



Türkiye'nin Adana İlinden Toplanan *Suillus collinitus* (Fr.)'un Uçucu Aroma Kompozisyonunun Belirlenmesi

Fuat Bozok¹, Ebru Kafkas², Saadet Büyükalaca²

¹Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 8000 Osmaniye, Türkiye

²Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 01330 Adana, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş 19 Ocak 2018
Kabul 14 Mart 2018

Anahtar Kelimeler:

Suillus
Aroma
Uçucu bileşen
GC/MS
1-octen-3-ol

*Sorumlu Yazar:

E-mail: fbozok@osmaniye.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye'nin Adana ili Çukurova Üniversitesi kampüsünden toplanan *Suillus collinitus* (Fr.)'un aroma bileşenleri Tepe Boşluğu Katı Faz Mikro Ekstraksiyon Gaz Kromatografisi Kütle Spektrofotometresi (Headspace Solid-Phase Gas Chromatography Mass Spectrometry, HS/SPME/GC/MS) tekniği ile ve 40 ve 70°C olmak üzere iki farklı ekstraksiyon sıcaklık uygulamalarının denenmesi ile belirlenmiştir. Aroma çalışmalarından önce, toplanan mantar örnekleri morfolojik karakterizasyonun yanı sıra, ITS rDNA gen bölgesinin dizi analizleri ile moleküler olarak da tanımlanmıştır. Çalışma sonucunda; 1-octen-3-ol, 3-hexen-1-ol, 2-octene, xylene, butylacetate ve benzaldehide ana bileşenleri, 40 ve 70°C sıcaklıklarda sırasıyla %75,71-%83,14, %5,59-%6,14, %3,64-%3,99, %3,21-3,53, %2,69-%2,96, %2,36-%2,59 oranlarında tespit edilmiştir. Farklı ekstraksiyon sıcaklıkları denemelerinde ise, 40°C'de 19 bileşik belirlenirken, 70°C'de 16 aromatik bileşik tespit edilmiştir.

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 6(4): 486-489, 2018

Determination of Volatile Aroma Composition of *Suillus collinitus* (Fr.) Collected from Adana Province of Turkey

ARTICLE INFO

Research Article

Received 19 January 2018
Accepted 14 March 2018

Keywords:

Suillus
Aroma
Volatile compound
GC/MS
1-octen-3-ol

*Corresponding Author:

E-mail: fbozok@osmaniye.edu.tr

ABSTRACT

In this study, volatile aroma compounds of *Suillus collinitus* (Fr.) collected from Cukurova University Campus in Adana province of Turkey were determined experimenting two different extraction temperatures; 40°C and 70°C by Headspace Solid-Phase Microextraction/Gas Chromatography/Mass Spectrometry (HS-SPME/GC-MS). Before aroma analyses, mushroom samples collected were also identified molecularly by sequence analysis of the ITS rDNA gene region as well as morphotaxonomic characterization. At the end of study; 1-octen-3-ol (75.71 and 83.14%), 3-hexen-1-ol (5.59 and 6.14%), 2-octene (3.64 and 3.99%), xylene (3.21 and 3.53%), butylacetate (2.69 and 2.96%) and benzaldehyde (2.36 and 2.59%) were determined as major compounds in the 40°C and 70°C extraction temperatures, respectively. Besides, 19 compounds were identified at 40°C while 16 aromatic compounds were found at 70°C.

DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v6i4.486-489.1802>

Giriş

Kültüre alınmış ve doğal yetişen mantarların tüketimi gün geçtikçe artmaktadır. Doğal mantarlar aroma, tat ve kokularından dolayı kültüre alınmış mantarlardan daha çok tercih edilmektedir. Doğada yetişen mantarlar birçok ülkede çorbası ve salatası yapılarak ya da çeşitli yöresel yemeklerinin içine karıştırılarak tüketilmektedir. Mantarların tipik aroma maddeleri, uçucu ve uçucu olmayan bileşikler olarak 2 kısma ayrılmaktadır. Serbest aminoasitler ve karbohidratlar gibi suda çözünebilen maddeler, yenilebilir mantarların tadına katkıda bulunmaktadır. Çeşitli uçucu bileşenler arasında 1-octen-3-ol, 2-octen-1-ol, 3-octanol, 1-octanol, 1-octen-3-one, ve 3-octanone gibi sekiz karbonlu alifatik bileşiklerin makromantarların lezzetine önemli ölçüde katkıda bulunduğu bilinmektedir (Pinho, 2008). Özellikle yenilebilir mantarların çoğunda “karakteristik mantar kokusu” olarak adlandırılan 1-octen-3-ol bileşiği bulunmaktadır (Cho ve ark., 2006). Dünyada tat, koku ve lezzete katkıda bulunan, farklı aromatik bileşiklere sahip makromantarların tüketiminin artmasına rağmen, ülkemizde makromantarların aroma bileşenlerini belirlemeye yönelik çok fazla sayıda bulunmamaktadır (Çağlarırnak 2007; Doğan ve ark., 2012; Taşkın 2013; Taşkın ve ark., 2013a,b; Bozok ve ark., 2015, 2017; Kıvrak ve ark., 2016). Ayrıca çeşitli makromantarların antioksidant, antimikrobiyal aktiviteleri ve yağ asit içerikleri farklı araştırmacılar tarafından belirlenmesine rağmen (Dülger ve ark., 1999; Barros ve ark., 2007; Altuner ve Akata, 2010; Bekçi ve ark., 2011; Ergönül ve ark., 2012, 2013), *Suillus collinitus*'un aroma bileşenleri ile ülkemizde yapılmış bir çalışmaya bilgilerimiz ve araştırmalarımız dahilinde rastlanmamıştır. Bu nedenle sunulan bu çalışmada, Adana ilinde yer alan Çukurova Üniversitesi kampüsünden toplanan *S. collinitus*'un aroma bileşenleri belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma esnasında ayrıca 40°C ve 70°C olmak üzere iki farklı ekstraksiyon sıcaklığının etkinliği de değerlendirilmiştir. Çalışmada sunulan diğer bir farklılık ise toplanan örneklerin karakterizasyonu için sadece morfolojik tanılama yöntemleri ile yetinilmeyerek, DNA dizi analizlerine dayalı moleküler metodların da kullanılmasıdır. Son zamanlarda moleküler tekniklere yaşanan hızlı gelişmeler, makromantar türlerinin daha doğru tanılanmalarına olanak sağlamaktadır. Mantarlar çevresel koşullarından kolaylıkla etkilenebilmekte ve bu durum bazen morfolojik yöntemlerle tanılamalarını güçleştirmektedir. Bu nedenle mantarların tanılama çalışmalarında, morfolojik ve moleküler yöntemler, çevresel faktörlerle birlikte değerlendirilmelidir. Bu tür kombine tanılama sadece sistematik çalışmalarında değil, mantarlar üzerine yapılan tüm çalışmalarda uygulanmalıdır. Sunulan bu çalışmada da türün adına doğruluğunda morfolojik tanılama yöntemlerinin yanı sıra, moleküler yöntemlerde kullanılmıştır.

Materyal ve Metot

Mantarların Toplanması ve Tanımlanması

Çalışmada kullanılan *Suillus collinitus* örnekleri, 29 Aralık 2016 tarihinde Çukurova Üniversitesi kampüsünden (Adana, Türkiye) toplanmıştır (Şekil 1).

Toplanan örnekler hemen laboratuvar ortamına getirilerek aroma analizleri için hazırlanmıştır. Ayrıca aroma analizinden arta kalan örnekler, çürümeyi önlemek amacıyla sebze kurutucuda iki gün boyunca 60°C'de kurutularak, örneklerin morfolojik olarak tanımlanmasının yanı sıra, türün adına doğruluğunun DNA dizi analizlerine dayalı moleküler yöntemlerle de ispatlanması için kurutulmuş mantarlardan doku örnekleri alınarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. ITS rDNA gen bölgesi ITS1F-ITS4 primerleri kullanılarak PCR'da çoğaltılmıştır. PCR'da çoğaltılan ITS rDNA gen bölgesi %1,5'lük agaroz jelde koşturularak UV görüntüleme cihazında görüntülenmiştir. Sonrasında DNA dizi analizi yapılarak Genbank veri tabanına MG586046 kodu ile yüklenmiş ve bu veri tabanındaki örneklerle karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucunda elde ettiğimiz DNA dizisi, 2014 yılında Fransa'nın Lille bölgesinden *Pinus wallichiana* altından toplanan ve *S. collinitus* olarak tanımlanan örneklerle (KT883887, KT883890, KT883892, KT883894, KT883898) %99 oranında benzerlik göstermiştir. Bu çalışma kapsamında toplanan *S. collinitus* örnekleri Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fungariumu'nda FBozok00137 kodu ile saklanmaktadır.

HS/SPME/GC/MS Tekniği ile Yarı Uçucu ve Uçucu Bileşiklerin Belirlenmesi

Mantar örneklerinde bulunan uçucu ve yarı uçucu özelliğe sahip kimyasal bileşikler Kraujalyte ve ark. (2013) tarafından geliştirilmiş olan tekniğe göre belirlenmiştir. Örnekler farklı sıcaklık (40°C ve 70°C) koşullarında ekstrakte edilmişlerdir. Aroma kompozisyonu; herhangi bir organik çözücü kullanılmadan, hızlı, pratik, bulaşıklık riski olmayan, doğru ve güvenilir sonuçlar veren bir teknik olan HS/SPME/GC/MS (Tepe Boşluğu Katı Faz Mikro Ekstraksiyon Gaz Kromatografisi Kütle Spektrofotometresi) tekniği ile belirlenmiştir. Örnekler polar kolon kullanılan GC-MS'de 45 dakika süre ile analiz edilmişlerdir. Aroma maddelerinin tanısında GC'de belirlenen piklerin kütle spektrumunun referans bileşiklerle veya bilgisayar hafızasındaki kütle spektrumlarıyla karşılaştırılması yoluyla yapılmış (Çizelge 1) ve bileşikler Wiley ve NIST Kütüphane Tarama Yazılımları kullanılarak tanımlanmıştır.



Şekil 1 *Suillus collinitus*'un bazidiyokarpları
Figure 1 Basidiomata of *Suillus collinitus*

Çizelge 1 Gaz kromatografisi analiz koşulları

Table 1 Gas chromatography conditions

GC Şartları	
Cihaz	Perkin Almer 600 Clarus
Dedektör	Kütle Spektrofotometresi
Kolon	HP-Innowax (60 m×0,25 mm, 0,25µm:Uzunluk, çap, partikül çapı)
Enjeksiyon sıcaklığı	250°C
Kolon sıcaklığı	60°C de, 10 dakikada bir 4°C artış göstererek 220°C'ye ayarlanmıştır
Taşıyıcı gaz	Helyum (0,8 mL/dakika)
Elektron enerji ve kütle aralığı	70 eV; 35-425 m/z

Sonuçlar ve Tartışma

Bu çalışma ile, *Suillus collinitus* mantarında farklı ekstraksiyon sıcaklıklarının uygulanması ile (40 ile 70°C) sırasıyla toplamda 19 ve 16 aromatik bileşik belirlenmiştir (Çizelge 2). Bunlar arasında ana bileşenler olarak; 40°C'de 1-octen-3-ol %75,71, 3-hexen-1-ol %5,59, 2-octene %3,64, xylene %3,21, butyl acetate %2,69 ve benzaldehide %2,36 oranlarında belirlenirken, 70°C'de ise 1-octen-3-ol %91,55, δ-dodecalactone %3,31 ve benzaldehide %2,64 oranlarında tespit edilmiştir.

Çizelge 2 *Suillus collinitus*'un farklı sıcaklıklardaki aroma bileşikleriTable 2 Aroma compounds of *Suillus collinitus* at different tempratures

No	RT	Bileşen	40°C	70°C
1	4,247	(2)-Ethinylcyclopentene	1,47	-
2	4,735	Capronaldehyde	0,65	0,02
3	4,895	Butyl acetate*	2,69	0,22
4	5,067	2-octene	3,64	0,10
5	6,130	3-hexen-1-ol*	5,59	-
6	7,258	Xylene*	3,21	-
7	8,078	α-Thujene	0,04	-
8	8,202	Hexyl formate	0,07	0,38
9	8,427	α-Pinene	0,20	-
10	8,891	Camphene	0,11	-
11	9,475	Benzaldehide*	2,36	2,64
12	10,274	1-octen-3-ol*	75,71	91,55
13	11,360	p-Cymene	-	0,18
14	11,464	D-Limonene	0,84	-
15	11,874	2-Ethyl-1-hexanol,	-	0,16
16	12,465	2(E)-octenal	0,48	0,64
17	12,695	Styrene oxide	0,50	0,30
18	13,160	Capryl alcohol	0,19	0,12
19	13,410	α-p-Dimethylstyrene	0,15	0,16
20	13,735	Hendecane	-	0,08
21	14,047	2,4(E)-Octadienal	-	0,10
22	15,334	Octyl acetate	0,35	0,04
23	30,102	δ-Dodecalactone*	1,76	3,31

Ana bileşenler "*" ile gösterilmiştir. RT: Retention time (tutunma zamanı)

Çizelge 2'de de görüldüğü gibi, *S. collinitus*'un 40°C'deki aromatik bileşik miktarının 70°C'dekinden yüksek olmasına rağmen, 70°C'de makromantarlar has kokusunu veren 1-octen-3-ol bileşiğinin 40°C'dekinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda 3-

hexen-1-ol, 2-octene, xylene ve butyl acetate 40°C'de ana bileşikler olarak belirlenirken, 70°C'de 2-octene ve butyl acetate yok denecek kadar az oranda ve 3-hexen-1-ol ve xylene tespit edilememiştir.

Suillus collinitus'da yüksek miktarda bulunan 1-octen-3-ol bileşiğinin mantarların karakteristik kokusundan sorumlu olduğu bilinmektedir (Misharina ve ark., 2009). Bu konuda yapılan farklı çalışmalarda, bu bileşik birçok mantar türünde ana bileşen olarak tespit edilmiştir (Dijkstra, 1976; Pyysalo, 1976; Dijkstra ve Wikèn, 1976; Rapior ve ark., 1997a, b; Wojtasiak, 2004; Pinho ve ark., 2008; Misharina ve ark., 2009). Rapior ve ark. (1997b) farklı makromantar türlerinde yapıları çalışmada, 1994 yılında Fransa'nın güneyinden toplanan ve aralarında *Suillus* cinsine ait *S. collinitus*, *S. bovinus*, *S. granulatus* ve *S. variegatus* türlerinin de olduğu makromantar örneklerinin aroma bileşenlerini belirlemişlerdir. Araştırma sonucunda, 1-octen-3-ol bileşiği *S. collinitus*, *S. bovinus*, *S. granulatus* ve *S. variegatus* türlerinde ana bileşen olarak sırasıyla %92, %89, %75 ve %75 oranlarında tespit edilmiştir. Pinho ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada ise, Portekiz'in kuzeydoğusunda yer alan Trás-os-Montes bölgesinden toplanan 11 farklı makromantar türlerinin (*S. bellini*, *S. luteus*, *S. granulatus*, *Tricholomopsis rutilans*, *Hygrophorus agathosmus*, *Amanita rubescens*, *Russula cyanoxantha*, *Boletus edulis*, *Tricholoma equestre*, *Fistulina hepatica* ve *Cantharellus cibarius*) aroma bileşikleri araştırılmış ve araştırma sonunda, test edilen mantarlar C8 türevleri (3-octanol, 1-octen-3-ol, trans-2-octen-1-ol, 3-octanone, 1-octen-3-one vb.), terpenik bileşikler ve methional bakımından zengin olmak üzere üç guruba ayrılmıştır. Ayrıca, *S. bellini*'de hexanal, 6-methyl-5-hepten-2-one, pantolactone, menthol, phenylacetic acid, nicotinamide, *S. luteus*'de isovaleric acid, α-pinene, 3-methyl-benzaldehide, hexylacetate, limonene, phenylacetaldehyde, β-lonone, trans-nerolidol, *S. granulatus*'de butyric acid, valerolactone, β-pinene, camphene, 1,4-cineole, o-cymene, linalool, 2-phenylethanol, indole, trans-geranylacetone, farnesylacetone bileşiklerinin yüksek oranda olduğu ve bu bileşiklerin mantarların aromalarına katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (Pinho ve ark., 2008). Breheret ve ark. (1997) 1994 ve 1995 yıllarında, Fransa'dan toplanan 82 taze makromantarın aromasına katkıda bulunan monoterpenleri hem headspace konsantrasyonu hem de solvent ekstraksiyon tekniği kullanarak GC/MS ile belirlemişlerdir. Araştırma sonunda *S. luteus*'da dinamik headspace konsantrasyonu ile belirlenen monoterpenler sırasıyla α-pinene (%1,0), camphene (%0,1), sabinene (%0,5), β-pinene (%0,5), β-phellandrene (%2,0) olarak tespit edilirken, *S. grevillei*'de ise solvent ekstraksiyon ile %1,0 oranında limonene belirlenmiştir. Bu bulgulara dayanarak, benzer türlerdeki aroma bileşenleri ve miktarlarındaki farklılıkların lokasyon ve toplama zamanı gibi nedenlerden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak, *S. collinitus*'un makromantarlar özgül aroma bileşenleri bakımından zengin olduğu görülmektedir. Bu makromantar, zengin aroma bileşiklerine sahip olmasının nedeniyle ülkemizin bazı yerlerinde yerel halk tarafından besin olarak tüketilmektedir. Bu çalışma, ileride yapılabilecek makromantar aroma çalışmalarına iyi bir kaynak

oluşturarak ışık tutacak ve bu makromantarlardan daha fazla faydalanmamızı sağlayacaktır. Ayrıca sunulan bu çalışmanın ülkemizde mantarlar ile ilgili yapılan araştırmalarda (hem sistematik hem de aroma kompozisyonu, antioksidan içeriği, yağ asitleri belirleme vb.) moleküler metodların kullanımının yaygınlaştırılması hedeflenmiştir.

Kaynaklar

- Altuner EM, Akata I. 2010. Antimicrobial activity of some macrofungi extracts. SAÜ. Fen Bilimleri Dergisi, 14(1): 45-49.
- Barros L, Baptista P, Ferreira ICFR. 2007. Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. Food Chem Toxicol., 45: 1731-1737.
- Bekçi H, Altınsoy B, Sarıkaya S, Onbaşlı D, Yuvalı Çelik G. 2011. Kastamonu yöresinden toplanan bazı makrofungusların antimikrobiyal aktivitesi. Kastamonu Univ. Journal of Forestry Faculty, 11(2): 187-190.
- Bozok F, Zarifikhosroshahi M, Kafkas E, Taşkın H, Büyükalaca S. 2015. Comparison of volatile compounds of fresh *Boletus edulis* and *B. pinophilus* in Marmara region of Turkey. Not. Bot. Horti. Agrobo., 43(1): 192-195.
- Bozok F, Doğan HH, Taşkın H, Kafkas E, Büyükalaca S. 2017. Volatile constituents of the edible *Tricholoma terreum* in Marmara region of Turkey. J. Essent. Oil Bearing Plants., 20(1): 253-258.
- Breheret S, Talou T, Rapior S, Bessière JM. 1997. Monoterpenes in the aromas of fresh wild mushrooms (basidiomycetes). J. Agric. Food Chem., 45: 831-836.
- Cho IH, Kim SY, Choi HK, Kim YS. 2006. Characterization of aroma-active compounds in raw and cooked pine-mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.). J. Agric. Food Chem., 54: 6332-6335.
- Çağlarırnak N. 2007. The nutrients of exotic mushrooms (*Lentinula edodes* and *Pleurotus* species) and an estimated approach to the volatile compounds. Food Chem., 105(3): 1188-1194.
- Dijkstra FY. 1976. Studies on mushroom flavours: 3. Some flavour compounds in fresh, canned and dried edible mushrooms. Z Lebensm Unters Forsch., 160: 401-405.
- Dijkstra FY, Wikén TO. 1976. Studies on mushroom flavours: 1. Organoleptic significance of constituents of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. Z Lebensm Unters Forsch., 160: 255-262.
- Doğan HH, Taşkın H, Kafkas E, Büyükalaca S. 2012. Determination of volatile aroma compounds of *Antrodia juniperina*. Afr. J. Pharm. Pharmacol., 6(47): 3252-3255.
- Dülger B, Şen F, Gücin F. 1999. *Russula delica* Fr. makrofungusunun antimikrobiyal aktivitesi. Turk. J. Biol., 23: 127-133.
- Ergönül PG, Ergönül B, Kalyoncu F, Akata I. 2012. Fatty Acid Compositions of Five Wild Edible Mushroom Species Collected from Turkey. Int. J. Pharm., 8(5): 463-466.
- Ergönül PG, Akata I, Kalyoncu F, Ergönül B. 2013. Fatty Acid Compositions of Six Wild Edible Mushroom Species. The Scientific World Journal, 2013: 1-4.
- Kıvrak İ, Kıvrak S, Harmandar M. 2016. Bioactive compounds, chemical composition, and medicinal value of the giant puffball, *Calvatia gigantea* (higher basidiomycetes), from Turkey. Int. J. Med. Mushrooms., 18(2): 97-107.
- Kraujalyte V, Leitner E, Venskutonis PR. 2013. Characterization of *Aronia melanocarpa* volatiles by headspace-solid-phase. microextraction (HS-SPME), simultaneous distillation/extraction (SDE) and gas chromatography-olfactometry (GC-O) methods. J. Agric. Food Chem., 61: 4728-4736.
- Misharina TA, Muhutdinova SM, Zharikova GG, Terenina MB, Krikunova NI. 2009. The composition of volatile components of cepe (*Boletus edulis*) and oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*). Appl. Biochem. Micro., 45: 187-193.
- Pinho PG, Riberio B, Gonçalves RF, Baptista P, Valentao P, Seabra RM, Andrade PB. 2008. Correlation between the pattern volatiles and the overall aroma of wild edible mushrooms. J. Agric. Food Chem., 56: 1704-1712.
- Pyysalo H. 1976. Identification of volatile compounds in seven edible fresh mushrooms. Acta Chem. Scand., 30: 235-244.
- Rapior S, Fruchier A, Bessiere JM. 1997a. Volatile aroma constituents of agarics and boletes. Recent Res. Devel. in Phytochem., 1: 567-584.
- Rapior S, Marion C, Pelissier Y, Bessière JM. 1997b. Volatile composition of fourteen species of fresh wild mushrooms (Boletales). J. Essent. Oil Res., 9: 231-234.
- Taşkın H. 2013. Detection of Volatile Aroma Compounds of *Morchella* by Headspace Gas Chromatography Mass Spectrometry (HS-GC/MS). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 41(1): 122-125.
- Taşkın H, Kafkas E, Çakıroğlu Ö, Büyükalaca S. 2013a. Determination of volatile aroma compounds of *Ganoderma lucidum* by gas chromatography mass spectrometry (HS-GC/MS). Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med., 10(2): 353-355.
- Taşkın H, Kafkas E, Büyükalaca S. 2013b. Comparison of various extraction conditions in *Agaricus bisporus* by gas chromatography mass spectrometry (HS-GC/MS) Technique. J. Food Agric. Environ., 11(2): 97-99.
- Wojtasiak RZ. 2004. Optical purity of (R)-(-)-1-octen-3-ol in the aroma of various species of edible mushrooms. Food Chem., 86: 113-118.