

BAZI KROMATOĞRAFİK ve SPEKTROSKOPİK VERİLERİN KULLANIMI İLE GEMLİK ÇEŞİDİNDEN ÜRETİLMİŞ NATÜREL ZEYTİNYAĞLARININ KEMOMETRİK SINIFLANDIRILMASI

Harun Dıraman^{1*}, Betül Öztürk², Durmuş Özdemir²

¹Zeytincilik Araştırma İstasyonu, Gıda Teknolojileri Bölümü, Bornova, İzmir

²İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Urla, İzmir

Geliş tarihi / Received: 03.07.2013

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 23.09.2013

Kabul tarihi / Accepted: 25.09.2013

Özet

Bu çalışmada, farklı yetiştirme yerlerinden sağlanan Gemlik zeytin çeşidine ait örnekleri (n=10) kromatografik ([GLC] Yağ Asidi [FA] ve [HPLC] Triaçil Gliserol [TAG] profilleri) ve spektroskopik (Excitation-Emission [EX-EM] Floresans Spektroskopisi) yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir. Tek (*Gemlik*) çeşitten üretilen natürel zeytinyağlarının sınıflandırılması en yaygın kullanılan kemometrik yöntemler ile (Temel Bileşen Analizi, PCA ve Aşamalı Kümeleme Analizi, HCA) gerçekleştirilmiştir. Gemlik çeşidinden oluşan örnekler (n=10) yağ asidi ve TAG profili temelinde yetiştirme bölgelerine göre (Ege, Marmara ve Akdeniz olarak) başarı ile sınıflanmıştır. Ayrıca Gemlik çeşidi örnekleri için benzer sınıflandırmayı Excitation-Emission [EX-EM] floresans spektroskopi sonuçları da göstermiştir. Buna ek olarak, spektroskopik yöntemlerin natürel zeytinyağların sınıflandırılmasında ümitvar etkiler sergileyebileceği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Natürel zeytinyağı, Gemlik, yağ asitleri, Triaçil Gliserol profili, Excitation-Emission Floresans spektroskopisi, kemometri, sınıflandırma.

CHEMOMETRIC CLASSIFICATION of VIRGIN OLIVE OILS PRODUCED from GEMLİK CULTIVAR by USING SOME CHROMATOGRAPHIC and SPECTROSCOPIC DATA

Abstract

In this study, the oil samples of Gemlik olive cultivar provided from different locations (n=10) were analysed by using chromatographic ([GLC] Fatty Acid [FA] and [HPLC] Triacyl Glycerol [TAG] profiles) and spectroscopic (Excitation-Emission [EX-EM] Fluorescence Spectroscopy) methods. The classification of monocultivar (*Gemlik* cv) olive oil samples were carried out by the most used chemometric (Principal Component Analysis, PCA and Hierarchical Cluster Analysis, HCA) techniques. The oils made of 10 monocultivar (Gemlik olive) samples were successfully classified according to locations (as Marmara, Aegean and Mediterranean zones) based on FA and TAG profiles. Also, similar classification exhibited the results of Excitation-Emission [EX-EM] fluorescence spectroscopy for Gemlik olive cultivar. In addition, the spectroscopic methods could be exhibited promising effects for the correct classification of virgin olive oil was seen.

Keywords: Virgin olive oils, Gemlik cultivar, fatty acids, Triacyl glycerol profile, Excitation-Emission fluorescence spectroscopy, chemometry, classification.

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ harundraman1@hotmail.com,

☎ (+90) 232 462 7073 -303,

☎ (+90) 232 435 7042

GİRİŞ

Akdeniz uygarlığının sembol ağacı olan zeytin, dünya üzerinde üzüm, badem ve incir ile birlikte kültüre alındığı bilinen en eski ağaçlardan biridir (1). Zeytin meyvesinden doğrudan fiziksel yöntemler kullanılarak elde edilen natürel zeytinyağı, içerdiği yüksek düzeydeki tekli doymamış yağ asidi (oleik asit) ve taşıdığı eşsiz antioksidan maddelere (fenolik bileşikler, tokoferol ve karotenoidler) bağlı olarak; kalp hastalığı riskini azaltıcı (iyi huylu kolesterolü (HDL) yükselten ve kötü huylu kolesterolü (LDL) azaltan) ve bazı kanser türlerine karşı koruyucu etkisinden dolayı, uluslararası tıp bilim otoritelerince fonksiyonel bir gıda olarak kabul görmektedir (2). Beslenme fizyolojisi açısından sağlıklı bir yağ kaynağı olarak taşıdığı önem ve üstün duyuşsal nitelikleri, natürel zeytinyağına uluslararası ticarete de son derece artan bir talep ile ekonomik bakımdan büyük bir değer kazandırmaktadır.

Natürel zeytinyağlarının çeşit ve bölgesel karakterizasyonu ve otantikliği konusundaki çalışmalar günümüzde uygulamalara göre iki ana grupta toplanmaktadır:

1. Kromatografik (GC, GC/MS ve HPLC, LC/MS) yöntemlerle bazı kimyasal bileşenlere (Yağ asitleri [YA], Triaçil Gliserol [TAG]; Sterol, Fenolik Fraksiyonlar ve Aromatik Bileşenler) dayalı çalışmalar. (3).

2. Spektroskopik çalışmalar (NIR, FTIR, 1H-NMR veya 13C NMR ve P-NMR, Floresans ve Raman Spektroskopisi) (4,6). Natürel zeytinyağların karakterizasyon ve sınıflandırılmasında en yaygın kullanılan spektroskopik yöntemler: 1. Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi [FTIR-ATR], 2. Fourier dönüşümlü yakın infrared spektroskopisi [FT-NIR], 3. Uyarılma – Yayılma [EX-EM] Floresans Spektroskopisi ve 4. Senkronize [SYN] Floresans teknikleridir.

Floresans spektroskopisi moleküler düzeyde bir teknik olup, EX-EM spektroskopisinde (genellikle 300-400 nm uyarılma dalga boyu arasında) önceden belirlenmiş düzeylerdeki (5-10 nm lik gibi) artırımlarla bir çok (6-10 arasındaki) dalga boylarında spektrum olarak veriler elde edilmektedir. Kromatografik çalışmalarda örnek hazırlama, analizlerin uzun bir zaman gerektirmesi, cihazların (enerji, gaz ve solvent vs) işletme masraflarının yüksek olması ve en önemlisi de kalifiye eleman bulunması ve onların yetiştirilmesinin zaman alması gibi sebeplerden dolayı ilk bakışta gaz (GC) ve likit (LC) kromatografisi bazı dezavantajlara sahiptir. Spektroskopik yöntemler ise hızlıdır, ucuzdur, diğer kromatografik yöntemlerle de büyük ölçüde (% 90 – 100) uyum içinde sonuç verebilirler ve fazla düzeyde kalifiye elemana ihtiyacı göstermezler. Bundan dolayı günümüzde

kromatografik tekniklere desteleyici veya alternatif bir yöntem olarak natürel zeytinyağlarının karakterizasyonunda ve taşışşların belirlenmesinde bazı spektroskopik teknikler (NIR, FTIR vs) geliştirilmiştir (6,7).

Natürel zeytinyağlarının – özellikle Gemlik çeşidinden üretilmiş - kromatografik verilere kemometrik yöntemlere dayalı olarak YA ve TAG bileşenlerine göre çeşit bazında veya coğrafi olarak sınıflandırılması konusunda ülkemizdeki yerli çeşitlere ilişkin (8-16) ve bunun yanında uluslararası düzeyde (17-21) çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca, zeytinyağının sabunlaşan bileşenlerinden olan TAG (trigliseritler) yağın saflık kriterlerindedir. Yağ örneğinde diaçilgliseroller mevcut olduğunda yağ düşük kaliteli veya taşışşlı olarak görülür. Avrupa Birliği (AB) normlarına göre zeytinyağında Trilinolein (LLL) miktarı maksimum % 0.5 olmalıdır (12, 22). Natürel zeytinyağındaki TAG bileşenleri aynı zamanda bir taşışş belirleme kriteri olarak da önem taşımaktadır (12,16). Spektroskopik tekniklerin (özellikle [FT-NIR] yönteminin) yağ endüstrisinde kullanımı hakkında kapsamlı bir inceleme Yılmaz ve Öğütçü (23) tarafından derlenmiştir. Yerli çeşitlerin yağ asidi profili ve spektroskopik (IR-spektroskopisi) verileri ışığında çeşit, coğrafi orijin ve hasat yılına dayalı kemometrik sınıflandırması Gürdeniz ve ark (10) tarafından yapılmıştır. EX-EM spektroskopisinin natürel zeytinyağlarının coğrafi sınıflandırılması ve muhtemel taşışşların belirlenmesine ilişkin ülkemizde yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamakla birlikte, son yıllarda yurt dışında yapılmış bazı araştırmalar (5, 24, 26) bulunmaktadır.

Ülkemizin önemli sofralık ve yağlık zeytin çeşidi olan ve Türkiye’de kendi orijin bölgesi (Bursa ili) dışında en fazla yetiştiriciliği yapılan Gemlik zeytinine ait yağların sınıflandırılması ve buna bağlı olarak coğrafi işaret konusunda pratikte kullanılabilecek ölçütlerin farklı (yaygın kromatografik ve spektroskopik düzeyde) teknikler ile en azından bazı ön çalışmalar ile elde edilmesi önem taşımaktadır. Bu çalışmada yirmi yıl içerisinde ülkemizde en yaygın şekilde yetiştirilmeye başlayan Gemlik zeytin çeşidine ait farklı lokasyonlardan sağlanan yağ örneklerinin kromatografik analizler ile bu çeşidin ana gliseridik yapısı (yağ asidi [YA] ve triaçilgliserol [TAG] bileşenleri) ortaya konulmuş ve örneklerle spektroskopik yöntem olarak Uyarılma-Yayılma (Excitation-Emission [EX-EM] Floresans) spektroskopisi uygulanmıştır. Yağ örneklerinden elde edilen kromatografik ve spektroskopik veriler, ayrı ayrı kemometrik Aşamalı Kümeleme Analiz (Hierarchical Cluster Analysis, HCA) yöntemi ile sınıflandırılmıştır.

Çizelge 1. Kromatografik ve Spektroskopik analizlerde kullanılan Gemlik çeşidi natürel zeytinyağı örneklerinin kod, lokasyon ve hasat yılları.

Table 1. The virgin olive oil samples used for chromatographic and spectroscopic analysis, their locations and codes and crop years.

GRUP ÖRNEKLER			
No	KOD	LOKASYON	Hasat Yılı
1	KBS	Kıbrıs	2004 – 2005
2	HTY	Hatay	2003 – 2004
3	DD	Didim – Aydın	2006 - 2007
4	SLH	Salihli - Manisa	2005 – 2006
5	AH 1	Akhisar 1	2008 – 2009
6	AH 2	Akhisar 2	2005 – 2006
7	AH 3	Akhisar 3	2005 – 2006
8	MDY	Mudanya - Bursa	2005 – 2006
9	İZN 1	İzmit 1 - Bursa	2006 – 2007
10	İZN 2	İzmit 2 – Bursa	2006 – 2007

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada farklı yörelerden alınan ve üç fazlı kontinü sistem ile üretilmiş 10 adet Gemlik çeşidine ait natürel zeytinyağı örneği kullanılmıştır. Marmara Bölgesi'nin hakim zeytin çeşidi olan Gemlik zeytini, Trilya, Kaplık, Kıvırcık, Kara adlarıyla da anılmakta olup, Bursa İli'nin Gemlik ilçesi orijindir. Genelde siyah sofralık zeytin üretiminde kullanılan bu çeşit, yağlık olarak da değerlendirilmektedir. Çeşit olarak daha ılımlı bir periyodisiteye sahip olmasından dolayı; Gemlik zeytini son yirmi yıldan beri Türkiye'nin zeytin yetiştirilen bütün yörelerinde (Ege Bölgesi,

Doğu-Batı Akdeniz Bölgesi ve hatta Güneydoğu Anadolu bölgesi dahil) hızla yayılmış bir çeşittir. Özellikle Ege Bölgesi'nde yetiştirilen Gemlik çeşidinin önemli bir kısmından yağ üretilmektedir (27,28). Örneklerin yetiştirme yörelerine ait bilgiler ve kodları Çizelge 1'de verilmiştir.

Yöntem

Gemlik zeytin çeşidinden üretilmiş yağlardan oluşan birinci örnek grubunda yağ asidi bileşenleri Kapiler Kolon Gaz Kromatografisi ile Dıraman ve Dibekliğu (13) ve trigliserit analizleri de Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemi ile Dıraman ve ark (12) tarafından ayrıntıları verilen enstrümantal analiz tekniklerine göre yapılmıştır. Gemlik çeşidinden üretilen yağlara spektroskopik yöntem olarak Uyarılma-Yayımla (EX-EM) spektroskopisi (300-800 nm) uygulanmıştır.

Yağ örneklerinin tümü için, orijin veya coğrafi lokasyonlarına göre kemometrik sınıflandırma Temel Bileşen (PC) Analiz sonuçlarına dayalı olarak Aşamalı Kümeleme (HCA) analizi ile gerçekleştirilmiştir (6).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Araştırmada analiz edilen ve farklı lokasyonlardan alınmış on adet Gemlik çeşidi natürel zeytinyağına ilişkin kromatografik (GC ve HPLC) analizlerine ait veriler sırasıyla Çizelge 2 ve 3 'te verilmiş olup; bunlara ilişkin tüm grafiksel sonuçlar da Şekil 1'de topluca gösterilmiştir. Şekil 1'de natürel zeytinyağının ana gliseridik fraksiyonları olan yağ asidi (YA) ve triaçilgliserol (TAG) profili bir

Çizelge 2. Farklı coğrafi yörelerde yetiştirilen Gemlik çeşidi zeytinlerden elde edilen natürel zeytin yağı örneklerinin yağ asidi profili ve bunlara ilişkin parametrelerin sonuçları

Table 2. The results of fatty acid profiles and their some parameters of virgin olive oil samples obtained from Gemlik olive cultivar grown in various geographic zones

	HTY	SLH	MDY	DD	İZN 1	İZN 2	AH 1	AH 2	AH 3	KBS
PA	13.71	10.57	10.83	12.29	11.56	11.03	13.41	12.53	11.55	18.2
POA	1.74	0.74	0.88	0.92	0.81	0.81	1.1	0.93	0.71	1.35
SA	2.64	3.54	3.46	3.12	3.12	3.43	3.68	2.79	2.84	3.01
OA	72.95	76.15	75.54	73.39	76.78	77.05	69.96	72	73.53	66.25
LO	6.87	6.95	7.47	8.97	6.13	6.04	9.56	9.76	9.43	9.24
LN	0.77	0.57	0.45	0.53	0.42	0.44	0.71	0.63	0.6	0.69
SQ	1.22	0.57	0.93	0.57	1.35	1.06	0.53	0.7	0.71	0.88
TFA	0.07	0.09	0.09	0.05	0.07	0.10	0.12	0.13	0.07	0.07
SFA	17.09	14.95	15.03	16.12	15.27	15.13	17.93	16.00	15.14	21.94
MUFA	75.16	77.43	76.95	74.74	77.97	78.29	71.67	73.46	74.74	68.03
PUFA	7.64	7.52	7.92	9.50	6.55	6.48	10.27	10.39	10.03	9.93
P – S	0.45	0.50	0.53	0.59	0.43	0.43	0.57	0.65	0.66	0.45
M – P	9.84	10.3	9.72	7.86	11.9	12.08	6.98	7.07	7.45	6.85
PA – L	2	1.52	1.45	1.37	1.88	1.83	1.4	1.28	1.22	1.97
O – L	10.62	10.96	10.11	8.18	12.52	12.76	7.32	7.38	7.80	7.17
L – Ln	8.92	12.19	16.6	16.92	14.59	13.73	13.46	15.49	15.72	13.39

PA: Palmitik, POA: Palmitoleik, SA: Stearik, OA: Oleik, LO: Linoleik, LN: Linolenik, SQ: Skualen, TFA: Toplam Trans Yağ Asidi, SFA: Doymuş Yağ Asidi, MUFA: Tekli Doymamış Yağ Asidi, PUFA: Çoklu Doymamış Yağ Asidi, PUFA /SFA (P-S), MUFA/PUFA (M – P), Palmitik/Linoleik (PA/L), Oleik /Linoleik (O – L), Linoleik – Linolenik (L – Ln)

Çizelge 3. Farklı coğrafi yörelerde yetiştirilen Gemlik çeşidi zeytinlerden elde edilen natürel zeytin yağı örneklerinin TAG profili ve bunlara ilişkin parametrelerin sonuçları.

Table 3. The results of TAG profiles and their some parameters of virgin olive oil samples obtained from Gemlik olive cultivar grown in various geographic zones.

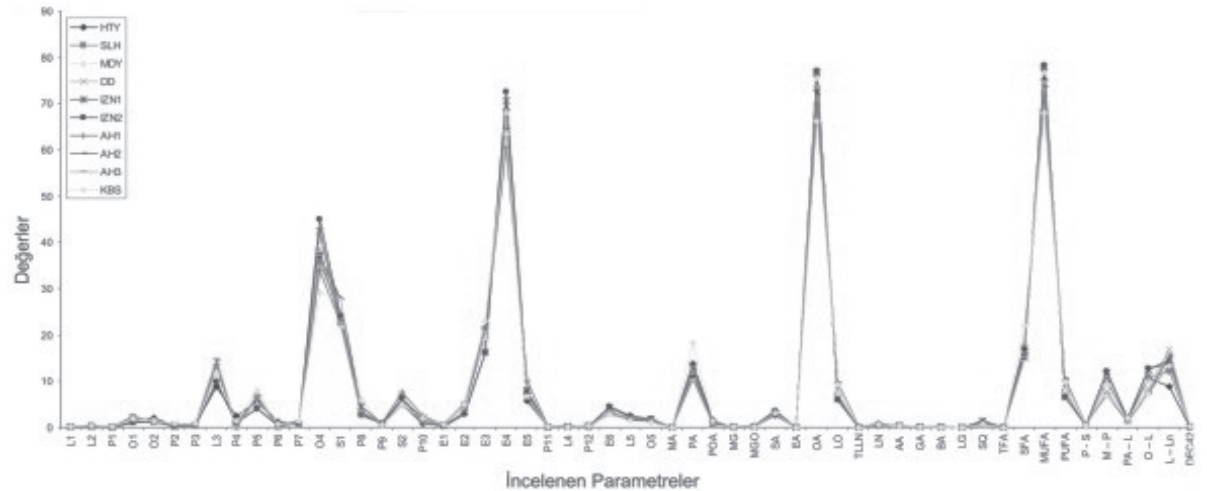
	Kod	HTY	SLH	MDY	DD	İZN 1	İZN 2	AH 1	AH 2	AH 3	KBS
LLL	L1	0.11	0.16	0.12	0.12	0.11	0.06	0.18	0.19	0.20	0.15
LOLn	L2	0.35	0.31	0.26	0.21	0.26	0.18	0.33	0.28	0.40	0.37
OLL	O1	1.27	2.28	1.63	1.93	1.17	1.01	2.33	2.44	2.53	1.86
OLnO	O2	1.97	1.37	1.20	1.35	1.23	1.21	1.27	1.31	1.33	1.38
LOO	L3	8.88	12.53	12.16	13.83	9.61	9.95	13.58	14.64	14.81	11.36
PLO	P5	5.54	6.61	5.12	6.38	4.16	4.14	7.00	6.83	7.00	7.94
OOO	O4	37.22	35.83	42.61	38.61	42.54	45.00	33.98	37.61	37.14	29.25
POO	S1	27.72	24.21	22.1	23.49	22.83	23.98	22.57	22.75	22.68	27.47
POP	P8	3.05	3.39	2.54	3.32	4.57	2.68	3.04	3.44	3.54	6.05
SOO	S2	5.00	6.45	6.34	5.72	5.92	6.29	7.59	4.96	4.78	4.87
ECN 42	E1	0.53	0.58	0.47	0.36	0.44	0.27	0.62	0.57	0.72	0.67
ECN 44	E2	4.63	4.97	3.59	4.81	3.19	2.82	5.06	5.21	5.40	4.91
ECN 46	E3	19.28	21.43	19.51	21.06	16.22	16.23	21.59	22.47	22.86	22.97
ECN 48	E4	68.66	68.14	68.14	66.17	70.76	72.48	60.38	64.59	64.06	63.42
ECN 50	E5	5.78	8.00	7.52	7.37	8.1	7.35	10.10	6.19	6.11	6.83
E48/E46	E6	3.56	3.18	3.49	3.14	4.36	4.47	2.80	2.87	2.8	2.76
LOO/PLO	L5	1.6	1.90	2.38	2.17	2.31	2.40	1.94	2.14	2.12	1.43
OOO/POO	O5	1.34	1.48	1.93	1.64	1.86	1.88	1.5	1.65	1.64	1.07
ΔECN 42	DEC42	0.10	0.29	0.20	0.01	0.24	0.07	0.1	0.09	0.29	0.18

LLL (1,2,3-trilinoyleglycerol), LOLn (1-linoleoyl-2-oleoyl-3linolenoyl) OLL (1,2-dilinoyleyl-3-oleyleglycerol), OLnO (1,2-dioleyleyl-3-linolenoyl-glycerol), LOO (1,2-dioleyleyl-3 linoleyleglycerol), PLO (palmitoyl-2-oleyleyl-3-linoleyleglycerol), OOO (1,2,3-trioleyleglycerol), POO (2,3-dioleyleyl-1-palmitoyl-glycerol), POP (1,2-dipalmitoyl-3-oleyleglycerol), SOO (2,3-dioleyleyl-1-stearoyl-glycerol).ECN 42 (LLL +LOLn), ECN 44(OLL + OLnO), ECN 46 (LOO + PLO + diğerleri), ECN 48 (OOO+ POO+POP), ECN 50 (SOO) .

arada gösterilerek gliseridik yapının birbirine yakın olan bağlantısı açık bir şekilde ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Natürel zeytinyağı için karakteristik olan en önemli Tekli Doymamış Yağ Asidini (MUFA) teşkil eden oleik asit değerleri Gemlik çeşidi yağ örneklerinde % 66.25 (Kıbrıs)-77.05 (İzmit 2) ve Çoklu Doymamış Yağ asidi (PUFA) değeri değişimi ise % 6.04 (İzmit 2)-% 9.24 (Kıbrıs) arasında olmuştur (Çizelge 2). Diğer bir PUFA olan linolenik

asit ise % 0.77 (Hatay)-0.42 (İzmit 1) arasında bulunmuştur. Güney'den (Hatay ve Kıbrıs) kuzeye (Bursa-Marmara Bölgesi) doğru gidildikçe linoleik ve linolenik asit (PUFA) ve palmitik asit (SFA) düzeyi azalmasına karşın oleik asit ve toplam MUFA düzeylerinde dikkate değer bir artış belirlenmiştir. Zeytinyağındaki en önemli doymuş yağ asidi (SFA) olan Palmitik asit değerlerinin değişimi % 10.57 (Salihli)-% 18. 20 (Kıbrıs), stearik asit için ise bu değişim % 2.64 (Hatay)-% 3.68



Şekil 1. Farklı coğrafi yörelerde yetiştirilen Gemlik çeşidi zeytinlerden elde edilen natürel zeytin yağı örneklerinin yağ asidi (GC) ve TAG profillerinin (HPLC) ve bunlara ilişkin parametrelerin grafiksel gösterimi

Figure 1. The graph projection related to fatty acid and TAG profiles and their some parameters of virgin olive oil samples obtained from Gemlik olive cultivar grown in various geographic zones.

(Akhisar 2) arasında olmuştur. Sterolik fraksiyonun bir ön göstergesi olan ve beslenme açısından da önem taşıyan hidrokarbon bileşeni olan Skualen düzeyleri Gemlik çeşidi yağ örneklerinde % 0.53 (Akhisar 1-Manisa) ve % 1.22 (Hatay) arasında olmuştur. Hesaplanan parametreler açısından Gemlik çeşidi yağlarda oksidatif stabilitenin bir ön göstergesi olarak kabul edilen MUFA/PUFA ve oleik/linoleik (O-L) değişimleri sırası ile, 6.85 (Kıbrıs)-12.08 (İzmit 2) ve 7.17-12.76. Beslenme fizyolojisi açısından önem taşıyan (12 ve daha yukarı istenilmektedir) ve kalıcı yakıcı/acılığın (bitterness) ve meyvemsiliğin de bir ön bilgisi kabul edilen linoleik/linolenik (L-Ln) oranı değişimi de 8.93 (Hatay)-16.92 (Didim-Aydın) olarak bulunmuştur (Çizelge 2). Farklı lokasyonlardan alınan Gemlik çeşidi yağlara ait major ve minor yağ asidi profilinin Uluslararası Zeytin Konseyi (29) ve Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği (30) uygun olduğu ve yağ asidi profiline göre de Kuzey Akdeniz Havzası (İspanya, İtalya, Yunanistan ve Türkiye gibi) ülkelerine ait (düşük linoleik ve palmitik ve yüksek oleik asit içeren) birinci tip gruba dahil olduğu (13, 15, 22, 31) belirlenmiştir.

Gemlik zeytin örneklerinin yağ asidi profilleri arasındaki mevcut farklılıklar çeşit, lokasyon ve yıllara bağlı olarak klimatolojik faktörlerdeki değişimlerden kaynaklanmaktadır. Yağ asitleri bileşenlerinde bulunan değerler, Gemlik zeytin çeşitleri üzerinde (8-11,13-18) tarafından yapılan çalışma sonuçlarına benzer bulunmuştur. Ayrıca, Gemlik çeşidinde Dıranman ve ark (9) tarafından işaret edilen linoleik asit değerlerinin diğer bazı yerli çeşitlere göre (örneğin Ayvalık çeşidine gibi) biraz düşük olması durumu bu çalışmada da gözlenmiştir.

Farklı lokasyonlarda yetiştirilen Gemlik çeşidi zeytinlerden üretilen yağ örneklerinde önemli major TAG bileşenlerinin değişimi OOO (Triolein) ve POO (Palmitodioleoin) için sırasıyla % 29.25 (Kıbrıs)-% 45.00 (İzmit 2-Bursa) ve % 22.10 (Mudanya-Bursa) ve % 27.72 (Hatay) olmuştur (Çizelge 3). Çizelge 3'ten görüleceği üzere, diğer major bileşenler olan LOO (Dioleolinoleil) ve SOO (Dioleinstearil) miktarları % 8.88 (Hatay)-% 14.64 (Akhisar 2-Manisa) ve % 4.87 (Kıbrıs)-% 7.59 (Akhisar 1-Manisa) arasında değişmiştir. En az bulunan major TAG olan POP (Dipalmitooleil) değişimi ise % 2.54 (Mudanya-Bursa)-% 6.05 (Kıbrıs) olmuştur. Natürel zeytinyağı için karakteristik ve taşıyış için önemli bir gösterge olan LLL (Trilinolein) için ise değerlerin değişimi % 0.11 (İzmit ve Hatay)-% 0.16 (Salihli-Manisa) arasında belirlenmiştir (Çizelge 3). Avrupa Birliği (AB) normlarına göre natürel zeytinyağları için bu değerlerin en çok % 0.5 olması istenilmektedir.

Gemlik çeşidi yağ örnekleri için taşıyış açısından çok önemli bir kriter olan teorik ve gerçek ECN 42 değeri arasındaki fark değişimi de 0.09 (Akhisar 2- Manisa) ve 0.29 (Salihli-Manisa) olmuştur (Çizelge 3). Buna göre Şekil 1'de görüleceği üzere, oleik asit ile TAG bileşenlerinden OOO (O4), MUFA ve ECN 48 (E4) ve linoleik asit (LO) ile de POP (P8), POO (S1) ve ECN 50 (E5) arasında doğrusal bir ilişki olduğu görülmektedir.

Triaçil Gliserol (TAG) kimyasal olarak natürel zeytinyağının oluşturan nötral yağlar olup, bir TG molekülü 3 aynı veya farklı yağ asidinin gliserol ile oluşturduğu metil esterdir. Bu bakımdan, yağ asitleri profilini etkileyen tüm faktörlerin TAG 'lar için de geçerli olduğunu ifade etmek mümkündür. Yapılan HPLC analizi ile yağ oluşturan trigliserit (TAG) molekülleri üzerindeki yağ asitlerinin dağılımı ortaya konulmaktadır (22,31). Farklı lokasyonlardan sağlanan Gemlik çeşidi yağ örneklerinin TAG düzeyleri arasındaki farklılıklar hasat yılı, iklim, toprak yapısı, sulama, olgunlaşma düzeyleri (olgunluk indeksi), yükseklik (16-21) gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır.

Kromatografik (GC ve HPLC) analizlerden elde edilen yağ asidi ve TAG profiline göre farklı lokasyonlardan alınan Gemlik çeşidi natürel zeytinyağı örneklerinin Temel Bileşen (PC) ve sınıflandırma amaçlı Aşamalı Kümeleme (Hiyerarşik) kemometrik analiz sonuçları sırasıyla Şekil 2 ve 3'de gösterilmiştir.

İlk iki temel (PC) bileşen toplam varyansın % 67.5'sini (PC1 % 42 ve PC2 % 25.5) ve ilk 6 temel bileşen ise % 95'ini açıklamıştır. (Şekil 2). Şekil 2 ve 3'de görüleceği üzere ana gliseridik (yağ asidi ve TAG) profiline göre Gemlik çeşidi natürel yağ örnekleri uygulanan kemometrik (PCA ve HCA) yöntemler ile Ege, Marmara ve Akdeniz olarak üç ana gruba ayrılmıştır. Birinci grup (Marmara bölgesi, İzmit 1, 2), İkinci grup (Akdeniz bölgesi, Hatay ve Kıbrıs) ve üçüncü grup ise Marmara orijinli Mudanya-Bursa yöresine ait bir örnek hariç olmak üzere toplam 5 adet (Akhisar 1,2,3,Salihli-Manisa ve Didim-Aydın) Ege bölgesi örneklerinden oluşmaktadır.

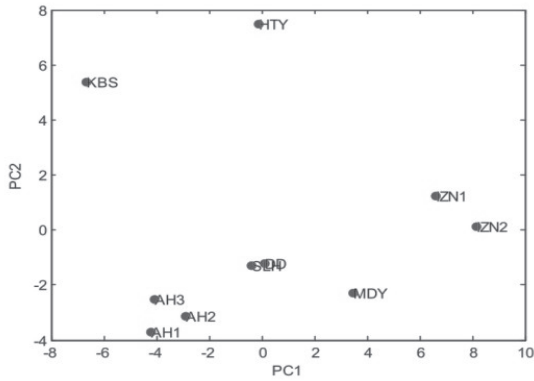
Farklı lokasyonlardan alınan Gemlik çeşidi natürel zeytinyağı örneklerine ait Emilme ve Yayılma (EX-EM) floresans spektroskopisine göre yapılan ölçümler Şekil 4'te ve bu örnekler için Temel Bileşen (PC) ve sınıflandırma amaçlı Aşamalı Kümeleme (Hiyerarşik) kemometrik analiz sonuçları da sırasıyla Şekil 5 ve 6'da gösterilmiştir.

EX-EM floresans spektroskopisi sonuçlarına göre ilk iki temel (PC) bileşen toplam varyansın % 83'ünü (PC1 % 50 ve PC2 % 33) ve ilk 4 temel bileşen ise % 95.5'ini açıklamıştır. (Şekil 5). Şekil 4 ve 5'te görüleceği üzere EX-EM spektroskopisi sonuçlarına göre farklı yörelerden sağlanan

Gemlik çeşidi yağ örnekleri 2 Ege – Marmara, 2 Akdeniz olmak üzere dört ana gruba ayrılmıştır. Birinci grup 3 Ege (Akhisar 2,3, Salihli ve İznik 1, Didim-Aydın) olmak üzere 5 örnekten oluşurken, ikinci grup 1 Mudanya-Bursa (Marmara bölgesi) ve Akdeniz bölgesinden gelen Hatay ve Kıbrıs örnekler ayrı birer grup olmuştur. Şekil 4'te görüleceği gibi Akdeniz bölgesinden gelen Hatay (HTY) ve Kıbrıs (KBS) örneklerin Ege ve Marmara'dan alınanlara göre çok farklı bir spektrum verdiği görülmektedir. Bu çalışmada kullanılan Gemlik çeşidi yağlarda EX-EM Floresans spektroskopisi ile belirlenen spektrumlar, Dupoy ve ark (24) Guimet ve ark (25,26) tarafından kaydedilenlere benzer bulunmuştur. Guimet ve ark. (25,26) farklı dalga boylarına ilişkin EX-EM

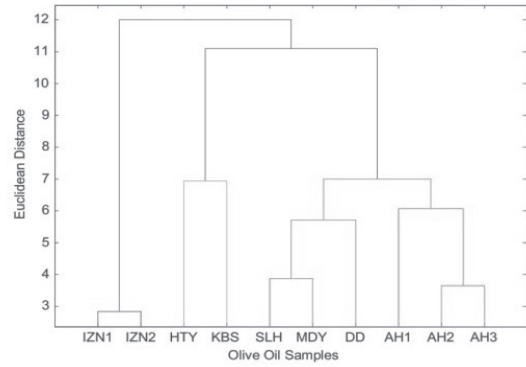
spektrumlarını conjugate peroksitler için 445-475 nm, vit E 525 nm ve klorofiller için 681 nm olarak vermektedir.

Kromatografik ve spektroskopik yöntemlere dayalı sınıflandırma sonuçlarına göre Ege, Marmara ve Akdeniz yöresi örnekleri arasında belirlenen ayrımlar (örneğin Hatay ve Kıbrıs örneklerinin diğer bölge örneklerine göre farklı spektrum içermesi gibi) natürel zeytinyağlarının coğrafi sınıflandırılmasında her iki yöntemin de başarılı bir şekilde kullanılabilceğini göstermiştir. Bu çalışmada sınırlı sayıda örnek kullanılmasına rağmen, bu durum ilgili spektroskopik yöntemlerin, farklı zeytin çeşitlerinden oluşan zeytinyağlarının genel olarak sınıflandırılmasında veya ayırımında,



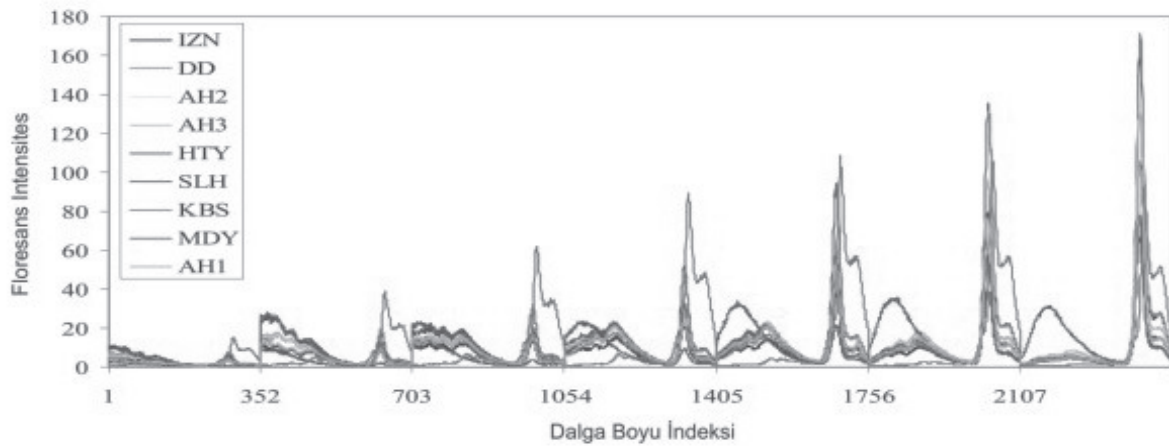
Şekil 2. Farklı coğrafi yörelerde yetiştirilen Gemlik çeşidi zeytinlerden elde edilen natürel zeytin yağı örneklerinin Yağ asidi (GC) ve TAG profillerine (HPLC) bağlı olarak Temel Bileşen Analizi Sonuçları (İlk 2 PC)

Figure 2. The PCA results of virgin olive oil samples obtained from Gemlik olive cultivar grown in various geographic zones based on their fatty acid and TAG profiles [The first 2 PCA]



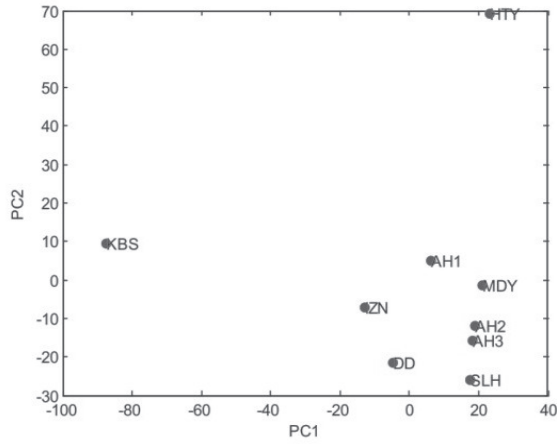
Şekil 3. Farklı coğrafi yörelerde yetiştirilen Gemlik çeşidi zeytinlerden elde edilen natürel zeytin yağı örneklerinin Yağ asidi (GC) ve TAG profillerine (HPLC) bağlı olarak yapılan HCA sonuçlarına ilişkin dendrogram (Ward Metodu ile) (ilk 6 PC'ye göre çizildi)

Figure 3. The HCA dendrogram related to virgin olive oil oil samples obtained from Gemlik olive cultivar grown in various geographic zones based on their fatty acid and TAG profiles [The first 6 PCA] (Ward method)



Şekil 4. Farklı coğrafi yörelerde yetiştirilen Gemlik çeşidi zeytinlerden elde edilen natürel zeytin yağı örneklerinin Emilme-Yayıma (EX-EM) floresans spektroskopisi spektrumları

Figure 4. The EX-EM fluorescence spectrums of virgin olive oil samples obtained from Gemlik olive cultivar grown in various geographic zones



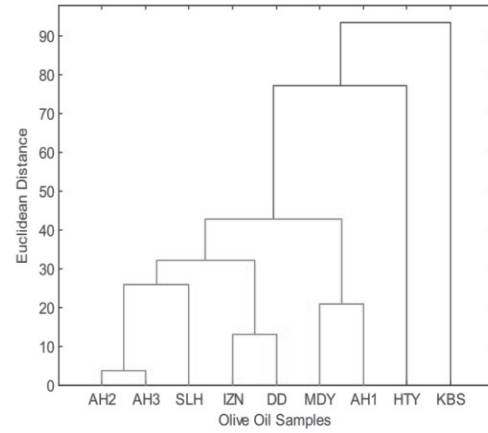
Şekil 5. Farklı coğrafi yörelerde yetiştirilen Gemlik çeşidi zeytinlerden elde edilen natürel zeytin yağı örneklerinin EX-EM sonuçlarına bağlı olarak Temel Bileşen Analizi Sonuçları (İlk 2 PC)

Figure 5. The PCA results of virgin olive oil amples obtained from Gemlik olive cultivar grown in various geographic zones based on their EX-EM fluorescence spectroscopic data [The first 2 PCA]

muhtemel tağşişlerin belirlenmesinde ümitvar etkilerin olabileceğini işaret etmektedir. Sınıflandırma konusunun daha fazla sayıda örnekte ve farklı (FT-NIR, FTIR-ATR ve SYN Floresans gibi) spektroskopik yöntemleri de kapsayacak şekilde daha detaylı bir şekilde ele alınması–özellikle Gemlik çeşidi yağlarının coğrafik olarak karakterizasyonunu ve sınıflandırılmasını sağlayacağı gibi–Türk zeytinyağı sektörü için sağlam ve adına doğru bir veri tabanı olarak katkı vereceği düşünülmektedir. Ayrıca, spektroskopik yöntemlerin örnek hazırlamaksızın çok kısa bir sürede ekonomik olarak güvenilir sonuç almada büyük fayda sağlayacağı ve bu yöntemlerin üretim hatlarına in line veya on line olarak ilave edilmesi ile kalite kontrolünün sürekli izlenmesi açısından bir çok yarar ve kolaylıklar sağlayacağı da göz önüne alınmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Zohary D, Hopf M. 1993. Domestication of Plants in the Old World: the Origin and Spread of Cultivated Plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley, 2nd edition. Clarendon Press, Oxford, UK.
2. Harwood JL, Yaqoop P. 2002. Nutritional and health aspects of olive oil. *Eur J Lipid Sci Technol*, 104: 685-697.
3. Aparacio R, Luna G. 2002. Characterisation of monovarietal virgin olive oils. *Eur J Lipid Sci Technol*, 104: 614-627.
4. Baeten V, Dardenne P. 2002. Spectroscopy: Developments in Instrumentation and Analysis *Grasas Aceites*, 53: 45-63.



Şekil 6. Farklı coğrafi yörelerde yetiştirilen Gemlik çeşidi zeytinlerden elde edilen natürel zeytin yağı örneklerinin EX-EM sonuçlarına bağlı olarak yapılan HCA sonuçlarına ilişkin dendrogram (Ward Metodu ile) (İlk 4 PC'ye göre çizildi) Figure 6. The HCA dendrogram related to virgin olive oil samples obtained from Gemlik olive cultivar grown in various geographic zones based on their EX-EM fluorescence spectroscopic data [The first 4 PCA] (Ward method)

5. Galtier O, Dupuy N, Le Drèau Y, Ollivier D, Pinatel, C, Kister J, Artaud J. 2007. Geographic origins and compositions of virgin olive oils determined by chemometric analysis of NIR spectra. *Anal Chim Acta*, 595: 136-144.

6. Özdemir D, Öztürk, B., 2007. Near infrared spectroscopic determination of olive oil adulteration with sunflower and corn oil. *J Food Drug Anal*, 15: 40-47.

7. Sikorska E, Khmelinskii I, Sikorski M. 2011. Analysis of Olive Oils by Fluorescence Spectroscopy: Methods and Applications. In: Olive Oil-Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions. Boskou, D. Ed, pages: 63-88. Published by InTech Open Access Publisher, Rijeka, Croatia. <http://www.intechopen.com/books/show/title/olive-oil-constituents-quality-health-properties-and-bioconversions>

8. Köseoğlu O, Ünal MK, Irmak Ş. 2005. Ayvalık, Memecik ve Gemlik Zeytin Çeşitlerinden Farklı Hasat Dönemlerinde Elde Edilen Yağların Acılıkları ile Bazı Kalite Kriterleri Arasındaki İlişkiler. Ulusal Zeytin ve Zeytinyağı Sempozyumu ve Sergisi, 15 -17 Eylül, 2006 İzmir. TMMOB Kimya Mühendisleri Odası Yayını Sempozyum Kitabı (Editörler: M.Gül, S.Umdu) İçinde Sayfa: 347-358.İzmir

9. Dıraman H, Özdemir D, Hışıl Y. 2007. Ulusal Zeytin Gen Bankasındaki Önemli Yerli ve Yabancı Zeytin Çeşitlerinin Yağ Asitleri Kompozisyonu ve Skualen Düzeylerine Göre Kemometrik Yöntemlerle Sınıflandırılması *Akademik Gıda* Temmuz-Ağustos Yıl 5, (28): 21-27. İzmir

10. Gürdeniz G, Özen B, Tokatlı, F. 2008. Classification of Turkish olive oils with respect to cultivar, geographic origin and harvest year, using fatty acid profile and mid-IR spectroscopy. *Eur Food Res Technol*, 227: 1275-1281.
11. Uylaşer V, Tamer CE, İncedayi B, Vural H, Çopur ÖU. 2008. The quantitative analysis of some quality criteria of Gemlik variety olives. *J Food Agric Env*, 6 (3&4): 26-30.
12. Dıraman H, Çam M, Özder Y. 2009. Yerli ve Yabancı Kökenli Bazı Zeytinyağlarının Trigliserit Düzeylerine Göre Kemometrik Sınıflandırılması, *Gıda*, 34: 157-164.
13. Dıraman H, Dibeklioğlu H. 2009. Characterization of Turkish virgin olive oils produced from early harvest olives. *J Am Oil Chem Soc*, 86: 663-674.
14. Bayrak A, Kıralan M, Çalikoğlu E, Kara H. 2010. Ege Bölgesi Zeytinyağlarının Aroma Profilleri ve Bazı Kalite Özelliklerinin Araştırılması. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi No: 08B4343006. (Kesin Sonuç Raporu). 95 sayfa. Ankara <http://acikarsiv.ankara.edu.tr/eng/browse/5687/>
15. Dıraman H, Özdemir D, Hışıl Y. 2011. Ayvalık ve Gemlik Zeytin Çeşitlerinden Üretilen Natürel Zeytinyağlarının Yağ Asitleri Bileşenlerine Göre Kemometrik Karakterizasyonu. *Dünya Gıda Sayı* 2011-9: 27-35.
16. Gökçebağ M, Dıraman H, Özdemir D. 2011. Classification of virgin olive oils from Aegean Region based on their triacylglycerol profiles by chemometrics (Poster) World Conference on Oilseed Processing, Fats & Oils Processing, Biofuels & Applications, In Abstract Book page: 47. 21-23 June 2011-Izmir, Turkey.
17. Stefanoudaki E, Kotsikafi F, Koutsafakis A. 1997. The potential of HPLC triglyceride profiles for the classification of Cretan olive oils. *Food Chem*, 60:425-432.
18. Stefanoudaki E, Kotsikafi F, Koutsafakis A. 1999. Classification of virgin olive oils of the two major Cretan Cultivars based on their fatty acid composition. *J Am Oil Chem Soc*, 76: 623-626.
19. Ollivier D, Artaud J, Pinatel C, Durbec JP, Guèrère M. 2003. Triacylglycerol and fatty acid compositions of French virgin olive oils. Characterisation by chemometrics. *J Agric Food Chem*, 51: 5723-5731.
20. Ollivier D, Artaud J, Pinatel C, Durbec JP, Guèrère M. 2006. Differentiation of French virgin olive oil RDO's by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. *Food Chem*, 97 :382-393.
21. Casas Sánchez J, Gordillo CM, Bueno EO, Exposito JM, Mendoza MF, Hierro TA, González LG, Cano MM. 2009. Characteristics of virgin olive oils from the olive zone of Extremadura (Spain), and an approximation to their varietal origin. *J Am Oil Chem Soc*, 86: 933-940
22. Boskou D. 1996. Olive Oil Chemistry and Technology. AOCS Press Champaign, Illinois.
23. Yılmaz, E., Ögütçü, M., 2012. Yakın Kızılötesi Spektroskopisinin (NIR) Tekniğinin Yemeklik Yağ Sektöründeki Kullanımları. *Dünya Gıda* Temmuz 2012, 07: 34-39.
24. Dupoy N, Le Dreau Y, Ollivier D, Artaud J, Pinatel C, Kister J. 2005. Origin of French virgin olive oil registered designation of origins predicted by chemometric analysis of synchronous excitation-emission fluorescence spectra. *J. Agric Food Chem*, 53: 9361-9368
25. Guimet F, Boqué R, Ferré J. 2005 a. Study of oils from the protected denomination of origin "Siurana" using excitation-emission fluorescence spectroscopy and three-way methods of analysis. *Grasas Aceites*, 56 (4): 292-297.
26. Guimet F, Ferré J, Boqué R. 2005 b. Rapid detection of olive-pomace oil adulteration in extra virgin olive oils from the protected denomination of origin "Siurana" using excitation-emission fluorescence spectroscopy and three-way methods of analysis. *Anal Chim Acta*, 544: 143-152.
27. Anonymous 1991. Standart Zeytin Çeşitleri Katoloğu. (Hazırlayan: Özgül Canözer) T.C. Tarım ve Köyüşleri Bakanlığı. TÜGEM. Mesleki Yayınlar Genel No: 334 Seri 16. Ankara.
28. Özilbey N. 2011. Zeytin Çeşitlerimiz. Sidas Yayıncılık No: 010- 1. İzmir
29. COI 2003. Trade Standard Applying to Olive Oils and Olive Pomace-Oils. COI T.15. Doc.no:3.25 June 2003. Madrid.
30. Anonymous 2010. Türk Gıda Kodeksi.- Zeytinyağı ve Prina Yağı Hakkında Tebliğ No: 2010 / 36-TC. Resmi Gazete 7 Ağustos ,2010. Sayı: 27665. Ankara.
31. Kiritsakis AK. 1998. Olive Oil: From the Tree to the Table. Food & Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut, USA.