

Katarzyna Piasecka-Józwiak, Michał Świątek, Beata Chabłowska

WYKORZYSTANIE PRZECIWDROBNOUSTROJOWYCH WŁAŚCIWOŚCI SZCZEPÓW BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ DO BIOKONSERWACJI ŻYWNOŚCI

Zakład Technologii Fermentacji

Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego

Kierownik : dr hab. *K. Stecka*, prof. IBPRS

Słowa kluczowe: aktywność przeciwdrobnoustrojowa LAB, bezpieczeństwo żywności, konserwanty, kultury starterowe LAB.

Key words: LAB antimicrobial activity, food safety, preservatives, LAB starter cultures.

Wśród sposobów utrwalania żywności, należących do metod fizycznych, chemicznych (dodatek chemicznych środków konserwujących), a także biologicznych np. poprzez fermentację mlekową (kiszzenie), coraz częściej wymieniana jest biokonserwacja. Termin „biokonserwacja” odnosi się do wydłużenia trwałości i bezpieczeństwa żywności i dotyczy głównie wykorzystania szczepów bakterii fermentacji mlekowej (LAB) odznaczających się zdolnością do syntezy *in situ* związków o aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Zastosowanie w produkcji żywności oczyszczonych metabolitów syntetyzowanych przez LAB stanowi inne rozwiązanie biologicznej konserwacji (1, 2). W obu wypadkach efekt konserwacji następuje dzięki antagonicznemu oddziaływaniu mikroorganizmów lub metabolitów powstających podczas przeprowadzanego przez nie procesu fermentacji wobec mikrobiologicznych czynników psucia żywności.

Jakkolwiek konserwanty dopuszczone do stosowania w żywności uznane są za bezpieczne dla zdrowia konsumentów, to pozostaje do oceny ryzyko związane ze skumulowaną ich konsumpcją wraz z różnymi innymi dodatkami do żywności (3). Stosowanie chemicznych środków konserwujących jest niezgodne z aktualnymi trendami w przemyśle spożywczym dotyczącymi wytwarzania żywności tradycyjnej, ekologicznej, możliwie jak najmniej przetworzonej, a jeśli utrwalanej to przy zastosowaniu metod pozwalających na zachowanie wartości odżywczej i walorów smakowo-zapachowych. Ograniczenie stosowania środków konserwujących jest coraz częściej wymagane przez konsumentów (4); z tych względów na znaczeniu zyskują metody biokonserwacji. Od dawna świadomie wykorzystywana jest zdolność LAB do utrwalania żywności przede wszystkim poprzez syntezę szerokiego spektrum związków przeciwdrobnoustrojowych (np. kwasów organicznych, peptydów i bakteriocyn) (5), co determinuje szeroki zakres oddziaływania LAB na mikroorganizmy za pomocą takich mechanizmów jak: uszkodzenie ściany lub błony komórkowej, ingerencja w materiał genetyczny, hamowanie syntezy białek i uszkodzenie syste-

mów enzymatycznych (3). Ponadto, wykorzystanie szczepów LAB o naturalnym pochodzeniu (dzikich), uznanych za organizmy bezpieczne (o statusie GRAS) jako biologiczne czynniki konserwujące jest rozwiązaniem ekologicznym.

Coraz większe zainteresowanie i nadzieje zarówno naukowców, jak i producentów żywności budzi aktywność metaboliczna LAB skierowana przeciw drożdżom i pleśniam. Ze względu na zdolność do wzrostu w szerokim zakresie warunków środowiska obecność pleśni i drożdży jest jednym z najczęstszych czynników negatywnie wpływających na jakość żywności. Poza zmianą właściwości organoleptycznych, obecność pleśni z rodzaju *Aspergillus*, *Fusarium* i *Penicillium* może zanieczyszczać te produkty toksycznymi metabolitami pleśni (mikotoksynami) i zarodnikami mającymi działanie alergenne, kancerogenne i mutagenne. Psucie się żywności i pasz spowodowane obecnością pleśni jest także przyczyną strat ekonomicznych.

Aktywność bakterii fermentacji mlekowej wobec pleśni

W ostatnich latach pojawia się coraz więcej doniesień dotyczących aktywności przeciwgrzybowej LAB. Szczepy wykazujące takie właściwości pochodzą z różnych środowisk (surowce pochodzenia roślinnego, przewód pokarmowy zwierząt), a badania nad spektrum i skutecznością aktywności antagonistycznej wielu z nich są źródłem obiecujących pod względem aplikacyjnym danych opisujących zdolność do hamowania rozwoju pleśni, zarówno w warunkach *in vivo* (6, 7, 8), jak również *in situ* (9).

Biorąc pod uwagę liczbę szczepów LAB przebadanych przez różnych autorów pod względem aktywności przeciwpleśniowej można stwierdzić, że jest to właściwość dość rzadko występująca, przy czym nie jest ona związana z przynależnością gatunkową LAB lecz jest cechą szczepową (10, 11). Spośród 1200 izolatów przebadanych przez *Magnusson* i współpr. (7) zdolność do hamowania wzrostu pleśni stwierdzono w przypadku 4% szczepów, z których najwięcej należało do gatunku *Lactobacillus coryniformis*. Ponadto, aktywność antypleśniową stwierdzono u takich gatunków jak *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus sakei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus parvulus*. Przebadane izolaty LAB pochodziły z różnorodnego materiału roślinnego oraz przewodu pokarmowego kurcząt (7).

Innym środowiskiem z jakiego wyizolowano LAB o właściwościach antygrzybowych były tradycyjnie produkowane sery feta. W tym przypadku aktywność przeciwpleśniową stwierdzono u 31 z grupy 81 izolatów (12). Zdolność do hamowania wzrostu pleśni 91 szczepów LAB należących do kilku gatunków bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, pochodzących z różnych środowisk (produkty mleczarskie, warzywa, kiszonki, soki, zakwasy, wędliny) badał *Gerez* i współpr. (6). Aktywność przeciwpleśniową wykazano w przypadku 10 szczepów należących do gatunków *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. acidophilus*, i *L. reuteri*. W przypadku szczepów LAB wyizolowanych z owoców tropikalnych, spośród 137 izolatów zdolność do hamowania wzrostu pleśni zaobserwowano tylko w przypadku trzech szczepów należących do gatunków: *L. brevis*, *L. fermentum* i *P. pentosaceus* (5).

Do najintensywniej badanych pod względem właściwości przeciwgrzybowych należą szczepy bakterii wyizolowane z ciast zakwasowych i naturalnych zakwasów

piekarskich. *Garofalo* i współpr. (13) przeprowadzili selekcję spośród 216 szczepów, w wyniku której wyodrębnili dwa szczepy odznaczające się zdolnością do syntezy związków przeciwgrzybowych – *Lactobacillus paralimentarius* PB127 i *Lactobacillus rossiae* LD108. W badaniach prowadzonych przez *Valerio* i współpr. (8) skupiono się na określeniu aktywności przeciwgrzybowej bakterii wyizolowanych z mąki pszennej; aktywność tę stwierdzono u 10 spośród 125 izolatów w tym należących do gatunków: *Leuconostoc citreum* i *L. rossiae*.

Zannini i współpr. (11) wyizolowali z zakwasów pszennych, ciasta chlebowego i ciasta słodkiego 217 szczepów LAB i zbadali ich aktywność antymikrobiologiczną wobec pleśni *Aspergillus heteromorphus*, *Eurotium niveglaucum* oraz *Penicillium roseopurpureum*, wyizolowanych z pomieszczeń piekarni rzemieślniczych oraz tzw. zwrotów piekarskich. W grupie otrzymanych szczepów LAB, 21 izolatów odznaczało się silną aktywnością antypleśniową sugerującą, że mogą być one w przyszłości stosowane w biokonserwacji pieczywa.

Tab e l a 1. Szczepy bakterii fermentacji mlekowej charakteryzujące się aktywnością przeciwpleśniową; przykłady wg. publikacji od 2000 roku

Tab l e 1. Lactic acid bacteria strains exhibited antifungal activity; examples since 2000 year

Szczepy LAB	Źródło izolacji	Związki przeciwpleśniowe	Źródło
<i>L. plantarum</i> 21B	ciasta zakwasowe	PLA, 4-OH-PLA	10
<i>L. plantarum</i> VTT E-78076 (E76) <i>L. plantarum</i> VTT E-79098 (E98)	piwo kiszona kapusta	kwas benzoesowy, 5-metylohydantoina, lakton kwasu mewalonowego, cykliczne dipeptydy	30
<i>L. coryniformis</i> Si3	trawy	cykliczne dipeptydy, reuteryna, PLA	7, 17
<i>L. plantarum</i> MiLAB 393	kiszonki traw	cykliczne dipeptydy, PLA	15
<i>L. plantarum</i> MiLAB14	kwiaty bzu	3-hydroksylowe kwasy tłuszczowe	31
<i>L. plantarum</i> FST 1.7	słód jęczmienny	kwas mlekowy i PLA, cykliczne dipeptydy	18
<i>Leuconostoc citreum</i> <i>L. rossiae</i> , <i>L. plantarum</i>	mąka pszenna	kwas mlekowy, octowy, PLA, OH-PLA	8
<i>L. plantarum</i> PCS 20 <i>L. plantarum</i> PCS 22	żywność	kwas mlekowy	32
m.in. <i>L. plantarum</i> 2032 <i>L. paracasei</i> 2071	ser feta	związki o charakterze białkowym	12
<i>Lactobacillus amylovorus</i> DSM 19280	mąka	pochodne kwasu cyjanonowego, PLA, OH-PLA, kwas mlekowy, octowy, glukuronowy, salicylowy, nukleozydy (cytydyna oraz 2-deoksycytydyna), cykliczne dipeptydy	19
<i>L. brevis</i> G004 <i>L. fermentum</i> Te007, <i>P. pentosaceus</i> Te010	owoce tropikalne	niezidentyfikowane	5
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> PB127	ciasta zakwasowe	peptydy zgodne z fragmentami otrzymywanymi po proteolizie α -gliadyn	13

Szczepy LAB	Źródło izolacji	Związki przeciwplesniowe	Źródło
<i>Lactobacillus rossiae</i> LD108	ciasta zakwasowe	peptydy zgodne z fragmentami otrzymanymi po proteolizie α -gliadyn	13
<i>L. fermentum</i> CRL 251	produkty mleczarskie	peptydy o masie <10 kDa	6
<i>Lactobacillus hammesii</i> DSM 16381	ciasta zakwasowe	uwodnione kwasy tłuszczowe	20

PLA kwas fenylomlekowy; OH-PLA kwas hydroksy fenylomlekowy

Związki oddziałujące przeciwrzybowo syntetyzowane przez bakterie fermentacji mlekowej

Większość zidentyfikowanych dotychczas metabolitów LAB odpowiedzialnych za aktywność przeciwdrobnoustrojową należy do związków niskocząsteczkowych jak kwasy organiczne, diacetyl, etanol, nadtlenek wodoru, hydroksylowane (uwodnione) kwasy tłuszczowe, cykliczne dipeptydy, związki fenolowe, kwas fenylomlekowy (PLA) i bakteriocyny (7, 10). W przypadku kwasów organicznych szczególnie silną aktywność przeciwplesniową przypisuje się synergistycznemu oddziaływaniu kwasu octowego i mlekowego. Kwas propionowy odznacza się najwyższą zdolnością wywoływania zmian dysocjacyjnych w strukturach komórkowych, będących przyczyną działania antygrzybowego (14).

Ze względu na szerokie spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego i przeciwplesniowego, metabolitem LAB, skupiającym szczególną uwagę, jest PLA. PLA oraz jego uwodniona postać, kwas 4-hydroksy-fenylomlekowy (OH-PLA), zaliczane są do związków odpowiedzialnych za aktywność szczepów *L. plantarum* 21B, *L. plantarum* MiLAB 393, *L. coryniformis* Si3, *P. pentosaceus* MiLAB 024, *L. sakei* MiLAB 091 skierowaną przeciw pleśniom (7, 10, 15). Jakkolwiek działanie przeciwplesniowe PLA w czystej postaci zaobserwowano przy stosunkowo wysokich stężeniach (mg/cm^3), to w przypadku oddziaływania LAB, syntetyzujących do ok. 0,5 mM PLA ($83 \text{ mg}/\text{dm}^3$), wpływ PLA na rozwój pleśni jest wzmocniony obecnością kwasu octowego i mlekowego, a także niskimi wartościami pH środowiska (pH 4 i niższe) (16).

W odniesieniu do niektórych LAB, wykazujących aktywność przeciwrzybową, zaobserwowano białkowy charakter tej aktywności i jej zanik w wyniku zastosowania enzymów proteolitycznych, co autorzy tłumaczą obecnością związków podobnych do bakteriocyn (12). Białkowy charakter aktywności przeciwplesniowej *L. coryniformis* Si3 potwierdzono poprzez wykazanie wrażliwości metabolitów tego szczepu na enzymy proteolityczne (17). *Garofalo* i wspólr. (13) wykazali obecność bakteriocyn w supernatancie uzyskanym z zakwasu piekarskiego poddanego procesowi fermentacji w obecności szczepów *L. rossiae* LD108 i *L. paralimenarius* PBI27; badane białka przyczyniały się do ograniczenia wzrostu pleśni *Aspergillus japonicus*.

Często opisywaną cechą szczepów LAB jest ich zdolność do syntezy cyklicznych dipeptydów, czyli związków o niskiej masie cząsteczkowej. Dipeptydy cyklo(L-Leu-L-Pro) oraz cyklo(L-Phe-L-Pro) odpowiedzialne są za aktywność przeciwplesnio-

wą szczepu *L. plantarum* FST 1.7 (18); natomiast szerokie spektrum aktywności szczepu *L. plantarum* MiLAB 393 związane jest z syntezą cyklo(L-Phe-L-Pro) i cyklo(L-(Phe-trans-4OH-L-Pro) (15). Początkowo zdolność do syntezy dipeptydów o właściwościach antygrzybowych przypisywano jedynie szczepom należącym do gatunku *L. plantarum*, znaleziono jednak szczepy bakterii innych gatunków (*P. pentosaceus*, *L. coryniformis*, *L. amylovorus*, *L. casei*) odznaczające się zdolnością do syntetyzowania takich związków (7, 9, 19).

Kolejną grupą związków o charakterze przeciwgrzybowym są kwasy tłuszczowe i ich uwodnione analogi (hydroksykwas). Badania Black i współpr. (20) wykazały zdolność szczepu *L. hammesii* SM 16381 do konwersji kwasu linolowego do hydroksykwasów tłuszczowych (m. in. kwasu 13-hydroksy-9,11-oktadekadienowego) działających przeciwpleśniowo. Zastosowanie tego kwasu w zakwasach piekarskich, w ilości 0,15% umożliwia wydłużenie czasu przechowywania pieczywa o 2–3 dni (20).

Mechanizm oddziaływania

Oddziaływanie przeciwpleśniowe LAB polega z jednej strony na hamowaniu wzrostu pleśni i syntetyzowaniu metabolitów przeciwpleśniowych, z drugiej, w przypadku niektórych mikotoksyn, na hamowaniu ich syntezy lub wiązaniu do ścian komórkowych LAB. Unieczynnianie mikotoksyn poprzez unieruchomienie jest najszerszej opisane w przypadku aflatoksyn, ale dotyczy również fusariotoksyn jak zearalenon i α -zearalenon, trichotecenów, ochratoksyn. Efektywność wyłapywania aflatoksyn zależy od szczepu. Stwierdzono dużą redukcję (aż do 80% spośród znajdującej się w roztworze) aflatoksyny B1 przez szczep probiotyczny *Lactobacillus rhamnosus* LC-705, a także *L. rhamnosus* GG (21).

Cechą charakterystyczną szczepów LAB jest zdolność do syntezy kwasów organicznych, takich jak: kwas mlekowy, octowy i propionowy. Wskutek obecności tych kwasów następuje obniżenie pH środowiska, co w konsekwencji ogranicza wzrost innych bakterii i grzybów (2). Wpływ kwasów organicznych na komórki drobnoustrojów zależy od ich budowy; do hamowania wzrostu bakterii przyczynia się zwłaszcza obecność w środowisku formy niezdysocjowanej kwasu, przenikanie kwasów do wnętrza powoduje obniżenie pH cytozolu komórek i zmiany w przepuszczalności błon komórkowych bakterii (22).

Mechanizm oddziaływania kwasów tłuszczowych i hydroksykwasów tłuszczowych na komórki grzybów nie został w pełni poznany. Jednej z hipotez dostarcza praca Avis i Belanger (23) opisująca aktywność kwasu *cis*-9-heptadekanowego syntetyzowanego przez *Pseudozyma flocculosa*, wykazującą aktywność fungistatyczną wobec pleśni fitopatogennych. Aktywność tego związku autorzy tłumaczą wnikaniem cząsteczek kwasu tłuszczowego w strukturę błony lipidowej komórek organizmu wrażliwego, co jest przyczyną naruszenia ciągłości membrany oraz niekontrolowanego wypływu cytoplazmy (23).

Zastosowanie elektroforezy dwukierunkowej w badaniu zmian profili białkowych pleśni *Aspergillus nidulans* hodowanej w obecności szczepu *L. plantarum* MiLAB 393 pozwoliło określić zakres zmian na poziomie translacji białek; zaobserwowano wzmożoną ekspresję białka LbuA i jednoczesną syntezę trzech różnych postaci tej cząsteczki w komórkach pleśni rozwijającej się w obecności badanego szczepu LAB

(24). Ekspozycja na działanie substancji przeciwpleśniowych prowadziła również do zmian morfologicznych strzępek pleśni, u których obserwowano powiększenie wakuoli, atypowe rozgałęzienie strzępek oraz ich wyraźne powiększenie (24).

W doświadczeniach przeprowadzonych przez *Adebayo* i *Aderiye* (25) śledzono wpływ obecności brewicyny SG1 na drożdże *Candida albicans* oraz pleśń *Penicillium citrinum*. Komórki badanych organizmów odznaczały się nieregularnym kształtem lub wykazywały wysoki stopień lizy, co prowadziło do istotnych zmian w ilości otrzymanej biomasy. Prawdopodobną przyczyną obserwowanych zmian była ingerencja bakteriocyny w aktywność enzymów zaangażowanych w syntezę ściany komórkowej (25).

Doświadczenia z zastosowaniem mikromacierzy na transkryptomie *C. albicans* pozwoliły na identyfikację genów, uczestniczących w procesach wzrostu strzępek, powstawania ściany komórkowej i syntezy ergosterolu, których poziom ekspresji ulega obniżeniu w obecności probiotycznych szczepów *L. rhamnosus* GR-1 i *L. reuteri* RC-14 w środowisku hodowlanym. W tych samych warunkach obserwowano wzrost ilości transkryptów genów zaangażowanych m.in. w procesy adaptacji do warunków stresu (26).

Zastosowanie

Popularną metodą ochrony pieczywa przed rozwojem pleśni jest stosowanie propionianu wapnia (CAP). Dyrektywa nr 95/2/EC dopuszcza stosowanie CAP w utrwalaniu pieczywa w dawce do 3000 ppm. W odniesieniu do zakwasów piekarskich stwierdzono, że zastosowanie szczepów LAB o właściwościach przeciwpleśniowych pozwala na ograniczenie użycia CAP.

Ryan i współpr. (27) opisali możliwość ograniczenia dawki CAP do 1000 ppm przy jednoczesnym zastosowaniu *L. plantarum* FST 1.7 i *L. plantarum* FST 1.9 w inicjowaniu procesu fermentacji zakwasu piekarskiego. Według innych badań, zakwas piekarski poddany procesowi fermentacji w obecności kultury starterowej szczepu *L. plantarum* 21B zdolnego do wydajnej syntezy PLA i OH-PLA, odznaczał się o 7 dni lepszą trwałością niż zakwas poddany procesowi fermentacji w obecności szczepu *L. brevis* 1D (10).

Zgłoszono do ochrony patent międzynarodowy, którego przedmiotem jest *Lactobacillus amylovorus* DSM 19280 odznaczający się właściwościami przeciwgrzybowymi pozwalającymi na otrzymanie pieczywa o trwałości dwukrotnie przewyższającej trwałość pieczywa otrzymanego z dodatkiem 0,3% CAP (28). *Zhang* i współpr. (29) próbowali wykorzystać do wydłużenia trwałości mikrobiologicznej chleba, znany z procesu fermentacji kiszonek, kometabolizm *Lactobacillus buchneri* i *Lactobacillus diolivorans*, polegający na przeprowadzeniu kwasu mlekowego do propionowego.

Podsumowanie

Biorąc pod uwagę tendencje związane z zapewnieniem bezpieczeństwa żywności i koniecznością zminimalizowania strat spowodowanych psuciem się surowców i produktów żywnościowych, przy jednoczesnym ograniczeniu stosowania chemicznych środków konserwujących, rozwój badań dotyczących przeciwgrzybowych właściwości

LAB i ich wykorzystania do biokonserwacji wydaje się istotny zarówno pod względem poznawczym, jak i możliwości aplikacji. Pomimo intensywnie prowadzonych prac nad selekcją szczepów zdolnych do syntezy związków kontrolujących rozwój drożdży i pleśni w produktach żywnościowych, nadal brakuje odpowiednich kultur starterowych i preparatów przeznaczonych do praktyki przemysłowej. Przedstawione dane wskazują na wysoki potencjał biokonserwacji, jako rozwiązania pozwalającego na zapewnienie konsumentom bezpieczeństwa żywności przy jednoczesnym wyeliminowaniu lub ograniczeniu stosowania chemicznych środków konserwujących. Szczególnie nadzieje pokładane są w poszukiwaniu szczepów LAB odznaczających się zdolnością do syntezy różnych związków o szerokim spektrum oddziaływania przeciwgrzybowego, przy jednoczesnym korzystnym wpływie wyselekcjonowanej kultury na cechy organoleptyczne produktu. Izolacja takich organizmów byłaby korzystna nie tylko ze względów technologicznych, ale również ekonomicznych.

K. Piasecka-Jóźwiak, M. Świątek, B. Chabłowska

APPLICATION OF ANTIFUNGAL PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA STRAINS
TO FOOD BIOCONSERVATION

PIŚMIENNICTWO

1. Gaggia F., Di Gioia D., Baffoni L., Biavati B.: The role of protective and probiotic cultures in food and feed and their impact in food safety. Trends Food Sci. Tech., 2011; 22(1): 58-66. – 2. Ross R.P., Morgan S., Hill C.: Preservation and fermentation: past, present and future. Int. J. Food Microbiol., 2002; 79(1-2): 3-16. – 3. Davidson M., Branen A.L.: Food Antimicrobials-An Introduction. In: Antimicrobials in Food. Third Edition. Taylor & Francis Group, 2005. – 4. WHO: World Agriculture: Towards 2015/2030 Summary Report, 2000; <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/004/y3557e/y3557e.pdf>. – 5. Muhialdin B., Hassan Z.: Screening of lactic acid bacteria for antifungal activity against *Aspergillus oryzae*. Am. J. Appl. Sci., 2011; 8(5): 447-451. – 6. Gerez C., Torres M., Font de Valdez, Rollan G.: Control of spoilage fungi by lactic acid bacteria. Biol. Control, 2013; 64(3): 231-237. – 7. Magnusson J., Ström K., Roos S., Sjögren J., Schnürer J.: Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Lett., 2003; 219(1): 129-135. – 8. Valerio F., Favilla M., De Bellis P., Sisto A., de Candida S., Lavermicocca P.: Antifungal activity of strains of lactic acid bacteria isolated from a semolina ecosystem against *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus niger* and *Endomyces fibuliger* contaminating bakery products. Syst. Appl. Microbiol., 2009; 32(6): 438-448. – 9. Rouse S., Harnett D., Vaughan A., van Sinderen D.: Lactic acid bacteria with potential to eliminate fungal spoilage in foods. J. Appl. Microbiol., 2008; 104(3): 915-923. – 10. Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., Lazzaroni S., Corsetti A., Gobetti M.: Purification and characterization of novel antifungal compounds by sourdough *Lactobacillus plantarum* 21B. Appl. Environ. Microb., 2000; 66(9): 4084-4090.

11. Zannini E., Garofalo C., Aquilanti L., Santarelli S., Silvestri G., Clementi F.: Microbiological and technological characterization of sourdough destined for bread making with barley flour. Food Microbiol., 2009; 26(7): 744-753. – 12. Voulgari K., Hatzikamari M., Delepoglou A., Georgakopoulos P., Litopoulou-Tzanetaki E., Tzanetakis N.: Antifungal activity of non-starter lactic acid bacteria isolates from dairy products. Food Control, 2010; 21(2): 136-142. – 13. Garofalo C., Zannini E., Aquilanti L., Silvestri G., Fierro O., Picariello G., Clementi F.: Selection of sourdough lactobacilli with antifungal activity for use as biopreservatives in bakery products. J. Agr. Food Chem., 2012; 60(31): 7719-7728. – 14. Lind H., Jonsson H., Schnürer J.: Antifungal effect of dairy propionibacteria-contribution of organic acids. Int. J. Food Microbiol., 2005; 98(2): 157-165. – 15. Ström K., Sjögren J., Broberg A., Schnürer J.: *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo(L-Phe-L-Pro) and cyclo(L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. Appl. Environ. Microbiol., 2002; 68(9): 4322-

4327. – 16. *Lavermicocca P., Valerio F., Visconti A.*: Antifungal activity of phenyllactic acid against molds isolated from bakery products. *Appl. Environ. Microb.*, 2003; 69(1): 634-640. – 17. *Magnusson J., Schnürer J.*: *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Appl. Environ. Microb.*, 2001; 67(1): 1-5. – 18. *Dal Bello F., Clarke C.L., Ryan L.A.M., Ulmer H., Schober T.J., Ström K., Sjögren J., Van Sinderen D., Schnürer J., Arendt E.K.*: Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. *J. Cereal Sci.*, 2007; 45(3): 309-318. – 19. *Ryan L.A.M., Zannini E., Dal Bello F., Pawlowska A., Koehler P., Arendt, E.K.*: *Lactobacillus amylovorus* DSM 19280 as a novel food-grade antifungal agent for bakery products. *Int. J. Food Microbiol.*, 2011; 146(3): 276-283. – 20. *Black B.A., Zannini E., Curtis J.M., Ganzle M.G.*: Antifungal hydroxy-fatty acids produced during sourdough fermentation: microbial and enzymatic pathways, and antifungal activity in bread. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2013; 79(6): 1866-1873.
21. *Haskard C., El-Nezami H.S., Kankaanpaa P.E., Salminen S., Ahokas J.T.*: Surface Binding of Aflatoxin B1 by Lactic Acid Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001; 67(7): 3086-3091. – 22. *Alakomi H.L., Skyttä E., Saarela M., Mattila-Sandholm T., Latva-Kala K., Helander I.M.*: Lactic Acid Permeabilizes Gram-Negative Bacteria by Disrupting the Outer Membrane. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000; 66(5): 2001-2005. – 23. *Avis T.J., Belanger R.R.*: Specificity and mode of action of the antifungal fatty acid cis-9-heptadecenoic acid produced by *Pseudozyma flocculosa*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001; 67(2): 956-960. – 24. *Ström K., Schnürer J., Melin P.*: Co-cultivation of antifungal *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 and *Aspergillus nidulans*, evaluation of effects on fungal growth and protein expression. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2005; 246(1): 119-124. – 25. *Adebayo C.O., Aderiyi B.I.*: Suspected mode of antimycotic action of brevicin SG1 against *Candida albicans* and *Penicillium citrinum*. *Food Control*, 2011; 22(12): 1814-1820. – 26. *Kohler G.A., Assefa S., Reid G.*: Probiotic interference of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 with the opportunistic fungal pathogen *Candida albicans*. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 2012; 2012: 1-14. – 27. *Ryan L.A., Dal Bello F., Arendt E.K.*: The use of sourdough fermented by antifungal LAB to reduce the amount of calcium propionate in bread. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008; 125(3): 274-278. – 28. *Arendt E.K., Dal Bello F., Ryan L.*: Increasing the shelf life of bakery and patisserie products by using the antifungal *Lactobacillus amylovorus* DSM 19280. Zgłoszenie patentowe PCT WO 2009/141427. – 29. *Zhang C., Brandt M.J., Schwab C., Ganzle M.G.*: Propionic acid production by cofermentation of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus diolivorans* in sourdough. *Food Microbiol.* 2010; 27(3): 390-5. – 30. *Laitila A., Alakomi H-L., Raaska L., Mattila-Sandholm T., Haikara A.*: Antifungal activities of two *Lactobacillus plantarum* strains against *Fusarium* moulds *in vitro* and in malting of barley. *J. Appl. Microbiol.*, 2002; 93(4): 566-576.
31. *Sjögren J., Magnusson J., Broberg A., Schnürer J., Kenne L.*: Antifungal 3-hydroxy fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003; 69(12): 7554-7557. – 32. *Schillinger U., Villarreal J.*: Inhibition of *Penicillium nordicum* in MRS medium by lactic acid bacteria isolated from foods. *Food Control*, 2010; 21(2): 107-111.