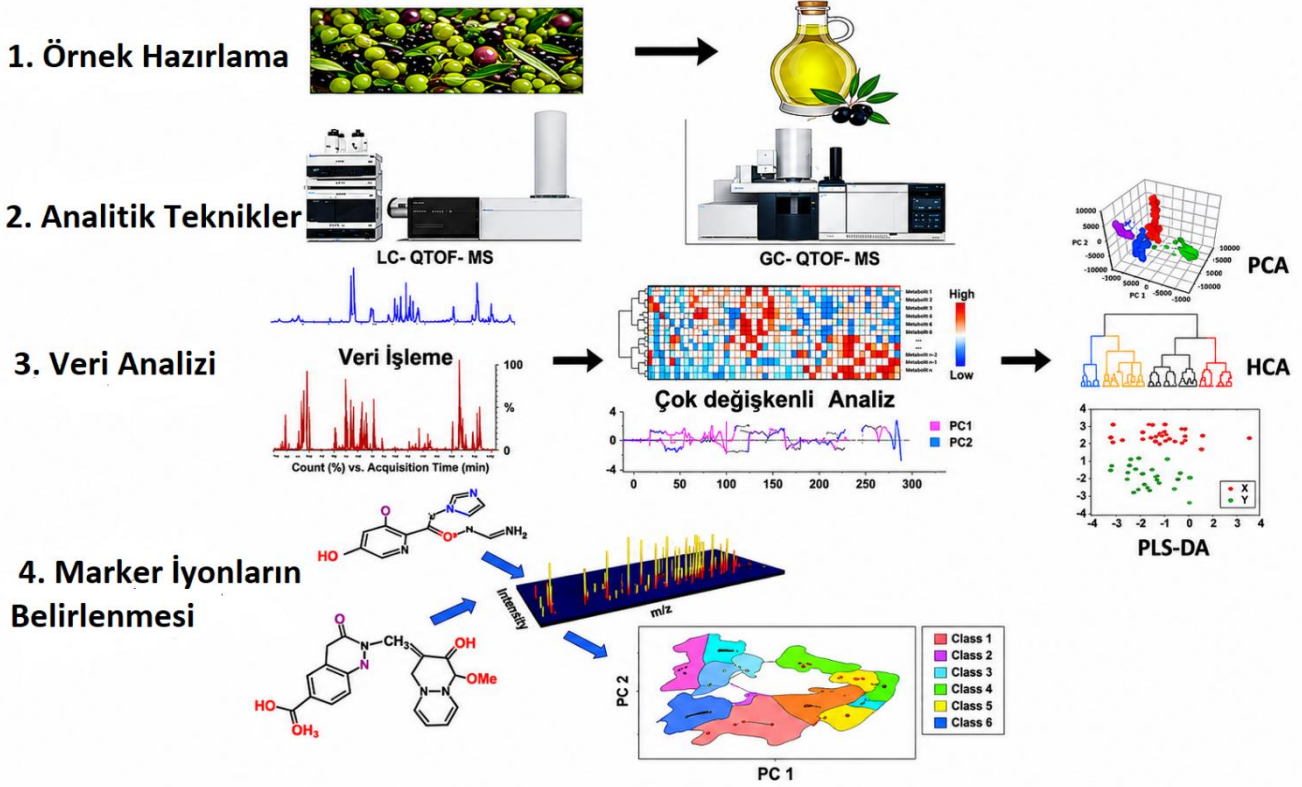
Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü’nde ABENCOR sistemi kullanılarak zeytinyağı örnekleri elde edilmiştir. İlk olarak zeytinler yapraklarından ayrılıp, yıkanmıştır. Çekiçli bir kırıcı ile kırılarak homojen bir zeytin hamuru elde edilmiştir. Elde edilen hamur malaksasyon aşamasında 25 °C 20 dk karıştırma işlemine tabi tutulmuştur. Karışan hamur santrifüjlenerek yağ, prina ve karasu fazı ayrılmıştır.

Yağ ile birlikte ayrılan karasunun doğal dekantasyon yöntemi ile ayrılması sağlanmıştır. Son olarak elde edilen zeytinyağı hidrofil pamuktan fitre edilerek son safsızlıkları elimine edilmiştir. Toplanan 5-6 kg civarındaki örnekten çıkan yaklaşık 300-400 ml yağ şişeye alındığında tepe boşluğuna herhangi bir gaz ile muamele edilmemiştir. Örnekler analize alınmaya kadar kahverengi şişelerde +4°C 'de saklanmıştır.

Metot

Bu çalışmada polar bileşenlerin analizi için LC-QTOF-MS, uçucu bileşenlerin analizi için ise GC-QTOF-MS kullanılmıştır. Her iki cihazdan hedefi belirsiz tarama yöntemi ile tespit edilen veriler, çok değişkenli istatistiksel yöntemler kullanılarak bir model

düzeyinde değerlendirilmiştir (Şekil 1). Çok değişkenli istatistiksel yöntemlerden; veri setinin genel yapısının ve örnekler arasındaki benzerliklerin incelenmesi amacıyla gözetimsiz çok değişkenli istatistiksel yöntemler olan Temel Bileşen Analizi (PCA) ve Hiyerarşik Küme Analizi (HCA) uygulanmıştır. PCA, değişkenler arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesi ve boyut indirgeme amacıyla kullanılırken, HCA örneklerin benzerliklerine göre kümelenmesini sağlamıştır. Gruplar arasındaki ayrımın modellenmesi ve sınıflandırma performansının değerlendirilmesi amacıyla ise gözetimli çok değişkenli bir yöntem olan Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (PLS-DA) kullanılmıştır.



Şekil 1. Çalışma planı.
Figure 1. Work plan.

Polar bileşen analizi

Zeytinyağlarında bulunan polar bileşenlerin belirlenmesi amacıyla sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır (Kalogiouri ve ark., 2018). Bu kapsamda, 1,5 g zeytinyağı örneği 1,5 mL metanol/su (80:20, v/v) karışımı ile seyreltilmiş ve 15 dakika vorteks ile karıştırılmıştır. Karışım, 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üst faz ayrı bir santrifüj tüpüne aktarılmış; alt faz için aynı işlem tekrarlanarak elde edilen üst fazlar birleştirilmiştir. Birleştirilen ekstrakt azot altında uçurulmuş ve kalıntı 750 µL metanol/su (%50:50, v/v) ile çözündürülerek LC-QTOF-MS (Agilent 6550 iFunnel) cihazına enjekte edilmiştir.

Analizler ters fazlı Poroshell 120 EC-C18 (Agilent 6 × 100 mm, 2,7 µm) analitik kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Akış hızı 0,6 mL/dk, enjeksiyon hacmi 5 µL olarak belirlenmiştir. Mobil faz olarak A hattında %1 formik asit içeren ultra saf su, B hattında ise %1 formik asit içeren metanol kullanılmıştır. Mobil fazlar analiz öncesinde 15 dakika ultrasonik banyoda tutulmuş ve 0,20 µm gözenekli membran filtreden süzölmüştür. Toplam analiz süresi 30 dakika olarak belirlenmiştir.

Cihaz parametreleri, sinyal yoğunluğunu maksimize etmek ve kabul edilebilir çözünürlüğü korumak amacıyla analiz öncesinde ayar (tuning) çözeltisi kullanılarak otomatik olarak optimize edilmiştir. Kütle kalibrasyonu için m/z 112,9855 (TFA anyonu) ve m/z 1033,9881 (HP-0921 + TFA anyonu) referans kütleleri kullanılmıştır. İyonizasyon negatif modda gerçekleştirilmiş olup; nebulizer basıncı 45 psig, kurutma gazı akış hızı 14 L/dk olarak ayarlanmıştır. Kütle taramaları 100–2500 m/z aralığı olarak seçilmiştir.

Veri toplama ve analiz işlemleri, Agilent LC-QTOF-MS MassHunter veri toplama yazılımı (sürüm B.06.00) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Polar bileşenlerin belirlenmesine yönelik elektrosprey iyonizasyon (ESI) işlemleri negatif modda gerçekleştirilmiştir. Literatürler incelendiğinde, zeytinyağındaki polar bileşenlerin analizinde negatif iyon modunun çoğu durumda pozitif moda kıyasla yeterli veya daha iyi

sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Rodriguez-Perez ve ark., 2013).

Uçucu bileşen analizi

Zeytinyağlarının uçucu bileşenlerden oluşan metabolomik profillerinin değerlendirilmesinde katı faz mikroekstraksiyon (SPME) tekniği kullanılmıştır. Kromatografik ayırma, Agilent VF-Wax MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) analitik kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Analizlerde enjeksiyon hacmi 1 µL, enjeksiyon modu splitless olarak uygulanmış ve iyonizasyon elektron çarpması (EI, 70 eV) modunda gerçekleştirilmiştir. Uçucu bileşen analizlerinde Aparicio-Ruiz ve ark. (2018) tarafından önerilen yöntem esas alınmış olup, toplam analiz süresi 45 dakika olarak belirlenmiştir. Analizlerde GC-QTOF-MS (Agilent 7200 Accurate Mass) cihazı kullanılmıştır.

İstatistiksel analiz

GC-QTOF-MS ve LC-QTOF-MS cihazlarından elde edilen veriler, sınıflandırma ve kümeleme analizlerinde kullanılmak üzere Mass Profiler Professional (v.12.6) yazılımına aktarılmıştır. Veri seti, analiz öncesi log₂ dönüşümü ile normalize edilmiş; böylece farklı örneklerdeki toplam sinyal farklılıkları minimize edilmiştir. Ardından, her bir metabolit için z-skör standardizasyonu uygulanmış, değişkenler ortalama = 0 ve standart sapma = 1 olacak şekilde ölçeklendirilmiştir. Bu adımlar, PCA, HCA ve PLS-DA analizlerinde farklı yoğunluk seviyelerine sahip bileşiklerin model üzerinde orantısız etkisini önlemiştir. Veri yoğunluğunu azaltmak ve düşük sinyal seviyesine sahip bileşenleri dışlamak amacıyla çeşitli filtreleme kriterleri uygulanmıştır. İlk filtreleme aşamasında minimum bolluk seviyesi 5000, kütle aralığı 100–1500 m/z, minimum iyon sayısı 2, alıkonma zamanı toleransı 0,1 dakika ve kütle hatası ±5 ppm olarak belirlenmiş olup yalnızca tek bir örnekte bulunan veya düşük bolluk seviyesine sahip metabolitler modelleme dışında bırakılmıştır. İşlem sonucunda veri seti 3918 bileşikten 112 bileşiğe indirgenmiştir. Bu ön işleme adımları, çok değişkenli istatistiksel analizlerin doğruluk ve güvenilirliğini artırmıştır.

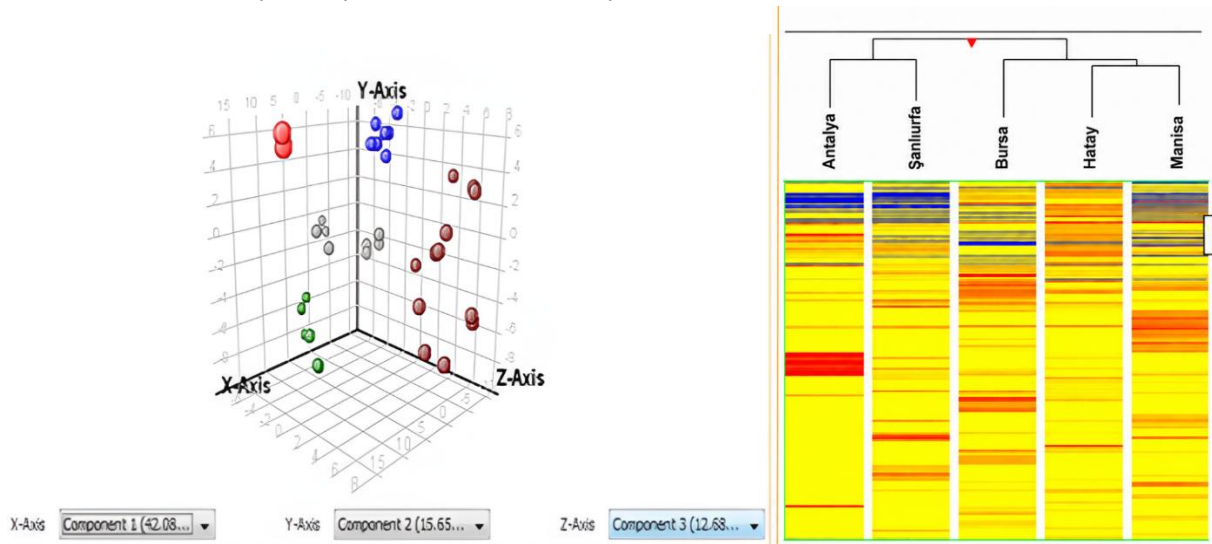
Farklı coğrafi bölgelerden elde edilen zeytinyağı örneklerinin sınıflandırılması için PCA, örnekler arasındaki temel varyans ilişkilerini ortaya koymak amacıyla kullanılmıştır. PCA sonucunda elde edilen temel bileşen skorları, sınıflar arası ayrımı en üst düzeye çıkarmak için PLS-DA analizinde değişken olarak değerlendirilmiştir. Örnekler arasındaki benzerlik ve farklılıkların daha ayrıntılı incelenmesi için HCA uygulanmış, dendrogramlar kullanılarak örneklerin kümelenmesi görselleştirilmiştir. Tüm bu adımlar, zeytinyağı örneklerinin coğrafi kökenine dayalı güvenilir ve tekrar edilebilir sınıflandırma modeli oluşturulmasını sağlamıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Analitik veriler kullanılarak zeytinyağlarının coğrafi kökene göre sınıflandırılmasına yönelik tahmin modellerinin oluşturulması ile ilgili kemometrik çalışmalarda, veri işleme süreci model performansını doğrudan etkileyen temel adımlardan biri olarak kabul edilmektedir. Bu işlemlerin temel amacı, yüksek hacimli ve karmaşık veri setlerini, örneklerin menşe bakımından ayrımını sağlayacak anlamlı ve ayırt edici bilgilere indirgemektir. Kemometrik çalışmalarda farklı örnek grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren bileşiklerin tanımlanmasından ziyade ayırt edici özellik taşıyan

değişkenlerin ilgili örnek gruplarını güvenilir şekilde ayırt edebilme kapasiteleri ve elde edilen modelin kontrol örneklerini doğru bir şekilde gruplayabilme kapasiteleri değerlendirilmektedir.

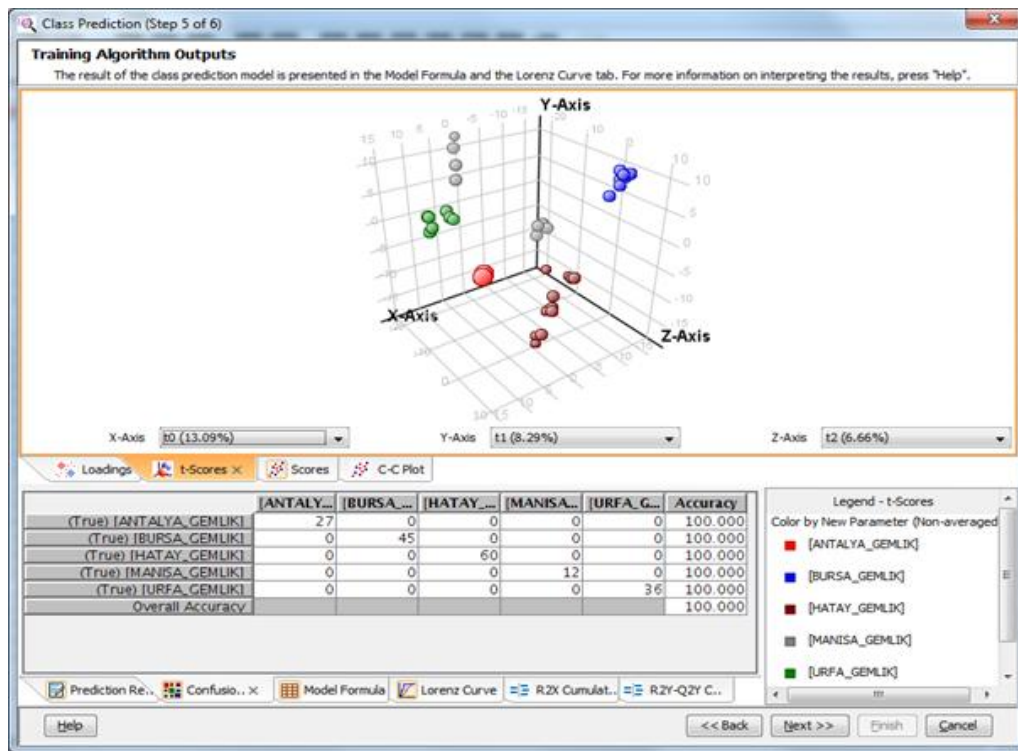
Bu çalışmada ilk olarak Antalya, Bursa, Şanlıurfa, Manisa ve Hatay illerinden elde edilen 200 adet örneğin LC-QTOF-MS cihazı ile polar bileşen ve GC-QTOF-MS cihazı ile uçucu bileşen profili belirlenmiştir. Elde edilen verilerde $\log_2$ dönüşümü, z-skor standardizasyonu ve filtrelemeler adımları uygulanarak PCA analizi gerçekleştirilmiştir. PCA analizinde birinci temel bileşen (PC1) toplam varyansın %42,08'ini, ikinci temel bileşen (PC2) %15,65'ini ve üçüncü temel bileşen (PC3) %12,68'ini açıklamıştır. Bu sonuçlar, aynı coğrafi kökene ait zeytinyağı örneklerinin birbirine yakın konumlanarak kümelenme eğilimi gösterdiğini örneklerde coğrafi kökene bağlı olarak metabolik farklılıkların olduğunu göstermektedir. Hiyerarşik küme analizi (HCA) ile elde edilen dendrogramlar, zeytinyağı örneklerinin iki ana gruba ayrıldığını ve Antalya ile Manisa bölgelerinden elde edilen örneklerin birbirinden en uzak gruplar arasında yer aldığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, PCA sonuçları ile uyumlu olarak, metabolik parmak izlerinin coğrafi farklılıkları başarılı biçimde yansıttığını göstermektedir (Şekil 2).



Şekil 2. 5 farklı ildeki Gemlik çeşidi zeytinlerden elde edilen zeytinyağlarına ait PCA ve HCA grafikleri.
Figure 2. PCA and HCA graphics of olive oil obtained from Gemlik variety olives in 5 different provinces.

PCA analizi sonucunda tanımlanan beş grubun matematiksel olarak birbirinden bağımsız olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, örneklerin sınıflandırılmasına yönelik daha güçlü bir model oluşturmak amacıyla PCA sonrasında PLS-DA analizi uygulanmıştır. Toplam 180 örnekten oluşan veri seti kullanılarak PLS-DA modeli oluşturulmuştur. Modelin doğrulanması amacıyla, örneklerin %10'ı kontrol grubu olarak ayrılmış ve model oluşturma aşamasında kullanılmamıştır. Daha sonra bu kontrol grubu örnekleri modele dâhil edilerek modelin tahmin gücü

değerlendirilmiştir. Modelin toplam doğruluk oranı %100 olarak belirlenmiş (Şekil 3), model doğrulanması için ayrılan kontrol grubu örneklerinde Antalya, Bursa, Şanlıurfa, Manisa ve Hatay illerinden elde edilen örnekler sırasıyla %81, %88, %84, %82 ve %79 oranlarında doğru şekilde sınıflandırılmıştır. Bu yüksek sınıflandırma başarısı, uygulanan ön filtreleme adımları sayesinde değişkenler arası ölçek farklılıklarının ve düşük bolluk seviyesine sahip bileşiklerin model performansını olumsuz etkilemesinin önlendiğini göstermektedir.



Şekil 3. Farklı bölgelerdeki Gemlik çeşidi zeytinlerden elde edilen zeytinyağlarına ait PLS DA analiz sonucu
Figure 3. PLS DA analysis results of olive oils obtained from Gemlik variety olives from different regions

Zeytinyağı gibi karmaşık gıda matrislerinin coğrafi kökenlerine göre ayrımının yapılması; iklim koşulları, çeşit özellikleri, yetiştirme uygulamaları, hasat zamanı ve işleme koşulları gibi çok sayıda faktörün ürünün kimyasal kompozisyonunu etkilemesi ve yıllar arası değişkenliğe yol açması nedeniyle oldukça zordur. Yüksek çözünürlüğe ve hassasiyete sahip Q-TOF sistemleri ile gerçekleştirilen bu çalışmada elde edilen bulgular, Gemlik çeşidi zeytinyağlarının metabolik profillerinin coğrafi kökene bağlı olarak anlamlı farklılıklar gösterdiğini doğrulamakta ve LC-QTOF-

MS ile GC-QTOF-MS tabanlı hedefsiz metabolomik yaklaşımının ülke içi köken ayrımında güvenilir bir araç olduğunu ortaya koymaktadır. GC-QTOF-MS cihazı ile aldehitler, alkoller ve esterler gibi zeytinyağında bulunan uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin profilleri ortaya konmuş, LC-QTOF-MS cihazı ile de fenolik bileşikler, trigiseritler gibi uçucu olmayan, polar bileşen profilleri belirlenmiştir. Böylece geleneksel hedefli analizlerin aksine, yalnızca belirli bir molekül listesini analiz etmek yerine numunedeki bilinmeyen tüm moleküller ve metabolitler taranmış;

istatistiki analizlerin yardımıyla örneklerin gruplandırılması için bir model oluşturulmuştur. Kemometrik analizler sırasında farklı bölgelere ait yağlar için ayırt edici iyonlar belirlenmiş, ancak birçok hedefi belirsiz tarama temelli çalışmada olduğu gibi bu iyonların tanımlanmasına ihtiyaç duyulmamıştır (Barbosa et al., 2020; Gerhardt ve ark., 2017; Willenberg ve ark. 2021). Genellikle aynı fragmentlere sahip olabilecek çok sayıda olası bileşik bulunması nedeniyle bu bileşikler tanımlanamamakta, kontrol grubu örnekleriyle modelin doğruluğu değerlendirilmektedir. Bu çalışmada da referans standartlar kullanılmadığı için ayırt edici iyonların tanımlaması yapılmamış ancak farklı bölgelerden elde edilen örneklerde %79'un üzerinde bir doğrulukla örnekler coğrafi olarak sınıflandırılabilmiştir. Ayrıca, çoklu hasat sezonları boyunca sistematik olarak yapılan örnekleme ve geniş veri seti kullanımı, elde edilen sonuçların genellenebilirliğini ve literatürdeki önceki çalışmalara kıyasla güvenilirliğini artırmaktadır.

Zeytinyağlarının coğrafi kökeninin belirlenmesine yönelik metabolomik ve kemometrik yaklaşımların etkinliği, uluslararası literatürde kapsamlı biçimde ele alınmıştır. LC-QTOF-MS ve benzeri yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisi tabanlı hedefsiz metabolomik yaklaşımların, zeytinyağlarının metabolik parmak izlerini ortaya koyarak coğrafi orijin ayırımında güçlü bir ayırt edicilik sağladığı birçok çalışmada rapor edilmiştir (Ghisoni ve ark., 2019; Solsana ve ark., 2016). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar da Gemlik çeşidi zeytinyağlarının coğrafi orjinin belirlenmesinde metabolomik yaklaşımın etkin biçimde kullanılabildiğini göstermekte ve uluslararası literatürdeki bulgularla uyumluluk taşımaktadır.

Son yıllarda ülkemizde, Gemlik tipi zeytin ve zeytinyağlarının coğrafi kökeninin belirlenmesine yönelik çalışmalarda hem kimyasal profil hem de çevresel ve agronomik faktörlerin birlikte ele alındığı görülmektedir. Nitekim farklı yetiştirme bölgeleri ve iklim koşullarının etkisini inceleyen bir çalışmada, sıcaklık, nem ve yağış gibi çevresel parametrelerin yağ asidi kompozisyonu, sterol profili ve fenolik bileşenler üzerinde belirleyici olduğu ve bu değişkenler kullanılarak zeytinyağı örneklerinin yüksek doğrulukla

sınıflandırılabilirdiği belirtilmiştir (Keceli ve Harp Celik, 2023). Dıraman ve Özdemir (2025) tarafından yapılan çalışmada Salihli (Manisa) ve Gemlik (Bursa) bölgelerinden elde edilen örneklerin Gliseridik Profil temelinde başarılı bir şekilde ayrıştırılabildiği belirtilmiştir. Bununla uyumlu olarak Sevim ve ark. (2013) tarafından farklı yetiştirme bölgelerinin triacylglycerol kompozisyonu üzerindeki etkisini inceleyen bir diğer çalışmada da, Gemlik tipi zeytinyağlarının TAG dağılımının bölgeye bağlı olarak anlamlı farklılıklar gösterdiği ortaya konmuştur. Öte yandan, coğrafi kökenin etkisinin yalnızca zeytinyağı ile sınırlı olmadığı; Gemlik çeşidi zeytin meyvelerinde yürütülen bir çalışmada, farklı bölgelerde yetiştirilen örneklerin agronomik özellikleri ve fenolik bileşik içerikleri bakımından anlamlı farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir (Ben Ghorbal ve ark., 2018). Bu durum, coğrafi ve çevresel faktörlerin hem hammadde hem de son ürün düzeyinde belirleyici olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, söz konusu çalışmalar çoğunlukla hedef bileşiklere dayalı analizlerle sınırlı kalmakta olup, karmaşık kimyasal yapıya sahip zeytinyağlarında daha kapsamlı bir ayırt edicilik sağlamak için metabolomik yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bağlamda, metabolomik analizler daha geniş metabolit kapsamı sunarak hem çevresel hem de coğrafi etkilerin daha yüksek çözünürlükle ortaya konmasına olanak sağlamaktadır. Metabolomik yaklaşımını kullanarak zeytinyağının daha geniş metabolit profilini değerlendirmekte ve böylece coğrafi kökenin daha yüksek çözünürlükte ve daha kapsamlı bir şekilde ayırt edilmesine olanak sağlamaktadır. Bu yönüyle çalışma, mevcut literatürdeki hedeflenmiş analiz temelli yaklaşımları genişleterek daha bütüncül bir kimyasal karakterizasyon perspektifi sunmaktadır.

Uluslararası literatürde hedefsiz metabolomik yaklaşımların zeytinyağlarının coğrafi kökeninin belirlenmesinde yüksek sınıflandırma başarıları sağladığı açıkça görülmektedir. Willenberg ve ark. (2021), İspanya, İtalya, Yunanistan ve Portekiz kökenli zeytinyağlarını LC-QTOF-MS tabanlı hedefsiz metabolomik yaklaşımla incelemiş; fenolik bileşikler ve polar metabolitlerin coğrafi ayırmada belirleyici metabolik imzalar sunduğunu ve %80–94 arasında

sınıflandırma başarısı elde edildiğini bildirmiştir. Chirstmann ve ark. (2022), GC-IMS tekniği ile uçucu bileşik parmak izlerini değerlendirmiş ve Akdeniz ülkeleri arasında %85–92 doğrulukla coğrafi ayırım yapılabildiğini göstermiştir. Benzer şekilde, Geana ve ark. (2023), LC-HRMS tabanlı hedefsiz metabolomik yaklaşım kullanarak çoklu metabolit profillerinin tek bileşenli veya hedefli yaklaşımlara kıyasla daha yüksek doğruluk (%85–95) sağladığını rapor etmiştir. Ros ve ark. (2019), hedefli ve hedefsiz yaklaşımları birlikte kullanarak uçucu ve fenolik bileşiklerin birlikte değerlendirilmesinin özellikle PDO bölgeleri arasında ayırım gücünü önemli ölçüde artırdığını ortaya koymuştur. Ayrıca NMR ve LC-MS tekniklerinin kombine edildiği çok platformlu yaklaşımların, coğrafi sınıflandırma performansını güçlendirdiği Calo ve ark. (2022) tarafından bildirilmiştir.

Casas ve ark. (2020) tarafından yürütülen çalışmada, yedi farklı ülkeden (Hırvatistan, Slovenya, İspanya, İtalya, Yunanistan, Fas ve Türkiye) temin edilen toplam 82 zeytinyağı örneğinde bulunan seskiterpen hidrokarbonları, katı faz mikroekstraksiyon–gaz kromatografisi–dörtlü zaman uçuşlu kütle spektrometrisi (SPME-GC-QTOF-MS) kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışmada, hedeflenmiş tarama (targeted screening) ve hedefi belirsiz tarama (untargeted screening) olmak üzere iki farklı analitik yaklaşım değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, her iki analitik yaklaşım için de kısmi en küçük kareler ayırma analizi (PLS-DA) yöntemi kullanılarak sınıflandırma modelleri oluşturulmuştur. Araştırma sonuçları, hedeflenmiş tarama yaklaşımında kütle spektrumu ve lineer tutunma indeksi (LRI) esas alınarak tanımlanabilen bileşik sayısının sınırlı olduğunu, buna karşılık hedefi belirsiz tarama yaklaşımının çok daha başarılı sınıflandırma sonuçları sunduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, modelin ülke bazında değerlendirilmesine rağmen, örneklerin aynı ülke içerisinde daha küçük alt bölgesel gruplar oluşturduğu belirlenmiştir. Her bir grubun kendi içindeki alt gruplarının ayrıntılı olarak incelenmesinin, zeytinyağının coğrafi orijinini belirlemede umut verici bir yaklaşım olduğu ifade edilmiştir.

Sulaiman ve ark. (2025) tarafından yayımlanan derleme çalışmasında da metabolomik ve kemometrik yaklaşımların, zeytinyağlarında coğrafi orijin doğrulaması için güncel literatürde en güçlü araçlar arasında yer aldığı vurgulanmıştır.

Uluslararası çalışmaların büyük bir kısmı geniş coğrafi alanlara veya korunmuş menşe adı (PDO) bölgeleri gibi farklı üretim sistemlerine odaklanırken, aynı zeytin çeşidinin tek bir ülke içinde, çoklu hasat sezonları boyunca sistematik olarak değerlendirildiği çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışma, Gemlik çeşidi zeytinyağlarını çoklu hasat sezonları ve geniş örnek sayısı ile ele alarak, literatürde çoğunlukla göz ardı edilen bu ölçek düzeyinde (ülke içi–çeşit bazlı) bir karşılaştırma sunmaktadır. Bu yönüyle çalışma, mevcut uluslararası literatürde rapor edilen yöntemlerin Türkiye koşullarında ve yerel çeşitler üzerinde uygulanabilirliğini doğrulamakta ve literatürdeki önemli bir boşluğu doldurmaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgular, hem Türkiye’de hem de uluslararası alanda rapor edilen önceki çalışmalarla doğrudan karşılaştırıldığında, hedefsiz metabolomik yaklaşımların zeytinyağlarının coğrafi köken doğrulamasında güçlü, güvenilir ve genellenebilir bir araç olduğunu teyit etmektedir. Özellikle aynı çeşidin ülke içindeki coğrafi farklılıklarının yüksek doğrulukla ortaya konabilmesi, yapılan çalışmayı literatürdeki önceki çalışmalardan ayıran temel katkı olarak öne çıkarmakta ve gıda izlenebilirliği ile coğrafi işaret sistemlerine yönelik uygulamalı çalışmalara önemli bir bilimsel dayanak sunmaktadır.

SONUÇ

Bu çalışma, Gemlik çeşidi zeytinyağlarının metabolomik profillerinin coğrafi kökene bağlı olarak anlamlı şekilde farklılaştığını ortaya koymuştur. LC-QTOF-MS ve GC-QTOF-MS tekniklerinin birlikte kullanılması, coğrafi orijin doğrulamasında yüksek ayırt edicilik sağlamıştır.

Elde edilen bulgular, hedefsiz metabolomik yaklaşımların, zeytinyağı gibi karmaşık gıda matrislerinde coğrafi orijin tayini için etkili, güvenilir ve kapsamlı bir analitik araç olduğunu ortaya

koymaktadır. Özellikle çoklu hasat sezonlarını ve geniş bir örnek setini kapsayan bu çalışma, önceki araştırmalara kıyasla daha sağlam ve genellenebilir sonuçlar sunmaktadır. Sonuç olarak bu çalışma, coğrafi işaretli zeytinyağlarının korunması, taşışın önlenmesi ve gıda izlenebilirliğinin artırılmasına yönelik metabolomik temelli uygulamalar için önemli bir bilimsel temel oluşturmaktadır.

Uygulama açısından değerlendirildiğinde, bu çalışmada elde edilen metabolomik parmak izlerinin, coğrafi işaretli Gemlik zeytinyağlarının korunmasına yönelik resmi denetim süreçlerinde, kalite kontrol mekanizmalarında ve regülasyon temelli doğrulama sistemlerinde kullanılabilecek potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Bu yaklaşım, hem üretici hem de tüketici açısından güvenilirliği artırarak haksız

rekabetin ve ürün taşışının önlenmesine katkı sağlayabilir. Uzun vadede, bu tür çok disiplinli yaklaşımların ulusal ve uluslararası düzeyde zeytinyağı izlenebilirliği ve regülasyon sistemlerine entegre edilmesi, sürdürülebilir ve güvenilir gıda üretimi açısından önemli bir adım olacaktır. Gelecekte farklı zeytin çeşitleri ve uluslararası örneklerin çalışmalara dahil edilmesiyle yöntemin genellenebilirliği daha da arttıracığı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, TAGEM/HSGYAD/Ü/19/A3/P1/941 no’lu proje kapsamında gerçekleştirilmiş olup, projeye destek veren Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar genel Müdürlüğü’ne teşekkür ederim.

LİTERATÜR LİSTESİ

- Aparicio-Ruiz, R., D.L. García-González, M.T. Morales, A. Lobo-Prieto, and I. Romero. 2018. Comparison of two analytical methods validated for the determination of volatile compounds in virgin olive oil: GC-FID vs GC-MS. *Talanta* 187: 133-141. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.05.008>
- Bajoub, A. 2016. Comparing two metabolic profiling approaches (liquid chromatography and gas chromatography coupled to mass spectrometry) for extra-virgin olive oil phenolic compounds analysis. A botanical classification perspective, *Journal of Chromatography A* 28:267-279. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.10.059>
- Barbosa, S., J. Saurina, L. Puignou, and O. Núñez. 2020. Classification and Authentication of Paprika by UHPLC-HRMS Fingerprinting and Multivariate Calibration Methods (PCA and PLS-DA). *Foods* 9(4): 486. <https://doi.org/10.3390/foods9040486>
- Benincasa, C., J. Lewis, E. Perri, G. Sindona and A. Tagarelli. 2007. Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis. *Analytica Chimica Acta* 585:366-370. <https://doi.org/10.1016>
- Calo, F., C. Girelli, S. Wang, and F. Fanizzi. 2022. Geographical Origin Assessment of Extra Virgin Olive Oil via NMR and MS Combined with Chemometrics as Analytical Approaches. *Foods* 2022 11(1): 113. <https://doi.org/10.3390/foods11010113>
- Casas, B.Q., S. Bertin, K. Leik, J. Bustamante, F. Guardiola, E. Valli, A. Bendini, T.G. Toschi, A. Tres, and S. Vichi. 2020. Profiling versus fingerprinting analysis of sesquiterpene hydrocarbons for the geographical authentication of extra virgin olive oils. *Food Chemistry* 307:125556. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125556>
- Christmann, J., S. Rohn, and P. Weller. 2022. gc-ims-tools – A new Python package for chemometric analysis of GC-IMS data. *Food Chemistry* 394: 133476. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133476>
- Cuadros-Rodríguez, L., C. Ruiz Samblás, L. Valverde-Som, L. Pérez-Castaño, and E. González-Casado. 2016. Chromatographic fingerprinting: An innovative approach for food identification and food authentication – A tutorial. *Analytica Chimica Acta* 909: 9–23. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.12.042>
- Dıraman, H., D. Özdemir, ve Y. Hısıl. 2009. Ayvalık Zeytin Çeşidinden Üretilen Erken Hasat Natürel Zeytinyağlarının Yağ Asitleri Bileşenlerine Göre Kemometrik Karakterizasyonu. *Electronic Journal of Food Technologies* 4 (3): 1-11.
- Forina, M., R. Boggia, and M. Casale. 2007. The information content of visible spectra of extra virgin olive oil in the characterization of its origin. *Annali di Chimica*, 97: 615-633. <https://doi.org/10.1002/adich.200790047>
- Geana, E., C. Ciucure, I. Apetrei, M. Clodeveo, and C. Apetrei. 2023. Discrimination of olive oil and extra-virgin olive oil from other vegetable oils by targeted and untargeted HRMS profiling of phenolic and triterpenic compounds combined with chemometrics. *International Journal of Molecular Sciences* 24(6) 5292. <https://doi.org/10.3390/ijms24065292>

- Gerhardt, N., M. Birkenmeier, D. Sanders, S. Rohn, and P. Weller. 2017. Resolution-optimized headspace gas chromatography–ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS) for non-targeted olive oil profiling. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 409(16): 3933–3942. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0338-2>
- Ghisoni, S., L. Lucini, F. Angilletta, G. Rocchetti, D. Farinelli, S. Tombesi, and M. Trevisan. 2019. Discrimination of extra-virgin olive oils from different cultivars and geographical origins by untargeted metabolomics. *Food Research International* 121: 746–753. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.052>
- Goodacre, R., D. Broadhurst, A.K. Smilde, B.S. Kristal, J.D. Baker, R. Beger, C. Bessant, S. Connor, G. Capuani, A. Craig, T. Ebbels, D.B. Kell, C. Manetti, J. Newton, G. Paternostro, R. Somorjai, M. Sjöström, J. Trygg, and F. Wulfert. 2007. Proposed minimum reporting standards for data analysis in metabolomics. *Metabolomics* 3: 231–241.
- Gürdeniz, G., B. Özen ve F. Tokatlı. 2008. Classification of Turkish olive oils with respect to cultivar, geographic origin and harvest year, using fatty acid profile and mid-IR spectroscopy. *European Food Research Technology* 227: 1275–1281. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-008-0845-7>
- Hajnajafi, K., and M. A. Iqbal, 2025. Mass-spectrometry based metabolomics: an overview of workflows, strategies, data analysis and applications. *Proteome Science* 23:5 <https://doi.org/10.1186/s12953-025-00241-8>
- Kalogiouri, P.N., R. Alizadeh, N. Dasenaki, and N.S. Thomaidis. 2018. Application of an advanced and wide scope non-target screening workflow with LC-ESI-QTOF-MS and chemometrics for the classification of the Greek olive oil varieties. *Food Chemistry* 256: 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.101>
- Keceli, T.M., and F. Harp Çelik. 2023. Discrimination of Turkish Gemlik virgin olive oils by growing regions and environmental conditions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*: 1–23.
- Özkan, Z. 2023. Zeytinyağı ve Sofralık Zeytin Ürün Raporu. Ankara. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE) Müdürlüğü Yayın No: 394 ISBN: 978-625-94899-1-9
- Rodríguez-Pérez, C., R. Quirantes-Piné, A. Fernández-Gutiérrez, and A. Segura-Carretero. 2013. Comparative characterization of phenolic and other polar compounds in Spanish melon cultivars by using high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization quadrupole-time of flight mass spectrometry. *Food Research International* 54: 1519–1527. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.09.011>
- Ros, A., D. Masuero, S. Riccadonna, K. Bubola, N. Mulinacci, F. Mattivi, I. Lukic, and U. Vrhovsek. 2019. Complementary untargeted and targeted metabolomics for differentiation of extra virgin olive oils of different origin of purchase based on volatile and phenolic composition and sensory quality. *Molecules* 24(16): 2896. <https://doi.org/10.3390/molecules24162896>
- Sevim, D., N. Varol, and O. Köseoğlu. 2022. Küresel iklim değişikliğinin zeytin yetiştiriciliği ve zeytinyağı üzerine etkileri. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 36(2): 415–432. <https://doi.org/10.20479/bursauludagziraat.1018517>
- Sevim, D., O. Köseoğlu, and F. Öztürk Güngör. 2013. Effect of different growing area on triacylglycerol composition of cv. Gemlik olive oil in Turkey. *Journal of Agricultural Faculty of Uludag University* 27(1): 49–54.
- Solsana, G., M. Raro, C. Sales, L. Lacella, R. Diaz, M. Ibáñez, J. Beltrán, J.V. Sancho, and F.J. Hernández. 2016. Metabolomic approach for extra virgin olive oil origin discrimination making use of ultra-high performance liquid chromatography–quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Food Control* 350: 350–359. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.06.008>
- Sulaiman, N., M. Sanny, C. Yeoh, A. Tarmizi, N. Nordin, F. Bustamam, R. Razak, A. Razis, and A. Khatip. 2025. Application of metabolomics and chemometrics for authentication of vegetable oils and adulteration detection: a review. *European Food Research and Technology* 251: 3175–3198. <https://doi.org/10.1007/s00217-025-04832-9>
- Willenberg, I., A. Parma, A. Bonte, and B. Matthäus. 2021. Development of chemometric models based on a LC-qToF-MS approach to verify the geographic origin of virgin olive oil. *Foods* 10(2): 479. <https://doi.org/10.3390/foods10020479>
- Yubero-Serrano, E.M., J. López-Moreno, F. Gómez-Delgado, and J. Miranda. 2019. Extra virgin olive oil: more than a healthy fat. *European Journal of Clinical Nutrition* 72(Suppl 1): 8–17. <https://doi.org/10.1038/s41430-018-0304-x>