

Zeytinyağların Yağ Asidi Alkil Esterleri, 1,2 Diasilgliserol ve Pigment İçeriğinin Tağşış Kriteri Olarak Uygulanabilirliği ve FTIR Spektroskopi ile Tahmini

Program Kodu: 1001

Proje No: 1150584

**Proje Yürütücüsü:
Prof.Dr. F. Banu ÖZEN**

Araştırmacı:

Prof. Dr. Figen TOKATLI

Bursiyerler:

Oğuz UNCU

Nagihan BAŞAK

ÖNSÖZ

Zeytinyağı ekonomik değeri yüksek bir gıda ürünü olarak sıklıkla çeşitli hilelere maruz kalmaktadır. Hile yöntemlerinin yaratıcılığı kalite ve tağşiş belirleme analizlerinin sürekli güncellenmesini gerektirmektedir. Bu amaçla son yıllarda zeytinyağların yağ asitleri alkil esterleri, diasilgliserol ve pigment profilleri üzerinde araştırmalar sürmektedir. Tübitak tarafından desteklenen bu proje (Tübitak TOVAG 115O584) ile Ege Bölgesinden elde edilen yağların yağ asitleri alkil esterleri, diasilgliserol ve pigment profilleri tespit edilmiş ve FTIR spektraları toplanmıştır. Bu verilerin bölgesel sınıflamada ve eski-yeni zeytinyağı karışımlarının belirlenmesinde kullanılabilirliği araştırılmış ve FTIR spektrasından sözü edilen kimyasal parametreleri tahmin edebilmek için istatistiksel modeller oluşturulmuştur. Bu çalışma bir yüksek lisans ve bir doktora tezinin konularını oluşturmuş ayrıca projelerden elde edilen veriler ile şu ana kadar iki ulusal ve dört uluslararası konferansda sunulan bildiriler hazırlanmıştır.

Bu projede kullanılan zeytinyağı örneklerinin bir kısmını sağlayan S.S TARİŞ Zeytin ve Zeytinyağı Tarım Satış Kooperatifleri Birliğine, kimyasal analizlerde destek sağlayan İYTE BİYOMER ve Çevre Geliştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezine ve maddi destek sağlayan Tübitak'a teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ŞEKİLLER.....	iv
TABLolar.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	1
2.1 Zeytinyağında Tağşış.....	1
2.2 Zeytinyağında Kimyasal Tağşış Belirleme Yöntemleri.....	3
2.3 FTIR Spektroskopi ve Kemometrik Tekniklerle Zeytinyağlarında Tağşış ve Kalite Kriterleri Belirleme.....	5
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	7
3.1 Örnekleme.....	7
3.2 Kimyasal Analizler.....	8
3.2.1 Serbest Yağ Asitliğı.....	8
3.2.2 K İndeksleri.....	9
3.2.3 Yağ Asitleri Profilli.....	9
3.2.4 Yağ Asitleri Alkil ve Etil Esterleri.....	9
3.2.5 Diasilgliserol İçeriğı.....	9
3.2.6 Klorofil ve Karoten Tayini.....	10
3.2.7 Fourier Transform İnfrared Spektroskopi.....	10
3.2.8 Tağşış Çalışmaları.....	10
3.3 İstatistiksel Analizler.....	10
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	11
4.1 Zeytinyağların Kimyasal ve Spektroskopik Karakterizasyonu.....	12
4.1.1 Yağ Asitleri Profilleri.....	12
4.1.2 Yağ Asitleri Alkil Esterleri.....	17
4.1.3 Diasilgliserol Profilleri.....	21

4.1.4	Pigment İçerikleri	24
4.1.5	FTIR Profilleri.....	28
4.2	Kimyasal Parametrelerin Orta Bölge Infrared Spektroskopi ile Tahmini	31
4.3	Tağışış Çalışmaları	39
5.	SONUÇLAR	49
	KAYNAKLAR.....	51

ŞEKİLLER

Şekil 1. Zeytinyağı örneklerinin toplandığı yerleri gösteren harita (Google haritaları, 2017)....	7
Şekil 2. 2015/16 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri profilleri verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri	16
Şekil 3. 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri profilleri verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri	16
Şekil 4. 2015/16 ve 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri profilleri verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri.....	17
Şekil 5. 2015/16 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri profilleri ve mumsu madde verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri	18
Şekil 6. 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri profilleri ve mumsu madde verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri	19
Şekil 7. 2015/16 ve 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri alkil esterleri ve mumsu madde verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri	19
Şekil 8. 2015/16 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin diasilgliserol verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri	23
Şekil 9. 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin diasilgliserol verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri	23
Şekil 10. 2015/16 ve 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin diasilgliserol verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri	24
Şekil 11. 2015/16 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin pigment profilleri verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri	27
Şekil 12. 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin pigment profilleri verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri	27
Şekil 13. 2015/16 ve 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin pigment profilleri verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri	28
Şekil 14. Kuzey, Güney ve Orta Ege'ye ait zeytinyağlarının FTIR spektraları	29
Şekil 15. 2015/16 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin FTIR spektra verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor grafiği	30
Şekil 16. 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin FTIR spektra verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor grafiği	30
Şekil 17. 2015/16 ve 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin FTIR spektra verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri	31
Şekil 18. Zeytinyağların yağ asitleri alkil ester miktarlarının FTIR spektra verilerinden tahminini gösteren PLS regresyon grafikleri	33

Şekil 19. Zeytinyağların klorofil ve karotenoid miktarlarının FTIR spektra verilerinden tahminini gösteren PLS regresyon grafikleri	36
Şekil 20. Zeytinyağların diasilgliserol miktarlarının FTIR spektra verilerinden tahminini gösteren PLS regresyon grafikleri	38
Şekil 21. 2014/2015 hasat yılına ait eski zeytinyağın Kuzey ve Güney Ege yağlarına %10-50 oranında karıştırılması sonucu elde edilen yağların yağ asitleri profil verileri kullanılarak PCA ile oluşturulan modelinin skor ve değişken grafikleri	41
Şekil 22. 2014/2015 hasat yılına ait eski zeytinyağın Kuzey ve Güney Ege yağlarına %10-50 oranında karıştırılması sonucu elde edilen yağların yağ asitleri alkil ester içeriği verileri kullanılarak PCA ile oluşturulan modelinin a) skor ve b) değişken grafikleri	42
Şekil 23. 2014/2015 hasat yılına ait eski zeytinyağın Kuzey ve Güney Ege yağlarına %10-50 oranında karıştırılması sonucu elde edilen yağların diasilgliserol verileri kullanılarak PCA ile oluşturulan modelinin skor ve değişken grafikleri	44
Şekil 24. 2014/2015 hasat yılına ait eski zeytinyağın Kuzey ve Güney Ege yağlarına %10-50 oranında karıştırılması sonucu elde edilen yağların pigment içeriği verileri kullanılarak PCA ile oluşturulan modelinin skor ve değişken grafikleri	45
Şekil 25. Yeni Kuzey Ege karışımı ve yeni Ege Güney karışımı, eski, Kuzey + eski (%50), Güney + eski (%50) zeytinyağlarının 4000-650 cm^{-1} bölgesinde FTIR spektraları	46
Şekil 26. 2014/2015 hasat yılına ait zeytinyağın Kuzey ve Güney Ege yağlarına %10-50 oranında karıştırılması sonucu elde edilen yağların ikinci türevi alınmış FTIR spektroskopi verileri kullanılarak PCA ile oluşturulan modelinin skor ve değişken grafikleri	47
Şekil 27. Değişik yüzdelerde eski-yeni yağ karışımlarının FTIR spektra verilerinin OPLS-DA skor grafiği	48
Şekil 28. Eski-yeni yağ karışımlarının FTIR spektra verilerinin PLS regresyon tekniği ile analizi sonucu elde edilen taşıyıcı yüzdesi tahmin grafiği	49

TABLULAR

Tablo 1. Zeytinyağı örneklerinin hasat yılına göre kodları ve elde edildikleri yerler	8
Tablo 2. Kuzey, Güney ve Orta Ege Bölgeleri zeytinyağı örneklerinin iki hasat yılında (2015/16 ve 2016/17) belirlenen serbest yağ asitliği (SYA, %), K232 ve K270 değerleri	14
Tablo 3. Kuzey, Güney ve Orta Ege Bölgeleri zeytinyağı örneklerinin iki hasat yılında (2015/16 ve 2016/17) belirlenen yağ asitleri profilleri	15
Tablo 4. Kuzey, Güney ve Orta Ege Bölgeleri zeytinyağı örneklerinin iki hasat yılında (2015/16 ve 2016/17) belirlenen yağ asitleri alkil esterleri (FAAE), yağ asitleri metil esterleri (FAME), yağ asitleri etil esterleri (FAEE) ve mumsu madde miktarları (mg/kg)	20
Tablo 5. Kuzey, Güney ve Orta Ege Bölgeleri zeytinyağı örneklerinin iki hasat yılında (2015/16 ve 2016/17) belirlenen diasilgliserol profilleri (%)	22
Tablo 6. Kuzey, Güney ve Orta Ege bölgeleri zeytinyağı örneklerinin iki hasat yılında (2015/16 ve 2016/17) belirlenen pigment profilleri (mg/kg)	26
Tablo 7. Zeytinyağı yağ asitleri alkil esterlerinin FTIR spektra verilerinden tahmini için oluşturulan PLS regresyon modellerinin istatistiksel sonuçları.....	32
Tablo 8. Zeytinyağların klorofil ve karoten miktarlarının FTIR spektra verilerinden tahmini için oluşturulan PLS regresyon modellerinin istatistiksel sonuçları.....	36
Tablo 9. Zeytinyağların diasilgliserol miktarlarının FTIR spektra verilerinden tahmini için oluşturulan PLS regresyon modellerinin istatistiksel sonuçları.....	37
Tablo 10. 2014/15'e ait zeytinyağının 2015/16 hasat yılına ait Kuzey ve Güney Ege zeytinyağlarına eklendiğinde elde edilen karışımların serbest yağ asitliği (SYA), K232 ve K270 değerleri	39
Tablo 11. 2014/15'e ait zeytinyağının 2015/16 hasat yılına ait Kuzey ve Güney Ege zeytinyağlarına eklendiğinde elde edilen karışımların yağ asitleri profilleri	40
Tablo 12. 2014/15'e ait zeytinyağının 2015/16 hasat yılına ait Kuzey ve Güney Ege zeytinyağlarına eklendiğinde elde edilen karışımların yağ asitleri toplam metil ester (FAME), toplam etil ester (FAEE), toplam alkil ester (FAAE) ve mumsu madde değerleri (mg/kg).....	42
Tablo 13. 2014/15'e ait zeytinyağının 2015/16 hasat yılına ait Kuzey ve Güney Ege zeytinyağlarına eklendiğinde elde edilen karışımların diasilgliserol profilleri (%).....	43
Tablo 14. 2014/15'e ait zeytinyağının 2015/16 hasat yılına ait Kuzey ve Güney Ege zeytinyağlarına eklendiğinde elde edilen karışımların pigment içerikleri (mg/kg).....	45

ÖZET

Zeytinyağı ekonomik değeri yüksek bir ürün olması nedeni ile sıklıkla tağşışe maruz kalmaktadır. Bu nedenle sıkı bir rekabetin olduğı zeytinyağı sektöründe kalite kontrol ve tağşış tespit yöntemleri sürekli güncellenmek durumundadır. Bu çalışma ile son zamanlarda önerilen kalite ve tağşış kriterlerinden yağ asitleri alkil esterleri (FAAE), diasilgliserol (DAG) ve pigment içeriklerinin Ege bölgesi zeytinyağları için iki hasat yılı boyunca belirlenmesi, belirtilen kimyasal parametrelerin sızma zeytinyağlarının bekletilmiş/eski zeytinyağları ile tağşışinin tespiti için yeterliliğinin incelenmesi, ve son olarak zeytinyağ örneklerinin orta-bölge infrared (mid-IR veya FTIR) spektroskopi ile spektralarının elde edilmesi ve bu spektrallardan belirtilen kalite parametrelerinin tahmini için kemometrik analizler uygulanması amaçlanmıştır.

Zeytinyağların elde edildiğı bölgelere göre bir ayırım FAAE içerik ve DAG profil verilerinin kemometrik analizleri ile elde edilememiştir. Ancak pigment içeriğı ve FTIR spektraları bölgesel olarak zeytinyağı örneklerini sınıflandırmada başarılı olmuştur. FTIR spektroskopi kemometrik yöntemlerle beraber kullanıldığında zeytinyağlarının FAAE, DAG ve bazı pigment içeriklerini R^2 (model) değerleri 0,9 ve üstü olan modellerle tahmin edebilmektedir. Eski-yeni karışım zeytinyağlarının belirlenebilmesi FAAE ve DAG içerikleri ve FTIR spektroskopi ile mümkündür. FTIR spektroskopi, bölgesel ayırım gözetmeksizin eski-yeni karışım zeytinyağlarını %20-30 seviyelerinde tespit edebilmektedir.

FTIR spektroskopi hem zeytinyağlarının bölgesel olarak sınıflandırılmasında hem de eski-yeni zeytinyağlarının makul seviyelerde belirlenmesinde kullanılabilir çabuk sonuç verebilen bir teknik olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca bu analiz yöntemi zeytinyağların kalite parametreleri olarak kullanılabilir FAAE, DAG ve pigment içeriklerini belirlemede bir alternatif oluşturabilecektir.

Anahtar sözcükler: zeytinyağı, tağşış, FTIR spektroskopi, yağ asitleri alkil esterleri, diasilgliserol, klorofil, karoten

ABSTRACT

Olive oil is a product which is oftenly adulterated because of its high economic value. Therefore, quality control and adulteration detection methods are continuously updated in a highly competitive olive oil sector. With this study, it is aimed at determining recently proposed quality and adulteration criteria, fatty acid alkyl esters (FAAE), diacylglycerol (DAG) and pigment composition for Aegean Region olive oils for two harvest years, investigating the appropriateness of these chemical parameters for detection of old and fresh olive oil mixtures and finally obtaining the mid-infrared (mid-IR or FTIR) spectra of oil samples and applying the multivariate statistical analysis techniques to predict these quality parameters from the spectra.

A discrimination between olive oils with respect to their cultivation area could not be obtained with chemometric analysis of FAAE content and DAG profile data. However, pigment spectra were succesful in classification of olive oil samples depending on their cultivation area. FAAE, DAG and pigment contents of olive oils could be predicted with models having R^2 (model) of 0.9 and higher using FTIR spectroscopy in combination with chemometric techniques. It is possible to determine old-new olive oil mixtures with FAAE and DAG contents and FTIR spectroscopy. Regardless of regional differences, FTIR spectroscopy could detect old-new olive oil mixtures at 20-30% level.

FTIR spectroscopy arises as a technique which could not only differentiate olive oils depending on their cultivation area but also detect old-new olive oil mixtures at reasonable levels. In addition, this technique could be an alternative for determining FAAE, DAG and pigment contents as olive oil quality parameters.

Keywords: olive oil, adulteration, FTIR spectroscopy, fatty acid alkyl esters, diacylglycerol, chlorophyll, caroten

1. GİRİŞ

Zeytinyağı endüstrisinde tağşış hem çok sık rastlanan hem de çözüümü zor bir problemdir. Bu nedenle tağşış tespit edecek yöntemlerin geliştirilmesi zeytinyağı piyasası ve tüketiciler açısından önemlidir. Tağşış tespiti için resmi ve resmi olmayan değışik analitik yöntemler bulunmaktadır. Ancak gelişmelere rağmen bu yöntemler, tağşışli ürünleri hazırlayanların yaratıcılığının gerisinde kalabilmektedir. Bu nedenle yeni ölçütlere ve yeni yöntemlere her zaman ihtiyaç duyulmaktadır. Yağın üretildiğı zeytin çeşidi ve zeytinin yetiştirildiğı bölgeler gibi faktörler de tağşış belirleyen parametrelerde değışkenliğe sebep olabilmektedir. Zeytinyağında tağşış diğey yemeklik yağlarla karıştırılma şeklinde olabileceğı gibi ekonomik değeri daha az zeytinyağlarını daha kaliteli zeytinyağlara eklemekle de olabilir. Özellikle Avrupa Birliğı'nde zeytinyağının etiketlenmesi ile ilgili son yönetmelik güncellemelerinden sonra önceki hasat yıllarından kalan zeytinyağları ile taze yağların karışımının belirlenmesi ihtiyacı doğmaktadır.

Son zamanlarda yağ asitleri alkil esterleri (FAAE), diasilgliseroller (DAG) ve pigmentler gibi kimyasal bileşenler, zeytinyağının kalitesini belirleyici ve tağşış tespit etme parametreleri olarak önerilmiş ve bunlardan bazıları yönetmeliklerde standart yöntemler olarak yer almıştır. Ancak literatürde Türk yağlarına ait bu ölçütlerin belirlendiğı çalışmalara rastlanmamıştır veya sınırlı sayıda çalışma vardır.

Bu çalışmanın ilk amacı son zamanlarda kalite ve tağşış belirleme kriteri olarak önerilen FAAE, DAG ve pigment içeriklerinin Türkiye'de en önemli zeytinyağı üreticisi olan Ege Bölgesi zeytinyağları için belirlenmesidir. Zahmetli yöntemlerle belirlenen bu bileşenlerin, ön örnek hazırlama işlemlerine gerek duyulmayan, çabuk sonuç verebilen ve minimum seviyede atık üreten bir yöntem olan orta bölge infrared (mid-IR) spektroskopisi ile tahmin edilebilmesi diğey bir amaçtır. Aynı zamanda bir tağşış yöntemi olan bekletilmiş yağlarla taze sızma yağların karıştırılmasında sözü edilen kalite kriterlerinin uygulanabilirliğı de araştırılmıştır.

Yukarıda sözü edilen amaçlar doğrultusunda Ege Bölgesinin çeşitli yerlerinden temin edilen zeytinyağlarının, yağ asitleri alkil esterleri, diasilgliserol ve pigment içerikleri iki hasat yılı boyunca belirlenmiştir. Ayrıca bu yağların orta bölge infrared spektraları elde edilmiş ve spektralar, bu kriterlerin çok değışkenli istatistiksel yöntemlerle tahmininde kullanılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Zeytinyağında Tağşış

Zeytinyağının özellikle son yıllarda artan hızla yapılan bilimsel çalışmalara kanıtlanan bir çok pozitif sağlık etkisi ekonomik değeri de yükselmesine neden olmuştur. Önceden

sadece Akdeniz ülkelerinde yetiştirilen zeytin meyvesinden elde edilen zeytinyağı için artan talep bu üründe sahteciliğin çok sık görülen bir durum olmasına neden olmaktadır. Bu da tüketicilerin bu ürün için güven kaybına sebebiyet vermektedir. Zeytinyağında tağışış çeşitli şekillerde yapılabilmektedir. Tağışışın bir türü, belirli bir bölgede yetiştirilen ve/veya belirli bir varyete zeytinden (monovaryetal) elde edilen ekonomik değeri yüksek yağlara başka zeytinyağlarının eklenmesidir. Daha sık karşılaşılan durum ise zeytinyağının ayçiçek ya da mısır yağları gibi başka bitkisel yağlarla karıştırılmasıdır. Ayrıca natürel sızma zeytinyağlarına düşük kaliteli zeytinyağlarının eklenmesi de diğer bir tağışış yöntemidir. Yüksek asitliğe sahip lampant veya önceki sezonlardan kalan bekletilmiş zeytinyağları düşük kaliteli yağlara örnek gösterilebilir (Ozen ve Tokatli, 2012). AB'nin 2012 tarihli bir yönetmeliğine (EU 29/2012) göre üreticiler zeytinyağı etiketlerine ancak o ürünün %100'ü o yıl içerisinde üretilmiş ise bu tarihi koyabileceklerdir. Bu durumda da sektörde yapılagelen ve taze zeytinyağların önceki yıllardan kalan zeytinyağları ile karıştırma ile elde edilen zeytinyağları da tağışış kapsamına girmektedir.

Zeytinyağı üreten ülkeler ve onların oluşturduğu International Olive Council (IOC) gibi organizasyonlar kalitenin korunması ve tağışışın engellenebilmesi için kalite kriterlerini ve analizlerini sürekli olarak güncellemektedir. Halihazırda kullanılan yöntemler incelendiğinde görülebileceği gibi genel olarak kalite ve tağışış belirleyen metotlar birbirleriyle iç içe geçmiş durumdadır. Ancak bu yöntemlerin ve kriterlerin belirlenebilmesi çeşitli sebeplerle bir çok sorun taşımaktadır.

Bu sorunlardan ilki; artık yalnızca Akdeniz ülkelerinde değil Şili ve Arjantin gibi Amerika kıtası ülkelerinde veya Avustralya, Çin ve İran gibi ülkelerde de zeytin yetiştirilmeye başlanması ve bunun sonucu olarak da zeytin tipine ve yetiştirildiği bölgeye göre zeytinyağı kompozisyonunda farklılıklar ortaya çıkmasıdır. Bazı yağlar herhangi bir karıştırmaya maruz kalmadığı halde kriterlerin dışında kalabilmektedir. Aslında kalite ve tağışış kriterleri genel olarak Avrupa yağlarına göre belirlendiğinden bu bölge dışında elde edilen bazı yağların kompozisyonlarında kriterlerden farklılıklar gözlenebilmektedir. Diğer bir sorun ise sahtecilik yapanların oldukça yaratıcı olması ve zeytinyağına eklendiğinde fark edilemeyecek karışımlar elde edebilmeleridir. Bu nedenlerle zeytinyağı için sürekli yeni kalite ve tağışış kriterleri belirlenmektedir (Aparicio vd., 2013).

Zeytinyağında kalite ve tağışış belirleme genel olarak klasik kimyasal analiz teknikleri kullanılarak yapılmaktadır. Literatüre bakıldığında tağışış çalışmalarının iki başlık altında toplandığı görülmektedir: hedefe yönelik ve profil elde etme yoluyla tağışış belirleme (Aparicio vd., 2013). Hedefe yönelik analizler zeytinyağı içeriğini oluşturan bileşenlerin fraksiyonu sonucu sterol gibi belirli bileşenlerin belirlenmesi temeline dayanmaktadır. Diğer yaklaşımda ise amaç titreşimsel spektroskopik yöntemler (orta bölge infrared, yakın bölge infrared ve Raman spektroskopisi) gibi tekniklerle genel moleküler yapı profilini elde etmektir. Hedefe

yönelik teknikler belirlenecek bileşiklerin analizinde oldukça doğru sonuçlar vermekle birlikte uzun analiz süreleri, yüksek maliyet ve toksik atık üretme kapasiteleri gibi dezavantajlara sahiptirler. Profil analizleri ise genellikle bu sorunlara sahip olmayan alternatif yöntemler olabilmeye potansiyelindedirler.

2.2 Zeytinyağında Kimyasal Tağış Belirleme Yöntemleri

Zeytinyağında resmi olarak kullanılan kalite kriterleri ve tağış belirleme yöntemleri genellikle kimyasal yöntemlerle çeşitli zeytinyağı bileşenlerinin belirlenmesine dayanmaktadır. Buna sterol profilinin belirlenmesi örnek olarak gösterilebilir. Ancak yukarıda açıklanan nedenlerden dolayı halihazırda kullanılan yöntemlere alternatifler geliştirilmesi devamlı gündemde olan bir durumdur. Son yıllarda bu amaçla özellikle zeytinyağının FAAE, DAG ve pigment içerikleri üzerinde durulmaktadır (European Union, 2013).

FAAE, yağların mumsu madde fraksiyonundaki yağ asitleri metil (FAME) ve etil (FAEE) esterlerinin toplamını oluşturur. FAAE, serbest yağ asitlerinin düşük molekül ağırlıklı etanol veya metanol gibi alkoller ile asit ortamında reaksiyonu sonucu oluşurlar ve bu reaksiyon bazı enzimlerce de kataliz edilir. Düşük kaliteli zeytinlerde hücresel hasar sonucu pektin parçalanır ve metanol açığa çıkar. Oluşan alkol yine kötü koşullarda saklama veya hasarlı zeytinlerde oluşabilecek yağ asitleri hidrolizi ile ortaya çıkan serbest yağ asitleri ile esterifikasyon reaksiyonuna girebilir (Gomez-Coca vd., 2016). FAAE, kaliteli olmayan zeytinlerin bozunması ve fermentasyonu sonucu oluşabileceği gibi yağın deodorizasyonu sırasında sıcaklığın etkisi ile de ortaya çıkabilir. Bu nedenle FAAE hem zeytinyağının kalitesini hem de sızma zeytinyağının rafine zeytinyağı ile karıştırılmasını gösteren bir parametre olarak düşünülmektedir (Berardinelli vd., 2013). FAAE içeriği 2011 itibari ile AB tarafından resmi olarak zeytinyağı kalite kriterlerine eklenmiştir (EC Reg. 61/2011). Bu yönetmeliğin ilk şekline göre sızma zeytinyağında FAME ve FAEE toplamı 75 mg/kg'ı geçemez. Eğer toplam 75 ile 150 mg/kg aralığında ise yağ, sızma sınıfına ancak FAEE/FAME oranı 1,5 ise girebilir. Yapılan araştırmalar (Gomez-Coca vd., 2012) FAEE içeriğinin daha güvenilir bir indikatör olduğunu gösterdiğinden sadece FAEE değerlerinin baz alınması ve 2015 hasat yılından sonrası için bu değerin 30 mg/kg'ın altında olması kararlaştırılmıştır.

İspanya'da ve İtalya'da değişik zeytin türlerinden üretilen zeytinyağların FAME, FAEE ve FAME/FAEE miktarları belirlenmiştir (Perez-Camino vd., 2008; Valli vd., 2013) ve İspanya'da 100 zeytinyağı örneği ile yapılan bu çalışma AB'nin bu konudaki düzenlemesi için bir referans oluşturmuştur. Zeytinin yağ üretilmeden önce değişik koşullarda ve sürelerde saklanması FAAE miktarı üzerine etkileri de araştırılmıştır ve alkil esterlerin miktarlarının depolanma sırasında arttığı gözlenmiştir ve bu artışın oranı yağ eldesinden önce zeytinlerin saklama koşullarına bağlı olduğu da bildirilmiştir (Jabeur vd., 2015). Ayrıca sözü edilen kalite

parametresinin, zeytinyağları deodorize yağlardan ayırmak için iyi bir indiktor olduğu da gösterilmiştir (Jabeur vd., 2015; Perez-Camino vd., 2008).

1,2 diasilgliserol (1,2 DAG) izomerleri, yağlarda triasilgliserollerin tamamlanmamış sentezleri sonucunda ortaya çıkarken 1,3 izomerler ise triasilgliserollerin enzimatik ya da kimyasal hidrolizi sırasında oluşur. Bunun sonucu olarak kaliteli ve taze zeytinyağlarında hemen hemen sadece ve %1-3 oranında 1,2 DAG bulunurken düşük kaliteli yağlarda daha çok 1,3 izomerler bulunur. Rafine edilmiş zeytinyağlarında ise 1,3/1,2 DAG oranında bir artış gözlenmiştir. Bu nedenlerle 1,2 DAG içeriği de zeytinyağları için başka bir kalite kriteri olarak önerilmiştir. DAG içeriği ile ilgili sınırlamalar sadece Avusturalya ve A.B.D. zeytinyağı standartlarında bulunmaktadır ve minimum 1,2 DAG seviyesi natürel sızma yağ için %35 olarak belirlenmiştir. Çeşitli zeytin tiplerinden elde edilen İspanyol ve Avustralya zeytin yağları için 1,2 DAG oranları belirlenmiştir (Guillaume vd., 2014; Perez-Camino vd., 2001). Sağlıklı ve sağlıksız zeytinlerden üretilen zeytinyağların 1,2 DAG kompozisyonları tespit edilmiş ve değişik saklama koşullarının zeytinyağlarının 1,2 DAG içeriği üzerine etkileri de incelenmiştir (Guillaume vd., 2014; Perez-Camino vd., 2001). Normal depolama şartlarında 24 aylık süre boyunca zeytinyağların 1,2 DAG içeriğinin ortalama olarak %23 civarında düştüğü tespit edilmiştir ve bu parametrenin zeytinyağların tazelik ve kalitesini belirlemede iyi bir gösterge olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca 1,2 DAG'nin sızma yağları, deodorize yağlardan ayırmak için kullanılabileceği gösterilmiştir. Literatürde Türk zeytinyağlarının 1, 2 DAG içeriği ile ilgili verilere tek bir çalışmada rastlanmıştır ve bu çalışmada 4 zeytin çeşidinden elde edilen zeytinyağlarının tokoferol, sterol ve yağ asitleri içeriği gibi özelliklerinin yanısıra toplam 1,2 ve 1,3 DAG içeriği de belirlenmiştir (Matthaus ve Özcan, 2011).

Zeytinden yağa geçen pigmentler sadece klorofil ve karotenlerdir ve bu pigmentler zeytinyağında taşıdığı belirleme potansiyeline sahip diğer bileşiklerdir. Bunlar arasında klorofil bozunma ürünlerinin önemi özellikle vurgulanmıştır. Ayrıca karotenlerin de bu potansiyele sahip olabileceği ancak zeytin tiplerine göre daha çok veriye ihtiyaç duyulduğu ortaya konmuştur (European Union, 2013). Sızma zeytinyağında pigment içeriği, yağın elde edildiği zeytinin tipi, olgunluk derecesi ve yetiştirildiği bölge gibi faktörlere bağlı olarak farklılıklar gösterebilir (Cichelli ve Pertesana, 2004, Morello vd., 2004, Salvador vd., 2001). Ayrıca pigmentler, zeytinin işlenmesi ve zeytinyağının depolanması sırasında ışık, sıcaklık ve O₂ gibi etkenlerden dolayı bozunmaya uğrayabilir. Klorofil, özellikle işleme ve depolama sırasında feofitin a ve b'ye dönüşür ve feofitin a genellikle dominant bileşiktir. Uygun olmayan koşullarda saklama sonucu da pirofeofitinler oluşur (Lazzerini vd., 2016). Pirofeofitin a'nın toplam feofitine oranı zeytinyağında tazelik göstergesi olarak kullanılmaktadır ve bu oran Avustralya ve A.B.D. zeytinyağı standartlarında natürel sızma zeytinyağı için %17 olarak belirlenmiştir (Bajoub vd., 2016). Sızma zeytinyağında bulunan başlıca karotenoidler ise lutein ve β-karotendir.

Literatürde ticari öneme sahip bir çok İtalyan, İspanyol, Yunan ve Tunus yağlarına ait pigment verileri bulunmaktadır (Guiffreda vd., 2007; Criado vd., 2008; Baccouri vd., 2008). Birkaç çalışmada da karotenlerin ve klorofil ve türevlerinin değişik saklama koşullarına bağlı olarak değişimi de incelenmiştir (Li vd., 2014; Guillaume vd., 2014; Serrano vd., 2016). Türk zeytinyağlarının klorofil içeriği konusunda kısıtlı sayıda yayın bulunurken (Dıraman ve Dibeklioğlu, 2009) karotenoid içeriği ile ilgili bilgiye rastlanmamıştır.

2.3 FTIR Spektroskopi ve Kemometrik Tekniklerle Zeytinyağlarında Tağış ve Kalite Kriterleri Belirleme

Titreşimsel bir spektroskopik teknik olarak orta bölge infrared (mid-IR) spektroskopi tekniği elektromanyetik spektrumun $4000-400\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde yer almaktadır ve organik bileşiklerin nitel ve nicel özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bu spektroskopik teknik organik bileşiklerdeki belirli atomik grupların mid-IR aralığında spesifik titreşimsel modlar sergilemesi esasına dayanır. Örnekleme tekniği ve enstrümandaki ilerlemeler ve ayrıca kemometrik tekniklerin veri analizlerinde kullanılması bu yöntemin uygulama alanlarının da daha geniş spektruma yayılmasını sağlamıştır. Bu spektroskopik teknik gerek ön örnek hazırlama aşamasını en aza indirmesi nedeniyle minimum kimyasal gereksinimi ve gerekse de kısa analiz zamanı ile kimyasal analizlerde büyük fayda sağlayabilmektedir.

Kemometri, çok boyutlu bir veri setinin boyutlarının çok değişkenli istatistiksel yöntemler kullanılarak düşürülüp yararlı kimyasal bilgiler elde edilmesi olarak tanımlanabilir ve özellikle mid-IR spektroskopi verilerinin değerlendirmesinde oldukça iyi sonuçlar verebilen bir yöntemdir. Kemometrik yöntemler çeşitli şekillerde veri analizinde kullanılabilir:

- Nitel analiz: Verilerin görsel olarak açıklanmasında asal bileşenler analizi (principal component analysis, PCA) veya hiyerarşik küme analizi (hierarchical cluster analysis, HCA) kullanılabileceği gibi sınıflama tekniği olarak en küçük kısmi kareler ayrıştırma analizi (partial least square discriminant analysis, PLS-DA) veya lineer ayrıştırma analizi (linear discriminant analysis, LDA) kullanılmaktadır. Bu tür analizler ürünlerin ne kadar birbirlerine benzedikleri ya da materyallerin davranışlarının ne kadar benzer oldukları gibi bilgiler sağlayabilirler. Analiz çıktıları olarak skor ve değişken grafikleri elde edilebilir. Skor grafikleri (score plots) örneklerin birbirlerine göre durumlarını gösterirken değişken grafikleri (loading plots) değişkenlerin, örneklerin konumlandırılmasında nasıl etkili olduklarını gösterir.

- Nicel analiz: Bileşiklerin içeriklerinin tahminlerinde en küçük kısmi kareler regresyon analizi (partial least square, PLS) veya asal bileşenler regresyonu (principal component regression, PCR) gibi yöntemler uygulanmaktadır. Bu teknikler, analizlerden elde edilen verilerin örneklerdeki bileşiklerin konsantrasyonları ile ilişkilendirilmesinde kullanılabilir. Karışımların bileşimlerinin belirlenmesi buna bir örnektir. Diğer bir uygulama alanı ise herhangi

bir yöntemle elde edilen verilerin başka bir yöntemle tahminidir. Bu uygulamaya da örnek olarak kromatografik olarak elde edilen verilerin UV veya infrared spektra verilerinden tahmini gösterilebilir.

Literatürde değişik kategorilerdeki zeytinyağ taşımasının belirlenmesinde mid-IR spektroskopinin kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar görülebilir. Tek tip zeytinden elde edildiği belirtilmesine rağmen değişik tür zeytinden elde edilen yağ karışımlarının belirlenmesinde FTIR spektroskopi başarılı sonuçlar vermiştir (Gurdeniz vd., 2007). Sözü edilen çalışmada PCA ile elde edildikleri zeytin türüne göre yağların sınıflandırması yapılmış ve değişik zeytin türlerinden elde edilen zeytinyağı karışımların karışım yüzdeleri de PLS regresyonla belirlenmiştir. Sızma zeytinyağların daha düşük kaliteli pirina, rafine ve deodorize yağlarla karıştırılmasının tespiti için near-IR, mid-IR ve Raman spektroskopisi kullanılmış ve bu teknikler PLS regresyon analizi ile birlikte kullanıldığında yine karışımları büyük doğrulukla tespit edebilmişlerdir (Yang ve Irudayaraj, 2001). Diğer bir taşış türü olan zeytinyağların daha ucuz bitkisel yağlarla (soya, mısır, ayçiçek vb.) karışımlarının belirlenmesinde FTIR spektroskopinin kullanımı konusunda daha fazla çalışma bulunmaktadır ve ayçiçek, mısır, soya, kanola ve pamuk yağları gibi zeytinyağlara eklenen değişik yağların tespitinde genel olarak oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Sun vd., 2015; Vasconcelos vd., 2015; Rohman vd., 2014; Oussama vd., 2012; Lerma-García vd., 2010; Gurdeniz ve Ozen, 2009; Obeidat vd., 2009). Bu yöntemle taşış belirlemede %2 gibi seviyelerde dahi tespit yapılabilmektedir (Gurdeniz ve Ozen, 2009). Kemometrik sınıflama yöntemleri, karıştırılmış ve saf yağların ayırımında kullanılabildiği gibi nicel kemometrik analiz teknikleri de taşış seviyesinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Gurdeniz ve Ozen, 2009).

Ayrıca mid-IR spektroskopi verilerinin kemometrik analizi, elde edilen spektraldan aynı anda birçok kimyasal parametrenin belirlenebilmesine de olanak tanımaktadır. FTIR spektroskopinin, yağların yağ asitleri kompozisyonu ve serbest yağ asitliği gibi değerlerinin belirlenmesinde doğru sonuçlar verdiği görülmektedir (Gurdeniz vd., 2010; Maggio vd., 2009; Christy ve Egeberg, 2006; Uncu ve Ozen, 2015). Bu çalışmalarda, zeytinyağların oleik ve linoleik asit gibi başlıca yağ asitlerinin ve toplam doymuş ve çoklu doymamış yağ asitlerinin tahmininde R^2 0.9 ve üstü değerlerde oluşturulan modellerle oldukça başarılı sonuçlar verdiği konusunda fikir birliğine varılmıştır. Literatürde yağ asitleri alkil esterlerinin FTIR ile belirlenmesi ile ilgili bir yöntem mevcuttur. Ancak bu çalışma çok kısıtlı sayıda örnekle gerçekleştirilmiş bir ön çalışma niteliğindedir (Valli vd., 2012). Bu tür tahmin çalışmalarında kemometrik yöntem olarak genellikle PLS regresyon kullanılmıştır. Bu projede belirlenmesi hedeflenen 1,2 DAG, klorofil bozunma ürünleri ve karotenlerin FTIR spektroskopi ile tahmini amacı ile yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Örnekleme

Zeytinyağı örnekleri, 2015/16 ve 2016/17 hasat sezonlarında Kuzey, Orta ve Güney Ege olarak adlandırılan alanlardan toplanmıştır (Şekil 1). Kuzey Ege Bölgesi zeytinyağları Ayvalık/Edremit zeytin çeşidinden elde edilen yağlardır. Orta Ege Bölgesi'nde ağırlıklı olarak Erkenca zeytin tipine ait yağlar bulunmaktadır. Güney Ege zeytinyağları ise çoklukla Memecik zeytinlerinden elde edilmektedir. İlk ve ikinci hasat sezonlarında örnek sayıları sırasıyla 54 ve 37 olmak üzere toplam 91 örnek analizi yapılmıştır. İkinci hasat yılında daha az örnekle çalışılmasının sebebi 2016/17 döneminde oluşan değişik iklim koşulları ve zeytinlerde görülen hastalık nedeniyle üretimin bazı bölgelerde sınırlı olmasıdır. Örneklerin kodlamaları ve elde edildikleri yerler Tablo 1'de listelenmiştir. Örnekler, cam şişelerde, tepe boşlukları azotlanarak buzdolabında saklanmıştır.



Şekil 1. Zeytinyağı örneklerinin toplandığı yerleri gösteren harita (Google haritaları, 2017)

Tablo 1. Zeytinyağı örneklerinin hasat yılına göre kodları ve elde edildikleri yerler

2015/16				2016/17			
Kod*	Yer	Kod*	Yer	Kod*	Yer	Kod*	Yer
M1-1	Karareis	N1-18	Küçükkuyu	M2-1	Urla	S2-1	Salihli
M1-2	Eğlenhoca	N1-19	Dikili	M2-2	Urla	S2-2	Alaşehir
M1-3	Eğlenhoca	S1-1	Güney Ege	M2-3	Urla	S2-3	Manisa
M1-6	Akseki	S1-2	Alaşehir	M2-4	Urla	S2-4	Milas
M1-7	Eğlenhoca	S1-3	Alaşehir	M2-5	Eğlenhoca	S2-5	Ortaklar
M1-8	Eğlenhoca	S1-4	Alaşehir	M2-6	Eğlenhoca	S2-6	Germencik
M1-9	Urla	S1-5	Alaşehir	M2-7	Eğlenhoca	S2-7	Koçarlı
M1-10	Urla	S1-6	Alaşehir	M2-8	Eğlenhoca	S2-8	Selçuk
M1-11	Karaburun	S1-7	Muğla	M2-9	Eğlenhoca	S2-9	Muğla
M1-12	Karaburun	S1-8	Alaşehir	M2-10	Eğlenhoca	S2-10	Muğla
N1-1	Ezine	S1-9	Alaşehir	M2-11	Eğlenhoca	S2-11	Güney Ege
N1-2	Altınoluk	S1-10	Koçarlı	M2-12	Eğlenhoca		
N1-3	Edremit	S1-11	Selçuk	M2-13	Eğlenhoca		
N1-4	Edremit	S1-12	Germencik	M2-14	Eğlenhoca		
N1-5	Burhaniye	S1-13	Tepekoy	M2-15	Urla		
N1-6	Burhaniye	S1-14	Horsunlu	M2-16	Urla		
N1-7	Altınoluk	S1-15	Dalaman	N2-1	Edremit		
N1-8	Edremit	S1-16	Ortaklar	N2-2	Edremit		
N1-9	Zeytindag	S1-17	Bayındır	N2-3	Ezine		
N1-10	Altınova	S1-18	Söke	N2-4	Kucukkuyu		
N1-11	Ezine	S1-19	Aydın	N2-5	Zeytindag		
N1-12	Ayvalık	S1-20	Bozdoğan	N2-6	Küçükkuyu		
N1-13	Gömeç	S1-21	Kusadası	N2-7	Ayvalık		
N1-14	Foça	S1-22	Ödemiş	N2-8	Ayvalık		
N1-15	Havran	S1-23	Selçuk	N2-9	Burhaniye		
N1-16	Altınoluk	S1-24	Sultanhisar	N2-10	Burhaniye		
N1-17	Burhaniye	S1-25	Çine				

* M: Orta Ege Bölgesi, N: Kuzey Ege Bölgesi, S: Güney Ege Bölgesi, bölge isimlerinden sonra gelen ilk rakam hasat yılını, ikinci rakam ise örnek numarasını gösterir

3.2 Kimyasal Analizler

3.2.1 Serbest Yağ Asitliği

Serbest yağ asitliği (SYA) değerleri European Commission Regulation no. 2568/1991'e göre titrimetrik olarak belirlenmiş ve % oleik asit olarak ifade edilmiştir. Örnekler önce dietileter-

etanol (1:1, v/v) solüsyonunda çözülmüş ve 0,1 mol/L KOH ile titre edilmiştir. Titrasyonda fenolftalein indikatör olarak kullanılmıştır.

3.2.2 K İndeksleri

Zeytinyağlarının K_{232} ve K_{270} değerleri European Commission Regulation no. 2568/1991 göre tespit edilmiştir. Örnekler önce sikloheksan içinde çözülmüş daha sonra abzorbanları 232 ve 270 nm'de UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu UV-2450, Japonya) ile belirlenmiştir.

3.2.3 Yağ Asitleri Profili

Örneklerin yağ asitleri kompozisyonları European Commission Regulation no. 2568/1991 göre tespit edilmiştir. Bu amaçla ilk olarak metanolik KOH ile metil esterlere dönüştürülme işlemi yapılmış ve daha sonra flame ionization detektörüne (FID) sahip gaz kromatografi cihazı (Agilent 6890N, ABD) ile yağ asitleri % olarak belirlenmiştir. Analizlerde HP 88 (100 m x 0.25 mm ID, 0.2 μ m, Agilent, ABD) kapiler kolon ve 37'li FAME karışımı (Sigma, Almanya) standart olarak kullanılmıştır.

3.2.4 Yağ Asitleri Alkil ve Etil Esterleri

Zeytinyağı örnekleri Avrupa Birliği tarafından önerilen yöntemle göre analiz edilmiştir (EU Commission Regulation No. 61/2011). Bu yöntemle göre önce örnek ve dahili standart (hekzan içinde C 17:0 metil ester) hekzan ile şartlanmış silika jel kolondan geçirilmiş ve hekzan-etil eter ile fraksiyonlara ayırma işlemi yapılmıştır. Daha sonra elde edilen fraksiyonlar döner buharlaştırıcıda (Laborato 4000 Heidolph, Almanya) oda sıcaklığında ve vakum altında konsantre hale getirilmiş ve GC-FID (Agilent 6890N, ABD) ile analiz edilmişlerdir. Analiz için 15 m x 0,32 mm ID x 0,10 μ m HP5 (Agilent, ABD) kolonu kullanılmıştır.

3.2.5 Diasilgliserol İçeriği

Zeytinyağı örneklerinin 1,2 ve 1,3 DAG kompozisyonları ISO 29822:2009 ile tanımlanan yöntem ile belirlenmiştir. Bu amaçla hazırlanan mini silika kolonuna örnekler transfer edilmiş ve isooktan-diisopropileter karışımı ile yıkama yapılmıştır. Daha sonra DAG fraksiyonları dietileter ile ayrıştırılmıştır. Fraksiyonda kalan çözücü döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılmıştır. Elde edilen konsantre fraksiyonlara sililasyon reaktifi eklenmiş ve 20 dakikalık tepkimedenden sonra aseton eklenen bileşik, GC-FID cihazına enjekte edilmiştir. GC analizlerinde RTX5 kolonu (60 m, 0,25 mm ID, 0,1 μ m, Restek, ABD) kullanılmıştır. Sonuçlar %1,2 ve 1,3 DAG olarak ifade edilmiştir.

3.2.6 Klorofil ve Karoten Tayini

Klorofil, klorofil türevleri ve karotenoidlerin analizi Minguez-Mosquera vd. (1992) tarafından önerilen ve Mateos ve Garcia-Mesa (2006) tarafından modifiye edilen yöntemle yapılmıştır. Önce katı faz (C18, 6 ml, Bond Elute, Agilent, ABD) kullanılarak örneklerin hekzan ekstraktı elde edilmiş bu ekstraktın UV/vis spektrofotometre (Shimadzu UV-2450, Japonya) ile 454 nm'de analizi ile β -karoten miktarları tespit edilmiştir. Daha sonra katı faz ekstraksiyonuna aseton kullanılarak devam edilmiş ve toplanan fraksiyondan çözücü oda sıcaklığında ve vakum altında döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstrakt HPLC-DAD ile analiz edilmiştir. HPLC analizlerinde ODS2 (25 cmx4.6 mmx5 μ m, Supelco Spherisorb, ABD) kolonu kullanılmıştır. Pigment konsantrasyonları, pigment standartları (Sigma, Almanya) kullanılarak oluşturulan standart eğrilerden mg/kg cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.7 Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi

Örneklerin orta bölge infrared spektralleri yatay ATR aksesuarına ve DTGS detektörüne sahip bir FTIR spektrometre ile elde edilmiştir. Yağların analizinde Gurdeniz ve Ozen (2009) tarafından ayrıntıları verilen yöntem kullanılmıştır. Ölçümler 64 tarama ve 4 cm^{-1} çözünürlükle yapılmıştır.

3.2.8 Tağış Çalışmaları

Bu bölümde ilk olarak içerik analiz sonuçlarına (düşük asitlik ve K değerleri) göre belirlenmiş 2015/16 hasat sezonuna ait Kuzey Ege'den 9 (N1-1, N1-3, N1-5, N1-7, N1-8, N1-10, N1-11, N1-17 ve N1-18) ve Güney Ege'den 10 (S1-7, S1-10, S1-11, S1-13, S1-14, S1-16, S1-17, S1-19, S1-23 ve S1-24) taze sızma zeytinyağı ile taze Kuzey ve Güney Ege karışımları hazırlanmıştır. Bu yağlar piyasadan elde edilen 2014/15 sezonuna ait eski yağ karışımı ile %10-50 oranlarında (%10, 20, 30, 40 ve 50) karıştırılıp, yukarıda belirtilen analizler yapılmıştır.

Çalışmanın ikinci bölümünde ise 2015/16 hasat yılı örneklerinden 2 Kuzey (N1-3 ve N1-19), 2 Güney (S1-6 ve S1-19) ve 1 Orta (M1-1) Ege Bölgesi zeytinyağları seçilerek 2016/2017 hasat yılına ait 2 Kuzey (N2-1 ve N2-5) ve 2 Güney Ege Bölgesi (S2-1 ve S2-6) yağlarına çaprazlama usuluyla %10-50 oranlarında eklenmiştir. Yeni yağlar (2016/17) yine düşük yağ asitliği ve K değerlerine göre seçilmişlerdir. Böylece toplam 100 karışım hazırlanmıştır. Bu karışımların FTIR spektralleri 3.2.7'de açıklandığı şekilde elde edilmiştir.

3.3 İstatistiksel Analizler

Bu çalışmada kullanılan her analiz için seçilen 6 örneğin standart sapma değerleri hesaplanmış ve bu değerler tablolarda verilmiştir. Yağların bu çalışmada kullanılan kalite kriterlerini baz alarak zeytin türlerine/yetiştirildikleri coğrafi bölge ve hasat sezonuna bağlı olarak ayrımını belirlemek amacı ile asal bileşenler analizi (PCA), kısmi en küçük kareler-

ayırımsama analizi (PLS-DA) ve ortogonal kısmi en küçük kareler-ayrıştırma analizi (OPLS-DA) yapılmıştır. Tağış verileri de yine aralarındaki farklılıkları belirlemek amacıyla PCA, PLS-DA ve OPLS-DA ile değerlendirilmiştir. Bu istatistiksel analizler sonucu skor (score) ve değişken (loading) grafikleri elde edilmiştir. Skor grafikleri örnekler arasındaki gruplaşmayı gösterirken değişken grafikleri ise her değişkenin önemi hakkında fikir verir ve bundan dolayı değişken grafikleri değişkenlerle örnekler arasındaki bağlantıyı ifade ederler. Buna ek olarak, tağış miktarının ve belirlenen kalite kriterlerinin infrared spektrasından tahmini amacı ile PLS regresyon analizi uygulanmıştır. Regresyon modellerinin doğrulaması amacı ile çapraz doğrulama (cross-validation) tekniği kullanılmıştır. Regresyon modellerinin performansını değerlendirmek amacıyla model R^2 ve doğrulama R^2 değerlerinin yanı sıra model için hata ortalama karekök (root mean square of error of estimation, RMSEE) ve doğrulama için hata ortalama karekök (root mean square error of cross-validation, RMSEcv) değerleri hesaplanmıştır. İstatistiksel analizler SIMCA 13.0 (Umetrics, Umea, İsveç) yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada kullanılan zeytinyağı örnekleri Ege Bölgesinin Kuzey, Orta ve Güney olmak üzere üç kesiminden toplanmıştır. 2015/16 hasat yılında 54, 2016/17 hasat yılında ise 37 örnekle çalışılmıştır. İkinci hasat yılında daha az örnekle çalışılmasının sebebi bu dönemde oluşan değişik iklim koşulları ve zeytin ağaçlarında görülen hastalık sonucu zeytinyağı üretiminin bazı bölgelerde sınırlı olmasıdır. Bu nedenle bazı bölgelerden ikinci hasat yılında örnek temin edilememiştir. Kuzey Ege Bölgesinde ilk hasat yılında çalışılan 11 bölgenin 6'sında (Edremit, Ezine, Burhaniye, Zeytindağ, Ayvalık, Küçükkuyyu), Güney Ege'nin 19 bölgesinin 7'sinde (Güney Ege, Alaşehir, Muğla, Koçarlı, Selçuk, Germencik, Ortaklar) ve Orta Ege'nin 5 bölgesinin 2'sinde (Eğlenhoca, Urla) örnekleme yerleri örtüşmektedir (Tablo 1). Her iki hasat yılında da eşlenik örneklere aynı kodu vermek, kullanılan istatistiksel yazılımda mümkün olmamaktadır. Literatürde yer aldığı şekilde zeytinyağı ayırım/sınıflama çalışmalarında örnek temini için başvuru ve kendilerine göre dezavantajlar taşıyan iki uygulama bulunmaktadır: zeytinlerin belirli koşullarda toplanarak zeytinyağının laboratuvar koşullarında elde edilmesi ya da endüstriyel ölçekli üretimden örneklerin temini. Bu konuda her iki yöntemle de yapılan önceki çalışmalarımıza dayanarak, ilk belirtilen yöntemle toplanan örnekler için agronomik ve işleme koşulları gibi parametreler göreceli olarak daha kontrol altında tutulabilmektedir ancak örneklerin, ölçülen kimyasal parametreler açısından endüstriyel ölçekli üretimi tam olarak temsil edemeyebileceği söylenebilir. İkinci yöntemde ise parametrelerin varyasyonu ilkinde göre daha yüksek olmakla birlikte, gerçek üretim örneklerini

daha iyi tanımlayabilmektedir. Proje önerisinde belirtildiği ve amaçlandığı gibi bu çalışmada kullanılan örnekler, endüstriyel ölçekli üretimden temin edilmiş ve bu şekilde bir örneklemenin zeytinyağının kompozisyonunu etkileyebilecek faktörleri (agronomik, iklim, işleme vb.) daha gerçekçi bir şekilde yansıtabileceği düşünülmüştür. Her iki hasat yılında eşlenik örneklerin kullanılması tercih edilen bir durum olabilir ancak bir gereklilik değildir. Bu tip örneklemeyle oluşturulan kemometrik modeller de değişik varyasyonları kapsayan daha geniş çerçeveli modeller olabilmektedir.

4.1 Zeytinyağların Kimyasal ve Spektroskopik Karakterizasyonu

Ege Bölgesi'nden 2015/16 ve 2016/17 hasat yıllarına ait sırasıyla 54 ve 37 zeytinyağı örneğinin serbest yağ asitliği (%), K232 ve K270 değerleri, yağ asitleri profilleri, FFAE, DAG ve pigment içerikleri belirlenmiş ve aynı zamanda orta bölge infrared spektroskopik verileri toplanmıştır. Yağlar üretildikleri coğrafi konumları ve bu bölgelerdeki baskın zeytin varyeteleri göz önüne alınarak 3 gruba ayrılmıştır: Kuzey (N), Orta (M) ve Güney (S) Ege (Şekil 1). Şekil ve tablolarla örneklere ait kısaltmalarda N; M ve O harfleri bölgeyi, daha sonra gelen rakam 1. veya 2. hasat yılını ve ikinci rakamda örneğin numarasını göstermektedir. Örneğin N1-14 kısaltması, 14 numaralı örneğin Kuzey Ege Bölgesi'nden ve 1. hasat yılına ait olduğunu belirtmektedir. Yağ örneklerinin SYA, K232 ve K270 değerleri Tablo 2'de sunulmuştur. Tablodan görülebileceği üzere Orta Ege Bölgesi için ölçülen değerler diğer iki bölgeye göre daha yüksektir.

4.1.1 Yağ Asitleri Profilleri

Kuzey, Güney ve Orta Ege Bölgelerine ait zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri profilleri Tablo 3'de verilmiştir. Bu veriler PCA, PLS-DA ve OPLS-DA gibi çok değişkenli istatistiksel analiz yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Bu analiz sonuçlarının hepsini vermek mümkün olmadığından sadece en iyi sonuç alınanlar sunulacaktır. Bu doğrultuda yağ asitleri profilleri kullanılarak elde edilen OPLS-DA skor ve değişken grafikleri Şekil 2-4'de verilmiştir. Şekil 2 2015/16, Şekil 3 ise 2016/17 hasat yıllarına ait verilerin değerlendirme sonuçlarını göstermektedir. 2015/16 hasat yılında yağ asitleri profillerine göre genel olarak bölgelere göre üç ayrı kümelenme görülmektedir (Şekil 2). Güney Ege yağları skor grafiğinin sol yarısında yer alıp 1. asal bileşene (PC1) göre Kuzey ve Orta Ege yağlarından ayrılmaktadır. Kuzey Ege yağları grafiğin sağ alt tarafında konumlanmıştır. Kuzey ve Orta Ege Bölge yağlarının birbirine daha yakın durduğu ve Güney ve Orta Ege Bölgesinden birer örneğin (S1-8 ve M1-10) Kuzey Ege yağları arasında yer aldığı görülmektedir. Orta Ege Bölgesindeki bu örnek (M1-10) Urla'da yetiştirilen Ayvalık tipi zeytinlerden elde edilmiş bir yağa aittir. Bu nedenle de bu örnek Ayvalık zeytinlerinden elde edilen Kuzey Ege yağları sınıfına dahil olmuş olabilir. OPLS-DA değişken

grafiji Güney Ege zeytinyağlarının diğer bölgelerden daha yüksek 18:1n9, 18:3n3 ve 20:1n9 yağ asitleri oranlarıyla ayrıldığını göstermektedir (Şekil 2). Orta Ege Bölgesi örneklerinde ise göreceli olarak 18:2n6 oranı daha fazladır ve bu yağ asidi bu örnekler için ayırt edici olmuştur. 2016/17 sezonu yağlarında yağ asitleri profiline göre ayırım daha belirgindir (Şekil 3). Güney Ege yağlarının diğerlerinden tamamen ayrı bir küme halinde olduğu OPLS-DA skor grafiğinden görülebilir. Kuzey ve Orta Ege yağlarında da ayırım daha belirgindir ve sadece yine Urla'da yetiştirilen Ayvalık zeytinine ait örnek (M2-15), Kuzey örnekleri arasında bulunmaktadır. Bu örnek yine önceki hasat sezonunda olduğu gibi Urla'da yetiştirilen Ayvalık zeytin tipinden elde edilmiş zeytinyağına aittir. İkinci hasat yılının Güney Ege yağ örnekleri de yine 18:1 ve 18:3 yağ asitleriyle diğer bölgelerden farklılık göstermiştir.

İki hasat yılına ait veriler bir arada değerlendirildiğinde ise aynı bölge içinde hasat yılına göre mükemmel olmamakla beraber 2015/16 yağları 2016/17 yılının örneklerinden yağ asitleri profillerine göre ayrılmaktadır (Şekil 4). Bölüm 3.1'de açıklandığı üzere her iki hasat yılında birebir aynı yerlerden örnek temin edilememesine rağmen Güney Ege'den ilk yıl örnek toplanan 19 bölgenin ikinci yıl 7'sinden örnek gelmiştir. Bu ayırım Güney Ege Bölgesinin 1. ve 2. sezon yağları arasında görülmektedir. İki hasat yılının Güney Ege zeytinyağları skor grafiğinde sağ yarıda yer alırken diğer yağlar sol tarafta bulunmaktadır. Zeytinyağların yağ asitleri profillerinin üretildikleri zeytin tipi ve/veya zeytinin yetiştirildiği bölgeye ve hasat yılına göre farklılıklar gösterdiğine ilişkin literatürde çeşitli çalışmalar mevcuttur (Gurdeniz vd., 2010; Gurdeniz vd., 2008). Projenin bu bölümünün sonuçları da literatürde bulunan sonuçlarla aynı doğrultudadır.

Tablo 2. Kuzey, Güney ve Orta Ege Bölgeleri zeytinyağı örneklerinin iki hasat yılında (2015/16 ve 2016/17) belirlenen serbest yağ asitliği (SYA, %), K232 ve K270 değerleri

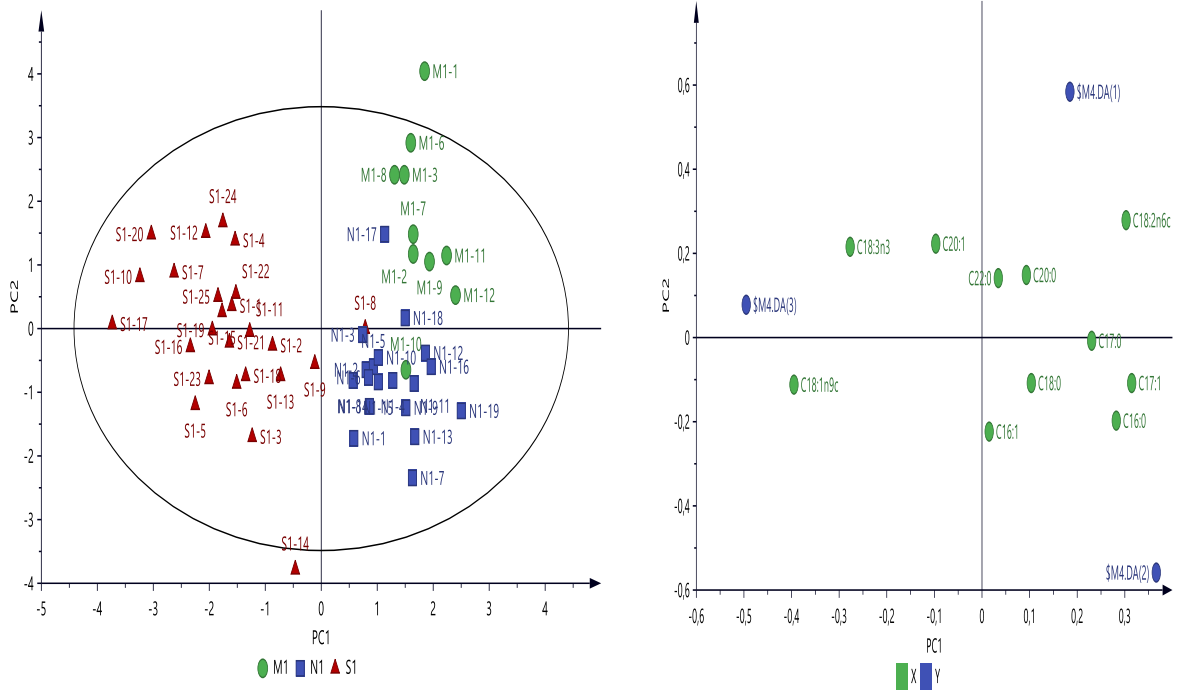
Parametre	Kuzey Ege				Güney Ege				Orta Ege			
	2015/16 N =19*		2016/17 N =10*		2015/16 N =25*		2016/17 N =11*		2015/16 N =10*		2016/17 N =16*	
	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık
SYA ¹	0,58	0,33-0,99	0,63	0,30-0,76	0,79	0,20-2,42	0,71	0,27-2,30	2,46	0,64-4,82	3,79	0,85-12,11
K232 ²	2,12	1,81-2,82	2,33	1,87-2,57	2,20	1,87-2,57	2,41	2,15-2,78	2,40	1,99-2,55	2,73	2,26-3,14
K270 ³	0,23	0,10-0,36	0,26	0,15-0,44	0,18	0,07-0,35	0,30	0,22-0,37	0,13	0,07-0,19	0,40	0,22-0,70

Standart sapmalar: ¹ 0,03, ² 0,07, ³ 0,03; * örnek sayıları

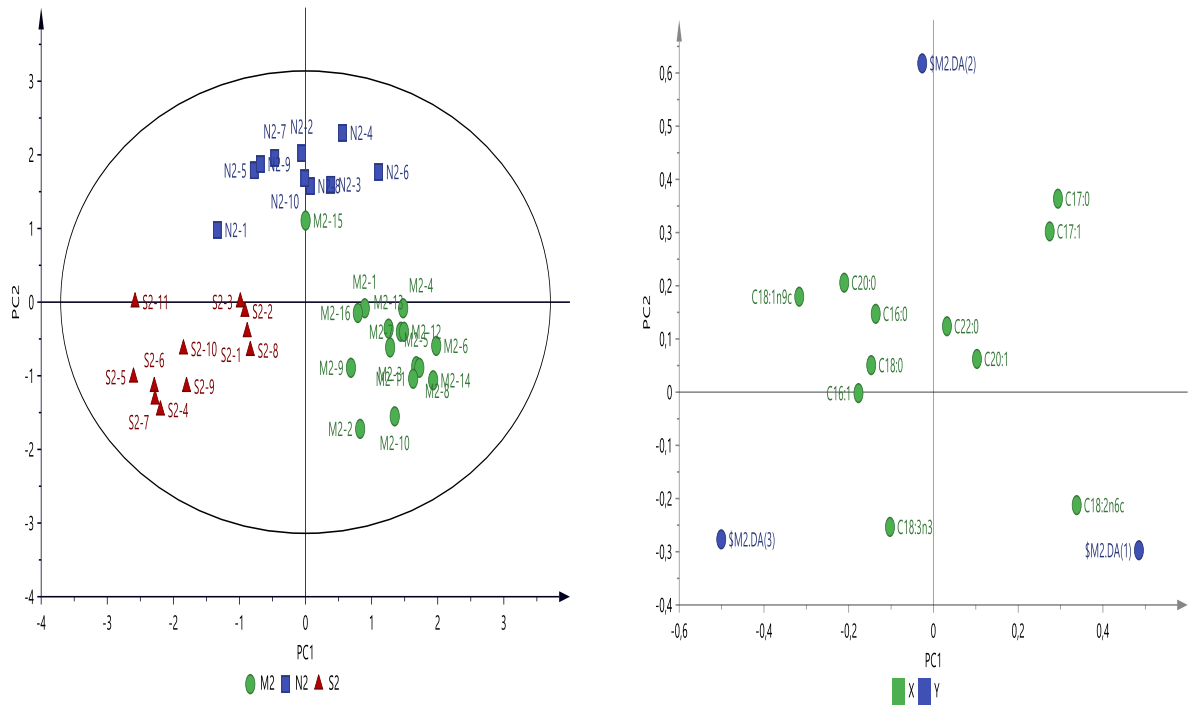
Tablo 3. Kuzey, Güney ve Orta Ege Bölgeleri zeytinyağı örneklerinin iki hasat yılında (2015/16 ve 2016/17) belirlenen yağ asitleri profilleri

Parametre	Kuzey Ege				Güney Ege				Orta Ege			
	2015/16 N =19*		2016/17 N =10*		2015/16 N =25*		2016/17 N =11*		2015/16 N =10*		2016/17 N =16*	
	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık
C16:0 ¹	15,08	12,65-17,97	13,92	12,23-15,85	13,26	10,64-15,86	13,60	12,78-15,62	13,91	11,77-15,60	13,01	12,09-15,09
C16:1 ²	0,88	0,61-1,04	0,76	0,59-1,06	0,89	0,55-1,58	0,89	0,70-1,16	0,76	0,49-1,07	0,70	0,44-1,39
C17:0 ³	0,16	0,00-0,53	0,17	0,14-0,19	0,07	0,00-0,31	0,09	0,05-0,17	0,19	0,11-0,49	0,14	0,11-0,18
C17:1 ⁴	0,24	0,14-0,43	0,25	0,22-0,30	0,12	0,00-0,29	0,15	0,08-0,29	0,23	0,17-0,32	0,22	0,19-0,26
C18:0 ⁵	2,70	2,50-3,11	3,01	2,45-3,77	2,66	2,07-3,57	3,07	2,27-3,41	2,70	2,53-2,88	2,89	2,48-3,53
C18:1n9 ⁶	68,31	65,91-71,34	69,58	67,65-74,32	71,85	65,44-76,99	69,78	65,92-72,47	66,24	64,83-67,58	66,70	64,09-70,75
C18:2n6 ⁷	11,28	9,50-12,96	10,72	7,02-13,19	9,61	7,32-12,31	10,71	8,04-12,96	14,42	11,09-17,81	14,71	9,47-17,67
C20:0 ⁸	0,41	0,30-0,51	0,48	0,45-0,51	0,38	0,27-0,47	0,47	0,42-0,56	0,41	0,31-0,48	0,44	0,38-0,52
C18:3n3 ⁹	0,64	0,50-0,74	0,68	0,61-0,75	0,80	0,59-0,98	0,84	0,68-0,97	0,73	0,66-0,83	0,77	0,59-1,03
C20:1 ¹⁰	0,26	0,00-0,32	0,30	0,24-0,33	0,30	0,00-0,41	0,30	0,26-0,34	0,30	0,27-0,35	0,31	0,25-0,36
C22:0 ¹¹	0,04	0,00-0,41	0,13	0,00-0,20	0,06	0,00-0,56	0,11	0,00-0,16	0,11	0,00-0,14	0,12	0,09-0,15

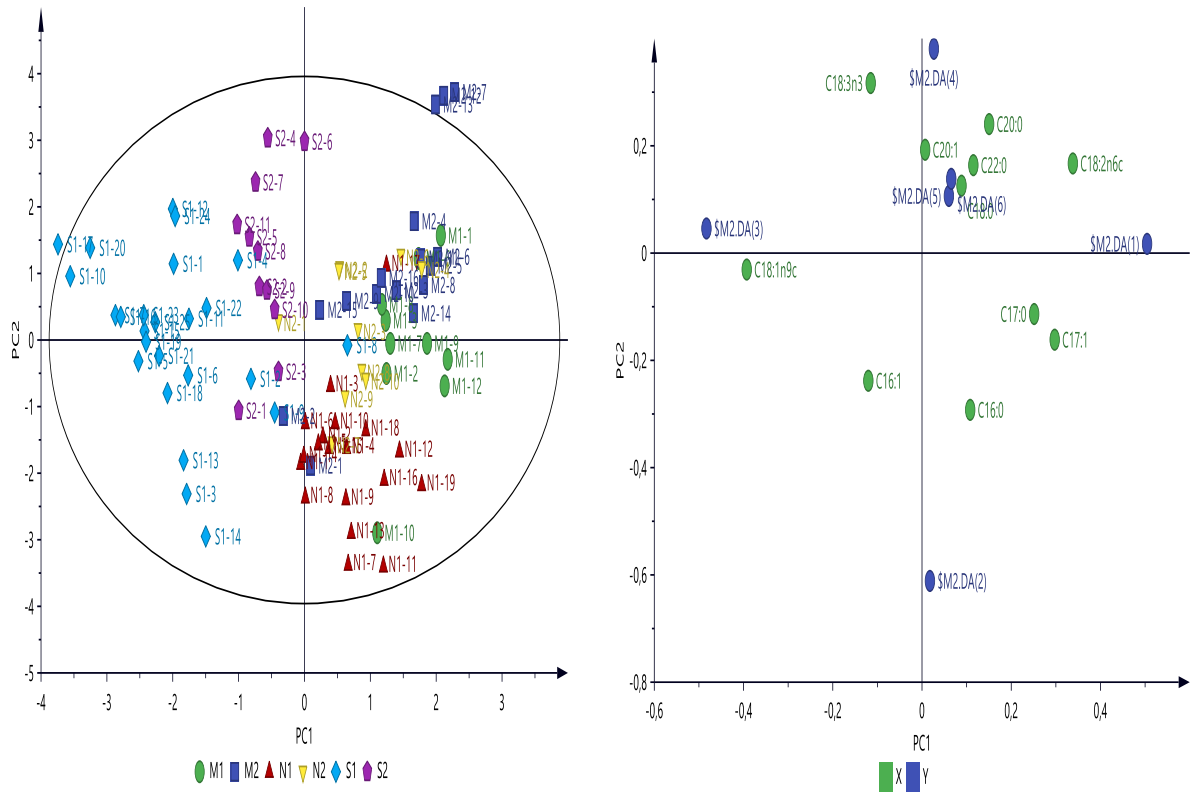
Standart sapmalar: ¹ 0,02, ² 0,00, ³ 0,01, ⁴ 0,00, ⁵ 0,01, ⁶ 0,10, ⁷ 0,04, ⁸ 0,02, ⁹ 0,07, ¹⁰ 0,01, ¹¹ 0,01; * örnek sayıları



Şekil 2. 2015/16 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri profilleri verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri



Şekil 3. 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri profilleri verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri



Şekil 4. 2015/16 ve 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri profilleri verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri

4.1.2 Yağ Asitleri Alkil Esterleri

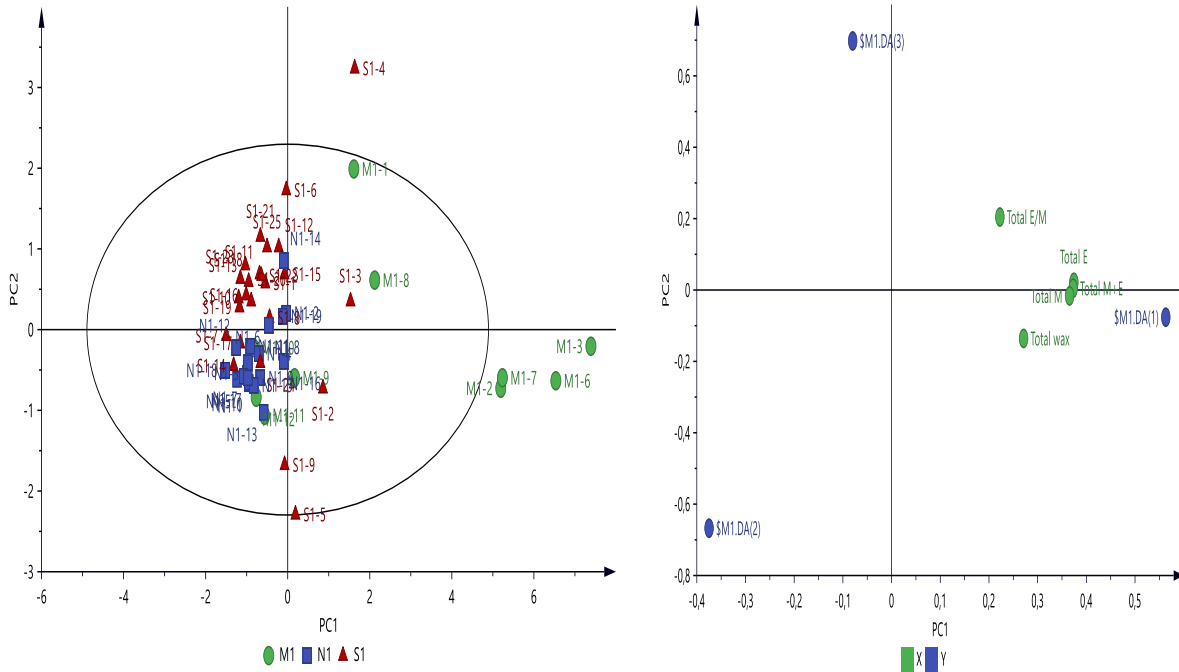
Kuzey, Orta ve Güney Ege Bölgelerinden 2015/16 ve 2016/17 hasat yıllarında elde edilen zeytinyağlarının yağ asitleri alkil esterleri (FAAE), yağ asitleri etil esterleri (FAEE), yağ asitleri metil esterleri (FAME) ve FAEE/FAME ve buna ek olarak mumsu madde içerikleri bölgelere ve hasat yıllarına göre ortalama ve aralık değerleri şeklinde Tablo 4'de listelenmiştir.

2016/17 hasat yılından itibaren Avrupa Birliği yönetmeliklerine göre sadece FAEE miktarlarının baz alınması kararlaştırılmış ve bu değer 30 mg/kg olarak belirlenmiştir. İlk hasat yılı verilerine göre Kuzey Ege yağlarının hepsi bu değer altındadır. Ortalaması en yüksek FAEE içeriği (94,75 mg/kg) Orta Ege yağlarında bulunmaktadır. Bölgelerin ikinci sezon ortalama FAEE içerikleri ilk yıla göre daha yüksektir ve yine ortalama FAEE içeriği en yüksek örnekler (138,68 mg/kg) Orta Ege yağlarıdır.

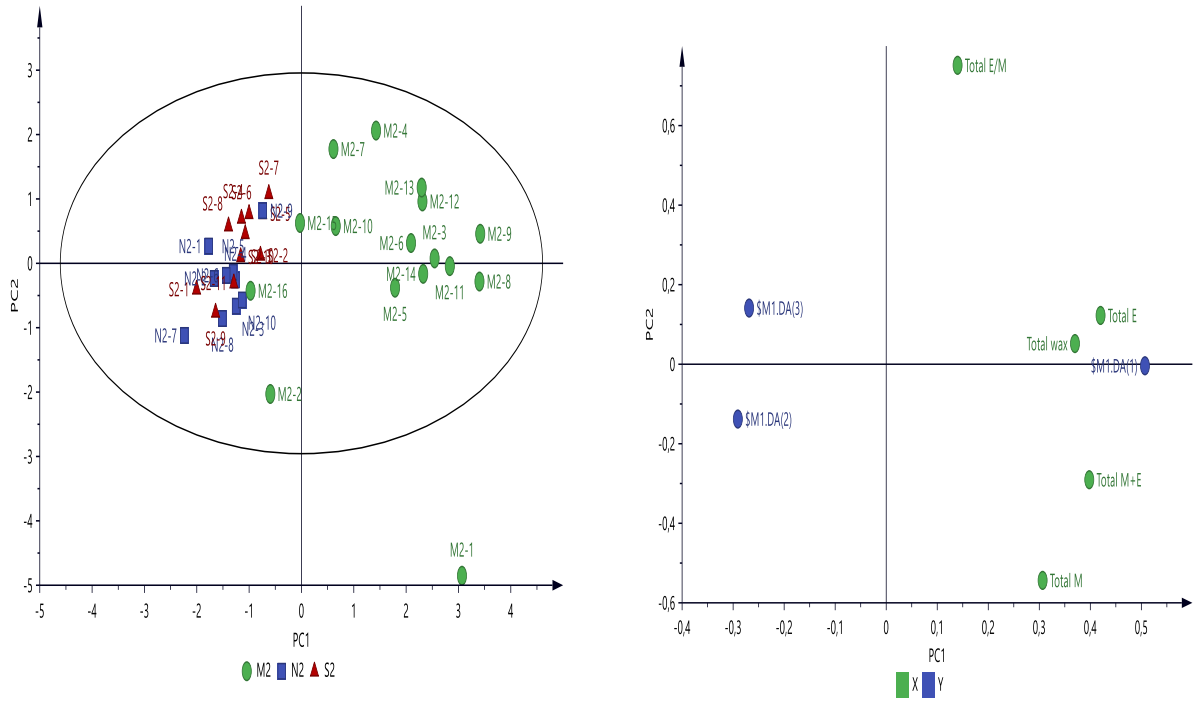
Sınıflamada OPLS-DA en iyi sonuç veren istatistik analiz olduğundan bu bölümde sadece bu analizin sonuçları verilmiştir. Şekil 5'de 2015/16 Ege Bölgesi zeytinyağlarının FAEE ve mumsu madde içeriklerine göre OPLS-DA ile istatistiksel analizleri sonucu elde edilen skor ve değişken grafikleri görülmektedir. Skor grafiğine göre mükemmel olmamakla beraber

Kuzey, Güney ve Orta Ege Bölgesi yağlarının yağ asitleri alkil ester ve mumsu madde içeriklerine göre kümelenme oluşturdukları görülmektedir. Kuzey Ege yağları skor grafiğinde daha toplu bir küme oluştururken diğer bölgeler daha dağınık durmaktadır. Orta Ege Bölgesinden düşük FAAE değerlerine sahip üç yağ (M1-9, M1-10, M1-11) Kuzey Bölgesi yağları içinde yer almaktadır. Bu örneklerden ikisi Urla'da yetiştirilen Ayvalık tipi zeytinlerden elde edilmiş yağlardır. Değişken grafiğine göre Orta Ege Bölgesi yağları tüm ölçülen değişkenlerde yüksek değerlere sahip olduğundan diğer bölge yağlarından ayrılmaktadır.

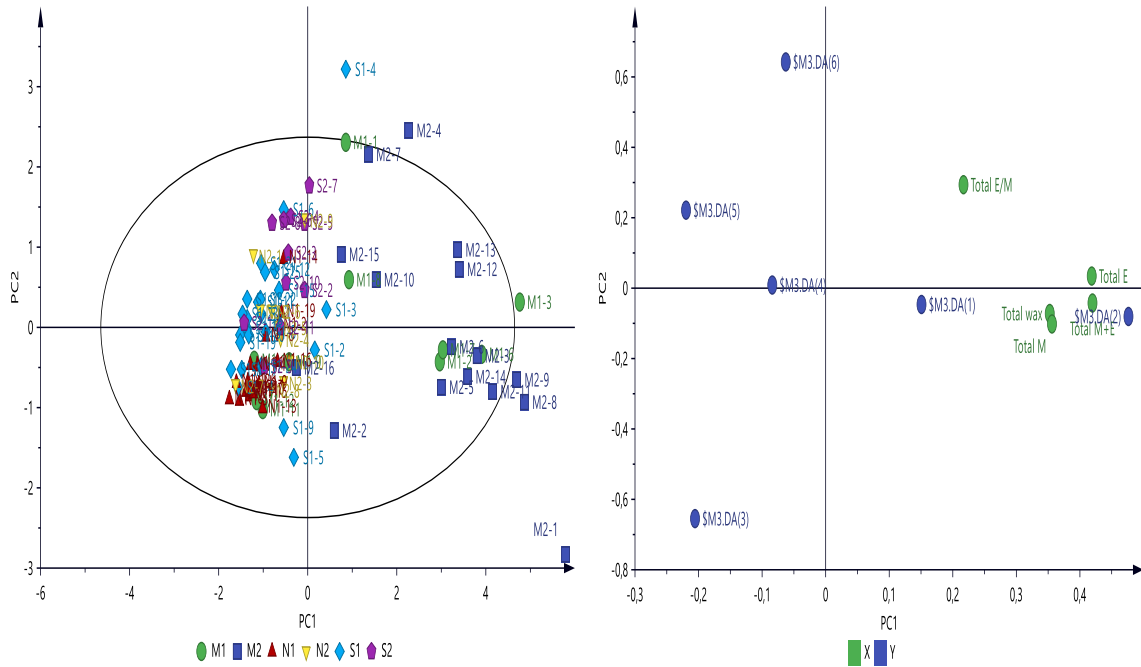
2016/17 hasat yılı Orta Ege zeytinyağları yine FAAE içeriklerine göre Kuzey ve Güney Ege yağ örneklerinden ayrılmaktadır (Şekil 6). Kuzey ve Güney Ege zeytinyağları ise bu sezonda skor grafiğinde iç içe geçmiş durumdadır ve bir ayrım göstermemektedirler. İki hasat yılı FAAE içeriklerine göre beraber değerlendirildiğinde skor grafiğinin (Şekil 7) sağ yarısında Orta Ege zeytinyağlarının bulunduğu ve bu örneklerin Kuzey ve Güney yağlarından PC1'e göre ayrıldığı görülmektedir. Kuzey ve Güney Ege zeytinyağı örnekleri ise FAAE içeriklerine göre birbirlerinden ayrılmamaktadır. Literatürde bölge ve/veya zeytin tiplerine göre FAAE içeriklerinin belirlendiği kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Costa vd., 2017) ancak Türk zeytinyağlarının FAAE içeriğine dair literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.



Şekil 5. 2015/16 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri profilleri ve mumsu madde verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri



Şekil 6. 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri profilleri ve mumsu madde verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri



Şekil 7. 2015/16 ve 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin yağ asitleri alkil esterleri ve mumsu madde verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri

Tablo 4. Kuzey, Güney ve Orta Ege Bölgeleri zeytinyağı örneklerinin iki hasat yılında (2015/16 ve 2016/17) belirlenen yağ asitleri alkil esterleri (FAAE), yağ asitleri metil esterleri (FAME), yağ asitleri etil esterleri (FAEE) ve mumsu madde miktarları (mg/kg)

Parametre	Kuzey Ege				Güney Ege				Orta Ege			
	2015/16 N =19*		2016/17 N =10*		2015/16 N =25*		2016/17 N =11*		2015/16 N =10*		2016/17 N =16*	
	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık
FAAE ¹	26,69	9,01-59,08	36,63	6,94-69,50	39,90	8,55-134,00	50,51	7,48-80,10	168,98	20,95-386,36	272,83	49,19-659,00
FAME ²	16,91	7,36-31,89	19,77	3,14-35,76	20,29	6,28-64,85	22,20	4,24-36,87	74,23	14,62-161,35	134,15	27,96-539,04
FAEE ³	9,78	1,66-27,19	16,86	3,80-42,71	19,61	2,27-74,47	28,31	3,24-50,77	94,75	5,87-243,59	138,68	21,51-217,06
FAEE/FAME ⁴	0,54	0,22-1,33	0,87	0,34-1,59	0,86	0,35-2,61	1,25	0,59-1,78	1,10	0,38-2,26	1,33	0,22-2,37
Mumsu madde ⁵	20,64	8,56-30,62	23,86	11,47-35,22	16,77	5,26-61,40	19,35	12,05-25,69	38,32	19,75-60,57	50,30	18,11-89,59

Standart sapmalar: ¹ 2,39, ² 1,57, ³ 0,83, ⁴ 0,01, ⁵ 0,53, * örnek sayıları

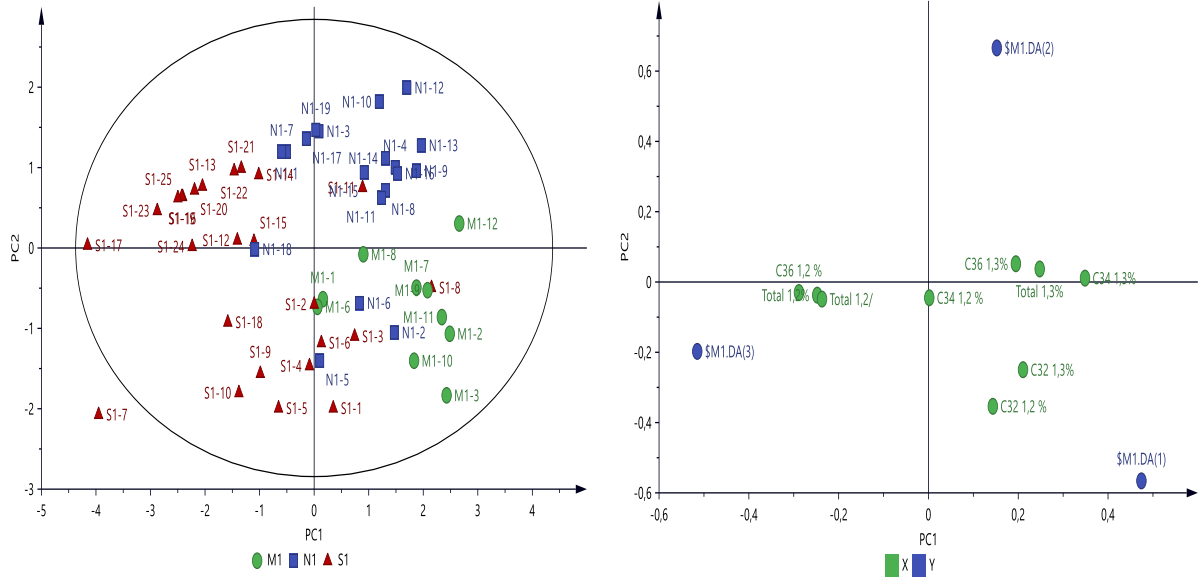
4.1.3 Diasilgliserol Profilleri

Diasilgliserol içeriği olarak 1,2 C32, 1,3 C32, 1,2 C34 1,3 C34 ve 1,2 C36 1,3 C36 ayrıca toplam 1,2/(1,2+1,3), toplam 1,3/(1,2+1,3) ve toplam 1,2/toplam 1,3 belirlenmiştir ve ölçülen değerler Tablo 5'de gösterilmiştir. DAG oranları (toplam1,2/(1,2+1,3)) şimdilik sadece Avustralya ve ABD yönetmeliklerinde yer almaktadır. 4 tip zeytinden (Domat, Edremit, Gemlik, Sariulak) elde edilen Türk zeytinyağları ile ilgili bir çalışmada bu zeytinyağların toplam 1,2 ve toplam 1,3 DAG içerikleri belirlenmiştir (Matthaus ve Özcan, 2011). Sözü edilen çalışmada toplam 1,2 DAG içeriğinin %27,5-49,2 ve toplam 1,3 DAG içeriğinin ise %50,8-72,5 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise ilk hasat yılı için toplam 1,2 DAG %32,44-65,1 ikinci hasat yılı için aynı değer %28,76-68,39 arasında değişmektedir. Toplam 1,3 DAG içerikleri 2015/16 hasat yılı için %35,07-71,24 aralığındayken aynı değer 2016/17 hasat yılında %31,61-71,09 aralığında değişim göstermektedir. İlk hasat yılı için bu oranlara bakıldığında aralık değerlerinin üç bölgede de birbirine benzediği görülmektedir. İlk hasat yılı örneklerinin DAG profilleri kullanılarak oluşturulan OPLS-DA modeline göre bir çok örnekte ait olmadığı bölgeye geçişler görülmekle beraber genel olarak Güney Ege'ye ait örnekler skor grafiğinin sol yarısında bulunurken Kuzey Ege yağları sağ üst ve Orta Ege örnekleri ise sağ alt kısımda kümelenmişlerdir (Şekil 8). Değişken grafiğine göre Güney Ege yağlarının C36 1,2 ve toplam 1,2 DAG miktarlarının yüksekliği ve Orta Ege örneklerinin C32 1,2 ve 1,3 izomerlerinin daha yüksek miktarlarda olması bu kümelenmenin nedenleri olarak görülmektedir (Şekil 8). Kuzey Ege yağları ise diğerlerinden daha düşük C34 1,2 izomerine sahiptir ve Orta Ege yağları ile birlikte Güney Ege örneklerine nispeten daha yüksek oranlarda toplam 1,3 DAG izomerler içermesi nedeniyle ayrılmaktadır. İkinci hasat yılı için elde edilen OPLS-DA skor ve değişken grafikleri Şekil 9'da verilmiştir. İkinci hasat yılı için bu skor grafiğinden görüleceği üzere Kuzey ve Güney Ege yağları için DAG profillerine göre bir ayırım oluşmamıştır. Orta Ege bölgesi yağları için ise daha iyi bir kümelenme olmuştur. Değişken grafiğine göre Orta Ege yağlarının bu kümelenmesinin nedeni yine C32 1,2 ve 1,3 izomerleri ile toplam 1,3 DAG içeriğinin yüksekliğidir. Şekil 10'da ise iki yılın verilerinin beraber toplandığı OPLS-DA skor ve değişken grafikleri görülebilir.

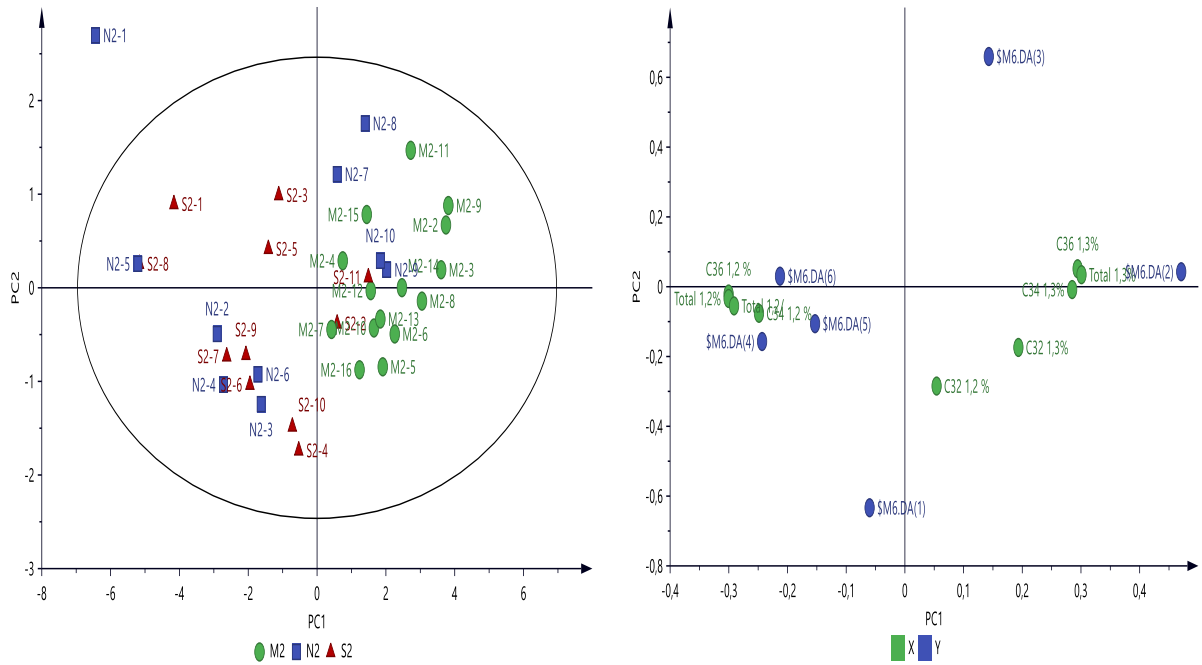
Tablo 5. Kuzey, Güney ve Orta Ege Bölgeleri zeytinyağı örneklerinin iki hasat yılında (2015/16 ve 2016/17) belirlenen diasilgliserol profilleri (%)

Parametre	Kuzey Ege				Güney Ege				Orta Ege			
	2015/16 N =19*		2016/17 N =10*		2015/16 N =25*		2016/17 N =11*		2015/16 N =10*		2016/17 N =15*	
	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık
C32 1,2 ¹	0,02	0,00-0,13	0,04	0,00-0,18	0,05	0,00-0,17	0,04	0,00-0,16	0,11	0,06-0,17	0,07	0,00-0,18
C32 1,3 ²	0,14	0,00-0,29	0,17	0,00-0,43	0,13	0,00-0,30	0,10	0,00-0,31	0,24	0,19-0,34	0,29	0,16-0,47
C34 1,2 ³	8,80	6,55-10,78	9,89	7,32-12,48	9,00	7,91-12,56	9,77	7,59-11,82	9,07	6,33-12,57	7,59	6,62-9,10
C34 1,3 ⁴	11,75	7,91-14,00	11,40	5,97-14,86	9,39	6,45-12,23	11,08	8,45-12,88	12,61	10,37-16,19	14,60	12,65-17,27
C36 1,2 ⁵	34,55	25,90-46,26	37,63	26,81-55,72	40,45	32,19-52,38	38,00	28,57-49,23	32,46	22,12-41,55	26,45	21,80-31,28
C36 1,3 ⁶	44,74	34,88-53,28	40,86	25,40-52,10	40,98	27,94-47,10	41,01	30,29-50,66	45,51	34,97-55,06	51,00	45,79-55,37
Toplam 1,2 ⁷	43,37	32,44-56,97	47,56	34,12-68,39	49,50	40,76-64,93	47,81	36,16-61,04	41,63	28,76-54,18	34,11	28,91-40,30
Toplam 1,3 ⁸	56,63	43,03-67,56	52,44	31,61-65,88	50,50	35,07-59,24	52,19	38,96-63,84	58,37	45,82-71,24	65,89	59,70-71,09
Toplam 1,2/1,3 ⁹	0,79	0,48-1,32	1,00	0,52-2,16	1,01	0,69-1,85	0,96	0,57-1,57	0,76	0,40-1,18	0,52	0,41-0,68

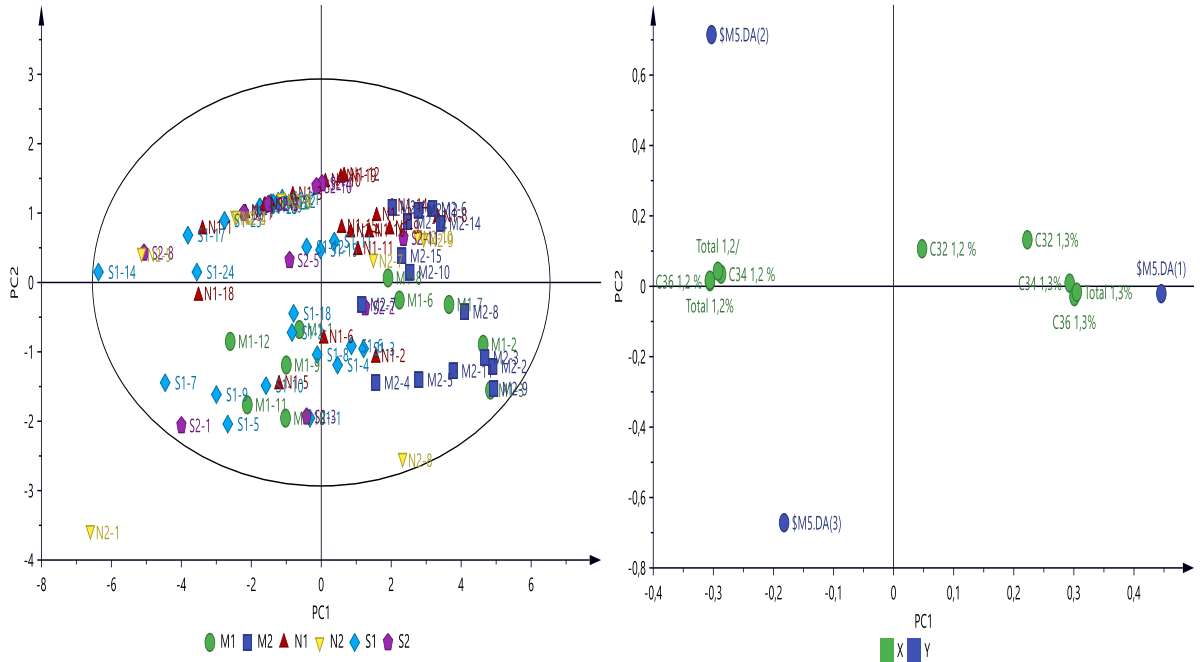
Standart sapmalar: ¹ 0,03, ² 0,06, ³ 0,03, ⁴ 0,68, ⁵ 1,31, ⁶ 0,52, ⁷ 1,25, ⁸ 1,25, ⁹ 0,02, * örnek sayıları



Şekil 8. 2015/16 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin diasilgliserol verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri



Şekil 9. 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin diasilgliserol verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri



Şekil 10. 2015/16 ve 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin diasilgliserol verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri

4.1.4 Pigment İçerikleri

Örnek zeytinyağları için klorofil ve türevleri olarak feofitin a, feofitin a', klorofil a, klorofil a', feofitin b, feofitin b', klorofil b ve klorofil b' ve karotenler olarak ise zantofil, lutein, lutein', lutein'' ve β -karoten belirlenmiştir. Literatürde zeytinyağında bulunan en önemli klorofilin feofitin a, karotenlerin ise lutein ve β -karoten olduğu belirtilmiştir (Lazzerini vd., 2016, Gandul-Rojas ve Minguez Mosquera, 1996). Üç bölgeye ait zeytinyağı örneklerinin klorofil ve karoten içeriklerinin ortalama ve aralık değerleri Tablo 6'da verilmiştir. Literatürde feofitin a içeriği olarak 25 ppm'e kadar miktarlar bildirilmiştir (Lazzerini vd., 2016). Ancak Güney Ege'ye ait bazı örneklerin bu değerlerin üstünde olduğu tespit edilmiştir. Literatürde β -karoten ve lutein, zeytinyağında en çok bulunan karotenler olarak sırasıyla 15 ve 10 ppm seviyelerine kadar tespit edilmişlerdir (Lazzerini vd., 2016). Bu çalışmada belirlenen β -karoten ve lutein seviyeleri literatürde belirtilen konsantrasyon aralığındadır.

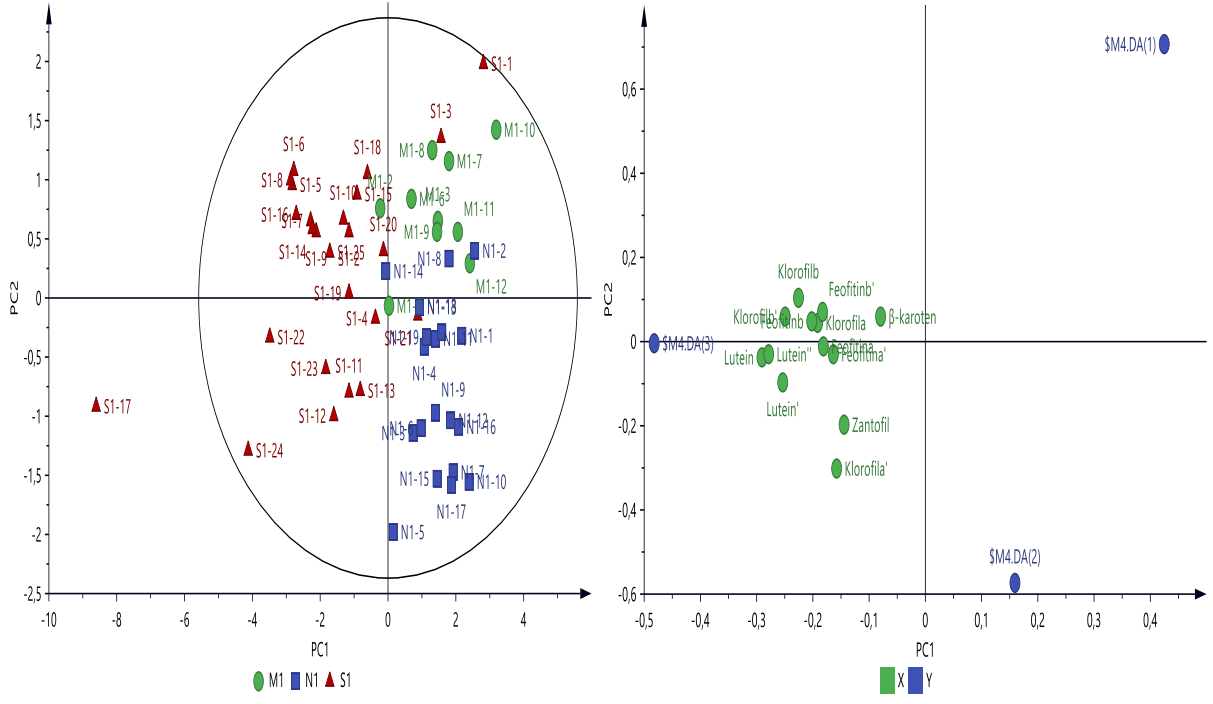
Pigmentler için elde edilen veriler yine çok değişkenli istatistiksel analiz teknikleri ile değerlendirilmiştir. 2015/16 sezonu verilerinin OPLS-DA skor ve değişken grafikleri Şekil 11'de verilmiştir. Skor grafiğinden görüleceği üzere bölgeler içinde kümelenmeler vardır. Güney Ege'ye ait yağların büyük çoğunluğu skor grafiğinin sol tarafında yer almaktadır. Kuzey Ege

sağ alt kısımda kümelenirken Orta Ege ise sağ üst tarafta bulunmaktadır. Ancak bazı örneklerin kendine ait olmayan bölgelere geçişleri de görülmektedir. Bu hasat sezonuna ait değişken grafiği Güney Ege Bölgesi yağlarının göreceli olarak ölçülen bütün pigmentler açısından daha yüksek değerlerle diğerlerinden ayrıldığını göstermektedir (Şekil 11). 2016/17 sezonu için pigment profili verileri ile elde edilen OPLS-DA skor ve değişken grafikleri Şekil 12'de verilmiştir. Skor grafiği bölgeler arası kümelenmeler göstermesine rağmen örneklerin önceki yıla göre daha dağınık olduğu görülmektedir. Yine bu hasat sezonunda da Güney Ege Bölgesi örneklerinin pigment içerikleri diğerlerine göre daha yüksektir (Şekil 13). Literatürde zeytinyağların pigment içeriği ile ilgili çalışmalar genellikle zeytinyağının üretildiği zeytin tipinin ve olgunluğunun ve ürünün saklanması bu bileşikler üzerine etkilerini incelemektedir (Cichelli ve Pertesana, 2004, Morello vd., 2004, Salvador vd., 2001). Ancak bu verilerin kemometrik yöntemlerle değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde 3 hasat yılı boyunca çeşitli zeytin tiplerinden elde edilen zeytinyağların pigment verileri PCA ile değerlendirilmiş ve zeytin tipine göre ayrımın başarılı olduğu bildirilmiştir (Cichelli ve Pertesana, 2004).

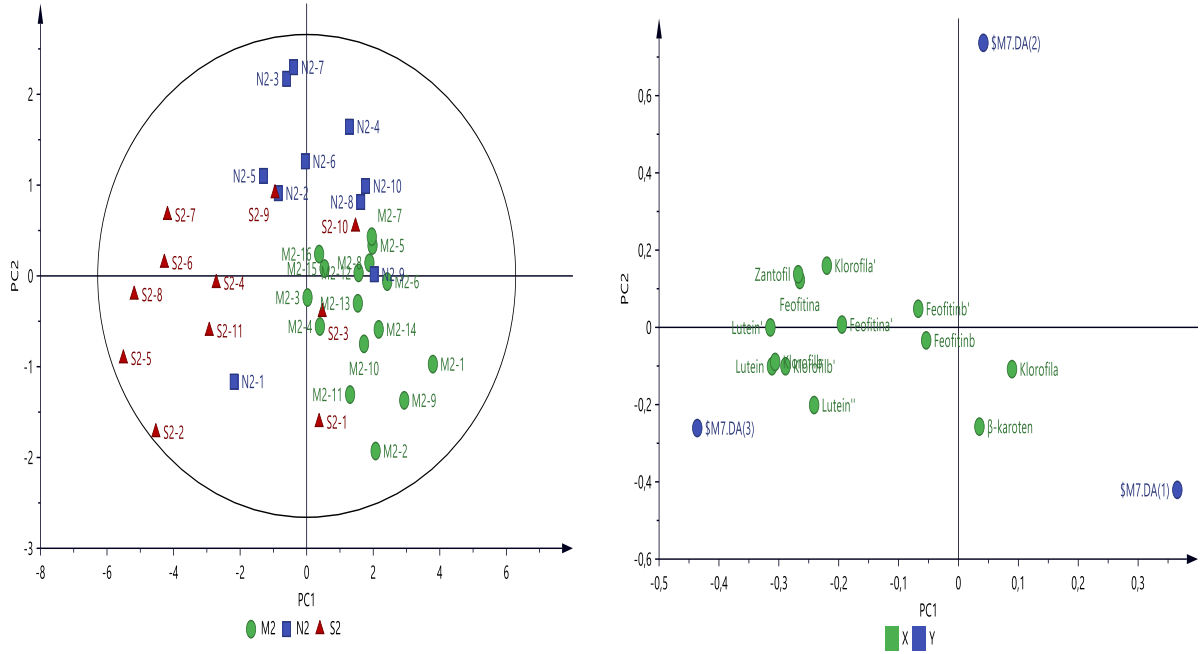
Tablo 6. Kuzey, Güney ve Orta Ege bölgeleri zeytinyağı örneklerinin iki hasat yılında (2015/16 ve 2016/17) belirlenen pigment profilleri (mg/kg)

Parametreler	Kuzey Ege				Güney Ege				Orta Ege			
	2015/16 N =19*		2016/17 N =10*		2015/16 N =25*		2016/17 N =11*		2015/16 N =10*		2016/17 N =16*	
	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık	Ort.	Aralık
Feofitina ¹	4,87	0,16-10,69	5,98	1,62-11,37	8,98	3,62-33,04	8,33	3,67-12,97	5,42	1,17-12,81	2,78	1,09-7,05
Feofitina ²	0,72	0,03-1,77	0,57	0,12-1,40	1,22	0,38-4,46	1,00	0,27-2,59	0,78	0,13-1,76	0,49	0,13-1,35
Klorofila ³	0,02	0,01-0,03	0,04	0,02-0,10	0,05	0,01-0,18	0,04	0,02-0,08	0,02	0,01-0,04	0,07	0,02-0,26
Klorofila ⁴	0,04	0,02-0,06	0,06	0,03-0,10	0,04	0,02-0,12	0,07	0,02-0,12	0,02	0,00-0,03	0,04	0,02-0,09
Feofitinb ⁵	0,09	0,04-0,18	0,19	0,06-0,61	0,23	0,05-0,79	0,25	0,09-0,44	0,12	0,06-0,21	0,21	0,08-0,58
Feofitinb ⁶	0,09	0,02-0,17	0,22	0,04-0,73	0,25	0,05-0,88	0,25	0,06-0,52	0,12	0,04-0,22	0,18	0,04-0,48
Zantofil ⁷	1,40	0,26-2,41	1,07	0,54-2,02	1,45	0,56-5,11	1,21	0,60-1,52	0,81	0,30-1,68	0,61	0,40-0,94
Lutein ⁸	1,49	0,60-2,01	2,13	1,08-4,64	3,32	1,38-11,00	4,07	1,44-5,89	1,19	0,66-1,72	1,89	1,00-2,86
Lutein ⁹	0,24	0,06-0,44	0,42	0,18-0,61	0,48	0,08-1,56	0,82	0,26-1,35	0,19	0,10-0,37	0,29	0,16-0,59
Lutein ¹⁰	0,14	0,05-0,23	0,27	0,15-0,67	0,31	0,15-1,12	0,56	0,17-1,38	0,13	0,09-0,20	0,25	0,16-0,53
Klorofilb ¹¹	0,25	0,10-0,54	0,47	0,17-1,40	0,84	0,25-2,96	0,91	0,25-1,57	0,44	0,24-0,67	0,34	0,19-0,72
Klorofilb ¹²	0,06	0,02-0,16	0,10	0,03-0,34	0,20	0,04-0,80	0,18	0,05-0,35	0,08	0,03-0,12	0,07	0,03-0,16
β-karoten ¹³	3,18	1,39-6,60	2,40	1,16-3,74	3,56	1,70-7,29	3,13	1,35-5,75	3,13	0,66-4,98	3,30	1,54-6,33

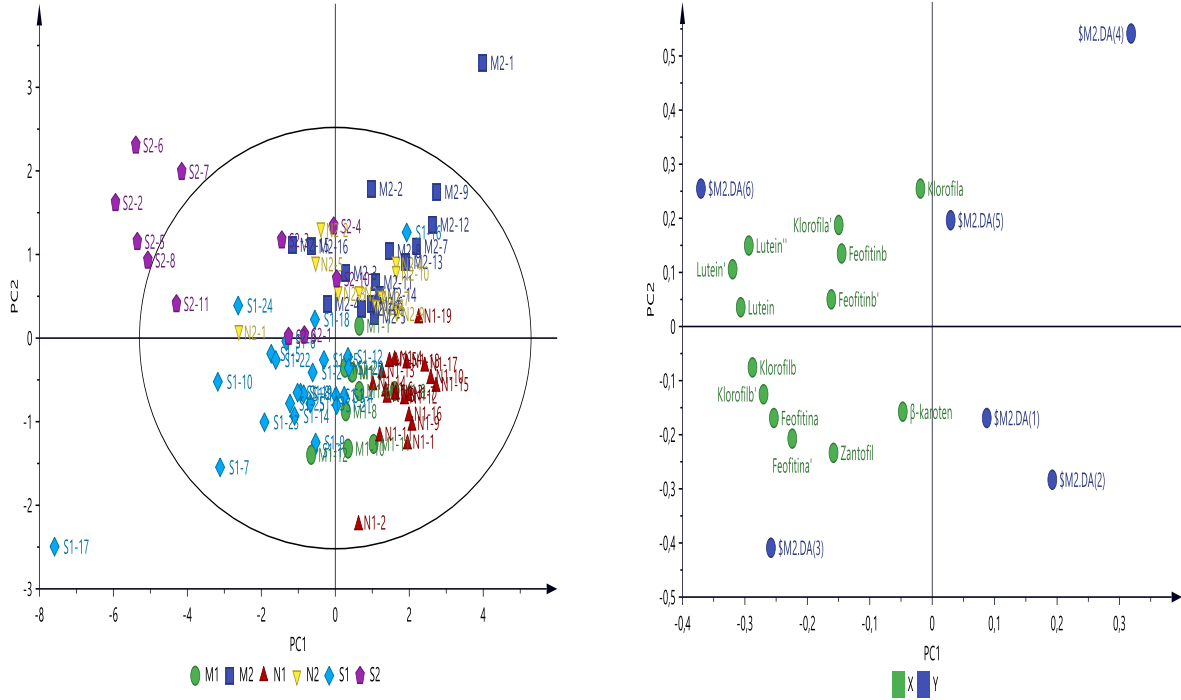
Standart sapmalar: ¹ 0,52, ² 0,11, ³ 0,01, ⁴ 0,01, ⁵ 0,02, ⁶ 0,02, ⁷ 0,10, ⁸ 0,24, ⁹ 0,08, ¹⁰ 0,03, ¹¹ 0,05, ¹² 0,02, ¹³ 0,82; * örnek sayıları



Şekil 11. 2015/16 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin pigment profilleri verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri



Şekil 12. 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin pigment profilleri verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri



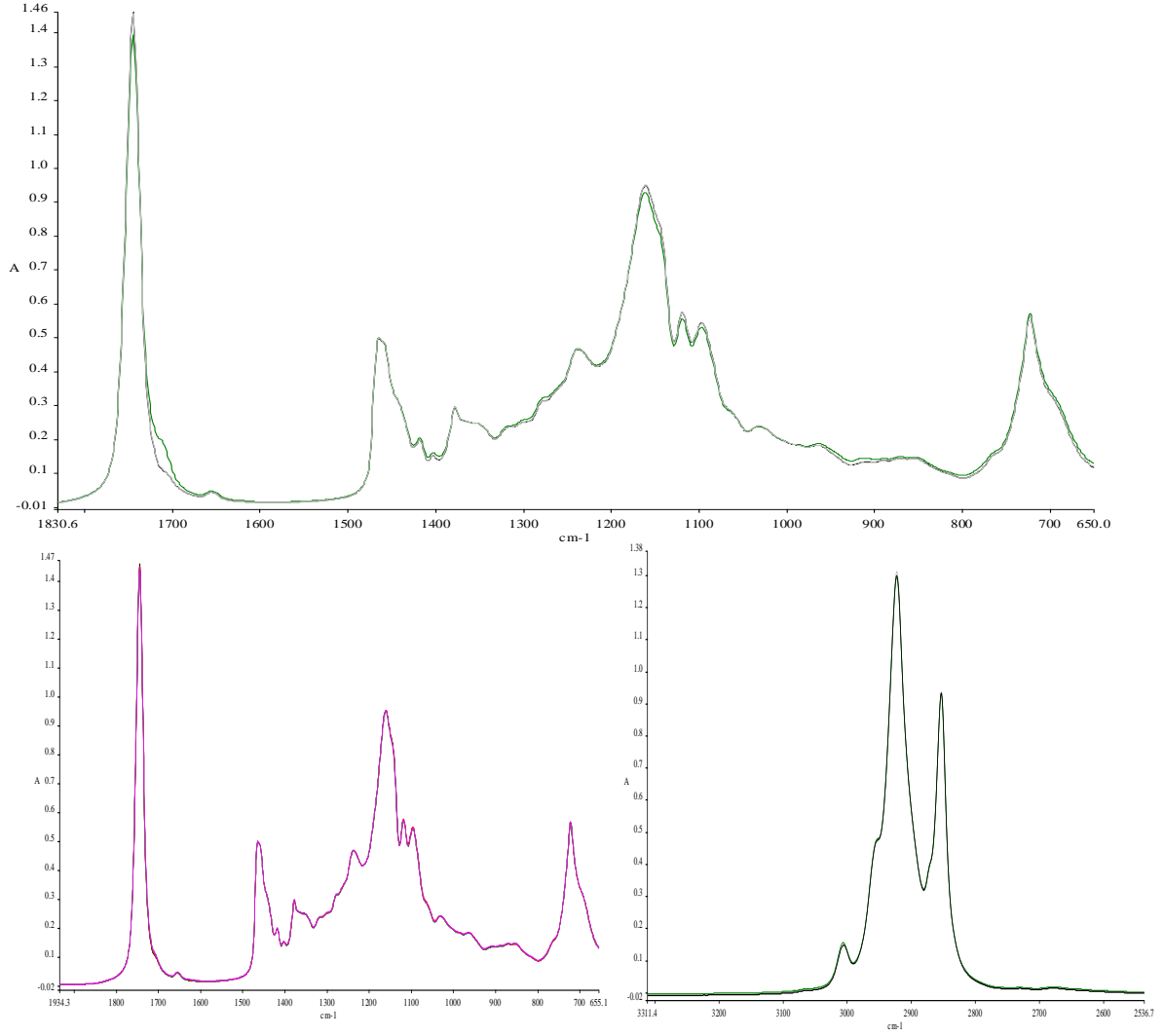
Şekil 13. 2015/16 ve 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin pigment profilleri verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri

4.1.5 FTIR Profilleri

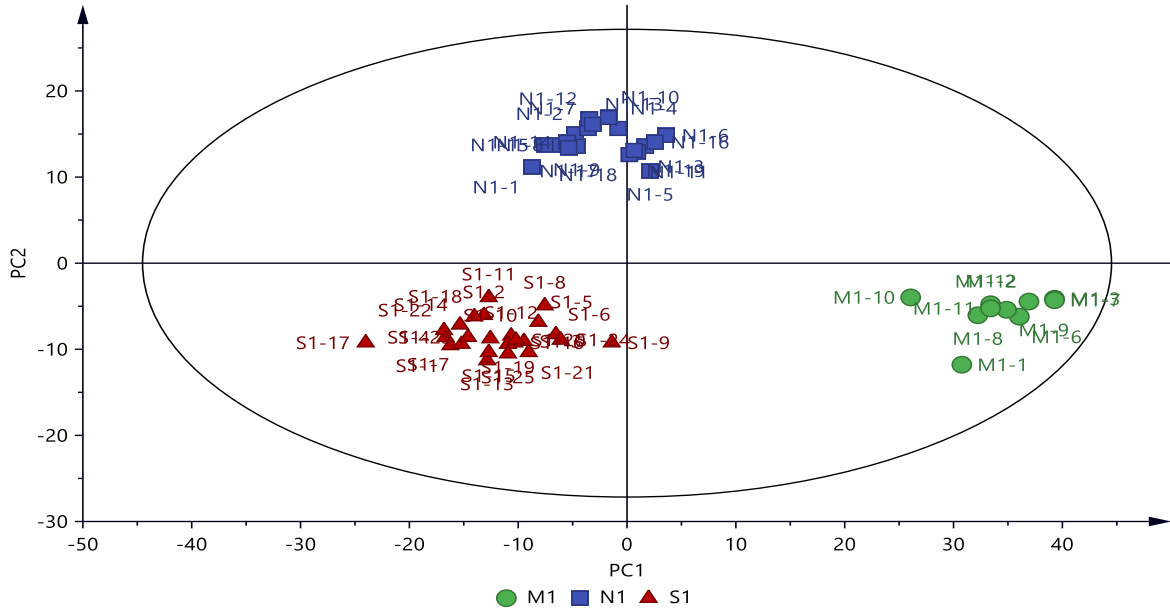
Ege Bölgesinin çeşitli yerlerinden iki hasat sezonu boyunca toplanan zeytinyağı örneklerinin FTIR spektralleri elde edilmiş (Şekil 14) ve bu spektra verileri çok değişkenli analiz yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Farklılıkların daha iyi görülebilmesi amacıyla spektra üç farklı kısma bölünerek gösterilmiştir. Şekil 14'den görüleceği üzere özellikle Kuzey ve Güney Ege bölgesi yağlarının spektralleri birbirine çok benzemektedir. Orta Ege bölgesi yağları ise diğerlerinden 1650-1750, 1425-1375, 1325-1275, 1200-1050 ve 1000-750 cm^{-1} bölgelerinde farklılık göstermektedir. Farklılıkların daha iyi belirlenebilmesi için spektra verileri çok değişkenli istatistiksel yöntemlerle analiz edilmiştir. Şekil 15'de ilk sezon verilerinin OPLS-DA skor grafiği görülmektedir. FTIR spektra verileri göz önüne alındığında ilk sezon için üç bölgenin de birbirinden mükemmel bir şekilde ayrıldığı görülebilir. Her bölge kendi içinde kümelenmiştir ve bölgeler diğerlerinden ayrık durmaktadır.

İkinci hasat sezonu örneklerinin OPLS-DA skor grafiği ise Şekil 16'da görülebilir. İlk sezona göre biraz daha dağınık olmakla beraber yine de bölgeler birbirinde ayrı şekilde kümelenmiştir. Ancak ikinci sezon Orta Ege zeytinyağı örnekleri Kuzey Ege örneklerine daha yakın durmaktadır. İki sezonun verileri beraber değerlendirildiğinde elde edilen skor grafiğine

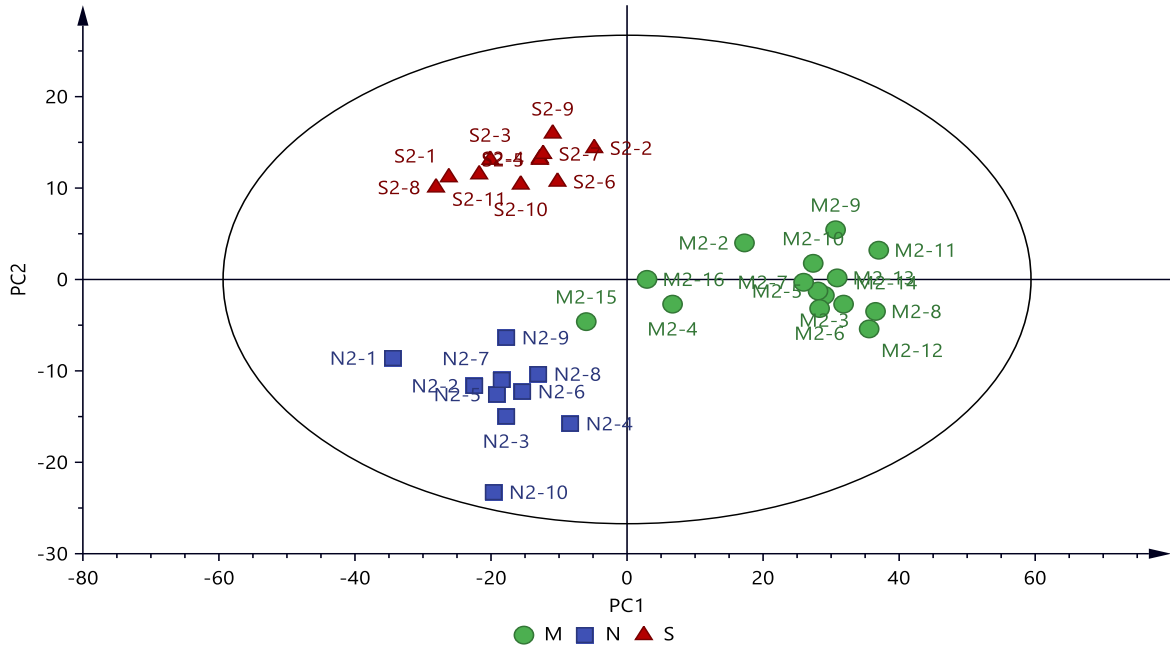
(Şekil 17) göre ilk sezon zeytinyağı örneklerinin skor grafiğinin üst yarısında ikinci sezon yağların ise alt yarıda bulunduğu görülebilir. Çok değişkenli istatistiksel yöntemlerle beraber kullanıldığında FTIR spektroskopinin bölgelere göre ayırım yapmakta oldukça başarılı olduğuna dair benzer yönde çalışmalar literatürde de bulunmaktadır (Gurdeniz vd., 2010; Gurdeniz vd., 2008) ve bu çalışmanın sonuçları önceki sonuçları doğrulamaktadır.



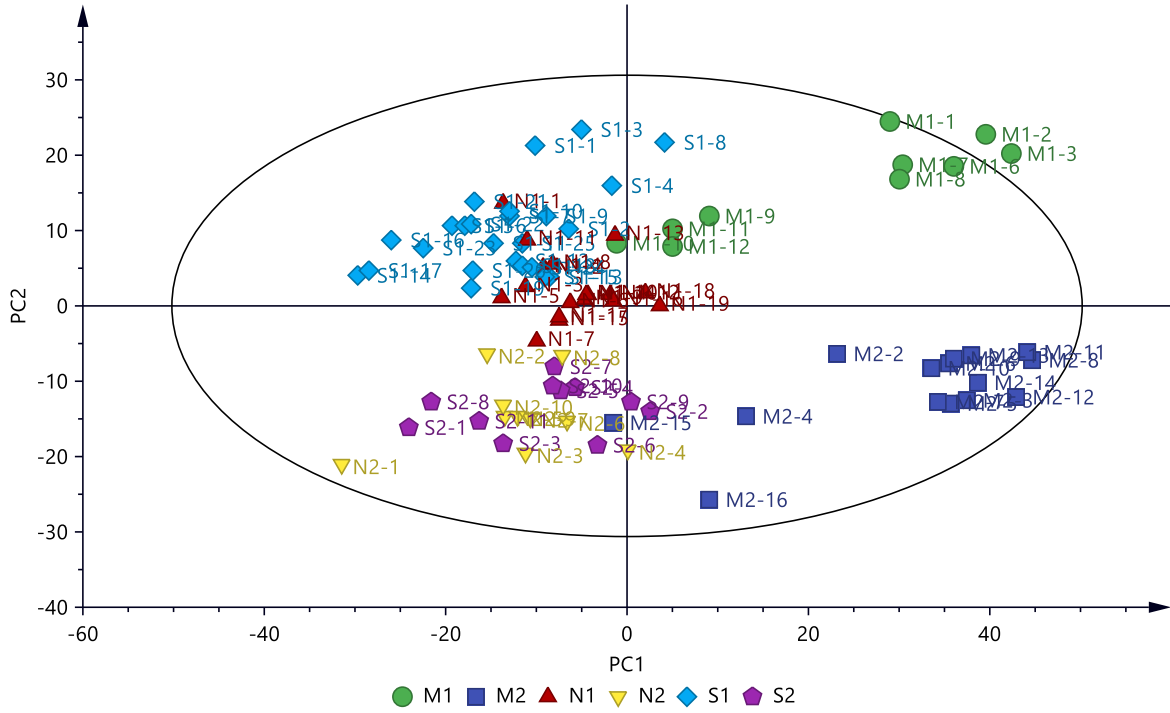
Şekil 14. Kuzey, Güney ve Orta Ege'ye ait zeytinyağlarının FTIR spektraları



Şekil 15. 2015/16 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin FTIR spektra verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor grafiği



Şekil 16. 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin FTIR spektra verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor grafiği



Şekil 17. 2015/16 ve 2016/17 hasat sezonu zeytinyağı örneklerinin FTIR spektra verileri ile hazırlanan OPLS-DA skor ve değişken grafikleri

4.2 Kimyasal Parametrelerin Orta Bölge Infrared Spektroskopi ile Tahmini

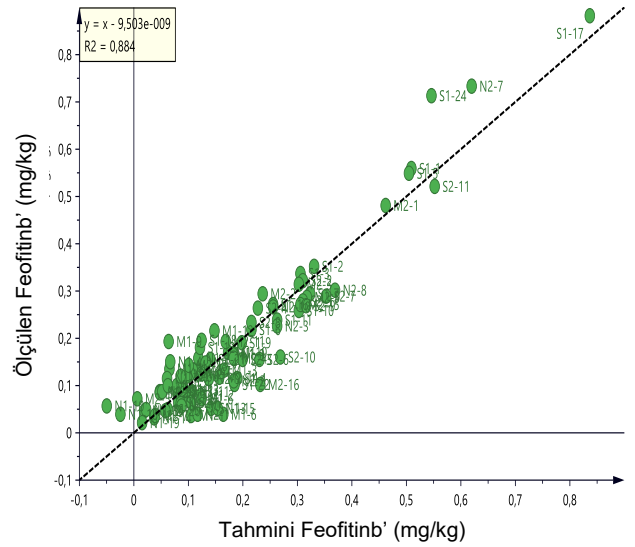
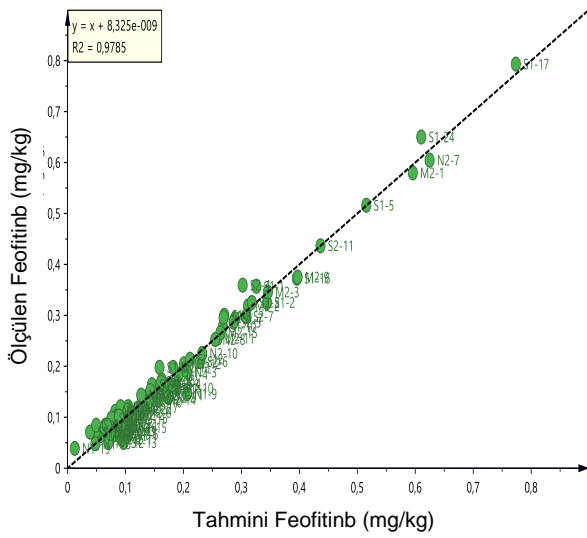
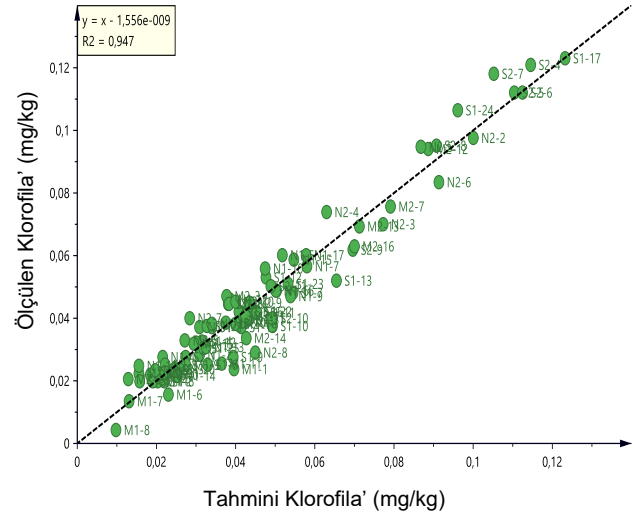
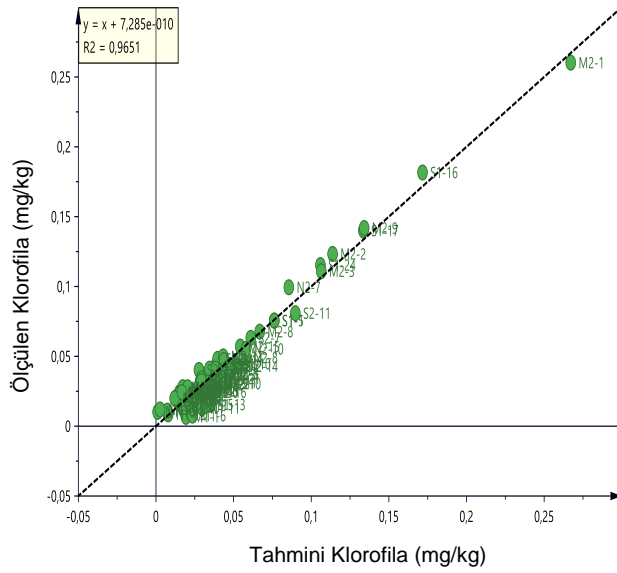
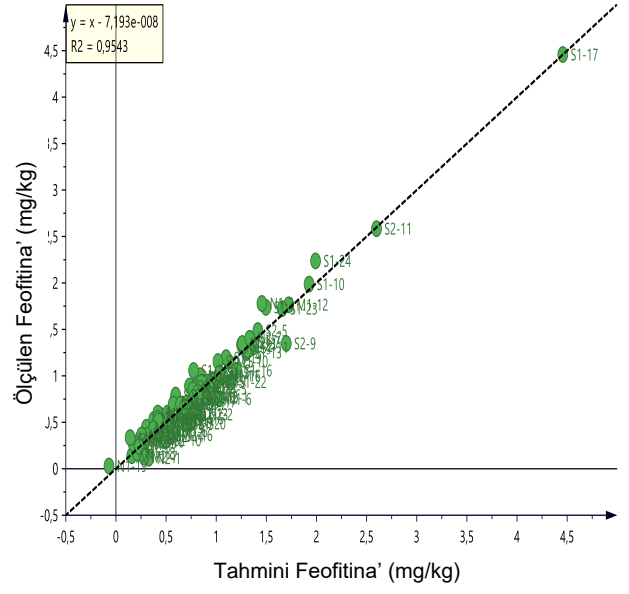
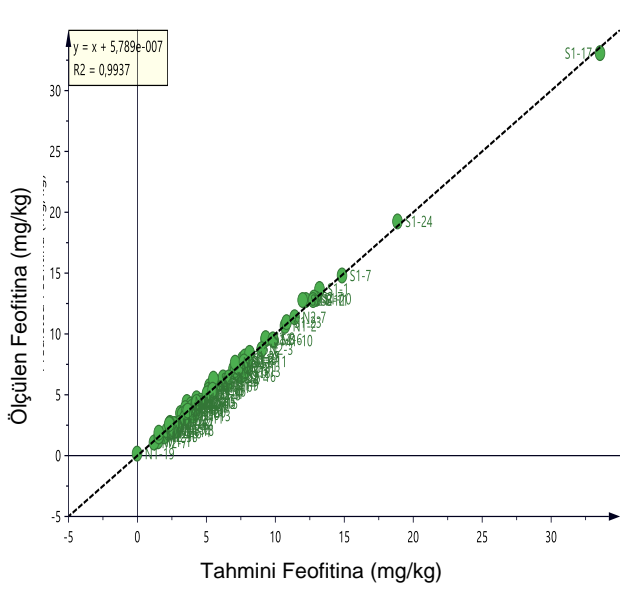
Bu çalışmada elde edilen kimyasal parametrelerden FAAE, DAG ve klorofil ve karotenoid içerikleri FTIR spektra verilerinden tahmin edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla çok değişkenli istatistiksel regresyon tekniklerinden PLS regresyon yöntemi ikinci türevi alınmış FTIR spektralarının analizinde kullanılmıştır. Veri seti iki hasat yılında toplanan 91 adet zeytinyağı örneklerinden oluşmaktadır ve doğrulama yöntemi olarak çapraz doğrulama (cross-validation) tekniği kullanılmıştır.

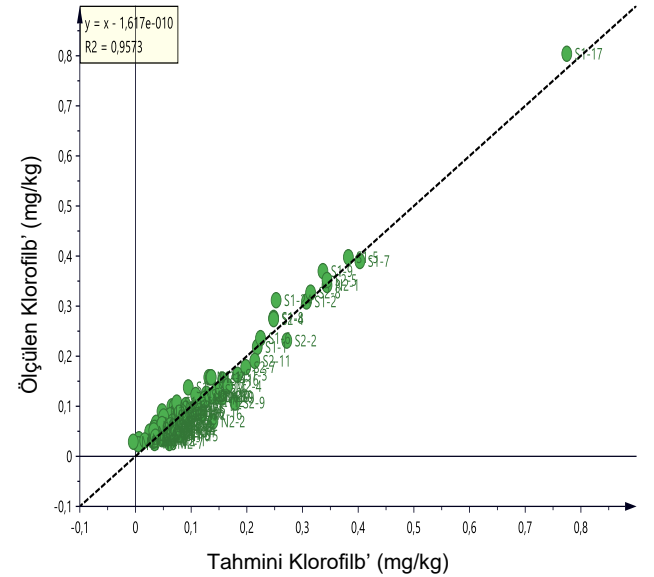
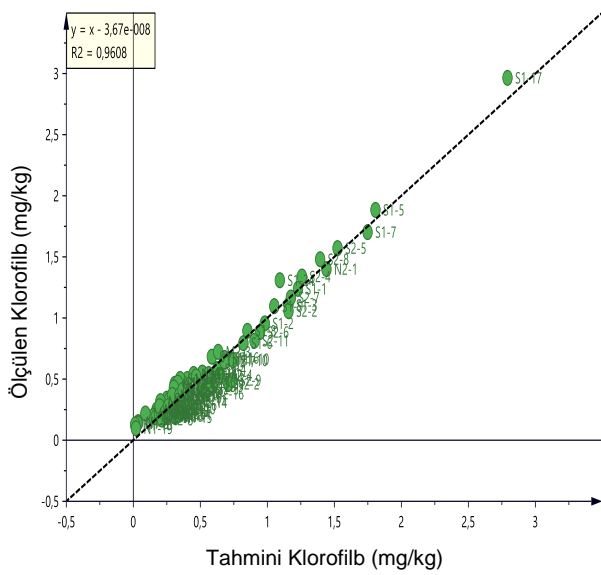
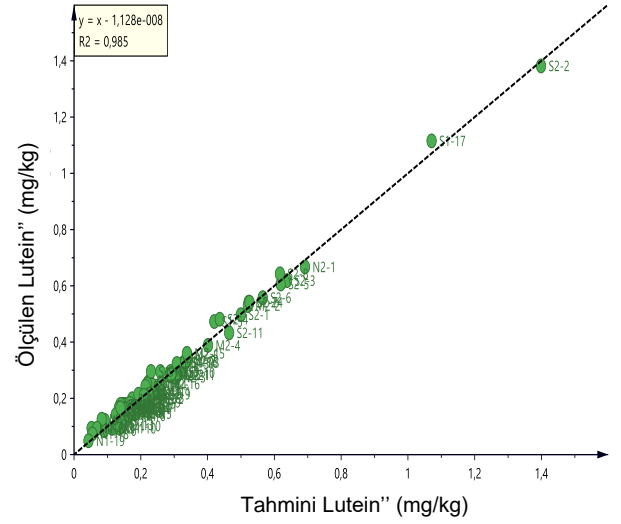
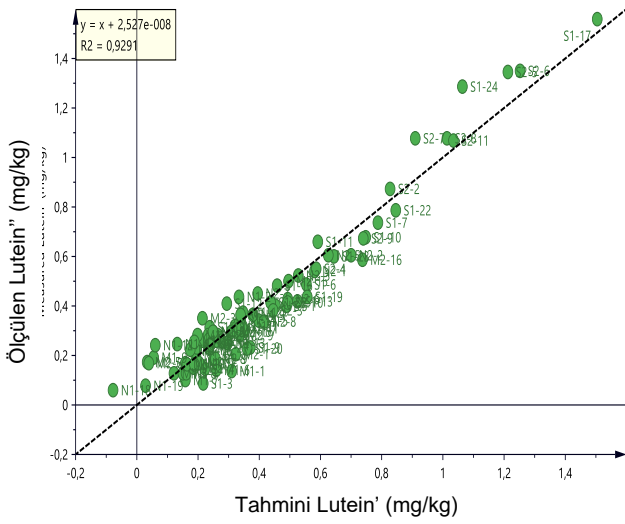
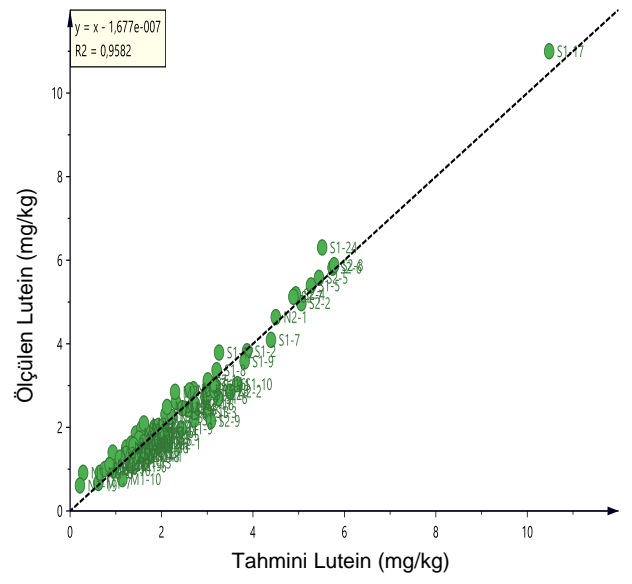
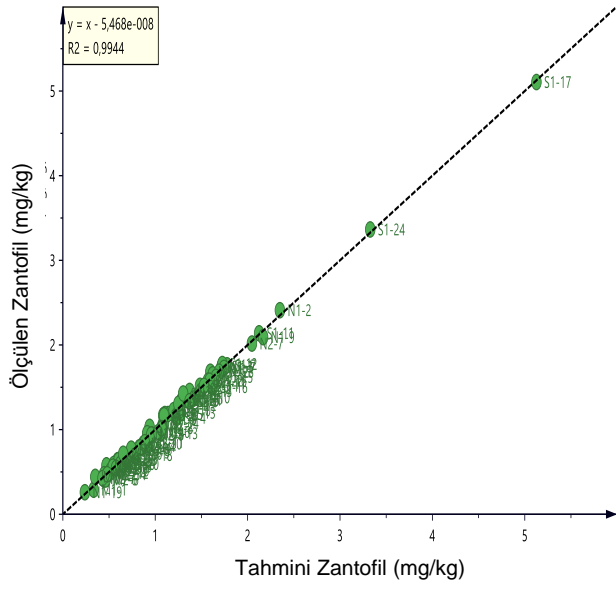
FAAE için tahmin grafikleri Şekil 18'de ve tahmin istatistikleri ise Tablo 7'de verilmiştir. FAAE, FAME ve FAEE miktarlarının FTIR verilerinden tahminleri için oluşturulan regresyon modellerinin model R^2 ve doğrulama R^2 değerleri oldukça yüksektir. Mumsu madde için oluşturulan model de yüksek model R^2 değerine sahiptir ancak doğrulama R^2 değeri ortalama düzeydedir. FAEE/FAME oranıtısı için model R^2 değeri 0,9 ve yüksek bir değer olmasına rağmen doğrulama R^2 değeri (0,6) diğer tahmin değerlerine göre düşüktür. Modellerin RMSEE ve RMSEcv sonuçları da kabul edilebilir değerlerdedir. Bu sonuçlara göre FAAE değerlerinin FTIR spektralarından oldukça doğru bir şekilde tahmin edilebileceği görülmektedir. Literatürde bulunan benzer bir çalışmada daha az sayıda örnek kullanılarak FAAE, FTIR spektroskopi ile tahmin edilmiş ve tahmin modelleri için yüksek R^2 değerleri hesaplanmıştır (Valli vd., 2013)

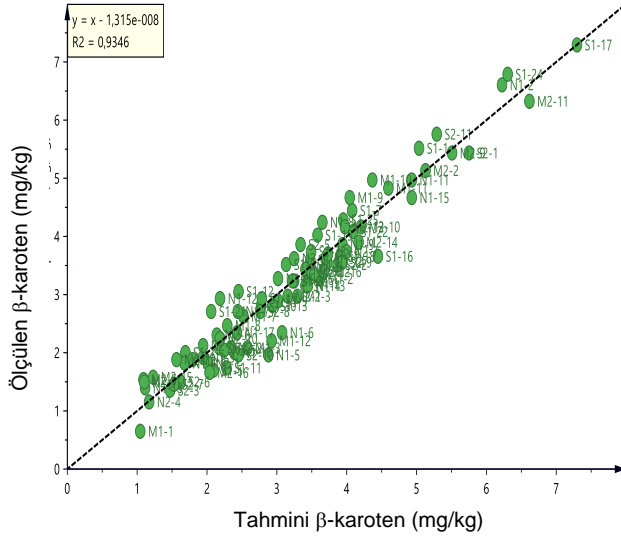
Tablo 7. Zeytinyağı yağ asitleri alkil esterlerinin FTIR spektra verilerinden tahmini için oluşturulan PLS regresyon modellerinin istatistiksel sonuçları

Parametre	R ² model	R ² doğrulama	RMSEE	RMSEcv
FAAE	0,98	0,93	5,93	38,74
FAME	0,99	0,88	4,98	31,29
FAEE	0,99	0,87	2,17	26,36
FAEE/FAME	0,90	0,60	0,17	0,34
Mumsu madde	0,98	0,70	2,90	10,74

Zeytinyağların klorofil ve karoten içeriklerini FTIR spektra verilerinden tahmin için oluşturulan PLS regresyon modelleri Şekil 19'da gösterilmiş ve bu modellere ait istatistikler de Tablo 8'de listelenmiştir. Model R² değerleri feofitinb' dışında 0,90'nın üzerindedir. Ancak doğrulama R² değerleri orta ($0,5 < R^2 < 0,8$) veya düşük ($R^2 < 0,5$) seviyelerdedir. En iyi modeller klorofil a, lutein, lutein' ve klorofila' bileşikleri için oluşturulmuştur. RMSEE değerleri genellikle kabul edilebilir düzeyde olmalarına rağmen RMSEcv değerleri biraz yüksektir. Bu durum ölçülen miktarların düşük seviyelerde olmasından kaynaklanabilmektedir. Buna rağmen elde edilen modeller özellikle klorofil a ve lutein gibi bileşikler için oldukça umut vericidir ve literatürde benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır. Modellerin daha geniş konsantrasyon aralığına sahip örnekler ekleyerek geliştirilebilme olanağı vardır.







Şekil 19. Zeytinyağların klorofil ve karotenoid miktarlarının FTIR spektra verilerinden tahminini gösteren PLS regresyon grafikleri

Tablo 8. Zeytinyağların klorofil ve karoten miktarlarının FTIR spektra verilerinden tahmini için oluşturulan PLS regresyon modellerinin istatistiksel sonuçları

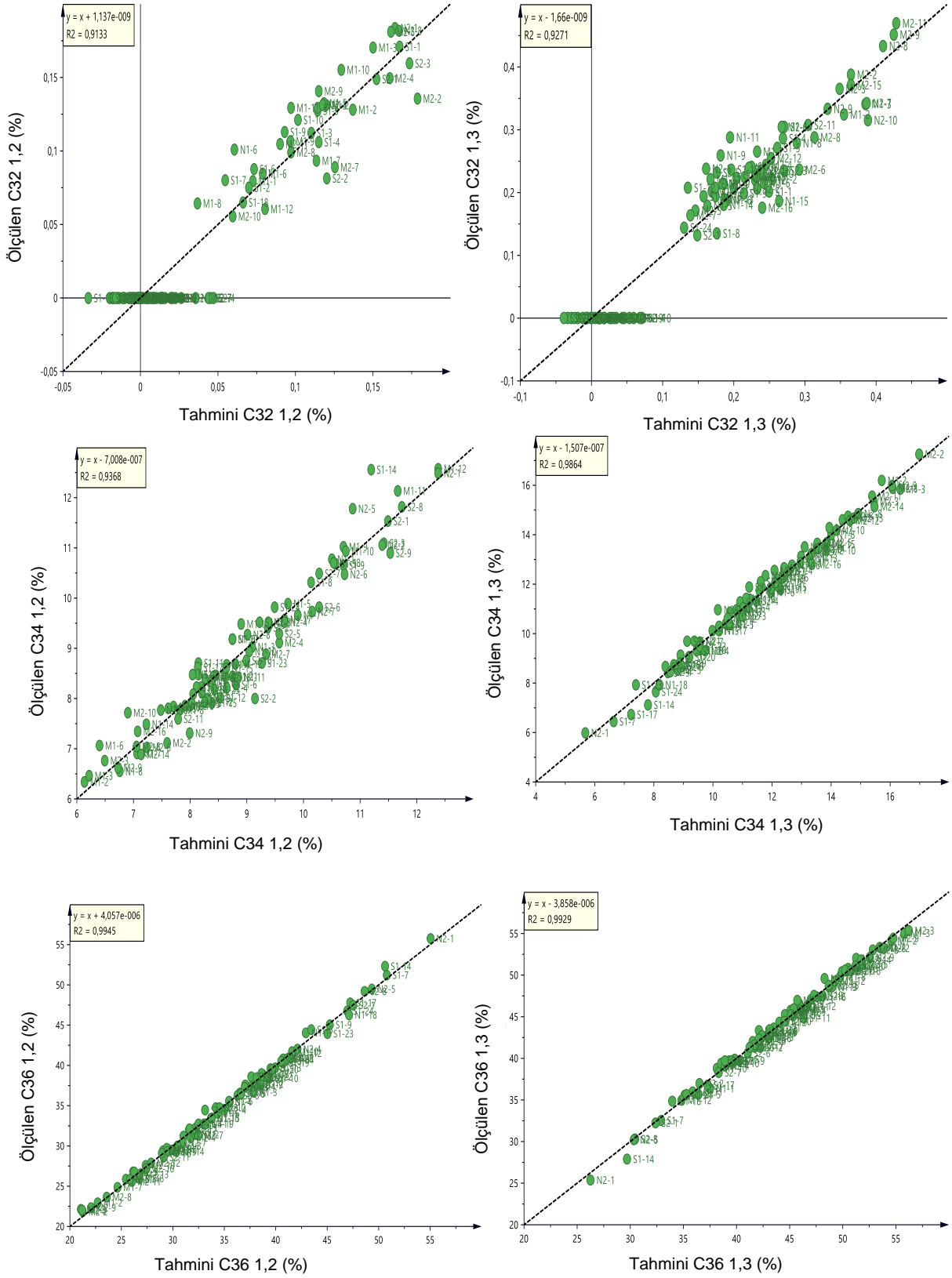
Parametre	R ² model	R ² doğrulama	RMSEE	RMSEcv
Feofitina	0,99	0,47	0,37	3,50
Feofitina'	0,95	0,47	0,14	0,49
Klorofila	0,97	0,63	0,01	0,03
Klorofila'	0,95	0,51	0,01	0,02
Feofitinb	0,98	0,30	0,02	0,12
Feofitinb'	0,88	0,30	0,06	0,13
Zantofil	0,99	0,50	0,05	0,52
Lutein	0,96	0,48	0,33	1,17
Lutein'	0,93	0,53	0,08	0,21
Lutein''	0,99	0,56	0,03	0,14
Klorofilb	0,96	0,46	0,09	0,35
Klorofilb'	0,96	0,40	0,02	0,09
β-karoten	0,94	0,25	0,36	1,39

DAG miktarlarını FTIR spektroskopisi ile belirlenebilmesi için oluşturulan PLS tahmin grafikleri Şekil 20'de gösterilirken modellere ait istatistiksel bilgiler Tablo 9'da listelenmiştir.

Bütün parametreler için model R^2 değerleri 0,9'un üstü olarak hesaplanmıştır. Doğrulama R^2 değerleri ise 0,40-0,81 aralığında ortalama değerlere sahiptir. RMSEE ve RMSEcv değerleri tolere edilebilir düzeydedir.

Tablo 9. Zeytinyağların diasilgliserol miktarlarının FTIR spektra verilerinden tahmini için oluşturulan PLS regresyon modellerinin istatistiksel sonuçları

Parametre	R^2 model	R^2 doğrulama	RMSEE	RMSEcv
C32 1,2%	0,91	0,40	0,02	0,05
C32 1,3%	0,93	0,40	0,04	0,10
C34 1,2%	0,94	0,58	0,38	1,00
C34 1,3%	0,99	0,81	0,30	1,21
C36 1,2%	0,99	0,76	0,58	4,18
C36 1,3%	0,99	0,65	0,56	4,07
Total 1,2%	0,99	0,73	0,71	5,06
Total 1,3%	0,99	0,73	0,71	5,06
Total 1,2/1,3%	0,98	0,52	0,05	0,23



Şekil 20. Zeytinyağların diasilgliserol miktarlarının FTIR spektra verilerinden tahminini gösteren PLS regresyon grafikleri

Genel olarak bütün parametreler için elde edilen modellere bakıldığında oldukça başarılı sonuçlar alındığı görülebilir. Bu teknikle elde edilen istatistiksel modeller kullanılarak tek bir spektra ölçümü ile bir çok kimyasal parametrenin belirlenebilmesinin olanaklı olduğu görülmektedir.

4.3 Tağşiş Çalışmaları

Tağşiş çalışmalarında ilk olarak 2014/2015 hasat yılına ait zeytinyağı karışımı (eski), 2015/16 yılına ait Kuzey ve Güney Ege Bölgesi zeytinyağı karışımlarına %10-50 aralığında eklenmiştir. Kuzey Ege karışımı N1-1, N1-3, N1-5, N1-7, N1-8, N1-10, N1-11, N1-17 ve N1-18 yağlarının karıştırılması ile elde edilmiş, Güney Ege karışımı ise S1-7, S1-10, S1-11, S1-13, S1-14, S1-16, S1-17, S1-19, S1-23 ve S1-24 yağlarından oluşmuştur. Bu yağların karıştırılma için seçilme nedeni düşük serbest yağ asitliği ve K değerleridir. Eski, yeni ve eski+yeni karışımlara ait kimyasal ölçüm değerleri Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. 2014/15'e ait zeytinyağının 2015/16 hasat yılına ait Kuzey ve Güney Ege zeytinyağlarına eklendiğinde elde edilen karışımların serbest yağ asitliği (SYA), K232 ve K270 değerleri

Örnek kodu	Örnek	SYA (%) ¹	K232 ²	K270 ³
Nmix	Kuzey Ege (yeni)	0,52	2,23	0,20
NO-10	Kuzey Ege +eski (%10)	0,59	2,28	0,30
NO-20	Kuzey Ege +eski (%20)	0,62	2,32	0,29
NO-30	Kuzey Ege +eski (%30)	0,68	2,44	0,25
NO-40	Kuzey Ege +eski (%40)	0,78	2,30	0,19
NO-50	Kuzey Ege +eski (%50)	0,73	2,67	0,22
Smix	Güney Ege (yeni)	0,50	2,12	0,25
SO-10	Güney Ege +eski (%10)	0,57	2,15	0,19
SO-20	Güney Ege +eski (%20)	0,59	2,24	0,25
SO-30	Güney Ege +eski (%30)	0,66	2,41	0,18
SO-40	Güney Ege +eski (%40)	0,77	2,38	0,22
SO-50	Güney Ege +eski (%50)	0,73	2,44	0,26
Omix	Eski	1,04	2,66	0,23

Standart sapmalar: ¹ 0,03, ² 0,07, ³ 0,03,

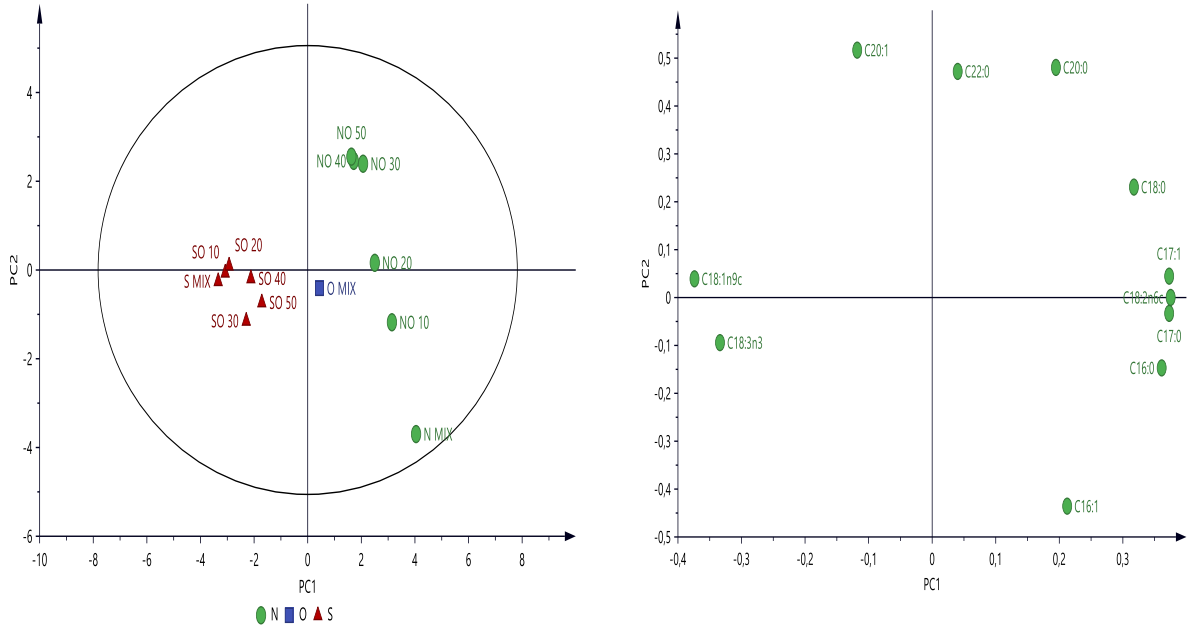
Eski zeytinyağıyla karıştırılmış taze zeytinyağların yağ asitleri profilleri Tablo 11'de listelenmiştir. Çalışmanın bu kısmında örnek sayısı kısıtlı olduğundan veri analizlerinde çok değişkenli istatistiksel yöntem olarak PCA kullanılmıştır. Karışımların yağ asitleri profilleri kullanılarak elde edilen PCA skor ve değişken grafikleri Şekil 21'de gösterilmiştir. Görüleceği

üzere Kuzey ve Güney karışımları birbirlerinden tamamen farklı konumlarda bulunmakta ve PC1'e göre ayrışmaktadır. Eski yağ (Omix) skor grafiğinin orta noktasına yakın durmaktadır. İçine eski yağ eklenmemiş Kuzey yağı, eski-yeni karışım Kuzey yağlarından oldukça ayırık bir pozisyonda bulunmaktadır. Taze yağ (Nmix) skor grafiğinin alt sağ köşesinde yer almaktadır. İçinde %30 ve üstü miktarda eski karışım içeren yağlar ise sağ üst kısımda bulunmaktadır ve bu da PC 2'ye göre bir ayrımı işaretlemektedir. Değişken grafiğine göre %30 ve üstü karışımları taze yağlardan ayıran yağ asitleri 16:0, 16:1 ve 17:0 olarak görülmektedir ve bu karışımlarda sözü edilen yağ asitleri %30 altındaki karışımlara göre daha düşük yüzdelerdedir. Eski yağ karıştırılmamış Güney yağı ise karışım örneklerinden çok iyi ayrışmamış durumdadır. Muhtemelen bu durum yeni Güney zeytinyağının (Smix) ve eski yağın (Omix) skor grafiğinde birbirlerinden çok uzakta bulunmalarından kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak yağ asitleri profiline göre eski-yeni yağ karışımlarının %30 seviyelerinde tespit edilebilme olasılığı varken Güney zeytinyağlarında ayırım başarılı olmamıştır.

Tablo 11. 2014/15'e ait zeytinyağının 2015/16 hasat yılına ait Kuzey ve Güney Ege zeytinyağlarına eklendiğinde elde edilen karışımların yağ asitleri profilleri

Örnek kodu*	C16:0 ¹	C16:1 ²	C17:0 ³	C17:1 ⁴	C18:0 ⁵	C18:1n9c ⁶	C18:2n6c ⁷	C20:0 ⁸	C18:3n3 ⁹	C20:1 ¹⁰	C22:0 ¹¹
Nmix	14,49	0,86	0,18	0,24	2,71	68,8	11,38	0,4	0,63	0,25	0,06
NO-10	14,38	0,85	0,16	0,23	2,68	68,92	11,22	0,44	0,71	0,27	0,15
NO-20	14,12	0,82	0,15	0,24	2,70	69,38	10,99	0,44	0,71	0,31	0,13
NO-30	13,64	0,79	0,14	0,22	2,75	69,92	10,91	0,46	0,68	0,34	0,16
NO-40	13,52	0,78	0,13	0,21	2,71	70,28	10,77	0,48	0,64	0,34	0,14
NO-50	13,44	0,78	0,14	0,22	2,74	70,41	10,65	0,47	0,67	0,34	0,15
Smix	12,74	0,79	0,05	0,10	2,63	72,72	9,34	0,41	0,79	0,31	0,12
SO-10	12,72	0,80	0,06	0,11	2,64	72,66	9,38	0,41	0,78	0,33	0,12
SO-20	12,70	0,78	0,08	0,12	2,61	72,62	9,48	0,41	0,76	0,31	0,13
SO-30	13,02	0,81	0,08	0,13	2,63	72,13	9,60	0,40	0,78	0,30	0,11
SO-40	12,95	0,78	0,08	0,13	2,61	71,99	9,89	0,41	0,73	0,31	0,12
SO-50	13,05	0,80	0,09	0,14	2,64	71,89	9,80	0,40	0,75	0,32	0,11
Omix	13,58	0,80	0,13	0,18	2,67	70,72	10,37	0,42	0,72	0,28	0,14

Standart sapmalar: ¹ 0,02, ² 0,00, ³ 0,01, ⁴ 0,00, ⁵ 0,01, ⁶ 0,10, ⁷ 0,04, ⁸ 0,02, ⁹ 0,07, ¹⁰ 0,01, ¹¹ 0,01



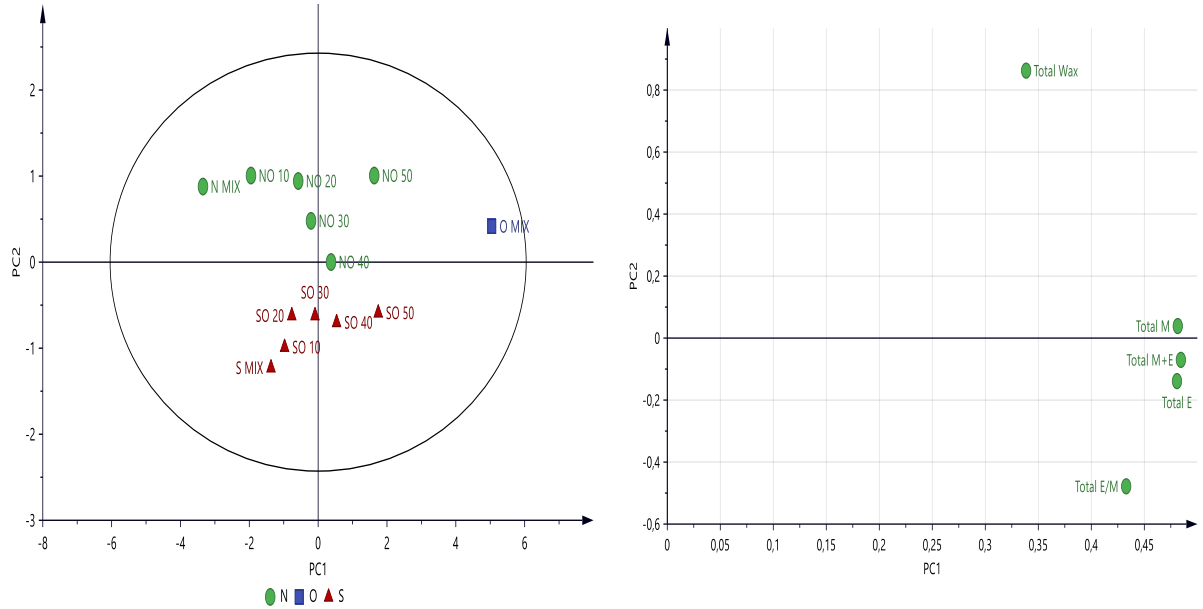
Şekil 21. 2014/2015 hasat yılına ait eski zeytinyağın Kuzey ve Güney Ege yağlarına %10-50 oranında karıştırılması sonucu elde edilen yağların yağ asitleri profil verileri kullanılarak PCA ile oluşturulan modelinin skor ve değişken grafikleri

Tablo 12 eski-yeni karışım yağların FAAE ve mumsu madde içeriklerini göstermektedir ve Şekil 22’de FAAE ve mumsu madde içeriğine göre PCA ile ayırım görülmektedir. Buna göre eski yağlarla karıştırma yapıldığında Kuzey ve Güney Ege yağları arasında ayırım çok açıktır. Ayrıca karışımlar yüzdelere göre yeni Kuzey ve Güney yağlarından ayırık durmaktadırlar. Eski yağ bütün alkil ester parametrelerinde diğer karışım yağlarına göre daha yüksek değerlere sahiptir ve bu nedenle değişken grafiğinde bu özellikler karışımların eski yağdan ayırık durmasına neden olmaktadır. Özellikle %30 ve üzeri seviyedeki karışımlar skor grafiğinde yeni yağlardan oldukça uzakta bulunmaktadır ve yeni yağlardan PC1’e göre ayrılmaktadır. Bu da FAAE ve mumsu madde içeriğine göre eski yağlarla karıştırılan yeni yağların %30 ve üstü seviyelerde tespit edilebileceğini göstermektedir.

Tablo 12. 2014/15'e ait zeytinyağının 2015/16 hasat yılına ait Kuzey ve Güney Ege zeytinyağlarına eklendiğinde elde edilen karışımların yağ asitleri toplam metil ester (FAME), toplam etil ester (FAEE), toplam alkil ester (FAAE) ve mumsu madde değerleri (mg/kg)

Örnek kodu*	FAME ¹	FAEE ²	FAAE ³	FAEE/FAME ⁴	Mumsu madde ⁵
Nmix	13,94	7,02	20,97	0,34	15,13
NO-10	16,22	8,94	25,16	0,55	19,32
NO-20	20,08	12,55	32,63	0,63	20,61
NO-30	19,67	14,46	34,14	0,73	19,90
NO-40	20,83	16,85	37,68	0,81	18,71
NO-50	23,26	19,47	42,72	0,84	25,23
Smix	18,05	13,05	31,10	0,72	9,96
SO-10	18,34	13,94	32,28	0,76	11,99
SO-20	18,12	14,18	32,31	0,78	14,38
SO-30	20,24	16,16	36,40	0,80	14,97
SO-40	21,69	18,27	39,96	0,84	15,44
SO-50	22,02	22,22	44,25	1,01	19,17
Omix	30,69	32,17	62,86	1,05	

Standart sapmalar: ¹ 2,39, ² 1,57, ³ 0,83, ⁴ 0,01, ⁵ 0,53



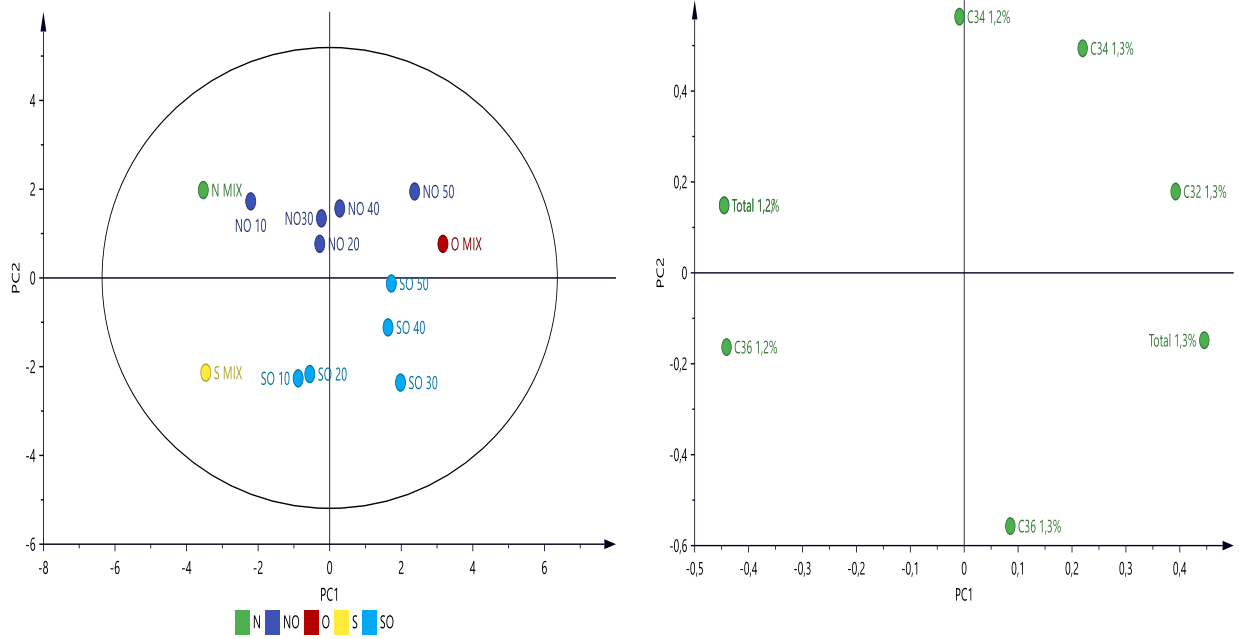
Şekil 22. 2014/2015 hasat yılına ait eski zeytinyağın Kuzey ve Güney Ege yağlarına %10-50 oranında karıştırılması sonucu elde edilen yağların yağ asitleri alkil ester içeriği verileri kullanılarak PCA ile oluşturulan modelinin a) skor ve b) değişken grafikleri

Çeşitli oranlarda eski zeytinyağı ile karıştırılmış Kuzey ve Güney Ege zeytinyağlarının DAG profilleri Tablo 13'de sunulmuştur. Bu veriler ile oluşturulan PCA skor ve değişken grafikleri ise Şekil 23'de görülebilir. Taze Kuzey ve Güney Ege yağları grafiğin sol tarafında eski yağ ise sağ tarafta bulunmaktadır. Bu örneklerin arasında ise karışım yüzdelere göre eski-yeni karışım yağlar yer almaktadır. Yeni ve %10-30 eski içeren yağlar grafiğin sol üst köşesinde daha üst seviyedekiler ise sağ üstte bulunmaktadır. Bu nedenle Kuzey Ege yağları için DAG ile ayırım %40 ve üstünde gerçekleşmektedir. Güney Ege yağlarında ise DAG profili baz alındığında skor grafiği yeni Güney Ege yağının PC1'e göre %30 ve üstü seviyelerde eski karışımlardan ayrıldığını işaret etmektedir. Değişken grafiğine göre bu farklılığın en önemli nedeni karışımların 1,2 C36 DAG oranlarının taze ve düşük oranda eski yağ içerikli yağlarda yüksekliğidir. Kuzey Ege yağlarının eski karışımlarının 1,2 C34 DAG seviyelerinin yüksekliği ve 1,3 C32 DAG ve 1,3 C34 DAG seviyelerinin ise daha düşük olması bu ayrışmanın nedenleridir.

Tablo 13. 2014/15'e ait zeytinyağının 2015/16 hasat yılına ait Kuzey ve Güney Ege zeytinyağlarına eklendiğinde elde edilen karışımların diasilgliserol profilleri (%)

Örnek kodu	1,2 C32 ¹	1,3 C32 ²	1,2 C34 ³	1,3 C34 ⁴	1,2 C36 ⁵	1,3 C36 ⁶	Toplam 1,2 ⁷	Toplam 1,3 ⁸	1,2/1,3 ⁹
Nmix	0	0,33	6,62	14,23	24,5	54,32	31,12	68,88	0,45
NO-10	0	0,38	6,57	14,68	22,05	56,32	28,61	71,39	0,4
NO-20	0	0,32	6,4	14,63	23,49	55,16	29,90	70,1	0,43
NO-30	0	0,4	6,45	14,64	23,63	54,89	30,08	69,92	0,43
NO-40	0	0,43	6,49	14,72	23,51	54,85	30	70	0,43
NO-50	0	0,47	6,62	15,25	22,79	54,88	29,4	70,6	0,42
Smix	0	0,29	5,77	12,48	24,93	56,53	30,7	69,3	0,44
SO-10	0	0,37	5,7	12,87	24,27	56,79	29,97	70,03	0,43
SO-20	0	0,37	5,71	13,05	24,14	56,73	29,86	70,14	0,43
SO-30	0	0,38	5,74	13,52	23,28	57,08	29,02	70,98	0,41
SO-40	0	0,41	5,98	13,9	23,31	56,41	29,29	70,71	0,41
SO-50	0	0,44	6,19	14,21	23,21	55,95	29,4	70,6	0,42
Omix	0,15	0,47	6,26	15,06	22,64	55,42	29,05	70,95	0,41

Standart sapmalar: ¹ 0,03, ² 0,06, ³ 0,03, ⁴ 0,68, ⁵ 1,31, ⁶ 0,52, ⁷ 1,25, ⁸ 1,25, ⁹ 0,02



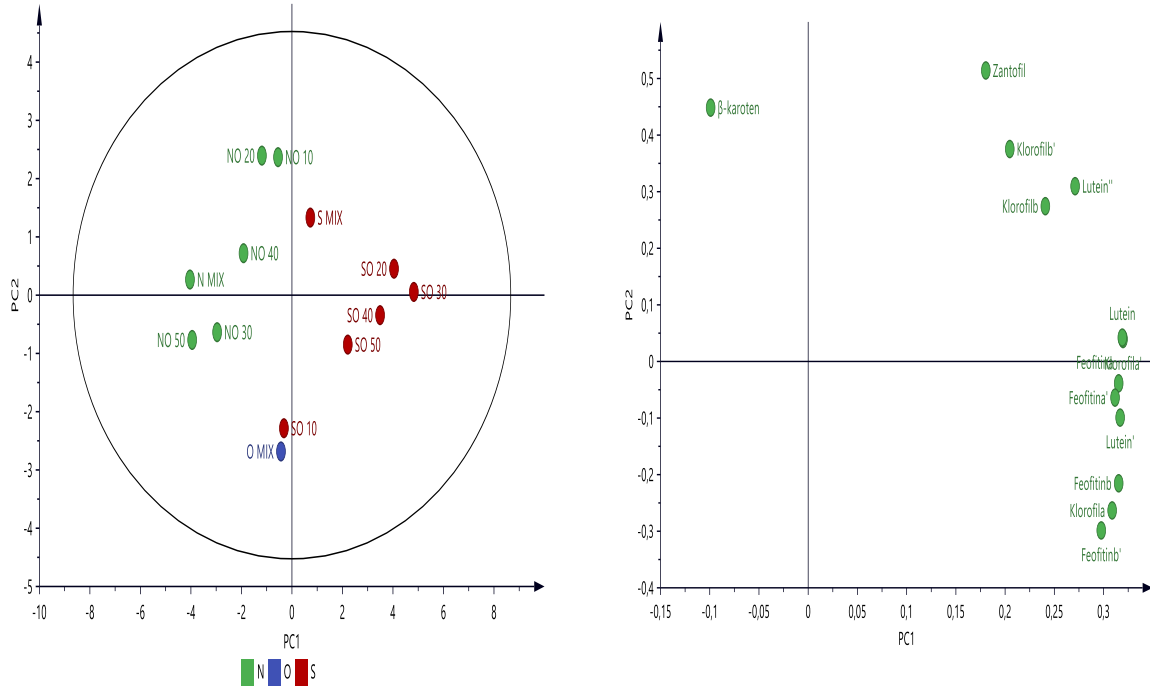
Şekil 23. 2014/2015 hasat yılına ait eski zeytinyağın Kuzey ve Güney Ege yağlarına %10-50 oranında karıştırılması sonucu elde edilen yağların diasilgliserol verileri kullanılarak PCA ile oluşturulan modelinin skor ve değişken grafikleri

Tablo 14 eski yağla değişik oranlarda karıştırılmış Kuzey ve Güney Ege yağlarının pigment profillerini listelemektedir. Bu verilerle elde edilen PCA skor ve değişken grafikleri ise Şekil 24'de gösterilmiştir. Skor grafiğine göre Kuzey Ege eski-yeni karışımları yeni yağdan pigment profiline göre ayırmak mümkün görünmemektedir. Güney Ege eski-yeni karışımları ile yeni yağ ayırımı mümkün görünmektedir. Bu yağlar için %20'nin üstündeki seviyelerde eski yağ tespiti olasıdır.

Tablo 14. 2014/15'e ait zeytinyağının 2015/16 hasat yılına ait Kuzey ve Güney Ege zeytinyağlarına eklendiğinde elde edilen karışımların pigment içerikleri (mg/kg)

Örnek kodu	Feofitin a ¹	Feofitin a ²	Klorofil a ³	Klorofil a ⁴	Feofitin b ⁵	Feofitin b ⁶	Zantofil ⁷	Lutein ⁸	Lutein ⁹	Lutein ¹⁰	Klorofil b ¹¹	Klorofil b ¹²	β-karoten ¹³
Nmix	2,90	0,57	0,06	0,03	0,18	0,13	1,12	1,26	0,16	0,11	0,19	0,04	5,13
NO-10	4,73	0,95	0,09	0,04	0,36	0,28	1,89	1,78	0,21	0,22	0,51	0,19	4,86
NO-20	3,82	0,77	0,08	0,04	0,31	0,23	1,84	1,72	0,21	0,28	0,43	0,15	5,02
NO-30	3,42	0,69	0,11	0,04	0,33	0,26	0,99	1,39	0,21	0,12	0,21	0,04	4,30
NO-40	3,74	0,73	0,10	0,04	0,37	0,27	1,29	1,76	0,17	0,16	0,41	0,13	4,48
NO-50	2,94	0,60	0,05	0,03	0,22	0,19	0,78	1,42	0,21	0,12	0,18	0,03	3,94
Smix	3,51	0,74	0,17	0,05	0,64	0,37	1,82	2,93	0,45	0,24	0,98	0,07	4,51
SO-10	4,52	0,97	0,22	0,04	0,68	0,55	0,80	1,81	0,33	0,15	0,34	0,05	2,57
SO-20	7,50	1,55	0,27	0,06	0,86	0,60	1,71	3,90	0,60	0,28	0,59	0,11	5,56
SO-30	7,69	1,59	0,30	0,08	0,85	0,68	1,47	3,36	0,52	0,25	0,80	0,18	3,90
SO-40	5,74	1,12	0,27	0,06	0,82	0,58	1,82	3,73	0,59	0,27	0,54	0,15	1,74
SO-50	5,53	1,08	0,22	0,05	0,76	0,59	1,57	3,14	0,50	0,25	0,45	0,12	1,62
Omix	4,63	1,00	0,22	0,04	0,69	0,58	0,69	1,68	0,32	0,14	0,27	0,05	2,35

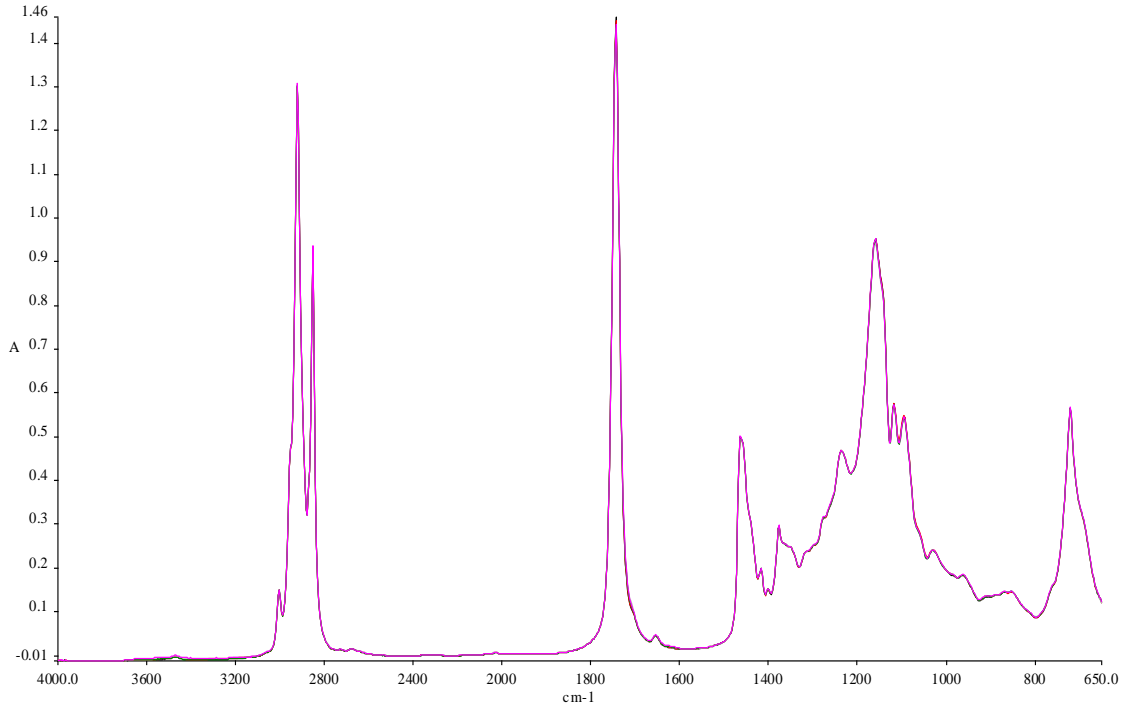
Standart sapmalar: ¹ 0,52, ² 0,11, ³ 0,01, ⁴ 0,01, ⁵ 0,02, ⁶ 0,02, ⁷ 0,10, ⁸ 0,24, ⁹ 0,08, ¹⁰ 0,03, ¹¹ 0,05, ¹² 0,02, ¹³ 0,82



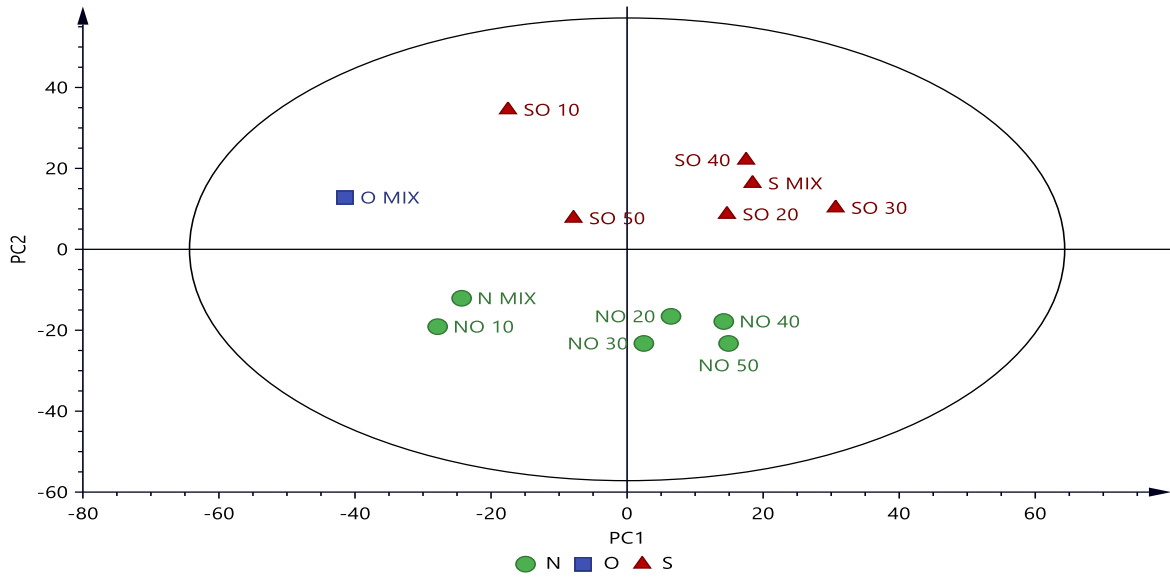
Şekil 24. 2014/2015 hasat yılına ait eski zeytinyağın Kuzey ve Güney Ege yağlarına %10-50 oranında karıştırılması sonucu elde edilen yağların pigment içeriği verileri kullanılarak PCA ile oluşturulan modelinin skor ve değişken grafikleri.

Yeni, eski ve karışım zeytinyağların FTIR spektralleri de elde edilmiştir. Bu spektrallerden bazı örnekler Şekil 25'de sunulmuştur. Infrared spektralleri karşılaştırıldığında

eski yağlar, yeni yağlardan gözle görünür farklılıklar göstermemiştir. Bu nedenle bu durumun daha iyi tespiti için veriler çok değişkenli istatistiksel analiz yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Şekil 26, FTIR verileri ile elde edilen PCA skor grafiğini göstermektedir. Eski ile karıştırılmamış Kuzey yağı (Nmix) ve %10 eski zeytinyağı ile karıştırılmış Kuzey Ege zeytinyağı (NO-10) birbirine yakın dururken diğer karışımlardan ayırık durmaktadırlar ve PC1'e göre Kuzey Ege yağı %20 ve üstü eski karışımlardan ayrılmıştır. Bu da FTIR verilerinin Kuzey yağlarında eski karışımları %20 ve üstü seviyelerde tespit edilme olasılığı olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan Güney yağları için aynı türde bir ayırım %50 seviyesinde görülmektedir.



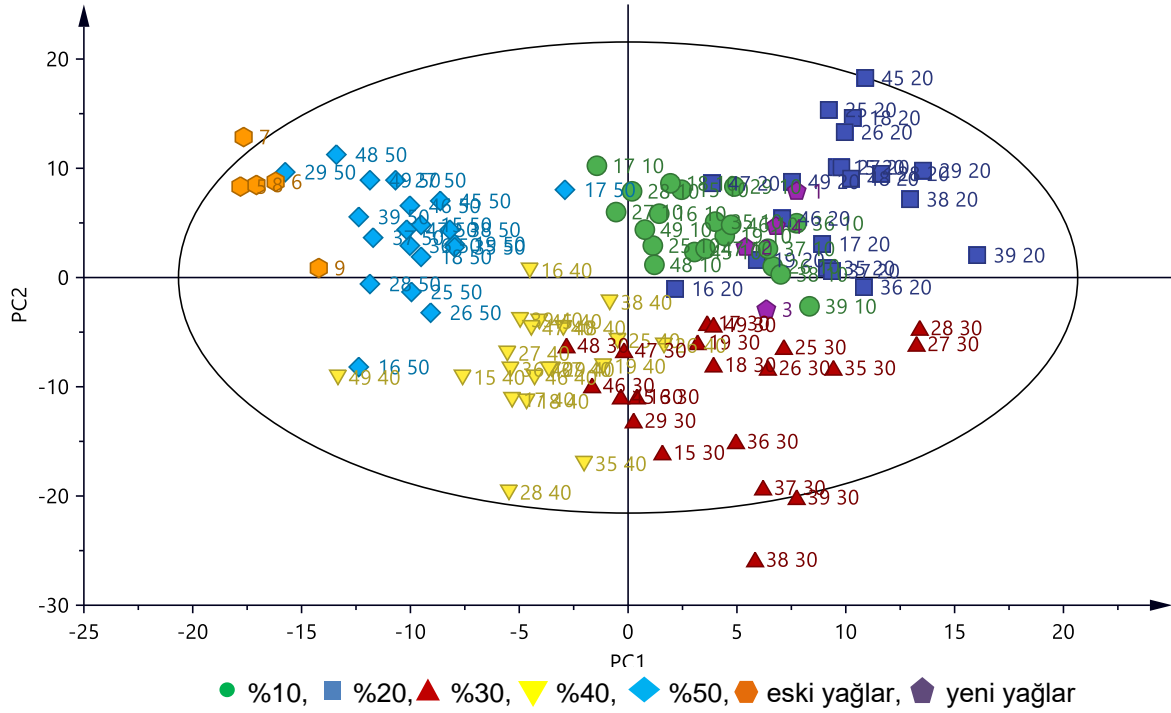
Şekil 25. Yeni Kuzey Ege karışımı ve yeni Ege Güney karışımı, eski, Kuzey + eski (%50), Güney + eski (%50) zeytinyağlarının 4000-650 cm^{-1} bölgesinde FTIR spektralleri



Şekil 26. 2014/2015 hasat yılına ait zeytinyağın Kuzey ve Güney Ege yağlarına %10-50 oranında karıştırılması sonucu elde edilen yağların ikinci türevi alınmış FTIR spektroskopi verileri kullanılarak PCA ile oluşturulan modelinin skor ve değişken grafikleri

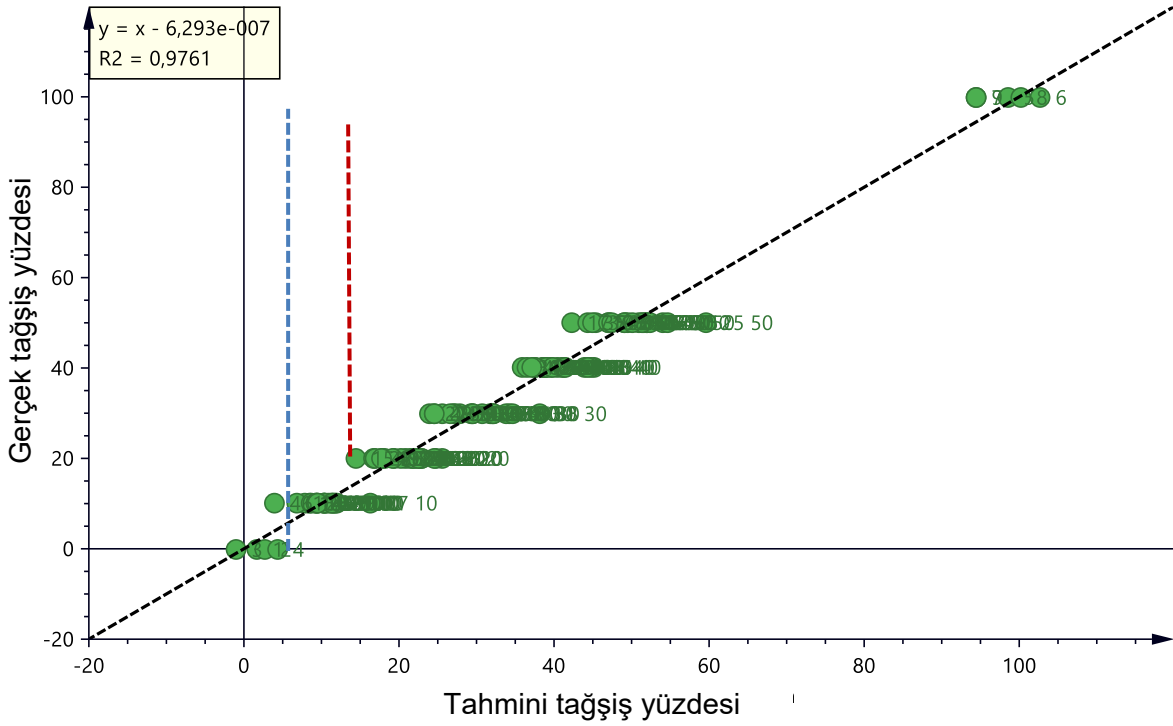
Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan analizler karşılaştırıldığında FAAE, DAG profili ve FTIR her iki bölge zeytinyağlarını eski yağlardan değişik seviyelerde ayırabilmektedir.

Çalışmanın ikinci bölümünde hızlı bir analiz tekniği olan FTIR spektroskopinin eski-yeni yağ karışımları ayırma potansiyelini daha ayrıntılı inceleyebilmek amacıyla daha geniş bir veri seti oluşturulmuştur. Bu amaçla 2015/16 hasat yılından seçilen 2 Kuzey, 2 Güney ve 1 Orta Ege yağları ile 2016/17 hasat yılından seçilen 2 Kuzey ve 2 Güney Ege yağları çaprazlama yapılarak %10, 20, 30, 40 ve 50 oranlarında karıştırılmıştır. Böylece toplam 100 (5 eski x 4 yeni x 5 konsantrasyon) karışım elde edilmiştir. Bu karışımların üçüncü türevi alınmış FTIR spektra verileri, çok değişkenli istatistiksel analiz teknikleri ile değerlendirilmiştir. Verilerin OPLS-DA ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen OPLS-DA skor grafiği Şekil 27'de bulunmaktadır. Grafikten görüleceği üzere bazı gruplarda iç içe geçmeler olsa bile genel olarak karışımlar yüzdelerine göre kümeler oluşturmuşlardır. Skor grafiğinin sol üst köşesinde %10 ve %20'lik karışımlar eski yağlarla karıştırılmamış taze yağlarla birlikte bulunmaktadır. %30'luk karışımlar ise grafiğin sol alt kısmında yer almaktadır. %40 ve %50 eski yağ içeren karışımlar grafikte sağ yarıda bulunmakta ve bu örnekler ve de özellikle %50'lik karışımlar eski yağlara yakın durmaktadır. Bu sonuçlara göre yeni yağların eski-yeni karışımlardan FTIR spektra verilerinin OPLS-DA değerlendirmesi ile %30 seviyesinde ayırt edilebildiği sonucuna ulaşılabilir.



Şekil 27. Değişik yüzdelerde eski-yeni yağ karışımlarının FTIR spektra verilerinin OPLS-DA skor grafiği

Aynı verilere karışım yüzdelerinin tespiti amacıyla PLS regresyon analiz tekniği de uygulanmıştır ve regresyon grafiği Şekil 28'de gösterilmiştir. Bu amaçla ikinci türevi alınmış FTIR verileri kullanılmıştır. Tahmin edilen karışım yüzdeleri ile gerçek miktarlar arasında oldukça iyi bir bağıntı elde edilmiştir ve model R^2 0,98 ve doğrulama R^2 0,61 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca RMSEE 3,31 iken RMSEcv ise 13,6'dır ve bu değerler makul seviyelerdedir. Grafikte gösterildiği üzere eski-yeni karışımlardan %20 seviyesinde olanların yeni yağlarla (%0) iç içe geçmediği görülmektedir. Bu durumda eski-yeni yağ karışımlarının FTIR spektra verilerinin PLS regresyon analizi ile %20 seviyesinde tespiti mümkün olabildiğini göstermektedir.



Şekil 28. Eski-yeni yağ karışımlarının FTIR spektra verilerinin PLS regresyon tekniği ile analizi sonucu elde edilen yağış yüzdesi tahmin grafiği

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada Ege Bölgesinin Kuzey, Orta ve Güney olarak belirlenen yerlerinden iki hasat sezonu boyunca elde edilen 91 zeytinyağı örneğinin rutin kalite analizleri (serbest yağ asitliği, K değerleri), yağ asitleri profilleri, FFAE, DAG ve pigment profillerinin belirlenmesinin yanısıra FTIR spektraları toplanmış ve elde edilen veriler kemometrik yöntemler ile değerlendirilmiştir. Seçilen bölgeler genel olarak zeytin tipine göre ayrımı da göstermektedir. FFAE, DAG ve pigment profilleri kalite ve yağış belirleyici parametreler olarak son zamanlarda öne çıkmaktadır ve literatürde Türk zeytinyağlarının bu bileşiklere dair içerikleri hakkında sistematik çalışmalar bulunmamaktadır. Bu tür çalışmalarda literatürde görülebileceği şekilde örnekleme iki şekilde yapılabilmektedir. İlk yöntemde zeytinler belirli koşullarda toplanarak zeytinyağı laboratuvar koşullarında elde edilmektedir. Diğer izlenen yolda ise örnekler endüstriyel ölçekli üretimden sağlanmaktadır. İki yöntemin de kendine göre avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. İlk yöntemde parametreler göreceli olarak daha kontrol altında tutulabilmekteyken kimyasal parametreler açısından endüstriyel ölçekli üretimi tam olarak temsil edemeyebilir. İkinci yöntemde ise parametrelerin varyasyonu ilkinde göre daha yüksek olmakla birlikte gerçek üretim örneklerini daha iyi tanımlayabilir. İkinci örnekleme yöntemi

verileri ile oluşturulan kemometrik modeller, agronomik, iklim ve işleme koşulları gibi varyasyonları içerebilen daha geniş kapsamlı modeller olabilmektedir. Bu nedenle bu tip örneklemede iki hasat yılında da eşlenik örneklerle çalışmak bir zorunluluk oluşturmamaktadır. Bu çalışmada kullanılan örnekleme yöntemi ikinci tip olacağı proje önerisinde belirtilmiş ve yağ örnekleri bu şekilde toplanmıştır. Birinci hasat yılında 54 ikinci hasat yılında ise 37 örnek analiz edilmiştir. İkinci hasat yılında daha az örnekle çalışılmasının sebebi 2016/17 döneminde oluşan değişik iklim koşulları ve zeytin ağaçlarında görülen hastalık nedeniyle üretimin bazı bölgelerde sınırlı olmasıdır. Bu nedenle bazı bölgelerden ikinci hasat yılında örnek temin edilememiştir. Kuzey Ege Bölgesinde ilk hasat yılında çalışılan 11 bölgenin 6'sından, Güney Ege'nin 19 bölgesinin 7'sinden ve Orta Ege'nin 5 bölgenin 2'sinden eşlenik örneklerle çalışılmıştır.

Çalışmanın ilk bölümünde sözü edilen kimyasal ve spektroskopik analizlerden elde edilen verilerin kemometrik yöntemlerle analizi sonucu bölgesel farklılıklar ortaya konulmuştur. Yağ asitleri profili ve FTIR spektra verileri literatürde örnekleri görülebileceği gibi bölgesel olarak zeytinyağların ayırımında oldukça başarılı sonuçlar vermiştir. Daha çok bir kalite parametresi olarak öne çıkan FAAE bölgelere göre ayırım sağlayamamaktadır. Aynı durum DAG profilleri için de geçerlidir. Zeytinyağların pigment içerikleri daha çok zeytin tipine özgü bir özellik olduğundan bölgesel ayırım sağlamakta daha başarılı olmuştur.

Projenin ikinci bölümünde FAAE, DAG ve pigment profil verilerinin çabuk bir analiz yöntemi olan FTIR spektroskopi ile tahmini hedeflenmiştir ve bunun için yine kemometrik yöntemler kullanılmıştır. Bütün FAAE parametrelerinin tahmininde oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir. DAG profili için de durum aynıdır. Pigment içerikleri için ise özellikle klorofil a ve lutein gibi bileşikler için tahminler oldukça isabetlidir. Diğer pigmentler için daha geniş konsantrasyon aralığında ve daha çok sayıda örnekle modellerin geliştirilebilme olasılığı yüksektir.

Çalışmanın son kısmını ise taze zeytinyağlarla karıştırılan eski zeytinyağların belirlenmesi oluşturmaktadır. FAAE, DAG profilleri ve FTIR spektroskopi verilerinin eski yağ karışımlarını değişik yüzdelerde ayırabilme potansiyeline sahip olduğu ortaya konmuştur. Eski-yeni yağ karışım ayırımını sağlayan FAAE'nin bütün parametreleri (Yağ asitleri etil esterleri, yağ asitleri metil esterleri, etil ve metil ester toplamı, etil esterlerin metil esterlere oranı) ve DAG için 1,3 C32, 1,2 C34, 1,3 C34 ve 1,2 C36'dır. FTIR spektroskopinin çabuk bir teknik olma ve minimum atık üretme gibi özellikleri gözönüne alınarak daha ayrıntılı bir incelemeye tabi tutulması sonucunda bölgesel ayırım gözetmeksizin eski-yeni zeytinyağı karışımlarını %20-30 seviyelerinde tespit edebileceği belirlenmiştir. Bu ayırım 4000-650 cm^{-1} aralığındaki infrared spektrası ile sağlanmıştır.

Özet olarak pigment profilinin bölgesel olarak zeytinyağı ayrımında kullanılabileceği ve FAAE, DAG profilleri ve özellikle FTIR spektroskopinin eski-yeni zeytinyağ karışımlarını tespit etmek için uygulanabilecek analiz yöntemleri oldukları belirlenmiştir. Ayrıca FTIR spektroskopinin zeytinyağlarının FAAE, DAG ve bazı pigment konsantrasyonlarını belirlemede çabuk bir analiz tekniği olarak oldukça başarılı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. FTIR spektroskopisi hem zaman almayan hem de minimum atık üreten bir analiz tekniği olarak zeytinyağların sınıflandırmasında, eski-yeni zeytinyağı karışımlarının belirlenmesinde ve kalite parametreleri olarak kullanılabilecek FAAE, DAG ve pigment içeriklerinin tespitinde kullanılabilir.

KAYNAKLAR

- Aparicio, R., Morales, M. T., Aparicio-Ruiz, R., Tena, N., García-González, D. L. 2013. "Authenticity of olive oil: Mapping and comparing official methods and promising alternatives", *Food Research International*, 54, 2025-2038.
- Baccouri, O., Guerfel, M., Baccouri, B., Cerretani, L., Bendini, A., Lercker, G., Miled, D. D. B. 2008. "Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening", *Food Chemistry*, 109, 743-754.
- Bajoub, A., Bendini, A., Fernández-Gutierrez, A., Carrasco-Pancorbo, A. 2017. "Olive oil authentication: a comparative analysis of regulatory frameworks with especial emphasis on quality and authenticity indices, and recent analytical techniques developed for their assessment. A review", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, (just-accepted), 00-00.
- Berardinelli, A., Ragni, L., Bendini, A., Valli, E., Conte, L., Guarnieri, A., Toschi, T. G. 2013. "Rapid screening of fatty acid alkyl esters in olive oils by time domain reflectometry", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 10919-10924.
- Christy, A. A., Egeberg, P. K. 2006. "Quantitative determination of saturated and unsaturated fatty acids in edible oils by infrared spectroscopy and chemometrics", *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 82, 130-136.
- Cichelli, A., Pertesana, G. P. 2004. "High-performance liquid chromatographic analysis of chlorophylls, pheophytins and carotenoids in virgin olive oils: chemometric approach to variety classification", *Journal of Chromatography A*, 1046, 141-146.
- Costa, R., Bartolomeo, G., Saija, E., Rando, R., Albergamo, A., Dugo, G. 2017. "Determination of alkyl esters content in PDO extra virgin olive oils from Sicily", *Journal of Food Quality*, 2017, 1-7.

- Criado, M. N., Romero, M. P., Casanovas, M., Motilva, M. J. 2008. "Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons". *Food Chemistry*, 110, 873-880.
- Diraman, H., Dibeklioğlu, H. 2009. "Characterization of Turkish virgin olive oils produced from early harvest olives", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86, 663-674.
- European Community, Commission Regulation. 1991. No. 2568/91/EEC, July 11. *Official Journal of the European Communities*, L248, 1–83.
- European Community, Commission Regulation. 2011. No. 61/2011 *Official Journal of the European Union*, L 23, 1–14
- European Union. Workshop on olive oil authentication, Madrid, 2013. https://ec.europa.eu/agriculture/sites/agriculture/files/events/2013/olive-oil-workshop/proceedings_en.pdf
Son erişim tarihi: 22.10.2017.
- Gandul-Rojas, B., Minguéz-Mosquera, M. I. 1996. "Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72, 31-39.
- Giuffrida, D., Salvo, F., Salvo, A., La Pera, L., Dugo, G. 2007. "Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various sicilian olive varieties", *Food Chemistry*, 101, 833-837.
- Gómez-Coca, R. B., Moreda, W., Pérez-Camino, M. C. 2012. "Fatty acid alkyl esters presence in olive oil vs. organoleptic assessment", *Food Chemistry*, 135, 1205-1209.
- Gómez-Coca, R. B., Fernandes, G. D., del Carmen Pérez-Camino, M., Moreda, W. 2016. "Fatty acid ethyl esters (FAEE) in extra virgin olive oil: A case study of a quality parameter", *LWT-Food Science and Technology*, 66, 378-383.
- Guillaume, C., Gertz, C., Ravetti, L. 2014. "Pyropheophytin a and 1, 2-diacyl-glycerols over time under different storage conditions in natural olive oils", *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91, 697.
- Gurdeniz, G., Tokatli, F., Ozen, B. 2007. "Differentiation of mixtures of monovarietal olive oils by mid-infrared spectroscopy and chemometrics", *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, 1194-1202.
- Gurdeniz, G., Ozen, B. Tokatli, F. 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 and Technology*, 227, 1275-1281.
- Gurdeniz, G., Ozen, B. 2009. "Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data", *Food Chemistry*, 116, 519-525.

- Gurdeniz, G., Ozen, B., Tokatli, F. 2010. "Comparison of fatty acid profiles and mid-infrared spectral data for classification of olive oils", *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 218-226.
- ISO 29822:2009 (E): 2009. Vegetable fats and oil-Isomeric diacylglycerols-Determination of relative amounts of 1,2- and 1,3-diacylglycerols. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.
- Jabeur, H., Zribi, A., Abdelhedi, R., Bouaziz, M. 2015. "Effect of olive storage conditions on Chemlali olive oil quality and the effective role of fatty acids alkyl esters in checking olive oils authenticity". *Food Chemistry*, 169, 289-296.
- Lazzerini, C., Cifelli, M., Domenici, V. 2016. "Extra virgin olive oil pigments: Authenticity and quality" *Products from Olive Tree*, 1st ed.; Boskou, D., Clodoveo, ML, Eds, 95-114.
- Lerma-García, M. J., Ramis-Ramos, G., Herrero-Martínez, J. M., Simó-Alfonso, E. F. 2010. "Authentication of extra virgin olive oils by Fourier-transform infrared spectroscopy", *Food Chemistry*, 118, 78-83.
- Li, X., Zhu, H., Shoemaker, C. F., & Wang, S. C. 2014. "The effect of different cold storage conditions on the compositions of extra virgin olive oil" *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91, 1559-1570.
- Maggio, R. M., Kaufman, T. S., Del Carlo, M., Cerretani, L., Bendini, A., Cichelli, A., Compagnone, D. 2009. "Monitoring of fatty acid composition in virgin olive oil by Fourier transformed infrared spectroscopy coupled with partial least squares", *Food Chemistry*, 114, 1549-1554.
- Mateos, R., García-Mesa, J. A. 2006. "Rapid and quantitative extraction method for the determination of chlorophylls and carotenoids in olive oil by high-performance liquid chromatography", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385, 1247-1254.
- Matthaus, B., Özcan, M. M. 2011. "Determination of fatty acid, tocopherol, sterol contents and 1,2- and 1,3-diacylglycerols in four different virgin olive oil", *Journal of Food Processing Technology*, 2, 117.
- Minguez-Mosquera, M. I., Gandul-Rojas, B., Gallardo-Guerrero, M. L. 1992. "Rapid method of quantification of chlorophylls and carotenoids in virgin olive oil by high-performance liquid chromatography", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 60-63.
- Morelló, J. R., Motilva, M. J., Tovar, M. J., & Romero, M. P. 2004. "Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction", *Food Chemistry*, 85, 357-364.
- Obeidat, S. M., Khanfar, M. S., Obeidat, W. M. 2009. "Classification of edible oils and uncovering adulteration of virgin olive oil using FTIR with the aid of chemometrics", *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3, 2048-2053.

- Oussama, A., Elabadi, F., Platikanov, S., Kzaiber, F., Tauler, R. 2012. "Detection of olive oil adulteration using FT-IR spectroscopy and PLS with variable importance of projection (VIP) scores", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1-6.
- Ozen, B., Tokatli F. 2012. "Infrared Spectroscopy for the Detection of Adulteration in Foods". *Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science*. Editörler: Chalmers, J. M., Edwards, H. G., Hargreaves, M. D. West Sussex, UK: John Wiley & Sons.
- Pérez-Camino, M. D. C., Cert, A., Romero-Segura, A., Cert-Trujillo, R., Moreda, W. 2008. "Alkyl esters of fatty acids a useful tool to detect soft deodorized olive oils", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 6740-6744.
- Pérez-Camino, M. C., Moreda, W., Cert, A. 2001. "Effects of olive fruit quality and oil storage practices on the diacylglycerol content of virgin olive oils", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 699-704.
- Rohman, A., Man, Y. C., Yusof, F. M. 2014. "The use of FTIR spectroscopy and chemometrics for rapid authentication of extra virgin olive oil", *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91, 207.
- Salvador, M. D., Aranda, F., Fregapane, G. 2001. "Influence of fruit ripening on 'Cornicabra' virgin olive oil quality A study of four successive crop seasons", *Food Chemistry*, 73, 45-53.
- Serrano, L., Cruz, A., Sousa, S., Morais, Z. 2016. "Alterations in monovarietal, blended and aromatized Portuguese virgin olive oils under four storage conditions for 12 months", *European Food Research and Technology*, 242, 1041-1055.
- Sun, X., Lin, W., Li, X., Shen, Q., Luo, H. 2015. "Detection and quantification of extra virgin olive oil adulteration with edible oils by FT-IR spectroscopy and chemometrics", *Analytical Methods*, 7, 3939-3945.
- Uncu, O., Ozen, B. 2015. "Prediction of various chemical parameters of olive oils with Fourier transform infrared spectroscopy", *LWT-Food Science and Technology*, 63, 978-984.
- Valli, E., Bendini, A., Maggio, R. M., Cerretani, L., Toschi, T. G., Casiraghi, E., Lercker, G. 2013. "Detection of low-quality extra virgin olive oils by fatty acid alkyl esters evaluation: a preliminary and fast mid-infrared spectroscopy discrimination by a chemometric approach", *International Journal of Food Science & Technology*, 48, 548-555.
- Vasconcelos, M., Coelho, L., Barros, A., de Almeida, J. M. M. M. 2015. "Study of adulteration of extra virgin olive oil with peanut oil using FTIR spectroscopy and chemometrics", *Cogent Food & Agriculture*, 1, 1018695.

Yang, H., Irudayaraj, J. 2001. "Comparison of near-infrared, Fourier transform-infrared, and Fourier transform-Raman methods for determining olive pomace oil adulteration in extra virgin olive oil", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78, 889-895.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. FATMA BANU ÖZEN
Proje No:	115O584
Proje Başlığı:	Zeytinyağların Yağ Asidi Alkil Esterleri, 1,2 Diasil Gliserol ve Pigment İçeriğinin Tağışış Kriteri Olarak Uygulanabilirliği ve FTIR Spektroskopi İle Tahmini
Proje Türü:	1001 - Araştırma
Proje Süresi:	24
Araştırmacılar:	E.FİGEN TOKATLI
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	İZMİR YÜKSEK TEKNOLOJİ ENS. MÜHENDİSLİK F. GIDA MÜHENDİSLİĞİ B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/09/2015 - 01/09/2017
Onaylanan Bütçe:	228000.0
Harcanan Bütçe:	186840.27
Öz:	<p>Zeytinyağı ekonomik değeri yüksek bir ürün olması nedeni ile sıklıkla tağışışe maruz kalmaktadır. Bu nedenle sıkı bir rekabetin olduğu zeytinyağı sektöründe kalite kontrol ve tağışış tespit yöntemleri sürekli güncellenmek durumundadır. Bu çalışma ile son zamanlarda önerilen kalite ve tağışış kriterlerinden yağ asitleri alkil esterleri (FAAE), diasilgliserol (DAG) ve pigment içeriklerinin Ege bölgesi zeytinyağları için iki hasat yılı boyunca belirlenmesi, belirtilen kimyasal parametrelerin sızma zeytinyağlarının bekletilmiş/eski zeytinyağları ile tağışışinin tespiti için yeterliliğinin incelenmesi, ve son olarak zeytinyağ örneklerinin orta-bölge infrared (mid-IR veya FTIR) spektroskopi ile spektralarının elde edilmesi ve bu spektrallardan belirtilen kalite parametrelerinin tahmini için kemometrik analizler uygulanması amaçlanmıştır.</p> <p>Zeytinyağların elde edildiği bölgelere göre bir ayırım FAAE içerik ve DAG profil verilerinin kemometrik analizleri ile elde edilememiştir. Ancak pigment içeriği ve FTIR spektraları bölgesel olarak zeytinyağı örneklerini sınıflandırmada başarılı olmuştur. FTIR spektroskopi kemometrik yöntemlerle beraber kullanıldığında zeytinyağlarının FAAE, DAG ve bazı pigment içeriklerini R2 (model) değerleri 0,9 ve üstü olan modellerle tahmin edebilmektedir. Eski-yeni karışım zeytinyağlarının belirlenebilmesi FAAE ve DAG içerikleri ve FTIR spektroskopi ile mümkündür. FTIR spektroskopi, bölgesel ayırım gözetmeksizin eski-yeni karışım zeytinyağlarını %20-30 seviyelerinde tespit edebilmektedir.</p> <p>FTIR spektroskopi hem zeytinyağlarının bölgesel olarak sınıflandırılmasında hem de eski-yeni zeytinyağlarının makul seviyelerde belirlenmesinde kullanılabilecek çabuk sonuç verebilen bir teknik olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca bu analiz yöntemi zeytinyağların kalite parametreleri olarak kullanılabilecek FAAE, DAG ve pigment içeriklerini belirlemede bir alternatif oluşturabilecektir.</p>
Anahtar Kelimeler:	zeytinyağı, tağışış, FTIR, yağ asitleri alkil esterleri, diasilgliserol, klorofil, karoten
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır
Projeden Yapılan Yayınlar:	<ol style="list-style-type: none">1- EGE BÖLGESİ ZEYTİNYAĞLARININ KLOROFİL VE KAROTEN İÇERİKLERİ (Bildiri - Ulusal Bildiri - Poster Sunum),2- EGE BÖLGESİ ZEYTİNYAĞLARININ ÇEŞİTLİ KALİTEPARAMETRELERİ VE ETİL VE METİL ESTER İÇERİKLERİ (Bildiri - Ulusal Bildiri - Poster Sunum),3- PREDICTION OF FATTY ACID ALKYL AND ETHYL ESTER AND WAX CONTENTS OF OLIVE OILS WITH MID-INFRARED SPECTROSCOPY (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),4- Use of mid-IR and UV-vis spectroscopy in differentiation of fresh-old olive oil mixtures and monitoring their storage (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),5- Mid -Infrared Spectroscopic Prediction of Chlorophyll and Carotene Contents of Olive Oil (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),6- Determination of Diacylglycerol Isomers of Olive Oils with Mid-Infrared Spectroscopy and Chemometric Methods (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),