

## Antifungal Aktivite Üreten Laktik Asit Bakterileri

Çisem BULUT ALBAYRAK<sup>\*1</sup><sup>1</sup>Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, AYDIN.

**Özet:** Küf ve mayalar tüm gıdalarda gelişebilme özelliğine sahip oldukça dirençli mikroorganizmalardır. Küf ve mayaların neden olduğu gıda bozulmaları ve kontrolü insan sağlığı ve gıda güvenliği için önemli bir konudur. Küfler ayrıca, sağlığa zarar veren çeşitli mikotoksinler üretebilirler. Zararlı mikroorganizmaları önlemek için, biyokoruyucu ajanlarının uygulanması ısıl işlem, kurutma ve kimyasal katkıların kullanılması gibi diğer uygulamalar için yeni, alternatif veya tamamlayıcı olarak düşünülebilir. Biyokoruma başka bir deyişle mikroorganizmaların kendisinin ya da metabolitlerinin bozulmaya engel olmada ve raf ömrünü uzatmada kullanımı bu bakımdan önem kazanmıştır. Çeşitli fermente gıdaların geleneksel olarak üretiminde rol oynayan laktik asit bakterileri (LAB) ve çeşitli metabolitlerinin bazı küf ve mayaları engellediği bilinmekte ve biyokoruyucu olarak kullanılabilir. Son zamanlarda, LAB'nden siklik dipeptitler, proteinli maddeler ve yağ asitleri gibi çok sayıda antifungal metabolit izole edilmiştir. Bu derlemede, antifungal LAB ile ilgili güncel bilgiler bir araya getirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** antifungal, antimikrobiyal, laktik asit bakterileri

## Antifungal Activity Producing Lactic Acid Bacteria

**Abstract:** Molds and yeasts are highly resistant microorganisms that have the ability to grow in all food. Food spoilages caused by molds and yeasts are important issue for human health and food safety. Molds may also produce a variety of mycotoxins that damage health. To prevent harmful microorganisms, application of biopreservative agents can be considered new, alternative or complementary for other applications such as thermal process, drying and using of chemical additives. In this respect, the use of biocontrol or microorganisms or their metabolites to prevent food deterioration and to extend the shelf life of foods is very important. Lactic acid bacteria (LAB) that play role in traditional production of various fermented foods and their metabolites are known to have inhibition on several yeasts and molds types and can be used as biopreservatives. Recently, a large number of antifungal metabolites such as cyclic dipeptides, proteinaceous substances and fatty acids, have been isolated from the Lactic acid bacteria (LAB). In this review, current information on antifungal LAB is brought up.

**Keywords:** antifungal, antimicrobial, lactic acid bacteria

## GİRİŞ

Laktik asit bakterileri (LAB) besin yönünden zengin pek çok ortamlarda bulunabilir ve doğal olarak et, süt ve sebze ürünleri gibi çeşitli gıdalarda gelişebilirler. Eskiden bu yana, LAB biyokoruyucu mikroorganizmalar olarak kullanılmışlar ve gıda fermantasyonlarının, süt, et, sebze ve ekşi hamur fermantasyonları gibi çeşitlilik göstermesinde kritik rol üstlenmişlerdir (Wood ve Holzapfel, 1995). LAB zararsız, insan ve hayvan sağlığını destekleyici mikroorganizmalar olarak bilinmekte ve GRAS (Generally Recognized as Safe) statüsünde yer almaktadırlar. Tüketicilerin daha doğal gıda koruyucular için artan talepleri ile, LAB'nin GRAS olarak tanımlanmaları ve Avrupa birliğince QPS (Qualified Presumption of Safety) olarak tarif edilmeleri nedenleri ile biyokontrol ajanları olarak kullanımlarına ilişkin artan bir ilgi ortaya çıkmıştır (Crowley ve ark., 2013). Günümüzde, tüketici talepleri daha az kimyasal katkı içeren, hafif işlem görmüş, doğal içeriklere sahip gıda ürünleri yönündedir. LAB'nin gıda ürünü için koruyucu olma niteliklerinin dışında, sağlığı iyileştirici ve probiyotik özellikleri de söz konusu olabilmektedir.

Gıdalarda bozulmaya neden olan önemli mikroorganizmalar içerisinde filamentli küfler ve mayalar özellikle fermente süt ürünleri, ekmek, depolanmış mahsüller gibi gıda ürünlerinde gıda güvenliği ve ürün kalitesi açısından istenmeyen değişikliklere yol açabilmektedir. *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri geniş aralıktaki gıda ve yemde bozulmaya neden olan organizmalardır. *Fusarium* türleri özellikle tahıl tanelerinde görülmektedir (Schnürer ve Magnusson, 2005). *Candida parapsilosis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Kluyveromyces marxianus* ve *Debaromyces hansenii* gibi mayalar yoğurt ve diğer fermente süt ürünlerinde bozulmaya neden olabilen mikroorganizmalardır (Schnürer ve Magnusson, 2005).

Antimikrobiyal özellikleri bilinen çeşitli LAB'nin antifungal özelliklerinin araştırılması, bu aktiviteye neden olan metabolitlerin belirlenmesi ve gıda uygulamalarındaki potansiyelleri son yıllarda giderek önemini arttıran bir konu olmuştur.

## LAB Taksonomisi ve Genel Özellikleri

Laktik asit bakterileri (LAB), karbonhidrat fermentasyonu sonucunda ana ürün olarak laktik asit üreten, çubuk ya da kok şeklinde olabilen, hareketsiz, spor oluşturmeyen Gram pozitif organizmaların heterojen grubunu kapsamaktadır. Önceki taksonomi, gıda fermantasyonlarında 4 ana cinsi tanımlamaktadır. Bunlar; *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus*'dur. Ancak, yeniden sınıflandırma çalışmaları ile günümüzde 17 cinsi kapsadığı belirtilmiştir (Crowley ve ark., 2013) ve bu cinsler: *Aerococcus*, *Alloiooccus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Mlissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weisella* olarak geçmektedir.

LAB, birçok morfolojik, metabolik ve fizyolojik özellikleri ortak olan Gram pozitif bakteri grubudur. Bu bakteriler spor oluşturmeyen, katalaz negatif, asit toleranslı çubuklar veya kok şeklinde mikroorganizmalardır ve bu özellikler ön tanımlama çalışmalarında göz önünde bulundurulur. Karbonhidratların fermentasyonu sırasında son ürün laktik asit üretirler. Fenotipik karakterizasyonları, mikroskop incelemeleri ile hücre şeklinin morfolojik özelliklerin değerlendirilmesi

\*Sorumlu Yazar: cisem.bulut@adu.edu.tr

Geliş Tarihi: 5 Ocak 2017

Kabul Tarihi: 17 Şubat 2017

**Çizelge 1.** Laktik asit bakterilerinin fenotipik karakterleri (Axelsson, 2004)

Karakter	<i>Carnobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Aerococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus Vagococcus</i>	<i>Leuconostoc Oenococcus</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Tetragenococcus</i>	<i>Weissella</i>
Tetrat oluşumu	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
Glikozdan CO <sub>2</sub> oluşumu	-	±	-	-	-	+	-	-	-	+
10°C'de büyüme	+	±	+	+	+	+	±	-	+	+
45°C'de büyüme	-	±	-	+	-	-	±	±	-	-
%6.5 tuz konsantrasyonunda büyüme	ND	±	+	+	-	±	±	-	+	±
%18 Tuz konsantrasyonunda büyüme	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
pH 4.4'de büyüme	ND	±	-	+	±	±	+	-	-	±
pH 9.6'da büyüme	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Laktik Asit Tipi	L	D, L, DL	L	L	L	D	L, DL	L	L	D, DL

ND: Belirlenmemiştir

(çubuk, kok olma, tetrat oluşumu, zincir yapı, vb.), glikozun homo veya hetero fermentasyon olmasının belirlenmesi, farklı sıcaklıklarda (10°C ve 45°C) büyüme ve şeker kullanım analizi gibi yöntemleri içermektedir (Orla-Jensen, 1942). Bununla birlikte, doğrulamanın ispatı için 16S rRNA gen dizisi, LAB sınıflandırmasında önemli bir kılavuzdur (Wood ve Holzapfel, 1995). LAB'nin fenotipik karakterleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çeşitli kaynaklarda antifungal özelliğe sahip LAB'nin izole edildiğine dair çalışmalar mevcuttur (Munoz ve ark., 2010; Strom ve ark., 2002; Lavermicocca ve ark., 2000). *Lactobacillus plantarum* çayır otu silajından (Prema ve ark., 2010), kımız (Wang ve ark., 2012), fermente lahanada (Laitila ve ark., 2002) maltlama işlemi yapılmış arpa (Dal Bello ve ark., 2007) gibi kaynaklardan izole edilmiştir. Birçok antifungal özellikli LAB sağlıklı piliç dışkılarından, insan ve çeşitli hayvanların bağırsaklarından, koyun sütünden, kimçi, salam ve çeşitli gıdalar gibi farklılık gösteren ortamlardan elde edilmiş olduğu bildirilmiştir (Gajbhiye ve Kapadnis, 2016). Bütün bu farklı ortamlar, *Lactobacillus*, *Weissella*, *Leuconostoc* ve *Lactococcus* gibi çeşitli antifungal LAB için kaynak teşkil etmektedir.

#### Antifungal Özellikler

LAB tarafından üretilen antifungal maddeler çeşitli tiplerdedir. LAB'nin antifungal etkileri organik asitler, yağ asitleri, protein yapısındaki maddeler, dipeptitler, fenolik bileşikler ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi maddeleri içeren birden fazla madde karışımından kaynaklanabilir (Crowley ve ark., 2013; Schnürer ve Magnusson, 2005). Antifungal madde çalışmaları *Lactobacillus* cinsi üzerinde yoğunlaşmıştır. 2007'den önce, LAB'nden antifungal maddelerin izolasyonuna ilişkin sınırlı sayıda çalışma olduğu, ancak sonrasında birçok araştırmacının bu tip maddeleri izole etmiş ve tanımlamış oldukları belirtilmektedir. Farklı habitatlardan elde edilmiş, antifungal madde üreten LAB Çizelge 2'de verilmiştir.

#### Organik Asitler

LAB laktik asit, asetik asit, propiyonik asit gibi karbonhidrat metabolizmasının son ürünü olarak çeşitli organik asitler üretirler. Bu zayıf organik asitlerin üretimi, birçok bakteri ve fungusun gelişimini sınırlayan asidik bir ortam oluşturmaktadır. Bu asitlerin antimikrobiyal etkileri, pH düşmesi ve disosiyasyon olmamış organik asitlerin metabolik inhibisyonu ile açıklanabilir. Laktik asit ve asetik asit sentezi biyokoruyuculuk konusunda başlıca önemli faktörlerdir (Adams ve Hall, 1988). Laktik asidin asetik asit ile birlikte sinerjistik etkisinin fungal gelişmeyi inhibe ettiği düşünülmektedir. Asetik asidin daha yüksek potansiyeli olduğu belirtilmekte ve bu durum daha yüksek pKa değerine

sahip olması ve hücre içerisinde daha yüksek disosiyasyona sahip olması ile açıklanmaktadır. Asit üretiminin pH düşmesine sebep olması, fungusların inhibe olmasına neden olmaktadır. Asit molekülleri ile hücre membranı zarar görmektedir. pH değeri pKa değerinin altına düştüğünde, düşük pH asit moleküllerini disosiyasyon moleküllerden disosiyasyon olmayan moleküllere dönüştürmektedir (Piper ve ark., 2001). Asit molekülleri disosiyasyon olmayan formda aktif ve lipofiliktirler ve böylece sitoplazmik membrana doğru giderler. Yüksek hücre içi pH nedeniyle asit disosiyasyon olur ve protonlar ve anyonlar salınır ve proton itici kuvveti ile membranı parçalar (Adams ve Hall, 1988). Protonların birikmesi sitoplazmayı asitlendirir, hücrenin metabolik aktivitelerini engeller ve bu durum ATP ürünlerinde düşme ile sonuçlanır (Gould, 1996). Organik asitlerin funguslar üzerine inhibisyon etkisine neden olan mekanizma, fungal patojenlerin organik asitler tarafından enzim aktivitelerinin inhibisyonu, ve ayrıca organik asitlerin disosiyasyon olmamış aktif fraksiyonlarının hücre membranını parçalaması ile açıklanabilir (Gerez ve ark., 2010).

Asetik asidin pKa değeri (4.8) laktik asidin pKa (3.83) değerinden daha yüksektir, önce disosiyasyon olmamış asetik asit molekülleri oluşur ve pH 3.83'ün altına düştüğünde laktik asit molekülleri oluşur. Ayrıca, asetik asit yüksek disosiyasyon katsayısına sahiptir ve fungal gelişimi önlemek adına daha etkilidir (Batish ve ark., 1997). Man Rogosa Sharpe (MRS) sıvı besi yerinin antifungal aktivitesi ortamda oluşan asetik asitten dolayı olabileceği bildirilmiştir (Cabo ve ark., 2002). MRS sodyum asetat içerir ve laktik asit sentezi pH düşmesine ve disosiyasyon olmamış asetik asit moleküllerinin oluşmasına ve böylece antifungal aktiviteye neden olur. Ortamda oluşan başlıca asit laktik asittir, ancak birçok maya ve küf gelişimini engellemede etkili olmadığı pek çok çalışmada öne sürülmüştür (Niku-Paavola ve ark., 1999). *Fusarium avenaceum*'un kontrolünde laktik asidin etkin olmadığı tespit edilmiştir (Niku-Paavola ve ark., 1999). Benzer gözlemler *Penicillium digitatum*'a karşı yapılan testlerde de tespit edilmiştir (Gerez ve ark., 2010). Bu duruma karşı olarak, *Leuconostoc* ve *Weissella* türlerinden üretilen organik asitlerin ve bozulmaya neden olan fungusların gelişimini önlemede biyokoruyucu olarak kullanımı rapor edilmiştir (Lan ve ark., 2012). Son zamanlarda yapılmış bir çalışmada, laktik asit *L. plantarum* UFG 108 ve *L. plantarum* UFG 121 tarafından üretilmiş başlıca antifungal madde olarak rapor edilmiştir ve geniş aralıkta fungus türünü (*Aspergillus niger*, *A. flavus*, *F. culmorum*, *P. roqueforti*, *P. expansum*, *P. chrysogenum*,

**Çizelge 2.** Gıdalardan izole edilmiş antifungal LAB ile ilgili seçilmiş çalışmalar

LAB Çeşidi	İzolasyon Kaynağı	Hedef Fungus	Aktif Madde	Literatür
<i>L. plantarum</i> LBP-K10	Kore Geleneksel fermente sebze ürünleri	<i>Ganoderma boninense</i>	Siklik dipeptitler; cis-siklo(L-Val-L-Pro) ve cis-siklo(L-Phe-L-Pro)	Kwak ve ark. (2014)
<i>L. plantarum</i> HD1	Kimçi	Gıda kaynaklı filamentli küf ve mayalar <i>F. culmorum</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>P. expansum</i> , <i>A. niger</i> , <i>Debaryomyces hansenii</i> ve <i>C. parapsilosis</i>	5-okso dodekanoik asit, 3-hidroksi dekanonik asit ve 3-hidroksi-5-dodesenoik asit	Ryu ve ark. (2014)
<i>L. sakei</i> KTU05-6, <i>P. acidilactici</i> KTU05-7	Litvanya çavdar ekşi hamurları	<i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> ve <i>Penicillium</i>	Organik asitler ve bakteriyosin benzeri maddeler	Cizeikiene ve ark. (2013)
<i>L. plantarum</i> CRL 778, <i>L. reuteri</i> CRL 1100 <i>L. brevis</i> CRL 772 ve CRL 796	Ekşi hamur	<i>A. fumigatus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>F. oxysporum</i> ve <i>Penicillium</i> sp.	Asetik asit ve FLA	Gerez ve ark. (2009)
<i>P. acidilactici</i> LAB 5	Fermente et	<i>A. parasiticus</i> , <i>A. flavus</i> ve <i>Fusarium</i> sp.	Fenolik maddeler	Mandal ve ark. (2007)
<i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> CHD 28.3	Peynir		Proteine benzer yapıda maddeler	Roy ve ark. (1996)

ve *Cladosporium* sp.) inhibe ettiği gözlenmiştir (Russo ve ark., 2016).

3-fenillaktik asit (FLA), geniş antibakteriyel ve antifungal etki spektrumuna sahip antimikrobiyal madde olarak bildirilmiştir (Crowley ve ark., 2013). LAB'nin ürettiği olduğu antifungal organik asitler arasında en fazla çalışılmış olanlardan biridir. FLA'nin *Candida pulcherrima*, *C. parapsilosis* ve *Rhodotorula mucilaginosa* gibi organizmaların gelişimini engellediği tespit edilmiştir (Schwenninger ve ark., 2008). Laktik asit bakterileri arasında *L. plantarum* 21B'nin FLA aktivitesi *L. reuteri* ve ark. (2000) tarafından ortaya konmuştur. Bu yeni antifungal bileşiği etil asetat içinde ekstrakte etmişler ve silika jel kromatogram ve spektroskop yöntemleri ile saflaştırmışlardır. *L. plantarum* 21B supernatantı buğday unu hidrolazatı ortamına inokule edilmiş ve birçok fungal patojenin (*Eurotium repens*, *E. rubrum*, *P. corylophilum*, *P. roqueforti*, *P. expansum*, *Endomyces fibuliger*, *A. niger*, *A. flavus*, *Monilia sitophila* ve *F. graminearum*) gelişimini bütünü ile engellediği tespit edilmiştir. Birçok LAB'nin FLA ve 4-hidroksi-fenillaktik asit sentezleme özelliğine sahip olduğu belirtilmiştir (Valerio ve ark., 2004). Dal Bello ve ark. (2007) tarafından *L. plantarum* FST 1.7 kültür supernatantından antifungal maddeler izole edilmiş olup, siklo (L-Leu-L-Pro), siklo (L-Phe-L-Pro), FLA ve laktik asit başlıca içerikler olarak belirlenmiştir.

Gerez ve ark. (2010), LAB kültürlerinin antifungal aktivitelerinin laktik asit, asetik asit ve FLA'den dolayı olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu organik asitlerin etkinliğini belirlemek üzere, *P. digitatum* and *Geotrichum citri* indikatör funguslar olarak kullanılmış ve FLA'nin en etkili olduğu tespit edilmiştir. *L. plantarum* VE56 ve *W. paramesenteroides* LC11 FLA, hidroksi yağ asitleri (HYA) ve organik asit karışımı üretmektedirler. Yine, *L. plantarum* IMAU10014 kültür supernatantından elde edilen başlıca bileşik FLA olmuştur. Ayrıca *Bacillus* türleri, *Brevibacteria* türleri ve propiyonik asit bakterileri gibi diğer mikroorganizmalar da FLA üretebilmektedirler (Zheng ve ark., 2011; Kamata ve ark., 1986; Lind ve ark., 2007). Birçok propiyonik asit bakterileri türünün (*Propionibacterium acidipropionici*, *P. freudenreichii* ssp. *shermanii*, *P. freudenreichii* ssp. *freudenreichii*, *P. thoenii* ve *P. jensenii*) FLA ürettiği oldukları, Lind ve ark. (2007) tarafından spektroskopik ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmiştir. Yakın zamanlarda, Wang ve ark. (2012), kıvılcık kaynaklı *L. plantarum* IMAU10014 suşundan yeni antifungal maddeler saflaştırmışlar ve bunlar benzene asetik asit ve 2-propenilester olarak tanımlanmıştır. Bu maddeler, *Botrytis cinerea*, *F. oxysporum*, *Glomerella cingulata*, *Phytophthora*

*drechsleri*, *P. citrinum*, *P. digitatum* isimli funguslara karşı etki göstermiştir.

### Yağ Asitleri

Yağ asitlerinin fungusların inhibisyonuna neden olduğu bilinmektedir (Crowley ve ark., 2013). Dört tip fungus önleyici hidroksi yağ asidi (HYA); 3-(R)-hidroksidekanoik asit, 3-hidroksi-5-cis-dodekanoik asit, 3-(R)-hidroksidodekanoik asit ve 3-(R)-hidroksitetradekanoik asit, *L. plantarum* MiLAB 14 kültür supernatantından izole edilmiştir (Sjogren ve ark., 2003). Tüm HYA büyümenin logaritmik aşaması sırasında sentezlenmiştir. Bu durum, HYA'nin bakteri hücrelerinin parçalanmış hücre membranlarından kaynaklanmadığını göstermektedir. HFA'nin etkinliğinin kesin mekanizması henüz tam anlaşılmamıştır. Genel mekanizma, deterjan benzeri aktivite ve bakteri hücre zarlarını bozabilme ile açıklanabilir. Böylece zar geçirgenliği artar ve hücre içi elektrolitleri ve proteinleri fungus hücrelerinden kurtarır. Ekşi hamurdan elde edilmiş *L. sanfrancisco* CBI'in, *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. ve *Monilia* sp. türlerinin büyümesini inhibe eden bütirik, kaproik, propiyonik ve valerik asitlerini ürettiği bildirilmektedir (Corsetti ve ark., 1998). Bunların arasında, kaproik asit, diğer asitlerle birlikte hareket eden ana antifungal bileşiktir. Ndagano ve ark. (2011), antifungal 2-hidroksi-4-metilpentanoik asit varlığını *L. plantarum* VE56 ve *W. paramesenteroides* LC11 kültür supernatantlarında tespit etmişlerdir.

### Proteinli Bileşenler

Birçok yayın, LAB tarafından protein yapısındaki antifungal maddelerin üretimini göstermektedir (Roy ve ark., 1996; Schnürer ve Magnusson, 2005). Kültür supernatantının proteaz enzimleri (kimotripsin, tripsin ve pronaz E) ile işlem görmesi sonunda fungusları engelleyici etkinin kaybolduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca, *Lactobacillus casei* ssp. *pseudoplantarum* ile yapılan çalışmada, kültür supernatantının tripsin veya kimotripsin ile muamele edilmesi ile antifungal etkinliğinin azaldığı gözlenmiştir. Buradaki antifungal peptidin 1 kDa'nın altında olduğu belirtilmiştir (Gourama ve Bullerman, 1997). Yine, Magnusson ve Schnürer (2001) tarafından *L. coryniformis* ssp. *coryniformis*'den izole edilen antifungal maddenin, protein yapısında olduğu tespit edilmiştir ve bu aktif bileşiğin moleküler kütlesi yaklaşık 3 kDa olarak belirtilmiştir. Başka bir çalışmada, *E. faecalis* CHD 28.3'den santrifüj ve çeşitli kromatografik tekniklerle izolen edilen proteinin moleküler kütlesi 11 kDa olarak bulunmuştur (Roy ve ark., 2009).

Çeşitli kaynaklardan siklik dipeptitler izole edildiğini belirten çalışmalar da mevcuttur. Yan ve ark. (2004)'nin yaptığı

çalışmada, *Achromobacter xylosoxidans* tarafından üretilen siklo-(Leu-Pro)'dan söz edilmektedir. LAB tarafından üretilen bazı siklik dipeptitler ve diğer dipeptitler farklı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Niku-Paavola ve ark (1999), *L. plantarum* tarafından üretilen siklo-(Gly-L-Leu), benzoik asit ve 3-(2-metilpropil)-2,5-piperazindion sentezlendiğini belirtmişlerdir ve bu maddelerin *Pantoea agglomerans* ve *F. avenaceum*'a karşı aktif oldukları tespit etmişlerdir. Magnusson ve Schnürer (2001), *L. coryniformis* tarafından siklo (Phe-Pro) ve (Phe-4-OH-Pro) adlı siklik peptitlerin ve FLA sentezlendiğini rapor etmişlerdir. *L. plantarum* tarafından üretilen geniş spektrumlu antifungal peptitlerin varlığı tespit edilmiştir ancak az sayıda araştırmacı LAB tarafından üretilen mayaya karşı etkin protein tespit etmişlerdir (Okkers ve ark., 1999; Smaoui ve ark., 2010).

Pek çok çalışmada, *L. plantarum* tarafından geniş spektrumlu antifungal peptitlerin varlığı tespit edilmiştir (Kwak ve ark., 2014). Bütün bu çalışmalardan, LAB'nin antifungal aktivite etkisinin tek bir maddeden değil, madde karışımından dolayı olduğu ve bu etkinin düşük pH'larda daha aktif olduğu anlaşılmaktadır (Gajbhiye ve Kapadnis, 2016). Bu maddelerin saflaştırılarak tanımlanmaları ve tek başına etkinliklerinin belirlenmesi önemlidir ancak diğer maddelerin varlığı ile ortaya çıkan sinerjistik etkileşimler istenilen düzeyde antifungal etkinlik için mutlaka gözönünde bulundurulmalıdır (Schnürer ve Magnusson, 2005).

### **Diğer Bileşikler**

Birçok LAB, pek çok mikroorganizmanın büyümesini engelleyen hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) üretir. LAB'nin çoğunda flavoprotein oksidaz enziminin varlığı,  $H_2O_2$  üretmelerini sağlamaktadır (Kandler, 1983). LAB'ndeki katalaz enziminin eksikliğinden dolayı, ortamda  $H_2O_2$  birikir ve bu durum diğer hassas organizmaların membran lipitlerini ve proteinlerini okside eder. Düşük  $H_2O_2$  konsantrasyonlarında bile mikroorganizmalar için öldürücü olabilir. Süt ile ilişkili ortamlarda bulunduğu, antifungal etkinin gözlenmesi sütün içerdiği laktoperoksidaz ve tiyosiyanat maddeleri ile de ilişkilidir. Laktoperoksidaz, tiyosiyanat ile  $H_2O_2$  reaksiyonunu katalize eder ve hipotiyosiyanat ve ara ürünler oluşturur böylece mikrobiyal gelişmeyi engeller (Kandler, 1983). LAB tarafından fermente edilen süt ürünlerinde, laktoperoksidaz ve tiyosiyonatın bulunmasından dolayı bu mikrobisidal reaksiyon gerçekleşir. Reuterin (3-hidroksipropiyonaldehit) gliserol degradasyonundan gelir ve LAB tarafından üretilmiş antimikrobiyal bir maddedir (Schnürer ve Magnusson, 2005). Geniş bir etki spektrumuna sahip olan reuterin; antibakteriyel, antifungal, antiprotozoal ve antiviral aktiviteye sahiptir. *Lactobacillus reuteri*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. collinoides* ve *L. coryniformis* tarafından anerobik koşullarda üretildiği çeşitli çalışmalarda mevcuttur (Schutz ve Radler, 1984; Claisse ve Lonvaud-Funel, 2000; Nakanishi ve ark., 2002; Schnürer ve Magnusson, 2005). Ortama gliserol eklenmesi durumunda, *L. coryniformis* tarafından reuterin üretiminin artmış olduğu gözlenmiştir (Claisse ve Lonvaud-Funel, 2000). Yapılan çalışmalarda reuterinin *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Aspergillus* ve *Fusarium* cinsleri üzerinde antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir (Chung ve ark., 1989).

## **Gıdalarda Biyokontrol Ajanı Olarak Antifungal LAB'nin Kullanımı**

LAB antibakteriyel ve antifungal maddeler için potansiyel kaynaklardır. LAB doğal olarak gıdalarda bulunurlar veya saf kültür olarak gıdalara eklenirler. Antifungal LAB'nin çeşitli gıdalarda ve hayvan yemlerinde uygulamaları söz konusu olabilmektedir. Gıda endüstrisinde hem tüketici, hem de yasal düzenlemeler ile ortaya çıkan minimum işlenmiş, doğal içeriklere sahip yüksek kalitedeki gıdaların üretimi konusundaki ihtiyaç ile birlikte gıda bozulmalarını engellemede yeni yöntemler üzerine odaklanılmıştır. LAB'nin antifungal özelliklerinin çeşitli gıdalarda çalışılması ve *in-situ* testleri, GRAS statüsündeki bu organizmaların biyokoruyucu olarak potansiyel uygulamasını doğrulamak adına önemli ve gereklidir. Bu çalışmalara duyuşal özelliklerin ve gıda güvenliği konularının dahil edilmesi de önemli diğer hususlardandır. Bazı önemli ürün grubu uygulama çalışmalarına aşağıda yer verilmiştir.

### **Taze Meyve ve Sebze Ürünlerinde**

Yüksek su içeriğine sahip olduğu bilinen taze meyve ve sebzeler taşıma ve uzun süre depolama süreçlerinde, istenmeyen birçok fungus için uygun bir ortam oluşturmaktadır. *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* ve *Botrytis* türleri başlıca fungal bozulmaya neden olan türlerdir. Sathe ve ark 2007'de, salatalıklar üzerine yaptıkları çalışmalarında, *L. plantarum* CUK501 suşunun, kontroller ile mukayese edildiğinde, 4 farklı fungus gelişimini 8 güne kadar inhibe ettiğini tespit etmişlerdir.

*Penicillium*'un neden olduğu bozulma elma, armut, erik ve üzümde *Pediococcus* ve *Weissella* izolatlarının kullanılması ile geciktirebilmiştir (Crowley ve ark., 2013; Lan ve ark., 2012). Yine, *L. plantarum* IMAU10014'ün kültür filtratının, domates yapraklarında *Botrytis cinerea*'nın gelişimini azalttığı bulunmuştur (Wang ve ark., 2012).

En yakın uygulamalardan bir tanesi, *L. plantarum* IMAU10014'in mutant suşu üzerine yapılmıştır (Wang ve ark., 2013). Bu çalışmalar, antifungal LAB'nin ve/veya metabolitlerinin taze meyve ve sebzelerin taşınması ve depolanması süreçlerindeki fungal gelişmeyi geciktirmesini desteklemektedir.

### **Süt ve Süt Ürünlerinde**

Peynir ve diğer fermente süt ürünlerinde de fungal bozulmalar önemli olabilmektedir. Fermente süt ürünlerinde laktik asit bakterileri rutin şekilde starter kültür olarak kullanılmaktadır ve fungal kontaminasyonu azalttığı belirtilmiştir. Yoğurt, düşük pH değeri, buzdolabı sıcaklıklarında depolanması ve belirli ürünlerinde meyve içermesi nedenleri ile belli başlı maya türleri ile kontamine olmaktadır. *L. paracasei* subsp. *paracasei* ve *Propionibacterium jensenii*'nin çeşitli *Candida* türlerinin gelişimini *in-situ* yoğurt modelinde ve peynir yüzeyinde geriletmiş olduğu belirtilmiştir (Schwenninger ve Meile, 2004). Başka bir çalışmada, yoğurttaki starter kültürlerin yanısıra *Lactobacillus harbinensis* K.V9.3.1Np ve *L. rhamnosus* K.C8.3.1 gibi antifungal yardımcı kültürlerin seçilmesinin yoğurt starterlerinin asidifikasyon ve gelişim hızlarını değiştirmediği ve de pH, laktik asit veya asetik asit düzeylerini etkilemediği belirtilmiştir (Delavenne ve ark., 2012) ve bu organizmaların, *Debaryomyces hansenii* ve *Rhizopus mucilaginosus* gibi fungus türlerine karşı koruyuculuk göstermiş olduğu belirtilmiştir. Peynirler, ayrıca *P. roqueforti* gibi psikololerant küflere karşı hassastırlar. Yine süt ürünlerinde, yardımcı kültür olarak kullanılan *L. plantarum* izolatlarının çedar peynirinin üretiminde



kullanıldığında, anti-küf özellikler göstermiş olduğu tespit edilmiştir (Zhao, 2011). Bunun yanında, işlem görmüş peynir dilimleri ve antifungal LAB ile uygulama yapıldığında peynirlerin raf ömründe gelişmeler elde edilmiştir (Garcha ve Natt, 2011; Muhiyeldini ve ark., 2011). Sözü geçen izolatların kullanılması, yoğurt ve peynirde kullanılan sodyum benzoat ve natamisin gibi koruyucuların yerine doğal bir alternatif olma özelliği göstermektedir.

### Fırıncılık ve Ekmek Ürünleri

Ekmek, insan beslenmesinde önemli yeri olan başlıca tahıl ürünlerindedir. Ekmekte fungusların gelişimi gıda endüstrisinde uzun yıllardır hem ekonomik açıdan hem de sağlık yönünden problem oluşturmaktadır. Geniş kapsamlı, antifungal ekşi hamur starterlerinin uygulamaları ile ilgili *L. plantarum* izolatları gibi *Lactobacillus* cinsi üzerine çalışmalar mevcuttur. Antifungal ekşi hamur starter LAB'nin uygulamalarına ilişkin ilk dökümanlardan biri *L. plantarum* 21B izolatının *Saccharomyces cerevisiae* ile birlikte kullanıldığı çalışmadır (Lavermicocca ve ark., 2000). Bu çalışmada, *A. niger* FTDC3227 küfünün gelişimi 7 gün geciktirilmiş olduğu belirtilmektedir. Ancak, son ürünün duyu analizleri ile ilgili bir çalışma yapılmamıştır. Bunun yanı sıra farklı *Lactobacillus* türleri ekmek üretiminde fungal inhibisyon için kullanılmıştır. *L. amylovorus* DSM19280 içeren buğday ekmeğinin raf ömrü bazı küflerin (*Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium*) inhibisyonu ile iyileştirilmiştir (Ryan ve ark., 2011). Bunun yanında, antifungal pediokokların da ekmekte küf gelişimini kontrol ettiği gösterilmiştir. *Pediococcus acidilactici* KTU05-7 ve *Pediococcus pentosaceus* KTU05-8 ve KTU05-10 suşlarının ekmek üzerine sprey şeklinde uygulandığında *Fusarium culmorum* Al-2 ve *Candida parapsilosis* C.7.2 gibi gıda ilişkili küflere karşı koruyuculuk sağladığı belirtilmiştir (Cizeikiene ve ark. 2013). *Lactobacillus buchneri* FUA 3525 ve *Lactobacillus diolovorans* DSM 14421 ile ekşi hamurun yardımcı fermentasyonu sonucu biriken asetat ve propiyonat *Aspergillus clavatus* ve *Cladosporium* türleri gibi ekmekte bozulmaya neden olan küflerin gelişimini engellemiştir (Zhang ve ark., 2010).

### SONUÇ

Özellikle son on yılda, antifungal LAB alanında çok önemli ilerlemeler gerçekleşmiştir. Ancak, bazı sınırlamalar ve bilgi boşluklarının hala ele alınması gerekmektedir. Antifungal uygulamalar üzerine birçok yayın olmasına rağmen, az sayıda çalışmada son ürün kalitesi araştırılmıştır. Ayrıca, sağlık etkileri gibi güvenlik konuları henüz yeterince incelenmemiştir. Bu nedenle, antifungal suşların karakterize edilmesinde güvenlik konusu da standart bir uygulama olarak dahil edilmelidir. Zaman içerisinde yeni bilgi, bulgu ve uygulamalar ile antifungal LAB, biyokoruyucu olarak kimyasal koruyucuların kullanımını azaltabilir ve bazı durumlarda yerine bile geçebilir. Yine çalışmaların pek çoğunda *Lactobacillus* üyelerinin antifungal aktivitesini vurgulanmaktadır, ancak, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* cinslerinin de benzer antimikrobiyal potansiyele sahip oldukları ve antifungal maddeler için iyi kaynaklar olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

### KAYNAKLAR

Adams MR, Hall CJ (1988) Growth Inhibition of Food-borne Pathogens by Lactic Acid and Acetic Acids and Their Mixtures. International Journal of Food Science and Technology 23: 287-292.

- Axelsson L (2004) Lactic acid bacteria: Classification and Physiology. In Salminen A, Von Wright A, Ouwehand (Eds.), Lactic acid bacteria. Microbiology and functional aspects, NT: Marcel Dekker, Newyork, 1-66.
- Batish VK, Roy U, Lal R, Grover S (1997) Antifungal Attributes of Lactic Acid Bacteria – A Review. Critical Reviews in Biotechnology 17: 209-225.
- Cabo ML, Braber AF, Koenraad PMFJ (2002) Apparent Antifungal Activity of Several Lactic Acid Bacteria against *Penicillium* Discolor due to Acetic Acid in The Medium. Journal of Food Protection 65: 1309-1316.
- Chung TC, Axelsson L, Lindgren SE, Dobrogosz WJ (1989) In Vitro Studies on Reuterin Synthesis by *Lactobacillus reuteri*. Microbial Ecology in Health and Disease 2: 137-144.
- Cizeikiene D, Juodeikiene G, Paskevicius A, Bartkiene E (2013) Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria against Pathogenic and Spoilage Microorganism Isolated from Food and Their Control in Wheat Bread. Food Control 31: 539-545.
- Claisse O, Lonvaud-Funel A (2000) Assimilation of Glycerol by a Strain of *Lactobacillus collinoides* Isolated from Cider. Food Microbiology 17: 513-519.
- Corsetti A, Gobbetti M, Rossi J, Damiani P (1998) Antimould Activity of Sourdough Lactic Acid Bacteria: Identification of a Mixture of Organic Acids Produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CBI. Applied Microbiology and Biotechnology 50:253-256.
- Crowley S, Mahony J, van Sinderen D (2013) Current Perspectives on Antifungal Lactic Acid Bacteria as Natural Bio-preservatives. Trends in Food Science and Technology 33(2): 93-109.
- Dal Bello F, Clarke CI, Ryan LAM, Ulmer H, Schober TJ, Strom K, Arendt EK (2007) Improvement of the Quality and Shelf Life of Wheat Bread by Fermentation with the Antifungal Strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. Journal of Cereal Science 45:309-318.
- Delavenne E, Ismail R, Pawtowski A, Mounier J, Barbier, B (2012) Assessment of *Lactobacillus* Strains as Yoghurt Bioprotective Cultures. Food Control 30: 206-213.
- Gajbhiye MH, Kapadnis BP (2016) Antifungal-activity-Producing Lactic Acid Bacteria as Biocontrol Agents in Plants. Biocontrol Science and Technology 26(11):1451-1470.
- Garcha S, Natt NK (2011) In Situ Control of Food Spoilage Fungus Using *Lactobacillus acidophilus* NCDC 291. Journal of Food Science and Technology 49: 643-648.
- Gerez CL, Torino, MI, Rollán G, De Valdez GF (2009) Prevention of Bread Mould Spoilage by Using Lactic Acid Bacteria with Antifungal Properties Food control 20(2): 144-148.
- Gerez CL, Carbajo MS, Rollan G, Torres GL, Font de Valdez G (2010) Inhibition of Citrus Fungal Pathogens by Using Lactic Acid Bacteria. Journal of Food Science:75, 354-359.
- Gould GW (1996) Methods for Preservation and Extension of Shelf Life. International Journal of Food Microbiology 33: 51-64.
- Gourama H, Bullerman LB (1997) Anti-aflatoxigenic Activity of *Lactobacillus casei* ssp. *pseudoplantarum*. International Journal of Food Microbiology 34: 131-143.
- Kamata M, Toyomasu R, Suzuki D, Tanaka T (1986) D-phenyllactic acid Production by *Brevibacterium* or *Corynebacterium*. Patent JP 86108396.
- Kandler O (1983) Carbohydrate Metabolism in Lactic Acid Bacteria. Antoine van Leuwenhoek 49: 202-224.

- Kwak MK, Liu R, Kim MK, Moon D, Kim AH, Song SH, Kangn AO (2014) Cyclic Dipeptides from Lactic Acid Bacteria Inhibit the Proliferation of Pathogenic Fungi. *Journal of Microbiology* 52:64–70.
- Laitila A, Alakomi H L, Raaska L, Mattila Sandholm T, Haikara A (2002) Antifungal Activities of Two *Lactobacillus plantarum* Strains against *Fusarium* Moulds in Vitro and in Malting of Barley. *Journal of Applied Microbiology* 93(4): 566–576.
- Lan W, Chen Y, Wu H, Yanagida F (2012) Bio-protective Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Wax Gourd. *Folia Microbiologica* 57: 90–105
- Lavermicocca P, Valerio F, Evidente A, Lazzaroni S, Corsetti A, Gobbetti M (2000) Purification and Characterization of Novel Antifungal Compounds from the Sourdough *Lactobacillus plantarum* Strain 21B. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 4084–4090.
- Lind H, Sjogren J, Gohil S, Kenne L, Schnurer J, Broberg A (2007) Antifungal compounds from cultures of dairy propionibacteria type strains. *FEMS Microbiology Letters* 271: 310–315.
- Magnusson J, Schnürer J (2001) *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* Strain Si3 Produces a Broad-spectrum Proteinaceous Antifungal Compound. *Applied and Environmental Microbiology* 67(1): 1–5.
- Mandal V, Sen SK, Mandal N C (2007) Detection, Isolation and Partial Characterization of Antifungal Compound (s) Produced by *Pediococcus acidilactici* LAB 5. *Natural Product Communications* 2(6):671–674.
- Muhialdini BJ, Hassan Z, Sadon, S K, Zulkifli NA, Azfari AA (2011) Effect of pH and Heat Treatment on Antifungal Activity of *Lactobacillus fermentum* Te007, *Lactobacillus pentosus* G004 and *Pediococcus pentosaceus* Te010. *Innovative Romanian Food Biotechnology* 8: 41–53.
- Munoz R, Arena ME, Silva J, Gonzalez SN (2010) Inhibition of Mycotoxin –producing *Aspergillus nomius* VSC 23 by Lactic Acid Bacteria and *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Microbiology* 41: 1019–1026.
- Nakanishi K, Tokuda H, Ando T, Yajima M, Nakajima T, Tanaka O, Ohmomo S (2002) Screening of Lactic Acid Bacteria Having the Ability to Produce Reuterin. *Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria* 13: 37–45.
- Ndagano D, Lamoureux T, Dortu C, Vandermoten S, Thonart P (2011) Antifungal Activity of 2 Lactic Acid Bacteria of the *Weissella* Genus Isolated from Food. *Journal of Food Science* 76: M305–M311.
- Niku-Paavola ML, Laitila A, Mattila-Sandholm T, Haikara A (1999) New Types of Antimicrobials Produced by *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology* 86:29–35.
- Okkers DJ, Dicks LM, Silvester M, Joubert JJ, Odendaal, HJ (1999) Characterization of Pentocin TV35b, a Bacteriocin-like Peptide Isolated from *Lactobacillus pentosus* with a Fungistatic Effect on *Candida albicans*. *Journal of Applied Microbiology* 87: 726–734.
- Orla-Jensen S (1942) The lactic acid bacteria (Vol. 2, No. 3). Ejnar Munksgaard.
- Piper P, Calderon OC, Hatzixanthis K, Mollapour M (2001) Weak Acid Adaptation: The Stress Response that confers Yeasts with Resistance to Organic Acid Food Preservatives. *Microbiology* 147:2635–2642.
- Prema P, Smila D, Palavesam A, Immanuel G (2010) Production and Characterization of an Antifungal Compound (3-Phenyllactic acid) produced by *Lactobacillus plantarum* Strain. *Food and Bioprocess Technology* 3: 379–386.
- Roy U, Batish VK, Grover S, Neelakantan S (1996) Production of Antifungal Substance by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CHD-28.3. *International Journal of Food Microbiology* 32(1-2): 27–34.
- Roy U, Kaushik JK, Grover S, Batish VK (2009) Partial Purification of an Antifungal Protein Produced by *Enterococcus faecalis* CHD 28.3. *Annals of Microbiology* 59: 279–284.
- Russo P, Arena MP, Fiocco D, Capozzi V, Drider D, Spano G (2016) *Lactobacillus plantarum* with Broad Antifungal Activity: A Promising Approach to Increase Safety and Shelf-life of Cereal-based Products. *International Journal of Food Microbiology* 247: 48–54.
- Ryan LA, Zannini E, Dal Bello F, Pawlowska A, Koehler P, Arendt EK (2011) *Lactobacillus amylovorus* DSM 19280 as a Novel Food-grade Antifungal Agent for Bakery Products. *International Journal of Food Microbiology*, 146, 276–283.
- Ryu EH, Yang E J, Woo ER, Chang HC (2014) Purification and Characterization of Antifungal Compounds from *Lactobacillus plantarum* HD1 Isolated from Kimchi. *Food Microbiology* 41: 19–26
- Sathe SJ, Nawani NN, Dhakephalkar PK, Kapadnis BP (2007) Antifungal Lactic Acid Bacteria with Potential to Prolong Shelf-life of Fresh Vegetables. *Journal of Applied Microbiology* 103: 2622–2628.
- Schnürer J, Magnusson J (2005) Antifungal Lactic Acid Bacteria as Biopreservatives. *Trends in Food Science and Technology* 16(1):70–78.
- Schutz H, Radler F (1984) Anaerobic Reduction of Glycerol to Propanediol-1, 3 by *L. brevis* and *L. buchneri*. *Systematic and Applied Microbiology* 5: 69–178.
- Schweninger SM, Meile, L(2004) A Mixed Culture of *Propionibacterium jensenii* and *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* Inhibits Food Spoilage Yeasts. *Systematic and Applied Microbiology* 27: 229–237.
- Schweninger SM, Lacroix C, Truttman S, Jans C, Spornli C, Bigler L, Meile L (2008) Characterization of Low-molecular-weight Antiyeast Metabolites Produced by a Food-protective *Lactobacillus-Propionibacterium* Coculture. *Journal of Food Protection* 71: 2481–2487.
- Sjogren J, Magnusson J, Broberg A, Schnurer J (2003) Antifungal 3-hydroxyl fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB14. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 7554–7557.
- Smaoui S, Elleuch L, Bejar W, Karray-Rebain I, Ayadin I, Jaouadi B, Mellouli L (2010) Inhibition of Fungi and Gram-negative Bacteria by Bacteriocin BacTN635 Produced by *Lactobacillus plantarum* sp. TN635. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 162:4, 1132–1146.
- Strom K, Sjogren J, Broberg A, Schnurer, J (2002) *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 Produces the Antifungal Cyclic Dipeptides Cyclo(L-Phe-L-Pro) and Cyclo (L-Pro-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. *Applied and Environmental Microbiology* 68:4322–4327.
- Valerio F, Lavermicocca P, Pascale M, Visconti A (2004) Production of Phenyllactic Acid by Lactic Acid Bacteria: An Approach to the Selection of Strains Contributing to Food Quality and Preservation. *FEMS Microbiology Letters* 233: 289–295.
- Wang H, Sun Y, Chen C, Sun Z, Zhou Y, Shen F (2013) Genome Shuffling of *Lactobacillus plantarum* for Improving Antifungal Activity. *Food Control* 32: 341–347.

- Wang H, Yan Y, Wang J, Zhang H, Qi W (2012) Production and Characterization of Antifungal Compounds Produced by *Lactobacillus plantarum* IMAU10014. *PLoS one* 7(1): e29452.
- Wood BJ, Holzappel WHN (1995) *The Genera of Lactic Acid Bacteria* (Vol. 2). , Blackie Academic and Professional, Glasgow.
- Yan PS, Song Y, Sakuno E, Nakajima H, Nakagawa H, Yabe K (2004) Cyclo (L-Leucyl-L-Prolyl) Produced by *Achromobacter xylosoxidans* Inhibits Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus*. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 7466–7473.
- Zhang C, Brandtb MJ, Schwaba C, Ganzlea MJ (2010) Propionic Acid Production by Cofermentation of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus diolivorans* in Sourdough. *Food Microbiology* 27: 390-395.
- Zhao D (2011) Isolation of Antifungal Lactic Acid Bacteria from Food Sources and Their Use to Inhibit Mould Growth in Cheese. Doktora tezi, Kaliforniya Politeknik Devlet Üniversitesi, San Luis Obispo.
- Zheng Z, Ma C, Gao C, Li F, Qin J, Zhang H, Wang K, Xu, P (2011). Efficient Conversion of Phenylpyruvic Acid to Phenyllactic Acid by Using Whole Cells of *Bacillus coagulans* SDM. *PLoS one* 6(4): e19030.