

LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ TARAFINDAN ÜRETİLEN ANTİFUNGAL BİLEŞENLER

Didem Akpınar, Gülden Başyigit Kılıç*

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü,
Süt ve Ürünleri Programı, Burdur

Geliş tarihi / Received: 31.07.2011

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 09.09.2011

Kabul tarihi / Accepted: 19.10.2011

Özet

Maya ve küfler depolanan gıda ve yemlerde bozulmaya neden olan mikroorganizmalar olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle süt ve et ürünleri, ekme, meyve suları, reçel ve salça gibi farklı ürünlerde maya ve küfler tat, koku ve dış görünüşte yarattıkları bozulmalar, kalite kayıpları ve ekonomik kayıpların yanı sıra ürettikleri mikotoksinler ile de çeşitli sağlık problemlerine neden olmaktadır. Tüketicilerin fazla işlem görmemiş gıdalara olan talebinin artması ve kimyasal koruyucu maddelerin gıda endüstrisinde kullanımının azaltılması yönündeki talepleri, laktik asit bakterilerinin maya ve küf gelişimi üzerinde biyokoruyucu olarak kullanılmalarıyla ilgili çalışmaların artmasına sebep olmuştur. *Lactobacillus plantarum*, *L. rhamnosus* ve *L. reuteri* başta olmak üzere farklı laktik asit bakterilerinin ürettikleri organik asitler, hidrojen peroksit, reuterin, yağ asitleri, siklik dipeptitler gibi çeşitli antifungal bileşenlerin gıda endüstrisinde biyokoruyucu olarak özellikle *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* ve *Candida* gibi farklı küf ve mayalar üzerinde kullanılmaları gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Bu derlemede laktik asit bakterileri tarafından üretilen antifungal bileşenler ve özellikleri açıklanmaya çalışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Biyokoruma, laktik asit bakterisi, antifungal

ANTIFUNGAL COMPONENTS PRODUCED FROM LACTIC ACID BACTERIA

Abstract

Yeast and molds appear to be important spoilage microorganisms in stored food and feed. Yeast and molds create deterioration in taste, smell, appearance of especially milk and meat products, bread, fruit juices, jam and tomato paste and led to quality and economic losses as well as cause a variety of health problems by producing mycotoxins. Increasing consumer demands for non processed food and reduction in chemical preservation in the food industry led to an increase the number of studies related to possible usage of lactic acid bacteria as biopreservatives against yeast and mold growth. The use of lactic acid bacteria in food industry as biopreservative against mold and yeast such as *Aspergillus*, *Fusarium* and *Candida* is becoming widespread because of antifungal components like organic acids, hydrogen peroxide, reuterin, fatty acids, cyclic dipeptides produced by different lactic acid bacteria such as *Lactobacillus plantarum*, *L. rhamnosus* and *L. reuteri*. In this review, antifungal components produced by lactic acid bacteria and their properties are explained.

Keywords: Biopreservation, lactic acid bacteria, antifungal

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ gklic@mehmetakif.edu.tr

☎ (+90) 248 213 4581

☎ (+90) 248 234 5604

GİRİŞ

Laktik asit bakterileri (LAB), metabolizmaları sırasında laktozu parçalayarak laktik asit üreten mikroorganizmalar olarak tanımlanır ve çok eski zamanlardan beri geleneksel gıdaların hazırlanmasında, depolanmasında ve silaj oluşumunda kullanılmaktadır. LAB; et, süt ürünleri ve sebzeler başta olmak üzere beslenme değeri zengin olan ortamlarda gelişebilirler (1). Maya ve küfler, endüstriyel anlamda çeşitli gıda maddeleri, antibiyotik, vitamin, enzim vb. pek çok ürünün elde edilmesinde kullanılmaktadır. Ancak bazı gıda kaynaklı maya ve küfler, çeşitli ortamlarda kolaylıkla gelişebilmeleri ve önemli bozulmalara sebep olmalarından dolayı depolanan gıdalarda ve hayvan yemlerinde istenmeyen mikroorganizmalar olarak karşımıza çıkmaktadır (2, 3).

Gıda ve yemler sahip oldukları pH, beslenme değeri, su aktivitesi gibi iç faktörler ve depolama sıcaklığı diğer mikroorganizmaların varlığı gibi çevresel faktörlere bağlı olarak mikrobiyel gelişmeye açık olan substratlardır. Yapılan farklı araştırmalarla peynir çeşitlerinin çoğunda çeşitli toksik küf türlerine ve mikotoksinlere rastlandığı kaydedilirken (4), *Penicillium commune*, *P. nalgiovense*, *P. roqueforti* gibi *Penicillium* cinsine ait küflerin peynir, ekmek ve et ürünlerinde; *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin depolama süresince hububatlarda; *Fusarium* türlerinin ise buğday, arpa gibi tahıl ürünlerinde bozulmaya neden olduğu belirtilmektedir. *Debaromyces hansenii*, *Kluyveromyces* sp, *Rhodotorula* sp. ve çoğu *Candida* sp. peynir ve yoğurt gibi süt ürünlerinde, *Zygosaccharomyces* türlerinin de içinde bulunduğu bazı mayalar ise meyve suları, reçel ve salça gibi şeker içeriği yüksek ve asitli ürünlerde bozulmaya neden olmaktadır (3).

Günümüzde tüketicilerin beslenme alışkanlıklarının değişmesi ve güvenli gıda tüketimi konusunda bilinçlenmeleri raf ömrü uzun, kimyasal katkı maddesi ve koruyucu içermeyen gıda maddelerine olan talebin artmasına sebep olmuştur (5). Tüketicilerin güvenli ve yüksek kaliteli ürün istekleri yeni ve doğal koruma yöntemlerinin ortaya konmasını sağlamıştır. Antimikrobiyel etkiye sahip olduğu bilinen bazı mikroorganizmaların ve/veya mikroorganizmaların ürettiği antimikrobiyel metabolitlerin ürünlere ilavesi anlamına gelen "biyokoruma" (6) çerçevesinde doğal koruyucu

olarak kullanılabilen mikroorganizmaların belirlenmesi yönünde yapılan çalışmalar da artmıştır. Gıda üretiminde uzun yıllardır geleneksel ve endüstriyel boyutta kullanılan LAB biyokoruma işlemi çerçevesinde bir kat daha önem kazanmış ve bozulma etkeni olan farklı mikroorganizmalar üzerine inhibe edici etkileri bilinen LAB'nin (7-8) ürettiği antifungal bileşenler ve bu bileşenlerin etki mekanizmalarının belirlenmesine yönelik çalışmalar hızlanmıştır. Bu derlemede LAB tarafından üretilen antifungal bileşenler, bu bileşenlerin etki mekanizmaları ve konu ile ilgili yapılan çalışmalar hakkında bilgi verilmiştir.

LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ TARAFINDAN ÜRETİLEN ANTİFUNGAL BİLEŞENLER

Antifungal bileşenler patojenleri inhibe etmek, gıdaları maya ve küf gelişiminden koruyabilmek açısından önemlidir (3). Günümüzde maya ve küflerin antibiyotiklere, sorbik ve benzoik asit gibi kullanılan diğer koruyuculara ve temizlik maddelerine karşı direnç kazanmaya başlaması (9) önemli bir sorun teşkil etmektedir. Yapılan çalışmalarda sert peynirlerde bozulmaya sebep olan *P. discolor* suşlarının natamisine (10), *D. hansenii*, *C. versatilis* ve *Torulopsis delbrueckii* gibi mayaların ise süt işletmelerinde kullanılan kimyasal sanitasyon ve temizlik malzemelerine karşı dirençli olduğu belirlenmiştir (11). Bu nedenle sürekli kullanılan antibiyotik ve koruyucular gelecek için önemli bir risk yaratırken, ürünlerin raf ömrünü uzatmaya yönelik olarak kullanılan kimyasal koruyucular ise kanser başta olmak üzere çeşitli sağlık problemlerine yol açmaktadır (12). Bu anlamda biyokoruma mikrobiyel gelişmeyi engelleyerek gıdalarda oluşan bozulmalar ve ekonomik kayıpların azaltılması, gıda işleme maliyetlerinin düşürülmesi, az işlenmiş, yüksek kaliteli gıdaların üretimi için en uygun yöntem olarak görülmektedir (13).

Farklı gıdaların hazırlanmasında kullanılan LAB aynı zamanda patojen ve bozucu mikroorganizmaların gelişmesini önleyerek (14-15) ürünün raf ömrünün uzamasına ve beslenme değerinin gelişmesine de katkı sağlamaktadır (3, 16). Bu anlamda LAB zararsız, insan ve hayvan sağlığını destekleyici mikroorganizmalar olarak bilinmekte ve GRAS statüsünde yer almaktadır (6, 17, 18). Yapılan pek çok araştırmada LAB'nin ürettiği laktik asit, asetik asit, bakteriyosin, H₂O₂, formik asit,

propiyonik asit, diasetil, reuterin gibi bileşenlerin antifungal özellik gösterdiği belirtilmiş (3, 6, 19, 20), ancak çok az sayıdaki çalışmada bu bileşenlerin yapı ve mekanizmaları araştırılmıştır (6). LAB'nin antifungal aktiviteleri üzerinde bakterilerin gelişme sıcaklığı, inkübasyon süresi, besi ortamı ve pH gibi farklı parametrelerin etkili olduğu belirtilmektedir (21).

Erginkaya ve ark. (22) tarafından LAB'nin yoğurtlarda *A. flavus* gelişimini depolamanın 8. gününe kadar engellediği belirtilmiştir. Gürsel ve ark. (23) ise biyo profit koruyucu kültürünün yoğurtta *Kluyveromyces lactis* H-8583 suşunu 7 gün, *Geotricum candidum* 1 suşunu ise 15 gün süreyle etkili bir şekilde inhibe edebildiğini belirlemişlerdir. Erginkaya ve ark. (24) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCC 855, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCC 861 ve ticari yoğurt kültüründen Visbyvac Joghurt 709 kültürlerinin *P. expansum*'un gelişimini inhibe ettiği ve özellikle de misel oluşumunu engellediği belirlenmiştir. Durlu-Özkaya vd. (25) bazı *Lactobacillus* suşlarının 10 adet *Saccharomyces cerevisiae*, 1'er adet *Candida pseudotropicalis*, *C. krusei*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. cijferrii*, *Torulopsis glabrata* ve *Rhodotorula rubra* üzerindeki antifungal aktivitelerini araştırmışlar, *Lactobacillus* suşlarının özellikle *S. cerevisiae* üzerinde kuvvetli antifungal aktiviteye sahip olduklarını belirlemişlerdir. Korelilerin geleneksel turşusu olan kimçiden izole edilen *L. cruvatus*, *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. casei*, *L. pentosus* ve *L. sakei*'nin *A. flavus*, *F. moniliforme*, *P. commune* ve *R. oryzae* üzerinde geniş spektrumlu bir etkiye sahip olduğu, aynı zamanda laktobasillerin ürettiği toksik bileşenlerin misel büyümesi ve fungal biyokütle üzerinde etkili olduğu kaydedilmiştir (21). Prachyakij ve ark. (26) tarafından yapılan farklı bir çalışmada ise, *L. plantarum*'un *Rhodotorula* sp., *Pichia* sp., *Hansenula* sp., *Saccharomyces* sp. ve *Candida* sp türlerini inhibe ettiği belirtilmiştir. *L. plantarum* YO, *Lactococcus* spp. RS3 ve *L. brevis* WS3 suşlarının aflatoksin üreten *Aspergillus* türleri üzerinde vejetatif büyümeyi ve spor oluşumunu engellediği (27), *L. plantarum* KUB-KJ174'ün ise *Penicillium* ve *Aspergillus* türlerine karşı inhibe edici etki gösterdiği ortaya konmuştur (28). Yang ve Clausen (29), *L. casei* subsp. *rhamnosus* ve *L. acidophilus*'un ürettikleri laktik asit ve molekül

ağırlığı 1 kDa'dan düşük olan bileşiklerin test edilen maya ve küfler üzerinde %95-100 oranında değişen inhibe edici etki gösterdiğini, Oluwafemi ve Adetunji (30) ise fermente mısır şurubu (ogi) ve yoğurttan izole edilen *L. plantarum*, *L. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*'un *C. albicans* üzerinde inhibe edici etkisi olduğunu belirtmiştir.

Organik Asitler

Organik asitlerin antimikrobiyel etkileri dissosiyasyon olmamış yapıları ve pH'yı düşürme özellikleri ile sağlanmaktadır (6, 31-34). Dissosiyasyon olmamış lipofilik asitler hücre zarından difüze olarak hücre içerisinde ayrışmakta, serbest kalan H⁺ iyonları sayesinde sitoplazmanın asitliliğini arttırmaktadır (3, 35). Diğer taraftan bazı bilim adamları bu etkinin proton translokasyonu yerine anyon birikimi ile gerçekleştiğini ve büyümeyi inhibe ettiğini savunmaktadır. Anyon birikimi makromolekül sentezini azaltmakta, hücre zarı geçirgenliğini etkilemektedir. Hücre içi düşük pH ve yüksek proton konsantrasyonu geçirgenliği etkilemekte, proton itici gücünü nötralize etmekte, böylece fazla enerji harcanmasına, protein denatürasyonuna, canlılık kaybına ve DNA'nın bozulmasına neden olmaktadır. Bu durum da hücresel bileşenleri, yapılarını ve hücre içi fonksiyonlarını etkilemektedir (34). Mayalarda hücre içi pH düşüşü glikolizi inhibe etmekte ve direkt olarak gelişimi engellemektedir (3). Sporların zar tabakasındaki iyon dengesinde değişikliğe neden olan pH düşüşü, zar iyonlarının H⁺ iyonları ile yer değiştirmesine bağlı olarak sporların sıcaklık, düşük su aktivitesi gibi çevresel koşullara dayanıksız hale gelmesine neden olmaktadır (34).

Laktik streptokoklar oluşturdukları laktik asitle pH'yı 4.5-4.3'e kadar, laktobasiller de 3.5-3.2'ye kadar düşürebilmektedir (36). Düşük pH seviyesinde büyük miktardaki ayrışmamış laktik asit çoğu bakteri, maya ve küfler için toksik formdadır. LAB tarafından yüksek oranda üretilen asetik asit ve eser miktarda üretilen propiyonik asit hücre zarı ile etkileşime girerek hücre içi asitliliğini etkilemekte ve protein denatürasyonuna neden olabilmektedir. Asetik asit ve propiyonik asitlerin asitlik sabitinin laktik asitten daha yüksek olması (laktik asit 3.08, asetik asit 4.75, propiyonik asit 4.87) (6, 31, 34) ve belli pH'larda daha yüksek miktarda dissosiyasyon olmamış asit içermeleri sebebiyle bu asitler antimikrobiyel açıdan daha

etkilidirler. Asetik asit ve propiyonik asit laktik asit ile sinerjik olarak etki yaratmaktadır (6, 31). Laktik asit ortamın pH'sını düşürmekte ve böylece asetik asit ve propiyonik asidin toksisitesinin artmasını sağlamaktadır (31, 37). Fungisidal etkiden çok fungistatik etki gösteren propiyonik asit, *Torula* ve *Saccharomyces* cinsi mayalara etki etmektedir. Küflerden çok maya ve bakteriler üzerinde etkili olan asetik asit % 0.1 konsantrasyonunda *Aspergillus* sp. ve % 0.5 konsantrasyonunda *Saccharomyces* sp. üzerinde etkili olmaktadır (37). Süt ortamında *L. reuteri* CCM 3625 tarafından üretilen laktik asit (% 0.9 w/w), asetik asit (% 0.2 w/w) ve süksinik asit (% 0.2 w/w) ile *L. rhamnosus* VT1'in % 1.2 oranında ürettiği laktik asidin, protein ve sakkarit yapıda olmayan metabolitlerle antifungal etki gösterdiği belirtilmiştir (38). Okratoksin üreten *P. nordicum* (BFE 487)'a karşı içerisinde *L. rhamnosus* LGG ve *L. plantarum* 299v ticari probiyotik kültürlerinde bulunduğu çok sayıda suşun MRS agarda inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir (39).

Hidrojen Peroksit

Çoğu laktik asit bakterisi oksijen varlığında hidrojen peroksit (H_2O_2) üretmek için flavoprotein oksidazlara sahiptir (6, 31, 32). LAB aynı zamanda nikotinamid adenin hidroksi dinükleotid (NADH) peroksidaz faaliyeti ile de H_2O_2 üretebilmektedir (31). LAB katalaz üretmediği için H_2O_2 ortamda birikir. H_2O_2 sülfidril gruplarını oksitlediği için glikoz taşıma sistemini, heksokinaz aktivitesini ve gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz aktivitesini inhibe etmektedir (31). Aynı zamanda H_2O_2 süperoksit (O_2^-) ve hidroksil (OH) radikalleri gibi DNA'ya zarar veren bakteriyel serbest radikallerin oluşmasına da öncülük etmektedir (31). Güçlü oksitleyici ajan olan H_2O_2 bakteri, maya, küf ve virüsler üzerinde etkilidir (32). Fitzsimmons ve Berry (40) yaptığı araştırmada bu sistemin *C. albicans*'a karşı inhibitör etkisini tespit etmiştir. Venturi ve ark. (41) tarafından yapılan araştırmada *P. expansum*'un gelişiminin %5'lik H_2O_2 çözeltisiyle engellendiği, bir başka araştırmada ise H_2O_2 'nin *F. graminearum*'un spor oluşumunu engellediği, ayrıca sporların 0,5 mM H_2O_2 ile muamele edilip inkübasyona bırakılması sonucu mikotoksin oluşumunda önemli bir azalmanın meydana geldiği belirlenmiştir (42).

Karbondioksit

Karbondioksit (CO_2) temelde heterofermentatif LAB tarafından heksozların fermantasyonu ile üretilmektedir. CO_2 'in enzimatik dekarboksilasyon ile inhibe edici anaerobik bir ortam oluşturarak ve hücre zarının çift katlı lipid tabakasında birikip zar geçirgenliğini bozarak antimikrobiyel etki sağladığı düşünülmektedir (31, 43). CO_2 'in inhibisyon derecesi mikroorganizmalar arasında çeşitlilik göstermektedir. % 10 oranında CO_2 toplam bakteri yükünü azaltabilir; % 20-50 oranında ise güçlü bir antifungal aktivite sağlayabilir (31).

Diasetil

Diasetil tereyağının karakteristik aroması olup, LAB tarafından sitrat fermantasyonu boyunca üretilen ve düşük pH'larda (pH 5.0 veya altında) antimikrobiyel etki gösteren bir bileşendir (6, 32). LAB için enerji kaynağı olmayan sitrat ve bakteri metabolizmasında önemli rolü olmayan diasetilin, ortamdaki fazla pirüvatın toksik etkisini gidermek amacıyla oluşturulduğu düşünülmektedir (36). Diğer mikroorganizmaların yanı sıra *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* suşları tarafından üretilen diasetil (44), heksoz metabolizması sırasında baskılanır ancak sitrat metabolizması sırasında fazla miktarda üretilir. Sitrat pirüvat üzerinden diasetile dönüştürülür (43). Antimikrobiyel etkisi bilinen diasetilin Jay (44) tarafından yapılan çalışmada 200 µg/mL seviyesinde mayalar üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarla antifungal özellik gösteren laktik asit bakteri suşlarının ürettiği metabolitler arasında diasetil varlığı da tespit edilmiştir. Daha çok diğer metabolitlerle sinerjik etki yarattığı düşünülen diasetilin tek başına antifungal etkisi üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Yağ Asitleri

Belirli koşullar altında bazı laktobasil ve laktokok suşları lipolitik aktivite sonucu önemli miktarlarda yağ asidi üretmektedirler. Yağ asitlerinin antifungal etkisi zincir uzunluğuna, konsantrasyona ve ortamın pH'sına bağlı olarak değişmektedir (6, 31, 32). Bergsson ve ark. (45) kaprik (C_{10}) ve laurik (C_{12}) asitten oluşan 10 mM'lık yağ asidi karışımının *C. albicans*'ı inhibe ettiğini belirtmiştir. Sjögren ve ark. (14) ise 12 karbonlu bir hidroksil yağ asidinin

maya ve küflere karşı geniş spektrumlu, güçlü antifungal aktivite gösterdiğini belirtmiştir. Monolaurin ise *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* gibi küflerle; *Candida*, *Cladosporium*, *Saccharomyces* gibi mayalara karşı inhibitör etki göstermektedir (34). Genellikle mayalar yağ asitlerine karşı küflerden daha duyarlı iken, hidroksil yağ asitlerinin maya ve küfler üzerindeki minimum etki gösteren dozu (MIC) 10-100 µg/mL oranında değişmektedir (14).

Fenillaktik Asit

Fenillaktik asidin sadece mg/mL konsantrasyonunda maya ve küflere karşı etkili olduğu, ancak bu metabolitin LAB tarafından üretilen diğer bileşenlerle sinerjik olarak genel antifungal etkiye katkı sağladığı düşünülmektedir (6). Lavermicocca ve ark. (46) hamur mayasından izole edilen *L. plantarum* 21B'nin ürettiği fenillaktik asit ve 4-hidroksi-fenillaktik asidin pekçok filamentöz fungi üzerinde antifungal etki gösterdiğini, bu suş ile üretilen ekmeklerde *A. niger* küfünün 7 gün daha geç oluştuğunu belirtmiştir. Diğer taraftan fenillaktik asidin *L. plantarum* MiLAB 393, *L. coryniformis* Si3, *P. pentosaceus* ve *L. sakei* suşlarının süpernatantlarından da elde edilebileceği tespit edilmiştir (47). Çeşitli fırıncılık ürünlerinden izole edilen *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* suşları üzerinde fenillaktik asidin 7.5 mg/mL'den az konsantrasyonlarda %90 oranında büyümeyi engellediği belirtilmektedir (48). Lind ve ark. (15) tarafından yapılan bir çalışmada, *A. fumigatus* küfü ve *Rhodotorula mucilaginosa* mayasına karşı 1.0-15.1 µg/mL değişen oranlarda ve L/D oranı 2:3- 9:1 arasında 3-fenillaktik asit ürettiği belirtilmiştir. Silajdan izole edilen *L. plantarum* suşları incelendiğinde ise gıda ve yemlerin bozulmasına neden olan funguslara karşı suşların fenillaktik asit, laktik asit ve asetik asit ürettiği tespit edilirken, bu bileşenlere karşı en hassas türlerin *A. fumigatus* ve *Rhizopus stolonifer* olduğu, fenillaktik asidin farklı küflerin gelişimini engellediği tespit edilmiştir (49). Ekmekteki temel kontaminantlar olan *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium*'a karşı LAB temelde asetik asit ve fenillaktik asitle antifungal etki göstermektedir (50).

Reuterin

Reuterin insan ve hayvanların gastrointestinal sistemlerinde yaşayan heterofermantatif *L. reuteri*

tarafından anaerobik gelişimi sırasında gliserol dehidrataz etkisi ile gliserolün reuterine dönüşmesi sonucu oluşturulur. Geniş bir etki spektrumuna sahip olan reuterin; antibakteriyel, antifungal, antiprotozoal ve antiviral aktiviteye sahiptir (35, 51). Reuterin ribonükleotid redüktazın substrat bağlayıcı alt ünitesini inhibe etmekte, böylece DNA sentezini etkilemektedir (35). Yapılan çalışmalarla reuterinin *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Aspergillus* ve *Fusarium* üzerinde antifungal etki gösterdiği ve *L. reuteri* dışında *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. collinoides* ve *L. coryniformis*'in de reuterin ürettiği belirlenmiştir (47).

Siklik Dipeptitler ve Diğer Düşük Molekül Ağırlıklı İnhibitör Bileşenler

Siklik dipeptitler aynı zamanda 2,5-diketopiperazin olarak da isimlendirilen ve doğada yaygın olarak bulunan basit peptit türevleridir (3). Siklik dipeptitler mg/mL düzeyinde antifungal aktivite göstermeleri nedeniyle hidroksil yağ asitlerinden daha az etkilidirler (6). Niku-Paavola ve ark. (16) tarafından yapılan çalışmada *L. plantarum* VTT E-78076 filtratında benzoik asit, metilhidantoin, mevalonolakton ve siklo glisil-L-lösil bulunduğu belirlenmiştir. Ström ve ark, (52) tarafından yürütülen bir çalışmada *L. plantarum* MiLAB 393 suşunun süpernatantında siklo(Phe-Pro), siklo (Phe-OH-Pro) olmak üzere iki siklik dipeptit belirlenirken, Magnusson ve ark. (47) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise, siklo (Phe-Pro) ve siklo (Phe-OH-Pro)'nun *P. pentosaceus*, *L. sakei* ve *L. coryniformis* tarafından üretildiği belirtilmiştir. Ström (3), *L. plantarum* MiLAB 393 ve *L. coryniformis* Si3 tarafından antifungal amaçlı sentezlenen siklo (L-Phe-L-Pro) ve siklo (L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) olmak üzere iki siklik dipeptit ve 3-fenillaktik asit varlığını tespit etmiş, bu bileşenlerin aynı zamanda *P. pentosaceus*, *L. sakei* suşları ile *L. plantarum* tarafından da sentezlenebildiğini ve *A. fumigatus* ve *P. commune*'ye karşı etkili olduğunu belirlemiştir. *L. plantarum* L4 suşunun aynı zamanda 3-hidroksi dodekanoik asit ve 3-hidroksi-5-cis-dodekanoik asit gibi hidroksi yağ asitlerini de ürettiği belirlenmiştir. Lind ve ark. (15) yaptıkları çalışmada çeşitli propiyonik asit bakterileri tarafından üretilen iki antifungal diketopiperazin, siklo(L-Phe-L-Pro), siklo(L-Ile-L-Pro) ve yedi antifungal lineer peptit tespit etmiştir.

Proteinli Bileşenler; Fungisinler

Pek çok LAB bakteriyosin, antibakteriyel bileşenler ve ribozom tarafından sentezlenen protein ve peptitler üretmektedir. Üretilen bu bileşiklerin fungal gelişimi engelleyebileceklerine dair bazı bilgiler mevcuttur (6). Gourama ve Bulleman (53) tarafından yapılan çalışmada, *L. casei* subsp. *pseudopiantarum*'un ürettiği küçük peptitlerin (<1 kDa) *A. flavus* üzerinde antifungal ve antiaflatoksin özellik gösterdiği belirlenmiştir. Magnusson ve Schnürer (54), birkaç maya ve küf üzerinde *L. coryniformis* subsp. *coryniformis* Sİ3'ün ürettiği proteinli bileşenlerin antifungal etki gösterdiğini; bu peptidin de küçük (ortalama 3 kDa), ısıya dayanıklı, pH 3-6 aralığında aktif ve proteinaz K ile tamamen inaktif hale geçen bir yapıda olduğunu belirtmiştir. *L. coryniformis* Sİ3'ün sıvı kültürünün etanol, formik veya asetik asit ile muamele edilmesi antifungal etkiyi arttırmıştır. *L. paracasei* subsp. *paracasei* M3'ün ürettiği ortalama 43 kDa büyüklüğündeki hidrofobik, pH 6.0'da maksimum aktiviteye sahip bakteriyosin benzeri proteinli antimikrobiyel bileşen, *C. albicans*, *C. pseudointermedia* NBIMCC 1532, *C. blankii* NBIMCC 85 ve *Saccharomyces cerevisiae* NBIMCC 1812 üzerinde antifungal aktivite göstermiştir (55). *L. pentosus* tarafından üretilen orta uzunlukta bir peptit olan TV35b'nin ise *C. albicans* üzerinde fungistatik etki gösterdiği belirlenmiştir (6).

SONUÇ

Farklı fermente gıdaların üretiminde geleneksel olarak kullanılan LAB'nin doğal koruyucu olarak gıdalara ilave edilmesi amacıyla pek çok araştırma yapılmaktadır. Yapılan bu çalışmalarda LAB'nin maya ve küf gelişimini engelleyen organik asitler, H₂O₂, CO₂, siklik dipeptitler, yağ asitleri vb. farklı bileşenlere sahip oldukları belirlenmiş ve LAB'nin gıda üretiminde antifungal olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur. Ancak bu çalışmalar genellikle farklı antimikrobiyel ve antifungal bileşenlerin tanımlanması veya bu bileşenlerin etkilerinin *in vitro* ortamlarda denenmesi üzerinde yoğunlaşmıştır. Yapılan araştırmalar incelendiğinde, özellikle farklı gıda sistemlerine biyokoruyucu olarak ilave edilecek LAB'nin ve/veya bileşenlerinin ürünün tat, aroma, yapı gibi farklı kalite parametreleri üzerindeki etkilerinin araştırılması yönünde eksiklikler

bulunduğu görülmektedir. Yapılacak araştırmalarla, LAB veya metabolitlerinin ürünün kalite parametrelerini etkilemeden maya ve küf gelişimine karşı kullanılabilecek konsantrasyonlarının belirlenmesi ile LAB'nin gıdalarda koruyucu amaçla kullanım imkânlarının daha da artacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Olaoye OA, Ntuen IG. 2011. Spoilage and preservation of meat: a general appraisal and potential of lactic acid bacteria as biological preservatives. *Int Res J Biotechnol*, 2(1), 33-46.
2. Ünlütürk A, Karapınar M, Turantaş F. 1998. Gıdalarda Önemli Mikroorganizmalar. *Gıda Mikrobiyolojisi*. Ünlütürk A (baş editör), Mengi Tan Basımevi, İzmir, Türkiye, s. 11-45.
3. Ström K. 2005. Fungal Inhibitory Lactic Acid Bacteria Characterization and Application of *Lactobacillus plantarum* MİLAB 393. Doktora Tezi. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, 39 p.
4. Tunail N. 2000. Mikrobiyel Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını. Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, s. 81-184.
5. Dinçer E, Kıvanç M, Karaca H. 2009. Biyokoruyucu olarak laktik asit bakterileri ve bakteriyosinler. *GIDA*, 35 (1), 1-8.
6. Schnürer J, Magnusson J. 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends Food Sci Tech*, 16, 70-78.
7. Olaoye OA, Onilude AA. 2010. Investigation on the potential use of biological agents in the extension of fresh beef in Nigeria. *WJ Micr Biotechnol*, 26: 1445-1454, doi: 10.1007/s11274-010-0319-5.
8. Olaoye OA, Dodd CER. 2010. Evaluation of bacteriocinogenic *Pediococcus acidilactici* as protective culture in the preservation of tsire, a traditional Nigerian stick meat. *J Food Safety*, 30: 867-888, doi: 10.1111/j.1745-4565.2010.00247.x.
9. Sanglard D. 2002. Resistance of human fungal pathogens to antifungal drugs. *Curr Opin Microbiol*, 5, 379-385.

10. Cabo ML, Braber AF, Koenraad PM. 2002. Apparent antifungal activity of several lactic acid bacteria against *Penicillium discolor* is due to acetic acid in the medium. *J Food Protect*, 65, 1309–1316.
11. Viljoen BC. 2001. The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. *Int J Food Microbiol*, 69, 37–44.
12. Taş E. 2008. Probiyotik Laktik Asit Bakterileri ve Baharatların Bazı Gıda Patojenleri Üzerine İnhibisyon Etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 72 s.
13. Gálvez A, Abriouel H, López, RL, Omar NB. 2007. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int J Food Microbiol*, 120, 51–70.
14. Sjögren J, Magnusson J, Broberg A, Schnürer J, Kene L. 2003. Antifungal 3-hydroxy fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14. *Appl Environ Microb*, 69 (12), 7554-7557.
15. Lind H, Sjögren J, Gohil S, Kene L, Schnürer J, Broberg A. 2007. Antifungal compounds from cultures of dairy propionibacteria type strains. *FEMS Microbiol Lett*, 271, 310-315.
16. Niku-Paavola ML, Laitila A, Mattila-Sandholm T, Haikara A. 1999. New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. *J Appl Microbiol*, 88, 29-35.
17. Şenol A, İşler M, Karahan AG, Başıyigit Kılıç G, Kuleaşan H, Kaya S, Keskin M, Gören İ, Sarıtaş U, Arıdoğan CB, Delibaş N. 2011. Preventive effect of probiotics and alpha tocopherol on the ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *J Med Food*, 14 (1-2), 173-179.
18. Şenol A, İşler M, Karahan AG, Başıyigit Kılıç G, Kuleaşan H, Gören İ, Sarıtaş U, Kaya S, Cırıs M, Aktürk O, Arıdoğan CB, Demirin H, Çakmakçı ML. 2011. Effect of the probiotics on aspirin-induced gastric mucosal lesions. *Turk J Gastroenterol*, 22 (1), 18-26.
19. Hassan YI, Bullerman LB. 2008. Antifungal activity of *Lactobacillus paracasei* ssp. *tolerans* isolated from a sourdough bread culture. *Int J Food Microbiol*, 121, 112–115.
20. Kim JD. 2005. Antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from kimchi against *Aspergillus fumigatus*. *Mycobiol*, 33 (4), 210-214.
21. Dalie DKD, Deschamps AM, Richard-Forget F. 2010. Potential for control of mould growth and mycotoxins: Lactic acid bacteria A review. *Food Control*, 21, 370-380.
22. Erginkaya Z, Güven M, Kavas C, Var I, Kabak B, Karaca OB. 2003. Farklı laktik asit kültürleriyle üretilen yoğurtlarda laktik asit bakterilerinin *Aspergillus flavus* üzerine antifungal etkisi. *Gıda Mübendisliği Dergisi*, 7 (15), 31-36.
23. Gürsel A, Şenel E, Yaman Ş. 2004. Yoğurtta maya ve küf gelişimine karşı biyokoruyucu kültür kullanımı. *GIDA*, 29 (4), 283-289.
24. Erginkaya Z, Kavas C, Var I, Kabak B, Güven M. 2005. Bazı laktik asit bakterileri ve bifidobakterin antifungal etkileri. www.mikrobiyoloji.org/pdf/702050703.pdf (Erişim tarihi 12.09.2011).
25. Durlu-Özkaya F, Karabıçak N, Kayalı R, Esen B. 2005. Inhibition of yeast isolated from traditional Turkish cheeses by *Lactobacillus* spp. *Int J Dairy Technol* 58 (2), 111-114.
26. Prachyakij P, Schnürer J, Charernjiratrakul W, Kantachote D. 2007. Selection and identification of lactic acid bacteria that inhibit yeast contaminants isolated from fermented plant beverages. *Songklanakarin J Sci Technol*, 29, 211-218.
27. Onilude AA, Fagade OE, Bello MM, Fadahunsi IF. 2005. Inhibition of aflatoxin-producing aspergilli by lactic acid bacteria isolates from indigenously fermented cereal gruels. *Afr J Biotechnol*, 4 (12), 1404-1408.
28. Wongsuttichote K, Nitisinprasert S. 2009. Identification of antimicrobial substance producing lactic acid bacteria isolate KUB-KJ174 and its application as a biopreservative substance for bakery products. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, 43: 796-807.
29. Yang VW, Clausen CA. 2005. Determining the suitability of *Lactobacilli* antifungal metabolites for inhibiting mould growth. *W J Micr Biotechnol*, 21, 977-981.
30. Oluwafemi F, Adetunji AF. 2011. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria isolated from traditionally- fermented maize (ogi) against *Candida albicans*. *J Appl Biosci*, 41, 2820-2835.
31. Yang Z. 2000. Antimicrobial compounds and extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: structures and properties. University of Helsinki Department of Food Technology, Helsinki, 61 p.

32. Erkmén O, Bozođlu TF. 2008. *Food Microbiology 4 Beneficial Uses of Microorganisms for Food Preservation and Health*. İlke Yayinevi, Ankara, Türkiye, s. 39-49.
33. Erdođrul Ö, Erbilir F. 2006. Isolation and characterization of *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus casei* from various foods. *Turk J Biol*, 30, 39-44.
34. Erkmén O, Bozođlu TF. 2008. Chemical Preservatives and Natural Antimicrobial Compounds. *Food Microbiology 3 Food Preservation*. İlke Yayinevi, Ankara, Türkiye, s. 71-124.
35. Salminen S, von Wright, A. 1998. *Lactic Acid Bacteria Microbiology and Functional Aspects*. Marcel Dekker Inc., New York, ABD, 617 p.
36. Yüksekdađ ZN, Beyatlı Y. 2003. Kefir mikroflorası ile laktik asit bakterilerinin metabolik, antimikrobiyel ve genetik özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1, 2, 49-69.
37. Kılıç S. 2001. *Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:542, İzmir, Türkiye, 451 s.
38. Plocková M, Stilles J, Chumchalová J, Halfarová R. 2001. Control of mould growth by *Lactobacillus rhamnosus* VT1 and *Lactobacillus reuteri* CCM 3625 on milk agar plates. *Czech J Food Sci*, 19 (2), 46-50.
39. Schillinger U, Villarreal JV. 2010. Inhibition of *Penicillium nordicum* in MRS medium by lactic acid bacteria isolated from foods. *Food Control*, 21, 107-111.
40. Fitzsimmons N, Berry DR. 1994. Inhibition of *Candida albicans* by *Lactobacillus acidophilus*: evidence for the involvement of a peroxidase system. *Microbios*, 80, 125-133.
41. Venturini ME, Blanco D, Oria R. 2002. In vitro antifungal activity of several compounds against *Penicillium expansum*. *J Food Prot*, 65, 934-939.
42. Ponts N, Pinson-Gadais L, Verdál-Bonnin MN, Barreau C, Richard-Forget F. 2006. Accumulation of deoxynivalenol and its 15-acetylated form is significantly modulated by oxidative stress in liquid cultures of *Fusarium graminearum*. *FEMS Micro Letts*, 258, 102-107.
43. Lindgren SW, Dobrogosz WJ. 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentation. *FEMS Microbiol Rev*, 87, 149-164.
44. Jay JM. 1982. Antimicrobial properties of diacetyl. *Appl Environ Microb*, 44, 425-532.
45. Bergsson G, Arnfinnsson J, Steingrímsson O, Thormar H. 2001. In vitro killing of *Candida albicans* by fatty acids and monoglycerides. *Antimicrob Agents Ch*, 45, 3209-3212.
46. Lavermicocca P, Valerio F, Evidente A, Lazzaroni S, Corsetti A, Gobetti M. 2000. Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Appl Environ Microb*, 66 (9), 4084-4090.
47. Magnusson J, Ström K, Roos S, Sjögren J, Schnürer J. 2003. Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Lett*, 219, 129-135.
48. Lavermicocca P, Valerio F, Visconti A. 2003. Antifungal activity of phenyllactic acid against molds isolated from bakery products. *Appl Environ Microb*, 69 (1), 634-640.
49. Prema P, Smila D, Palavesam A, Immanuel G. 2008. Production and characterization of an antifungal compound (3-Phenyllactic Acid) produced by *Lactobacillus plantarum* strain. *Food Bioprocess Technol*, 3, 379-386.
50. Gerez CL, Torino MI, Rollán G, de Valdez GF. 2010. Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control*, 20, 144-148.
51. Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. 2010. Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Annals of Bio Research*, 1 (4), 218-228.
52. Ström K, Sjögren J, Broberg A, Schnürer J. 2002. *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo (L-Phe-L-Pro) and cyclo(L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and phenyl lactic acid. *Appl Environ Microb*, 68, 4322-4327.
53. Gourama H, Bullerman LB. 1997. Anti-aflatoxigenic activity of *Lactobacillus casei pseudoplantarum*. *Int J Food Microbiol*, 34, 131-143.
54. Magnusson J, Schnürer J. 2001. *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad spectrum proteinaceous antifungal compound. *Appl Environ Microb*, 67 (1), 1-5.
55. Atanossova M, Choiset Y, Dalgalarondo M, Chobert JM, Dousset X, Ivanova I, Haertlé, T. 2003. Isolation and partial biochemical characterization of a proteinaceous antibacteria and anti-yeast compound produced by *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* strain M3. *Int J Food Microbiol*, 87, 63-73.