

FERMENTE GIDALARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ANTİFUNGAL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Merih Kıvanç*, Pınar Kovancı

Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye

Geliş / *Received*: 18.01.2017; Kabul / *Accepted*: 07.05.2017; Online baskı / *Published online*: 08.06.2017

Kıvanç, M, Kovancı, P. (2017). Fermente gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antifungal aktivitesinin belirlenmesi. *GIDA* (2017) 42 (5): 477-484 doi:10.15237/gida.GD17012

Öz

Bu çalışmada fermente ürünlerden izole edilen 45 laktik asit bakterisinin antifungal etkileri araştırılmıştır. Laktik asit bakterileri, mikotoksigenik *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus parasiticus* ile *Cladosporium cladosporioides*, *Gibberella accuminata*, *Gibberella intricans*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium incarnatum*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus stolonifer*'e karşı çift tabakalı kültür yöntemi ve kuyu yöntemi kullanılarak antifungal aktivite açısından taranmıştır. Dokuz laktik asit bakteri izolatu çift tabakalı agar yöntemi ile antifungal aktivite gösterirken, on dokuz laktik asit bakterisinin süpernatantı bir veya daha fazla küfe karşı antifungal aktivite göstermiştir. Yüksek etkili olarak belirlenen *L. brevis* KL7'nin süt tozu ortamında *A. parasiticus* ve *P. chrysogenum*'a olan etkisi araştırılmış ve 120 saatte her iki küf de inhibe ettiği saptanmıştır. Gıda üretiminde ve gıdaların raf ömrünün uzatılmasında *L. brevis* KL7 ümit vaat eden bir izolat olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Laktik asit bakterileri, küf, antifungal aktivite, süpernatant

SCREENING OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM FERMENTED FOODS

Abstract

In this study, we investigated the antifungal effects of 45 lactic acid bacteria (LAB) that were isolated from fermented products. Lactic acid bacteria were screened for antifungal activity by using dual agar overlay and well method against mycotoxigenic *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus parasiticus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Gibberella accuminata*, *Gibberella intricans*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium incarnatum*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus stolonifer*. Nine LAB isolates showed antifungal activity with dual agar overlay method. Cell free supernatant of 19 LAB isolates showed antifungal activity against one or more fungi species. The effects of *L. brevis* KL7, which was determined as high effective, against *A. parasiticus* and *P. chrysogenum* in the milk medium were investigated; and it was found that both fungi were inhibited by *L. brevis* KL7 at 120 hours. *L. brevis* KL7 can be a promising isolate for food production and extension of the shelf life of the food.

Keywords: Lactic acid bacteria, mold, antifungal activity, supernatant

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ mkivanc@anadolu.edu.tr,

☎ (+90) 222 335 0580,

☎ (+90) 222 320 4910

GİRİŞ

Fermente gıdaların hazırlanmasında laktik asit bakterileri çok eski zamanlardan beri kullanılmaktadır. Laktik asit bakterileri gıdaların korunmasında oynadığı temel rol yanında gıdalarında besinsel, duyuşsal ve sağlık özelliklerine sağladığı katkılar nedeniyle geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bunların yanında hayvan yemlerinin hazırlanmasında da laktik asit bakterilerinden yararlanılmaktadır. Laktik asit bakterileri sağlığa zararlı olmayan güvenli (GRAS) bakteriler olarak kabul edilmektedir (1).

Gerek gıdalarda ve gerekse yemlerde küfler tehlike arz etmektedirler. Bulaşlı ürünler insan ve hayvan sağlığını tehdit etmesinin yanında önemli ekonomik kayıplara da neden olmaktadır (2, 3). Bu nedenle dünyada üretilen gıdaların % 5-10'u küf bulaşması nedeniyle kaybedilmektedir (4, 5). Karsinojenik, toksijenik, immünotoksik, nörotoksik, teratoksijenik, hepatoksik, nefrotoksik ve allerjik etkileri olan *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Cladosporium* ve *Rhizopus* cinslerine ait türler önemli gıda bozulmalarına ve sağlık problemlerinin ortaya çıkmasına neden olabilirler (2, 6-8).

İnsan ve hayvan sağlığını korumak ve küfleri kontrol altına almak, gelişmelerini engellemek için çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler uygulanmaktadır. Günümüzde doğal ürünlere olan talebin artması ile gıdaların biyokoruyucular ile korunmasını gündeme getirmiştir. Bunların içinde de biyokoruyucu olarak laktik asit bakterilerinin önemi gittikçe artmaktadır. Günümüzde bu konuda yapılan çalışmalar hız kazanmıştır (9-14).

Laktik asit bakterilerinin antifungal aktivitesi organik asit üretmeleri, besin maddeleri için rekabet etmeleri ve antifungal bileşikler sentezlemelerinden kaynaklanmaktadır (15). Metabolitlerin küflere karşı filament gelişimini ve spor gelişimini tamamen engelleme ya da geciktirme gibi çeşitli etkileri vardır (16). Bu da laktik asit bakterilerini kimyasal koruyuculara karşı bir alternatif haline getirmektedir.

Bu çalışmada çeşitli fermente ürünlerden izole edilmiş olan laktik asit bakterilerinin antifungal aktivitesi taranarak gıdalar için biyokoruyucu olarak kullanılabilme potansiyeline sahip laktik asit bakteri izolatlarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Test Mikroorganizmaları

Fermente ürünlerden daha önceki çalışmalarda izole edilen ve %20'lik gliserolde -85°C stoklanan 45 laktik asit bakterisi (Çizelge 1) kullanılmıştır.

Laktik asit bakteri suşlarının antifungal aktivitelerinin saptanması için kullanılan küfler daha önce yapılan çalışmalarda gıdalardan izole edilen *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus parasiticus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Gibberella acuminata*, *Gibberella intricans*, *Fusarium incarnatum*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus stolonifer* Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Mikrobiyoloji Biriminden sağlanarak kullanılmıştır.

Test Mikroorganizmalarının Geliştirilmesi ve Küflerin Spor Süspansiyonunun Hazırlanması

Stoktan çıkarılan laktik asit bakterileri de Man Rogasa Sharp (MRS) Brotha ekilerek 35°C de %5 CO₂ içeren ortamda 24-48 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra MRS Agara ekim yapılarak 35°C de %5 CO₂ içeren ortamda 24-48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Daha sonra koloniler incelenerek saflıkları kontrol edilmiş ve saf olanlar çalışmalarda kullanılmıştır.

Test mikroorganizması olarak seçilen küfler Patates Dekstroz Agara (PDA) ekilerek 7-10 gün süre ile 28°C sporlanıncaya kadar inkübe edildikten sonra sporlar %1'lik Tween 80 ile toplanarak steril bir tüp içine alınmıştır. Tüp içindeki spor süspansiyonundaki spor sayısı Thoma lamı kullanılarak belirlenmiştir.

Laktik Asit Bakterilerinin Antifungal Aktivitesinin Belirlenmesi

Laktik asit bakterilerinin antifungal aktivitesi çift tabakalı dökme kültür yöntemi ile belirlenmiştir (14). Laktik asit bakterileri MRS Brotha ekilerek 35°C de %5 CO₂ içeren ortamda 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. Bu kültürlerden MRS Agar içeren Petrilere her bir kültürden 10µL ekim yapılmıştır. Petrilere 48 saat 35°C de %5 CO₂ içeren ortamda inkübe edilmiştir. Yumuşak PDA hazırlanmış ve içine 10⁵ spor/mL olacak şekilde spor solüsyonundan aktarılarak iyice karıştırılmış ve içinde laktik asit bakterilerinin geliştirildiği

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan laktik asit bakterileri ve izole edildiği gıdalar
Table 1. LAB that were used in this study and the foods, which were the sources of isolates.

Laktik Asit Bakterileri <i>Lactic acid bacteria</i>	İzole Edildiği Fermente Ürün Source
BZ1, ES2, EZ8	Yeşil zeytin (<i>Olea europaea</i> L.) Green olive
KB8, KB9, Q1, Q6, Q7, Q8, Y3, Y7, Y8, Y11, Y12, X1, X3, X4, X14, Z2, X13, X8, X9, X10, Z4, Z9	Boza Boza
KL3, KL4, KL7	Kelek turşusu (<i>Cucumis melo</i> L.) Pickled Raw melon
KM5, MK1	Kefir Kefir
KR2	Kornişon turşusu (<i>Cucumis sativus</i> L.) Pickled gherkins
KT5, KT13	Kabak turşusu (<i>Cucurbita pepo</i> L.) Pickled cucurbita
LT1, LT3, MN3, LT6,	Lahana turşusu (<i>Brassica oleracea</i> L.) Cabbage pickles
MN2, MN5,	Mantar turşusu (<i>Agaricus bisporus</i>) Pickled mushroom lmbach
MT2	Mısır turşusu (<i>Zea mays</i> L.) Pickled corn
MY1	Ekmek mayası Bread dough
PT13	Patlıcan turşusu (<i>Solanum melongena</i> L.) Pickled eggplant
SZ1, SZ5	Siyah zeytin (<i>Olea europaea</i> L.) Black olive
TR1	Tarhana Tarhana

Petriler üzerine 7 mL olacak şekilde dökülerek yayılmıştır. Peti kutuları 28°C de 7 gün süre ile inkübasyona bırakılmışlardır. Günlük olarak misel gelişimi ve spor oluşumu yönünden Petriler takip edilmiştir. Yedinci gün laktik asit bakterileri etrafında oluşan zon ölçülerek değerlendirilmiştir. Çalışmalar iki paralel olarak yürütülmüştür.

Laktik Asit Bakteri Süpernatantlarının Antifungal Aktivitesi

Laktik asit bakteri izolatları ayrı ayrı MRS Brotha inoküle edilip, 35 °C de, 48 saat %5 CO₂ içeren ortamda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra kültürler 10.000 rpm de 10 dakika 4°C de santrifüj edildikten sonra süpernatant 0.2 µm çaplı filtreden geçirilmiştir. Steril bir mantar delici ile Müler Hilton Agar içeren Petrilere kuyucuk açılarak her filtrattan 100'er µL aktarılmıştır. Daha sonra üzerlerine test küflerinin 10⁵ spor/mL olacak şekilde ayarlanmış spor solüsyonlarını içeren yumuşak PDA dökülerek Petriler 7 gün

süre ile 28°C inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası kuyucuklar etrafında oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek değerlendirme yapılmıştır. Çalışmalar çift paralel olarak yürütülmüştür (14).

L. brevis KL7'nin *A. parasiticus* ve *P. chrysogenum* Üzerine Antifungal Etkisinin Belirlenmesi

L. brevis KL7, 500 mL MRS Brothta ekilerek 35 °C de, 48 saat %5 CO₂ içeren ortamda inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kültür 8000 rpm de 15 dk. 4°C de santrifüj edilmiştir. Pelet kısmı alınmış ve 3 kez steril fosfat tamponlu su ile yıkanarak mililitrede 10¹⁰ bakteri olacak şekilde stok kültürü hazırlanmıştır. *A. parasiticus* ve *P. chrysogenum*'a ait spor solüsyonunda yukarıda verildiği gibi hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyonlardaki spor sayıları belirlenmiştir.

Steril 200 mL %10'luk süt tozu ortamına, *L. brevis* KL7 kültüründen mL de 10⁸ bakteri hücresi

olacak şekilde ilave edilmiştir. *A. parasiticus* ve *P. chrysogenum*'a ait spor solüsyonlarından da ayrı ayrı mL de 10^5 spor olacak şekilde ekim yapılmıştır. Erlenler 30°C inkübasyona bırakılmıştır. Erlenlerden 120 saat boyunca her gün örnek alınarak *L. brevis* KL7 için MRS Agara, *A. parasiticus* ve *P. chrysogenum* için PDA besiyerine ekim yapılmıştır. MRS Agar plakları %5 CO₂ ortamında 35 °C'de inkübasyona bırakılmış. PDA plakları ise 28 °C'de inkübe edilmiştir. Petride gelişen koloniler sayılarak değerlendirilmiştir (14). Ayrıca her gün alınan örneklerin pH'sı pH metre ile ölçülmüştür.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çift tabakalı dökme kültür yöntemine göre test edilen 45 adet laktik asit bakterisinin hepsi test edilen küflere karşı az veya çok antifungal aktivite

göstermiştir. Kırk beş laktik asit bakterisinden 9'u yüksek antifungal aktivite gösterirken (Çizelge 2) diğerleri düşük oranda (Çizelge 2 de gösterilmemiştir) aktivite göstermiştir. Bütün laktik asit bakteri izolatları *G. acuminata*, *C. cladosporioides*, *G. intricans*'a karşı çok düşük bir antifungal aktivite göstermiştir. Etkili olan laktik asit bakterilerin ise geniş spektrum gösterdikleri görülmüştür. *L. brevis* LT1, LT3, LT6, *L. curvatus* MN2 ve *L. plantarum* MK1 suşları *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. parasiticus*, *F. oxysporum*, *F. incarnatum*, *P. chrysogenum* ve *R. stolonifer*'e karşı antifungal aktivite göstermişlerdir (Şekil 1).

Laktik asit bakterileri, patojenlerde sporlanmayı da geciktirmiştir. Test mikroorganizması *P. chrysogenum* 7. günde sporlanma gösterirken, *A. parasiticus* ve *A. flavus* 15. günde sporlanma göstermiştir.

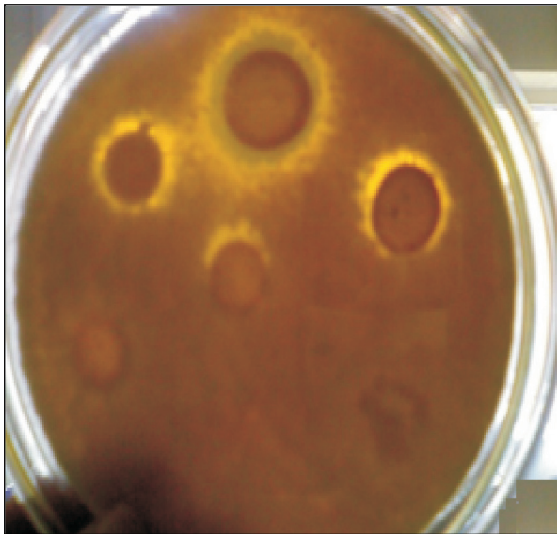
Çizelge 2. Laktik asit bakterilerinin test küfleri üzerine inhibisyon etkisi (zon çapı mm)

Table 2. Inhibition effects of LAB on tested fungi (zone diameter mm)

Laktik asit bakterileri Lactic acid bacteria	<i>R. stolonifer</i>	<i>P. chrysogenum</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>F. incarnatum</i>
<i>L. paracasei</i> sp. <i>paracasei</i> KT5	+	20	12	13	17	+	+
<i>L. brevis</i> KT13	+	27	9	21	20	+	+
<i>L. brevis</i> LT1	20	5	5	13	18	20	21
<i>L. brevis</i> LT3	12	8	12	13	17	11	23
<i>L. brevis</i> LT7	11	20	21	16	21	18	22
<i>L. brevis</i> MN3	10	+	+	14	22	11	24
<i>L. curvatus</i> MN2	16	20	7	18	22	21	23
<i>L. plantarum</i> MN5	20	+	+	+	21	20	25
<i>L. plantarum</i> MK1	10	12	12	20	18	17	24

¹- : etkisiz, + : etkili ancak belirgin bir zon oluşumu yok.

-: ineffective +: effective but no zone



Şekil 1. *L. brevis* LT7, *L. plantarum* MK1, *L. curvatus* MN2'nin *A. parasiticus* ve *A. flavus* üzerine inhibisyon etkisi
Figure 1. Inhibition effect of *L. brevis* LT7, *L. plantarum* MK1, *L. curvatus* MN2 on *A. parasiticus* and *A. flavus*

Tropcheva ve ark (17) süt ürününden izole ettikleri *L. brevis* izolatlarının antifungal aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar dört *L. brevis* izolatının *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* ve *Trichoderma* üzerine etkili olduğunu rapor etmişlerdir. *L. brevis* KR3, KR4 ve KR5 suşları *P. claviforme*, *A. awamori* ve *A. nigeri* tamamen baskıladığını saptamışlardır. Araştırmacılar bizim bulgularımız gibi antifungal aktivitenin suşa göre değiştiğini bildirmişlerdir. Benzer olarak yapılan başka bir çalışmada da *A. flavus*'un *L. brevis* ile kontrol edildiği bildirilmiştir (18). Güley (19) küflü peynirlerden izole ettiği *L. brevis* ve *L. plantarum*'un *A. flavus* ve *A. parasiticus*'a karşı antifungal aktivite gösterdiğini gözlemiştir. Araştırmacı, inhibisyonun rekabet ile ilişkili olduğunu vurgulamıştır. Matel ve Cornea (20) bitkisel kaynaklı *A. ochraceus*, *P. digitatum* ve *Alternaria solani*'nin laktobasillus türleri ile gelişmelerinin kontrol altına alındığını bildirmişlerdir. Kimchiden izole edilen 120 laktik asit bakterisinden sadece *Lactobacillus cruvatus*, *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. casei*, *L. pentosus* ve *L. sakei*'nin *A. fumigatus*, *A. flavus*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium commune* ve *Rhizopus oryzae* karşı kuvvetli inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir (21). Erginkaya ve ark (22) yoğurtlarda probiyotik laktik asit bakterilerinin *A. flavus* üzerine depolamanın 8. gününe kadar etkili olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar *L. rhamnosus* ve

Bifidobacterium longum'un en yüksek antifungal aktivite gösterdiği saptamışlardır. Erginkaya ve ark (23) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCC 855, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCC 861 ve ticari yoğurt kültürlerinin (Visbyvac Joghurt 709) *Penicillium expansum*'un gelişimini inhibe ettiği belirlenmiştir. Ekşi hamurdan izole edilen *Lactobacillus paraplantarum* N-15 ve *L. paralimentarius* E-106'nın *A. niger* ve *P. chrysogenum* karşı inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir (24)

Laktik asit bakterilerine ait süpernatantların antifungal etkisi Çizelge 3'te verilmiştir. Kırk beş laktik asit bakterisinden 19'unun süpernatantı en az bir küfe karşı antifungal etkili bulunmuştur. *A. flavus*, *A. fumigatus*, *F. incarnatum*, *G. intricans* küflerine karşı ise test edilen laktik asit bakterilerinden hiç birinin süpernatantı antifungal aktivite göstermemiştir. *L. brevis* KL3'e ait süpernatant *R. stolonifer*, *P. chrysogenum*, *F. oxysporum*, *C. cladosporides*'e karşı antifungal etki gösterirken *L. brevis* KL7'ye ait süpernatant ise *R. stolonifer*, *P. chrysogenum*, *A. parasiticus*, *C. cladosporides* karşı antifungal aktivite göstermiştir. Laref ve Guessas (25), *L. plantarum* ve *Lactobacillus farciminis*'in süpernatantlarının *Trichoderma* spp. *Penicillium* spp. *Fusarium roseum* ve *Stemphylium* spp karşı antifungal aktivite

Çizelge 3. Laktik asit bakterilerine ait filtratların test küfleri üzerine etkisi.

Table 3. The effects of substrate, which belongs to the LAB, on tested fungi.

Bakteriler	<i>R. stolonifer</i>	<i>P. chrysogenum</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>G. acuminata</i>	<i>C. cladosporides</i>
<i>L. brevis</i> BZ1	-	+	-	+	-	-
<i>L. brevis</i> ES2	+	-	-	+	+	-
<i>L. brevis</i> EZ8	-	-	+	+	+	-
<i>L. brevis</i> KB8	-	-	+	+	-	-
<i>L. brevis</i> KL3	+	+	-	+	-	+
<i>L. brevis</i> KL7	+	+	+	-	-	+
<i>L. brevis</i> KR2, LT1	-	+	-	+	-	+
<i>L. brevis</i> KT13	-	+	-	-	-	-
<i>L. brevis</i> MN3	-	-	-	+	-	-
<i>L. brevis</i> PT13	-	+	-	-	-	-
<i>L. brevis</i> LT6	-	+	-	-	+	-
<i>L. delbrueckii</i> sp. <i>delbrueckii</i> KB9	-	-	-	+	-	-
<i>L. delbrueckii</i> sp. <i>delbrueckii</i> KM5	-	+	+	-	-	+
<i>L. paracasei</i> sp. <i>paracasei</i> KL4	-	-	-	+	-	-
<i>L. paracasei</i> sp. <i>paracasei</i> KT5	-	+	-	+	-	+
<i>L. paracasei</i> sp. <i>paracasei</i> LT3	-	-	-	-	-	+
<i>L. plantarum</i> MK1	-	+	-	-	+	-
<i>L. plantarum</i> Q1	-	+	-	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Q7	-	+	+	-	-	-

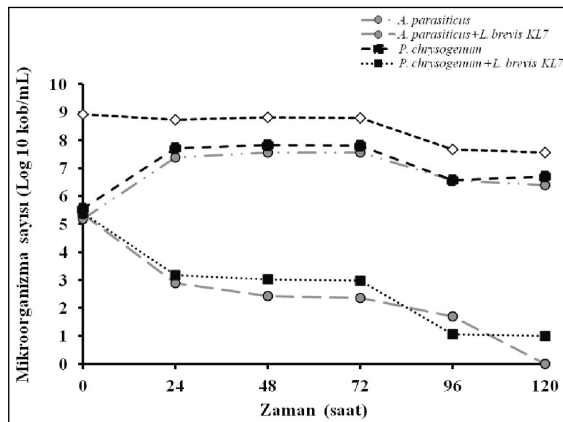
- : etkisiz substrat, + : etkili substrat

:- ineffective substrate, +: effective substrate

göstermediğini bildirmişlerdir. Benzer olarak Miescher ve Meile (26), Lan ve ark, (27) *Propionibacterium* spp; *Weissella cibaria* 861006 ve *Weissella paramesenteroides* 860509'un süpernatantının antifungal aktivite göstermediği bildirilmiştir.

L. lactis subsp. *lactis* CHD 28.3 *A. flavus* NCIM 555, *A. parasiticus* NCM 898 ve *Fusarium* türlerinin gelişmesini engellemiştir (15). Djossou ve ark (28) kahve pulp silajından izole edilen *L. plantarum*'un okratoksijenik *Aspergillus carbonarius*'un gelişmesini inhibe ettiğini saptamışlardır. Çalışmamızda bozadan elde edilen *L. plantarum* Q7'nin süpernatantı toksijenik *A. parasiticus*'in gelişmesini inhibe etmiştir.

L. brevis KL7'nin *A. parasiticus* ve *P. chrysogenum*'un gelişmesi üzerine etkisi %10'luk süt tozu ortamında test edilmiştir. Her iki küfün gelişme durumu 120 saat süresince günlük olarak takip edilmiştir (Şekil 2). *L. brevis* KL7 120 saat süresince %10'luk süt tozu ortamında 10^7 - 10^8 kob/mL civarında kalırken *L. brevis* KL7'nin ilave edildiği kültürlerde gerek *A. parasiticus* ve gerekse *P. chrysogenum* sayısı zamana bağlı olarak azalmıştır. *P. chrysogenum* 120. saatte sayılamazken, *A. parasiticus* sayısı azalmıştır. *L. brevis* KL7'nin ilave edilmediği ortamda ise her iki küf sayısı da yüksek olarak saptanmıştır (Şekil 2). Ortamların pH değişimleri Şekil 3'te verilmiştir. Her iki uygulamada pH değeri birbirine yakın olup 120. saatte pH 4 olarak belirlenmiştir. Kivanç ve ark (11) *Enterococcus durans*'ın *P. chrysogenum*'u 48 saat te inhibe ederken *P. griseofulvum*'un ise

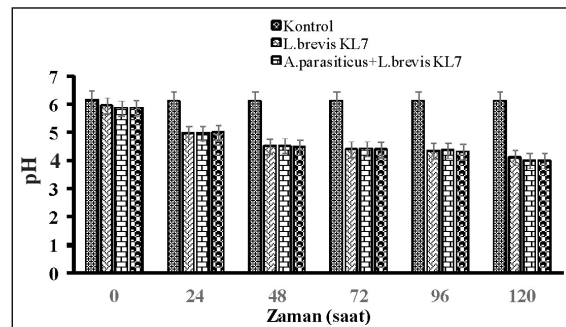


Şekil 2. *L. brevis* KL7'nin süt %10 süt tozu ortamında *A. parasiticus* ve *P. chrysogenum* gelişimi üzerine etkisi
Figure 2. Effect of *L. brevis* KL7 on development of *A. parasiticus* and *P. chrysogenum* into the medium with 10% milk powder.

144. saatte inhibe olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar *E. durans*'ın *A. fumigatus* ve *A. parasiticus* 144. saatte inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

Kim (21), *L. sakei* KC-1004'ün MRS ortamında *A. fumigatus*'un biyomas oluşumuna etkisini test etmiş ve 14 gün süresince değişimi takip etmiştir. İlk hafta *A. fumigatus*'ta artış olduğunu bundan sonra kontrole göre düşme gözlemlendiğini bildirmiştir. Laktik asit bakterilerinin antifungal aktivitesinin laktik asitin sinerjistik etkisi nedeniyle olduğu belirlenmiştir (29). Bu bulguların aksine Magnusson ve ark. (9) antifungal aktiviteye sahip olmayan laktik asit bakterilerinin de yüksek miktarda laktik asit ürettiklerini ve bu laktik asit bakterilerine ait filtratların değişen oranlarda antifungal aktivite gösterdiklerini belirtmişlerdir. Çalışmamızda da laktik asit bakterilerine ait süpernatantların farklı oranlarda antifungal aktivite gösterdiği izlenmiştir. Antifungal aktivite laktik asit bakterilerinin ürettiği çeşitli bileşikler nedeniyle olabilir. Ström ve ark. (30), Magnusson ve ark (9) *L. plantarum*'dan cyclo(L-Phe-L-Pro), *L. pentosaceus* 'dan cyclo(L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) ve *L. sakei*'den fenilasetik asiti antifungal substrat olarak saflaştırmışlardır. *L. plantarum* ve *L. farciminis*'in, *Aspergillus* spp., *Fusarium roseum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp. ve *Stemphylium* spp.'ye karşı aktif antifungal bileşikler ürettikleri saptanmıştır (21). Araştırmacılar antifungal aktivitenin ağırlıklı olarak organik asitler nedeni ile olduğunu bildirmişlerdir.

L. brevis KL7'nin gerek *A. parasiticus* ve gerekse *P. chrysogenum*'u %10'luk süt tozu ortamında inhibe etmesi süt ürünlerinin üretiminde *L. brevis*



Şekil 3. Yüzde 10'luk süt tozu ortamında *L. brevis* KL7 ile *A. parasiticus* ve *P. chrysogenum*'un bulunduğu ortamda pH'nın zamana bağlı değişimi.

Figure 3: Change of pH by time into the medium with *L. brevis* KL7, *A. parasiticus* and *P. chrysogenum*, and 10% milk powder.

KL7'den yararlanılabileceğine işaret etmektedir. Diğer laktik asit bakterilerinin de patojen ve mikotoksijenik küfler üzerine antifungal etkisinin ortaya konması gıda üretimi ve gıdaların raf ömrünün uzatılması açısından yararlı olabilecektir. Ancak bu konuda detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Gerez, C.L., Torres, M.J., de Valdez, G.F., Rollan, G. (2013). Control of spoilage fungi by lactic acid bacteria. *Biol Control*, 64:231-237.
2. Berikten, D., Kivanc, M. (2012). Fungal contaminations of some foods, their mycotoxin production and effects of antifungal agents on these fungi. In: *Microbes in Applied Research: Current Advances and Challenges* A. Mendez-Vilas (Ed) World Scientific Publishing Co. pp. 268-272.
3. Bryden, W.L. (2012). Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Anim Feed Sci Technol*, 173: 134-158.
4. Pitt, J.I., Hocking, A.D. (2009). *Fungi and food spoilage*. Springer US. pp. 383-400.
5. Fisher, M.C., Henk, D.A., Briggs, C.J., Brownstein, J.S., Madoff, L.C., McCraw, S.L., Gurr, S.G. (2012). Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature*, 484 (7393):186-204.
6. Bryden, W.L. (2007). Mycotoxin in the food chain: Human health implications. *Asia Pac J Clin Nutr*, 16: 95-101.
7. Wild, C.P., Gong, Y.Y. (2009). Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Oxf J Carcinogen*, 31:71-82.
8. Gerez, C.L., Torino, I.M., Rollan, G., Fond de Valdez, G. (2009). Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control*, 20:144-148.
9. Magnusson, J., Strom, K., Roos, S., Schnurer, J. (2003). Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Lett*, 220: 129-135.
10. Trias, R., Baneras, L., Montesinos, E., Badosa, E. (2008). Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. *Int Microbiol*, 11:231-236.
11. Dinçer, E., Kıvanç, M., Karaca, H. (2010). Bi-yokoruyucu olarak laktik asit bakterileri ve bakteriyosinler. *Gıda*, 35 (1): 55-62.
12. Mauch, A., Dal Bello, F., Coffey, A., Arendt, E.K. (2010). The use of *Lactobacillus brevis* PS1 to in vitro inhibit the outgrowth of *Fusarium culmorum* and other common *Fusarium* species found on barley. *Int. Food Microbiol*, 141:116-121.
13. Voulgari, K., Hatzikamari, M., Delepoglou, A., Georgakopoulos, P., Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N. (2010). Antifungal activity of non-starter lactic acid bacteria isolates from dairy products. *Food Control*, 21:136-142.
14. Kivanc, M., Kivanc, S.A., Pektas, S. (2014). Screening of lactic acid bacteria for antifungal activity against fungi. *J Food Process Technol*. 5(3):1-5.
15. Dalie, D.K.D., Deschamps, A.M., Richard-Forget, F. (2010). Lactic acid bacteria – Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control*, 21:370-380.
16. Varsha, K.K., Nampoothiri, K.M. (2016). Appraisal of lactic acid bacteria as protective cultures. *Food Control*, 69:61-64.
17. Tropcheva, R., Nikolova, D., Evstatieva, Y., Danova, S. (2014). Antifungal activity and identification of *Lactobacilli*, isolated from traditional dairy product "katak". *Anaerobe*, 28:78-84.
18. De Muynck, C., Leroy, A.I., De Maeseneire, S., Arnaut, F., Soetaert, W., Vandamme, E.J. (2004). Potential of selected lactic acid bacteria to produce food compatible antifungal metabolites. *Microbiol Res*, 159 (4):339-346.
19. Güley, Z. (2008). Doğal üretilen küflü peynirlerden izole edilen bazı laktik asit bakterilerinin aflatoksin B1 ve aflatoksin M1 üzerine etkisinin araştırılması. Ege üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi. Bornova, İzmir, Türkiye, 259s.
20. Matei, A., Cornea, C.P. (2014). Antifungal activity of some lactic acid bacteria isolated from materials of vegetal origin. *Sci Bul Series F. Biotechnol*, 18:42-47.
21. Kim, J.D. (2005). Antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from kimchi against *Aspergillus fumigatus*. *Mycobiology*, 338:210-214.

22. Erginkaya, Z., Güven, M., Kavas, C., Var, I., Kabak, B., Karaca, O.B. (2003). Farklı laktik asit kültürleriyle üretilen yoğurtlarda laktik asit bakterilerinin *Aspergillus flavus* üzerine antifungal etkisi. *Gıda Müh Derg*, 7 (15):31-36.
23. 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 28.03.2017).
24. Demirbaş, F., İspirli, H., Kurnaz, A.A., Yılmaz, M.T., Dertli, E. (2017). Antimicrobial and functional properties of lactic acid bacteria isolated from sourdoughs. *LWT - Food Sci Technol*, 79: 361-366.
25. Laref, N., Guessas, B. (2013). Antifungal activity of newly isolates of lactic acid bacteria. *Innov Rom Food Biotechnol*. 13: 80-88.
26. Miescher, S.S., Meile, L. (2004). A Mixed culture of *Propionibacterium jensenii* and *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* inhibits food spoilage yeasts. *Syst Appl Microbiol*, 27:229-237.
27. Lan, W., Chen, Y., Hui-Chung, W., Yanagida, F. (2012). Bio-protective potential of lactic acid bacteria isolated from fermented wax gourd. *Folia Microbiol*, 57: 99-105.
28. Djossou, O., Perraud-Gaime, I., Mirleau, F.L., Rodriguez- Serrano, G., Karou, G., Niamle S., Ouzari, I., Boudabous, A., Roussos, S. (2011). Robusta coffee beans post-harvest microflora: *Lactobacillus plantarum* sp. as potential antagonist of *Aspergillus carbonarius*. *Anaerobe*, 17:267-272.
29. Cabo, M.L., Braber, A.F., Koenraad, P.M. (2002). Apparent antifungal activity of several lactic acid bacteria against *Penicillium discolor* is due to acetic acid in the medium. *J. Food Prot*, 65(8): 1309-1316.
30. Ström, K., Sjögren, J., Broberg, A. and 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 phenylacetic acid. *Appl Environ Microbiol*. 68: 4322-4327.