

Capítulo 2

Colorantes naturales en la industria de alimentos

Cristina Vergara H.^{1*}, María Teresa Pino¹, Olga Zamora¹, Ana María Sandoval²

¹ Instituto de Investigaciones Agropecuarias -INIA- La Platina. CP: 8831314. Santiago, Chile

² Instituto de Investigaciones Agropecuarias -INIA- Carillanca. Casilla 929. Vilcún, Chile

*cristina.vergara@inia.cl

El color es muy relevante al momento de escoger un alimento porque condiciona la percepción del consumidor e influye en sus decisiones de compra. En la industria de alimentos, los colorantes son considerados aditivos que contribuyen a realzar y agregar color a los alimentos y permiten corregir las variaciones de color propias de un alimento, entre otros. La tendencia en la alimentación, y en particular del consumidor actual más informado y consciente del impacto de la alimentación en su salud, muestra un alza en la demanda por productos de etiqueta limpia (Clean-Label), naturales, inocuos, libre de ingredientes sintéticos, y con marcada preferencia por aquellos basados en plantas (plant-based). Esto puso sobre el banquillo a los colorantes sintéticos y muchos de estos han sido prohibidos en varios países, surgiendo así el desafío de reemplazarlos con colorantes de origen natural (Vojdani y Vojdani, 2015; Yamjala *et al.*, 2016). Recientemente en Europa, se prohibió formalmente el colorante blanco dióxido de titanio (E171) en todos los alimentos, lo cual regirá a partir de inicios del 2022, porque estudios lo han asociado a daño en el material genético y, consecuentemente podría provocar cáncer (Canu *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022). No obstante, las empresas tendrán seis meses para eliminar su uso, y en algunos países como Francia lo prohibieron por completo en 2019 (Futuro360, 2021).

Varios colorantes sintéticos, ya han sido prohibidos por la Food and Drug Administration de EE. UU. (FDA) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), porque existen estudios que han asociado su consumo con problemas de salud (Vodjani y Vodjani, 2015). Entre algunos de ellos, están: Tartracina (E-102) un

colorante de color amarillo o naranja, muy común en la industria alimentaria, que puede estar en cualquier alimento (bebidas, jugos, gelatinas, etc.). Amarillo crepúsculo (E-110) que se fabrica a partir de hidrocarburos aromáticos de petróleo, y ha sido asociado a hiperactividad y reacciones alérgicas. El Azul brillante FCP (E-133), que se usa para colorear de azul helados, dulces y bebidas, otorgando su tono característico a algunos refrescos para deportistas y en bebidas de tipo blue-tropic. Este colorante está cuestionado en numerosos países europeos (aún está prohibido en Suiza). El colorante Allura Red AC o Rojo 40 (E-129) usado en varias bebidas, cárnicos, dulces, medicamentos, se ha asociado a alergias infantiles, hiperactividad, déficit atencional y aumento de síntomas de asma en niños, y algunos autores confirman que provoca daños citológicos (Vodjani y Vodjani, 2015; Yamjala *et al.*, 2016; Noorafshan *et al.*, 2018).

Entre los colorantes naturales más demandados y con una proyección de crecimiento cercana al 5% al 2026, están el carmín, antocianinas, caramelo, annatto, carotenoides, clorofila, espirulina y otros naturales como betalainas, cantaxantina, antraquinonas, curcumina, cúrcuma, y gardenia (**Figura 2.1**).

Aquellos, colorantes con reconocidas características antioxidantes o funcionales son los más demandados como los carotenoides (amarillos-naranjos y rojos), flavonoides y antocianinas (rojos-purpuras-azules), todos asociados a la reducción de la incidencia de enfermedades crónicas y degenerativas, incluyendo enfermedades coronarias, hipertensión, entre otras. Entre los otros, están la clorofila (verde) y espirulina (verde azulado). Sólo el mercado mundial de extractos de clorofila superaría los US\$300 millones para el año 2030 (sólo para el mercado de color y no considerando el mercado de la nutracéutica), con una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) proyectada entre el 8 a 9%, siendo la formulación líquida la más demandada (FMI, 2021; Value Market Researchm, 2021).

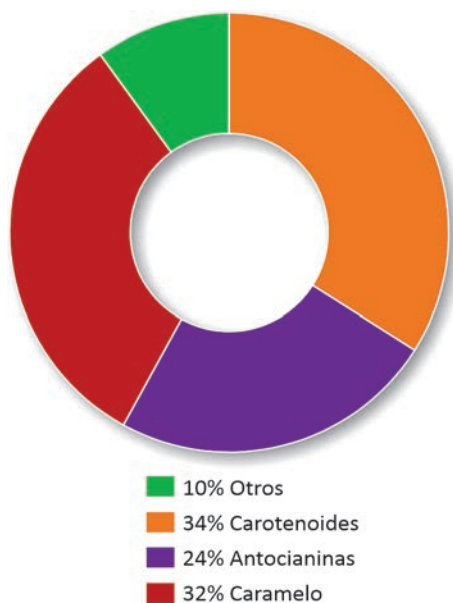


Figura 2.1. Grupo de colorantes naturales más demandados en la industria de alimentos (Fuente: adaptado de Pino y Zamora, 2018)

2.1 Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos naturales solubles en agua, que van desde rojos a púrpura-azulados, estas se encuentran en forma natural en las vacuolas celulares en tejidos vegetales de raíces, frutos, flores y otros (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). Las fuentes de antocianinas más comunes son la uva tintorera (orujo que se desecha del procesamiento de los vinos), la zanahoria negra, repollo morado y frutos rojos con alto contenido de antocianinas (**Figura 2.2**). Estos últimos tienen la ventaja que son reconocidos como ingredientes alimenticios en vez de aditivos.

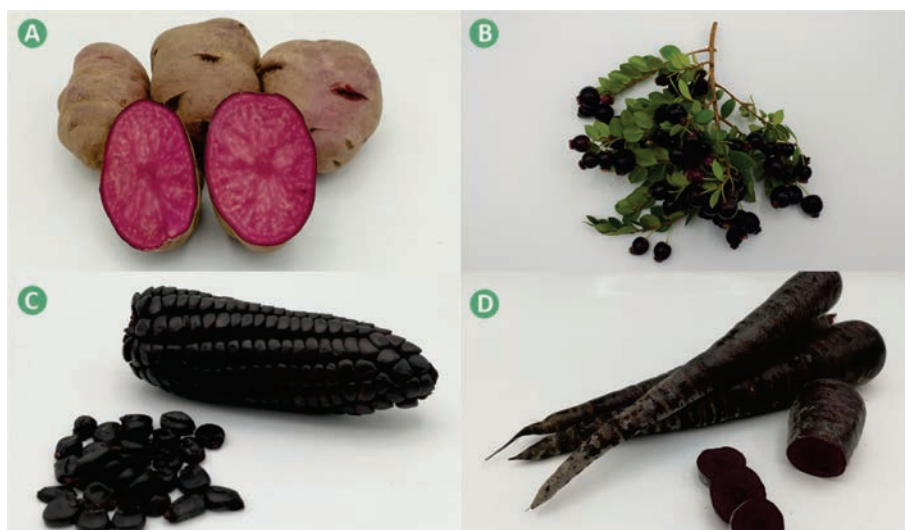


Figura 2.2. Materias primas alta en antocianinas; papa de pulpa de roja INIA (A), arrayan (B), maíz morado (C), y zanahoria negra o morada (D) (Fuente: Laboratorio UMPA¹- INIA).

Tipos de antocianinas y estabilidad

Las antocianinas son los glicósidos de las antocianidinas, los cuales son compuestos polifenólicos que pertenecen a una clase superior de moléculas llamadas flavonoides. Las antocianinas son reconocidos antioxidantes con capacidad de secuestrar radicales libres y lipídicos, mediante la transferencia de átomos de hidrógeno o la donación de electrones (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). La síntesis de las antocianinas inicia a partir de tres moléculas de malonil-CoA y una de p-coumaril-CoA mediante

¹ UMPA, Laboratorio de Materias Primas y Alimentos de INIA La Platina, Santa Rosa 11610, RM.

catalización enzimática hasta la formación de las seis principales antocianinas, estas moléculas pueden encontrarse en forma de aglicona y más comúnmente en forma glicosilada, es decir unidos a moléculas de azúcares (Krishna *et al.*, 2017). Cianidina (50%), delphinidina (12%), pelargonidina (12%), peonidina (12%), petunidina (7%) y malvidina (7%) son las antocianinas más comunes (**Figura 2.3** y **Tabla 2.1**), con una distribución en flores, frutos y vegetales. La cianidina da una pigmentación púrpura rojizo (magenta) abundante en especies como el sauco, la zanahoria y el maíz morado, y la cianidina-3- glucósido (C3G) es la más predominante. El extracto de Sauco (*Sambucus nigra*), alto en cianidina-3- glucósido (C3G) y cianidina-3-O-sambubiósido, neutralizarían la infección del virus influenza, bloqueando la acción de dos proteínas claves en el proceso de replicación del virus dentro de la célula huésped (Torabian *et al.*, 2019). Delphinidina tiene una característica pigmentación azul-rojizo o violeta en plantas, muy común en maqui. La pelargonidina se diferencia de la mayoría de las antocianinas, otorga una pigmentación anaranjada en flores y

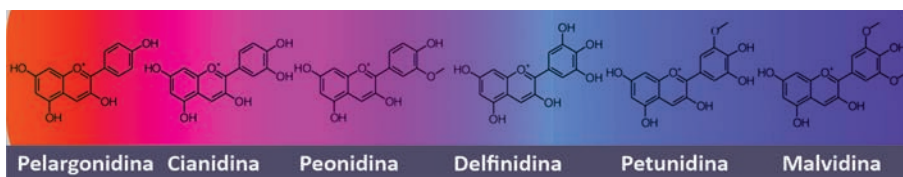


Figura 2.3. Estructura química y colores asociado a los principales grupos de antocianinas detectados en vegetales (Fuente: adaptado de Krishna *et al.*, 2017).

Tabla 2.1. Concentración de antocianinas totales (AT) y tipos de antocianinas predominantes según materias primas más demandadas (Fuente: adaptado de Gonçalves *et al.*, 2021).

Materia Prima	AT (mg C3G/ 100 g peso fresco)	Antocianinas predominantes
Uva tintorera	39-186	Cy, Dp, Mv, Pn, Pt 3-O-glicósidos; Mv, Pn, Pt 3-O-coumarylglicósidos
Repollo morado	109-185	Cy 3-diglicósido-5-glicósido, Cy 3-(sinapoyl)(sinapoyl)-diglicósido-5-glicósido, Cy 3-(r-coumaroyl)-diglicósido-5-glicósido
Zanahoria Negra	22,5	Cy 3-(r-coumaroyl)-diglicósido-5-glicósido
Sauco (Elderberry)	317,5	Cy 3-O-glicósido, Cy 3-O-sambubiósido

Donde, Cianidina (Cy), delphinidina (Dp), peonidina (Pn), petunidina (Pt), malvidina (Mv).

rojo en algunas frutas y bayas. La peonidina se encuentra abundantemente en bayas, uvas y vinos tintos. La malvidina es otra antocianidina o-metilada, tiene un color violeta visible, abunda en flores de color azul y en el arándano azul (Khoo *et al.*, 2017).

Colorantes naturales procedentes de antocianinas aplican bajo la clasificación de colorantes naturales, del tipo E-163. Los extractos de antocianinas tienen múltiples aplicaciones como colorante natural o Food Coloring en diferentes matrices alimentarias tales como jugos, bebidas, yogurt, jaleas y confites (Khandare *et al.*, 2011; Murali *et al.*, 2015).

La estabilidad depende del tipo de antocianina, copigmentos, luz, temperatura, pH, iones metálicos, enzimas, y oxígeno (**Figura 2.4**). La estabilidad de las antocianinas también está influenciada por el anillo B en la estructura de las antocianinas y la presencia de grupos hidroxilo o metoxilo. Una de las propiedades únicas de las antocianinas es que su estructura experimenta una amplia variedad de transformaciones moleculares en función de la concentración de protones, lo cual les permite cambiar de color en función del pH (Khoo *et al.*, 2017; Vergara *et al.*, 2019).

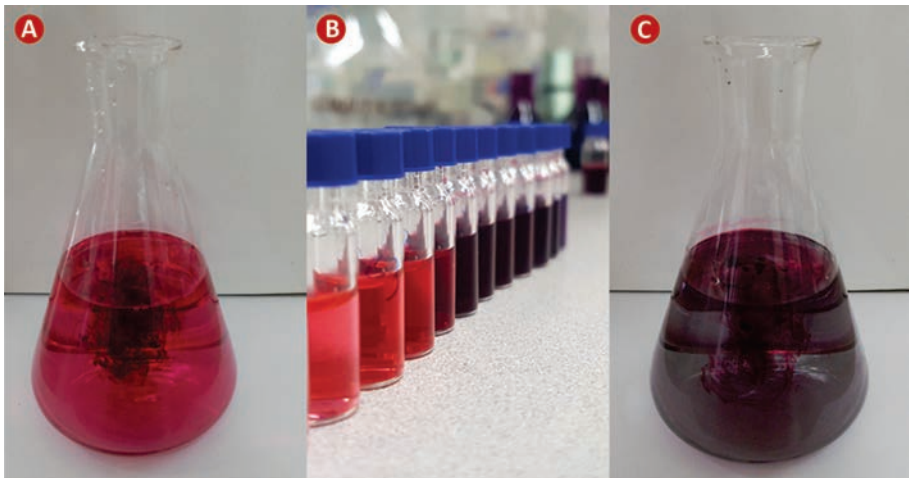


Figura 2.4. Estudios de estabilidad de antocianinas en el Proyecto en: concentrado (65°Brix) de zanahoria morada en agua destilada \sim pH 5,5 (A), extractos de frutos de calafate (B), en agua potable \sim pH 7,0 (C) (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

Además, las antocianinas son ampliamente investigadas por su rol antioxidante, se les atribuyen efectos benéficos sobre algunas funciones metabólicas debido a su capacidad para reducir los radicales libres, especies reactivas y marcadores

proinflamatorias. Estudios han reportado beneficios en el tratamiento de problemas visuales y cardiovasculares. Por otra parte, su capacidad para inhibir actividades antivirales, y su eficacia contra la carcinogénesis, está aumentando el interés en los sectores farmacéutico y de medicina especializada (Gonçalves *et al.*, 2021).

2.2 Betalainas

Las betalainas son pigmentos solubles en agua, derivan del ácido betalámico (Figura 2.5A), se clasifican principalmente en dos grupos: las betacianinas, responsables del color rojo-púrpura y las betaxantinas, de coloración amarillo-anaranjado. Las betalainas se encuentran presentes en alimentos como la betarraga, las tunas y la pitaya (Herbach *et al.*, 2006; Moßhammer *et al.*, 2006). La Figura 2.6 muestra betarragas, rojas y amarillas, fuentes de betalainas.

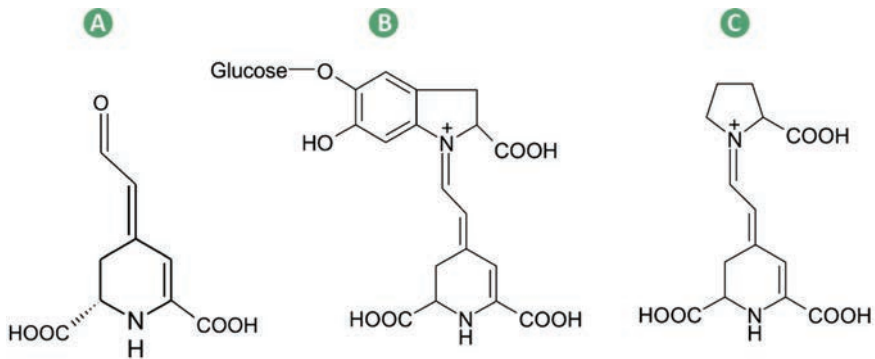


Figura 2.5. Estructura química del ácido betalámico (A), betanina (B) e indicaxantina (C). (Fuente: Herbach *et al.* 2006; Azeredo, 2008).

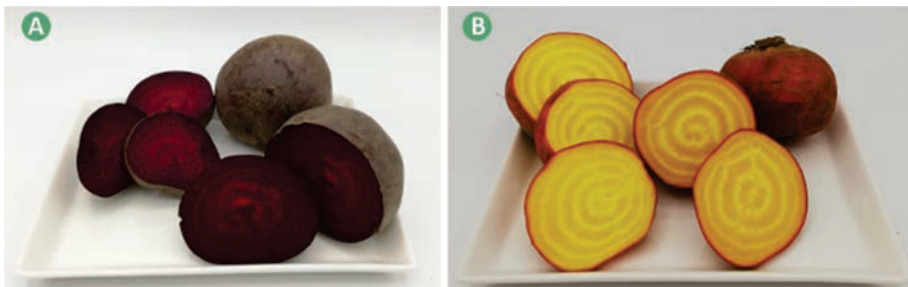


Figura 2.6. Betarragas de colores fuente de betalainas: Betacianinas color rojo-púrpura en betarraga roja (A). Betaxantinas color amarillo-anaranjado en betarraga amarilla (B) (Fuente: laboratorio UMPA - INIA).

En las betacianinas el ácido betalámico está unido al grupo 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA), que puede estar o no glicosilado, mientras que en las betaxantinas está unido con aminoácidos o derivados aminos. Ambos pigmentos absorben a distintas longitudes de onda; las betacianinas a 535-550 nm y las betaxantinas a 475-480 nm en el rango de luz visible (Delgado-Vargas *et al.*, 2000; Allegra *et al.*, 2005; Stintzing *et al.*, 2005; Rodríguez-Amaya, 2016). Dentro de las betacianinas el pigmento más conocido es la betanina (**Figura 2.5B**), mientras que en las betaxantinas destaca la indicaxantina (**Figura 2.5C**). Betanina es utilizada como colorante natural en alimentos, extraída desde betarraga (*Beta vulgaris*) que es la fuente comercial de este pigmento (Serris y Biliaderis, 2001). La betanina, también llamada “rojo-betarraga” se encuentra aceptada como colorante en diversas legislaciones y clasificada como aditivo E-162 (EU) y 73.40 (FDA, EEUU). Se utiliza principalmente para reemplazo de colorantes sintéticos rojos.

Estabilidad de las betalaínas

Los principales factores que influyen en la estabilidad de las betalaínas son: temperatura, pH, actividad de agua, luz, presencia o ausencia de oxígeno y de iones metálicos, acción enzimática, siendo la temperatura el factor más influyente en la degradación de las betalaínas (Herbach *et al.*, 2006). La **Figura 2.7** muestra las vías de degradación de betanina, asociando los productos de degradación con el

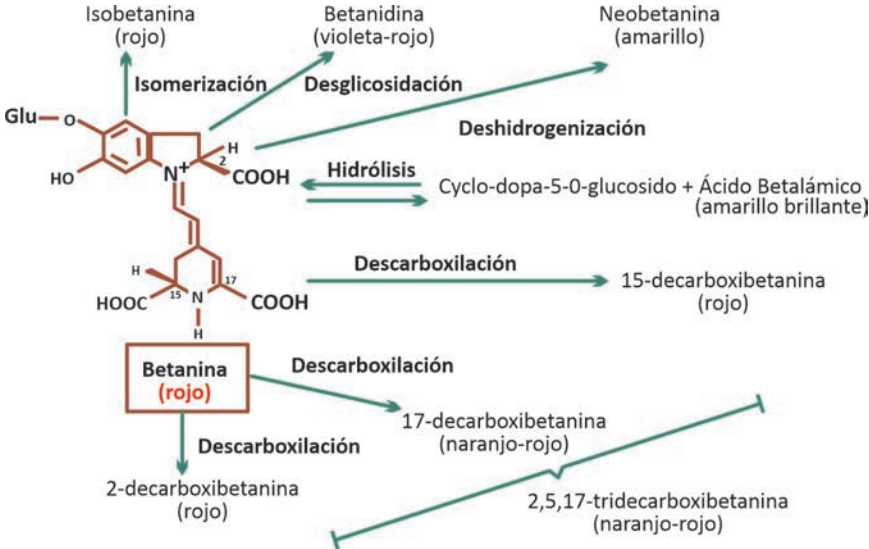


Figura 2.7. Vías de degradación de betanina (Fuente: adaptado de Rodríguez-Amaya, 2019).

color que presentará cada compuesto. Dichas vías de degradación están regidas por reacciones de: isomerización, descarboxilación, desglicosilación, deshidrogenación e hidrólisis.

Beneficios y uso de las betalaínas

La actividad antioxidante de las betalaínas se atribuye al grupo fenólico y grupo amino cíclico presentes en su estructura, por lo cual podrían donar átomos de hidrógeno y/o electrones a radicales libres (Kanner *et al.*, 2001; Moreno *et al.*, 2008). En betacianinas la glicosilación reduce la actividad antioxidante. Además, la estructura 6-O-glicosilada produce valores más elevados que la 5-O-glicosilada y la posición C-5 de los grupos hidroxilo en agliconas mejora la actividad antioxidante (Kanner *et al.*, 2001; Cai *et al.*, 2003). La naturaleza catiónica de las betalaínas favorecería la interacción de estas moléculas solubles en agua con moléculas polares de las membranas y de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Kanner *et al.*, 2001). La evidencia científica describe, estudios *in-vitro* e *in-vivo*; que las betacianinas y betaxantinas poseen actividad antioxidante en ambientes biológicos como membranas celulares y células (Tesoriere *et al.*, 2004, 2005, Allegra *et al.*, 2005).

También se han evidenciado acciones antiinflamatorias en células endoteliales y efectos sobre células de líneas tumorales (Gentile *et al.*, 2004; Sreekantah *et al.*, 2007). Gentile *et al.* (2004) observaron que las betalaínas protegen células endoteliales contra la oxidación, lo que indicaría un efecto protector contra procesos inflamatorios conducentes a problemas cardiovasculares posteriores. Pruebas clínicas mostraron que el consumo de tuna influye positivamente en el balance redox del organismo disminuyendo el daño oxidativo de los lípidos, en tanto que la ingesta de jugo de betarraga retarda la oxidación de los lípidos, efectos que se atribuyen a las betalaínas (Moreno *et al.*, 2008). Los estudios *in-vivo* que han sido reportados coinciden en señalar que las betalaínas estarían relacionadas con diversos efectos protectores contra procesos oxidativos en el organismo, contribuyendo, por lo tanto, a prevenir la incidencia de enfermedades no transmisibles. La betanina se utiliza en la industria de alimentos principalmente como un colorante natural para impartir color en alimentos que no son tratados térmicamente, como yogurt, helados, jarabes, etc.

2.3 Carotenoides

Los carotenoides son pigmentos naturales, cuya coloración van desde amarillo a naranjos, rojo-anaranjados a rojos, que se extraen de diversas fuentes vegetales,

son solubles en aceite y precursores de la síntesis de vitamina A. El colorante Amarillo intenso, se extrae de las semillas del Annatto o Achiote (*Bixa orellana*) una planta originaria de la zona tropical Americana y se utiliza para colorear principalmente productos lácteos. Los betacarotenos (Amarillo-anaranjados intensos) se obtiene principalmente de los frutos de la Palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.), de la zanahoria naranja y de varios tipos de algas. La Luteína (amarillo intenso) proviene principalmente del Marigold (*Tagetes spp.*) y se utiliza para colorear bebidas, salsas, pasteles, galletas y queso. El Colorante natural oleorresina de pimentón, responsable del color rojo-anaranjado intenso, se obtiene mediante la extracción de capsantina y capsorrubina de frutos de pimiento (*Capsicum annum*) del tipo Paprika y es ampliamente utilizado en alimentos procesados como salchichas, surimi, langostinos, recubrimientos, aperitivos y condimentos (Bora *et al.*, 2019).

Los carotenoides naturales -amarillo anaranjados- son utilizados como colorantes en productos lácteos, margarinas, mantequillas, quesos, quesos fundidos, helados, sopas, salsas, masas de panificación y pastelería, pastas secas o frescas para reforzar el color amarillo también son utilizados en confitería, mermeladas y bebidas. Los extractos de pimientos Paprika (E160c; Capsantina y Capsorubina) son usados como colorantes (rojo y anaranjado oscuro) y saborizantes naturales en la industria de alimentos. Actualmente E160c se usa en una gran variedad de productos, en la industria láctea (quesos, mantequillas, etc.), industria animal (avicultura, piscicultura, ganadería, etc.), industria conservera (vegetales, hidrobiológicos y cárnicos), industria de panificación (pastas, pasteles, galletas, etc.), embutidos, salsas, sopas, mayonesa, condimentos, bebidas, congelados, jarabes, gelatinas, polvos concentrados e industria cosmética (ej. lápices labiales, polvos faciales, otros) (Bora *et al.*, 2019, Naganandhini *et al.*, 2021).

Tipos de pigmentos carotenoides naturales y estabilidad

Los pigmentos carotenoides son bastante estables y en general no se ven afectados por la presencia de ácido ascórbico, calentamiento y/o congelación. El extracto E160c se suministra en formato de oleorresina, es muy poco soluble al agua, se necesita disolver en tensoactivos o mediante la técnica de la encapsulación (**Tabla 2.2**). Específicamente el β -caroteno presente en las zanahorias es muy sensible al calor y la luz, la encapsulación con sacarosa por cocrystalización mejora su estabilidad y aplicación (Kaur *et al.*, 2021).

Tabla 2.2. Clasificación de principales carotenoides como colorantes naturales (amarillo anaranjado a rojo-anaranjado intenso) y principal fuente de origen (Fuente: adaptado de Bora *et al.*, 2019).

Clasificación	Color	Materia Prima (origen)
Betacaroteno (E-160a)	Amarillo-naranjos (luminoso).	Frutos de la Palma Aceitera, zanahoria naranja
Annatto (E-160b)	Naranja intenso	Extractos de las semillas del Annatto o Achiote
Oleoresina (E-160c)	Rojo-anaranjado oscuro	Extractos (capsantina y capsorrubina) del pimiento p�prika
Luteína (E-161b)	Amarillo intenso -anaranjado	Marigold o Tagete

Respecto a la ruta metabólica para la biosíntesis de los distintos carotenoides esta puede seguir caminos distintos, y pasar de la ruta α -caroteno a la ruta del β -caroteno. La ruta de los **α -carotenos** comienza a partir del licopeno y sintetiza carotenoides en el orden, α -caroteno, zeaxantina y luteína (**Figura 2.8**). El contenido de luteína es aproximadamente dos veces mayor que el de β -caroteno en la etapa inmadura. Por el contrario, para la ruta de los β -carotenos comienza desde el licopeno y los carotenoides se sintetizan en el siguiente orden: β -caroteno, β -criptoxantina, zeaxantina, anteraxantina, violaxantina y neoxantina (Li y Yuan, 2013; Lado *et al.*, 2016). En los *Capsicum* rojos (pimientos tipo Paprika), desde la anteraxantina y la violaxantina se sintetizan capsantina y capsorubina, respectivamente; en la etapa madurez del pimiento, se ha observado que los carotenoides más significativos son capsantina, β -caroteno, β -criptoxantina, zeaxantina, y anteraxantina (Lado *et al.*, 2016; Pino, M. T. 2018).

Los carotenoides tienen efecto positivo contra enfermedades cardiovasculares, ciertos tipos de cáncer, degeneración macular y cataratas. Sin embargo, los distintos tipos de carotenoides difieren en su funcionalidad; el licopeno se asocia con un riesgo reducido de cáncer de próstata, mientras que a la luteína y la zeaxantina se les atribuye un riesgo menor de degeneración muscular y cataratas (Rodríguez-Amaya, 2021). Estudios *in-vivo*, en capsantina, capsantina-3'-ester y capsantina 3,3'-diéster, mostraron un efecto antitumoral en ratas durante dos etapas de carcinogénesis, sugiriendo que estos extractos de pimiento rojo ten-

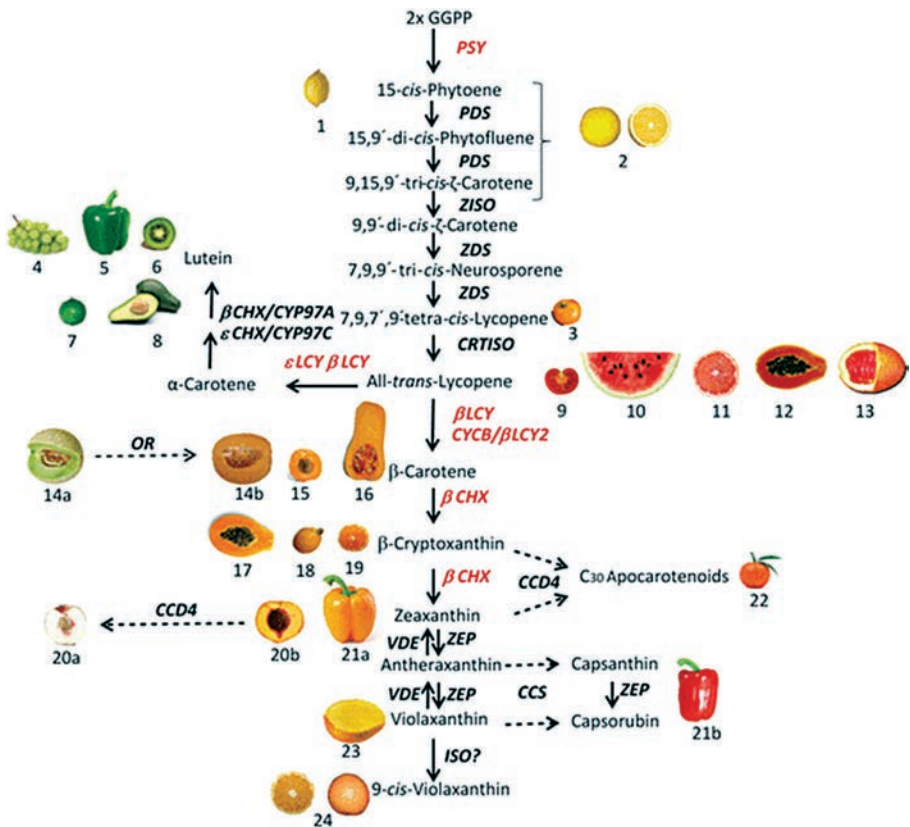


Figura 2.8. Ruta metabólica de la biosíntesis de carotenoides, enzimas y genes asociados a su síntesis (Fuente: Lado *et al.*, 2016).

drían una actividad quimiopreventiva en cáncer (Maoka *et al.*, 2001). Otro estudio, en tres variedades de pimiento del tipo Bell, no sólo identificó por primera vez tres derivados de ácido cinámico y otros cinco componentes flavonoides, también sugirió que estos contribuían a la actividad antioxidante y anticancerígena en general asociados a una mayor concentración de derivados de quercetina (Jeong *et al.*, 2011). Un estudio reciente, mostró que el extracto de paprika, altos en capsorrubina y capsantina, tuvieron un fuerte efecto antioxidante y preventivo de las enfermedades relacionadas con la obesidad, debido a que contribuyeron a regular el alza en el rendimiento de resistencia de los atletas, al reducir el consumo de oxígeno y la frecuencia cardíaca (Maeda *et al.*, 2021)

2.4 Clorofilas

Las clorofilas son pigmentos responsables del color verde en plantas, algas y cianobacterias. Se estima que anualmente el planeta produce cerca de 1,2 billones de toneladas de clorofilas, donde el 25% provienen de las plantas y el 75% proviene principalmente de algas (Humphrey, 2004). Las clorofilas son de color verde porque parte de su molécula que da el color (cromóforo), es responsable de absorber longitudes de onda en la región del espectro visible siendo una en la región azul (400–500 nm) y otra en la región roja (600–700 nm); mientras refleja longitudes de onda en la región verde del espectro (500–600 nm), entregando así su color característico. No obstante, las diferencias en su molécula entrega a la clorofila a un tono verde azulado, y a la clorofila b un tono amarillo verdoso (Gross, 2012).

Las clorofilas son los responsables de la fotosíntesis, se localizan y sintetizan de manera natural en los cloroplastos de la célula, y su estructura principal se basa en átomos de Carbono, Hidrógeno y Nitrógeno. Forman un sistema aromático estable llamado porfirina, que consiste en un anillo tetrapirrólico, unido a un catión de Mg ubicado al centro del anillo (**Figura 2.9**) (Gross, 2012). El anillo está ligado a una ciclopentanona y a un grupo fitol (alcohol de 20 átomos de carbono de naturaleza isoprenoide monoinsaturado) quien otorga el carácter hidrofóbico a la molécula de clorofila.

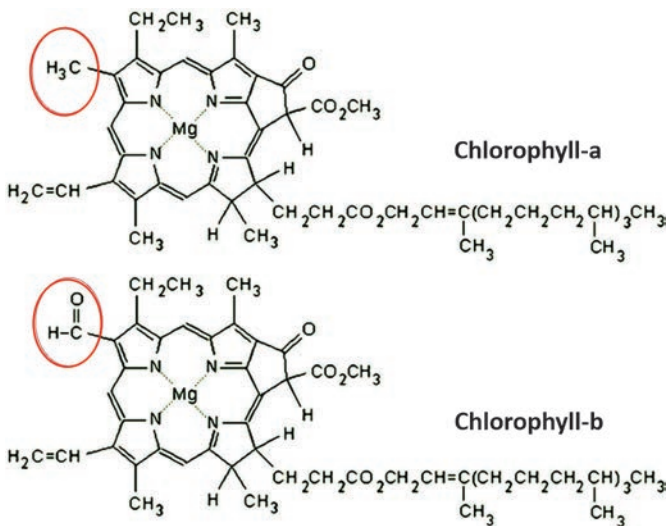


Figura 2.9. Estructura química de clorofila a y b (Fuente: Phu, 2014).

Tipos de Clorofilas y estabilidad

Existen diversos tipos de clorofilas, en plantas superiores son predominantes las del tipo *a* y *b*, mientras que en algas y bacterias también se pueden encontrar del tipo *c*, *d* y *e*, diferenciándose cada una a nivel molecular. La clorofila-*a* ($C_{55}H_{72}MgN_4O_5$) es la estructura más abundante e importante de la familia, y corresponde aproximadamente al 75% de los pigmentos verdes encontrados en la naturaleza (Streit *et al.*, 2015). Desde el punto de vista de los alimentos, las más importantes son las clorofilas *a* y *b*, usualmente en proporción de 3:1, y se diferencian en que la primera tiene un grupo metilo ($-CH_3$) en el C7, mientras que la segunda posee un grupo aldehído ($-CHO$) en el C3 (**Figura 2.9**) (Gross,2012).

Las clorofilas poseen alta labilidad, son sensibles a la luz, pH, oxígeno, calor, y a enzimas como clorofilasa, que provocan distintos cambios estructurales y en consecuencia, la degradación de la clorofila (Koca *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2012; Özkan y Bilek, 2015). La clorofila *b* es térmicamente más estable que la clorofila *a*, debido a que su grupo aldehído en la molécula, es capaz de captar electrones (Belitz y Grosch, 1987; Canjura *et al.*, 1991), adicionalmente la clorofila *b* es más estable que la clorofila *a*, debido a la presencia de oxígeno de su grupo aldehído en la molécula. La exposición a pH ácido, da lugar a la formación de las feofitinas de color verde oliva-amarillo, debido al reemplazo de su átomo de Mg en la molécula (Zheng *et al.*, 2014).

La **Tabla 2.3** muestra los tipos de clorofilas utilizadas como colorantes de color verde, de acuerdo con las distintas regulaciones (Viera *et al.*, 2019). El sistema internacional de numeración para los aditivos alimentarios clasifica a la clorofila según el Codex Alimentarius como INS 140 (E-140), con índice de color CI 75810. De acuerdo al Art.145 del RSA, se permite usar como sustancias colorantes a: clorofilas (140) liposoluble derivada de la extracción directa por solvente orgánico; clorofilas de cobre (141) considerada la más estable y utilizada en la industria, complejo cúprico de clorofilina (141i) que se forma por saponificación con adición de un alcalí (o base) y cobre, cortando la cadena de fitol, por lo que es hidrosoluble; y el complejo cúprico de clorofilina, sales de sodio y potasio (141ii), todas a excepción de clorofilas de cobre, deben ser utilizadas bajo buenas prácticas de fabricación (BPF).

Tabla 2.3. Clasificación de los colorantes naturales verdes autorizados de acuerdo con diversas regulaciones (Fuente: adaptada de Viera *et al.*, 2019).

País	Clorofila	Clorofilina	Cu-Clorofila	Cu-Clorofilina	Na-Fe-K-Clorofilina
UE	E140i	E140ii	E141i	E141ii	
USA				73.125	
Japón	177	116	266	265	257
India	6				
China			08.153	08.009	
Chile (RSA)	140		141	141i	141ii
Codex Alimentarius	INS 140	INS 140	INS 141i	INS 141ii	

La clorofila se utiliza en diversas aplicaciones en la industria de alimentos: productos de pastelería (galletas dulces), confitería (chicles, golosinas, caramelos), postres, productos lácteos, bebidas, jaleas, helados, sopas, salsas, bocadillos, condimentos y comidas preparadas (IACM, 2021). Además, las clorofilas y sus derivados poseen capacidad antioxidante (Gutiérrez-Rosales *et al.*, 1992), ayudando a retrasar el envejecimiento celular. La clorofila también ayuda a aumentar la calidad y cantidad de glóbulos rojos, y a reducir los riesgos cardiovasculares, debido a su símil con otra molécula de tipo porfirina, la hemoglobina (Solymosi, 2017). Asimismo, se le considera como un auxiliar de la anemia, corrigiendo desequilibrios de hemoglobina en las personas. Se ha reportado que también posee propiedades como anticancerígeno y antimutagénico (Balder *et al.*, 2006; Solymosi, 2017). Otros estudios, sugieren que podrían inhibir diversos tumores y el riesgo de padecer cáncer de hígado, colon, estómago y pulmón con una ingesta apropiada de clorofila, y mutaciones en bacterias. Sus propiedades como detoxificante, ayudan a depurar al organismo de toxinas (ej. aflatoxinas) de manera de bloquearlas y desecharlas a través de la orina, y por su capacidad regenerativa de células, es uno de los compuestos vegetales que provee al organismo de energía y vigor. Productos a base de clorofilas, funcionan como desodorizante, neutraliza problemas de mal aliento (ej. halitosis), al unirse a moléculas que provocan este efecto, disminuyendo olores desagradables en el sudor, orina y fecas (Solymosi, 2017).

Conclusión

Los colorantes naturales más demandados son los amarillos-anaranjados (carotenoides) y rojos a púrpura-azulados (antocianinas) que en conjunto alcanzan cerca del 60% de la demanda total. Los colorantes naturales, además de entregar color, ayudan en la salud del consumidor porque aportan nutrientes y compuestos que neutralizan la oxidación celular y retardan el envejecimiento prematuro, ayudando así en la prevención o avance de las enfermedades propias del siglo XXI. Por otra parte, entre menos procesamiento tenga la elaboración de un colorante natural, este será más valorado como un producto saludable, Clean Labels y reconocido como "Food Coloring" o "Alimento que Colorea". Sin embargo, las técnicas de extracción, estabilidad de estos colorantes naturales en distintas matrices alimentarias y el costo, son desafíos permanentes para industria. En los capítulos siguientes se analizarán materias primas (capítulo 5 y 6), así como técnicas de extracción y estabilización de colorantes naturales (capítulo 4).

Literatura Citada

- Allegra, M., Furtmuller, P., Jantschko, W., Zederbauer, M., Tesoriere, L., Livrea, M. & Obinger, C. (2005). Mechanism of interaction of betanin and indicaxanthin with human myeloperoxidase and hypochlorous acid. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 332, 837-844.
- Azeredo, H.M.C. (2008). Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science & Technology* 44, 2365-2376.
- Balder, H.F., Vogel, J., Jansen, M.C., Weijenberg, M.P., Van Den Brandt, P.A., Westenbrink, S., Van Der Meer, R., & Goldbohm, R.A. (2006). Heme and chlorophyll intake and risk of colorectal cancer in the Netherlands cohort study. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 15, 717-725.
- Belitz, H.D. & Grosch, W. (1987). Vegetables and their products. In: Food Chemistry. Edited by Hadziyev D. Marcell Dekker Inc., New York: 549-584.
- Bora, P., Das, P., Bhattacharyya, R. & Saikia, M. (2019). Biocolour: the natural way of colouring food. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8(3), 3663-3668.

- Cai, Y., Sun, M. & Corke, H. (2003). Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 2288–2294.
- Canjura, FL, Schwartz SJ, & Nunes RV. (1991). Degradation kinetics of chlorophylls and chlorophyllides. *Journal of Food Sciences* 56 1639–1643.
- Canu, I. G., Fraize-Frontier, S., Michel, C., & Charles, S. (2020). Weight of epidemiological evidence for titanium dioxide risk assessment: current state and further needs. *Journal of exposure science & environmental epidemiology* 30(3), 430–435.
- Chen, M. M., Chao, P. Y., Huang, M. Y., Yang, J. H., Yang, Z. W., Lin, K. H., & Yang, C. M. (2012). Chlorophyllase activity in green and non-green tissues of variegated plants. *South African Journal of Botany* 81, 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.04.004>.
- Delgado-Vargas, F., Jimenez, A.R. & Paredes-Lopez, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40, 173–289.
- FMI (2021). Chlorophyll Color Market – Analysis, Outlook, Growth, Trends, Forecasts to 2021 – 2031. Future Market Insights, September 2021. <https://www.futuremarketinsights.com/reports/chlorophyll-color-market> (Último acceso noviembre 2021).
- Futuro360. (2021). Europa prohíbe el colorante blanco E171, usado en la producción de alimentos procesados. Ver link, https://www.futuro360.com/ciencia-en-ti/europa-prohibe-colorante-alimentos-porcesados_20211013/. (Último acceso noviembre 2021).
- Gaur S, Shivhare US, & Ahmed J. (2006). Degradation of chlorophyll during processing of green vegetables: a review. *Stewart Postharvest Review* 2(5), 1–8.
- Gentile, C., Tesoriere, L., Allegra, M., Livrea, MA. & D'Alessio, P. (2004). Antioxidant betalains from Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endothelial ICAM-1 expression. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1028, 481–486.

- Gonçalves, A. C., Nunes, A. R., Falcão, A., Alves, G., & Silva, L. R. (2021). Dietary effects of anthocyanins in human health: A comprehensive review. *Pharmaceuticals* 14(7), 690.
- Gross, J. (2012). *Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids*. Springer Science & Business Media.
- Gutiérrez-Rosales, F., Garrido-Fernández, J., Gallardo-Guerrero, L., Gandul-Rojas, B., & Minguez-Mosquera, M. I. (1992). Action of chlorophylls on the stability of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society* 69(9), 866-871.
- Herbach, K.M., Stintzing, F.C. & Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation – structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science* 71, R41-R50.
- Humphrey, A. M. (2004). Chlorophyll as a color and functional ingredient. *Journal of food science* 69(5), C422-C425.
- IACM (2021). International Association of Color Manufacturers. Clorofilas. (Último acceso: diciembre 2021). <https://iacmcolor.org/color-profile/chlorophylls-and-chlorophyllins/>
- Jeong, W. Y., Jin, J. S., Cho, Y. A., Lee, J. H., Park, S., Jeong, S. W., ... & Lee, S. J. (2011). Determination of polyphenols in three *Capsicum annuum* L. (*Bell pepper*) varieties using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Their contribution to overall antioxidant and anticancer activity. *Journal of separation science* 34(21), 2967-2974.
- Kanner, J., Harel, S. & Granit, R. (2001). Betalains – A new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5178-5185.
- Kaur, P., Elsayed, A., Subramanian, J., & Singh, A. (2021). Encapsulation of carotenoids with sucrose by co-crystallization: Physicochemical properties, characterization and thermal stability of pigments. *LWT* 140, 110810.
- Khandare, V., Walia, S., Singh, M., & Kaur, C. (2011). Black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus*) juice: processing effects on antioxidant composition and color. *Food and Bioproducts Processing* 89(4), 482-486.

- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & nutrition research* 61 (1), 1361779.
- Koca, N., Karadeniz, F., & Burdurlu, H. S. (2007). Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. *Food Chemistry* 100(2), 609–615.
- Krishna, V., Singh, S., Kaur, C., Dahuja, A., & Praveen, S. (2017). Anthocyanin- a premium functional superfood supplement. Division of Biochemistry, ICAR-Indian Agricultural Research Institute, New Delhi-110012. https://www.iari.res.in/files/Bulletins/Anthocyanin_31012020.pdf.
- Lado, J., Zacarías, L., & Rodrigo, M. J. (2016). Regulation of carotenoid biosynthesis during fruit development. *Carotenoids in nature* 161–198.
- Li, L., & Yuan, H. (2013). Chromoplast biogenesis and carotenoid accumulation. *Archives of biochemistry and biophysics* 539(2), 102–109.
- Li, Q., Li, J., Duan, M., Liu, L., Fu, Y., McClements, D. J., ... & Chen, X. (2022). Impact of food additive titanium dioxide on the polyphenol content and antioxidant activity of the apple juice. *LWT* 154, 112574.
- Maeda, H., Nishino, A., & Maoka, T. (2021). Biological Activities of Paprika Carotenoids, Capsanthin and Capsorubin. In: Misawa N. (eds) Carotenoids: Biosynthetic and Biofunctional Approaches. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 1261. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-7360-6_26
- Maoka, T., Mochida, K., Kozuka, M., Ito, Y., Fujiwara, Y., Hashimoto, K., ... & Nishino, H. (2001). Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annuum* L. *Cancer letters* 172(2), 103–109.
- Moreno, D., García, C & Gil, J. (2008). Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochemistry Rev* 7, 261–280.
- Moßhammer, M.R., Stintzing, F.C. & Carle, R. (2006). Evaluation of different methods for the production of juice concentrates and fruit powders from cactus pear. *Innovative Food Science & Emerging Technology* 7, 275- 287.

- Murali, S., Kar, A., Mohapatra, D., & Kalia, P. (2015). Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. *Food Science and Technology International* 21(8), 604-612.
- Naganandhini, K., Swathisri, S., & Palaniswamy, R. (2021). Carotenoids: Source of Food Colour and its Benefits. *The Indian Journal of Nutrition and Dietetics* 58(1), 120-137.
- Noorafshan, A. M., Hashemi, S. Karbalay-Doust & Karimi, F. (2018). High dose Allura red, rather than the ADI dose, induces structural and behavioral changes in the medial prefrontal cortex of rats and taurine can protect it. *Acta Histochem* 120(6), 586-594 doi:10.1016/j.acthis.2018.07.004.
- Özkan, G., & Bilek, S. E. (2015). Enzyme-assisted extraction of stabilized chlorophyll from spinach. *Food chemistry* 176, 152-157.
- Phu, S. T. P. (2014). Research on the Correlation Between Chlorophyll-a and Organic Matter BOD, COD, Phosphorus, and Total Nitrogen in Stagnant Lake Basins. In *Sustainable Living with Environmental Risks* (pp. 177-191). Springer, Tokyo.
- Pino, M. T. (2018). Pimientos para la industria de alimentos e ingredientes. Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias. N°360. En: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/6647>.
- Pino, M. T. & Zamora, O. N. (2018) Colorantes naturales de alto valor, una tendencia que crece en la industria de alimentos. Revista Tierra Adentro INIA N°110. En: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/5446>.
- Rodríguez-Amaya, D. B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science* 7, 20-26.
- Rodríguez-Amaya, D. B. (2019). Update on natural food pigments-A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food research international* 124, 200-205.
- Rodríguez-Amaya, D. B. (2021). Current knowledge on the health benefits of carotenoids: Focus on the scientific evidence. In *Global Perspectives on Astaxanthin* (pp. 693-717). Academic Press.

- Serris, G.S. & Biliaderis, C.G. (2001). Degradation kinetics of beetroot pigment encapsulated in polymeric matrices. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81, 691–700.
- Solymosi, K., & Mysliwa-Kurdziel, B. (2017). Chlorophylls and their derivatives used in food industry and medicine. *Mini reviews in medicinal chemistry* 17(13), 1194–1222.
- Sreekantah, D.S., Arunasree, M.K., Roy, K.R., Reddy, T.C., Reddy, G.V. & Reddanna, P. (2007). Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. *Phytomedicine* 14, 739–746.
- Stintzing, F., Herbach, K., Moßhammer, M., Carle R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh C. & Felker, P. (2005). Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 442–451.
- Streit, N., Mérida, L. G. R., Zepka, L. Q., Lopes, E. J., & Queiroz, M. I. (2015). Producción de pigmentos naturales (clorofila-a) en biorrefinerías agroindustriales. *Revista Ciencia y Tecnología* 8(2), 27–34.
- Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A.M., Allegra, M. & Livrea, M.A. (2004). Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80, 391–395.
- Tesoriere, L., Butera, D., Allegra, M., Fazzari, M. & Livrea, M.A. (2005). Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 1266–1270.
- Torabian, G., Valtchev, P., Adil, Q., & Dehghani, F. (2019). Anti-influenza activity of elderberry (*Sambucus nigra*). *Journal of functional foods* 54, 353–360.
- Value Market Research (2021) Global Chlorophyll Extract Market Report. Link <https://www.valuemarketresearch.com/report/chlorophyll-extract-market> (último acceso noviembre 2021).

- Vergara, C., Zamora, O., Álvarez, F., Kehr, E., & Pino, M. T. (2019) Zanahoria morada: potencial materia prima para color y antioxidante en Chile. Informativo INIA La Platina. Nº38. En: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/4909> (Consultado: 13 diciembre 2021).
- Viera, I., Pérez-Gálvez, A., & Roca, M. (2019). Green natural colorants. *Molecules* 24(1), 154.
- Vojdani, A. & Vojdani, C. (2015) Immune reactivity to food coloring. *Altern Ther Health Med*, 21 (Suppl. 1), 52-62.
- Yamjala, K., M.S. Nainar & N.R. (2016) Ramiseti, Methods for analysis of dyes employed in food industry-A review. *Food Chemistry* 192, 813-824. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.085>.
- Zheng, Y., Shi, J., Pan, Z., Cheng, Y., Zhang, Y., & Li, N. (2014). Effect of heat treatment, pH, sugar concentration, and metal ion addition on green color retention in homogenized puree of Thompson seedless grape. *LWT-Food Science and Technology* 55(2), 595-603.