

## Kırmızı Biberden Pigment Ekstraksiyonunda Kullanılan Yöntemler

Özlem TURGAY<sup>1</sup>, Elif ÇELİK

<sup>1</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

**ÖZET:** Kırmızı biber, *Capsicum annuum* L., Solanaceae (Patlıcangiller) familyasına ait *Capsicum* cinsine giren, ılıman iklimlerde tek yıllık kültür bitkisi olarak yetişen bir bitkidir. Kırmızı biber rengini ketokaratenooidlerden kapsantin, kapsorubin ve kapsantin 5,6 epoksit; ksantofillerden  $\beta$ -kriptoksantin, zeaksantin, violaksantin ve kapsolutein; karotenlerden de  $\beta$ -karoten vermektedir. Bu çalışma kırmızı bibere renk veren fenolik bileşenler ve ekstraksiyon yöntemleri hakkında bilgi vermek amacıyla derlenmiştir. Çevreci tekniklerin ön plana çıktığı günümüzde eski ekstraksiyon tekniklerine ilave olarak hem çevreye zarar vermeyen hem ekstraksiyon verimi yüksek hem de daha ekonomik yöntemler araştırılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Pigment, Fenolik madde, Kırmızı biber*

### Pigment Extraction Methods from Red Pepper

**ABSTRACT:** Red pepper, *Capsicum annuum* L. is belonged to the Solanaceae ( Solanaceae ) family within the *Capsicum* genus that grows as a single annual crops in temperate climate. Capsanthin, capsorubrin, capsanthin 5.6 epoxide, xanthophylls of  $\beta$ -cryptoxanthin, zeaxanthin, kapsolutein, violaksantine and  $\beta$ -carotene give the color of red pepper. This study has been compiled to provide information about the phenolic compounds and different extraction methods of color pigments. In addition to conventional extraction techniques, the forefront of environmentally friendly techniques have been investigated as regards to their high extraction yield and more economical methods.

**Keywords:** *Pigment, Phenolic compound, Red pepper*

#### 1. GİRİŞ

Kırmızı biber, Solanaceae (Patlıcangiller) familyasına ait *Capsicum* cinsine giren, ılıman iklimlerde tek yıllık kültür bitkisi olarak yetişen bir bitkidir. Kırmızı biber genel olarak *Capsicum annuum* L. (İspanyol biberi veya Paprika), *C. frutescens* L. (Çili veya Chili), *C. minimum* olmak üzere üç tür olarak sınıflandırılır. *C. frutescens* türü genellikle *C. annuum* türüne göre daha çok acılığa sahip kırmızı biberlerdir. Ancak iki türde de acılık ve renkleri birbirinden oldukça farklı olan çeşitler de vardır [1]. Kırmızı biber rengini ketokaratenooidlerden kapsantin, kapsorubin ve kapsantin 5,6 epoksit; ksantofillerden  $\beta$ -kriptoksantin, zeaksantin, violaksantin ve kapsolutein; karotenlerden de  $\beta$ -karotenin oluşturduğu bildirilmiştir. Bu renk maddelerinden kapsaisin (%46-77), dihidrokapsaisin (%21-40), nardihidrokapşaisin (%2-12) ve kalan dördü (homohidrokapşaisin, homokapsaisin, nanilik asit vanililamit ve desilik asit vanililamit) % 5'ten az olarak bulunur [1, 2].

Kırmızıbiberde bulunan askorbik asit ve karotenoidler sahip oldukları antioksidan özellikleri sayesinde, bazı tip kanserleri, kardiyovasküler hastalıkları, arteriyosklerozisi ve yaşlanmayı önleyici etki göstermektedir. Karotenoidler, insan sağlığı açısından son derece faydalı olmaları yanı sıra kullanıldıkları gıdalara kazandırmış oldukları cazip renkten dolayı birçok araştırmaya konu olmuştur. Kırmızıbiberdeki renk maddeleri su içerisinde çözünmeyen lipofilik

yapıya sahip bileşiklerdir. Sulu ortamlarda yüzeye düzensiz bir şekilde tutunurlar veya yüzeyde dağılmamış şekilde bulunurlar. Bu bileşikler doğal olarak yağ asitleriyle esterleşmiş halde bulunurlar ve bu yapıları nedeniyle renk daha istikrarlıdır. Biberdeki karotenoidlerin rengi içerdikleri konjuge çift bağlardan (yapıda bir tek bir çift olacak şekilde atlamalı ilerleyen çift bağ) kaynaklanmaktadır ve konjuge çift bağ sayısının artması rengi kırmızılaştırmaktadır. Bu bileşiklerin fark edilebilir sarı renginin oluşması için en az 7 konjuge çift bağ bulundurulması gerekmektedir [1].

Kırmızı biber dünya çapında tüketilen bir sebze olmanın yanı sıra içerdiği karotenoid, başlıca kapsaksantin ve kapsorubin, ve kendine has acı tadı veren kapsaisinoidten dolayı gıda ve eczacılık endüstrisinin önemli bir hammaddesidir. Antik çağlardan beri kırmızı biberin doğal renklendirici olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Ticari renklendirici olarak kullanılan ve ana temin kaynaklarından birisinin kırmızı biber olduğu bildirilen oleoresinin yıllık yaklaşık 1400 ton üretildiği bildirilmektedir [3]. Başka bir bioaktif içerik kapsainoid olup çok geniş ölçüde topikal analjezik [4], biber gazı gibi kişisel savunma ürünlerinde kullanılmaktadır [5].

Son zamanlarda endüstrileşmenin de bir sonucu olarak insanların doğal yaşam istekleri gıdalar konusunda da görülmektedir. Gıdaların tüketiminde mümkün

\*Sorumlu Yazar: Özlem TURGAY, [ozlem@ksu.edu.tr](mailto:ozlem@ksu.edu.tr)

olduğunca az işlenmiş olana tercih artmaktadır. Gıda katkı maddeleri ve gıda boyar maddelerinde de doğal olana doğru istekler artmaktadır. Doğal katkı maddelerinde ise farklı inanç sitemleri ve yaşam şekli göz önüne alınmaktadır.

Başlıca doğal gıda boya karotenoidler (sarı-turuncu-kırmızı), antosiyaninler (kırmızı-mavi-mor), betalain (kırmızı) ve klorofiller (yeşil) olarak sıralanabilmektedir [6,7]. Bu maddelerin gıdalarda renklendirici olarak kullanılmasının yanı sıra bazı potansiyel sağlık faydalarından dolayı son yıllarda bu ürünlerin kullanılmasına olan ilgi artmıştır. Bu renk maddeleri bitkilerden elde edilebileceği gibi mikrobiyal kaynaklı da sentezlenebilmektedir [7, 8]. Geniş bir yelpazede bu maddelerin bulunmasına rağmen çok azı gıdalarda renklendirici olarak kullanılabilir. Bunun başlıca sebepleri stabilitelerinin düşük, maliyetlerinin pahalı olması, sentetik boyalar kadar kolay uygulanamaması, uygun rengin sağlanması için fazla miktarda kullanılmaları ve buna bağlı yasal limitlerdir. Bu gibi dezavantajlar mikroenkapsülasyon ve nano enkapsülasyon teknikleri ile minimize edilmeye çalışılmaktadır [7].

Birçok bitkisel ve hayvansal kökenli gıdalardaki sarıdan kırmızıya renk tonları veren ve yağda çözünebilir özellik gösteren maddeler karotenoidler olarak adlandırılmaktadır [6, 9, 10]. Havuç, domates, kırmızı biber gibi sebzelede, şeftali, kayısı ve portakal gibi meyvelerde ayrıca yumurta sarısında bahsi geçen karotenoidli bileşiklere rastlanmaktadır. Gıdalarda bu ilgi çekici renk fonksiyonlarının yanı sıra vitamin A aktivitesine sahip olmaları ve antioksidan özellik göstermeleri nedeniyle çok önemli bileşikler olarak görülmektedir. Doğal olmaları, toksik olmamaları ve fonksiyonel olmaları gibi ticari uygunluklarından dolayı pek çok çalışmaya konu olmuşlardır [11]. Epidemiyolojik kanıtlar karotenoid bakımından zengin bir diyetle beslenen kişilerde kansere yakalanma riskinin daha az olduğunu göstermektedir. Karotenoidler hidrokarbon yapısında olan karotenler ve karotenlerin oksijenli türevleri olan ksantofiller olarak adlandırılan iki önemli alt gruba sahiptir [10]. Gıdalarda bulunan birincil karotenoidler  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -kriptoksantin, alfa-karoten, likopen, lutein ve zeaksantin [7] olmakla birlikte biberde baskın olan karotenoidler kapsantin, kapsorubin ve  $\beta$ -karoten olarak sıralanmaktadır. Karotenoidler yapılarındaki çift bağlar dolayısıyla kolayca okside olabilmektedir. Bu reaksiyonun hızı sıcaklık ve ışıkla artarken ortamda prooksidan ve antioksidanların bulunması reaksiyonu yavaşlatır ve bir dereceye kadar önler. Domatesin işlenmesi esnasında ortaya çıkan atıktan endüstriyel ölçekli likopen ekstraksiyonu yapılan bir çalışmada %98 saflıkta likopen elde edilmiştir. Ticari anlamda 3 farklı kaynaktan karotenoid eldesi yapılmaktadır ki bunlar *Dunaliella* sp.'den  $\beta$ -karoten, *Haematococcus pluvialis*' ten astaksantin ve *Blakeslea trispora*'dan  $\beta$ -karoten eldesidir [7]. Karotenoidlerin ekstraksiyonu için Soxhlet ekstraksiyonu, süper kritik akışkan

ekstraksiyonu ve ticari enzim ekstraksiyonu gibi farklı metotlar uygulanmaktadır. Portakal kabuğu (albedo kısmı ayrılmış), tatlı patates ve havuç örneklerinden enzimatik yolla elde edilen karotenoid pigmenti ile ilgili yapılan bir çalışmada; pigment freeze drier da kurutulmuş 25 °C (karanlık ve aydınlık ortam), 4 ve 40°C'de 45 gün boyunca depolanmış ve kurutulmadan muhafaza edilen örneklerle kıyaslanmıştır. Freeze drier ile yapılan kurutma işleminin her sıcaklık için renk kaybını azalttığı, en az renk kaybını tüm örnekler için 4°C'de kurutulmuş olduğu, portakal kabuğunun kurutulduğu örneklerin hepsinde rengin iyi bir şekilde korunduğu ve ışığın ekstrakte edilen pigmentler üzerine önemli bir fark oluşturmadığı tespit edilmiştir [11].  $\beta$ -karoten gıda, kozmetik ve farmakoloji endüstrisinde renklendirici, antioksidan ve anti-inflammatuar ajanı olarak kullanılmaktadır [9].

Antosiyaninler pek çok meyve ve sebzenin yanı sıra çiçeklerde bulunan pembe, mavi, violet, mor ve kırmızı gibi kendine has rengi veren bileşiklerdir. Karotenlerin aksine antosiyaninler suda çözünen bileşiklerdir. Antosiyaninler antosiyanidinlerin şekerle (bulunma sıklığına göre: glukoz, ramnoz, galaktoz ve arabinoz) esterleşmiş formlarıdır. Antosiyanidinlerin temel yapısı flavilium katyonuna dayanmaktadır ve bu katyona bağlanan farklı gruplar sayesinde çeşitlilik kazanmaktadır. Bilinen 20 antosiyanidinden pelargonidin, siyanidin, peonidin, delfinidin, petunidin ve maldivin olarak sıralanan 6 tanesi meyve ve sebzelede yaygın olarak bulunmaktadır. Bu antosiyanidinlere şekerlerin ve yapıdaki şeker molekülünün açılmasıyla farklı grupların bağlanması sonucu 150'den fazla farklı antosiyanin oluştuğu bildirilmektedir. Antosiyaninlerin rengi kimyasal yapılarının yanı sıra ortamda buldukları konsantrasyona, ortamın pH'sına ve ortamda kopigment (antosiyaninlerle kompleks oluşturarak stabil renk kompozisyonuna sahip bileşik oluşturan genellikle flavonoid, alkoloid, amino asit veya nükleotid yapıdaki bileşikler) bulunup bulunmaması gibi faktörlere bağlı olarak farklılık gösterir [7]. Antosiyaninler içerdikleri biyoaktif bileşiklerden dolayı anti-kanserojen, anti inflammatuar ve immün sistem üzerinde düzenleyici etkisi olduğu çeşitli çalışmalarla saptanmıştır [6]. Antosiyaninler doğal renk maddeleri olduklarından dolayı sentetik boyalara alternatif olarak kullanılabilirler ve bu kullanıma İtalya'daki bazı atık içeceklerde renklendirici olarak 100 yıldan beri kullanılıyor olması örnek gösterilebilir. Tüm bu özelliklerine rağmen FDA renklendirici listesinde sadece iki antosiyanin ekstraktı vardır. Vurgulu elektriksel alan ve ultrasound gibi çevreci teknolojiler kullanılarak suyla antosiyanin ekstraksiyonu başarı ile uygulanmaktadır. Antosiyaninlerin spray drier ile mikroenkapsülasyonu sonucu yüksek stabiliteye sahip, suda kolay çözünür- dağılılabilen doğal renklendirici çalışmaları bulunmaktadır [7].

Diğer bir sınıf olan betalainler, antosiyaninlerin renklerine benzemekle birlikte renkleri pH değişimlerine karşı stabildir. Suda çözünen bileşikler olan betalainler kırmızı-violet renkli betasiyaninler ve sarı-turuncu renkli olan betaksantinler olmak üzere iki kısımda incelenir. Asidik ortamda ısı etkisiyle, oksidatif yolla ve enzimatik yolla parçalanabilirler. Dondurmada renklendirici olarak betalainlerin kullanıldığı bir çalışmada -20 °C'de 6 ay boyunca depolanan dondurmada renk maddesinin %87'sinin renk kaybı gözlemlenmemektedir [7].

Biber, elma, kivi gibi tüm bitkisel dokulardaki yeşil rengin kaynağı klorofil pigmentidir. Klorofil-a ve klorofil-b formu olmak üzere iki formu bulunmaktadır. Asit, ısı ve metal iyonların etkisiyle bu pigment türevlerine dönüşerek rengini kaybetmektedir. Fotodegradasyon ve asidik pH'larda stabil olmaması gıdalarda kullanımını sınırlandırmaktadır [7].

Geleneksel solvent ekstraksiyonu ve yeşil ekstraksiyon metotları olarak adlandırılan mikrodalga ve ultrasound ekstraksiyon sistemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada *Dunaliella salina* alginden ve havuçtan bahsi geçen metotlarla ekstraksiyon yapılarak ekstraksiyon verimleri karşılaştırılmış ve yaşam döngüsü analizi yapılmıştır. Havuç ve *D. salina*'nın kuru ağırlıkta içerdikleri  $\beta$ -karoten miktarı göz önüne alındığında 1 kg  $\beta$ -karoten eldesi için 10 kg kuru mikro alg veya 1250 kg kuru havucun gerekli olduğu, ekstraksiyonun tam verimle yapılamayacağı göz önünde bulundurulduğunda bu sayının pratikte daha yüksek olacağı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar ışığında hem çevresel açıdan hem de uygunluk açısından  $\beta$ -karoten ekstraksiyonu için en uygun teknik *D. salina* için ultrasound teknolojisi, havuç için ise mikrodalga teknolojisi olarak bildirilmiştir [9].

Tunus'ta yapılan bir çalışmada kaki, kayısı ve şeftali meyvelerinden hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu ile karotenoidler ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi 103 bar basınç altında gerçekleştirildiği için 40 °C'deki ekstraksiyon süresi 5 dakika olarak bildirilmiştir. Analiz sırasında yalnızca 30 ml organik solvent kullanıldığı belirtilerek %71 verimle zeaksantin, %79 verimle trans-lutein, %83 verimle  $\beta$ -kriptoksantin ve %101 verimle  $\beta$ -karoten ekstrakte edilmiştir [10].

Bitkisel ve mikrobiyolojik kökenli ekstrakte edilen pigmentlerin oluşturdukları hoş renge ilaveten antimikrobiyal etki gösterdikleri ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur [6, 8, 12]. Umadevi ve Krishnaveni tarafından 2013'te yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre; *Micrococcus luteus* tarafından salgılanan ham pigmentin *Pseudomonas* sp., *Escherichia* sp., *Klebsiella* sp. ve *Staphylococcus* sp.'ye karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir [8].

Dong ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada hiçbir kurutma işlemi yapılmamış taze kırmızı biberden etanol

solventi vasıtasıyla kapsaisinoid ve karotenoid pigmenti ekstrakte edilmiştir. %40-%50'lik etanol ortamdaki kapsaisinoidler uzaklaştırıldıktan sonra %95'lik etilalkol kullanılarak pigment elde edilmiştir. Taze biber kullanılarak yapılan ekstraksiyonda 440.58±0.84 mg/g perikarp pigment elde edilirken güneşte kurutulan biberlerde yapılan ekstraksiyon sonucu 184.54 mg/g perikarp kırmızı pigment elde edildiği bildirilmiştir. Bu verilerden yola çıkarak kurutma işlemi esnasında üründe karotenoid kaybı olduğu bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada hekzan, aseton ve etil asetat gibi solventlerin çevreye zararlı etkilerinin bulunduğu, solventler uçurulduktan sonra bu pigmentlerin renklendirici olarak kullanılmasının sağlıklı olmayacağı vurgulanarak ekstraksiyon için etanol kullanıldığı bildirilmiştir [3].

## 2.EKSTRAKSİYONDA KULLANILAN YÖNTEMLER

**2.1. Klasik yöntemler:** Geleneksel olarak, ekstraksiyonunda çözünen olarak asitlendirilmiş metanol, etanol, aseton, su ve aseton/metanol/su karışımları kullanılmaktadır. Gerekli hallerde formik asit, asetik asit, sitrik asit ve tartarik asit gibi zayıf asitler %0.5-3 oranında, hidroklorik asit (HCl) ve trifloroasetik asit gibi güçlü asitler ise %1'den daha az bir oranda kullanılmaktadır. Farklı derecelerde deneysel sıcaklıklar seçilmekle beraber 70°C'nin altındaki değerler kullanılmaktadır [13].

### 2.2. Diğer yöntemler

**2.2.1. Vurgulu elektrik alan (Pulsed Electric Field, PEF):** İki elektrot arasına yerleştirilen gıda maddelerine kısa sürelerde (1-100  $\mu$ s) yüksek voltajlı elektrik uygulaması (10-50 kV/cm) ile gerçekleştirilen bir işlemdir. PEF uygulaması ile elektroplazmopliz, elektropermeabilizasyon ve elektroporasyon gerçekleşmektedir [14]. PEF uygulamalarında en iyi ekstraksiyon, 60-70°C gibi nispeten yüksek sıcaklıklarda olmaktadır. Çünkü yüksek sıcaklıklarda bitki membranlarından çözünen bileşenler santrifügal dolaşıma neden olmakta ve kütle transferini arttırmaktadır. Buna ilaveten, ısı uygulama fenolik-matriksi bağlarını kırmakta ve bitki membranlarının yapısını etkileyerek, membranları lipoprotein koagülasyonu ile daha az seçici geçirgen hale getirmektedir [15].

**2.2.2. Ultrasonik ekstraksiyon:** Saniyede 20.000 veya daha fazla titreşimde dalga oluşturan enerji ultrason olarak tanımlanmaktadır. Yüksek frekanslı ses dalgası basınç farkları oluşturmakta ve mikroskobik boşluklara gaz ve buhar dolarak kabarcıklar oluşmaktadır. Bu kabarcıkların patlamasıyla kaviteasyon oluşarak enerji açığa çıkmaktadır. İşlem ısı değil, mekaniktir [16, 17].

**2.2.3. Mikrodalga yardımıyla ekstraksiyon:** İyonik kondüksiyon ve dipol rotasyon ilkeleriyle

moleküllerin ısınmasına dayanan bir sistemdir. Farklı solventler kullanılarak veya solventsiz ve genellikle kurutulmuş materyal ile uygulama yapılır [18, 19].

**2.2.4. Süperkritik akışkanların kullanılması ile yapılan ekstraksiyon** (Supercritical Fluid Extraction, SPE) işleminde genellikle süperkritik CO<sub>2</sub> kullanılmaktadır. Bunun dışında nitroz oksit, amonyak, n-pentan, n-butan, zenon kullanılır. Sistem kritik sıcaklığın üzerinde ısıtılan gaz yada kritik basıncın üzerinde bir sıvının sıkıştırılması ile elde edilir. Gaz haldeki saf içerik uygulanan basınca bakılmaksızın sıvılaşamaz yani süperkritik, kritik noktanın üzerinde bir sıcaklıkta veya basınçta herhangi bir bileşiktir. Yoğunluk bakımından sıvı gibi, taşıyıcılık bakımından gaz gibidir. Az olan viskoz yapılarıyla dokulara kolay nüfuz eder [19, 20, 21].

**2.2.5. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon** (Accelerated solvent extraction (ASE): Katı, sıvı ekstraksiyon olup basınçlı çözücü ekstraksiyondur (100-140 atm, 50-200 °C) [ 22, 23].

**2.2.6. Katı faz mikro ekstraksiyon** (Solid phase microextraction, SPME): İşleminde kısa, dar çaplı, dışardan kaynaşık silika optik fiber elyaf ve ince polimetrik film (carbowax, polydimethylsiloxane, PDS) ile kaplı durağan faz veya katı maddenin gözenekli karbondan oluşan harmanlanmış polimer kullanılmaktadır (PDMS-Carboxen). Bu kaplanmış fiber direk örneğe daldırarak absorpsiyonla veya durağan fazdaki solüsyondan absorpsiyonla emilimi gerçekleştirir. Analitin kimyasal yapısına göre dengeye ulaştıktan sonra fiberden GC veya HPLC ile okuma yapılır [19, 24].

**2.2.7. Tepe boşluğu analizi** (Head Space Analysis, Static Headspace and Dynamic Headspace): Buhar faz ekstraksiyonu olarak tanımlanabilir. Analiz genellikle uçucu olmayan bir sıvı, katı veya buhar fazın üzerindeki sıvı veya katı ile olur. Uçucu organik bileşikler statik veya dinamik tepe boşluğu ile konsantre edilebilirler [ 25].

**2.2.8. Örnek bozulması yöntemi:** Viskoz, katı, yarı katı örneğin aşındırıcı bir katı destek malzemesi ile harmanlanması ilkesine dayanır [19, 26].

**2.2.9. Kızgın su ile ekstraksiyon:** Su yüksek hidrojen bağı yapısıyla benzersiz bir çözücüdür. Ancak ısıtıldığında yapısı ciddi oranda değişir. Sıcaklık arttıkça geçirgenlikte sistematik bir düşüş, difüzyon oranında artış, viskozite ve yüzey geriliminde azalma olur. Basınç kaldırıldığında su kondanse olarak kalır ve bu değişiklikler atmosferik kaynama noktasında ve 374°C ve 218 bar kritik noktası civarında da devam eder. Burada yoğunluk neredeyse sabittir. Kızgın su terimi 100 °C ile kritik noktadaki kondanse faz arasındaki bölgeyi ifade eder. Bu durum özellikle kuru

materyalin ekstraksiyonu için kullanılmaktadır. Esansiyel yağlar ve pestisit kalıntıları için şu anda kullanılan bu yöntem gelecekte diğer ekstraksiyon yöntemleri ile karşılaştırılabilecektir. Yöntem ekonomik, non-toksik ve organik solvente gerek duyulmaması bakımından tercih edilebilir görünmektedir [27].

### 3. KAYNAKLAR

- [1]. Demiray, E., Tülek, Y. 2012. Kurutma İşleminin Kırmızı Biberdeki Renk Maddelerine Etkisi, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 7(3):1-10.
- [2]. Akgül, A. 1993. Baharat Bilimi ve Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Dergisi Yayınları, No15, Ankara.
- [3]. Dong, X., Li, X., Ding, L., Cui, F., Tang, Z., Liu, Z. 2014. Stage Extraction of Capsaicinoids and Red Pigments from Fresh Red Pepper (Capsicum) Fruit With Ethanol as Solvent. LWT-Food Science And Technology, 59: 396-402.
- [4]. Rains, C., Bryson, H. M. 1995. Topical capsaicin. a review of its pharmacological properties and therapeutic potential in post-herpetic neuralgia, diabetic neuropathy and osteoarthritis. Drugs and Aging, 7: 317-328.
- [5]. Reilly, C. A., Crouch, D. J., Yost, G. S. 2001. Determination of capsaicin, dihydrocapsaicin, and nonivamide in self-defense weapons by liquid chromatography e mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 912: 259-267.
- [6]. Boo, H., Hwang, S., Bae, C., Park, S., Heo, B., Gorinstein, S. 2012. Extraction and Characterization of Some Natural Plant Pigments. Industrial Crops and Products, 40:129-135.
- [7]. Rodriguez, D. B. 2016. Natural Food Pigments and Colorants. Current Opinion in Food Science, 7:20-26.
- [8]. Umadevi, K., Krishnaveni, M. 2013. Antibacterial Activity of Pigment Produced from *Micrococcus luteus* KF532949. International Journal of Chemical and Analytical Science, 4:149-152.
- [9]. Kyriakopoulou, K., Papadaki, S., Krokida, M. 2015. Life Cycle Analysis of  $\beta$ -karoten Extraction Techniques, Journal of Food Engineering, 167: 51-58.
- [10]. Zaghdoudi, K., Pontvianne, S., Famboisier, X., Achard, M., Kudaibergenova, R., Trabelsi, M., Kalthoum-cherif, J., Vanderesse, R., Frochot, C., Guiavarc'h, Y. 2015. Accelerated Solvent Extraction of Carotenoids from: Tunisian Kaki (*Diospyros kaki* L.), Peach (*Prunus persica* L.) and Apricot (*Prunus armeniaca* L.). Food Chemistry, 184:131-139.
- [11]. Çınar, İ. 2003. Carotenoid Pigment Loss of Freeze-Dried Plant Samples Under Different Storage Conditions. Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry, 2(5): 563-569.

- [12]. Venil, C. K., Zakaria, Z. A., Ahmad, W. A. 2013. Bacterial Pigments and their Applications, *Process Biochemistry*, 48:1065-1079.
- [13]. Ju, Z. Y., Howard, L. R. 2003. Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 5207-5213.
- [14]. Alvarez, I., Raso, J., Palop, A., Sala, FJ. 2000. Influence of different factors on the inactivation of *Salmonella senftenberg* by pulsed electric fields. *International Journal of Food Microbiology*, 55: 143-146.
- [15]. Corrales, M., Garcia, A.F., Butz, P., Tauscher, B. 2009. Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure. *Journal of Food Engineering*, 90: 415-421.
- [16]. Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P., Mason, T.J. 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11: 261-265.
- [17]. Tavman, S., Kumcuoglu, S., Akkaya, Z. 2009. Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu. *Gıda*, 34 (3): 175-182.
- [18]. Al-Harashsheh, M., Kingman, S.W. 2004. Microwave-assisted leaching-A review. *Hydrometallurgy*, 73: 189-203.
- [19]. Wang, L., Weller, C.L. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology* 17, 300-312.
- [20]. Bernardo-Gil, M. G., Grenha, J., Santos, J., Cardoso, P. 2002. Supercritical fluid extraction and characterization of oil from hazelnut. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 104: 402-409.
- [21]. Andras, C.D., Simandi, B., Orsi, F., Lambrou, C., Missopolinou-Tatala, D., Panayiotou, C. 2005. Supercritical carbon dioxide extraction of okra (*Hibiscus esculentus* L) seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 1415-1419.
- [22]. Brachet, A., Rudaz, S., Mateus, L., Christen, P., Veuthey, J. 2001. Optimisation of accelerated solvent extraction of cocaine and benzoylecgonine from coca leaves. *Journal of Separation Science*, 24:865-873.
- [23]. Richter, B.E., Jones, B.A., Ezzell, J.L., Porter, N.L., Avdalovic, N., Pohl, C. 1996. Accelerated solvent extraction: A technology for sample preparation. *Analytical Chemistry*, 68 : 1033-1039.
- [24]. Spar Eskilsson, S., Bjorklund, E. 2000. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 902 (2000), pp. 227-250.
- [25]. Szentmihalyi, K., Vinkler, P., Lakatos, B., Illes, V., Then, M. 2002. Rose hip (*Rosa canina* L.) oil obtained from waste hip seeds by different extraction methods *Bioresour Technology*, 82(2):195-201.
- [26]. Mamidipally, P.K., Liu, S.X. 2004. First approach on rice bran oil extraction using limonene. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106:122-125.
- [27]. Smith, R.M. 2002. Extractions with superheated water. *Journal of Chromatography A*, 975: 31-46.