

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



ANTİFUNGAL ÖZELLİKTE BİYOBOZUNUR FİLM
OLUŞTURULMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatma Nur ARICI

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı

ARALIK, 2022

**T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM FAKÜLTESİ**



**ANTİFUNGAL ÖZELLİKTE BİYOBOZUNUR FİLM
OLUŞTURULMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Fatma Nur ARICI
(Y1913.040004)**

**Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı**

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zeynep Dilek HEPERKAN

ARALIK, 2022

ONAY FORMU

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “Antifungal Özellihte Biyobozunur Film Oluşturulması” adlı çalışmanın, tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadarki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin kaynakça’da gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim. (7/12/2022)

Fatma Nur ARICI

ÖNSÖZ

Bu tez çalışma konusunun belirlenmesinde, hazırlanmasında ve sonuçlanmasında desteğini benden esirgemeyen, değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Zeynep Dilek HEPERKAN'a en derin saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

İstanbul Aydın Üniversitesinde laboratuvar çalışmaların yürütülmesinde sayın Arş. Gör. Hatice Sena OLCAY'a ve Gıda laboratuvar teknikeri olan Habibe ÇAKIR'a bütün yardımları için teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam boyunca bana maddi, manevi destek olan ve bana olan inançları için başta annem Pakize ARICI, babam Mustafa ARICI ve kardeşim Esra ARICI olmak üzere aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Aralık, 2022

Fatma Nur ARICI

ANTİFUNGAL ÖZELLİKTE BİYOBOZUNUR FİLM OLUŞTURULMASI

ÖZET

Meyve ve sebzelerin raf ömrünün nasıl uzatılacağı, kalitesini, aromasını, dokusunu vs. tüketicileri, hayvanları ve doğayı etkileyen herhangi bir tehlikeli kimyasal veya malzeme kullanılmadan nasıl koruyacağına dair birçok çalışma bulunmaktadır. Bunlardan biri, portakallarda küf oluşumunu önlemek veya geciktirmek için polisakkarit bazlı kaplamalarla birlikte uçucu yağların (EY) kullanılmasıdır. Uçucu yağların ana bileşenleri sayesinde antimikrobiyal, antioksidan, antiviral ve antifungal etkileri vardır. Bu çalışmada, çay bazlı polisakkarit biyobozunur kaplama ve sinamaldehit, timol ve karvakrol antifungal maddelerin hem in vitro hemde in vivo olmak üzere portakal meyvesi üzerindeki *Penicillium italicum* ve *Talaromyces rugulosus* 'e (syn. *Penicillium rugulosus*) küf lerine karşı önleyici etkileri araştırılmıştır. Analiz için seçilen sinamaldehit, timol ve karvakrol antifungal maddelerinin %3, %4 ve %5 konsantrasyonlarının etki oranları araştırılmıştır. Küflerin en az kullanılacak inhibisyon oranlarını belirlemek için disk difüzyon uygulaması ve ortaya aşılama uygulaması kullanılmıştır. Burada %5 sinamaldehit kullanımında küfü tamamen inhibe ettiği gözlenmiştir. Bu uygulamada destek olarak yapılan in vivo portakal üzerindeki çalışmalar ise %4 ve %5 konsantrasyonlarda sinamaldehit kullanımında *Penicillium italicum* ve *Talaromyces rugulosus* 'e en verimli inhibisyon etkisi gösterdiği görülmüştür. Karvakrol ve timol antifungal maddesinin ise benzer etki gösterdiği ve %4 ve %5 konsantrasyonların kullanımında uygulamanın 120. saatinde hiç bir küf gelişme belirtisi olmadığı gözlenmiştir. Kaplamalarda ise Ç+K₁ ve antifungal ile karışımın kullanılmasında portakallar üzerinde daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Polisakkarit kaplama, Küf, Sinamaldehit, Timol, Karvakrol

PRODUCTION OF AN ANTIFUNGAL BIODEGRADABLE FILM

ABSTRACT

There are many studies on how to extend the shelf life of fruits and vegetables, protect their quality, aroma, texture, etc. without the use of any dangerous chemicals or materials that affect consumers, animals and nature. One is the use of essential oils (EO) in combination with polysaccharide-based coatings to prevent or delay fungal growth on oranges. Thanks to the main components of essential oils, they have antimicrobial, antioxidant, antiviral and antifungal effects. In this study, the inhibitory effects of tea-based polysaccharide biodegradable coating and cinnamaldehyde, thymol and carvacrol antifungal agents against *Penicillium italicum* and *Talaromyces rugulosus* (syn. *Penicillium rugulosus*) molds on orange fruit were investigated both in vitro and in vivo. The effects of 3%, 4% and 5% concentrations of cinnamaldehyde, thymol and carvacrol antifungal agents selected for analysis were investigated. Disc diffusion application and middle inoculation application were used to determine the minimum inhibition rates of molds. It was observed that the use of a concentration of 5% cinnamaldehyde completely provided the inhibition of the molds. In vivo studies on orange were used as a support for this application and showed that the use of cinnamaldehyde at 4% and 5% concentrations have the most efficient inhibition effect on *Penicillium italicum* and *Talaromyces rugulosus*. It was observed that the antifungals carvacrol and thymol have similar effects and no signs of fungal growth were observed at the 120th hour of application in the use of 4% and 5% concentrations. It was concluded that the use of the Ç+K₁ coating with antifungals mixture was more effective on oranges.

Key words: Polysaccharide coating, Fungi, Cinnamaldehyde, Thymol, Carvacrol

İÇİNDEKİLER

ONUR SÖZÜ	iii
ÖNSÖZ.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
I. GİRİŞ	1
A. <i>Penicillium</i> Cinsi Küfler.....	2
B. Mikotoksinler	4
C. Mikotoksinlerin Önlenmesi	8
1. Biyobozunur Kaplamalar	8
2. Plastikleştiriciler.....	9
3. Esansiyel Yağlar.....	10
a. Esansiyel yağların antifungal etkileri	14
b. Esansiyel yağların meyvelerde küf oluşumunun engellenmesi.....	17
c. Kekik EY (KEY)	18
i. Timol	18
ii. Karvakrol.....	18
d. Tarçın EY (TEY).....	19
i. Sinamaldehit.....	19
II. MATERYAL VE METOT	20
A. Materyal.....	20
B. Metot	20
1. Fungusların İzolasyonu	20

2. Mikroskopik İnceleme.....	23
3. Fungusların İdentifikasyonu.....	23
4. Antifungal Analiz.....	25
a. Antifungal maddelerin (AM) minimum kullanılacak konsantrasyon oranlarının belirlenmesi.....	25
5. Kaplamalar ile Çalışma.....	26
a. Kaplama solüsyonlarının inhibisyon alanlarının belirlenmesi.....	26
b. Kaplamaların hazırlanması.....	26
6. In Vitro Analizler.....	28
III. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	31
A. Küf İdentifikasyonu ve Antifungal Çalışmalar.....	31
B. Kaplama ile Yapılan İn Vitro Çalışmalar.....	33
1. Kaplama K ₁ +K ₂ ile Yapılan Çalışmalara ait Bulgular.....	33
2. Kaplama Ç+K ₁ ile Yapılan Çalışmalara ait Bulgular.....	34
3. Kaplama Ç+K ₁ +K ₂ ile Yapılan Çalışmalara ait Bulgular.....	34
4. Kaplamalar ile Yapılan İnhibisyon Alanlarının Çap Ölçümlerine ait Bulgular.....	34
C. Kaplama ile Yapılan İn Vivo Çalışmalar.....	36
1. Portakal Meyveleri ile Yapılan İn Vivo Çalışmalar.....	36
IV. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
V. KAYNAKÇA.....	61
EKLER.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	74

KISALTMALAR LİSTESİ

- AM** : Aktif madde
- CFU** : Colony forming unit
- EO** : Uçucu yağ / Esansiyel yağ
- g** : Gram^[1]_{SEP}
- GRAS** : Generally recognized as safe
- h** : Zaman, saat biriminde
- KOB** : Koloni oluşturan birim
- L** : Litre
- Log** : Logaritmik
- MFC** : Minimal fungicidal concentration
- mg** : Miligram^[1]_{SEP}
- MIC** : Minimal inhibitory concentration
- mL** : Mililitre
- PDA** : Potato dextrose agar
- pH** : asitlik derecesi
- rpm** : Rounds per minute
- vd.** : ve diğerleri
- vs.** : ve sayre
- °C** : Sıcaklık (Santigrad derece)
- %** : Yüzde oranı
- µL** : Mikrolitre

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1	Bazı <i>Penicillium</i> Çeşitlerinin Ürettikleri Mikotoksinler.....	4
Çizelge 2	Küfler ve Turunçgiller Üzerinde Yapılan Birkaç Çalışma	16
Çizelge 3	<i>T. rugulosus</i> 307VER küfü için 7. Gün Maksimum İnhibisyon Alanlarının Çap Ölçümleri	39
Çizelge 4	<i>P. italicum</i> 203P küfü için 7.Gün Maksimum İnhibisyon Alanlarının Çap Ölçümleri.....	39
Çizelge 5	<i>T. rugulosus</i> 307VER Küfü için 96. Saatlerin Maksimum İnhibisyon Alanlarının Çap Ölçümleri	40
Çizelge 6	<i>P. italicum</i> 203P küfü için 96. Saatlerin Maksimum İnhibisyon Alanlarının Çap Ölçümleri	40

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1	Ana bileşenler ve kimyasal yapıları (Yang vd., 2022).....	12
Şekil 2	Portakallarda küf üreme: (a) 307VER, (b) 203P.....	21
Şekil 3	Küf geliştirilmesi: (a) 307VER, (b) 203P.	21
Şekil 4	Saflaştırma aşamaları: (a) 307VER, (b) 203P.....	22
Şekil 5	Tek kolonilere düşürülmüş saf küf: a) ve (c) 307VER, (b) ve (d) 203P...	22
Şekil 6	PDA'da elde edilmiş saf kültürler: a) 307VER, b) 203P.	23
Şekil 7	Laktofenol mavisi solüsyonu ile boyanarak hazırlanmış preparatlar. (a) <i>T. rugulosus</i> 307VER küfü, (b) <i>P. italicum</i> 203P küfü.	23
Şekil 8	<i>Talaromyces rugulosus</i> 307VER'in konidioforları ve konidiaları (Laktofenol mavisi solüsyonu ile boyanmış, x100'de büyütülmüş).	24
Şekil 9	<i>Talaromyces rugulosus</i> 307VER'in spor yapısı (Laktofenol mavisi solüsyonu ile boyanmış, x100'de büyütülmüş).	24
Şekil 10	<i>Penicillium italicum</i> 203P'nin Konidioforları, konidia başları ve hifler (Laktofenol mavisi solüsyonu ile boyanmış, x100'de büyütülmüş).	24
Şekil 11	<i>Penicillium italicum</i> 203P'nin Konidioforları ve konidia başları (Laktofenol mavisi solüsyonu ile boyanmış, x100'de büyütülmüş).	24
Şekil 12	(a) diskler için kullanılan filtre kağıtları, (b) Steril cam üzerinde farklı %AM ile inoküle edilmiş diskler (D = 6 mm), (c) Üçgen orantılarda PDA içeren petrilere yerleştirilmiş AM 'lı diskler.....	26
Şekil 13	(a) İnce tanelere öğütülmüş çay yaprakları Ç, (b) akasya bitki kabukları K ve (c) sebze kabukları K ₂	27
Şekil 14	Kaplama solüsyonunun karıştırıcı ve ısıtıcı yardımı ile homojenleştirilmesi.	27
Şekil 15	Ç+K ₁ +K ₂ Kaplama solüsyonu ile doldurulmuş kuyular.	28
Şekil 16	%2 NaClO ile dezenfekte edilen portakallar.....	29
Şekil 17	Steril küf aşılama alanı.....	29
Şekil 18	Sinamaldehitli kaplama solüsyonu ile kaplanmış portakalların steril kutuya yerleştirilmesi.	30
Şekil 19	İnkübatöre yerleştirilmiş kutular.....	30

Şekil 20	Disk Difüzyon Uygulaması ile <i>Talaromyces rugulosus</i> 307VER küfüne karşı sinamaldehit' in antifungal etkisi (A üstten ve B petrinin tersinden görünüş); karvakrol'ün antifungal etkisi (C üstten ve D petrinin tersinden görünüş); timol'ün antifungal etkisi (E üstten ve F petrinin tersinden görünüş), K: Kontrol.	37
Şekil 21	Disk Difüzyon Uygulaması ile <i>Penicillium italicum</i> 203P küfüne karşı sinamaldehit' in antifungal etkisi (A üstten ve B petrinin tersinden görünüş); karvakro'lün antifungal etkisi (C üstten ve D petrinin tersinden görünüş); timol'ün antifungal etkisi (E üstten ve F petrinin tersinden görünüş), K: Kontrol.	38
Şekil 22	Ortaya Aşılama Uygulamasının ile <i>T. rugulosus</i> 307VER kontrolü.	41
Şekil 23	Ortaya Aşılama Uygulaması ile <i>T. rugulosus</i> 307VER küfüne karşı sinamaldehit, timol ve karvakrol'ün antifungal etkisi (A %2, B %3, C %4 ve D %5).	41
Şekil 24	Ortaya aşılama uygulaması ile <i>P. italicum</i> 203P kontrolü.....	42
Şekil 25	Ortaya aşılama uygulaması ile <i>P. italicum</i> 203P küfüne karşı sinamaldehit, karvakrol ve timol'ün antifungal etkisi (A %2, B %3, C %4 ve D %5). ..	42
Şekil 26	K_1+K_2 , $\text{Ç}+K_1$, $\text{Ç}+K_1+K_2$ için 96. saat antifungal analizi için <i>T. rugulosus</i> 307VER küf'üne karşı 'agar kuyu difüzyon metodu'. Burada kullanılan konsantrasyonlar: (a) 10^{-1} , (b) = 10^{-2} ve (c) = 10^{-3} , (d) = 10^{-4} , (e) = 10^{-5} , (f) = 10^{-6} , (g) = 10^{-7} . Şekil 26 devam ediyor.	43
Şekil 27	K_1+K_2 , $\text{Ç}+K_1$, ve $\text{Ç}+K_1+K_2$ için 96.h antifungal analizi için <i>P. italicum</i> 203P küf'üne karşı 'agar kuyu difüzyon metodu'. Burada kullanılan konsantrasyonlar: (a) 10^{-1} , (b) = 10^{-2} ve (c) = 10^{-3} , (d) = 10^{-4} , (e) = 10^{-5} , (f) = 10^{-6} , (g) = 10^{-7} . Şekil 27 devam ediyor.	48
Şekil 28	<i>Penicillium italicum</i> ile aşılınmış portakallar ve $\text{Ç}+K_1$, K_1+K_2 ve $\text{Ç}+K_1+K_2$ kaplama ile kullanılmış konsantrasyonlar sırasıyla (a) %3, (b) %4, (c) %5 sinamaldehit. (a) 48.saat, (b) 120.saat. Küf gelişmesi var (+) yok (-). Şekil 28 devam ediyor.....	53
Şekil 29	<i>Penicillium italicum</i> ile aşılınmış portakallar ve $\text{Ç}+K_1$, K_1+K_2 ve $\text{Ç}+K_1+K_2$ kaplama ile kullanılmış konsantrasyonlar sırasıyla (a) %3, (b) %4, (c) %5 timol. (a) 48.saat, (b) 120.saat. Küf gelişmesi var (+) yok (-). Şekil 29 devam ediyor.....	55

- Şekil 30 *Penicillium italicum* ile aşılınmış portakallar ve Ç+K₁, K₁+K₂ ve Ç+K₁+K₂ kaplama ile kullanılmış konsantrasyonlar sırasıyla (a) %3, (b) %4, (c) %5 karvakrol. (a) 48.saat, (b) 120.saat. Küf gelişmesi var (+) yok (-). Şekil 30 devam ediyor..... 57
- Şekil 31 K₁+K₂ için *T. rugulosus* 307VER kontrol 96.saat ‘agar kuyu difüzyon metodu’; (a) 10⁻¹, (b) = 10⁻² ve (c) = 10⁻³, (d) = 10⁻⁴, (e) =10⁻⁵, (f) =10⁻⁶, (g) = 10⁻⁷..... 72
- Şekil 32 Ç+K₁+K₂ için *T. rugulosus* 307VER kontrol 96.saat ‘agar kuyu difüzyon metodu’; (a) 10⁻¹, (b) = 10⁻² ve (c) = 10⁻³, (d) = 10⁻⁴, (e) =10⁻⁵, (f) =10⁻⁶, (g) = 10⁻⁷..... 72
- Şekil 33 Ç+K₁ için *P. italicum* 203P kontrol 96.saat ‘agar kuyu difüzyon metodu’; (a) 10⁻¹, (b) = 10⁻² ve (c) = 10⁻³, (d) = 10⁻⁴, (e) =10⁻⁵, (f) =10⁻⁶, (g) = 10⁻⁷.
..... 73
- Şekil 34 Ç+K₁+K₂ için *P. italicum* 203P kontrol 96.saat ‘agar kuyu difüzyon metodu’; (a) 10⁻¹, (b) = 10⁻² ve (c) = 10⁻³, (d) = 10⁻⁴, (e) =10⁻⁵, (f) =10⁻⁶, (g) = 10⁻⁷..... 73

I. GİRİŞ

Turunçgiller, aroması ve diğer özellikleri nedeniyle tüketicilerin en sevdiği meyvelerden biridir aynı zamanda ekonomik açıdan da önemlidir. Dünya turunçgil üretiminin kıtalara göre dağılımında Asya kıtası %44,9 ile birinci sırada yer almakta, Amerika kıtası % 34,7 ile ikinci, Afrika kıtası %12,2 ile üçüncü sırada yer almaktadır. Türkiye, 2020 yılında yaklaşık 4,3 milyon ton turunçgil üretimi gerçekleştirmekle birlikte, üretimin neredeyse tamamı Ege ve Akdeniz Bölgeleri'nden sağlanmaktadır. Adana, Mersin, Hatay, Muğla ve Osmaniye illerinde turunçgil üretiminin yoğunlaştığı görülmektedir. Türkiye'de toplam mandalina üretiminin %84'ü, portakal üretiminin %85'i, limon üretiminin %93'ü, greylimona üretiminin %96'sı hasat sonrası hastalıklardan dolayı Akdeniz Bölgesi'nde gerçekleştirilmektedir (Aygören, 2021). Turunçgiller depolama ve nakliye sırasında kalite kaybına uğrayabilir. Başlıca kayıplar, turunçgiller patojenleri *Penicillium digitatum* (yeşil küf) ve *Penicillium italicum* (mavi küf) kontaminasyonundan kaynaklanır. Akdeniz ülkelerinde ticareti yapılan en önemli meyve türlerinden biridir ve üretimi son on yılda önemli ölçüde artmıştır (Strano vd., 2017). *Penicillium digitatum*'un neden olduğu yeşil küf, turunçgillerin hasat sonrası kayıplarının %90 'ını oluştururken (Kellerman vd., 2014), mavi küften sorumlu olan *P. italicum* Wehmer ise <4°C de depolama sürecinde meyvede küflenmeye neden olabilir (Anam vd., 2019). Portakal (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Portakal meyvesinde *Penicillium* gelişmesini sınırlamak için kullanılan mevcut yöntemlerden birkaç tanesi, aşağıda sıralanmıştır; dezenfektan olarak sodyum hipoklorit solüsyonları veya perasetik asit kullanımı, kimyasal fungusitler içeren mumların uygulanması, uçucu yağlar ile kaplanmasıdır (Strano vd., 2017; Danyluk vd., 2018). Bununla birlikte geleneksel olarak, sentetik fungusitler öncelikle meyvelerin hasat sonrası hastalıklarını kontrol etmek için kullanılır. Uzun süreli ve yaygın kullanımı ise patojenlerin dirençli suşlarının gelişmesine ve bunun sonucunda fungusit etkinliğinin kaybına yol açar (Sanchez-Torres ve Tuset, 2010). Sentetik fungusitlerin uygulanması çevre kirliliğinin yanında insan sağlığı ve funguside dirençli türlerin gelişimi hakkında endişe yaratmaktadır. Bu nedenle ekonomik ve güvenilir olan yeni doğal

antimikrobiyal turunçgiller koruyucular gibi biyolojik olarak parçalanabilir alternatif maddeler bulmak, aynı zamanda turunçgillernin hasat sonrası saklama süresini uzatmak amacıyla bitki özleri gibi antimikrobiyal güvenli maddeler piyasaya sürülmüştür (Da Cruz Cabral vd., 2013).

Bitkisel kaynaklı gıdalar olan meyve ve sebzeler vitamin, mineral ve protein açısından zengin kaynaklar olup, sağlıklı beslenmede hayati bir rol oynayan koruyucu gıda maddesi olarak kabul edilir. Bunun yanı sıra çinko, bakır, manganez vb. farklı metabolik reaksiyonlarda sayısız enzim sisteminin temel parçalarını oluşturur. Meyve ve sebzeler taze olarak ham formda tüketilebildiği gibi, işlenerek veya toz veya kuru formda kullanılabilir. Meyve ve sebzeler temel bir gıda maddesi olarak günlük diyetinde yer almanın yanında, astım, romatoid artrit, diabetes mellitus, yaşlanma, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların gelişme riskini de en aza indirgerler (Panghal vd., 2018; Chaudhary vd., 2020).

Meyve ve sebzeler düşük pH 'ları nedeniyle fungal gelişmeye bağlı, bozulmaya, tekstür, renk, aroma ve tat kaybına neden olabilir. Bunlar aynı zamanda hastalık ve ekonomik kayıpları yol açabilir. Depolanmaları sırasında olgunlaşmayı geciktirmek ve kaliteyi korumak için, etkili özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılan kitosan ve uçucu yağların uygulanması üzerinde birçok araştırmalar yapılmıştır (Sivakumar ve Bautista-Baños, 2014). Fungal büyümeyi önlemek için kullanılan pestisitler, biyolojik kontrol ajanları ve fungusitler toksik olabilir ve tüketicilerde sağlık sorunları oluşturabilir (Gebel ve Magurno, 2014). Buna karşın doğal uçucu yağlar (EY) ve ekstraktları fungal oluşumu inhibe etmek amacıyla kullanılabilir (Da Cruz Cabral vd., 2013; Jing vd., 2014).

A. *Penicillium* Cinsi Küfler

Penicillium spp., yaprak dökken meyve ve sebzelerde çürümeye neden olabilen fitopatojenlerdir (Barad vd., 2016). *Penicillium* cinsi, çoğu ortamda ve bitkide bildirilmiştir. 400 'den fazla *Penicillium* türü rapor edilmiştir. En yaygın olarak karşılaşılan *Penicillium* türleri ise, *P. nalgiovense* veya, *P. camemberti*, *P. chrysogenum*, *P. notatum* ve *P. roqueforti* 'dir. Gıda ve sağlık sektöründe, penicillin üretimi nedeniyle bazı küfler peynirlerin üretiminde kullanılmaktadır. *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* veya *Penicillium expansum* meyve ve sebzelerin

çürümesinde rol oynayan küflere örnektir. Genel olarak *Penicillium*'un gıda ürünlerinde gelişmesi tamamen istenmeyen bir durumdur. Funguslar yüksek hidrolitik enzim aktivitelerinden dolayı mikotoksinler gibi toksik metabolitler üretebilmektedir. Birçok *Penicillium* türü özellikle yüksek sıcaklığa dayanıklı olmaları nedeni ile patulin gibi toksik ikincil metabolitleri oluşturabilir. (Jing vd., 2014; Yadav vd., 2019). Gıda üretim tekniklerindeki modern gelişmelere rağmen, taze gıdaların yetersiz hijyeni giderek daha önemli bir halk sağlığı sorunu haline geliyor. Taze meyvelerin Küresel olarak her yıl taze meyvelerin %20-30 kadarının fungal çürüme kaynaklı kayıp olduğu tahmin edilmektedir (Xing vd., 2020). Hasat sonrası işleme ve depolama sırasında ise ürün kayıpları %10'a ulaşabilmektedir (Barad vd., 2016).

1. *Penicillium italicum*

Penicillium italicum Wehmer, turunçgillerin hasat sonrası depolanması ve nakliyesi sırasında ortaya çıkan en yaygın meyve hastalıklarından biri olan "mavi küf'e" neden olur ve önemli ekonomik kayıplardan sorumludur (Yang vd., 2015). Meyvedeki hastalık kabuktaki çatlak ve yaralardan, ve böceklerden kaynaklanan enfeksiyon yoluyla oluşur (Grande-Tovar vd., 2018). *Penicillium italicum*'ün optimum gelişme sıcaklığı 25°C olup, büyük oranda hava kaynaklı sporlar (konidy) üreten aseksüel olarak üreyen bir patojendir (Papoutsiz vd., 2019).

2. *Talaromyces rugulosus* (Syn. *Penicillium rugulosum*)

Talaromyces rugulosus hasat sonrası üzüm meyvelerinde görülmekte ve bu meyve üzerinde çürümesiyle ilişkili çok az şey bilinmektedir (Yang vd., 2016). *T. rugulosus* O1, üzümleri enfekte etmesine yardımcı olan germ tüplerini üretmek için, güçlü patojeniteye ve spor çimlenmesine sahiptir (Xu vd., 2021). *Talaromyces rugulosus* sadece güçlü bir enzim üreticisi olmayıp, aynı zamanda bir bitki patojeni ve mikotoksin üreticisi olan *Aspergillus flavus*'un bir mikoparazitidir. Bu özellik onu umut verici bir biyokontrol ajanı yapar (Wang vd., 2020). *Talaromyces rugulosus* 'un mikoparazitik yaşam tarzını ve mikotoksijenik kabiliyeti; genomdaki, proteazları kodlayan genler, karbonhidrat aktif enzimler, küf hücre duvarını parçalayan enzimler, lektin ve ikincil metabolit biyosentetik enzimler açısından zengin olmasıyla ilişkilidir (Wang vd., 2020). Ekstrolit olarak emodin, endocrine ve skirin üretmektedir (Yılmaz vd., 2014). Hasat sonrası hastalıkların neden olduğu ekonomik

kayıplar ve OTA ilişkili sağlık riskleri nedeniyle, patojenin biyolojik kontrolü, hasat sonrası hastalıklar ve OTA kontaminasyonu üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (Lia vd., 2019). Çizelge 1’de *Penicillium* cinsi küflerin ürettikleri mikotoksinler gösterilmiştir.

Çizelge 1 Bazı *Penicillium* Çeşitlerinin Ürettikleri Mikotoksinler

Fungus	Mikotoksin	Ekstrolit	Gıda	Referans
<i>P. expansum</i>	Patulin	-	Elma	Coton vd., (2019).
			-	Barad vd., (2016).
			Elma	Touhami vd., (2018).
			-	Wright vd., (2014).
<i>P. digitatum</i>	Triptoquialanin	-	Turunçgiller	Costa vd., (2021).
			Turunçgiller	Costa vd., (2019).
<i>P. italicum</i>	-	Fenylalanine-proline diketopiperazine	Turunçgiller	Zhu, (2017).
			-	Frisvad vd., (2004).
			Italinik asit	
			Verrukolon	
<i>P. italicum</i>	-	Fulvik asit	-	Frisvad vd., (2004).
			Deoxybrevianamid E	

Penicillium expansum özellikle elmada patulin ve sitrinin, *P. digitatum* ise turunçgillerde triptoquialanin oluştururken *P. italicum* sadece bozulmaya yol açar.

B. Mikotoksinler

Gıdalarda bulunan bazı küf türlerinin mikotoksin ürettiği bilinmektedir ve biyolojik tehlike olarak kabul edilmelidir. Bu küf türlerinin en yaygın olan

Penicillium cinslerinin çoğu, en büyük mikotoksin üreticileri olarak bilinir. Mikotoksinler küfler tarafından üretilen ikincil metabolitler olup farklı kimyasal yapı ve biyolojik aktivitelere sahiptir. Mikotoksinler farklı kimyasal yapı ve biyolojik aktiviteye sahip toksik bileşiklerdir. *Penicillium*'un hasattan sonra uygunsuz şekilde işlenen veya depolanan meyve ve sebzelerde toksin üretmesine neden olur. Mikotoksinler, tüketiciler için sağlığa zararlı olan mutajenik, teratojenik ve kanserojen maddelerdir (Heperkan, 2014; Coton vd., 2019). Tarladan sofraya yaklaşımında tüketici, gıda zincirinin son unsurudur. Gıda güvenliğini sağlamak için üretimden perakendeye farklı adımlarda düzenlemeler uygulanabilir. Gıdalardaki mikotoksinlerle ilgili olarak, Avrupa yönetmeliği, gıda işletmecileri için gıda maddelerindeki belirli kirleticiler için maksimum seviyeleri belirler (Komisyon yönetmeliği (EC) No 1881/2006) (Coton vd., 2019). Ancak tüketici düzeyinde, tek eylem yolu iyi hijyen ve uygulama önerileri sunmaktır. Bu öneriler basit olmalı ve bu nedenle esas olarak küflü gıda ürününün görsel yönüne dayanmalıdır. Bu önemlidir çünkü tüketici genellikle hangi tür küflerin bulunduğunu, bunların potansiyel olarak mikotoksin üretilip üretilmeyeceklerini ve bu metabolitlerin gıda ürünüde olup olmadığını bilmemektedir. Bu nedenle, özellikle tüketicinin evinde depolama sırasında küflü bir gıda ürünüde potansiyel olarak mikotoksinler oluşursa, maksimum düzenleyici seviyeler uygulanamaz. Ancak gıda israfını sınırlamak için bilimsel verilere dayalı önerilerde bulunulmalıdır (Heperkan, 2014; Coton vd., 2019).

Patulin ve sitrinin patojenik bir küf olan *P.expansum* tarafından üretilen mikotoksinlerdir. Sitrinin (3R-trans)-4,6-dihidro-8-hidroksi-3,4,5-trimetil-6-okso-3H-2-benzo-piran-7-karboksilik asit, nefrotoksik bir mikotoksin olup ancak henüz bir miktar sınırlaması bildirilmemiştir (Frisvad vd., 2004; Touhami vd., 2017). Touhami vd., (2017) tarafından yapılan bir çalışmada Elmaların *P. expansum* tarafından kolonizasyonu ve elma dokusunda patulin ve sitrinin üretiminin kinetiği analiz edilmiştir. Sonuç olarak sitrinin'in elmalarda küfün kolonizasyonunu desteklediğini ancak bu desteğin mutlak olmadığı ve büyük ölçüde küfün suşu, elmanın çeşidi, ve oksijen varlığı gibi gerçek koşullara bağlı olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle sitrinin'in kolonizasyon için gerekli olmadığı, kolonizasyon sürecinde destekleyici işlevleri olduğu ve kolonizasyon süreci ve miselyumunun oluşumu sırasında daha çok bir kuruluş faktörü olduğu sonucuna varılmıştır (Touhami vd.,

2017).

Patulin (4-hidroksi-4H-furo[3,2c]piran-2(6H)-on), kompleks olmayan bir lakton (C₇H₆O₄) yapısında olup *P. expansum* tarafından en yüksek miktarda üretilen toksik sekonder bir metabolittir. Yapılan araştırmalara göre patulin oluşumunun en büyük nedenlerinden birinin çevresel faktörler olduğu, bu faktörlerin meyve çeşidi, pH ve sıcaklık gibi birbirinden bağımsız olduğu sonucuna varılmıştır. Patulin, insanlarda, ülserasyon ve kanamaya ve bağırsak bozukluklarına neden olduğu bildirilen toksindir. Patulin, sitotoksitesi, genotoksitesi ve immünosupresif özellikleri nedeniyle memeli modellerinde mide ve ince bağırsakta kanama dahil olmak üzere gastrointestinal lezyonlara neden olmuştur (Wright vd., 2014; Barad vd., 2016). Ancak küçük çocuklar için orta derecede toksik bir mikotoksin olarak kabul edilir. Kontamine elma suyu ve diğer elma bazlı ürünlerin ana tüketicileri için önemli toksisite sergiler, bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü elma suyunda patulin'i 50 µg/L ile sınırlandırmıştır. Avrupa Birliği ise bu seviyeleri tüketici yaş grubuna göre ayarlamış ve meyve içeren gıda ürünleri için maksimum tolere edilebilir patulin seviyesi belirlemiştir. Normal sağlıklı yetişkinlerde bu seviye sıvı gıda ürünleri için 50 µg/kg ve katı gıdalar için 25 µg/kg ile sınırlıdır. Bebekler ve çocuklar için meyve içeren gıdalar (elma ürünleri ve gıdalar) için 10 µg/L 'dır (Sanzani vd., 2010; Barad vd., 2016; Coton vd., 2019 ;).

Ekstrolitler, hücre dışı ortama salgılanan ikincil metabolitler olarak bilinir ve birçok *Penicillium* türü tarafından üretilir. Araştırmaya göre, *P. digitatum* ve *P. italicum* mikotoksin üretmiyor, aksine daha fazla ekstrolit (italinik asit, triptoquialaninler ve deoksibrevianamid) üretiyordu (Frisvad vd, 2004; Papoutsiz vd, 2019). Yakın ilişkili *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri ile karşılaştırıldığında, *P. digitatum*, triptoquialaninler (TQA) ve fenilalanin-prolin diketopiperazin gibi bilinen ürünlerle daha az ikincil metabolit üretir. Triptoquialanin indol alkaloidleridir ve insanlarda ve hayvanlarda merkezi sinir sistemi çökmesine neden olduğu bilinmektedir (Zhang vd., 2019). Costa vd., (2019) 'nin çalışmasında portakallarda küf gelişimi sırasında sekonder metabolitlerin dağılımı ve fonksiyonları araştırılmıştır. *P. digitatum* tarafından üretilen ikincil metabolitlerden biri olan triptoquialanin ve formları, Kütle Spektrometrisi Görüntüleme (MSI) ve Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS) Moleküler veri ağı aracılığıyla kontrol edilmiştir. Sonuç olarak, aşılama 4 ila 7 gün sonra, *P.*

digitatum tarafından triptokialaninler ve fumikinazolinlerin üretimi ve ayrıca meyve yüzeyinde triptokialanin birikimi bildirmiştir. *P. digitatum* 'un indol alkaloitlerini in vivo olarak farklı turunçgiller konakçılarında sentezleme yeteneği de değerlendirilmiştir (Costa vd., 2019).

Costa vd., (2021), yaptıkları çalışmada bakteri, küf ve bitki hücreleri tarafından salınan küresel yapılar olan hücre dışı veziküllerin (EV'ler) *Citrus sinensis* tohum dokularının fizyolojisinde farklılıklar yarattığını ve triptokialanin A'nın (TA) tohum çimlenmesini engellediğini göstermiştir. Çalışmada, *Citrus sinensis* tohumlarının çimlenme deneylerinde *P. digitatum* tarafından üretilen indol alkaloitlerinin ve EV'lerin fitotoksik aktivitesi araştırılmıştır. Sonuç olarak TA'nın, test edilen tüm konsantrasyonlarda tohum çimlenmesini önemli ölçüde engellediği belirlenmiştir. 1.000 ppm'den daha az TA konsantrasyonlarına maruz kalan tohumlar, tohum rengi ve boyutundaki değişikliklerle kanıtlandığı gibi, negatif kontrole (NC) kıyasla çimlenme sürelerinde bir gecikme sergilemiştir. En yüksek konsantrasyonda TA (3.000 ppm) uygulanan tohumların daha güçlü fitotoksik etkiye sahip olduğu rapor edilmiş ve kök oluşumu gözlemlenmemiştir (Costa vd., 2021).

Tarlardan sofraya yaklaşımında tüketici, gıda zincirinin son unsurudur. Gıda güvenliğini sağlamak için üretimden perakendeye farklı adımlarda düzenlemeler uygulanabilir. Gıdalardaki mikotoksinlerle ilgili olarak, Avrupa yönetmeliği, gıda işletmecileri için gıda maddelerindeki belirli kirleticiler için maksimum seviyeleri belirler (Komisyon yönetmeliği (EC) No 1881/2006) (Coton vd., 2019). Ancak tüketici düzeyinde, tek eylem yolu iyi hijyen ve uygulama önerileri sunmaktır. Bu öneriler basit olmalı ve bu nedenle esas olarak küflü gıda ürününün görsel yönüne dayanmalıdır. Bu önemlidir çünkü tüketici genellikle hangi tür küflerin bulunduğunu, bunların potansiyel olarak mikotoksin üreten üretemeyeceklerini ve bu metabolitlerin gıda ürününe olup olmadığını bilmemektedir. Bu nedenle, özellikle tüketicinin evinde depolama sırasında küflü bir gıda ürününe potansiyel olarak mikotoksinler oluşursa, maksimum düzenleyici seviyeler uygulanamaz. Ancak gıda israfını sınırlamak için bilimsel verilere dayalı önerilerde bulunulmalıdır.

C. Mikotoksinlerin Önlenmesi

1. Biyobozunur Kaplamalar

Biyolojik olarak parçalanabilen filmler ve kaplamalar, geleneksel plastik malzemelere ilginç bir alternatif sunar; bu nedenle, çevre dostu gıda ambalajları için malzemeler geliştirmek amacıyla birçok biyopolimerden yararlanılmıştır (Atares ve Chiralt, 2015). Yenilebilir kaplamaların uygulanması, meyve ve sebzelerin raf ömrünü uzatmak için bir stratejidir. Doğal polimerler, biyolojik olarak biyobozunur olmaları nedeniyle ambalaj geliştirme için alternatif bir kaynak olabilir (Dhanapal vd., 2012). Doğal kaynaklardan elde edilen yenilebilir kaplamalar çevre dostudur ve ürün kalitesini arttırmaktadır (Yousuf vd., 2017). Bunlar ayrıca esmerleşme önleyici, antimikrobiyal, renklendirici, aroma verici ve aynı zamanda besin ve baharat gibi gıda katkı maddelerinin taşıyıcıları olarak da hizmet edebilir (Rojas-Graü vd., 2007). Kaplamalar, minimum işlemenin neden olduğu bozulmayı azaltmak ve kesilmemiş ve taze kesilmiş meyvelerin raf ömrünü uzatmak için bir seçenektir. Çünkü solunum indeksini, ağırlık kaybını ve oksidasyon reaksiyon oranlarını azaltmaya yarayan (O_2 , CO_2 , çözünen madde ve nem gibi hareketli) oluşan yarı geçirgen bir bariyer oluştururlar (Guerreiro vd., 2016).

Kaplamalar ve filmler benzer olmakla birlikte ve ikisi tamamen farklı olduğundan karıştırılmamalıdır. Filmler, gıdaları saran veya kaplayan önceden oluşturulmuş bağımsız yapılardır. Kaplamalar ise korunması amaçlanan gıda ürününe doğrudan uygulanır. Yenilebilir filmler önce ince katı tabaka veya tabakalar halinde oluşturulmaktadır, daha sonra gıda ürünü üzerine bir kaplayıcı olarak uygulanmaktadır. Yenilebilir kaplamalar karbonhidrat, protein, lipid veya bunların karışımı gibi yapısal matris oluşturan maddelerden oluşan bir çözeltiye (sıvı halde uygulanır) kaplanacak gıdanın daldırması suretiyle uygulanır (Yousuf vd., 2017).

Kaplamalarda proteinler, lipidler ve polisakkaritler gibi farklı yapısal malzemeler kullanılmıştır. Polisakkaritler arasında aljinat, selüloz, kitosan, nişasta ve pektin bulunur. Pektin, bitki hücre duvarının ana bileşenlerinden biridir, doku bütünlüğüne ve sertliğine katkıda bulunur ve doğadaki en karmaşık makromoleküllerden biri olarak kabul edilir (Guerreiro vd., 2016). Aljinat kaplamalar armutların konservasyonu için kullanılmış ve mekanik özellikler, kalınlık, geçirgenlik ve opaklık açısından değerlendirilmiştir. Aljinat esaslı

kaplamaların ağırlık kaybı, pH, toplam çözünür katılar, renk ve sertlik gibi çeşitli parametreleri etkilediği ve aljinat kaplamanın daha yüksek gerilme mukavemeti ve daha düşük su buharı geçirgenliği nedeniyle meyvenin korunması için daha iyi sonuçlar sunduğu bulunmuştur (Yousuf vd., 2017). Polisakkarit filmler, selüloz eterler, nişasta, kitosan, aljinat, pektin veya karagenanlardan yapılmaktadır ve çeşitli filmlere gevreklik, sertlik, kompaktlık, kalınlaştırma kalitesi, viskozite, yapışkanlık ve jel oluşturma yeteneği kazandırır. Polimer zincirlerinin yapısından dolayı bu filmler, anaerobik koşullar yaratmadan ürünün raf ömrünü artıran, arzu edilen modifiye atmosferlerle sonuçlanan mükemmel gaz geçirgenlik özellikleri sergiler. Ek olarak, polisakkarit filmler ve kaplamalar dehidrasyonu, oksidatif acılaşmayı ve yüzey kararmasını önleyerek gıdaların raf ömrünü uzatmak için kullanılabilir, ancak hidrofilik yapıları onları su buharı için zayıf bariyerler yaparlar. (Dhanapal vd., 2012).

Kaplamaların farklı gıdalara uygulama şekilleri vardır, bunlardan en bilindik olanları daldırma ve sprayleme metotlarıdır. Gıda endüstrisinde, spreyle kaplama, genellikle kaplama oluşturan çözelti çok viskoz olmadığına kullanılan geleneksel yöntemdir. Gerçekten de, yüksek viskoziteli çözeltiler çok kolay püskürtülemez veya hiç püskürtülemez. Bu nedenle, kaplamaya daha fazla kalınlık veren sadece daldırma teknikleri uygulanabilir (Dhanapal vd., 2012).

Esansiyel yağlar (EY), yenilebilir/biyobozunur emülsiyon haline getirilmiş filmlerde ve kaplamalarda katkı maddesi olarak kapsamlı bir şekilde çoğu araştırmalarda incelenmiştir. Lipidik yapıları nedeniyle, hidrofilik filmlerin su buharı geçirgenliğini azaltmaya yardımcı olmaları beklenilmektedir. Ayrıca, antioksidan ve/veya anti-mikrobiyal etkiler sağlamanın yanı sıra diğer film özellikleri (çekme, optik, yapısal gibi) üzerinde de bazı etkileri olduğu kanıtlanmıştır (Atares ve Chiralt, 2015).

2. Plastikleştiriciler

Bu çalışmada plastikleştirici olarak sorbitol kullanılmıştır. Plastikleştiriciler polimerlerin serbest hacmini veya moleküler hareketliliğini artırarak, moleküller arası boşluğu arttırırken polimer zincirleri arasındaki dahili hidrojen bağımlı azaltarak film esnekliğini ve işlenebilirliğini arttırmak için polisakkarit ve protein bazlı kaplamalar için gereklidir. Plastikleştiriciler sistemin suyu bağlama kabiliyetini

etkiler ve ayrıca genellikle filmin oksijene karşı geçirgenliğini artırır (Rojas-Graü vd., 2007).

3. Esansiyel Yağlar (EY)

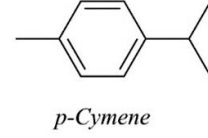
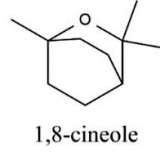
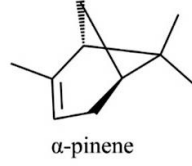
Esansiyel yağlar, aromatik bitkilerin ve suda zor çözünen hidrofobik konsantre lipidik yapıdaki ikincil metabolitleridir, fototermal reaksiyonlara ve oksidasyona karşı hassastır. Çeşitli ülkelerde ilaç, parfüm, kozmetik ve gıda koruyucu olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Başlangıçta 19. yüzyılda aroması ve tadı nedeniyle ilaç olarak kullanılmıştır. Bugüne kadar 3000 EY civarlarında tanımlanmış olup, yüksek aroması nedeniyle parfümeride yaklaşık 300 çeşit EY kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde, sentetik antimikrobiyallerin yerine uçucu yağlar gıda koruyucu olarak daha fazla önerilmektedir (Bhavaniramy vd., 2019).

Hasat sonrası çürümeyi kontrol etmek için sentetik kimyasalların kullanımı, yüksek ve akut kalıntı toksisiteleri, uzun bozunma süreleri, çevre kirliliği, gıda ve insan sağlığı üzerindeki etkileri nedeniyle birkaç meyve ve sebze ile sınırlandırılmıştır. Kimyasal pestisitler, yani küf öldürücüler, genellikle büyüme döngüleri boyunca bitkilere uygulanır. Diğer kalite endekslerinden bağımsız olarak meyve ve sebzelerin yenmesi güvenli olmalıdır. Kimyasal olmayan ve seçici olmayan küf öldürücü uygulamaların kullanımı, hasat sonrası için etkili bir çözüm sağlayabilir. Uçucu yağlar ve bitki özleri gibi pestisit aktivitesine sahip GRAS bileşikler, daha güvenli küf öldürücü maddeler olan, fitotoksik olmayan doğal bileşikler olarak kabul edilir ve ürünün korunması için potansiyel doğal pestisitler etkilidir (Antunes ve Cavaco, 2010).

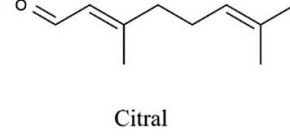
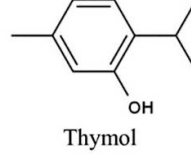
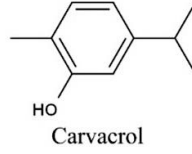
Başarılı kullanımları için birkaç kritik parametrenin çözülmesi gerekir. Gıdalardaki mikroorganizmaların üremesini önleme yeteneklerinin ve uygulama teknolojilerinin yanı sıra, güçlü aromalarından dolayı belirli gıdalarda kullanımları organoleptik açıdan dikkatle kontrol edilmelidir. Bu nedenle, farklı organoleptik özelliklere sahip çok sayıda antimikrobiyal aktif uçucu yağların invitro aktivitesi; bir dizi mikroorganizmaya karşı farklı difüzyon türleri veya seyreltme yöntemleri gibi doğrudan temaslı testler kullanılarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Bununla birlikte, EY'lar yüksek hidrofobikliği ve uçuculuğu nedeniyle, doğrudan temas birçok çalışmaları problemle karşı karşıyadır (Bhavaniramy vd., 2019).

EY'lar %85-99 uçucu ve %1-15 uçucu olmayan bileşenler içerir. Uçucu bileşenler, tümü düşük moleküler ağırlıklarıyla karakterize edilen terpenler, terpenoidler ve diğer aromatik ve alifatik bileşenlerin bir karışımıdır (Gonzalez-Martinez vd., 2011). Bileşiklerin ana kategorilerini terpenler ve terpenoidler oluşturur; nadiren azot ve kükürt içeren bileşikler, kumarinler ve fenilpropanoidlerin homologları da bulunabilir. Terpenler, çeşitli kimyasal özelliklere ve biyolojik özelliklere sahip izopren biriminden (C_5H_8) türetilen, doğal olarak oluşan hidrokarbonların büyük bir sınıfıdır. Asetil CoA'dan başlayarak mevalonik asit yolu ile bitki hücrelerinin sitoplazmasında sentezlenirler. Monoterpenler ($C_{10}H_{16}$) uçucu yağların %90'ını oluşturur ve seskiterpenler ($C_{15}H_{24}$) genellikle ana terpenlerdir, ancak daha uzun zincirlerdir. Terpenoidler, bazı oksijen işlevselliği veya bazı yeniden yapısal düzenlemeleri olan terpenlerle ilgili bileşiklerdir. Timol, karvakrol, linalil asetat, linalool, piperiton, sitronellal, geraniol ve mentol en çok bilinen terpenoidler olarak kabul edilir (Nazzaro vd., 2017). Aromatik bileşikler fenilpropandan türetilir. Aldehitler (sinnamaldehit), alkoller (sinnamik alkol), fenoller (öjenol), metoksi türevleri (anetol, estragol) ve metilen dioksi bileşikleri (miristisin, apiol) aromatik bileşenlerine örnektir. EY'nın ana bileşikleri olan terpenler, bakteri hücre zarının lipid yapısını bozma ve nüfuz etme yeteneğine sahiptir, bu da proteinlerin denatüre olmasına ve hücre zarının tahrip olmasına yol açar. Fenolik bileşikler, Gram negatif bakterilerin dış zarını parçalayabilir, lipopolisakkaritleri serbest bırakır ve sitoplazmik zarın ATP 'ye geçirgenliğini artırır böylece hücre duvarının bozulmasına ve yüksek derecede hücre lizisine neden olur (Gonzalez-Martinez vd., 2011a). Terpenler ile ilişkili bileşikler şekil 1'de gösterilmiştir.

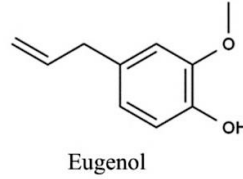
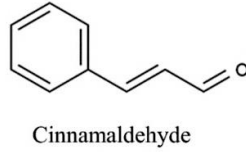
Terpenes



Terpenoids



Phenylpropanoids



Şekil 1 Ana bileşenler ve kimyasal yapıları (Yang vd., 2022).

EY'lerin ve bileşenlerinin hidrofobikliği yağın, küf hücre zarlarının lipid katmanlarında bölünmeye zar yapılarında ve hücre zarı bütünlüğünde bozulmaya neden olur. Bu değişiklikler, H⁺ ve K⁺ kation değişimi için daha fazla geçirgenlik sağlar. Bu nedenle, bu olaylar proton akışında bir değişikliğe neden olabilir ve böylece iyon gradyanlarını değiştirebilir, hücre pH'ını değiştirebilir, hücrelerin kimyasal bileşimini ve patojen hücrelerindeki metabolik süreçleri etkileyerek sonuçta hücre ölümüyle sonuçlanabilir. EY'ların hücre zarları ile bu etkileşimleri, ana enerji depolayan molekül olan ATP gibi bazı hücrel bileşenlerin sızıntısına neden olabilir (Sivakumar ve Bautista-Baños, 2014).

Difüzyon tahlillerinde, EY bileşenleri, suyla afinitelerine göre agar boyunca bölünür ve seyreltme yöntemlerinde”, aktiviteyi değiştirebilecek emülgatörler veya çözücüler (Tween80, DMSO, etanol gibi) ilavesiyle düşük suda çözünürlüğün üstesinden gelinmesi gerekir. Bunun tersine, EY'ların uçucu doğasını kullanmak için birkaç girişimde bulunuldu ve buhar fazında EY'ların uçucu bileşenleri tarafından yüksek derecede inhibisyon olduğu kanıtlandı. Esansiyel yağlar biyokontrol ajanları olarak işlev gören antimikrobiyal antagonistleri (bakteri, maya ve küfler) FDA tarafından GRAS (Generally Recognised as Safe) bileşikleri olarak kabul edilen ve gıdalarda antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan etkileri açısından birçok

çalışmalarda araştırılmış maddelerdir. Bu nedenle, taze meyve ve sebzelerde hasat sonrası hastalıkları kontrol etmek için uçucu yağlar fumigant olarak uygulanmıştır (Antunes ve Cavaco, 2010; Nazzaro vd., 2017; Bhavaniramy vd., 2019).

Leja vd., (2019), uçucu yağların konsantrasyonlarına bağlı olarak saprofitik mikroorganizmalar üzerinde kullanılan bakteriyosidal etkisini araştırmıştır. Hücre zarının fosfolipid çift tabakasının etkisi, ATP sentezleme, sitoplazmik zar boyunca pH gradyanı, kromosom bölgesini (nuclear area) algılama etkisinin inhibisyonu ve ayrıca genetik materyalin yok edilmesi veya etkisizleştirilmesi gibi bir antibakteriyel etki mekanizmasını araştırmıştır. Sonuçlar, düşük konsantrasyonlardaki EY'ların bakteri hücreleri üzerinde bakteriyostatik bir etkiye sahip olduğunu ve bakterisidal bir etki görülmediğini bildirmiştir (Leja vd., 2019).

Son yıllarda yağ'ın uçuculuğunu azaltmak, biyolojik aktivitesini, güçlü aromalarını bastırmak ve kullanımını artırmak için, yenilebilir / biyobozunur filmlerde antimikrobiyal ve fiziksel özellikleri geliştirmesi konusu araştırılmıştır (Gonzalez-Martinez vd., 2011). EY'lar, hidrofilik filmlerinde su buharı geçirgenliğinde azalma etkisinin olması beklenir ve filmlerle birleştirildiğinde meyve ve sebzelerin fizyolojik bozulmalarını ve olgunlaşmalarını yöneten enzim aktivitelerini inhibe edebilirler. Bu filmler genellikle polimer maddelerden oluşan, EY 'ların stabilitesini ve temas alanını arttıran aynı zamanda meyve ve sebzelerin yüzeyindeki mikroorganizmaların oluştuğu bölgelerde stabil olarak dağılımlarına yardımcı olan maddelerdir (Donsi ve Ferrari, 2016). EY'ların kaplamalarda kullanımında olumlu etkileri olduğu gibi olumsuz etkileride vardır, yağın kararsızlığı ve gıda ürününün organoleptik özelliklerini etkileyen güçlü aromatik tadı nedeniyle kullanımı sınırlıdır. Doğrudan reaktif bileşikler olarak gıda bileşenleri (mineraller, lipidler ve proteinler) ile temas ettiğinde EY'lar bozulabilir veya düzensiz dağılarak antimikrobiyal aktivitesini önemli ölçüde azaltabilir (Gyawali ve Ibrahim, 2014; Duan vd., 2018). EY'lar gıdaların su aktivitesini, pH'ını, biyolojik aktivitesini etkiler. Bu aktiviteleri korumak için EY'ların doğru konsantrasyonlarının kullanılması gereklidir (Singh ve Chittenden, 2010). Singh ve Chittenden, (2010) 'a göre çoğu uçucu yağların, %1 w/v konsantrasyon miktarında kullanımında küfleri tamamen inhibe ettiği belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda (%1, %3, %5) kullanılan tarçın uçucuğu yağ ile yapılan çalışmada, *P. expansum* 'a karşı kaplama solüsyonunda antifungal aktivitesi en yüksek konsantrasyonda en çok etki gösterdiği sonucuna

varılmıştır (Rashid vd., 2020). EY'ların aktif bileşenlerinden dolayı bazen duyuşal kalite üzerinde olumsuz bir etki oluşabilir. Örneğın, uçucu yağların, yenilebilir kaplamalara / filmlerle kullanılmasında, duyuşal nitelikler, en önemlisi de taze kesilmiş ürünlerin aromaları üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir. Daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılan uçucu yağlar, ürünle ilişkili orijinal aromayı bastırabilirler (Azarakhsh vd., 2013). Azarakhsh vd., (2013)'nin çalışmasında, %0,3 limon otu yağının aljinat bazlı kaplamanın taze kesilmiş ananas üzerinde antifungal ve antibakteriyal etki gösterdiğini, ancak %0,5 konsantrasyonda ise duyuşal özelliklerin ciddi bir oranda düştüğünü bildirmiştir.

a. Esansiyel yağların antifungal etkileri

EY'lerin antifungal aktivite mekanizmasının iyi açıklanmaması ve bununla birlikte, farklı bileşiklerin yapılarının ve fonksiyonel gruplarının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmesine rağmen farklı hipotezler önerilmiştir. Bu nedenle EY bileşenlerinin etkisi, kimyasal yapısına ve hücre duvarından geçme ve lipit çift tabakasının yağ asidi zincirleri arasına girme yeteneklerine bağlı gibi görünmekte ve hücre zarını daha geçirgen hale getirmektedir ve nihayetinde hücrenin ölümü ile sonuçlanır veya küflerin, sporülasyonunu ve çimlenmesini inhibe eder (Nazzaro vd., 2017). Özellikle, fenolik gruplar içeren bileşikler en aktif gibi görünmektedir. Bunların arasında özellikle karanfil, kekik, tarçın, adaçayı ve vanilyanın uçucu yağlarının güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. EY'ların önerilen antifungal etkileri, plazma membranı, mitokondri ve peroksizomlar dahil olmak üzere hücre duvarı ve endomembran sisteminin bütünlüğünün dahil olduğu bir dizi reaksiyonu içerir. Dahası, uçucu yağlar sitoplazma sızıntısına, hücre parçalanmasına ve ölümüne neden olabilir. Özellikle, EY bileşenleri, hücre morfogenezini ve büyümesini etkileyen duvar sentezinin enzimatik reaksiyonlarına müdahale edebilir (Rasooli vd., 2006). Bununla birlikte, birkaç çalışma, EY'lerin antifungal özelliklerinin hücre duvarı biyosentez yollarıyla değil, fakat ikincil zar hasarına yol açan metabolik bozukluktan ziyade, zarın doğrudan hasarından kaynaklanan plazma zarının şiddetli lezyonuyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Aslında, EY'nin hücre bütünlüğünü, canlılığını, fonksiyonunu ve normal küf büyümesini sürdürmek için gerekli olan ergosterol ile etkileşime girdiği kanıtlanmıştır. Kekik, karanfil ve dereotu gibi bazı EY'lar ergosterol sentezini engeller, çay ağacı, kekik ve karanfil yağları gibi diğer EY'lar ergosterole bağlanarak

maya gelişmesini engelleyebilir. Böylece, zarın akışkanlığı ve geçirgenliği değişir ve zar proteinleri zarar görür, bu da iyon kaybına, zar potansiyelinin azalmasına, proton pompasının çökmesine ve ATP havuzunun tükenmesine ve sonuçta hücre ölümüne neden olur (Grande-Tovar vd., 2018). Ek olarak, bazı EY'lar, hücre membranı boyunca transmembran elektrokimyasal proton gradyanının korunmasına katkıda bulunan ve hücre içi pH'ı düzenleyen plazma membranı H⁺-ATPaz'ı inhibe edebilir. Ayrıca dışarı akış pompaları EY'nın bir hedefi olabilir; Bu bağlamda, monoterenler timol ve karvakrol, Candida'daki dışa akış pompasında yer alan genlerin aşırı ekspresyonunu inhibe etmek için yüksek potansiyel göstermiş ve ilaç direncini azaltmıştır. En ilginç ve en basit etki yöntemlerinden biri, EY'ların fenolik bileşiklerinin sitoplazmatik membrandaki proteinlerle (porinler) çöküp, iyonların ve diğer hücre içeriğinin sızmasına yol açarak hücre parçalanmasına neden olan etkileşimidir. EY'lar, hücrel membrana müdahale etme kapasiteleri nedeniyle, yapışma kabiliyetini ve biyofilm oluşumunu güçlü bir şekilde inhibe etmiştir (Grande-Tovar vd., 2018). Bir derlemede Nazzaro vd., (2017) EY'nın anti-biyofilm etkisini de incelemiştir. Uçucu yağların antifungal aktivitesi, küf mitokondrilerinin bozulmasıyla da ortaya çıkabilir. EY'ların mitokondriyal ATPaz, malat dehidrojenaz ve süksinat dehidrojenaz gibi çeşitli enzimlerin inhibisyonu yoluyla enerji metabolizmasını parçaladığı bildirilmiştir (Hu vd., 2017). ATP içeriğindeki tükenme, plazma membranı proton pompalayan ATPaz'ı dolaylı olarak inhibe edecek ve müteakip hücre ölümüyle birlikte asitleşmenin inhibisyonunu açıklayacaktır. Ek olarak, EY'lar, elektron taşıma zincirinden akan elektrondaki değişiklikler nedeniyle mitokondriyal membran potansiyelinde işlev bozukluğuna neden olabilir ve lipidleri, proteinleri ve DNA'yı oksitleyen ve onlara zarar veren reaktif oksijen türlerinin (ROS) değişmiş seviyelerini üretebilir. ROS artışı, morfolojik değişiklikleri, nükleer parçalanmayı, kromatinin yoğunlaşmasını, hücrel şişmeyi ve ayrıca fosfatidilserinin dışsallaşmasını uyaran apoptoz için ana biyokimyasal özelliklerden birini yansıtır. Özellikle EY 'da bulunan terpenoidler, değişen ROS seviyelerinin oluşmasından sorumlu olabilir. Bazı uçucu yağların bazı mikotoksinlerin üretimini engellediği bildirilmesine rağmen, kesin mekanizma tam olarak anlaşılmamıştır (Hu vd., 2017; Grande-Tovar vd., 2018). Çizelge 2 de bazı küflerin bazı turunçgiller üzerindeki antifungal etkisi gösterilmiştir.

Çizelge 2 Küfler ve Turunçgiller Üzerinde Yapılan Birkaç Çalışma

EY	Fungus	Gıda	Etki		Referans
Kekik	<i>P. italicum</i>	Portakal	<i>P. italicum</i> %60 inhibisyon		Pinto vd., (2021)
	<i>P. digitatum</i>	(<i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck)	<i>P. digitatum</i> %42 inhibisyon		
Tarçın			<u>CEO-NLC</u>	<u>CEO-NLC</u>	
			<i>P. citrinum</i>	<i>P. expansum</i>	
	<i>P. citrinum</i>	Mandalin	MİC:	MİC:	Radi vd., (2022)
	<i>P. expansum</i>	(Jahromi variety)	1,010mg/mL	0,990mg/mL	
			MFC:	MFC:	
			1.500mg/mL	1.490mg/mL	
Bergamot, Kekik ve Çay ağacı	<i>P. italicum</i>	Portakal	TTO ve TO:		Chafer vd., (2021)
		(<i>Citrus sinensis</i> cv. Navel Powell)	İyileştirici: % 35 Önleyici: % 50		
Kekik	<i>P. digitatum</i>	Portakal	CEO microemülsiyonlar:		He vd., (2016)
		(<i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck)	MİC: 0.25 µl/mL MFC: 0.50 µl/mL		
Nar kabuğu	<i>P. digitatum</i>	Portakal	<u>İnhibition oranları:</u>		Kharchoufi vd., (2018)
		(<i>Citrus sinensis</i>)	CH-WPPE : % 95 LBG-WPPE : % 75		
Portakal kabuğu	-	Mandalin	OPEO % 100 Konsentrasyonda etkili		Fozi vd., (2021)
			% 1 OPEO		
		Portakal	Antimikrobiyal etki		Radi vd., (2017)
	Fungi	(Citrus sinensis cv. Thomson Navel)	→ Kontrol 6,73logCFU/g		
			→ EO-Coating 5,83logCFU/g		
			Antifungal etki		
			→ Control 7,66logCFU/g → EO-Coating 6,93logCFU/g		

CEO-NLC: cinnamon essential oil – loaded nanostructured lipid carriers (tarçın esansiyel yağ – yüklü nano yapımında yağ taşıyıcıları); MFC: minimum fungicidal concentration (minimum fungusidal konsantrasyonu); MİC: minimum inhibitory concentration (minimum inhibisyon konsantrasyonu); TTO: tea tree essential oil (çay ağacı esansiyel yağ); TO: thyme essential oil (kekik esansiyel yağ); CH-WPPE chitosan – water pomegranate peel extract (kitosan - su nar kabuğu ekstraktı); LBG-

WPPE: locust bean gum - water pomegranate peel extract (keçiboynuzu sakızı - su nar kabuğu ekstraktı); OPEO: orange peel essential oil (portakal kabuğu esansiyel yağı).

b. Esansiyel yağların meyvelerde küf oluşumunun engellenmesi

Meyve ve sebzeler su ve besin açısından zengindir ve depolama sırasında *Penicillium* spp., *Monilinia* spp. ve *Botrytis* spp. gibi patojenik mikroorganizmaların gelişimi için ideal substratlardır. Ortaya çıkan ekonomik kayıplara ek olarak, *Aspergillus* spp. ve *Penicillium* spp. gibi bazı patojenik hasat sonrası küfler, üretilen toksinler (okratoksin A, patulin, sitrinin vb.) nedeniyle ciddi bir insan sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Bu nedenle meyvelerin olgunlaşması ve depolanması sırasında artan kayıpların azaltılması için uygun teknolojilerin kullanılması önemlidir (Martínez vd., 2018).

Meyve raf ömrünü uzatmak ve meyve kalitesini korumak için, uçucu yağlar antifungal bileşikler olarak kullanılmaktadır. Doğal antimikrobiyal aktivitelerinden dolayı uçucu yağlar, meyvelerde hasat sonrası çürümeyi kontrol etmek, kimyasal fungusit işleme riskini azaltmak için umut verici bir ilerleme olabilir. Uçucu yağ işlemlerinin etkinliği, meyve ürününün doğal direnci ile belirlenecektir. Esansiyel yağlar, mikroorganizmaların hücresel metabolizmasını değiştirerek spor çimlenmesi ve misel büyümesi üzerindeki doğrudan etkisinden dolayı patojenleri inhibe eder. Uygulamaları insan sağlığına için risk oluşturmaz iken, antioksidan özellikler sunar, meyve kalitesini artırır ve raf ömrünü uzatır. Bununla birlikte, bitki özlerinden elde edilen doğal ürünlerin kullanımını sınırlayan faktörlerden birisi, meyvenin duyu kalitesinde değişikliklere neden olma olasılığıdır. Uçucu yağların yoğun kokusunun neden olduğu aroma ve lezzet değişiklikleri ve kötü tat nedeniyle meyve kabul edilebilirliği azalabilir (Vilaplana vd., 2018).

Seçilen uçucu yağların, meyvelerde birkaç taze üründe çürüme hastalıkları ile enfekte olmuş bahçe ürünleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi, hasat sonrası patojenlere karşı olumlu etkisi olanlar da dahil olmak üzere çok sayıda in vitro deney ile iyi ve olumlu bir şekilde belgelenmiştir (Tablo 2). Mikrobiyal büyümeyi engellemek için gerekli olan uçucu yağların ve ilgili bileşiklerin konsantrasyonları, gıdalarda genellikle kültür ortamlarına göre daha yüksektir. Bu durum, fenolik bileşikler ile gıda matrisi

arasındaki etkileşimlerin sonucu olabilir ve ticari uygulamalarda dikkate alınmalıdır (Yousuf vd., 2017).

c. Kekik EY (KEY)

Thymus vulgaris aromatik bir bitkidir, *Lamiaceae* familyasının bir üyesidir ve dünyanın pek çok yerinde bulunmaktadır. Bu bitkiler aktif bileşenler olan timol, karvakrol, p-simen, myrcene, borneol, linalool ve terpinen bakımından zengindir ve önemli antifungal ve antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu için hasat sonrası depolamada en sık kullanılan EY'lardan birisidir (Tohidi vd., 2017; Giannakas vd., 2019). Aktif paketlemede kullanılan uçucu yağların ve timol ve karvakrol gibi kimyasal bileşenlerinin antimikrobiyal ve antioksidan özellikler sağladığı in vitro testlere dayalı olarak bildirilmiştir ve taze meyvelerin yüzeyini dezenfekte etmek amacıyla kullanılmaktadır (Ballester-Costa vd., 2016). Uçucu yağlar ve ana bileşenleri için bir sorun, tek başına uygulandıklarında uçucu özelliğin daha yüksek olmasıdır (Tahereh vd., 2014). Esansiyel yağların uçuculuk yönünün kontrol etmek için kitosan ve kekik uçucu yağı ve / veya karvakrol içeren filmler ve kaplamalar geliştirilmiştir (Perdones vd., 2016).

i. Timol

Timol (2-isopropil-5-metilfenol) *Lamiaceae* familyasından olan *Thymus vulgaris* esansiyel yağının ana bileşenlerinden biri olup fitopatogenik mikroorganizmalara karşı bir savunma mekanizması oluşturmaktadır. Bu bileşenler esansiyel yağlar olarak gıdalarda hasat sonrası bozulmalarına karşı kullanılmaktadır ve GRAS (Generally Recognised As Safe) statüsünde yer almaktadır. Tüketiciler için 50 mg kg⁻¹ 'i sınırları geçmemek üzere sağlık üzerinde tehlike oluşturmadığı onaylanmıştır (Pérez-Alfonso vd., 2012).

ii. Karvakrol

Thymus vulgaris esansiyel yağın ana bileşiği olan karvakrol'ün (5-isopropil-2-metilfenol) doğal bir koruyucu olarak işlev gördüğü bilinmektedir. Karvakrol, yüksek antimikrobiyal ve antifungal aktivitesi nedeniyle büyük ilgi gören doğal kekik bitkisinin ana fenolik bileşiğidir. Bununla birlikte, bu bileşiğin uygulamaları, Uçuculuğunun yüksek ve suda çözürlüğün yüksek olması nedeniyle sınırlıdır. 50 mg kg⁻¹ 'i geçmemek üzere GRAS (Generally Recognised As Safe) statüsünde yer almaktadır (Marinelli vd., 2018; Pérez-Alfonso vd., 2012).

d. Tarçın EY (TEY)

Tarçın esansiyel yağı (TEY) en çok kullanılan uçucu yağ olup, tarçın yapraklarından (*Cinnamomum zeylanicum*) elde edilen yağ özütüdür. Hem gıda hem kozmetik endüstrisinde aroma veya antimikrobiyal olarak uygulanmaktadır. Esansiyel yağların gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal özelliklerine ilgi son yıllarda artmaktadır. Gıda endüstrisinde antimikrobiyal ajan olarak gıda ambalajlarına eklenmekte, ve gıdanın raf ömrünü uzatmaktadır (Martínez vd., 2018).

i. Sinamaldehit

Tarçın esansiyel yağının ana bileşeni sinamaldehit olup, bu sayede sayede antifungal özelliklere sahiptir, ve sinamaldehit olan ana aktif bileşeni nedeniyle gıdalarda fungal gelişmesin önlenmesinde kullanılır (Maqbool vd., 2011). Aroması nedeniyle gıdalara ve içeceklere ilave edilmektedir (Duan vd., 2018). Birçok çalışma, tarçın (dalı) uçucu yağının ana bileşeni olan sinamaldehit'in güçlü antimikrobiyal ve antifungal aktivitelere sahip olduğunu tespit etmiştir (Murmu ve Mishra, 2018). Bu nedenle çürümeyi kontrol etmek ve meyvelerin tazeliğini süresini ve depolanma süresini uzatmak için kullanılmaktadır. Son yıllarda araştırmacılar, *Cinnamomum cassia*'nın uçucu yağının, *Penicillium italicum* ve *Penicillium digitatum*'un gelişmesi üzerindeki etkisini araştırılmaktadır (Wan vd., 2017). Sinamaldehit, turuncgil meyvelerinde uçucu yağın in vivo koruyucu etkisini etkili bir şekilde arttırabilir ve meyvenin hastalık direncini tetikleyebilir (Duan vd., 2018).

II. MATERYAL VE METOT

A. Materyal

Temiz, taze ve hasar görmemiş portakallar özenle marketten seçilerek satın alınmıştır. Kaplama malzemesi olarak çay, akasya bitkisi ve sebze kabuğu öğütülerek sorbitol ile karışım haline getirilmiştir.

Çalışmada kullanılan malzemeler sırasıyla, aktif maddeler olan timol, karvakrol, sinamaldehit ve Tween80. Timol İNTERLABSHOP bv Hollandadan, karvakrol ve sinamaldehit CHEM-LAB ANALİTİCAL bvba Belçikadan, Potato dextrose agar ise Labor Teknik Laboratuvar malzemeleri Türkiye firmasından temin edilmiştir.

B. Metot

1. Fungusların İzolasyonu

Çürükleri ve hasarları olmayan Portakallar (*Citrus sinensis*) marketten özenle seçilmiştir ve 1 ay boyunca oda sıcaklığında kapalı alanda küflenmeye bırakılmıştır. Küflenmiş portakalın (şekil 2) yüzeyinden aseptik koşullarda bek alevinin yanında steril bir öze yardımı ile örnek alınmış, potato dextrose agar (PDA) besiyerine sürme ekim yapılmış ve 5 gün boyunca 25°C’de inkübe edilmiştir. İzolatların saflaştırılması için bu işlem 2-3 kere tekrar edilmiştir (şekil 3). Küfler mikroskop altında incelenerek saflıkları kontrol edilmiş ve yatık agara alınarak buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Deneyle bu tüplerde üreyen saf kültürden steril bir öze ile alınarak (şekil 4) %0,1 Tween80 içeren peptonlu su içine karıştırılmıştır ve vortex’te homojen hale getirilerek uygun spor solüsyonu elde edilmiştir. Aşılama için kullanacak bu spor solüsyonundan dilüsyonlar hazırlanmış ve bu dilüsyonların sayısını belirlemek için bir mikropipet yardımı ile 100 µL alınarak petrilere aktarılmıştır. Bir drigalski spatülü alkole batırıp bek alevinde steril ettikten sonra yayma plak yöntemi ile

petrilere ekim yapılmıştır ve 5 gün boyunca 25°C'de inkübe edilmiştir. Portakalların aşılmasında yatık agarda 7 gün 25°C'de inkübe edilen saf kültürler kullanılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda koloniler sayılarak dilüsyondaki spor konsantrasyonu belirlenmiştir. Küf izolasyon sonunda iki bilinmeyen küf elde edilmiştir (şekil 5, 6) ve identifikasyon için ve moleküler yöntemde PCR ile identifiye edilmiştir.

Elde edilmiş küflerin petrilere sayılan koloniler aşağıda belirtilen denkleme göre hesaplanmıştır ve sonuçlar kob/ml x 10^x olarak belirtilmiştir.

$$\text{Petrideki koloni sayısı} \times \text{dilüsyon katsayısı} \times (1/\text{ekim (mL) 'si}) = \text{kob/ml (CFU/ml)}(1)$$



(a)



(b)

Şekil 2 Portakallarda küf üreme: (a) 307VER, (b) 203P.



(a)



(b)

Şekil 3 Küf geliştirilmesi: (a) 307VER, (b) 203P.



(a)

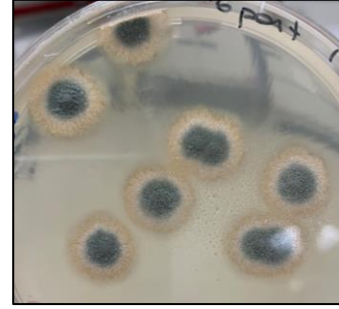


(b)

Şekil 4 Saflaştırma aşamaları: (a) 307VER, (b) 203P.



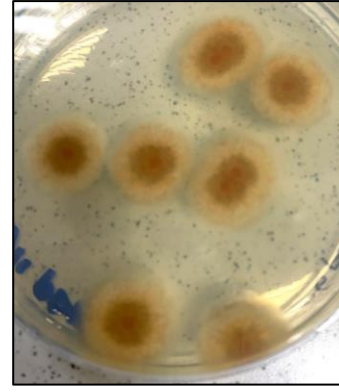
(a)



(b)



(c)



(d)

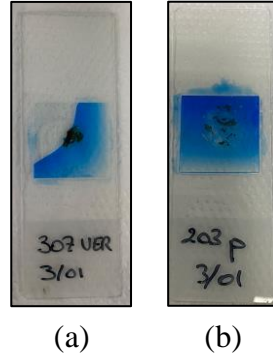
Şekil 5 Tek kolonilere düşürülmüş saf küf: a) ve (c) 307VER, (b) ve (d) 203P.



Şekil 6 PDA'da elde edilmiş saf kültürler: a) 307VER, b) 203P.

2. Mikroskopik İnceleme

Küfler saflaştırıldıktan sonra mikroskop altında 100x objektifi ile incelemeye alınmıştır. Küfler inceleme için laktofenol mavisi solüsyonu ile boyalanır. Şekil 7'de hazırlanmış küf preparatları gösterilmiştir. Şekil 8 ve 9 *T. rugulosus* 307VER küfün ve 10 ve 11 ise *P. italicum* 203P küfün mikroskop görüntüleri gösterilmiştir.

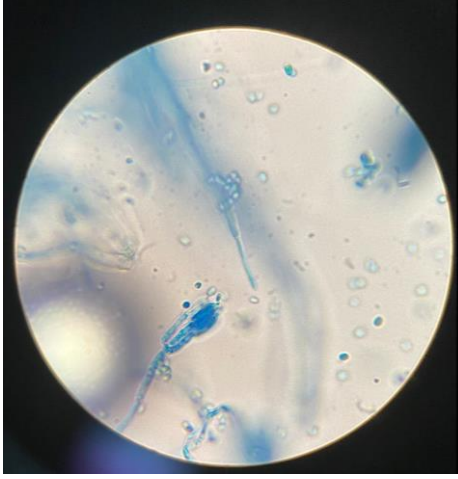


Şekil 7 Laktofenol mavisi solüsyonu ile boyanarak hazırlanmış preparatlar. (a) *T. rugulosus* 307VER küfü, (b) *P. italicum* 203P küfü.

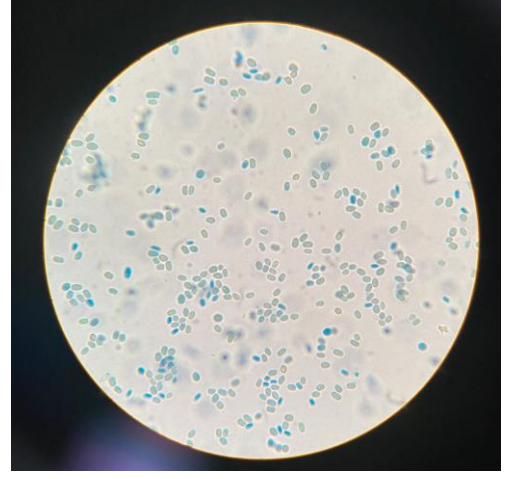
3. Fungusların İdentifikasyonu

Fungal DNA, Purelink Genomic DNA Mini kiti (Thermo Fisher Scientific, St. Louis, MO, ABD) kullanılarak ekstrakte edilmiştir. İzolatların dahili transkripsiyonlu ayırıcı (The internal transcribed spacer, ITS) bölgesi, Seri ve Metin'de (2021) açıklanan koşullar kullanılarak evrensel primerler ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') ve ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Glass ve Donaldson, 1995) ile amplifiye edilmiştir. PCR ürünleri, Megaquick Spin

Plus Parça DNA Saflaştırma Kiti (Intron Biotechnology, Seongnam, Kore) kullanılarak saflaştırılıp ve Sanger dizilemesine tabi tutulmuştur.



Şekil 8 *Talaromyces rugulosus* 307VER'in konidioforları ve konidiaları (Laktofenol mavisi solüsyonu ile boyanmış, x100'de büyütülmüş).



Şekil 9 *Talaromyces rugulosus* 307VER'in spor yapısı (Laktofenol mavisi solüsyonu ile boyanmış, x100'de büyütülmüş).



Şekil 10 *Penicillium italicum* 203P'nin Konidioforları, konidia başları ve hifler (Laktofenol mavisi solüsyonu ile boyanmış, x100'de büyütülmüş).



Şekil 11 *Penicillium italicum* 203P'nin Konidioforları ve konidia başları (Laktofenol mavisi solüsyonu ile boyanmış, x100'de büyütülmüş).

4. Antifungal Analiz

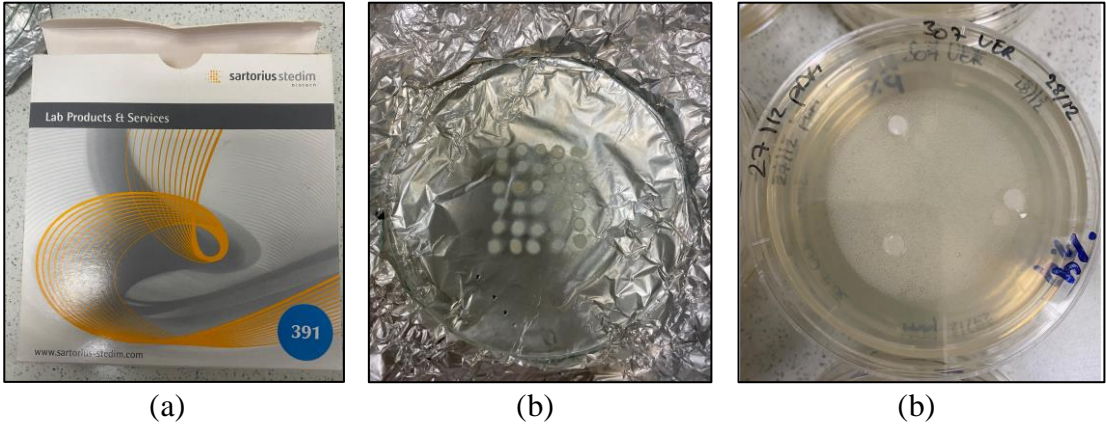
Bu deneylerde antifungal maddelerin küfler üzerindeki antifungal etkileri araştırılmıştır. Disk etrafındaki küfün üreme alanı gözlenmiştir. Antifungal maddelerin minimum etkili olan oranlarını öğrenmek için disk inhibisyon deneyleri yardımı ile minimum inhibitör konsantrasyonları (MİC) belirlenmiştir. Burada çıkan sonuçlar kaplama solüsyonlu çalışmalarında kullanılacak antifungal madde (AM) konsantrasyonlarını belirlemede kullanılmıştır.

a. Antifungal maddelerin (AM) minimum kullanılacak konsantrasyon oranların belirlenmesi

Çalışmada kullanılacak olan sinamaldehit, timol ve karvakrol antifungal maddeler (AM) disk inhibisyon deneyi için hazırlanmıştır. Sinamaldehit, timol ve karvakrol antifungal maddeler (AM) deney tüplerinde bulunan 9 ml distile suya konsantrasyonlarına göre eklenilmiştir. Emülgatör olarak %0,1 tween80 kullanılmıştır. Her bir AM için %2, %3, %4 ve %5 konsantrasyon içeren deney tüpleri hazırlanmıştır;

Timol katı madde olduğu için miligram olarak hassas terazide tartım yapılarak kullanılmıştır ve filtre kağıtdan oluşan diskler (D=6 mm) kullanılmıştır.

Minimum inhibe edici etkisi olan konsantrasyonları belirlemek için 3 farklı uygulama ile disk inhibisyon deneyi yapılmıştır. Birinci uygulamada petriler 7 gün boyunca inkübe edilmiş ve 7. gün sonunda inhibisyon alanı ölçülmüştür. İkinci uygulamada 3 diskin tam ortasına 10 µL spor solüsyonu aşılanmıştır. Kontroller için %0,1 Tween80 içeren distile su kullanılmıştır.



Şekil 12 (a) diskler için kullanılan filtre kağıtları, (b) Steril cam üzerinde farklı %AM ile inoküle edilmiş diskler (D = 6 mm), (c) Üçgen oranlarda PDA içeren petrilere yerleştirilmiş AM 'lı diskler.

5. Kaplamalar ile Çalışma

Sonuçlar inhibisyon oranlarına göre karşılaştırılmıştır ve böylece polisakkarit kaplamada kullanılacak en etkili konsantrasyonlar belirlenmiştir.

a. Kaplama solüsyonlarının inhibisyon alanlarının belirlenmesi

Deneysel aktif maddelerin küfler üzerindeki antifungal etki oranını belirlemek için disk inhibisyon deneylerinin yardımı ile minimum kullanılacak antifungal madde miktarları belirlenmiştir.

b. Kaplamaların hazırlanması

Kaplamada kullanılan malzemeler 2 çeşit bitkisel kabuk ve 1 çeşit siyah çay yaprağı örneğidir. Bu ürünler kullanımı için önceden ince şekilde öğütülmüşlerdir. Malzemelerden 3 farklı kaplama karışımı yapılmıştır.

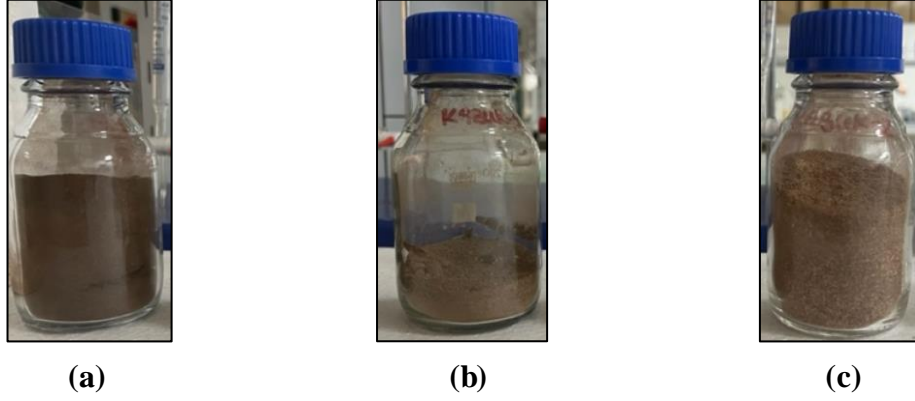
Bu karışımlar:

- Ç + K₁
- K₁ + K₂
- Ç + K₁ + K₂

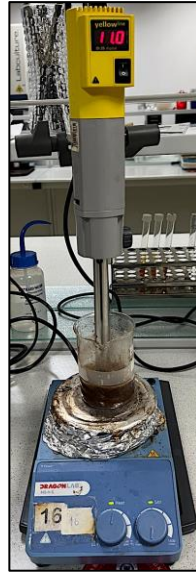
Burada çay yaprağı Ç₁, K₁ birinci bitkisel kabuk türü ve K₂ ikinci bitkisel kabuk türü olarak adlandırılmıştır.

Kaplamaların homojenleşmesi için bir karıştırıcı (Yellowline, Dİ 25 digital) 11000 rpm'de ve bir ısıtıcı (DragonLab MS-H-S) yardımı ile 170°C'de kullanılmıştır. Plastikleştirici olarak her kaplama solüsyonuna sorbitol eklenilmiştir.

Bu karışımlara seçilmiş antifungal maddelerin için seçilmiş antifungal maddelerin etkili konsantrasyonları olan %3, %4 ve %5 oranları kullanılmıştır. Kontrol olarak %0,1 tween80 kullanılmıştır.



Şekil 13 (a) İnce tanelere öğütülmüş çay yaprakları Ç, (b) akasya bitki kabukları K ve (c) sebze kabukları K₂.

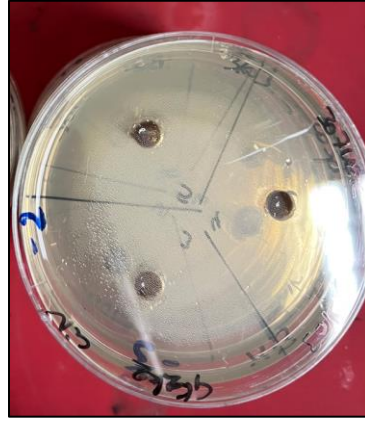


Şekil 14 Kaplama solüsyonunun karıştırıcı ve ısıtıcı yardımı ile homojenleştirilmesi.

Agar kuyu (well) difüzyon yöntemi, disk difüzyon yöntemine benzer olup, bu yöntem yaygın olarak bitkiler üzerinde veya mikrobiyal ekstraktların antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Mikrobiyal inokulumun tüm agar yüzeyine yayılması sağlanır. Daha sonra, steril bir delici ile 6 ila 8 mm çapında bir

kuyu açılır ve kuyuya istenen antimikrobiyal madde veya özüt çözeltisi 20-100 mL'lik hacim aralığında doldurulur. Bu agar plakaları, analiz edilen mikroorganizmaya bağlı olarak uygun koşullar altında inkübe edilir ve Antimikrobiyal ajanın etkileri gözlemlenir (Balouiri vd., 2015).

Potato dextrose agar'lı petrilere, her fungus için 10^{-7} 'e kadar hazırlanmış spor dilüsyonlarından $100 \mu\text{L}$ kullanılarak yayma plak yapılmış ve 10 dakika kurutmaya bırakılmıştır. Daha sonra, steril bir kuyu delici ile 3 adet 6 mm çapında üç kuyucuk delinmiş ve bu üç kuyunun herbirine farklı AM konsantrasyon içeren $50 \mu\text{L}$ kaplama solüsyonu ilave edilmiştir. Petrilere 5 gün boyunca 25°C sıcaklıkta inkübe edilmiş ve her 24 saatte bir inhibisyon alanları ölçülmüştür. Bu deney her 3 kaplama için yapılmıştır.



Şekil 15 Ç+K₁+K₂ Kapsama solüsyonu ile doldurulmuş kuyular.

6. In Vitro Analizler

Bu deneyde portakal küfü olmayan ve portakallarda gelişmeyen *Talaromyces rugulosus* küfü kullanılmamıştır. Deney, portakallarda gelişen *Penicillium italicum* küfü ile devam edilmiştir.

Deney için 3 farklı kaplama hazırlanmıştır. Deney için seçilen sağlam portakallar %2 NaClO'lu distile su içine 1 dakika boyunca daldırılıp dezenfekte edilmiştir. Sonra steril saf su ile durulanmıştır.



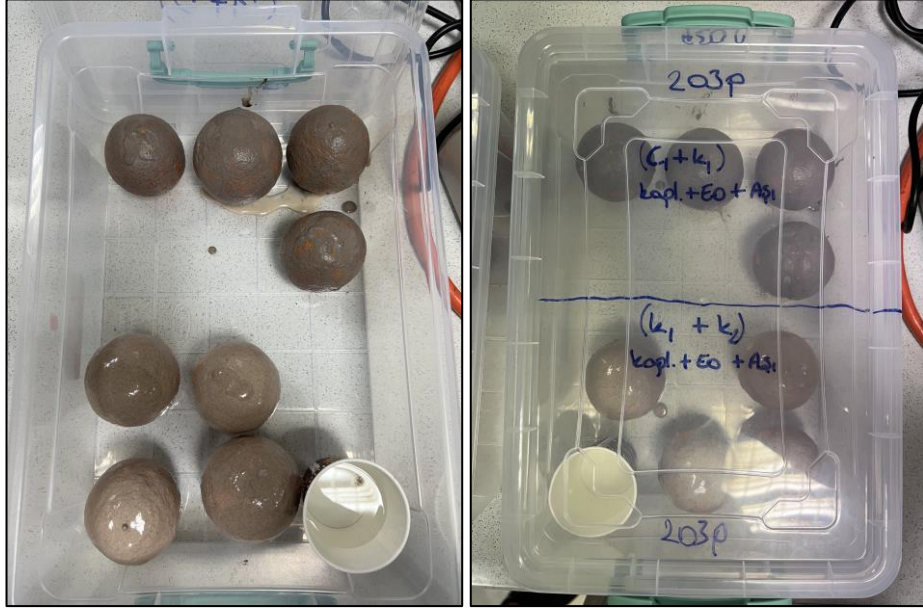
Şekil 16 %2 NaClO ile dezenfekte edilen portakallar.

Kontrol portakallar dışında her bir portakal karşılıklı dört noktadan steril bir iğneli enjektör ile $10\mu\text{L}$ *P. italicum* küfünden oluşan spor solüsyonu ile aşılanmış ve steril kapaklı kutulara konup 24 saat boyunca aşı yüzeyinde kalan spor solüsyonunun kuruması sağlanmıştır.



Şekil 17 Steril küf aşılama alanı.

24 Saat sonra portakallar daldırma metodu ile tümünden kaplanmış, her bir kaplama analizi için 2 paralel yapılmıştır. %3, %4 ve %5 konsantrasyon antifungal maddeler içeren kaplamalar kullanılmıştır. 25°C 'de %90 nem ortamında inkübe edilmiştir.



Şekil 18 Sinamaldehyitli kaplama solüsyonu ile kaplanmış portakalların steril kutuya yerleştirilmesi.



Şekil 19 İnkübatöre yerleştirilmiş kutular.

Küf gelişiminin gözlemlenmesi ve mikrobiyolojik analizi için örnek alınması 48.ve 120 saat sonunda yapılmıştır. Aşılana dört noktaya bakılır ve küf gelişiminde önlenme olup olmadığı incelenmiştir.

III. BULGULAR VE TARTIŞMA

A. Küf İdentifikasyonu ve Antifungal Çalışmalar

Küfler moleküler yöntem (PCR) ile identifiye edilmiştir ve bunlardan birisi *Penicillium italicum* 203P (accession number MW 162410.1) ve diğer küf ise *Talaromyces rugulosus* 307VER (accession number KF 196860.1) olarak adlandırılmıştır. Yatık agarda 7 gün 25°C de inkübe edilen küf izolatları (her bir tüpe 3 mL olacak şekilde) üzerine peptonlu su ilave edilerek seyreltilmiştir. Hazırlanan dilüsyonlar PDA agara ekim yapılarak aşılacak spor süspansiyonundaki spor sayıları belirlenmiştir. Buna göre *P. italicum* 203P koloni sayısı 7×10^7 CFU/mL ve *T. rugulosus* 307VER sayısı 4×10^6 CFU/mL olarak belirlenmiştir. Antifungal çalışmalarda 2 farklı uygulama yapılmış olup, bu spor süspansiyonları kullanılmıştır. Antifungal maddeler olarak kullanılan sinamaldehit, karvakrol ve timol tween 80 içeren saf su ile %2, 3, 4 ve 5 konsantrasyonlarında hazırlanmıştır. Birinci uygulamada disk difüzyon yöntemi kullanılarak MIC değerleri belirlenmiştir. Bu uygulamada 3 disk kullanılmıştır. Şekil 20' de sinamaldehit, karvakrol ve timolün *T. rugulosus* 307VER küfüne karşı antifungal etkileri gösterilmiştir. Çizelge 3'te *T. rugulosus* küfü için yapılan 7. gün çap ölçümlerin değerleri gösterilmiştir. İkinci uygulamada ise petri kutusunun merkezine tek koloni aşılansmış olup eşit uzaklıkta 3 farklı konsantrasyonda aşılama yapılmıştır.

T. rugulosus küfüne karşı sinamaldehitin %2 ve 3'lük konsantrasyonu zayıf bir antifungal etki gösterirken, % 4 ve 5 konsantrasyonunun küf gelişmesini tamamen önlediği belirlenmiştir (Şekil 20 A ve B). Buna karşın karvakrol (Şekil 20 E ve D) ve timolün (Şekil 20 E ve F) küfü önlemede zayıf bir etki gösterdiği belirlenmiştir. Her iki madde için %4 ve 5 konsantrasyonlar %2 ve 3' e göre daha etkili olmuştur (Çizelge 3).

Şekil 21' de sinamaldehit, karvakrol ve timolün *P. italicum* 203P küfüne karşı antifungal etkileri gösterilmiştir. Çizelge 4'de *P. italicum* küfü için yapılan 7. gün çap ölçümlerin değerleri gösterilmiştir. Burada üçlü örneklerin ortalaması (\pm SD) olup yağlar arasındaki oranların farklarına bakılmıştır.

P. italicum küfüne karşı sinemaldehitin %2'lik konsantrasyonu zayıf bir antifungal etki gösterirken, %3, 4 ve 5 konsantrasyonunun küf gelişmesini önlediği belirlenmiştir (Şekil 21 A ve B). Buna karşın karvakrol (Şekil 21 E ve D) %2 ve timolün %2 ve 3 konsantrasyonları (Şekil 21 E ve F) küf önlemede zayıf bir etki gösterdiği belirlenmiştir. Her iki madde için %4 ve 5 konsantrasyonlar %2 ve 3'e göre daha etkili olmuş, ancak küf gelişmesini tamamen önleyememiştir. (Çizelge 4).

Petri kutusunun merkezine yapılan aşılama uygulamasında sinemaldehitin %2, 3, 4 ve 5 konsantrasyonları *T. rugulosus* küfüne karşı (Şekil 23) ve *P. italicum* (Şekil 25) küfüne karşı kullanılmıştır. Birinci uygulamaya benzer şekilde %2 ve 3'lük sinemaldehit konsantrasyonu *T. rugulosus* küfüne karşı zayıf bir antifungal etki gösterirken, %4 ve 5 konsantrasyonunun küf gelişmesini tamamen önlediği belirlenmiştir. *P. italicum* küfünde ise %5 sinemaldehit konsantrasyonu küf gelişmesini tamamen önlemiş, karvakrol ve timol ise etkisiz kalmıştır (Şekil 25).

Sinemaldehit antifungal maddesi ile in vitro analiz çalışması yapmış olan Duan vd., (2018), 0.13, 0.25, 0.50, 1.00 ve 2.00 mL/L konsantrasyonu kullanımında miselyum gelişmesini azalttığı görülmüştür. 120. Saat ölçüm analizinde 0.50, 1.00 ve 2.00 mL/L Antifungal içeren petride küf gelişmesinin tümünden inhibe ettiği gözlenmiştir, ve bu çalışmada MİC ve MFC değerleri 0.50 mL/L olarak tanımlanmıştır.

Karvakrol ve timol antifungal maddeleri üzerinde yapılan bir çalışmada *P. digitatum* ve *P. italicum* küfüne karşı inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Burada disk inhibisyon uygulamasında kullanılan en yüksek konsantrasyon 50 µL/L *P. italicum*'a karşı etkileri *P. digitatum* küfüne karşı olan etkilerden daha fazladır. *P. digitatum* küfün gelişme oranlarının azaltılması sırasıyla timol ve karvakrol için sırasıyla %44 ve %29, *P. italicum* için ise %52 ve %37 olduğu gözlenmiştir. Çalışmada Timol antifungal maddesinin karvakrolden daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Pérez-Alfonso vd., 2012).

Abbaszadeh vd., (2014)'nin bir çalışmasında farklı gıda üzerinde gelişen küfler üzerinde minimum inhibitör konsantrasyon (MİC) ve minimum fungisidal konsantrasyonunu araştırmak için micro-plate uygulamasını kullanmıştır. Burada 100 ve 600 µL/mL aralıklarında timol ve 25 ve 500 µL/mL aralıklarında karvakrol konsantrasyonlarına bakılmıştır. Sonuçlar farklı küfler için timol antifungal

maddesinin ortalama MİC değerinin 263,3 $\mu\text{L}/\text{mL}$ olduğu ve genel olarak 100-500 $\mu\text{L}/\text{mL}$ olduğu gözlenmiştir. Karvakrol'un ortalama MİC değerinin 154,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ olduğu ve 50-350 $\mu\text{L}/\text{mL}$ konsantrasyon kullanımında yüksek ölçüde fungusidal aktivite gösterdiği gözlenmiştir ($P < 0,05$). Her iki antifungal maddesinde in vitro çalışamsında toksik etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Çizelge 3'te *T. rugulosus* 307VER küfü üzerine sinamaldehit oranları arasında istatiki olarak bir fark bulunmamıştır. Ancak oran arttıkaça çap artmıştır. 307VER küfü üzerine timol oranları arasında istatiki olarak bir fark vardır. Oran arttıkaça çap artmıştır. Özellikle %2 (4.67 ± 4.16^c) ve %5 (20.00 ± 2.00^a) arasında. 307VER küfü üzerine karvakrol oranları arasında istatiki olarak %2 (2.33 ± 0.58^c) ve %3 (4.67 ± 1.16^c) arasında fark yoktur. Geri kalan oranlar arasında istatikselsel oranda fark bulunmuştur ($P<0,05$). Ama oran arttıkaça çap artmıştır.

Çizelge 4'de *P. italicum* 203P küfü için sinamaldehit ve timol antifungal maddelerin %3'lük seviyesi en düşük antifungal aktiviteyi göstermiştir. Karvakrol antifungal maddesinde oran arttıkaça çap artmıştır ve oranlar arasında istatiki olarak fark bulunmamıştır ($P<0,05$).

Burada küfler arasında kıyasla antifungallerin istatikselsel değerlerinin inhibisyon çap oranlarının karşılaştırılmasında en yüksek olanlar sırasıyla sinamaldehit, timol ve karvakrol olduğu bulunmuştur. *T. rugulosus* 307VER küfü üzerine %5 ($2,50\pm 0,87^a$) sinamaldehit kullanımında en yüksek çapın olduğu görülmüştür. Aynı şekilde *P. italicum* 203P küfüne karşı kullanılan sinamaldehit antifungal maddesi %5 (50.0 ± 17.3^a) oranının verimli etkisi olduğu görülmüştür. Sonuç olarak burada her antifungal için %2 oranlarının kullanımında en düşük değer olduğu bulunmuştur.

B. Kaplama ile Yapılan İn Vitro Çalışmalar

1. Kaplama K_1+K_2 ile Yapılan Çalışmalara ait Bulgular

Antifungal maddeler kaplama çözeltilisine %3, 4 ve 5 konsantrasyonlarında ilave edilerek kuyu difüzyon yöntemi ile antifungal etki incelenmiştir. *T. rugulosus* küfüne karşı (şekil 26) Sinamaldehitin %4 ve 5 konsantrasyonu %3 e göre daha etkilidir. Karvakrol ve timolde bir miktar antifungal etki göstermiştir. Ancak bu

etkinin zayıf olduğu görülmüştür. Her 3 antifungal maddenin etkisi küf sayısı azaldıkça artmıştır.

T. rugulosus'a benzer şekilde *P. italicum* küfüne karşı (Şekil 27) sinemaldehitin %4 ve 5 konsantrasyonu %3 e göre daha etkilidir. Karvakrol ve timolde bir miktar antifungal etki göstermiştir. Ancak bu etkinin zayıf olduğu görülmüştür. Her 3 antifungal maddenin etkisi küf sayısı azaldıkça artmıştır.

2. Kaplama Ç+K₁ ile Yapılan Çalışmalara ait Bulgular

Bu kaplama malzemesinde K₁+K₂ kaplama ile benzer antifungal etki gözlenmiştir (Şekil 27).

K₂ malzemesi, Ç ile birlikte kullanıldığında istenilen kaplama özelliği belirlenememiştir. Başka bir ifade ile K₁ olmadan K₂ malzemesi ile istenilen yapı elde edilememiştir.

3. Kaplama Ç+K₁+K₂ ile Yapılan Çalışmalara ait Bulgular

Bu kaplama malzemesinde de diğer 2 kaplamaya benzer antifungal etkiler belirlenmiştir (Şekil 27).

4. Kaplamalar ile Yapılan İnhibisyon Alanlarının Çap Ölçümlerine ait Bulgular

Çizelge 5'de *T. rugulosus* küfü için yapılan 96. saatlerin çap ölçümlerin değerleri gösterilmiştir. Çizelge 6'da ise *P. italicum* küfü için yapılan 96. saatlerin çap ölçümlerin değerleri gösterilmiştir. Burada ikili örneklerin ortalamaları (\pm SD) olup kaplamalarla birlikte kullanılan antifungallerin arasındaki oranların farklarına bakılmıştır.

Çizelge 5'de *T. rugulosus* 307VER küfü üzerinde Ç+K₁ ile sinemaldehit formülasyonunda %3 (2.00 \pm 0.00^c), %4 (8.00 \pm 1.41^b) ve %5 (12.50 \pm 0.71^a) oranlarının birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Karvakrol formülasyonlarında %3 (0,00 \pm 0,00^c), %4 (0.10 \pm 0.00^b) ve %5 (0.40 \pm 0.00^a) oranlarının aralarında istatistiksel olarak fark olduğu görülmüştür (P<0,05). Ç+K₁+K₂ ile sinemaldehit %4 (11.00 \pm 1.41^a) ve %5 (13.00 \pm 1.41^a) oranları arasında bir fark olmadığı fakat %3 (2.50 \pm 0.71^b) oran aralarında istatiki fark olduğu bulunmuştur. Karvakrol formülasyonlarında ise %3 (0.00 \pm 0.00^b) ve %4 (0.75 \pm 0.35^b) oranları arasında bir

fark olmadığı fakat %5 (2.00 ± 0.00^a) oran aralarında istatiki fark olduğu bulunmuştur. K_1+K_2 ile timol ve karvakrol kullanımında ve $\text{Ç}+K_1$ ile timol formülasyonlarında istatiki olarak fark olduğu görülmemiştir. Ama oranlar arttıkça çap oranlarında arttığı görülmüştür.

Çizelge 6'da *P. italicum* küfü 203P için K_1+K_2 ile sinamaldehit ,timol %3 (0.50 ± 0.14^c), %4'de (1.00 ± 0.00^b) ve %5 (1.60 ± 0.00^a) oranların ve karvakrol %3 (0.10 ± 0.14^b), %4'de (0.80 ± 0.28^{ab}) ve %5 (1.30 ± 0.14^a) oranların birbirinden istatikselsel farklı olduğu bulunmuştur. $\text{Ç}+K_1$ ile timol için %3 (0.50 ± 0.42^b), %4 (1.90 ± 0.14^{ab}) ve %5 (3.50 ± 0.71^a) oranlarının birbirinden istatikselsel farklı olduğu bulunmuştur. Karvakrol ile formülasyonlarında ise %3 (0.10 ± 0.14^b) ve %4 (1.50 ± 0.71^b) arası istatiki bir fark olmadığı fakat %5 (4.00 ± 0.00^a) oranı ile istatikselsel farklı oldukları bulunmuştur. $\text{Ç}+K_1+K_2$ ile timol ve karvakrol kullanımında oranlarının birbirinden farklı olduğu gözlenmiştir. %3 (1.00 ± 0.00^b) ve %4'ün (3.00 ± 0.00^b) arasında istatiki fark olmadığı fakat %5'le (10.00 ± 2.83^a) sinamaldehit oranlarının aralarında ise istatikselsel olarak fark olduğu görülmüştür. Oranlar arttıkça çap oranlarında arttığı görülmüştür ($P < 0,05$).

Çizelge 5 ve 6'da *Talaromyces rugulosus* 307VER ve *P. italicum* 203P küfleri için yapılan 96. saatlerin değerlerine göre antifungal maddelerin kaplama formülasyonlarına dahil edildiklerindeki antifungal aktivitesi, kendi antifungal aktivitelerinden daha düşük bulunmuştur. *T. rugulosus* küfüne karşı kullanılan sinamaldehit antifungal ile $\text{Ç}+K_1$ ve $\text{Ç}+K_1+K_2$ formülasyonlarında K_1+K_2 'ye göre daha yüksek değerler elde edildiği görülmüştür. En yüksek veriler %5 sinamaldehit kullanımında bulunmuştur. *Penicillium italicum* 203P küfü için değerler yine timol ve karvakrol ile çay (Ç) örneği içeren formülasyonlarda alan değerlerinin kıyasla K_1+K_2 değerlerine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. K_1+K_2 ile sinamaldehit formülasyonları en yüksek değerler göstermektedir. Her iki durumda da antifungal maddeler *T. rugulosus* 307VER küfüne karşı *P. italicum* 203P küfüne kıyasla daha yüksek antifungal aktivite gösterdiği görülmüştür.

C. Kaplama ile Yapılan İn Vivo Çalışmalar

1. Portakal Meyveleri ile Yapılan İn Vivo Çalışmalar

Taloromyces rugulosus küfü portakalda üremediği için çalışmaya *P. italicum* ile devam edilmiştir.

Portakallar aşılandıktan sonra 48 saat ve 120 saat inkübe edilmiştir. Denemelerin hiçbirisinde 48 saat sonra küf gelişmesine rastlanmamıştır. Küf gelişmesi 120 saat sonra belirlenmiştir.

Şekil 28, 29 ve 30'da antifungaller içeren kaplama formülasyonları ile kaplanmış portakalların *P. italicum* küfüne karşı antifungal etkileri gösterilmiştir.

K₁+K₂ kaplaması ile sinamaldehit %3'te küf gelişmesi belirlenmişken, %4 ve %5 konsantrasyonlarda küf gelişmesi belirlenmemiştir.

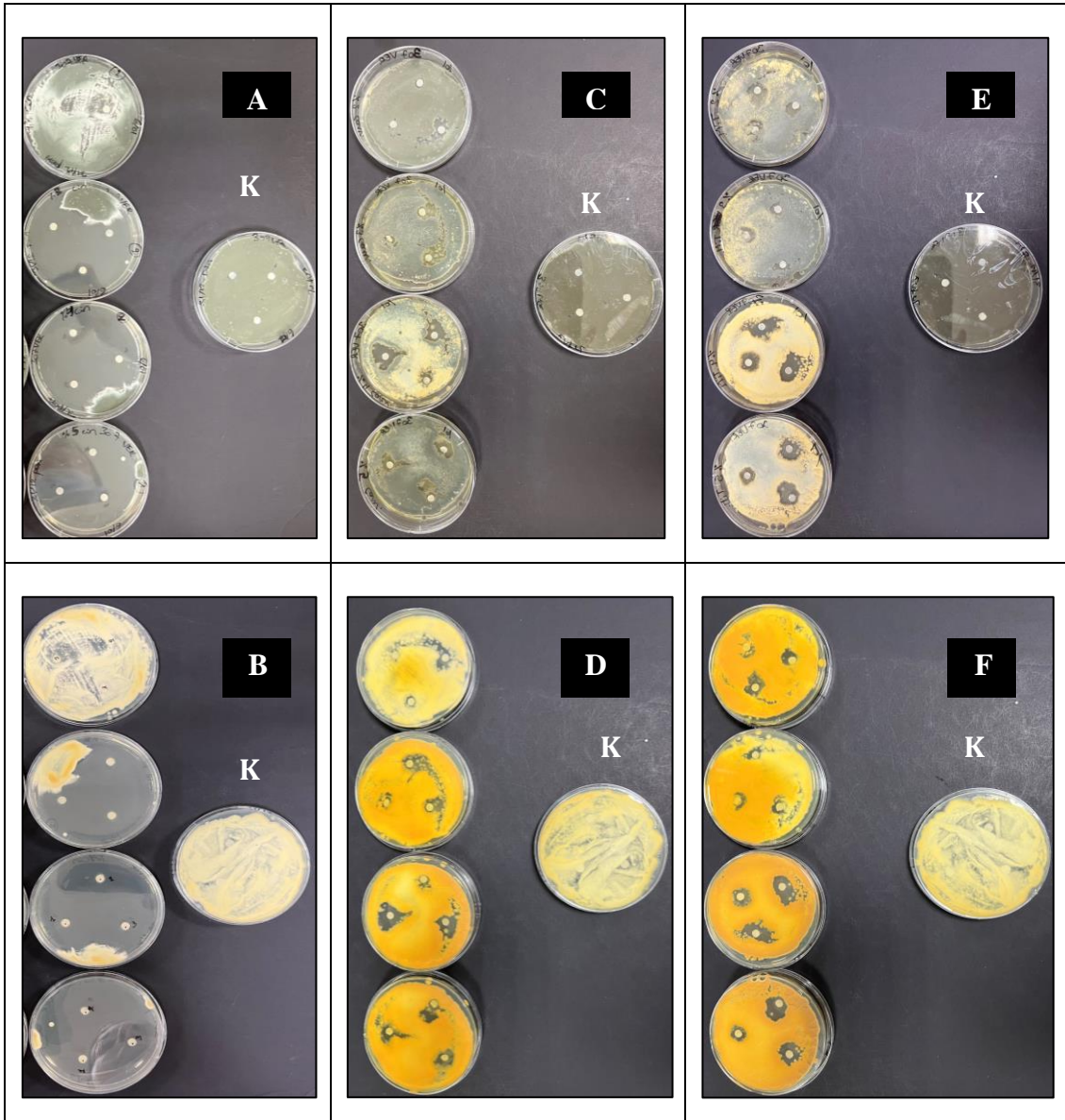
Duan vd., (2021)'nin bir çalışmasında portakal üzerinde yapılan sinamaldehit içerikli mum kaplama uygulamasında portakal küfölen *Penicillium digitatum*'a karşı etkisi araştırılmıştır. Burada farklı kaplama kullanımında tüm kaplamalarda 2100 mg Sinamaldehit /L mum kaplaması kullanımında düşük veya hiç etki göstermediği ve 5250 mg sinamaldehit / L mum kaplamasının kullanımında küf insidansını 5. Ve 9. Günler için %70 orana düşürdüğü görülmüştür. Bulgulara göre 5250 mg sinamaldehit / L mum kaplaması, *P. digitatum*'a karşı direnç oluşturduğu sonucuna varılmıştır.

Timolde %3 ve %4 de küf gelişmesi belirlenirken %5 konsantrasyonda küf gelişmesi gözlenmemiştir. Timolün antifungal etkisi tek başına ve kaplama malzemesi ile birlikte zayıf iken portakal üzerinde daha kuvvetli bir etki gözlenmiştir. Karvakrolde %3 ve %4 konsantrasyonda üreme varken, %5 te üreme gözlenmemiştir.

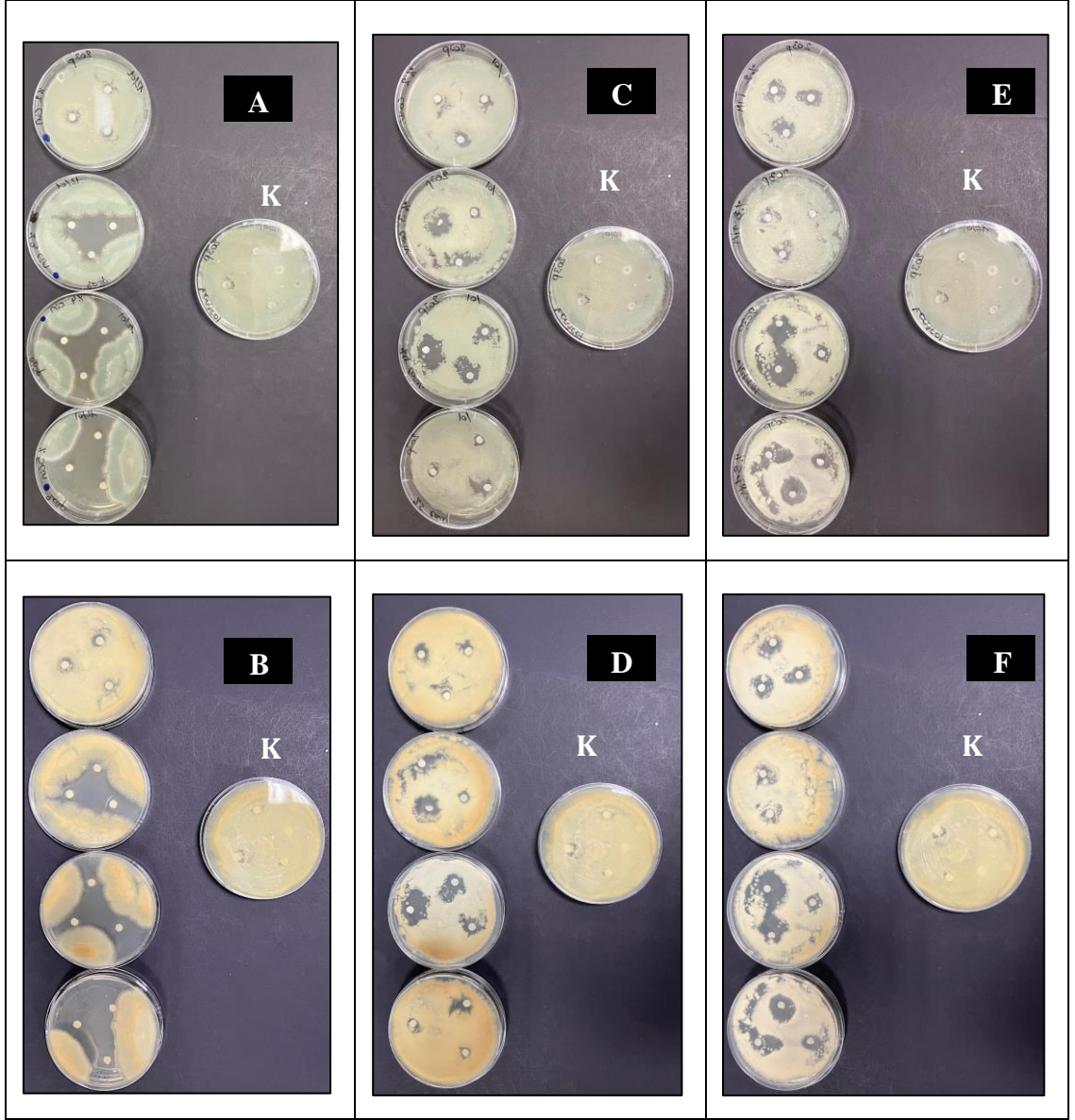
Başka bir in vivo analiz çalışmasında ise limon meyveleri üzerinde uygulanan saf karvakrol ve timol antifungal maddelerinin mum karışımı kaplamalar ile birlikte *P. digitatum* ve *P. italicum* küflerine karşı etkileri araştırılmıştır. Limonlara aşılınmış bu küfler en düşük konsantrasyon 250 µL/L Timol ve 500 µL/L karvakrol kullanımında limon yüzeyinde fungal miselyum gelişimini tamamen engellediği görülmüştür. Kullanılan antifungal maddelerin saf olması ve mumlu kaplamayla birlikte kullanımı, maddelerinin uçuculuğunun

engellenmesi nedeniyle limon yüzeyinin üzerinde uzun süre etki sağlayabileceğine sonucuna varılmıştır (Pérez-Alfonso vd., 2012).

Ç+K₁ kaplaması ve Ç+K₁+K₂' de sinemaldehit, timol ve karvakrolde de K₁+K₂ kaplamaya benzer antifungal etkiler gözlenmiştir. Ancak, diğer kaplamalarda portakal üzerinde küf kolonileri çok küçük iken bu kaplamada daha büyük küf kolonileri gözlenmiştir. Çalışmada elde edilen bulgular kaplama malzemesinin küf gelişmesini etkilemediğini göstermiştir.



Şekil 20 Disk Difüzyon Uygulaması ile *Talaromyces rugulosus* 307VER küfüne karşı sinemaldehit' in antifungal etkisi (A üstten ve B petrinin tersinden görünüş); karvakrol'ün antifungal etkisi (C üstten ve D petrinin tersinden görünüş); timol'ün antifungal etkisi (E üstten ve F petrinin tersinden görünüş), K: Kontrol.



Şekil 21 Disk Difüzyon Uygulaması ile *Penicillium italicum* 203P küfüne karşı sinamaldehyd' in antifungal etkisi (A üstten ve B petrinin tersinden görünüş); karvakro'lün antifungal etkisi (C üstten ve D petrinin tersinden görünüş); timol'ün antifungal etkisi (E üstten ve F petrinin tersinden görünüş), K: Kontrol.

Çizelge 3 *T. rugulosus* 307VER küfü için 7. Gün Maksimum İnhibisyon Alanlarının Çap Ölçümleri

İnhibisyon alanın çapı (mm)			
Oran (%)	CİN	TİM	CARV
2	1.00±1.73 ^a	4.67±4.16 ^c	2.33±0.58 ^c
3	31.30±25.8 ^a	11.67±1.53 ^b	4.67±1.16 ^c
4	33.30±23.2 ^a	15.67±0.58 ^{ab}	9.33±1.16 ^b
5	50.00±17.3 ^a	20.00±2.00 ^a	12.67±1.53 ^a

Değerler, üçlü örneklerin ortalamalarıdır (±SD.). ^{a-c}, aynı sütunda farklı harflere işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

Çizelge 4 *P. italicum* 203P küfü için 7.Gün Maksimum İnhibisyon Alanlarının Çap Ölçümleri

İnhibisyon alanın çapı (mm)			
Oran (%)	SİN	TİM	KARV
2	9.00±2.65 ^b	11.33±2.08 ^a	5.00±1.00 ^a
3	5.33±5.03 ^{ab}	6.00±2.65 ^a	9.00±3.00 ^a
4	10.00±2.00 ^{ab}	15.00±8.72 ^a	12.33±3.21 ^a
5	20.67±8.08 ^a	18.67±3.21 ^a	9.00±7.00 ^a

Değerler, üçlü örneklerin ortalamalarıdır (±SD.). ^{a-b}, aynı sütunda farklı harflere işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

Çizelge 5 *T. rugulosus* 307VER Küfü için 96. Saatlerin Maksimum İnhibisyon Alanlarının Çap Ölçümleri

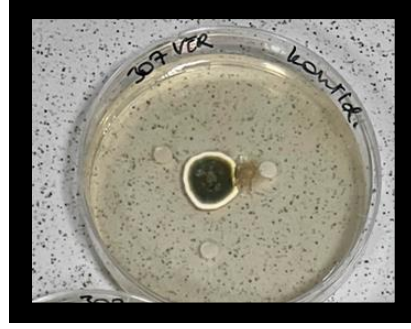
Oran (%)	İnhibisyon alanın çapı (mm)								
	K1 + K2			Ç + K1			Ç + K1 + K2		
	SİN (96h)	TİM (96h)	KARV (96h)	SİN (96h)	TİM (96h)	KARV (96h)	SİN (96h)	TİM (96h)	KARV (96h)
3	8.00±2.83 ^a	2.50±2.12 ^a	0.50±0.71 ^a	2.00±0.00 ^c	0.50±0.00 ^a	0.00±0.00 ^c	2.50±0.71 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b
4	10.00±2.83 ^a	3.50±2.12 ^a	1.00±1.41 ^a	8.00±1.41 ^b	1.00±1.41 ^a	0.10±0.00 ^b	11.00±1.41 ^a	0.08±0.11 ^a	0.75±0.35 ^b
5	12.00±2.83 ^a	6.00±0.00 ^a	1.50±0.71 ^a	12.50±0.71 ^a	2.00±2.83 ^a	0.40±0.00 ^a	13.00±1.41 ^a	0.20±0.00 ^a	2.00±0.00 ^a

Değerler, ikili örneklerin ortalamalarıdır (\pm SD.). ^{a-c}, aynı sütunda farklı harflere işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

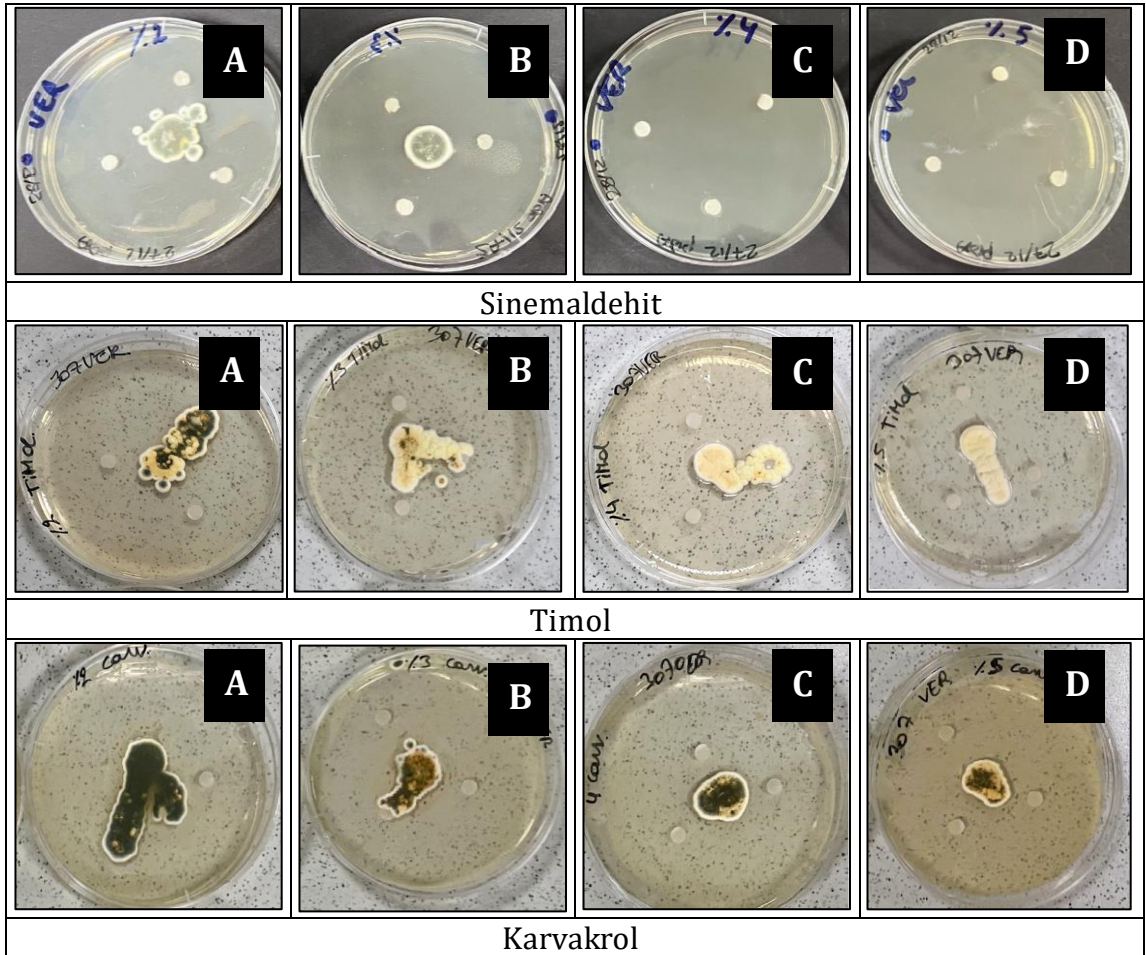
Çizelge 6 *P. italicum* 203P küfü için 96. Saatlerin Maksimum İnhibisyon Alanlarının Çap Ölçümleri

Oran (%)	İnhibisyon alanın çapı (mm)								
	K1 + K2			Ç + K1			Ç + K1 + K2		
	CİN (96h)	TİM (96h)	CARV (96h)	CİN (96h)	TİM (96h)	CARV (96h)	CİN (96h)	TİM (96h)	CARV (96h)
3	1.00±0.00 ^b	0.50±0.14 ^c	0.10±0.141 ^b	2.50±0.71 ^a	0.50±0.42 ^b	0.00±0.00 ^b	1.00±0.00 ^b	0.70±0.14 ^c	1.00±0.00 ^c
4	7.00±1.41 ^{ab}	1.00±0.00 ^b	0.80±0.283 ^{ab}	5.00±1.41 ^a	1.90±0.14 ^{ab}	1.50±0.71 ^b	3.00±0.00 ^b	1.30±0.14 ^b	1.50±0.14 ^b
5	11.00±2.83 ^a	1.60±0.00 ^a	1.30±0.141 ^a	7.00±1.41 ^a	3.50±0.71 ^a	4.00±0.00 ^a	10.00±2.83 ^a	1.90±0.14 ^a	2.00±0.00 ^a

Değerler, ikili örneklerin ortalamalarıdır (\pm SD.). ^{a-c}, aynı sütunda farklı harflere işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).



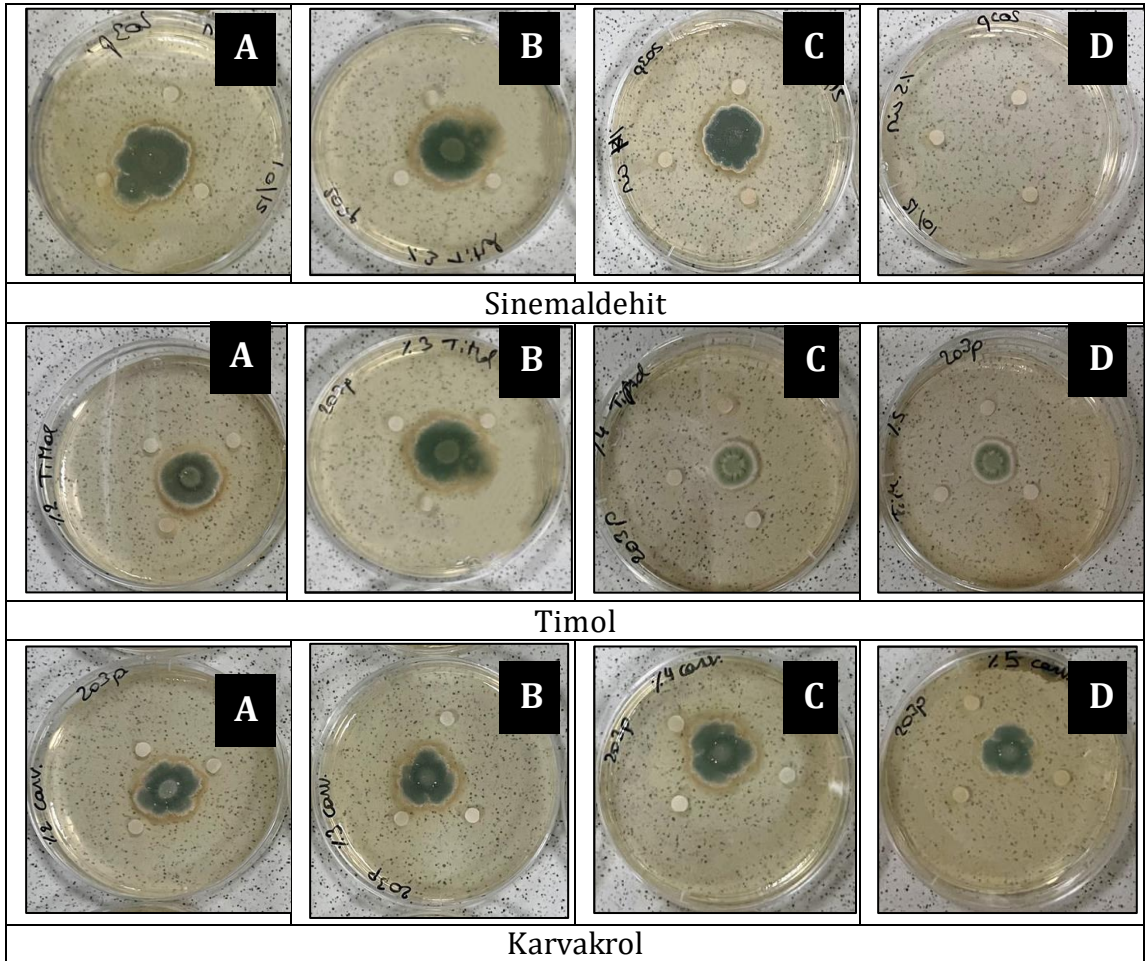
Şekil 22 Ortaya Aşılama Uygulamasının ile *T. rugulosus* 307VER kontrolü.



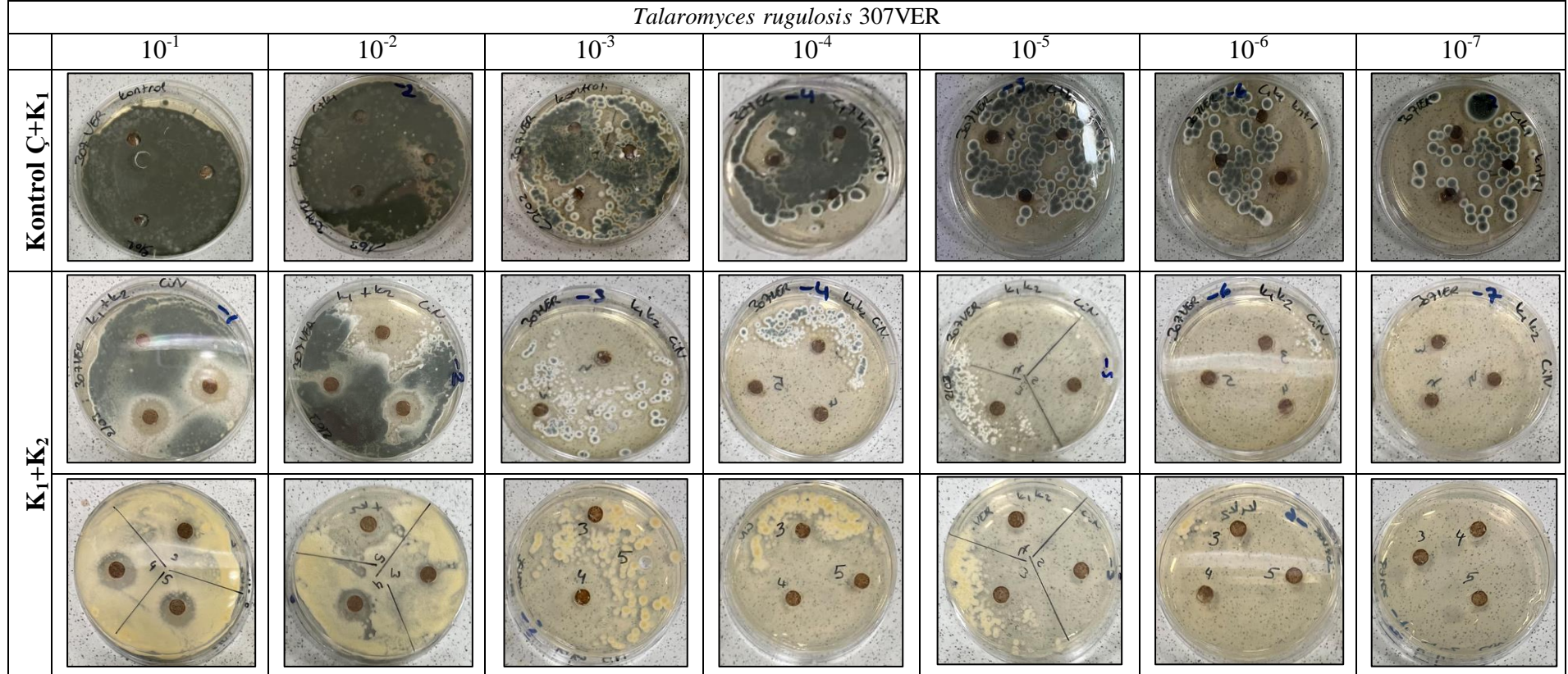
Şekil 23 Ortaya Aşılama Uygulaması ile *T. rugulosus* 307VER küfüne karşı sinemaldehyt, timol ve karvakrol'ün antifungal etkisi (A %2, B %3, C %4 ve D %5).



Şekil 24 Ortaya aşılama uygulaması ile *P. italicum* 203P kontrolü.

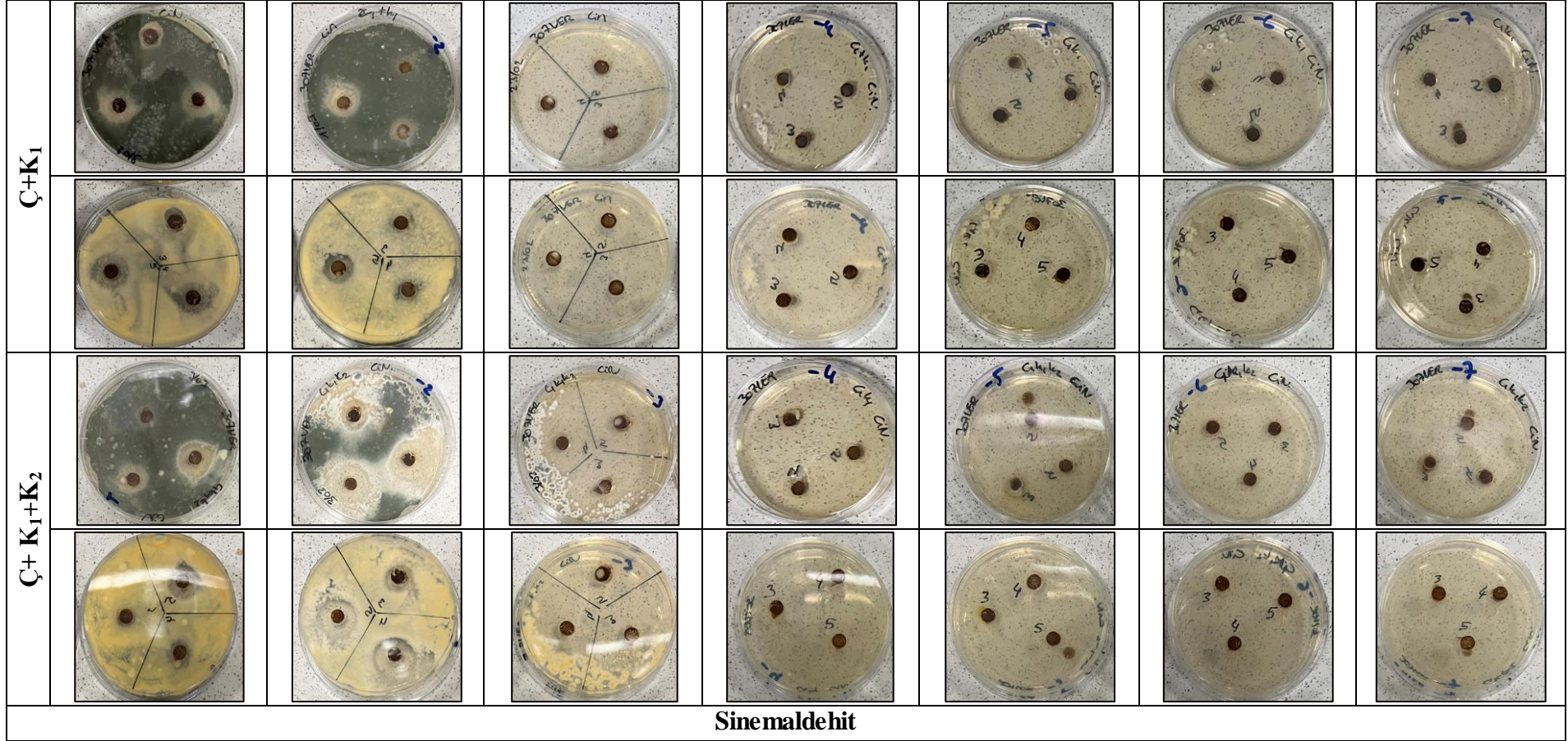


Şekil 25 Ortaya aşılama uygulaması ile *P. italicum* 203P küfüne karşı sinamaldehyt, karvakrol ve timol'ün antifungal etkisi (A %2, B %3, C %4 ve D %5).



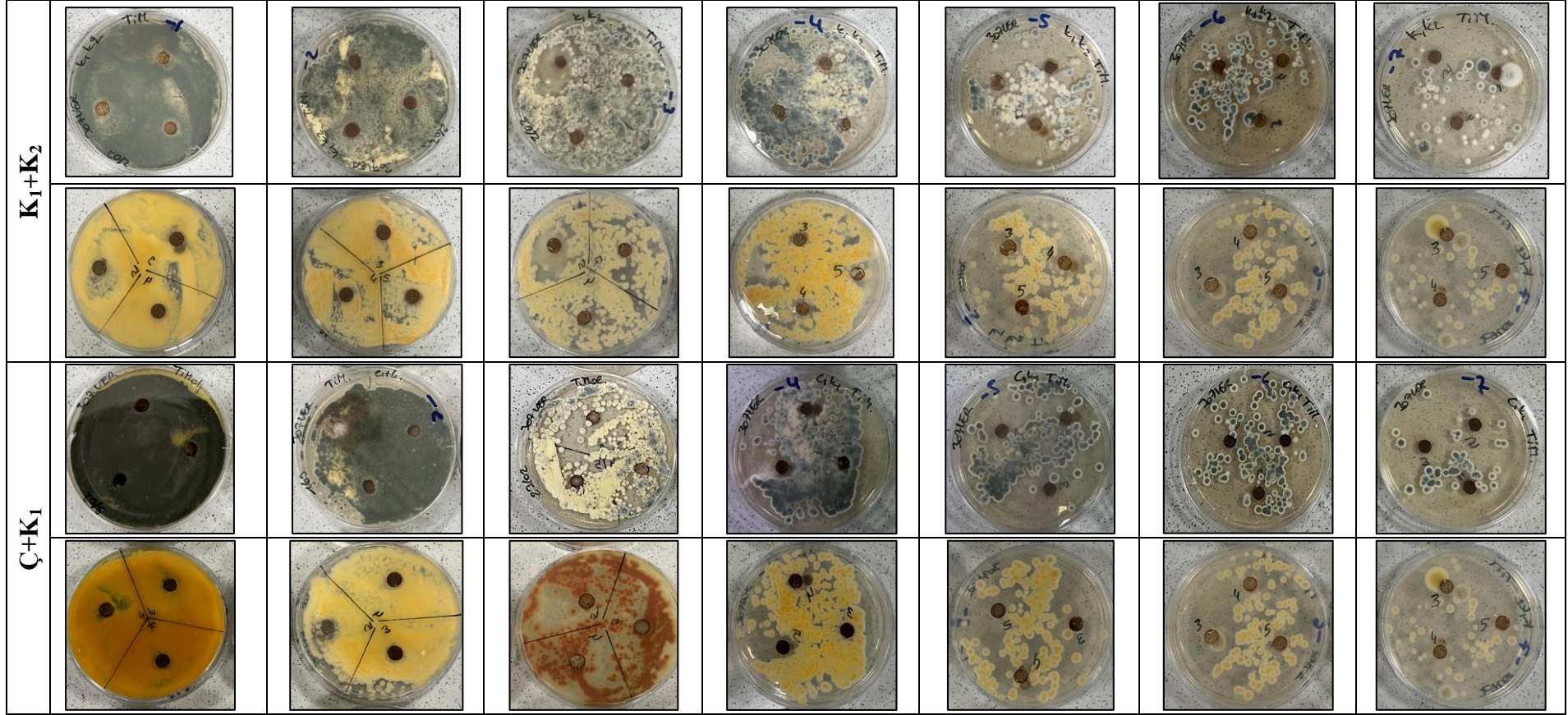
Şekil 26 K₁+K₂, Ç+K₁, Ç+K₁+K₂ için 96. saat antifungal analizi için *T. rugulosus* 307VER küf'üne karşı 'agar kıyu difüzyon metodu'. Burada kullanılan konsantrasyonlar: (a) 10⁻¹, (b) = 10⁻² ve (c) = 10⁻³, (d) = 10⁻⁴, (e) = 10⁻⁵, (f) = 10⁻⁶, (g) = 10⁻⁷. Şekil 26 devam ediyor.

Şekil 26 (devamı)



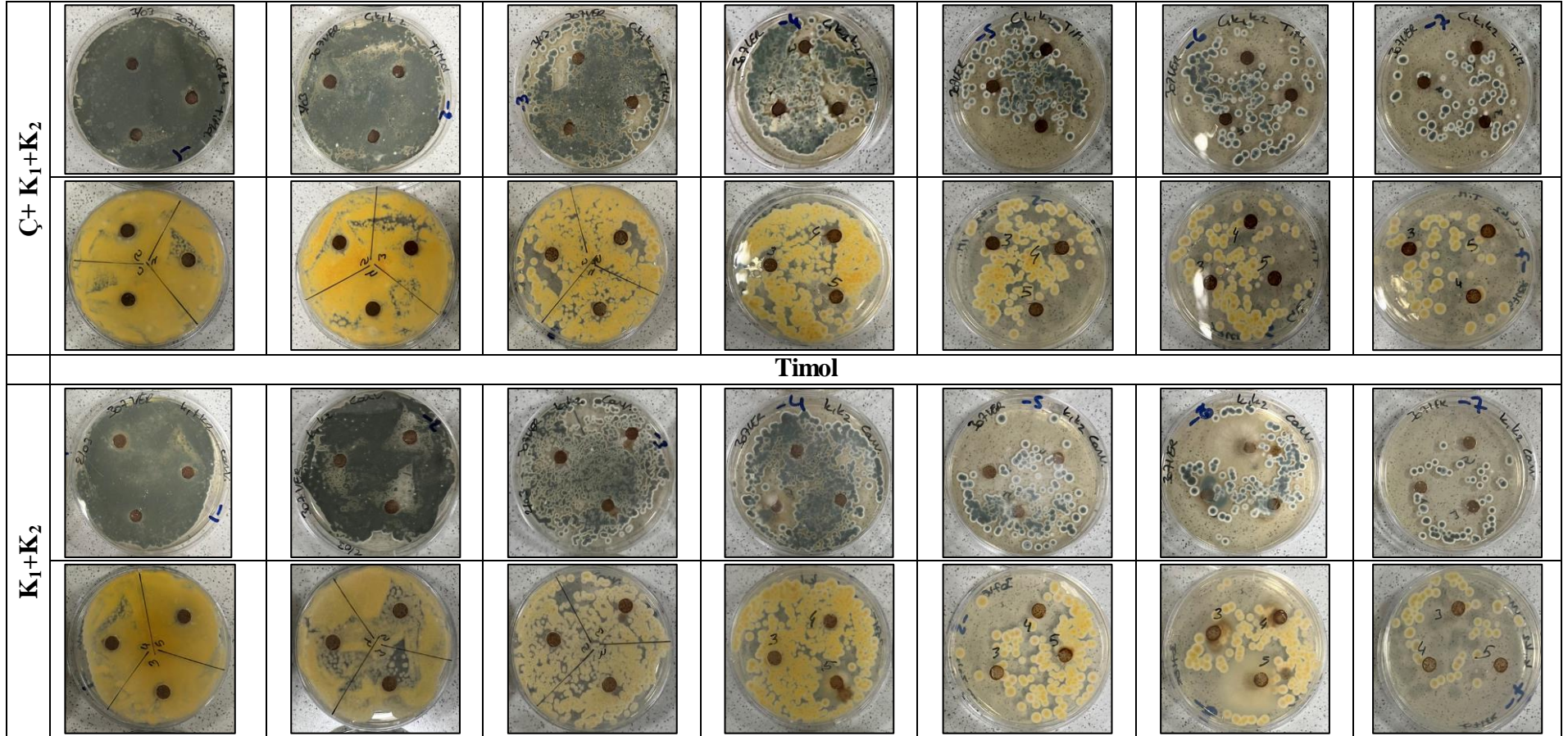
Şekil 26 K_1+K_2 , Ç+ K_1 , Ç+ K_1+K_2 için 96. saat antifungal analizi için *T. rugulosis* 307VER küf'üne karşı 'agar kuyu difüzyon metodu'. Burada kullanılan konsantrasyonlar: (a) 10^{-1} , (b) 10^{-2} ve (c) 10^{-3} , (d) 10^{-4} , (e) 10^{-5} , (f) 10^{-6} , (g) 10^{-7} . Şekil 26 devam ediyor.

Şekil 26 (devamı)



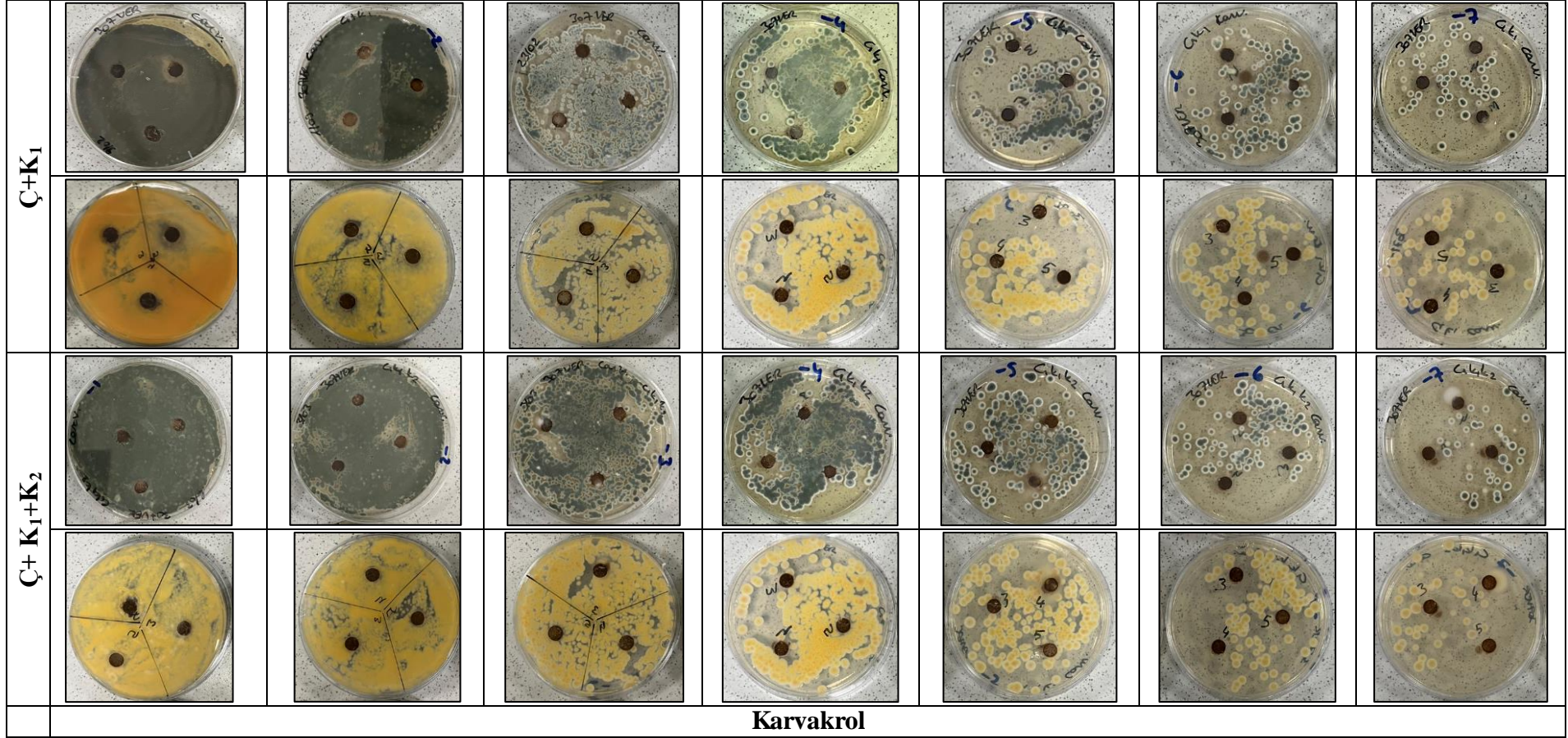
Şekil 26 K₁+K₂, Ç+K₁, Ç+K₁+K₂ için 96. saat antifungal analizi için *T. rugulosis* 307VER küf'üne karşı 'agar kuyu difüzyon metodu'. Burada kullanılan konsantrasyonlar: (a) 10⁻¹, (b) = 10⁻² ve (c) = 10⁻³, (d) = 10⁻⁴, (e) = 10⁻⁵, (f) = 10⁻⁶, (g) = 10⁻⁷. Şekil 26 devam ediyor.

Şekil 26 (devamı)

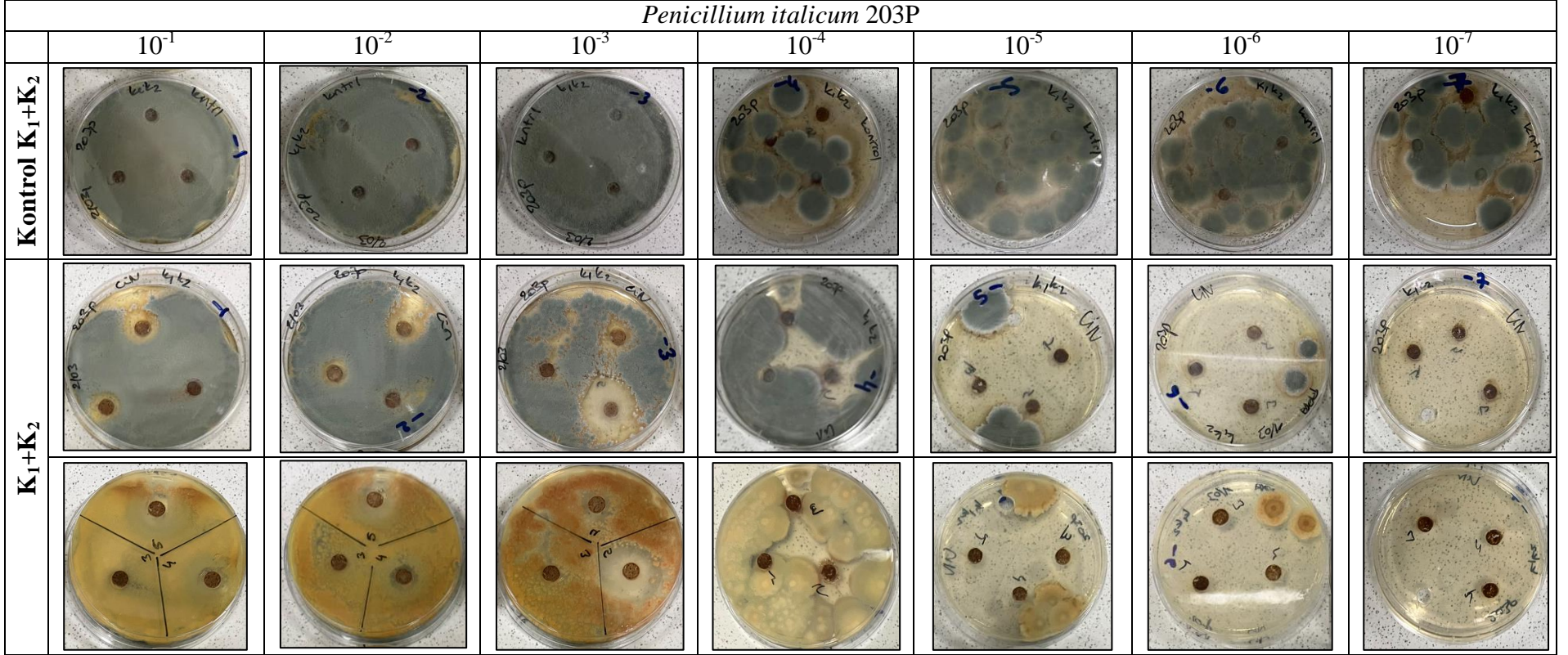


Şekil 26 K₁+K₂, Ç+K₁, Ç+K₁+K₂ için 96. saat antifungal analizi için *T. rugulosis* 307VER küf'üne karşı 'agar kuyu difüzyon metodu'. Burada kullanılan konsantrasyonlar: (a) 10⁻¹, (b) = 10⁻² ve (c) = 10⁻³, (d) = 10⁻⁴, (e) = 10⁻⁵, (f) = 10⁻⁶, (g) = 10⁻⁷. Şekil 26 devam ediyor.

Şekil 26 (devamı)

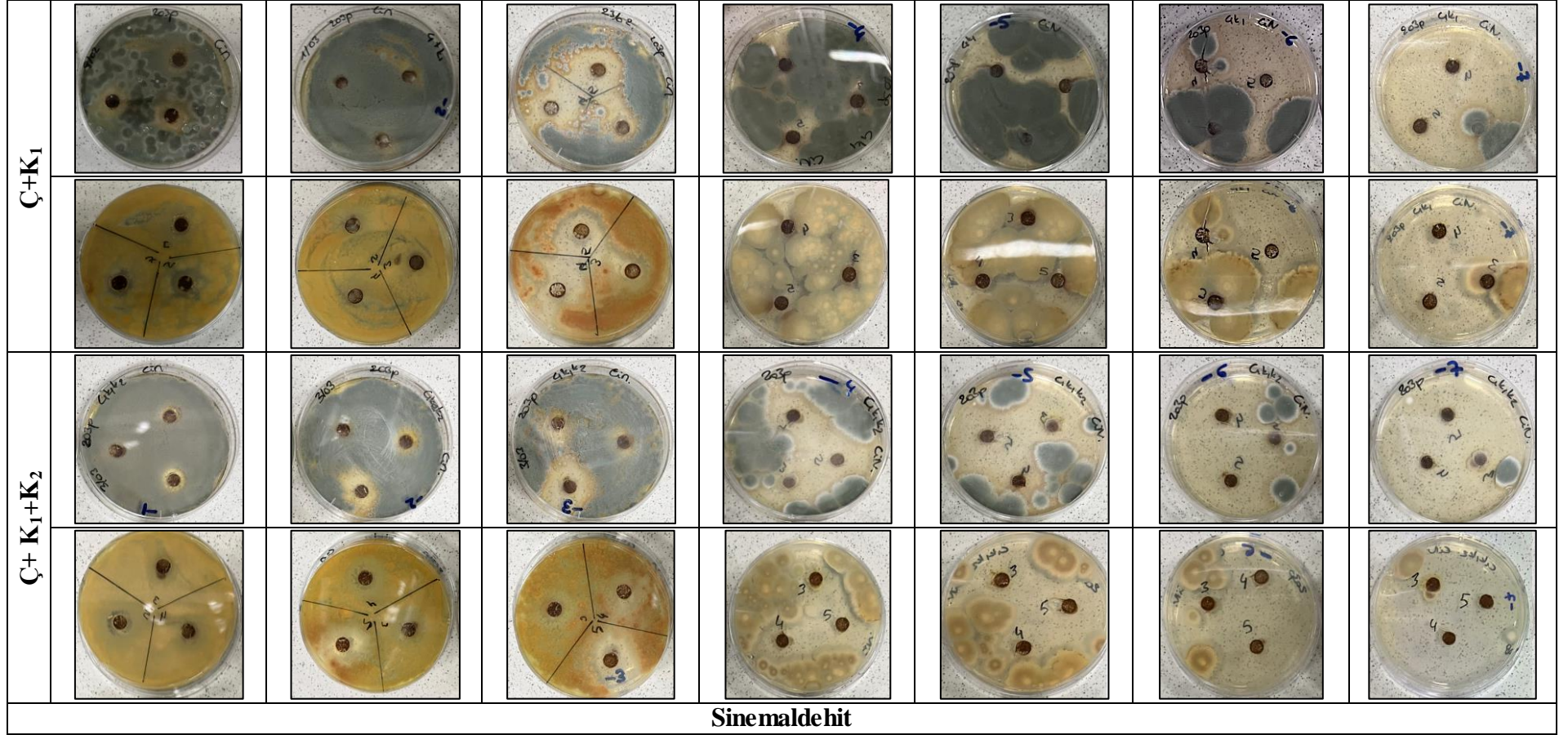


Şekil 26 K₁+K₂, Ç+K₁ ve Ç+K₁+K₂ için 96. saat antifungal analizi için *T. rugulosis* 307VER küf'üne karşı 'agar kuyu difüzyon metodu'. Burada kullanılan konsantrasyonlar: (a) 10⁻¹, (b) = 10⁻² ve (c) = 10⁻³, (d) = 10⁻⁴, (e) = 10⁻⁵, (f) = 10⁻⁶, (g) = 10⁻⁷.



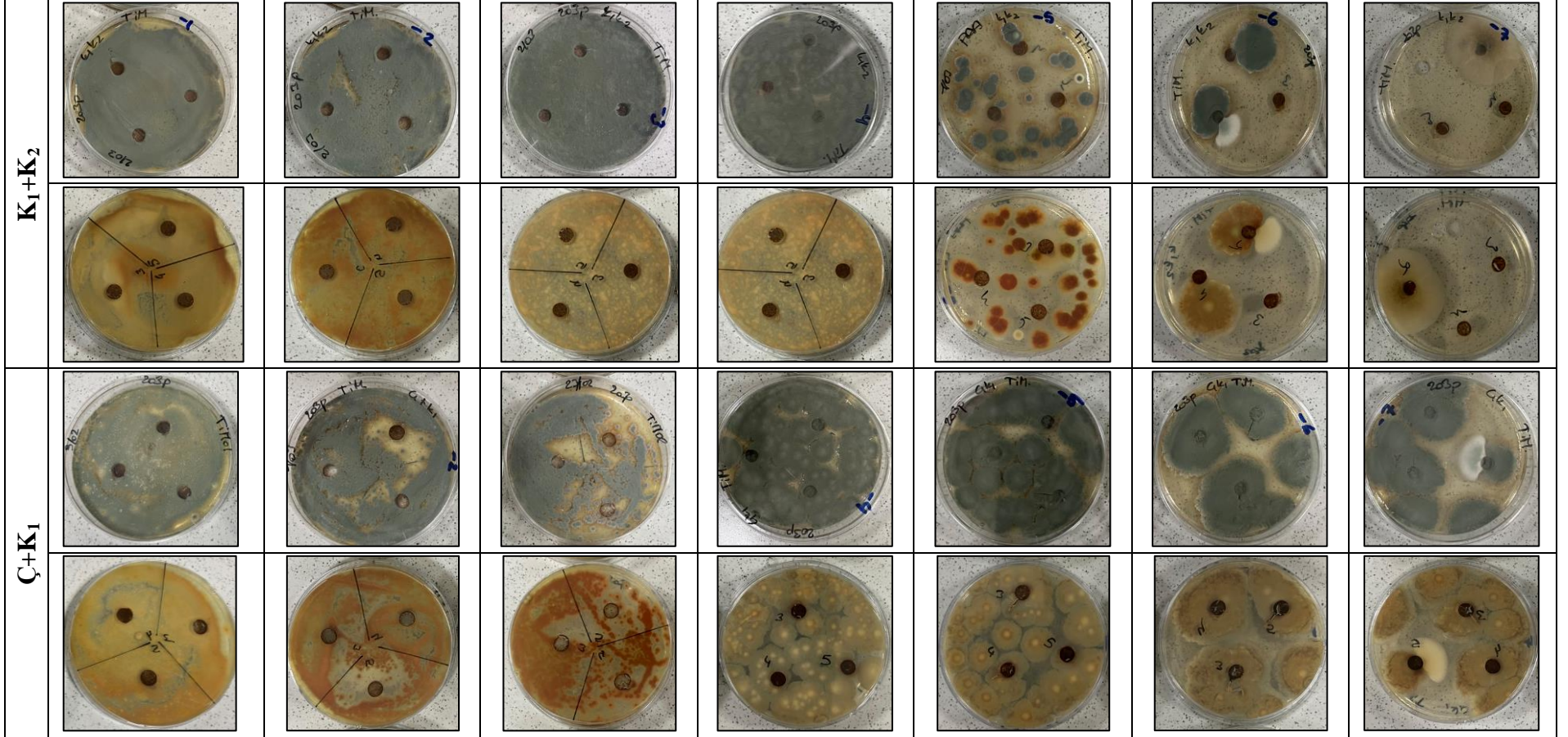
Şekil 27 K_1+K_2 , $\checkmark+K_1$, ve $\checkmark+K_1+K_2$ için 96.saat antifungal analizi için *P. italicum* 203P küf'üne karşı 'agar kuyu difüzyon metodu'. Burada kullanılan konsantrasyonlar: (a) 10^{-1} , (b) = 10^{-2} ve (c) = 10^{-3} , (d) = 10^{-4} , (e) = 10^{-5} , (f) = 10^{-6} , (g) = 10^{-7} . Şekil 27 devam ediyor.

Şekil 27 (devamı)



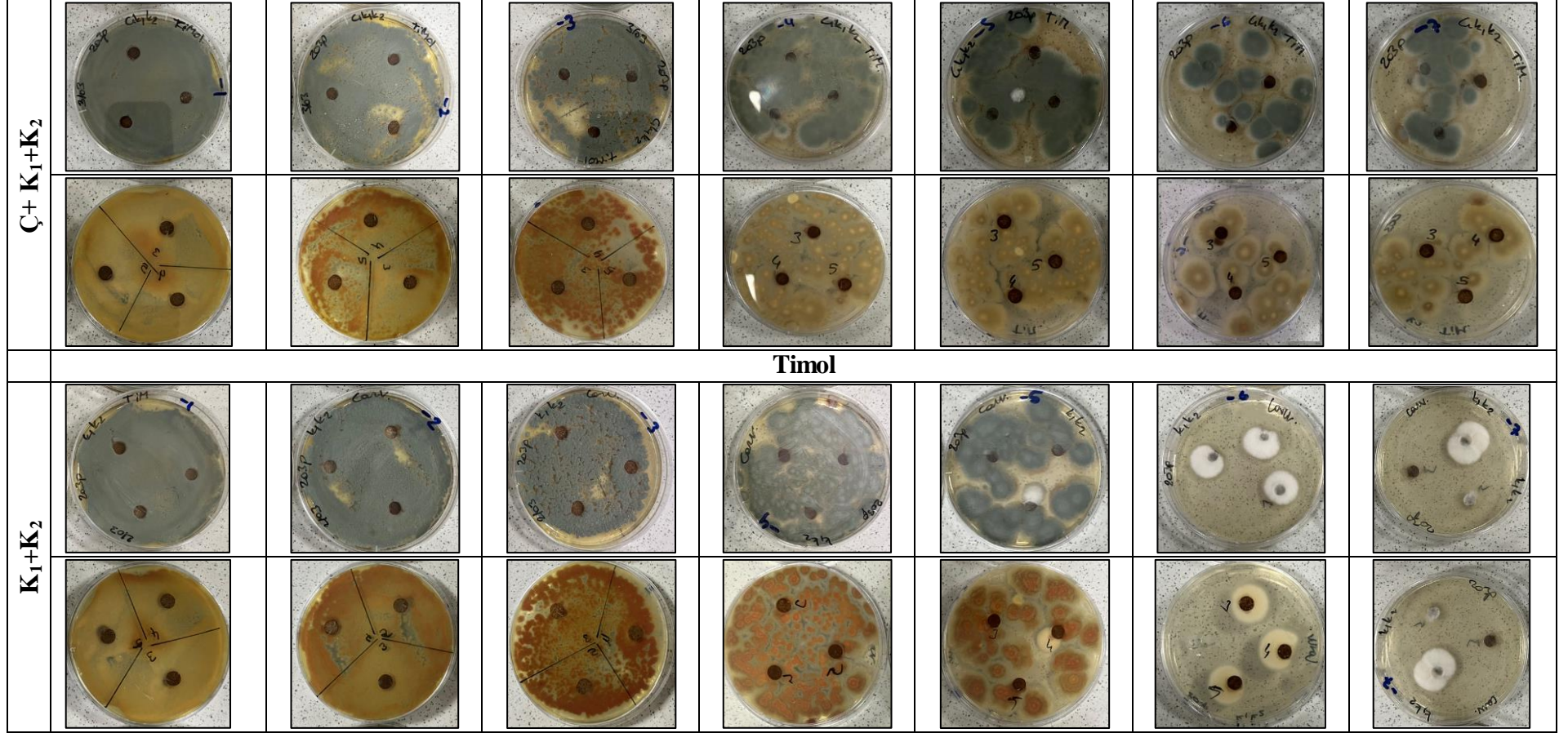
Şekil 27 K_1+K_2 , $\checkmark+K_1$, ve $\checkmark+K_1+K_2$ için 96.saat antifungal analizi için *P. italicum* 203P küf'üne karşı 'agar kuyu difüzyon metodu'. Burada kullanılan konsantrasyonlar: (a) 10^{-1} , (b) $= 10^{-2}$ ve (c) $= 10^{-3}$, (d) $= 10^{-4}$, (e) $= 10^{-5}$, (f) $= 10^{-6}$, (g) $= 10^{-7}$. Şekil 27 devam ediyor.

Şekil 27 (devamı)



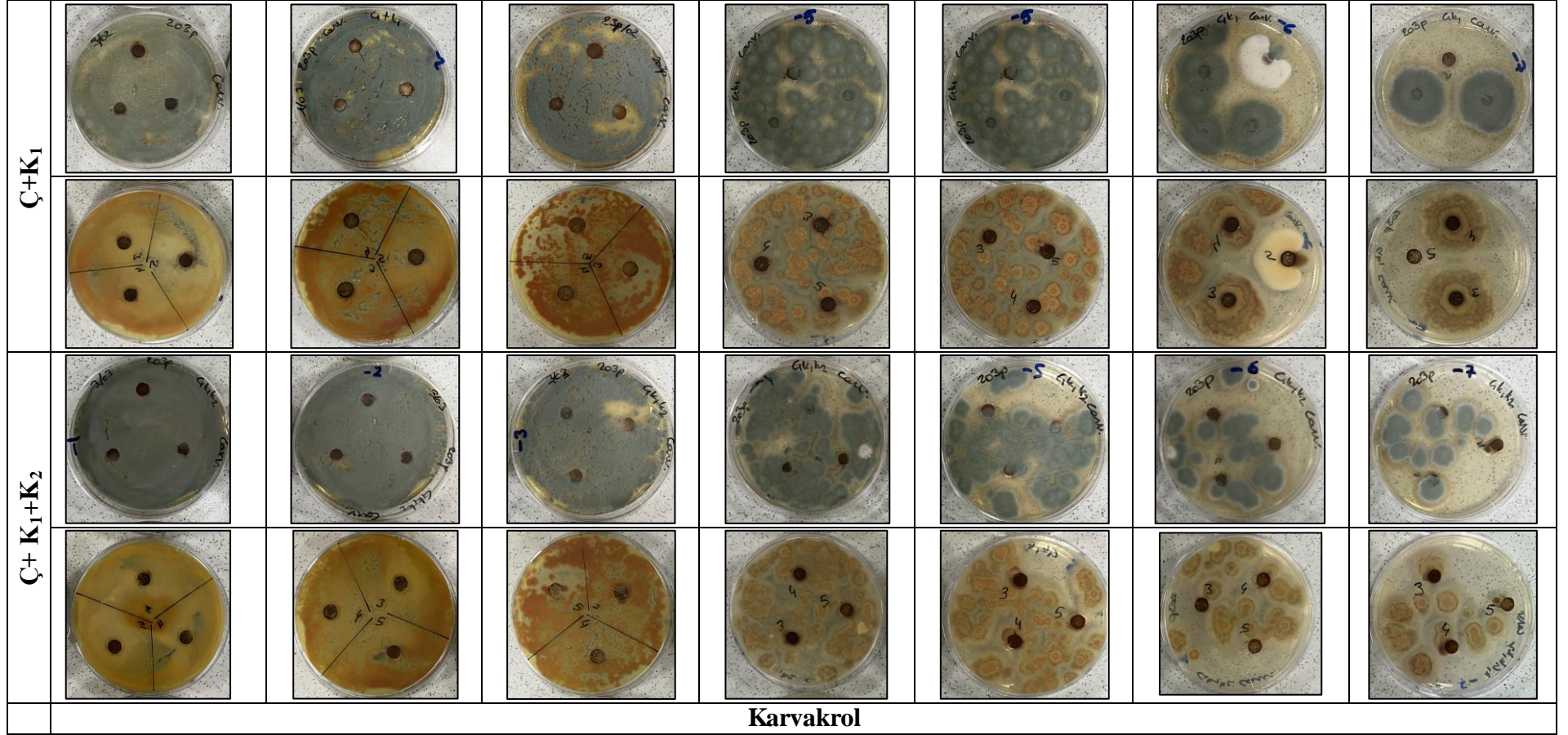
Şekil 27 K_1+K_2 , $\Ç+K_1$, ve $\Ç+K_1+K_2$ için 96.saat antifungal analizi için *P. italicum* 203P küf'üne karşı 'agar kuyu difüzyon metodu'. Burada kullanılan konsantrasyonlar: (a) 10^{-1} , (b) 10^{-2} ve (c) 10^{-3} , (d) 10^{-4} , (e) 10^{-5} , (f) 10^{-6} , (g) 10^{-7} . Şekil 27 devam ediyor.

Şekil 27 (devamı)





















Şekil 27 K₁+K₂, Ç+K₁, ve Ç+K₁+K₂ için 96. saat antifungal analizi için *P. italicum* 203P küf'üne karşı 'agar kuyu difüzyon metodu'. Burada kullanılan konsantrasyonlar: (a) 10⁻¹, (b) = 10⁻² ve (c) = 10⁻³, (d) = 10⁻⁴, (e) = 10⁻⁵, (f) = 10⁻⁶, (g) = 10⁻⁷. Şekil 27 devam ediyor.

Şekil 27 (devamı)



Şekil 27 K₁+K₂, Ç+K₁, Ç+K₁+K₂ için 96. saat antifungal analizi için *P. italicum* 203P küf'üne karşı 'agar kuyu difüzyon metodu'. Burada kullanılan konsantrasyonlar: (a) 10⁻¹, (b) = 10⁻² ve (c) = 10⁻³, (d) = 10⁻⁴, (e) =10⁻⁵, (f) =10⁻⁶, (g) = 10⁻⁷.

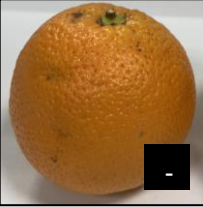

















<i>Penicillium italicum</i>					
	Aşılı kontrol	Kaplama kontrol	%3	%4	%5
K₁+K₂ 48h					
120h					
Ç+K₁ 48h					
120h					

Şekil 28 *Penicillium italicum* ile aşılansmış portakallar ve Ç+K₁, K₁+K₂ ve Ç+K₁+K₂ kaplama ile kullanılmış konsantrasyonlar sırasıyla (a) %3, (b) %4, (c) %5 sinamaldehit. (a) 48.saat, (b) 120.saat. Küf gelişmesi var (+) yok (-). Şekil 28 devam ediyor.

Şekil 28 (devamı)

$\text{Ç}+\text{K}_1+\text{K}_2$ 48h				
120h				
Sinamaldehit				

Şekil 28 *Penicillium italicum* ile aşılannmış portakallar ve $\text{Ç}+\text{K}_1$, K_1+K_2 ve $\text{Ç}+\text{K}_1+\text{K}_2$ kaplama ile kullanılmış konsantrasyonlar sırasıyla (a) %3, (b) %4, (c) %5 sinamaldehit. (a) 48.saad, (b) 120.saad. Küf gelişmesi var (+) yok (-).

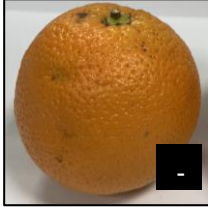




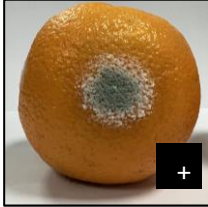












	Aşılı kontrol	Kaplama kontrol	%3	%4	%5
K₁+K₂ 48h					
120h					
Ç+K₁ 48h					
120h					

Şekil 29 *Penicillium italicum* ile aşılanmış portakallar ve Ç+K₁, K₁+K₂ ve Ç+K₁+K₂ kaplama ile kullanılmış konsantrasyonlar sırasıyla (a) %3, (b) %4, (c) %5 timol. (a) 48.saat, (b) 120.saat. Küf gelişmesi var (+) yok (-). Şekil 29 devam ediyor.

Şekil 29 (devamı)

$\text{Ç}+\text{K}_1+\text{K}_2$ 48h				
120h				

Şekil 29 *Penicillium italicum* ile aşılansmış portakallar ve $\text{Ç}+\text{K}_1$, K_1+K_2 ve $\text{Ç}+\text{K}_1+\text{K}_2$ kaplama ile kullanılmış konsantrasyonlar sırasıyla (a) %3, (b) %4, (c) %5 timol. (a) 48.saat, (b) 120.saat. Küf gelişmesi var (+) yok (-).

	Aşılı kontrol	Kaplama kontrol	%3	%4	%5
K₁+K₂ 48h					
					
Ç+K₁ 48h					
h 0h					

Şekil 30 *Penicillium italicum* ile aşılansmış portakallar ve Ç+K₁, K₁+K₂ ve Ç+K₁+K₂ kaplama ile kullanılmış konsantrasyonlar sırasıyla (a) %3, (b) %4, (c) %5 karvakrol. (a) 48.saat, (b) 120.saat. Küf gelişmesi var (+) yok (-). Şekil 30 devam ediyor.

Şekil 30 (devamı)



Şekil 30 *Penicillium italicum* ile aşılanmış portakallar ve $\text{Ç}+\text{K}_1$, K_1+K_2 ve $\text{Ç}+\text{K}_1+\text{K}_2$ kaplama ile kullanılmış konsantrasyonlar sırasıyla (a) %3, (b) %4, (c) %5 karvakrol. (a) 48.saat, (b) 120.saat. Küf gelişmesi var (+) yok (-).

IV. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada yapılan analizler biyobozunur kaplama çeşitleri üzerinde kullanılan sinamaldehit, karvakrol ve timol antifungal maddelerinin *Talaromyces rugulosus* ve *Penicillium italicum* küflerine karşı etkileri mikrobiyolojik ve kimyasal analiz parametreleri gibi parametreler araştırılmıştır. Bu analizlerin sonuçlarını karşılaştırmak için, hem in vitro hemde in vivo olarak çalışmalar yapılmıştır ve elde edilen bulgular mikrobiyolojik, istatistiksel ve görsel analiz sonuçlarına göre değerlendirilmiştir.

Şimdiye kadar bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre sinamaldehit antifungal maddesinin kullanımında iki küfe karşı verimli sonuçlar elde edildiği görülmüştür. İn vitro çalışmalarında %5 konsantrasyon kullanımında *Talaromyces rugulosus* küfünü tamamen inhibe ettiği görülmüştür. *Penicillium italicum* küfüne karşı etkisi ise *T. rugulosus* küfüne karşı etkisi kadar olmasada etkili bir küf gelişimine karşı önlem göstermiştir. Disk inhibisyon deneylerinde timol ve karvakrol düşük oranlarda etki gösterdiği görülmüştür. Ortaya aşılama uygulamasında bu 3 fungalin, küflerin spor ve miselyum gelişimini önlediği göstermiştir.

Disk inhibisyon uygulamalarında *T. rugulosus* 307VER küfü üzerine %5 (50.00 ± 17.30^a) sinamaldehit kullanımında en yüksek çapın olduğu görülmüştür. Aynı şekilde *P. italicum* 203P küfüne karşı kullanılan sinamaldehit antifungal maddesi %5 (20.67 ± 8.08^a) oranının verimli etkisi olduğu görülmüştür. Agar kuyu difüzyon uygulamalarında ise *T. rugulosus* ve *P. italicum* 203P küfüne karşı kullanılan sinamaldehit antifungal ile Ç+K₁ ve Ç+K₁+K₂ formülasyonlarında K₁+K₂'ye göre daha yüksek değerler elde edildiği görülmüştür. *P. italicum* küfüne kıyasla *T. rugulosus* küfüne karşı kullanılan %5 sinamaldehit ile Ç+K₁ ve Ç+K₁+K₂ kaplama formülasyonlarının sırasıyla 12.50 ± 0.71^a ve 13.00 ± 1.41^a olup istatistiksel olarak en yüksek antifungal etki sağladığı bulunmuştur.

Burada kaplama formülasyonları kıyaslanarak çay örneği (Ç) içeren formülasyonlarında antifungal maddelerine bir antifungal destek etkisi gösterdiği

gözenmiştir. Değerlere göre antifungal maddelerin kaplamalar ile kullanıldığında antifungal etkilerin azaldığı gözlenmiştir.

İn vitro analizine destek olarak yapılan in vivo çalışmalarında portakal üzerinde kullanılan kaplamayla birlikte sinamaldehit antifungalın %4 ve %5 konsantrasyonları timol ve karvakrol antifungal maddelerinden daha iyi etki gösterdiği görülmüştür. İn vivo çalışmalarında timol ve karvakrol antifungal etkileri benzer olduğu ve %4 ve %5 etkili sonuçlar verdiği görülmüştür. Yapılan analizlerde 3 farklı kaplama karışımında çay örneği içeren en etkili olan Ç+K₁ kaplamanın diğer kaplamalara göre portakal üzerinde kullanıldığında etkisi görülmüştür. %3, 4 ve 5 konsantrasyon kullanımında fungalların portakal yüzeyinde oluşumu diğer kaplamalara göre daha az olduğu gözlenmiştir. Ç+K₁ kaplamanın antifungal maddeye etki kattığı sonucuna varılmıştır.

İlerleyen deneylerde kaplamaların antifungallerle birlikte farklı gıda ürünlerine uygulanması ve raf ömrü süresinin araştırılması, aynı zamanda farklı fungallara karşı inhibisyon etkisinin araştırılması ve gıdalara uygulanacak farklı bir kaplama tekniğinin denenmesi önerilmiştir ve faydası olacağı düşünülmüştür.

V. KAYNAKÇA

KİTAPLAR

AYGÖREN, E. (2021). **Product report Citrus fruits 2021**. Agricultural economy and policy development institute. TEPGE publication NO:333, p.1-7.

HEPERKAN, Z. D., (2014). **Gıdalarda mikotoksinler**. Sidas Medya Ltd. Şti (2014) p.1-16.

MAKALELER

ANAM, M., SHAHBAZ T, S., SAJID A, K., AMAN, U.M. (2019). Salicylic acid and jasmonic acid can suppress green and blue moulds of citrus fruit and induce the activity of polyphenol oxidase and peroxidase. **Folia Horticulturae**, cilt 31, sayı1, ss. 195-204.

ANIS, A., PAL, K., AL-ZAHRANI, S.M. (2021). Essential Oil-Containing Polysaccharide-Based Edible Films and Coatings for Food Security Applications. **Polymers**, cilt 13, sayı 4. ss. 575.

ANTUNES, M., CAVACO, A. (2010). The use of essential oils for postharvest decay control. A review. **Flavour and Fragrance Journal**, cilt 25, sayı 5, ss. 351–366.

ATARES, L., CHIRALT, A., (2015). Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, cilt 48, ss. 51-62.

AVİLLA-SOSA, R., PALOU, E., JİMÉNEZ MUNGUÍ, M.T., NEVÁREZ-MOORİLLÓN, G.V., NAVARRO CRUZ, A.R., LÓPEZ-MALO, A. (2011). Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. **International journal of Food Microbiology** , cilt 153, sayı 1-2, ss. 66-72.

AZARAKHSH, N., OSMAN, A., GHAZALİ, H. M., TAN, C. P., & ADZAHAN, N.

- M. (2013). Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf-life extension and quality retention of fresh-cut pineapple. **Postharvest Biology and Technology**, cilt 88, ss. 1–7.
- BALLESTER-COSTA, C., SENDRA, E., FERNANDEZ-LOPEZ, J., & VIUDAMARTOS, M. (2016). Evaluation of the antibacterial and antioxidant activities of chitosan edible films incorporated with organic essential oils obtained from four *Thymus* species. **Journal of Food Science and Technology**, cilt 53, sayı 8, ss. 3374–3379.
- BALOUIRI, M., SADIKI, M., İBNSOUDA, S.K. (2015). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, cilt 6, sayı 2, ss. 71–79.
- BARAD, S., SIONOV, E., PRUSKY, D. (2016). Role of patulin in postharvest diseases. **Fungal biology reviews**, cilt 30, sayı 1, ss. 24-32.
- BHAVANIRAMYA, S., VISHNUPRIYA, S., AL-ABOODY, M.S., VIJAYAKUMAR, R., BASKARAN, D. (2019), Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. **Grain & Oil Science and Technology**, cilt 2, sayı 2, ss. 49-55.
- CARMO, ES., LIMA, EO., DE SOUZA, EL. (2008). The potential of *Origanum vulgare* L. (*Lamiaceae*) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, cilt 39, sayı 2, ss. 362–7.
- CHAFER, M., SANCHEZ-GONZALEZ, L., GONZALEZ-MARTINEZ, CH., CHIRALT A. (2012). Fungal Decay and Shelf Life of Oranges Coated With Chitosan and Bergamot, Thyme, and Tea Tree Essential Oils. **Journal of Food Science**, cilt 77, sayı 8, ss. E182-E187.^[1]_{SEP}
- CHAUDHARY, S., KUMAR, S., KUMAR, V., SHARMA, R., (2020), Chitosan nanoemulsions as advanced edible coatings for fruits and vegetables: Composition, fabrication and developments in the last decade. **International Journal of Biological Macromolecules**, cilt 152, ss. 154-170.
- COSTA, J. H., BAZIOLÌ, J.M., BARBAROSA, L.D., SANTOS JUNIOR, P.L.T., REIS, F.C.G., KLIMECK, T., CRNKOVIC, C.M., BERLINK, R.G.S.,

- SUSSULINI, A., RODRIGUES, M.L., FILL, T.P. (2021). Phytotoxic Tryptoquialanines Produced In Vivo by *Penicillium digitatum* Are Exported in Extracellular Vesicles. **MBIO**, cilt 12, sayı 1.
- COSTA, J. H., BAZIOLI, J.M., DE VILHENA ARAUJO, E., VENDRAMINI, P.H., DE FREITAS PORTO, M.C., EBERLIN, M.N., SOUZA-NETO, J.A., FILL, T.P. (2019). Monitoring indole alkaloid production by *Penicillium digitatum* during infection process in citrus by Mass Spectrometry Imaging and molecular networking. **Fungal Biology**, cilt 123, sayı 8, ss. 594-600.
- COTON, M., BREGIER, T., POIRIER, E., DEBAETS, S., ARNICH, N., COTON, E., DANTIGNY, P. (2019). Production and migration of patulin in *Penicillium expansum* molded apples during cold and ambient storage. **International Journal of Food Microbiology**, cilt 313, 108377.
- DA CRUZ CAPRAL, L., PINTO, VF., PATRIARCA, A. (2013). Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. **International Journal of Food Microbiology**, cilt 166, sayı 1, ss. 1–14.
- DANYLUK, D.M., FRIEDRICH, L.M., DUNN, L.L., ZHANG, J., RITENOUR, M.A. (2019). Reduction of *Escherichia coli*, as a surrogate for *Salmonella* spp., on the surface of grapefruit during various packingline processes. **Food Microbiology**, cilt 78, ss. 188-193.
- DHANAPAL, A., SASIKALA, P., RAJAMANI, L., KAVITHA, V., AZHINI.G. Y., BANU, M. S. (2012) Edible films from polysaccharides. **Food Science and Quality Management**, cilt 3, ss. 9-17.
- DA ROCHA NETO, A.C., LUIZ C., MARASCHIN, M., DI PIERO, R.M. (2016). Efficacy of salicylic acid to reduce *Penicillium expansum* inoculum and preserve apple fruits. **International Journal of Food Microbiology**, cilt 221, ss. 54-60.
- DONSI, F., FERRARI, G. (2016). Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. **Journal of Biotechnology**, cilt 233, ss. 106–120.
- DUAN, B., GAO, Z., REYMICK, O. O., OUYANG, Q., CHEN, Y., LONG, C., YANG, B., TAO, N. (2021), Cinnamaldehyde promotes the defense response

in postharvest citrus fruit inoculated with *Penicillium digitatum* and *Geotrichum citri-aurantii*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, cilt 179,104976.

DUAN, X., OUYANG, Q., TAO, N. (2018), Effects of applying cinnamaldehyde incorporated in wax on green mould decay in citrus fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, cilt 98, sayı 2, ss. 527-533.

FOZİ, V., HOSSEİNİFARAHİ, M., BAGHERİ, F., AMİRİ, A. (2021). Extending shelf life of mandarin fruit using pomegranate peel extract. **International Journal of Horticultural Science and Technology**, cilt 9, sayı 1, ss. 15-24.

FRISVAD^[1]_{SEP}, J. C., SMEDSGAARD, J., LARSEN, O.T., SAMSON, R.A. (2004). Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. **Studies in Mycology**, cilt 49, ss. 201-241.

GEBEL, M.P., MAGURNO, F. (2014): Assessment Of The Antifungal Potential Of The Essential Oil From *Thymus vulgaris* Against *B. cinerea* Causative Agent Of Postharvest Grey Mold On Strawberry Fruits. **Columella-Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, cilt 1, sayı 2, ss. 17–23.

GIANNAKAS, A., STATHOPOULOU, P., TSİAMİS, G., SALMAS, C., (2019). the effect of different preparation methods on the developement of chitosan/thyme oil/montmorillonite nanocomposite active packaging films. **Journal of food processing and preservation**, cilt 44, sayı 2, e14327.

GLASS, N.L., DONALDSON, G.C. (1995). Development of Primer Sets Designed for Use with the PCR to amplify Conserved Genes from Filamentous Ascomycetes. **Applied and Environmental Microbiology**, cilt 61, sayı 4, ss. 1323-1330.

GONZALEZ-MARTÍNEZ, C., SANCHEZ-GONZALEZ, L., VARGAS, M., CHIRALT, A., CHAFER, M. (2011). Use of Essential Oils in Bioactive Edible Coatings. **Food Engineering. Reviews.**, cilt 3, ss. 1–16.

GRANDE-TOVAR, C. D., CHAVES-LOPEZ, C., SERİO, A., ROSSİ, C., PAPARELLA, A. (2018), Chitosan coatings enriches with essential oils: Effects on fungi involved in fruit decay and mechanisms of action. **Trends in Food science & Technology**, sayı cilt 78 (2018), ss. 61-71.

- GUERREIRO, A. C., GAGO, C. M. L., FALEIRO, M. L., MIGUEL, M. G. C., ANTUNES, M. D. C. (2016). The effect of edible coatings on the nutritional quality of 'Bravo de Esmolfe' fresh-cut apple through shelf-life. **LWT - Food Science and Technology**, cilt 75, ss. 210-219.
- GYAWALÌ, R., IBRAHÌM, S.A. (2014), Natural products as antimicrobial agents. **Food Control**, cilt 46, ss. 412–429.
- HE, S., REN, X., LU, Y., ZHANG, Y., WANG, Y., SUN, L. (2016). Microemulsification of clove essential oil improves its in vitro and in vivo control of *Penicillium digitatum*. **Food Control**, cilt 65, ss. 106-111.
- HU, Y., ZHANG, J., KONG, W., ZAO, G., YANG, M. (2017). Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. **Food Chemistry**, cilt 220, ss. 1-8.
- JING, L., LEI, Z., LI, L., XIE, R., XI, W., GUAN, Y., SUMNER, L., ZHOU, Z. (2014), Antifungal activity of Citrus essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, cilt 62, sayı 14, ss. 3011–3033.
- KELLERMAN, M., ERASMUS, A., CRONJE, P.J.R., FOURİE, P.H. (2014). Thiabendazole residue loading in dip, drench and wax coating applications to control green mould and chilling injury on citrus fruit. **Postharvest Biology Technology**, cilt 96, ss. 78-87.
- KHALİLÌ, S.T., MOHSENİFAR, A., BEYKÌ, M., ZHAVEH, S., RAHMANİ-CHERATÌ, T., ABDOLLAHÌ, A., BAYAT, M., TABATABAEÌ, M. (2014). Encapsulation of Thyme essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. **LWT-Food Science and Technology**, cilt 60, sayı 1, ss. 502-508.
- KHARCHOUFÌ, S., PARAFATÌ, L., LICCARDELLO, F., MURATORE, G., HAMDÌ, M., CÌRVILLERÌ, G., RESTUCCÌA, C. (2018). Edible coatings incorporating pomegranate peel extract and biocontrol yeast to reduce *Penicillium digitatum* postharvest decay oranges. **Food Microbiology**, cilt 74, ss. 107 – 112.
- LEJA, K., DROZDZYŃSKA, A., MAJCHER, M., KOWALCZEWSKÌ, PŁ.,

- CZACZYK, K. (2019). Influence of sub-inhibitory concentration of selected plant essential oils on the physical and biochemical properties of *Pseudomonas orientalis*. **Open Chemistry**, cilt 17, sayı 1, ss. 492–505.
- LIA, D., ZHANG, X., GUB, X., ZHANG QIDI, LINA ZHAOA, ZHENG, X., ZHANG, H. (2019). The infection of grapes by *Talaromyces rugulosus* O1 and the role of cell wall- degrading enzymes and ochratoxin A in the infection. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, cilt 106, sayı 14, ss. 263–269.
- MARINELLI, L.; DI STEFANO, A.; CACCIATORE. I. (2018). Carvacrol and its derivatives as antibacterial agents. **Phytochemistry Reviews.**, cilt 17, sayı 4, ss. 903–921.
- MARTÍNEZ K., ORTÍZ, ALBÍS, GUTIÉRREZ CASTAÑEDA, G., VALENCIA, GRANDE TOVAR, (2018), The effect of edible chitosan coatings incorporated with *Thymus capitatus* essential oil on the shelf-life of strawberry (*fragaria x ananassa*) during cold storage. **Biomolecules**, cilt 8, sayı 4, ss. 155.
- MAQBOOL, M., ALI, A., ALDERSON, P. G., MOHAMED, M. T. M., SIDDIQUI, Y., ZAHID, N. (2011). Postharvest application of gum arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, cilt 62, sayı 1, ss. 71–76.
- MURMU, S.B., MISHRA, H.N., (2018). The effect of edible coating based on Arabic gum, sodium caseinate and essential oil of cinnamon and lemon grass on guava, **Food Chemistry**, cilt. 245, ss. 820-828.
- Nazzaro, F.I.D., Fratianni, F., Coppola, R., De Feo, V., (2017). Essential oils and antifungal activity. **Pharmaceuticals**, cilt 10, sayı 4, ss. 86.
- Panghal, A., Yadav, D.N., Khatkar, B.S., Sharma, H., Kumar, V., N. Chhikara, (2018), Post-harvest malpractices in fresh fruits and vegetables: food safety and health issues in India. **Nutrition and Food Science**, cilt 48, sayı 4, ss. 561-578.
- Papoutsiz, K., Mathioudakis, M.M., Hasperué, J.H., Ziogas, V. (2019). Non-Chemical treatments for preventing the postharvest fungal rotting of citrus

- caused by *penicillium digitatum* (green mold) and *Penicillium italicum* (blue mold). **Trends in Food Science & Technology**, cilt 86, sayı 2, ss. 479-491.
- PERDONES, A., CHIRALT, A., VARGAS, M. (2016). Properties of film-forming dispersions and films based on chitosan containing basil or thyme essential oil. **Food Hydrocolloids**, cilt 57, ss. 271-279.
- PÉREZ-ALFONSO, CO., MARTÍNEZ-ROMERO, D., ZAPATA, P.J., SERRANO, M., VALERO, D., CASTILLO, S. (2012). The Effects of Essential Oils Carvacrol and Thymol on growth of *Penicillium digitatum* and *P. Italicum* involved in lemon decay. **International Journal Of Food Microbiology**, cilt 158, sayı 2, ss. 101-106.
- PÍNTO, L., CEFOLA, M., BONÍFACIO, M.A., COMETA, S., BOCCHINO, C., PACE, B., DE GÍGLIO, E., PALUMBO, M., SADA, A., LOGRIECO, A.F., BUROZZI, F. (2021), Effect of red thyme oil (*Thymus vulgaris* L.) vapours on fungal decay, quality parameters and shelf-life of oranges during cold storage. **Food Chemistry**, cilt 336.
- RADİ, M., AHMADI, H., AMİRİ, S. (2022). Effect of cinnamon Essential Oil-loaded Nanostructured Lipid Carriers (NLC) Against *Penicillium citrinum* and *Penicillium expansum* Involved in Tangerine Decay. **Food and Bioprocess Technology**, cilt 15, ss. 306-318.
- RADİ, M., AKHAVAN-DARABİ, S., AKHAVAN, H.R., AMİRİ, S. (2017). The use of orange peel essential oil microemulsion and nanoemulsion in pectin-based coating to extend the shelflife of fresh-cut orange. **Journal of Food Processing and Preservation**, cilt 42, sayı 2. e13441.
- RASOOLİ, I., REZAEİ, M.B., ALLAMEH, A. (2016). Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. **Food Control**, cilt 17, sayı 5, ss. 359-364.
- RASHİD, Z., KHAN, M.R., MUBEEN, R., HASSAN, A., SAEED, F., AFZAAL, M. (2020). Exploring the effect of cinnamon essential oil to enhance the stability and safety of fresh apples. **Journal of Food Processing and Preservation**, cilt 44, sayı 12, e14926.

- ROJAS-GRAÜ, M.A., TAPIA, M.S., MARTIN-BELLOSO, O. (2007). Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples. **LWT-Food Science and Technology**, cilt 41, sayı 1, ss. 139-147.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., CHÁFER, M., CHIRALT, A., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. (2010). Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*, **Carbohydrate Polymers**, cilt 82, sayı 2, ss. 277–283.
- SÁNCHEZ-GONZALEZ, L., GONZALEZ-MARTINEZ, C., CHIRALT, A., CHAFER, M. (2010). Physical and antimicrobial properties of chitosan-tea tree essential oil composite films. **Journal of Food Engineering**, cilt 98, sayı 4 ss. 443–452.
- SANCHEZ-TORRES, P., TUSET, J. J. (2010). Molecular insights into fungicide resistance in sensitive and resistant *Penicillium digitatum* strains infecting citrus. **Postharvest Biology and Technology**, cilt 59, sayı 2, ss. 159-165.
- SANGUINETTÌ, M., POSTERARO, B., ROMANO, L., BATTAGLIA, F., LOPÍZZO, T., DE CAROLÌS, E., FADDA, G. (2006). In vitro activity of *Citrus bergamia* (bergamot) oil against clinical isolates of dermatophytes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, cilt 59, sayı 2, ss. 305–308.
- SANZANÌ, S.M., SCHENA, L., DE GIROLAMO, A., IPPOLITO, A., GONZALEZ-CANDELAS, L. (2010). Characterization of genes associated with induced resistance against *Penicillium expansum* in apple fruit treated with quercetin. **Postharvest Biology and Technology**, cilt 56, sayı 1, ss. 1-11.
- SERİ, M., METİN, B. (2021). Mycobiota of Konya mold-ripened (Küflü) Tulum cheese and the diversity of *Penicillium roqueforti* isolates. **Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, cilt 68, sayı 4, ss. 349-354.
- SINGH, T., CHITTENDEN C. (2010). Efficacy of essential oil extract in inhibiting mould growth on panel products. **Building and Environment**, cilt 45, sayı 10, ss. 2336–2342.
- SIVAKUMAR, D., BAUTISTA-BAÑOS, S. (2014). A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. **Crop Protection**, cilt 64, ss. 27–37.

- STRANO, M.C., ALTIERÌ, G., ADMANE, N., GENOVESSE, F., DÌ RENZO, G.C. (2017). Advance in Citrus Postharvest Management: Diseases, Cold storages and Quality evaluation. **Citrus Pathology**, ss. 139-159.
- SUMONSİRİ, N., DANPONGPRASERT, W., THAIDECH, K. (2020). Comparison of sweet orange (*Citrus sinensis*) and lemon (*citrus Limonnum*) essential oils on qualities of fresh-cut apples during storage. **Scientific Study & Research CİCBİA**, cilt 21, sayı 1, ss. 47-57.
- TOHİDİ, B., RAHİMMALEK, M., ARZANİ, A. (2017). Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of Thymus species collected from different regions of Iran. **Food Chemistry**, cilt 220, ss. 153–161.
- TOUHAMİ, N., SOUKUP, S.T., SCHMİDT-HEYDT, M., KULLİNG, S.E., GEİSEN, R. (2017). Sitrinin as an accessory establishment factor of *P. expansum* for the colonization of apples. **International journal of food microbiology**, cilt 266, ss. 224-233.
- VİLAPLANA, R., PÉREZ-REVELO, K., VALENCİA-CHAMORRO, S. (2018). Essential Oils as an Alternative Postharvest Treatment to Control Fusariosis, Caused by *Fusarium verticillioides*, in Fresh Pineapples (*Ananas comosus*). **Scientia Horticulturae**, cilt 238, ss. 255-263.
- WAN, C., Lİ, P., CHEN, C., PENG, X., Lİ, M., CHEN, J., WANG, CHEN, J. (2017), Antifungal activity of *Ramulus cinnamomi* explored by ¹H-NMR based metabolomics approach. **Molecules**, cilt 22, sayı 2, ss. 2237.
- WANG, B., GUO, L., YE, K., WANG, L., (2020). Chromosome-Scale Genome Assembly of *Talaromyces rugulosus* W13939, a Mycoparasitic Fungus and Promising Biocontrol Agent. **Molecular Plant –Microbe Interactions**, cilt 33, sayı 12, ss. 1446–1450.
- WANG, L., LİU, F., JİANG, Y., CHAİ, Z., Lİ, P., CHENG, Y., JİNG, H., LENG, X. (2011). Synergistic antimicrobial activities of natural essential oils with chitosan films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, cilt 59, sayı 23, ss. 12411-12419.

- WRIGHT, S.A.I., DE FELICE, D.V., IANIRI, G., PINEDO-RIVILLA, C., DE CURTIS, F., CASTORIA, R. (2014). Two rapid assays for screening of patulin biodegradation. **International Journal of Environmental Science and Technology**, cilt 11, ss. 1387-1398.
- XING, M., LI, B., CHEN, Y., TIAN, S. (2020). Ribonucleoside diphosphate reductase plays an important role in patulin degradation by *Enterobacter cloacae* subsp. Dissolvens. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, cilt 68, sayı18, ss. 5232-5240.
- XU, M., ZHANG, X., LI, D., GU, X., GODANA E. A., DHANASEKARAN, S., ZHAO, L., ZHANG, H. (2021). Transcriptome analysis of postharvest grapes in response to *Talaromyces rugulosus* O1 infection. **Postharvest Biology and Technology**, cilt178, 111542.
- YADAV, A. N., VERMA, P., KUMAR, V., SANGWAN, P., MISHRA, S., PANJIAR, N., GUPTA, V.K., SAXENA, A. K. (2018). Biodiversity of the Genus *Penicillium* in Different Habitats. **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering, Penicillium system properties and applications**, chapter 1, ss. 3-18.
- YAN, J., LUO, Z., BAN, Z., LU, H., LI, D., YANG, D., AGHDAM, M.S., Li, L. (2018). The effect of the layer-by-layer (LBL) edible coating on strawberry quality and metabolites during storage. **Postharvest Biology and Technology**, cilt 147, ss. 29-38.
- YANG, R., MIAO, J., SHEN, Y., CAI, N., WAN, C., ZOU, L., CHEN, C., CHEN, J. (2021). Antifungal effect of cinnamaldehyde, eugenol and carvacrol nanoemulsion against *Penicillium digitatum* and application in postharvest preservation of citrus fruit. **LWT-Food Science and Technology**, cilt 141, 110924.
- YANG, S., LIMEI LIU, L., LI, D., XIA, H., SU, X., PENG, L., PAN, S. (2015). Use of active extracts of poplar buds against *Penicillium italicum* and possible modes of action. **Food Chemistry**, cilt 196, ss. 610-618.
- YANG, T., QIN, W., ZHANG, Q., LUO, J., LIN, D., CHEN, H. (2022). Essential-oil capsule preparation and its application in food preservation: A review. **Food**

Reviews International, cilt 37, sayı 8.

YANG, Q., WANG, H., ZHANG H., ZHANG, X., APALIYA, M. T., ZHENG, X., MAHUNU, G. K., (2016). Effect of *Yarrowia lipolytica* on postharvest decay of grapes caused by *Talaromyces rugulosus* and the protein expression profile of *T. rugulosus*. **Postharvest Biology and Technology**, cilt 126, ss. 15–22.

YILMAZ, N., VISAGIE, C.M., HOUBRAKEN, J., FRISVAD, J.C., SAMSON, R.A. (2014). Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces* . **Studies in Mycology**, cilt 78, ss. 175–341.

YOUSUF, B., QADRIA, O. S., SRIVASTAVA, A. K. (2017). Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. **LWT - Food Science and Technology**, cilt 89, ss. 198–209.

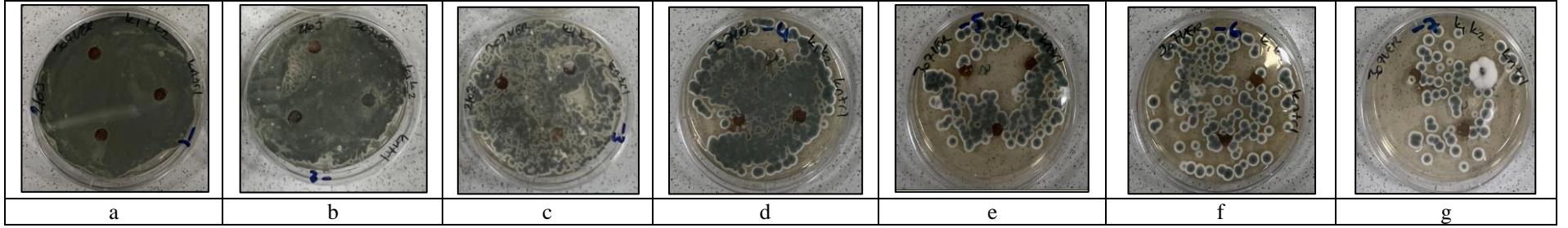
ZHANG, W., SHU, C., CHEN, Q., CAO, J., JIANG, W. (2019). The multi-layer film system improved the release and retention properties of cinnamon essential oil and its application as coating in inhibition to *Penicillium* expansion. **Food Chemistry**, cilt 299, ss. 125-109.

ZHU, C. (2017). Identification of secondary metabolite biosynthetic gene clusters associated with the infection of citrus fruit by *Penicillium digitatum*. **Postharvest Biology and Technology**, cilt 134, ss. 17-21.

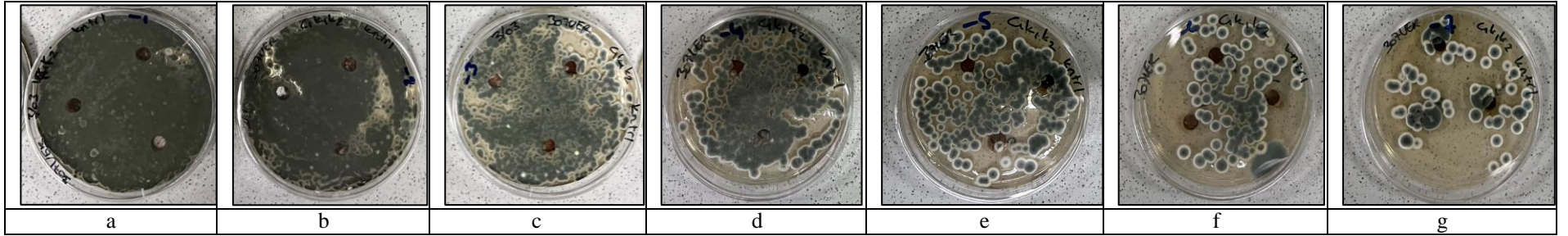
ZONG, Y., LI, B., TIAN, S. (2015). Effects of carbon, nitrogen and ambient pH on patulin production and related gene expression in *Penicillium expansum*. **International Journal of Food Microbiology**, cilt 206, ss. 102-108.

EKLER

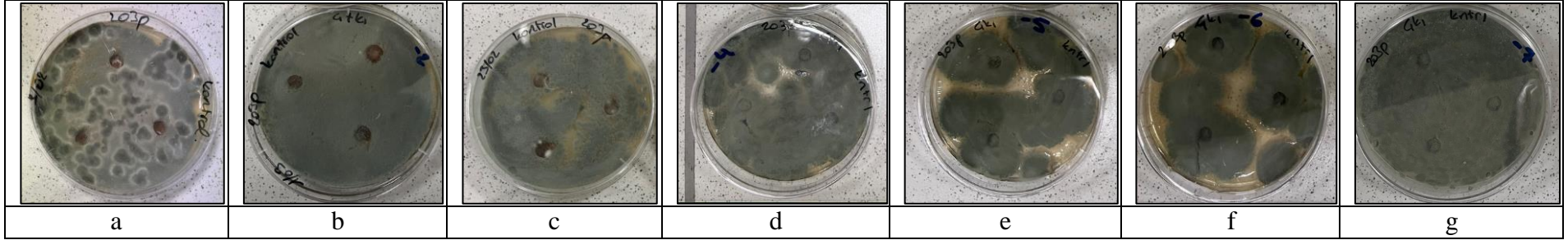
Ek-1: Şekiller



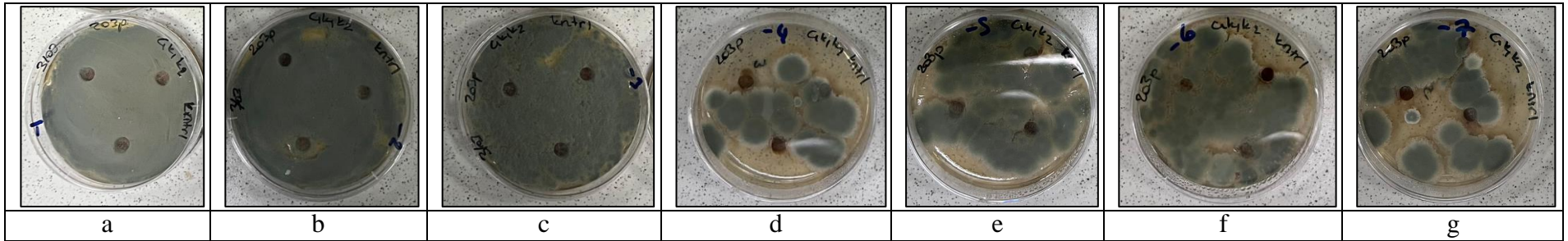
Şekil 31 K_1+K_2 için *T. rugulosus* 307VER kontrol 96.saat 'agar kuyu difüzyon metodu'; (a) 10^{-1} , (b) $= 10^{-2}$ ve (c) $= 10^{-3}$, (d) $= 10^{-4}$, (e) $= 10^{-5}$, (f) $= 10^{-6}$, (g) $= 10^{-7}$.



Şekil 32 $\checkmark+K_1+K_2$ için *T. rugulosus* 307VER kontrol 96.saat 'agar kuyu difüzyon metodu'; (a) 10^{-1} , (b) $= 10^{-2}$ ve (c) $= 10^{-3}$, (d) $= 10^{-4}$, (e) $= 10^{-5}$, (f) $= 10^{-6}$, (g) $= 10^{-7}$.



Şekil 33 Ç+K₁ için *P. italicum* 203P kontrol 96. saat ‘agar kuyu difüzyon metodu’; (a) 10⁻¹, (b) = 10⁻² ve (c) = 10⁻³, (d) = 10⁻⁴, (e) = 10⁻⁵, (f) = 10⁻⁶, (g) = 10⁻⁷.



Şekil 34 Ç+K₁+K₂ için *P. italicum* 203P kontrol 96. saat ‘agar kuyu difüzyon metodu’; (a) 10⁻¹, (b) = 10⁻² ve (c) = 10⁻³, (d) = 10⁻⁴, (e) = 10⁻⁵, (f) = 10⁻⁶, (g) = 10⁻⁷.

ÖZGEÇMİŞ

Fatma Nur ARICI

EĞİTİM BİLGİLERİ

- | | |
|------|--|
| 2015 | İstanbul Aydın üniversitesi, İstanbul
Lisans, Gıda mühendisi |
| 2019 | İstanbul Aydın üniversitesi, İstanbul
Yüksek Lisans, Gıda mühendisi |