

Müjdecı, G. N., Çeşitli evsel atıkların ve bayat ekmeğın *Aureobasidium pullulans* tarafından melanin sentezinde kullanılması. International Journal of Life Sciences and Biotechnology, 2022. 5(2). p. 166-186.
DOI: 10.38001/ijlsb.1033144

Çeşitli evsel atıkların ve bayat ekmeğın *Aureobasidium pullulans* tarafından melanin sentezinde kullanılması

Gamze Nur Müjdecı^{1*} 

ÖZET

Bu çalışmada katma değeri yüksek bir pigment olan melaninin fermentasyon yolu ile üretimi için, soğan, patates, elma, armut ve havuç kabukları ile bayat ekmeğın potansiyel kullanımı araştırılmıştır. Bu amaçla, belirtilen evsel atıklar ve bayat ekmeğın çeşitli ön işlemlerden geçirildikten sonra özütleri elde edilmiş ve bu özütler fermentasyon ortamı olarak kullanılmışlardır. Fermentasyon çalışmalarında inokulum olarak ayrı ayrı yerli bir suş olan *Aureobasidium pullulans* AZ-6 ile *A. pullulans* NBRC 100716 suşu kullanılmıştır. Fermentasyon deneyleri, 150 mL fermentasyon ortamı içeren 300 mL'lik pamuk tıkaçlı Erlenmeyer'lerde, 100 rpm'lik çalkalama hızında, çalkalamalı bir inkübatör kullanılarak 30°C'de gerçekleştirilmiştir. Melanin derişimleri (g/L) hücre içi ve hücre dışı olarak tespit edilmiştir. Çalışmada, *A. pullulans* AZ-6 suşunun hücre gelişimini en çok elma kabuğu özütü desteklerken, *A. pullulans* NBRC 100716'nın hücre gelişimini en fazla havuç kabuğu özütü desteklemiştir. Çalışılan substratlar ile *A. pullulans* AZ-6'nın sadece hücre dışı melanin üretebildiği ancak *A. pullulans* NBRC 100716'nın hem hücre içi hem de hücre dışı melanin üretebildiği belirlenmiştir. *A. pullulans* AZ-6 en yüksek miktarda melanin üretimini (1.34 ± 0.2 g/L) elma kabuğu özütü ile gerçekleştirmiştir. Soğan ve armut kabuklarının özütleri, *A. pullulans* AZ-6 suşunun hücre dışı melanin üretimini hiç desteklemezken, *A. pullulans* NBRC 100716'nın hücre dışı melanin üretimi için elverişli bir ortam olmuştur. Patates kabuğu özütünde *A. pullulans* AZ-6 suşu hiç melanin üretemezken, *A. pullulans* NBRC 100716 suşu diğer substratlara göre düşük miktarda (0.22 ± 0.04 g/L) hücre dışı melanin üretebilmiştir. Kuru ekmeğın substrat kaynağı olarak kullanıldığı deneylerde ise, çalışılan her iki suş tarafından da sadece hücre dışı melanin üretiminin gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu çalışmada, en yüksek toplam (hücre içi + hücre dışı) melanin üretimi, 3.71 g/L olarak, *A. pullulans* NBRC 100716 tarafından havuç kabuğu özütü ile gerçekleşmiş; elma ve soğan kabuklarının özütleri ile de buna yakın bir sonuç elde edilmiş ve sırasıyla, 3.28 ve 3.02 g/L toplam melanin elde edilmiştir. Bu çalışma ile havuç, elma ve soğan kabuklarının melanin üretimi için önemli doğal substrat kaynakları olabilecekleri ortaya konmuştur.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş
6 Aralık 2021
Kabul
25 Ocak 2022

ANAHTAR KELİMELEK

Evsel atık,
bayat ekmeğın,
melanin,
Aureobasidium pullulans
fermantasyon

¹ Hitit University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Corum/ Turkey

*Corresponding Author: Gamze Nur Müjdecı, e-mail: gnurmujdecı1@gmail.com

The use of various household wastes and stale bread in the synthesis of melanin by *Aureobasidium pullulans*

ABSTRACT

In this study, the potential use of onion, potato, apple, pear, and carrot peels, and stale bread for the production of melanin, a high-value-added pigment, by fermentation was investigated. For this purpose, the extracts of domestic waste and stale bread were obtained after various pre-treatments and these extracts were used as fermentation media. In the fermentation studies, a native strain *Aureobasidium pullulans* AZ-6 and *A. pullulans* NBRC 100716 strain were used separately as inoculum. Fermentation experiments were performed at 30°C using a shaking incubator at a shaking speed of 100 rpm in 300 mL cotton-plugged Erlenmeyers containing 150 mL of fermentation medium. The melanin concentrations (g/L) were determined as intracellular and extracellular. In the study, while apple peel extract supported the cell growth of *A. pullulans* AZ-6 strain the most, carrot peel extract supported the cell growth of *A. pullulans* NBRC 100716 the most. With the studied substrates, it was determined that *A. pullulans* AZ-6 could only produce extracellular melanin, but *A. pullulans* NBRC 100716 could produce both intracellular and extracellular melanin. *A. pullulans* AZ-6 produced the highest amount of melanin (1.34 ± 0.2 g/L) with apple peel extract. Onion and pear peel extracts did not support the extracellular melanin production of *A. pullulans* AZ-6 strain, while they were favorable media for the extracellular melanin production of *A. pullulans* NBRC 100716. While *A. pullulans* AZ-6 strain could not produce melanin in potato peel extract, *A. pullulans* NBRC 100716 strain was able to produce a low amount (0.22 ± 0.04 g/L) extracellular melanin compared to other substrates. In experiments where stale bread was used as a substrate source, it was determined that only extracellular melanin production was realized by both strains studied. In this study, the highest total (intracellular + extracellular) melanin production was achieved by *A. pullulans* NBRC 100716 in the carrot peel extracts as 3.71 g/L, and similar results were obtained with apple and onion peel extracts as 3.28 and 3.02 g/L, respectively. This study revealed that carrot, apple, and onion peels can be important natural substrate sources for melanin production.

ARTICLE HISTORY

Received

6 December 2021

Accepted

25 January 2022

KEY WORDS

Household waste,

stale bread,

melanin,

Aureobasidium pullulans

fermentation

Giriş

Melanin, tüm alemlerde yer alan organizmalar tarafından üretilebilen, fenolik ve indolik bileşiklerin oksidatif polimerizasyonu ile oluşturulan, yüksek molekül ağırlıklı hidrofobik bir polimer olarak tanımlanmaktadır [1]. Tipik olarak melaninin, koyu kahverengi veya siyah renkli olduğu ve yüksek molekül ağırlığına sahip olduğu belirtilmektedir. Negatif yüklü bir pigment olan melaninin, su ve organik çözücülerde çözünmediği ifade edilmektedir. Yapısal olarak, melaninin yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerin bir karışımını temsil ettiği ve bu yapının söz konusu pigmenti kararlı ve oksidan ajanlar, kuruma, aşırı sıcaklık, UV ışığı, ağır

metaller ve ilaçlar gibi çeşitli fizikokimyasal işlemlere karşı dirençli kıldığı vurgulanmaktadır [2].

Birçok maya ve fungus türünün melanin pigmentini üretebildiği ve bu pigmentin mikroorganizmayı çeşitli olumsuz çevresel koşullardan koruduğu belirtilmektedir. En iyi bilinen melanin üretici fungus, maya ve maya benzeri funguslar arasında; *Kluyveromyces marxianus*, *Streptomyces chibanensis*, *Aspergillus* sp., *Wangiella dermatitidis*, *Burkholderia cepacia*, *Cry. neoformans*, *Exophiala dermatitidis*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Exophiala dermatitidis*, *Sporothrix schenckii*, *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Candida albicans*, *Pneumocystis jirovecii*, *Scytalidium dimidiatum* ve *Aureobasidium pullulans* yer almaktadır [3].

A. pullulans, funguslar alemindeki *Ascomycota* grubu içerisinde yer alan; Dothideales takımı, *Dothideaceae* familyası ve *Aureobasidium* cinsine ait polimorfik bir tür olarak tanımlanmaktadır [4]. İlk geliştiklerinde krem, açık pembe ya da açık kahverengi olan *A. pullulans* kolonilerinin, daha sonra ürettikleri melanin pigmenti nedeni ile kahverengi ya da siyah renge dönüştükleri, bu nedenle de siyah maya olarak da adlandırıldıkları ifade edilmektedir [5].

Son yıllarda dünya çapında, sentetik pigmentler yerine mikroorganizmalar tarafından üretilen doğal kaynaklardan elde edilen pigmentlere olan ilgi artmaktadır [6]. Bunun sebebi olarak ise; doğal kaynaklardan elde edilen pigmentlerin daha güvenli, çevreye zarar vermeyen, çabuk bozunabilir ve zararlı etkileri olmayan pigmentler olması gösterilmektedir. Bunun yanı sıra sentetik pigmentlerin insanlara, hayvanlara ve çevreye karşı zararlı etkilerinin olduğu da ifade edilmektedir [7]. Mikroorganizmalar kullanılarak pigment üretiminin, kimyasal yollarla sentezlenmesinden daha verimli ve düşük maliyetli bir işlem olduğu vurgulanmaktadır. Mikroorganizmaların ayrıca, mevsimsel kısıtlamalarının olmaması, ucuz ve yüksek verimli üretim gerçekleştirmeleri nedeniyle bitkiler ve hayvanlara kıyasla daha uygun pigment kaynakları oldukları ifade edilmektedir. Melanin pigmentinin tarım, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde çok geniş uygulama potansiyeline sahip olması ve bu pigmentte artan talep göz önüne alındığında, mikroorganizmalar kullanılarak melanin üretimi üzerine yapılan çalışmaların artması gerektiği vurgulanmaktadır [8,9].

Fermantasyon yolu ile melanin üretiminde kullanılan substratlar, üretilen ürünün maliyetini önemli ölçüde etkilediğinden, prosesi endüstriyel ölçekte ekonomik hale getirmek için ucuz ve verimli substratların kullanılmasına ihtiyaç duyulduğu bilinmektedir. Bu amaçla biyoproseslerde ucuz substrat kaynağı olarak çeşitli tarımsal sanayi artıklarının kullanılmaları önem kazanmaktadır. Bu atıkların, tarladan sofraya tüm gıda zincirinde ortaya çıktığı ve dünya genelinde büyük sorun oluşturduğu bilinmektedir. Türkiye’de yaklaşık olarak yılda 45 bin ton soğan kabuğu ve 542 bin ton bayat ekmek ortaya çıkmaktadır [10]. Patatesin tarladaki atık (sap) miktarının yıllık yaklaşık 455 bin ton, elma ve armudun bahçedeki budama atığının ise yıllık yaklaşık 122 bin ve 27 bin ton olduğu belirtilmiştir [11]. Yalnızca Ankara’da meydana çıkan yıllık toplam mutfak atığının yaklaşık 5.35 megaton olduğu da bilinmektedir [12]. Geleneksel atık bertaraf yöntemlerinin çevresel, ekonomik ve sosyal sorunlara neden olduğu, bu nedenle de organik atıklarının katma değeri yüksek biyoteknolojik ürünlere dönüştürülmelerinin daha sürdürülebilir, küresel ihtiyacı karşılamaya yönelik ve kârlı olduğu da ortadadır. Bu şekilde, tarımsal sanayi artıklar ile organik evsel atıklara katma değer kazandırılmakta ve günümüz problemlerinden biri olan çevre kirlenmesinin de önüne geçilebilmektedir. Bu kapsamda yapılan çalışmalarda kullanılan doğal substratlar arasında; ananas, portakal ve nar atıkları, mısır likörü, üzüm atığı, mısır maserasyon sıvısı, jack meyvesi çekirdeği, buğday kepeği, hindistan cevizi posası, pirinç kepeği, pirinç unu, melas, ayçiçeği kabuğu, darı, muz sapı ve şeker kamışı küspesi hidrolizatının yer aldığı görülmüştür [7,9].

Bu çalışmanın amacı; literatürde ilk defa soğan, patates, elma, armut ve havuç kabukları ile bayat ekmek kullanılarak *A. pullulans* suşları ile melanin üretiminin gerçekleştirilmesidir.

Materyal ve Metot

***Aureobasidium pullulans* suşları**

Bu çalışmada melanin üretimi için *A. pullulans* AZ-6 ve *A. pullulans* NBRC 100716 suşları kullanılmıştır. Suşlar, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü (Ankara) öğretim üyesi Prof. Z. Yeşim Özbaş tarafından sağlanmıştır. *A. pullulans* AZ-6 suşu, yazarın yüksek lisans tezi çalışmaları sırasında, taze Gemlik zeytinlerinden izole edilirken, *A. pullulans* NBRC 100716 suşu Japonya'dan temin edilmiş bir çilek izolatıdır.

Evsel atıklar ve ön işlemler

Çalışmada, soğan, patates, elma, armut ve havuç kabukları ile bayat ekmekler fermantasyon ortamı hazırlamak için doğal substrat kaynakları olarak kullanılmışlardır. Araştırmada soğan, elma, armut ve havuç kabukları, Tarangini ve Mishra [9] tarafından önerilen yönteme göre ayrı ayrı ön işlemlerden geçirildikten sonra fermantasyon ortamı olarak kullanılmışlardır. Bu amaçla, 1000 g kabuk, bir blender yardımıyla parçalandıktan sonra üzerine 2 L saf su ilave edilmiş, elde edilen karışım 100°C'de 30 dakika boyunca kaynatıldıktan sonra özüt kaba filtrasyon ile ayrılmıştır. Elde edilen özütler 300 mL'lik Erlenmeyer'lere 150 mL hacimde dağıtıldıktan sonra otoklavda, 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiş ve doğrudan fermantasyon ortamı olarak kullanılmışlardır.

Çalışmada kullanılan bayat ekmek ve patates kabuğundaki şekerler ise, asit hidrolizi ile özütlenmişlerdir. Bu amaçla, doğal substratlar bir blender yardımı ile ayrı ayrı parçalanmışlar ve ardından üzerlerine derişimi, substrat (g): asit çözeltisi (mL); 10:100 (w/v) olacak şekilde önceden hazırlanmış olan sülfürik asit çözeltisi ilave edilmiştir. Asit çözeltisi ise; 0.5 mL, %98'lik derişik H₂SO₄ (Merck, Almanya) çözeltisinin, 100 mL saf suya eklenmesiyle hazırlanmıştır. Elde edilen karışımlar oda sıcaklığında, rutin olarak karıştırma işlemi yapılarak yarım saat bekletilmiş ve daha sonra nişastanın etkin parçalanması amacıyla otoklavda 121°C'de 15 dakika tutulmuşlardır.

Otoklavdan çıkarılan karışımlar soğutulduktan sonra, temiz bir tülbent yardımıyla süzölmüş ve elde edilen süzöntü, 6000 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Daha sonra ise elde edilen homojen hidrolizat 300 mL'lik Erlenmeyer'lere 150 mL hacimde dağıtılmış ve otoklavda, 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Steril hidrolizatlar doğrudan fermantasyon ortamı olarak kullanılmışlardır.

Fermantasyon ortamlarındaki başlangıç glukoz ve/veya fruktoz derişimleri, Dinitrosalisilik asit (DNS) yöntemi kullanılarak [13], toplam şeker derişimleri ise, sakkaroz cinsinden, fenol sülfürik asit yöntemi kullanılarak [14] tayin edilmişlerdir.

Aşı kültürlerinin hazırlanması

Fermantasyon deneylerinden önce, her bir suş için aşı kültürü hazırlanmıştır. Bu amaçla ilk olarak bileşimi (g/L): glukoz; 10, maya özütü; 3, malt özütü; 3 ve pepton; 5 olan steril Yeast ekstrakt Malt ekstrakt (YM) broth ve YM agar besiyerinde 30°C'de 48 saat geliştirilerek

aktifleştirilmiş olan *A. pullulans* kültüründen, 250-300 mL'lik erlenler içerisinde bulunan 100 mL hacmindeki steril Tryptic Soy Broth (Merck, Almanya) besiyerine aşılanmıştır. Sıcaklığı ve çalkalama hızı ayarlanabilen çalkalamalı inkübatörde, 30°C'de, 100 rpm çalkalama hızında, 48 saat geliştirilen aşı kültürü, yine erlenler içerisinde hazırlanan 150 mL çalışma hacmindeki doğal fermantasyon ortamlarına ayrı ayrı %5 (v/v) oranında inoküle edilmiştir.

Bu aşamada *A. pullulans* suşlarının, fermantasyon ortamlarındaki ayrı ayrı başlangıç inokülasyon derişimlerinin belirlenebilmesi amacıyla ilk olarak, üreme ortamından alınan kültürün %0.85'lik (w/v) serum fizyolojik içerisinde ardışık seyreltileri hazırlanmış, daha sonra, bu seyreltilerden petri kaplarında, önceden hazırlanmış YM agar besiyerlerine, yüzeye sürme yöntemi ile ekimler gerçekleştirilmiştir. Ekimleri yapılan besiyerlerinin 30°C'de 48 saat inkübasyonlarının ardından, oluşan kültürlerde koloni sayımları yapılmış ve başlangıç *A. pullulans* sayıları; kob/mL cinsinden hesaplanmıştır.

Fermantasyon deneyleri

Fermentasyon deneyleri, 150 mL fermentasyon ortamı içeren 300 mL'lik pamuk tıkaçlı Erlenmeyer'lerde, 100 rpm'lik bir çalkalama hızına sahip çalkalamalı bir inkübatör (NB-203QMS, N-Bitech) kullanılarak 20 gün boyunca, 30°C'de gerçekleştirilmiştir.

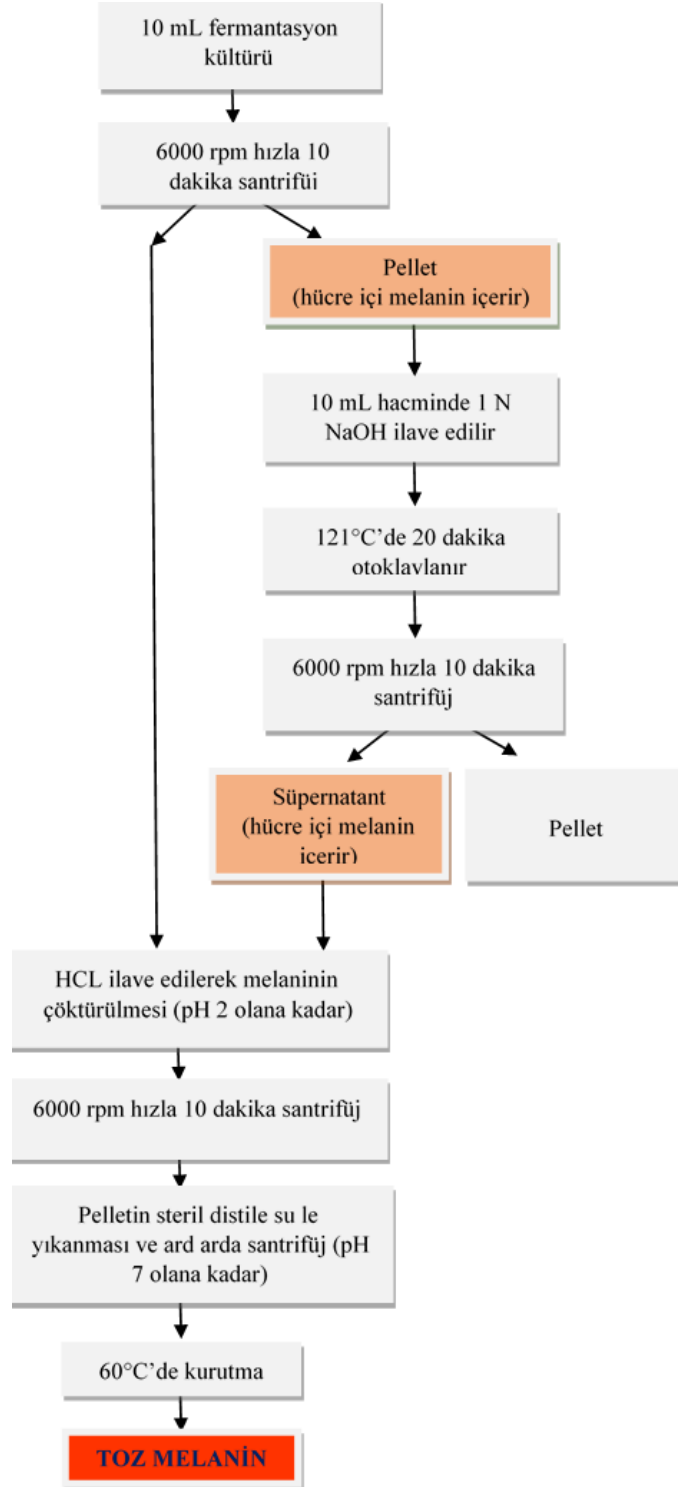
Analitik Testler

Fermentasyon ortamlarında *A. pullulans* AZ-6 ve *A. pullulans* NBRC 100716 suşları tarafından üretilen melanin derişimleri, fermantasyon boyunca yaklaşık her 24 saatte bir 10 mL kültür örneği alınarak tayin edilmiştir. Kültür örnekleri, 6000 rpm hızla 10 dakika santrifüjlenmiş ve hücre dışı melanin içeren süpernatant pelletten ayrılıp bir falkon tüpüne aktarılmıştır. *A. pullulans* hücreleri ile hücre içi melanin içeren pellet üzerine 10 mL hacminde 1 N NaOH ilave edilmiş ve oluşan karışım 121°C'de 20 dakika otoklavlanmıştır. Ardından karışım 6000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenip, hücre içi melanin içeren süpernatant kısmı bir falkon tüpü içerisine ayrılmıştır. Hücre içi ve hücre dışı melanin içeren süpernatantlara, pH'ları 2 olana kadar ayrı ayrı derişik HCl ilave edilmiş ve melaninin çökmesi sağlanmıştır. Çöken melanin santrifüj (6000 rpm, 10 dakika) ile ayrılmış, ardından saf su ile pH'ı 7 olana kadar tekrar tekrar yıkanmıştır [15]. Elde edilen melanin 60°C'de sabit tartıma gelene kadar kurutularak toz haline getirildikten sonra -18°C'de muhafaza edilmiştir

(Şekil 1). Fermantasyon deneylerinde belirli aralıklarla alınan örneklerdeki melanin derişimlerinin yanı sıra biyokütle derişimleri de Mujdeci [16] tarafından önerilen yöntemle göre tayin edilmiştir.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için SPSS 13.0 paket programı (SPSS, Chicago, IL, ABD) kullanılmış, iki tekrarlı olarak elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuştur. Çalışmada bağımlı değişkenlerin “maksimum biyokütle derişimi” veya “maksimum hücre dışı melanin derişimi” olduğu durumda, bağımsız değişkenler; “*A. pullulans* suşları” ile “doğal substrat kaynakları” olarak belirlenmiştir. Bağımsız değişken grupları arasındaki farkın anlamlı olup olmadığı çift yönlü ANOVA testi ile incelenmiştir. Çift yönlü ANOVA ile ayrıca bağımsız değişkenlerin birbiri ile etkileşimlerinin anlamlı olup olmadıkları da değerlendirilmiştir. Çalışmada yalnızca *A. pullulans* NBRC 100716 suşunun hücre içi melanin üretebildiği belirlendiğinden, “maksimum hücre içi melanin derişimi”nin bağımlı değişken olduğu durumda doğal substrat kaynakları arasında önemli bir fark olup olmadığı tek yönlü ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. Genel olarak, satır ve sütunlar için elde edilen $p < 0.05$, istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 1 Fermantasyon ortamından melanin eldesinde izlenen yöntem
Fig 1 The method followed in obtaining melanin from the fermentation medium

Sonuçlar ve Tartışma

Soğan, patates, elma, armut ve havuç kabukları ile bayat ekmeklerin çeşitli ön işlemlerden sonra fermantasyon ortamı olarak kullanıldıkları deneylerdeki *A. pullulans* AZ-6 ve *A. pullulans* NBRC 100716'nın maksimum biyokütle derişimleri ve bu suşların ürettikleri maksimum hücre içi (hiMN) ve hücre dışı melanin (hdMN) derişimleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1 Farklı gıda atıkları/yan ürünler kullanılarak hazırlanan fermantasyon ortamlarında elde edilen en yüksek *A. pullulans* AZ-6 ve *A. pullulans* NBRC 100716 biyokütelleri ve bu suşların ürettikleri en yüksek hücre içi ve hücre dışı melanin derişimleri

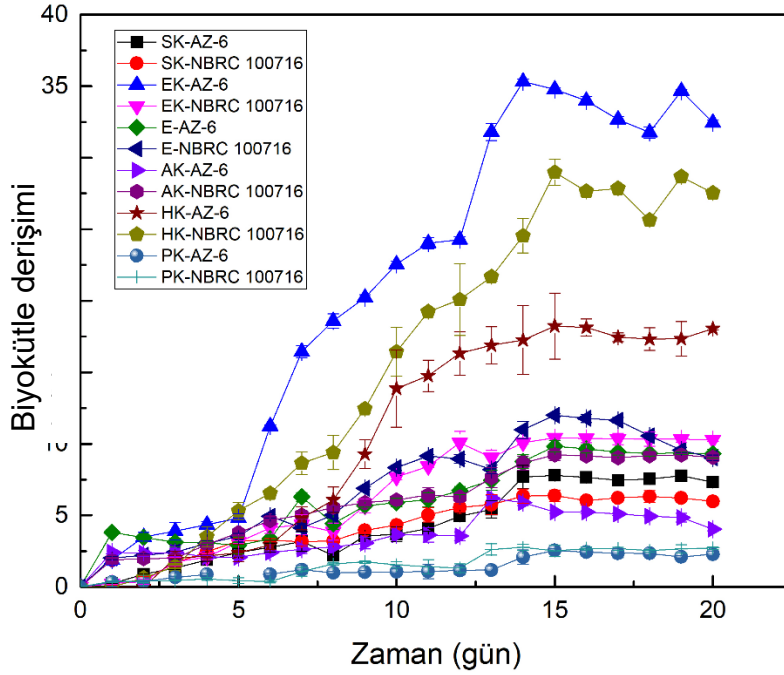
Table 1 The highest *A. pullulans* AZ-6 and *A. pullulans* NBRC 100716 biomass obtained in fermentation media prepared using different food wastes/by-products and the highest intracellular and extracellular melanin concentrations produced by these strains

Gıda atığı	Maksimum biyokütle derişimi (g/L)		Maksimum hücre dışı melanin derişimi (g/L)		Maksimum hücre içi melanin derişimi (g/L)
	AZ-6	NBRC 100716	AZ-6	NBRC 100716	NBRC 100716
Soğan kabuğu	7.80± 0.4	6.38 ± 0.4	0 ± 0.0	2.64 ± 0.1	0.38 ± 0.1
Elma kabuğu	35.31 ± 0.2	10.42 ± 0.1	1.34 ± 0.2	1.19 ± 0.2	2.09 ± 0.2
Bayat ekmek	9.83 ± 0.4	12.00 ± 0.1	0.13 ± 0.02	0.87 ± 0.04	0 ± 0.0
Armut kabuğu	6.19 ± 0.2	9.24 ± 0.4	0 ± 0.0	1.49 ± 0.1	0 ± 0.0
Havuç kabuğu	18.23 ± 2.3	28.98 ± 0.9	0.92 ± 0.2	3.52 ± 0.3	0.19 ± 0.02
Patates kabuğu	2.55 ± 0.1	2.76 ± 0.2	0 ± 0.0	0.22 ± 0.04	0 ± 0.0

Maksimum biyokütle ve hdMN derişimleri için yapılan çift yönlü ANOVA, farklı suş ve doğal sustrat kaynakları için elde edilen ortalamaların önemli ölçüde farklı olduğunu ($p < 0.05$) ve doğal sustrat kaynakları ile suşlar arasındaki etkileşimin de önemli olduğunu ($p < 0.05$) göstermiştir. Maksimum hiMN derişimleri için yapılan tek yönlü ANOVA ise, doğal sustrat kaynakları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) olduğunu ortaya koymuştur.

Yapılan çalışmada soğan ve elma kabuğu özütlerinin fermantasyon ortamı olarak kullanıldığı deneylerde en yüksek biyokütle derişimi sırasıyla; 7.8 ± 0.4 ve 35.31 ± 0.2 g/L olarak *A. pullulans* AZ-6 ile elde edilmiştir. Çalışmada bayat ekmek ile armut, havuç ve patates kabuğu özütlerinin *A. pullulans* NBRC 100716'nın gelişimini daha fazla desteklediği belirlenmiş ve bu ortamlarda en yüksek biyokütle derişimleri sırasıyla; 12.00 ± 0.1 , 9.24 ± 0.4 , 28.98 ± 0.9 ve 2.76 ± 0.2 g/L olarak belirlenmiştir.

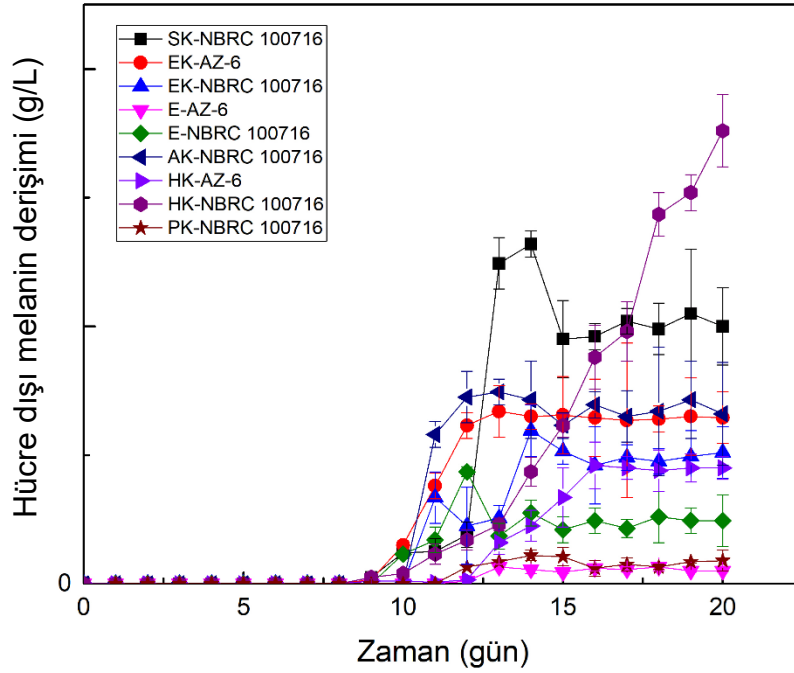
Şekil 2'de, çalışılan suşların farklı fermantasyon ortamlarındaki biyokütle derişimlerinin zamanla değişimi sunulmuştur. Söz konusu şekilde de görülebileceği gibi, soğan kabuğu, bayat ekmek ve havuç kabuğu özütlerinin ayrı ayrı fermantasyon ortamı olarak kullanıldıkları deneylerde *A. pullulans* AZ-6 ve *A. pullulans* NBRC 100716 için en yüksek biyokütle derişimlerine fermantasyonun 15. gününde ulaşılmıştır. Elma kabuğu özütünün fermantasyon ortamı olarak kullanıldığı deneyde en yüksek biyokütle derişiminin *A. pullulans* AZ-6 ve *A. pullulans* NBRC 100716 için sırasıyla; 14 ve 15.; armut kabuğunun kullanıldığı deneylerde sırasıyla, 13 ve 15. ve patates kabuğunun kullanıldığı deneylerde ise sırasıyla, 15 ve 14. günlerde elde edildiği belirlenmiştir.



Şekil 2 Biyokütle derişimlerinin zamanla değişimleri (**SK-AZ-6:** Gıda atığı (GA); soğan kabuğu, Suş (S); *A. pullulans* AZ-6, **SK-NBRC 100716:** GA; soğan kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **EK-AZ-6:** GA; elma kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **EK-NBRC 100716:** GA; elma kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **E-AZ-6:** GA; bayat ekmek, S; *A. pullulans* AZ-6, **E-NBRC 100716:** GA; bayat ekmek, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **AK-AZ-6:** GA; armut kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **AK-NBRC 100716:** GA; armut kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **HK-AZ-6:** GA; havuç kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **HK-NBRC 100716:** GA; havuç kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **PK-AZ-6:** GA; patates kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **PK-NBRC 100716:** GA; patates kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716)

Figure 2 Changes of biomass concentrations over time (**SK-AZ-6:** Food waste (FW); onion peel, Strain (S); *A. pullulans* AZ-6, **SK-NBRC 100716:** FW; onion peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **EK-AZ-6:** FW; apple peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **EK-NBRC 100716:** FW; apple peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **E-AZ-6:** FW; stale bread, S; *A. pullulans* AZ-6, **E-NBRC 100716:** FW; stale bread, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **AK-AZ-6:** FW; pear peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **AK-NBRC 100716:** FW; pear peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **HK-AZ-6:** FW; carrot peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **HK-NBRC 100716:** FW; carrot peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **PK-AZ-6:** FW; potato peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **PK-NBRC 100716:** FW; potato peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716)

A. pullulans suşlarının ürettikleri hdmN derişimlerinin zamanla değişimleri Şekil 3’de sunulmuştur.



Şekil 3 Hücre dışı melanın derişimlerinin zamanla değişimleri (**SK-AZ-6**: Gıda atığı (GA); soğan kabuğu, Suş (S); *A. pullulans* AZ-6, **EK-AZ-6**: GK; elma kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **EK-NBRC 100716**: GA; elma kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **E-AZ-6**: GA; bayat ekmek, S; *A. pullulans* AZ-6, **E-NBRC 100716**: GA; bayat ekmek, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **AK-NBRC 100716**: GA; armut kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **HK-AZ-6**: GA; havuç kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **HK-NBRC 100716**: GA; havuç kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **PK-NBRC 100716**: GA; patates kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716)

Figure 3 Changes of extracellular melanin concentrations over time (**SK-AZ-6**: Food Waste (FW); onion peel, Strain (S); *A. pullulans* AZ-6, **EK-AZ-6**: FW; apple peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **EK-NBRC 100716**: FW; apple peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **E-AZ-6**: FW; stale bread, S; *A. pullulans* AZ-6, **E-NBRC 100716**: FW; stale bread, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **AK-NBRC 100716**: FW; pear peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **HK-AZ-6**: FW; carrot peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **HK-NBRC 100716**: FW; carrot peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **PK-NBRC 100716**: FW; potato peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716)

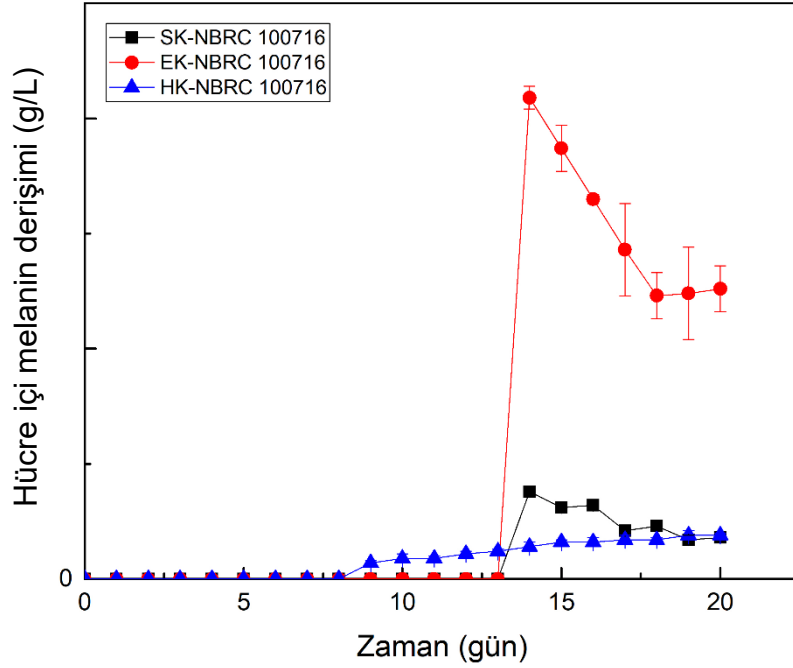
A. pullulans AZ-6 suşu maksimum hdMN üretimini, 1.34 ± 0.2 g/L olarak, elma kabuğu özütünün fermantasyon ortamı olarak kullanıldığı deneyde gerçekleştirmiştir. *A. pullulans* AZ-6 suşunun soğan, armut ve patates kabuklarının kullandıkları deneylerde hdMN üretmediği kaydedilmiştir (Tablo 1). Çalışmanın maksimum hdMN derişimi (3.52 ± 0.3 g/L) ise, *A. pullulans* NBRC 100716 tarafından havuç kabuğu özütü ile elde edilmiştir. *A. pullulans* NBRC 100716 suşunun hdMN üretimine, soğan, elma ve patates kabukları için fermantasyonun 14. gününde, bayat ekmek, armut ve havuç kabukları için ise

fermantasyonun sırasıyla 12, 13 ve 20. günlerinde başladığı kaydedilmiştir. Hücre dışı melanin üretiminin gözlemlendiği fermantasyon ortamlarının rengi orjinal renklerine kıyasla koyulaşmaya başlamış, kahverengi-siyaha dönüşmüştür (Şekil 4).



Şekil 4 Melanin üretimine bağlı olarak fermantasyon ortamlarında görülen siyah renk oluşumları
Figure 4 Black color formations seen in fermentation media due to melanin production

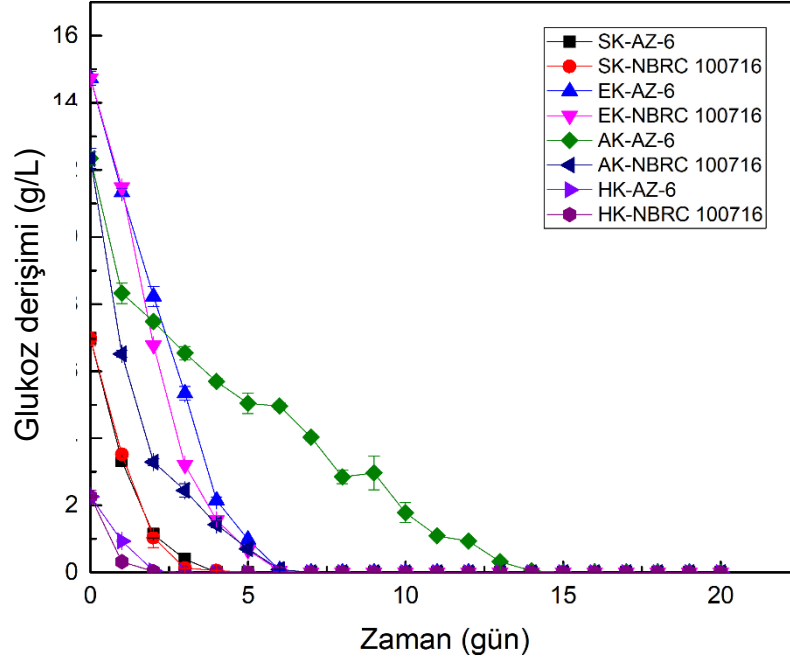
Araştırmada çalışılan suşlar arasında yalnızca *A. pullulans* NBRC 100716 suşunun hücre içi melanin üretebildiği tespit edilmiştir. *A. pullulans* NBRC 100716 suşunun hiMN üretiminin ise, yalnızca soğan, elma ve havuç kabuğu özütlerinin fermantasyon ortamı olarak kullanıldıkları deneylerde gerçekleştiği belirlenmiştir (Şekil 5). *A. pullulans* NBRC 100716 suşunun en yüksek miktarda hiMN'i soğan, elma ve havuç kabuğu özütleri için sırasıyla; 0.38, 2.09 ve 0.19 g/L olarak fermantasyonun 14, 14 ve 19. gününde ürettiği kaydedilmiştir.



Şekil 5 Hücre içi melanin derişimlerinin zamanla değişimleri (**SK-NBRC 100716**: Gıda atığı (GA); soğan kabuğu, Suş (S); *A. pullulans* NBRC 100716, **EK-NBRC 100716**: GA; elma kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **HK-NBRC 100716**: GA; havuç kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716)

Figure 5 Changes of intracellular melanin concentrations over time (**SK-NBRC 100716**: Food Waste (FW); onion peel, Strain (S); *A. pullulans* NBRC 100716, **EK-NBRC 100716**: FW; apple peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **HK-NBRC 100716**: FW; carrot peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716)

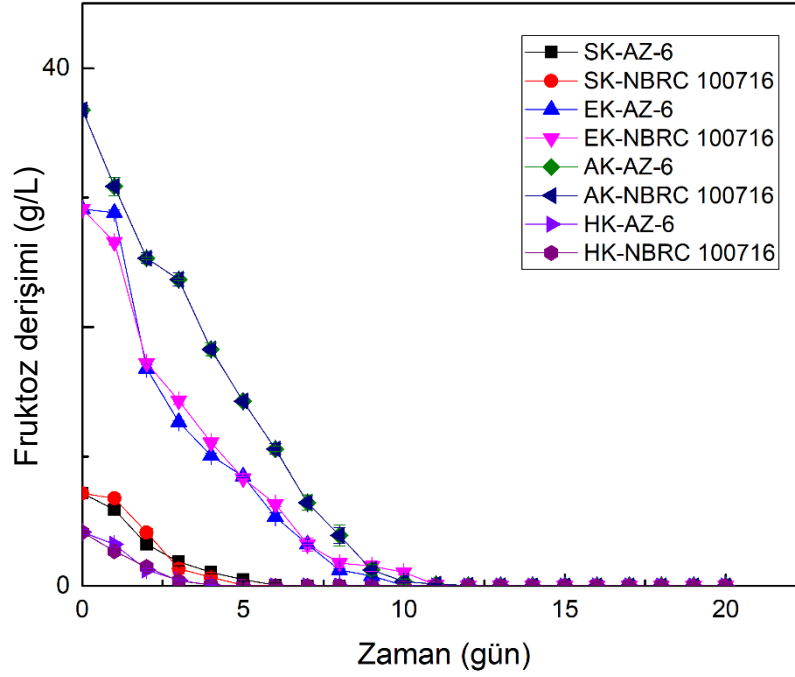
Araştırmada soğan, elma, armut ve havuç kabuğu çözeltilerinin fermantasyon ortamı olarak kullanıldıkları deneylerde ortamdaki glukoz ve fruktoz derişimlerinin zamanla değişimlerini gösteren grafikler sırasıyla Şekil 6 ve Şekil 7’de verilmiştir. Soğan kabuğu özütünün fermantasyon ortamı olarak kullanıldığı deneylerde, hem *A. pullulans* AZ-6 hem de *A. pullulans* NBRC 100716 tarafından, ortamdaki glukozun fermantasyonun 4. gününde, fruktozun ise, fermantasyonun 5. gününde tamamen tüketildiği belirlenmiştir. Elma kabuğunun kullanıldığı deneylerde, *A. pullulans* AZ-6 ve *A. pullulans* NBRC 100716 suşları tarafından glukoz daha erken (6. gün) tüketilirken, fruktoz tüketimi daha uzun (10. gün) sürmüştür.



Şekil 6 Fermantasyon ortamlarındaki glukoz derişimlerinin zamanla değişimleri (**SK-AZ-6**: Gıda atığı (GA); soğan kabuğu, Suş (S); *A. pullulans* AZ-6, **SK-NBRC 100716**: soğan kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **EK-AZ-6**: GA; elma kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **EK-NBRC 100716**: GA; elma kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **AK-AZ-6**: GA; armut kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **AK-NBRC 100716**: GA; armut kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **HK-AZ-6**: GA; havuç kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **HK-NBRC 100716**: GA; havuç kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716)

Figure 6 Changes of glucose concentrations in fermentation media over time (**SK-AZ-6**: Food Waste (FW); onion peel, Strain (S); *A. pullulans* AZ-6, **SK-NBRC 100716**: onion peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **EK-AZ-6**: FW; apple peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **EK-NBRC 100716**: FW; apple peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **AK-AZ-6**: FW; pear peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **AK-NBRC 100716**: FW; pear peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **HK-AZ-6**: FW; carrot peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **HK-NBRC 100716**: FW; carrot peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716)

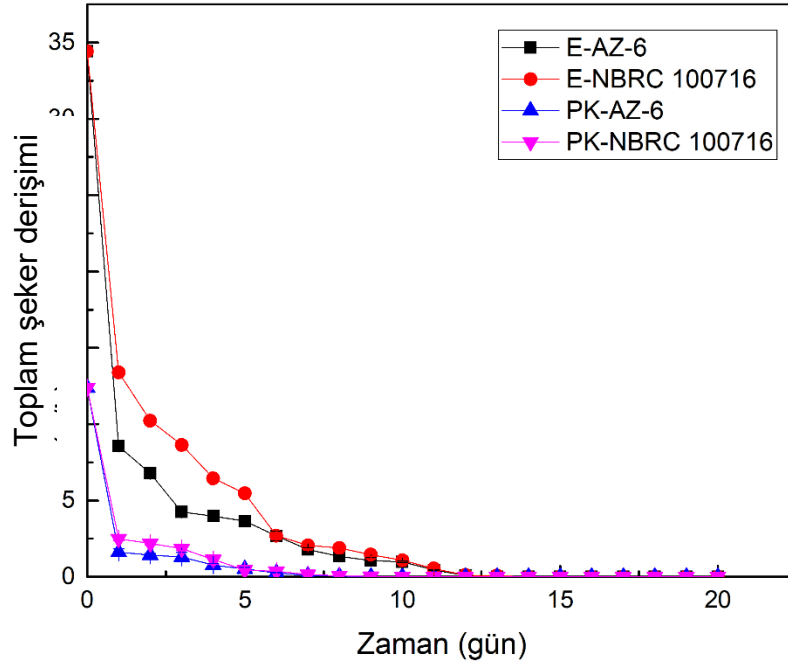
Armut kabuğunun kullanıldığı deneylerde ise, *A. pullulans* AZ-6 ve *A. pullulans* NBRC 100716 suşları ortamdaki glukozu sırasıyla; fermantasyonun 15 ve 7. günlerinde, fruktozu ise fermantasyonun 13. gününde tüketmişlerdir. Havuç kabuğu özütünde yer alan glukoz, çalışılan suşlar tarafından fermantasyonun 3. gününde tamamen tüketilirken, fruktoz fermantasyonun 5. gününde tüketilmiştir.



Şekil 7 Fermantasyon ortamlarındaki fruktoz derişimlerinin zamanla değişimleri (**SK-AZ-6**: Gıda atığı (GA); soğan kabuğu, Suş (S); *A. pullulans* AZ-6, **SK-NBRC 100716**: soğan kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **EK-AZ-6**: GA; elma kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **EK-NBRC 100716**: GA; elma kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **AK-AZ-6**: GA; armut kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **AK-NBRC 100716**: GA; armut kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **HK-AZ-6**: GA; havuç kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **HK-NBRC 100716**: GA; havuç kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716)

Figure 7 Changes of fructose concentrations in fermentation media over time (**SK-AZ-6**: Food Waste (FW); onion peel, Strain (S); *A. pullulans* AZ-6, **SK-NBRC 100716**: onion peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **EK-AZ-6**: FW; apple peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **EK-NBRC 100716**: FW; apple peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **AK-AZ-6**: FW; pear peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **AK-NBRC 100716**: FW; pear peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **HK-AZ-6**: FW; carrot peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **HK-NBRC 100716**: FW; carrot peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716)

Bayat ekmek ve patates kabuğu özütlerinin fermantasyon ortamı olarak kullanıldıkları deneylerde ortamdaki toplam şeker derişimlerinin (sakkaroz cinsinden) zamanla değişimlerini gösteren grafikler Şekil 8’de sunulmuştur. Bayat ekmeğin kullanıldığı deneylerde ortamdaki substratın, *A. pullulans* AZ-6 ve *A. pullulans* NBRC 100716 suşları tarafından fermantasyonun 13. gününde tamamen tüketildiği belirlenmiştir. Patates kabuğu özütünün fermantasyon ortamı olarak kullanıldıkları deneylerde ise, ortamdaki toplam şekerin *A. pullulans* AZ-6 ve *A. pullulans* NBRC 100716 suşları tarafından fermantasyonun sırasıyla; 9 ve 10. günlerinde tüketildiği tespit edilmiştir.



Şekil 8 Fermantasyon ortamlarındaki toplam şeker derişimlerinin zamanla değişimleri (**E-AZ-6**: Gıda atığı (GA); bayat ekmek, Suş (S); *A. pullulans* AZ-6, **E-NBRC 100716**: GA; bayat ekmek, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **PK-AZ-6**: GA; patates kabuğu, S; *A. pullulans* AZ-6, **PK-NBRC 100716**: GA; patates kabuğu, S; *A. pullulans* NBRC 100716)

Figure 8 Changes of total sugar concentrations in fermentation media over time (**E-AZ-6**: Food Waste (FW); stale bread, Strain (S); *A. pullulans* AZ-6, **E-NBRC 100716**: FW; stale bread, S; *A. pullulans* NBRC 100716, **PK-AZ-6**: FW; potato peel, S; *A. pullulans* AZ-6, **PK-NBRC 100716**: FW; potato peel, S; *A. pullulans* NBRC 100716)

Genel olarak değerlendirildiğinde; *A. pullulans* AZ-6'nın hücre gelişimini en fazla destekleyen fermantasyon ortamı elma kabuğu özütü olmuş bunu ise sırasıyla; havuç kabuğu özütü ve bayat ekmek hidrolizatı izlemiştir. *A. pullulans* NBRC 100716 suşunun hücre gelişimi için ise en elverişli ortamların sırasıyla; havuç kabuğu özütü, bayat ekmek hidrolizatı ve elma kabuğu özütü olduğu belirlenmiştir. Çalışılan doğal substrat kaynakları arasında en düşük biyokütle derişimleri ise, her iki suş için de patates kabuğu hidrolizatında elde edilmiştir. Söz konusu substrat, göz ardı edilemeyecek bir şeker kaynağı olsa da, bileşimindeki fenolik maddelerin bu çalışmadaki suşların gelişimlerini ve melanin üretimlerini baskılayabileceği sonucuna varılmıştır. Gebrechristos vd. [17] tarafından yapılan bir çalışma da bu sonucu destekler niteliktedir. Söz konusu çalışmada, patates kabuğu

özütünün bileşiminde kafeik, klorojenik ve neoklorojenik asitlerin olduğu ve bu fenolik bileşenlerin *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* ve *Staphylococcus aureus*'un gelişimini inhibe ettiği vurgulanmıştır. Benzer şekilde, Noushad vd. [18] tarafından yapılan çalışmada da patates kabuğu özütünün *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşu üzerine antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirtilmiştir.

Çalışılan suşlar arasında en yüksek miktarda toplam melanin (3.71g/L) üreticisi suşun *A. pullulans* NBRC 100716 olduğu tespit edilmiştir. Bu üretim ise havuç kabuğu özütünün fermantasyon ortamı olarak kullanıldığı deneyde gerçekleşmiştir. Elma ve soğan kabuklarının doğal substrat kaynağı olarak kullanıldıkları deneylerde ise, *A. pullulans* NBRC 100716 suşunun ürettiği toplam melaninin sırasıyla; 3.28 ve 3.02 g/L olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, *A. pullulans* NBRC 100716 suşu ile melanin üretimi için elverişli olan ilk üç ortamın havuç, elma ve soğan kabuklarının özütleri olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak pigment üretiminin, fermantasyon ortamındaki besin maddelerinin azalması ve artan inkübasyon zamanı ile arttığı ifade edilmektedir. Melanin üreten organizmaların bu pigmenti kendilerini çevresel strese karşı korumak için ürettikleri rapor edilmektedir [19]. Bu çalışmada da havuç kabuğu özütündeki, diğer substrat kaynaklarına kıyasla, kısıtlı şeker derişiminin (bkz. Şekil 6 ve 7) hücre gelişimi için yeterli ve melanin üretimi için elverişli olabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışılan tüm doğal substrat kaynakları için ortamdaki şekerin tamamen tükenmesinden sonra melanin üretiminin başladığı tespit edilmiştir.

Soğan ve elma kabuğunda bulunan temel fenolik bileşenlerden biri olan kuersetinin, sıcak su ekstraksiyonunda da bir miktar özüte geçtiği bildirilmiştir [20]. Kuersetinin melanin biyosentezini baskıladığı bilirse de [21–23], bunun tam tersini savunan çalışmalar da mevcuttur [24,25]. Bu çalışmada ise, sterilizasyon aşamasında kuersetinin büyük oranda parçalandığı [26] ve melanin üretimini engellemediği düşünülmektedir

Mujdeci (2021) tarafından daha önce yapılmış olan bir çalışmada, havuç, kavun ve karpuz kabuklarının özütleri ile peynir altı suyu ve melasın fermantasyon ortamı olarak kullanıldıkları deneylerde, *A. pullulans* NBRC 100716 ile en yüksek toplam melanin derişimine bu çalışmada olduğu gibi havuç kabuğu özütü ile ulaşılmıştır. Söz konusu çalışmada ikinci sırada en yüksek melanin derişimi (0.78 g/L) karpuz kabuğu özütü ile elde edilmiştir [16]. Meyve atıklarının melanin üretiminde substrat kaynağı olarak kullanıldıkları

bir çalışmada, ananas, portakal ve nar atığı karışımının (portakal karpelleri, ananas çekirdekleri ve ezilmiş nar taneleri) özütü fermantasyon ortamı olarak kullanılmış ve bu ortamda *Bacillus safensis*'in melanin üretimi araştırılmıştır. Söz konusu çalışmada, femantasyon ortamının başlangıç pH'ının 6.84 ve sıcaklığın 30.7°C olduğu koşulda, melanin derişiminin 6.96 mg/mL olduğu belirtilmiştir [9].

Melanin üretimi için düşük maliyetli substratların denendiği bir başka çalışmada ise, pirinç kepeği, buğday kepeği, hindistan cevizi kabuğu, muz sapı, pirinç unu ve koyu darı gibi çeşitli tarımsal atıkların denendiği belirtilmiştir [7]. Çalışmaya göre, *Streptomyces griseorubens* DKR4 suşu tarafından en yüksek pigment üretimi muz sapı ve hindistan cevizi kabuğunun kullanıldığı katı hal fermantasyonunda üretilirken en düşük pigment üretimi koyu darı kullanılan durumda elde edilmiştir. Tarangini ve Mishra [27] tarafından yapılan bir araştırmada, *Pseudomonas* sp. olarak tanımlandığı belirtilen bir izolatın melanin üretim özelliklerinin saf deniz suyu ve atık lahana özütü gibi ortamlarda incelendiği belirtilmiştir. Saf deniz suyunda elde edilen melanin derişiminin 5.35 mg/mL olduğu, lahana atığı suyunda ise üretimin gerçekleşmediği ifade edilmiştir. Ancak deniz suyunun aşı ortamı olarak kullanıldığı durumda, lahana atığı suyunda yaklaşık 2.79 mg/mL melanin üretiminin olduğu vurgulanmıştır [27].

Dünyada gıdaya ulaşımın her geçen gün zorlaşması ve bu durumun ölümlere dahi neden olması, “sıfır açlık” ve “sıfır atık” hedefleri ile çeşitli çalışmaların yaygınlaşmasına neden olmaktadır. Bununla birlikte henüz bu hedeflere ulaşılabilmesi, halen oldukça yüksek miktarlarda atıkların var olması anlamına gelmektedir. Evsel atıkların da içerisinde yer aldığı gıda atıkları, insan sağlığı ve çevreye zarar vermelerinin yanı sıra ekonomik kayıplara da neden olmaktadır. Bu nedenle de gıda atıklarının katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi dünyadaki önemli hedeflerden biridir. Bu hedef doğrultusunda, bu çalışmada, *A. pullulans* NBRC 100716 ve AZ-6 suşları ile melanin üretmek için soğan, patates, elma, armut ve havuç kabukları ile bayat ekmeğin potansiyel kullanımı araştırılmıştır. Çalışmadaki gıda atıklarından en yüksek toplam melanin üretimi (3.71 g/L) *A. pullulans* NBRC 100716 tarafından havuç kabuğu özütü ile gerçekleşmiş, elma kabuğu ve soğan kabuğu özütleri ile de sırasıyla; 3.28 ve 3.02 g/L olarak yakın sonuçlar elde edilmiştir.

Teşekkür

Yazar, bu çalışmanın MUH19001.20.012 nolu genel araştırma projesi ile desteklenmesinden dolayı, Hitit Üniversitesi'ne teşekkür eder.

Kaynaklar

1. Pralea, I. E., et al., From extraction to advanced analytical methods: The challenges of melanin analysis. *International journal of molecular sciences*, 2019. 20 (16): p. 1–37.
2. Almeida-Paes, R., et al., Biosynthesis and functions of a melanoid pigment produced by species of the sporothrix complex in the presence of L-Tyrosine. *Applied and environmental microbiology*, 2012. 78 (24): p. 8623–30.
3. Suwannarach, N., et al., Characterization of melanin and optimal conditions for pigment production by an endophytic fungus, *Spissiomycetes endophytica* SDBR-CMU319. *PLoS One*, 2019. 14 (9): p. 1–10.
4. Pitkaranta, M. and M. Richardson, *Aureobasidium*. *Molecular Detection of Human Fungal Pathogens*, D. Liu (Ed). Florida, 37-49: Taylor and Francis 2011.
5. Zalar, P., et al., Redefinition of *Aureobasidium pullulans* and its varieties. *Studies in mycology*, 2008; 61 (1): p. 21-38.
6. Chu, M., et al., Melanin nanoparticles derived from a homology of medicine and food for sentinel lymph node mapping and photothermal in vivo cancer therapy. *Biomaterials*, 2016. 91: p. 182–99.
7. Santhanalakshmi, K., et al., Fermentative production of melanin pigment from *Streptomyces griseorubens* DKR4 from agro waste products. *International Journal of Applied Research*, 2017. 3: p. 284–88.
8. Łopusiewicz, Ł., Waste from the harvesting of button mushroom (*Agaricus bisporus*) as a source of natural melanin.. *Folia pomeranae universitatis technologiae stetinsensis*, 2018. 343(47): p. 23–42.
9. Tarangini, K. and S. Mishra, Production of melanin by soil microbial isolate on fruit waste extract: Two step optimization of key parameters. *Biotechnology report*, 2014. 4: p. 139–46.
10. Güzel, Y., G. İpek and T.Y. Yılmaz, Türkiye israf raporu, T.C. Ticaret Bakanlığı, 2018. ISBN: 978-605-5254-31-5.
11. Sümer, S. K., Y. Kavdır and G. Çiçek, Türkiye’de tarımsal ve hayvansal atıklardan biyokömür üretim potansiyelinin belirlenmesi. *KSÜ doğa bilimleri dergisi*, 2016. 19 (4): p. 379–87.
12. Şenol, H., et al., Biyogaz üretimi için Ankara’nın başlıca organik atık kaynakları. *Bitlis eren üniversitesi fen bilimleri dergisi*, 2017. 6 (2): p. 15–28.
13. Miller, G. L., Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 1959. 31(3): p. 426-428.
14. Dubois, M., et al., Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 1956. 28 (3): p. 350-356.
15. El-Gamal, M. S., et al., Isolation and characterization of melanized yeast form of *Aureobasidium pullulans* and physiological studies on the melanization process. *Journal of Nuclear Science and Technology*, 2017. 5 (1): p. 57–72.
16. Mujdeci, G. N., Natural melanin synthesized by *Aureobasidium pullulans* using food wastes and its characterization. *Applied food biotechnology*, 2021. 8 (4): p. 307–18.
17. Gebrechristos, H. Y., et al., Potato peel extracts as an antimicrobial and potential antioxidant in active edible film. *Food science & nutrition*, 2020. 8 (12): 6338–6345.
18. Noushad, M. C., K. Ashraf and M. P. Suneetha, Antibacterial Efficacy of Muringa Seed Extract and Potato Peel Extract Against *Enterococcus faecalis*. *Contemporary clinical dentistry*, 2020. 11 (4): p.327–331.
19. Sharma, P., et al., Approach towards different fermentative techniques for the production of bioactive

- actinobacterial melanin. Beni-Suef University journal of basic and applied sciences, 2018. 7 (4): p. 695–700.
20. Lee, K. A., et al., Antioxidant activities of onion (*Allium cepa* L.) peel extracts produced by ethanol, hot water, and subcritical water extraction. Food science and biotechnology, 2014. 23 (2): p. 615–21.
 21. Ha, A. T., et al., Antimelanogenesis effects of quercetin 3-O- β -D-glucuronide in human keratinocytes and melanoma cells via activation of NF- κ B and AP-1 pathways, International journal of molecular sciences, 2022. 23(1): p. 1–20.
 22. Arung, E. T., et al., Melanin biosynthesis inhibitory and antioxidant activities of quercetin-3'-O-jff-D-glucoside isolated from *Allium cepa*. Zeitschrift für naturforschung C, 2011. 66 (5): p. 209–14.
 23. Choi, M. H. and H. J. Shin, Anti-melanogenesis effect of quercetin. Cosmetics, 2016. 3 (2): p. 1–16.
 24. Nagata, H., et al., Quercetin enhances melanogenesis by increasing the activity and synthesis of tyrosinase in human melanoma cells and in normal human melanocytes. Pigment cell research, 2004. 17 (1): p. 66–73.
 25. Mitsunaga, T. and K. Yamauchi, Effect of quercetin derivatives on melanogenesis stimulation of melanoma cells, Journal of wood science, 2015. 61 (4): p. 351–63.
 26. Wang, W., et al., The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: A review. Trends in food science & technology, 2016. 56: p. 21–38.
 27. Tarangini, K. and S. Mishra, Production, characterization and analysis of melanin from isolated marine *Pseudomonas* sp. using vegetable waste. Research journal of engineering sciences, 2013. 2: p. 2278–9472.