

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências e Tecnologias

Pigmentos Naturais de Origem Vegetal: Betalaínas

Bárbara Sofia Gomes Gonçalves

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação da Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel

2018



UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências e Tecnologias

Pigmentos Naturais de Origem Vegetal: Betalaínas

Bárbara Sofia Gomes Gonçalves

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação da Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel

2018

Pigmentos Naturais de Origem Vegetal: Betalaínas

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser o autor deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Faro, de Setembro de 2018

Copyright© 2018 Bárbara Gonçalves

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho, através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Primeiramente, um grande obrigada à minha orientadora de tese, Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel, que desde logo aceitou o meu pedido e mostrou disponibilidade para me ajudar nesta etapa da minha vida. Obrigada pelo tempo e apoio prestados.

Em seguida, quero agradecer fortemente a toda a minha família que, ao longo destes cinco anos, e de toda a minha vida, me apoiaram em qualquer decisão que tenha tomado e me incentivaram a lutar pelos meus objetivos. Ao meu pai, que apesar de fisicamente ausente, me acompanhou sempre em pensamento, financeiramente, emocionalmente. À minha mãe, que me mandou parar de estudar muitas vezes e sempre me manteve calma relativamente às adversidades. Ao meu irmão, primo-irmão, sobrinha e tios que, de forma consciente ou não, me distraíam do stress universitário em momentos complicados e me fizeram aprender a “desligar” do trabalho e a descentralizar a minha atenção dos estudos, quando oportuno.

A todos os meus colegas de turma, de curso. Especialmente aos verdadeiros amigos que ainda hoje e para sempre hei de recordar com grande carinho. A eles – e eles sabem quem são – um obrigada do fundo do coração. Inclusive às minhas afilhadas, que me deram a oportunidade e depositaram a confiança delas em mim, uma estranha que conheciam à uma semana, mas tão feliz me fizeram.

Por último, mas não menos importante, ao meu namorado, que acompanhou esta minha viagem – quase desde o início - sempre com muito orgulho e aturou muitas quedas, faltas de confiança, inseguranças, medos e muitas lágrimas. Um amigo, um irmão, um companheiro de todas as horas. Definitivamente, uma estrutura familiar, social, amorosa são a base para o sucesso pessoal, e profissional, de qualquer pessoa. E foi ele, de nome Daniel Santos, que me fortaleceu e deu as armas para que pudesse, de forma independente, encontrar o meu caminho. Um obrigada muito especial.

Aos meus, um amo-te.

Resumo

Os compostos de origem vegetal que são percebidos pelos seres humanos como tendo cor, são referidos como “pigmentos”. As indústrias agro-alimentar e farmacêutica recorrem aos corantes de modo a tornar alimentos e fármacos mais apelativos ao consumidor.

Os pigmentos principais de origem vegetal pertencem a várias classes de compostos, incluindo as **antocianinas**, os **carotenoides** e as **betalaínas**, sendo esta última classe de pigmentos o objeto de estudo da presente monografia.

As betalaínas (termo introduzido por Mabry e Dreiding) são pigmentos que apresentam uma coloração amarelo alaranjado e/ou vermelho/violeta, encontrados num número limitado de espécies vegetais da ordem *Caryophyllales*. São derivados do aminoácido tirosina e são solúveis em água. Mais de setenta betalaínas de ocorrência natural foram já identificadas e estão divididas em dois grupos, as **betacianinas** (apresentando cor vermelho/violeta e com um máximo de absorção de 535-538 nm) que se ramificam em quatro grupos, betanina, gonferina, amarantina e bunganvília; e as **betaxantinas** (de cor amarela).

As betalaínas ocorrem principalmente na bunganvília, beterraba, pitaia, acelga e no figo-da-Índia ou figo-de-pita. Às betalaínas têm sido atribuídas as seguintes propriedades: antioxidante, antiproliferativo, cardioprotetor, antimicrobiano, anticancerígeno (propriedade encontrada, por exemplo, no sumo da beterraba), hipolipemiante, antidiabético, hepatoprotetor, anti-inflamatório, entre outras.

O presente trabalho foca-se nas propriedades biológicas das betalaínas de origem vegetal avaliadas quer *in vitro* quer *in vivo*, de forma a orientar esta informação para uma possível utilização deste pigmento enquanto corante natural e suplemento para a saúde humana, em várias patologias, de forma preventiva ou adjuvante de certos tratamentos.

Palavras-chave: Pigmento, Antioxidante, Betacianinas, Betaxantinas, Beterraba, Figo-de-pita.

Abstract

Compounds of vegetable origin that are perceived by humans as having color are referred to as "pigments". The agri-food and pharmaceutical industries use dyes to make food and pharmaceuticals more appealing to consumers.

The main pigments of vegetable origin belong to several classes of compounds, including anthocyanins, carotenoids and betalains, this last one being the object of study of this monograph.

The betalains (term introduced by Mabry and Dreiding) are pigments that present a yellow and/or red/violet color, and are found in a limited number of plant species of the *Caryophyllales* order. They are derived from the aminoacid tyrosine and are soluble in water. More than seventy betalains of natural occurrence have been identified and are divided into two groups, betacyanins (having a red/violet colour and a maximum absorption of 535-538 nm) which branch into four groups, bethanin, gonferin, amaranthine and bunganville; and betaxanthines (yellow in color).

The betalains occur mainly in bougainvillea, beet, dragon fruit, chard and in the Indian fig or barbary fig. Betalains have been assigned the following properties: antioxidant, antiproliferative, cardioprotective, antimicrobial, anticancer (property found, for example, in beet juice), lipid-lowering, antidiabetic, hepatoprotective, anti-inflammatory, among others.

The present work focuses on the biological properties of the betalains of vegetable origin evaluated both in vitro and in vivo, in order to guide this information for a possible use of this pigment as a natural dye and a supplement for human health, in various pathologies, in a preventive or adjuvant way of certain treatments.

Key words: Pigment, Antioxidant, Betacyanins, Betaxanthins, Beetroot, Prickly pear.

Índice

Agradecimentos	4
Resumo	5
Índice.....	7
Índice de Figuras.....	8
Índice de Tabelas	10
1. Introdução.....	11
2. História dos Corantes Naturais.....	14
3. Caracterização química e estabilidade	16
4. Biossíntese.....	23
5. Exemplos de espécies vegetais onde se podem encontrar betalaínas.....	26
6. Atividades Biológicas.....	31
O caso da beterraba (<i>Beta vulgaris</i> L.)	34
7. Aplicações	39
8. Segurança e toxicidade	42
9. Conclusão	43
10. Perspetivas futuras.....	46
11. Referências Bibliográficas.....	47

Índice de Figuras

Figura 1 - Fórmula geral da betalaína: A - Porção de ácido betalâmico, presente em todas as moléculas; B – Estrutura variável representativa da betacianina ou betaxantina, dependendo dos resíduos R1 e R2.	16
Figura 2 - Estruturas químicas de betaxantinas e betacianinas.	17
Figura 3 - Representação estrutural da molécula ciclo-DOPA.	18
Figura 4 – Gráfico do espectro representativo da Absorvância dos extratos de betalaínas de figos de pita vs comprimento de onde (nm); Linha preenchida: Fruto de cor vermelho/violeta, com dois picos, um a 484 nm (betaxantina) e outro a 533 nm (betacianinas); Linha tracejado: Fruto de cor amarela com apenas um pico a 483 nm (betaxantina).	22
Figura 5 - Betanidina glicosidada nas posições 5'O e 6'O: Molécula central – Betanidina glicosilada na posição 5'O formando betanina; Molécula mais à direita – Betanidina glicosilada na posição 6'O formando gonferina.	24
Figura 6 - Esquemática da biossíntese do pigmento betalaína e várias classes do mesmo.	25
Figura 7 – Fruto da planta <i>Opuntia ficus-indica</i> ; A: Representação do fruto inteiro, casca; B: Representação da polpa do fruto.	27
Figura 8 - Planta de <i>Opuntia ficus-indica</i> .	27
Figura 9 - Beterraba. A: Beterraba inteira; B: Beterraba cortada ao meio.	28
Figura 10 - <i>Gomphrena globosa</i> L.conhecida como perpétua roxa.	28
Figura 11 – Estrutura química da betacianidina (betacianina acilada em C6).	29

Figura 12 - Bagas de *Phytolacca decandra* (conhecida como a erva daninha). **30**

Figura 13 – Esquema representando os constituintes fitoquímicos da beterraba **34**
como principal fonte de betalaínas.

Figura 14 – Cascata de inflamação e locais de atuação da betalaína. **37**

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Propriedades biológicas das betalaínas e suas fontes.	38
Tabela 2 - Fontes de betalaínas na alimentação, código do aditivo alimentar/corante e possíveis aplicações.	39

1. Introdução

A utilização de corantes e pigmentos pela humanidade é bastante antiga. O Homem utiliza as cores há mais de vinte mil anos. Historicamente sabe-se que os caçadores do Período Glacial pintavam as paredes das cavernas registando as suas atividades quotidianas, obras que ainda hoje existem. Essas pinturas eram feitas com tintas constituídas por fuligem e ocre, terras ou argilas suspensas em água, sangue de animais caçados, ou sumo de frutos, bagas e plantas esmagados, ou seja, com pigmentos naturais, alguns de origem vegetal.⁽¹⁾

Cada vez mais a sociedade em que vivemos incute-nos certas atitudes, comportamentos e formas de pensar, sejam estes de forma consciente ou não. A pressão que é exercida nas pessoas para que estejam sempre na “moda” faz com que tenha de haver um processo evolutivo e de constante adaptação por parte das indústrias às exigências do mercado. Acresce o facto da crescente preocupação pelos alimentos ditos “biológicos”, naturais, já que estes são percebidos pela mente humana como sendo alimentos de maior e melhor qualidade, seguros e saudáveis. Isto inclui, naturalmente, o uso de corantes e pigmentos naturais, em detrimento dos sintéticos, uma vez que estes provocam malefícios na saúde humana.⁽²⁾

Uma vez que nos encontramos numa sociedade mais consciente e informada, a mesma tem vindo a mostrar que se questiona sobre aquilo que lhe é dito ou apresentado, não acreditando na verdade absoluta sem antes perceber os prós e contras. Atualmente, o consumo de alimentos é muito mais do que o mastigar e o deglutir. Há um processo que se precede que é tão ou mais importante, o chamado “comer com os olhos”. Este é o primeiro passo que faz com que um indivíduo escolha um determinado alimento em detrimento de outro. O aspeto visual, particularmente a cor que esses apresentam é fundamental para o sucesso das vendas de muitos alimentos. Desta forma, felizmente, as pessoas parecem procurar de forma crescente alimentos que contenham corantes naturais ao invés dos sintéticos. Esta reviravolta aconteceu devido a reações alérgicas e intolerâncias que pessoas presenciaram com o consumo destes pigmentos sintéticos.⁽³⁾

O ser humano reconhece a cor ao perceber a luz refletida ou transmitida de comprimentos de onda entre 380 e 730 nm.⁽⁴⁾ Os pigmentos estão presentes em toda a matéria viva e a sua cor produzida é resultado de uma estrutura particular da molécula,

ao qual se designa de cromóforo. Essa estrutura absorve energia, havendo excitação de um elétron de uma orbital externa para uma outra de energia superior. Posteriormente, a energia que não foi absorvida é refletida e/ou refratada para ser capturada pelo olho humano. Finalmente, os impulsos nervosos gerados são transmitidos para o cérebro onde são interpretados como uma cor. Pigmentos naturais e sintéticos são compostos orgânicos.⁽⁵⁾

Segundo Tanaka et al.⁽⁴⁾ os compostos de origem vegetal que são percebidos pelos seres humanos como tendo cor, são referidos como “pigmentos”. É a cor que faz, por exemplo, um indivíduo querer comer determinados alimentos em detrimento de outros.^(4, 6, 7)

Visualmente, a cor de um determinado alimento é um fator importante que nos indica que o mesmo tem, ou não, qualidade. Desta forma, uma vez que nem sempre os alimentos chegam aos olhos dos consumidores com a aparência desejada, as indústrias utilizam corantes, artificiais ou naturais, para alcançar a cor pretendida dos mesmos. Apesar dos consumidores preferirem atualmente pigmentos naturais por serem considerados mais saudáveis, estes apresentam muitas limitações ou desvantagens face aos sintéticos, tais como o seu custo e a sua estabilidade. Por estas razões, nem sempre são usados estes corantes, apesar de que, os sintéticos permitidos pelas entidades competentes foram reduzidos de setecentos para apenas sete até ao início do século XXI.⁽⁷⁾

Os pigmentos principais de origem vegetal têm diversas estruturas químicas e que incluem as **antocianinas** (classe de flavonoides, apresentando as cores laranja, vermelho, violeta e azul), os **carotenoides** (subclasse de terpenos, com cores entre amarelo a vermelho), as **clorofilas** e as **betalaínas**, sendo esta última classe de pigmentos o objeto de estudo da presente monografia.^(4, 8)

Os corantes alimentares podem ser classificados em quatro categorias, os corantes sintéticos, os idênticos à natureza, os inorgânicos e os naturais. Corantes sintéticos são produzidos pelo ser humano e não existem na natureza. Corantes idênticos aos da natureza são pigmentos produzidos pelo ser humano mas que existem também na natureza. Corantes inorgânicos incluem o dióxido de titânio, ouro, entre outros. Corantes naturais são obtidos a partir de organismos vivos, na maioria das vezes, são extraídos de material vegetal. Outras fontes naturais incluem insetos, algas,

cianobactérias e fungos, mas utilizadas com menor frequência. Estes são extraídos e concentrados usando, normalmente, água para pigmentos hidrofílicos ou álcoois e outros solventes orgânicos para pigmentos lipofílicos.⁽⁹⁾

A legislação baliza quais os corantes permitidos para consumo e utilização, quais as fontes a partir das quais se podem extrair, que solventes podem ser usados para a extração e qual a pureza admitida para o pigmento.⁽⁹⁾

Com a presente monografia pretende-se fazer uma revisão breve sobre a bioquímica, propriedades biológicas, principais fontes naturais e aplicações das betalaínas nas indústrias alimentar e farmacêutica.

2. História dos Corantes Naturais

A utilização de corantes e pigmentos pela humanidade é bastante antiga. O Homem utiliza as cores há mais de vinte mil anos. O primeiro corante a ser descoberto pela humanidade foi o negro-de-fumo (*carbon black*) contudo o mais antigo registo escrito do uso de corantes naturais foi encontrado na China datado de 2600 a.C.^(1,9)

Históricamente sabe-se que os caçadores do Período Glacial pintavam as paredes das cavernas reservadas ao culto registando as suas atividades do quotidiano, obras que ainda hoje existem. Essas pinturas eram feitas com tintas constituídas por fuligem e ocre, terras ou argilas suspensas em água, sangue de animais caçados, ou sumo de frutos, bagas e plantas esmagados, ou seja, com pigmentos naturais, alguns de origem vegetal.⁽¹⁾

Na Europa, a arte do tingir tecidos, comida ou outros materiais já era realizado durante a Idade do Bronze; no continente Indiano no Período do Vale do Indo (2500 a.C.), onde foram descobertas roupas, tecidos e ruínas da civilização de Mohenjodaro e Harappa (3500 a.C.) tingidas com os corantes vermelhos extraídos das raízes da planta *Rubia tinctorium* L., como a purpurina e a alizarina.⁽⁹⁾

No Egito, algumas múmias foram encontradas cobertas por tecido colorido e testes químicos de tecidos vermelhos encontrados na tumba do rei Tutancâmon, mostraram a presença de alizarina.⁽⁹⁾

O corante de cochonilha foi usado no período da cultura asteca e maia da América Central e do Norte. No século 4 d.C., corantes como tinta azul extraída da espécie vegetal pastel-dos-tintureiros, vermelho extraído das raízes da espécie ruivados-tintureiros ou do tronco do pau-brasil, tinta amarela extraída do lírio-dos-tintureiros, índigo e um roxo escuro avermelhado eram muito conhecidos e utilizados. A hena foi usada antes de 2500 a.C. e o açafrão é mencionado na Bíblia.⁽⁹⁾ A utilização de corantes naturais em alimentos é descrita no texto shosoin do período Nara (século 8), no Japão, onde são referenciadas a soja colorida e bolos de feijão azuki.⁽⁹⁾ Na época do Renascimento os corantes naturais foram fortemente utilizados no processo de coloração de roupas.⁽¹⁰⁾

Originalmente, as betalaínas foram chamadas de *caryophyllinenroth*, depois por *rübenrothe* (que em português significa beterraba vermelha) e *chromoalkaloids* (que

significa cromo-alcalóides, ou seja, alcalóides com cor, uma vez que na altura eram considerados pertencer a esta classe de compostos, e funcionam como pigmentos naturais). O termo usado atualmente, betalaínas, foi introduzido por Mabry e Dreiding.⁽⁶⁾

Atualmente, os corantes sintéticos permitidos pelas entidades competentes foram reduzidos de centenas para apenas sete até ao início do século XXI.⁽⁷⁾

3. Caracterização química e estabilidade

As betalaínas são pigmentos que apresentam uma coloração amarelo alaranjado e/ou vermelho/violeta, encontrados num número limitado de espécies vegetais da ordem *Caryophyllales*. Estes pigmentos encontram-se armazenados nos vacúolos das células. São derivados do aminoácido tirosina, são solúveis em água e relativamente estáveis em vários valores de pH.^(4, 6, 7, 11, 12)

Estes pigmentos não pertencem ao grupo dos alcaloides uma vez que são de natureza ácida devido à presença de vários grupos carboxílicos.⁽⁶⁾

A estrutura geral das betalaínas está representada na Figura 1.

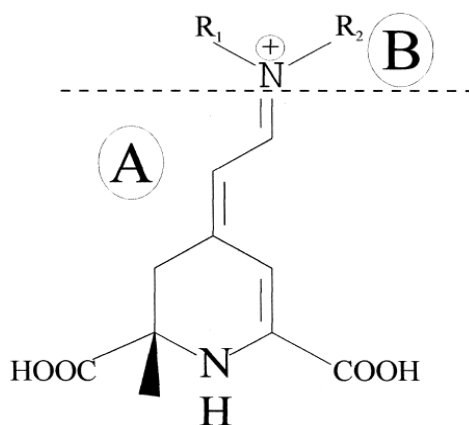


Figura 1 - Fórmula geral da betalaína: A - Porção de ácido betalâmico, presente em todas as moléculas; B - Estrutura variável representativa da betacianina ou betaxantina, dependendo dos resíduos R1 e R2.⁽⁶⁾

Mais de setenta betalaínas de ocorrência natural são bem conhecidas, e todas elas têm a mesma estrutura básica (em que R1 e R2 podem ser hidrogénio ou um substituinte aromático) (Figura 1). Todavia, as betalaínas são divididas em dois grupos com diferenças estruturais, as **betacianinas** (apresentando cor vermelho/violeta e com um máximo de absorção de 535-538 nm) que se ramificam em quatro grupos, betanina, gonfrerina, amarantina e boungavilia; e as **betaxantinas** (de cor amarela).⁽⁶⁾

Dentro das betalaínas conhecidas, existem cerca de cinquenta estruturas de betacianinas e vinte de betaxantinas.⁽¹³⁾

A alteração dos grupos variáveis que constituem o pigmento (R1 e R2) ocorre em função das diferentes fontes de onde podem ser obtidos esses pigmentos e, conseqüentemente, determinam a sua tonalidade e estabilidade.^(12, 14)

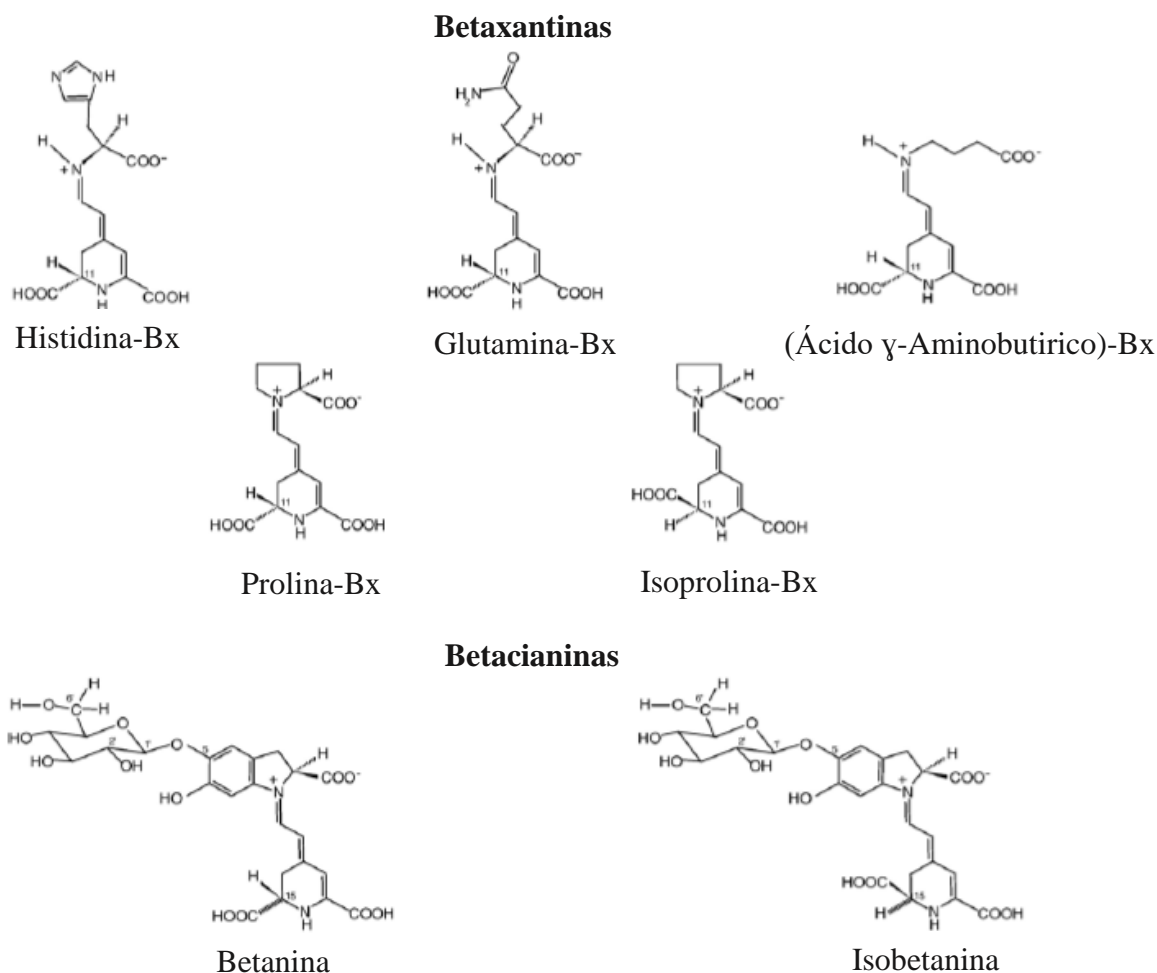


Figura 2 - Estruturas químicas de betaxantinas e betacianinas (Adaptado de [15], tradução da autora)

Na Figura 2 é possível observar as várias **betaxantinas** que têm como grupos variáveis (R) um átomo de hidrogénio e um aminoácido ou uma amina. Adicionalmente estão ilustradas duas **betacianinas**, a betanina e a isobetanina.

As betaláinas são derivados imónio do ácido betalâmico. A condensação desta estrutura com aminas e/ou seus derivados origina as betaxantinas, de cor amarela. A betaxantina tem uma mesma fração dihidropiridina, mas mostra conjugação com várias aminas e aminoácidos.⁽⁶⁾ Às betaxantinas podem ligar-se uma ampla gama de aminas, como por exemplo a glutamina, e aminoácidos, como por exemplo a histidina. A

condensação do ácido betalâmico com *ciclo*-dopa (Figura 3) ou com os seus derivados glucosilados origina as betacianinas, de cor violeta.⁽¹⁶⁾ As estruturas das betacianinas podem ainda ser aciladas.⁽⁶⁾

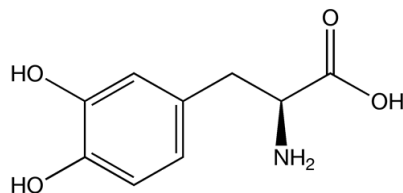


Figura 3 - Representação estrutural da molécula *ciclo*-dopa.

Ainda analisando a estrutura da Figura 3, no anel aromático que tem dois grupos hidroxilo (OH) pode haver substituição de um desses grupos por uma molécula de glicose, originando a estrutura *ciclo*-dopa glicosilada que depois irá ligar-se à estrutura base, o ácido betalâmico, originando a betanina, como representado na Figura 2.

Relativamente à designação das principais classes de betacianinas esta encontra-se bem definida e são, normalmente, atribuídas de acordo com o género botânico onde são encontradas pela primeira vez.⁽⁶⁾

As betalaínas podem ser encontradas em vários tecidos vegetais (folhas, caule, frutas, flores, raízes e sementes), como também em determinados fungos tais como *Amanita*, *Hygrocybe* e *Hygrosporus*, que absorvem radiação visível na faixa de 476-600 nm com um máximo de 537 nm.^(6, 7, 11) A principal fonte de betanina como agente corante é a raiz da beterraba vermelha (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*).⁽¹⁷⁾

Na estabilidade das betalaínas, há fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam a mesma, sendo que todos eles têm de ser considerados para que durante a extração dos pigmentos, haja uma otimização da mesma. Estes fatores passam pela **estrutura e composição**, em que as betacianinas têm sido descritas como mais estáveis que as betaxantinas; **pH**, em que as betalaínas resistem melhor à clivagem hidrolítica, comparativamente às antocianinas, apesar da estabilidade das betalaínas alterar com mudanças de pH (betalaínas são estáveis entre o pH 3-7). A vantagem das betalaínas é que as cores não dependem do pH e são mais estáveis que as das antocianinas naquele intervalo de pH; **oxigénio** uma vez que as betalaínas reagem com oxigénio molecular e, portanto, o armazenamento de soluções de betanina é realizado sob baixos níveis de

oxigénio levando a uma diminuição da degradação do pigmento; **luz; iões metálicos** (Fe^{3+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Cu^+ , Sn^{2+} , Al^{3+} , Hg^{2+} , Cr^{3+}) sendo que alguns aceleram a degradação/oxidação do pigmento havendo perda de cor do mesmo^(16,18); **temperatura** (fator mais importante na estabilidade da betalaína, durante o processamento e armazenamento da mesma; estabilidade do pigmento diminui com o aumento da temperatura).^(4, 7, 8, 16, 19-21)

Uma vez que o desuso de pigmentos sintéticos fez aumentar a procura pelos pigmentos naturais, o seu estudo tem mostrado ser relevante para que a sua utilização seja mais eficaz. Partindo da premissa que os pigmentos naturais são instáveis, surge então um conceito designado de **microencapsulação**, processo no qual um composto ativo (que neste caso é o pigmento natural) é coberto por um revestimento ou cápsula da dimensão do micrómetro e é libertado de forma controlada, ou seja, aquando um estímulo, tal como a temperatura ou o pH, que permite garantir uma maior estabilidade ao pigmento, mais precisamente as betalaínas.

As vantagens da microencapsulação são variadas, passando pela proteção do pigmento à degradação, diminuição da taxa de transferência do pigmento para o ambiente externo, modificação das propriedades físicas, libertação controlada do pigmento da microcápsula, diluição do pigmento, separação dos pigmentos uns dos outros e evitar as reações ou interações desvantajosas entre eles ou entre outros compostos. Para além disso, o baixo custo e eficiência do processo de microencapsulação, faz com que a técnica de secagem por pulverização seja o método mais usado para encapsular corantes naturais. Uma vez que as betalaínas são solúveis em água, a secagem por pulverização de soluções aquosas é muito utilizado para encapsular betalaínas. Em contrapartida considera-se o facto de que a maioria dos estudos direccionados para o uso de microencapsulação apenas analisaram a estabilidade das microcápsulas, não avaliando a mesma quando estas são introduzidas nos alimentos. Como exemplo desta desvantagem associada à técnica, as microcápsulas secas por pulverização perdem o seu efeito protetor quando incorporadas em alimentos aquosos devido aos materiais da parede serem solúveis em água.⁽⁸⁾

A instabilidade do pigmento em estudo passa pela degradação do mesmo quando a temperatura é superior a 50 °C, problema este que incapacita-o de ser utilizado como corante alimentar, por exemplo. Em contrapartida, estudos mostram que a adição de ácido ascórbico à betanina a pH 3,8 ou ácido *metafosfórico* ou ácido glucónico a pH 6,2

umenta a regeneração destes pigmentos de betanina que se encontravam térmicamente degradados. Adicionalmente, a betanina nas formas de sumo de beterraba vermelha e puré de beterraba vermelha mostraram melhor estabilidade térmica que a betanina em solução tampão indicando haver um efeito matriz protetor.⁽⁸⁾

A instabilidade destes corantes naturais origina prazos de validade bastante mais curtos, a menos que a estabilidade seja melhorada, como abordado anteriormente.⁽⁸⁾

Relativamente aos valores de pH, quando compreendidos no intervalo entre 3-7 não afetam a cor das betacianinas, de uma forma geral. Abaixo do pH 3, a cor da betanina altera para violeta e acima de pH 7 a cor passa para azul. Acima de pH 10 a betanina é degradada originando como produto o ácido betalâmico amarelo e *ciclodopa-5-O-glicosídeo* incolor sendo que essa reação é reversível e o pigmento pode ser parcialmente regenerado pelo aquecimento moderado a pH ótimo de 4-5.⁽⁸⁾

A extração de betalaínas dos tecidos das plantas de onde são originários ou de culturas de células é realizada utilizando como solvente metanol/água, no entanto, a adição de ácido ascórbico (cerca de 50 mM) no meio de extração é recomendada, levando a um pH ligeiramente ácido, que estabiliza as betacianinas e inibe possíveis oxidações.⁽¹⁷⁾

As plantas ou frutos contendo o pigmento betalaína são obtidos através de um processo de extração (geralmente maceração), em que, numa primeira fase essas plantas ou frutos são macerados, depois de previamente moídos, num solvente como a água, o metanol ou o etanol. Por fim, pode haver inativação enzimática através de tratamento térmico do extrato, para evitar a degradação enzimática da betalaína e a fermentação dos extratos. Os tratamentos de campo elétrico pulsado aumentam a permeabilidade celular dos tecidos, aumentando a eficiência de extração de betalaína.⁽⁷⁾

Existem outros métodos de extração, mas que são muito menos usados e que têm sido estudados numa tentativa de encontrar processos mais rápidos, que permitam obter maior rendimento e com menor risco de instabilidade do pigmento: campos elétricos pulsados (PEP ou "*pulse electric process*"), em que são induzidos danos nos tecidos da amostra ou permeabilização da mesma, resultando na libertação dos pigmentos; microondas; microondas associado a tratamento enzimático; técnica aquosa de 2 fases; γ -radiação; tratamento enzimático; entre outros.^(12, 22-31)

Um exemplo de uma extração por maceração água:metanol (80:20, v/v) contendo 0,5% de ácido trifluoroacético (TFA) é a que os autores em ⁽³²⁾ descreveram para obter dos extratos de *Gomphrena globosa* L. as seguintes betalaínas: seis derivados de betacianidinas, dos quais duas gonfreninas II, uma gonfrenina III, *isogomfreninas* II e III e 17-descarboxi-amarantina, pigmentos pertencentes ao tipo (*iso*)gonfrenina (betanidina/isobetanidina substituída em C6), diferindo das betacianidinas tipo -betanina (betanidina/ *isobetanidina* substituído em C5).⁽³²⁾

A cor dos figos de pita, fruto onde o pigmento se pode extrair, depende da concentração relativa de betacianinas (pigmentos vermelhos que têm absorvância máxima no comprimento de onda 535 nm) e betaxantinas (pigmentos amarelos que têm absorvância máxima no comprimento de onda 480 nm). Desta forma, a panóplia de cores pode passar por vermelho, laranja, amarelo, verde e roxo.^(3, 15)

Os teores de betalaínas e a sua estabilidade nos figos de pita originários de Alhama, Múrcia, situada em Espanha foram determinados pelos autores ⁽³⁾ recorrendo à cromatografia líquida de alta “*performance*” (HPLC) com deteção de fotodiodo. Os resultados deste estudo originaram o espectro representado na Figura 4, em que os frutos de cor vermelho/violeta apresentam dois picos, um a 484 nm (absorvância das betaxantinas) e outro a 533 nm (absorvância das betacianinas), enquanto que o espectro de frutos amarelos tem apenas um máximo de absorção a 483 nm. A ausência de um pico a 533 nm pode indicar que nestas frutas as betacianinas podem ser encontradas em valores muito reduzidos e espectrofotometricamente é difícil distingui-las das betaxantinas, que estão presentes numa concentração muito maior.⁽³⁾

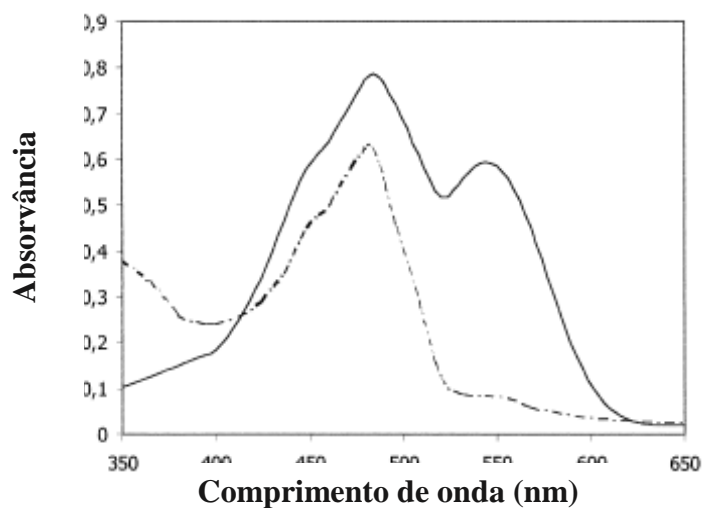


Figura 4 – Espectro representativo da Absorvância dos extratos de betalaínas de figos de pita vs comprimento de onda (nm); Linha preenchida: Fruto de cor vermelho/violeta, com dois picos, um a 484 nm (betaxantina) e outro a 533 nm (betacianinas); Linha tracejada: Fruto de cor amarela com apenas um pico a 483 nm (betaxantina) (Adaptado de [3], tradução da autora)

4. Biossíntese

Sabe-se que, atualmente, nenhuma planta tem, conjuntamente, betalaínas e antocianinas (outra classe de pigmentos), não havendo uma base molecular que explique, de forma clara, esta situação. Desta forma diz-se que estes pigmentos são mutuamente exclusivos, em qualquer que seja a planta, relativamente às vias biossintéticas destas duas classes de pigmentos.^(7, 8, 11)

A antocianina sintase (ANS) é a única enzima “ausente” em plantas que contêm betalaína. Uma possibilidade que explica este facto é que os pigmentos de antocianina e betalaína tenham coexistido em espécies de plantas ancestrais e que um dos dois pigmentos tenha sido seletivamente perdido devido a funções de pigmentação redundantes similares. Alternativamente, a via biossintética da betaína poderia ter sido adquirida de forma independente e mais recentemente nos fungos e plantas, o que pode ter sido uma potencial vantagem que tornou inútil a presença das antocianinas, resultando na exclusão observada de ambos os pigmentos em *Caryophyllales*.⁽³⁴⁾

A formação das betaxantinas, de cor amarela, ocorre através do processo de condensação de ácido betalâmico com aminoácidos (por exemplo, serina, valina, leucina, isoleucina e fenilalanina), derivados de aminoácidos (por exemplo, 3-metoxitiramina) ou outras aminas, em detrimento de *ciclo-dopa* ou derivados do mesmo.^(11, 16, 34)

Na biossíntese das betalaínas está envolvido o aminoácido aromático proveniente da via do chiquimato, a **tirosina**, sendo este hidroxilado formando o composto 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina (L-dopa). Este segundo composto é convertido em ácido betalâmico, a partir do qual são originadas todas as betalaínas, numa reação iniciada pela enzima dopa-4,5-dioxigenase.⁽¹¹⁾

O ácido betalâmico pode também condensar com derivados de *ciclo-dopa* - quando a L-dopa é oxidada e ciclizada para *ciclo-dopa* -, ou com aminoácidos ou aminas, originando ambos os pigmentos de cor vermelho/violeta e amarelo e formando o precursor de betacianina, betanidina.⁽¹¹⁾

Seguidamente, a betanidina é glucosilada nas posições 5'O ou 6'O, para formar betanina ou gonfrerina, respetivamente que, por sua vez, podem passar por reações de

glicosilação e acilação, originado derivados de betacianina.^(7, 11) Estas betaninas glicosiladas estão representadas na Figura 5.

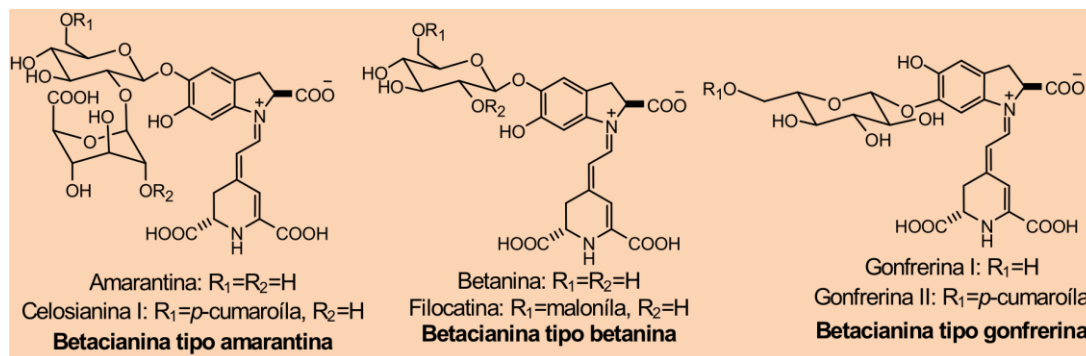


Figura 5 – Betanidina glicosidada nas posições 5'O e 6'O: Molécula central – Betanidina glicosilada na posição 5'O formando betanina; Molécula mais à direita – Betanidina glicosilada na posição 6'O formando gonferina

A betacianina mais comum é a betanina, betanidina-5-O- β -glucosídeo, representada na Figura 5, o principal pigmento das **beterrabas vermelhas**. As cores vermelhas e violetas resultam de diferentes padrões de substituição de betacianinas.⁽⁷⁾

Na Figura 6 está esquematizada a biossíntese do pigmento betanidina e 3-metoxitiramina-betaxantina.

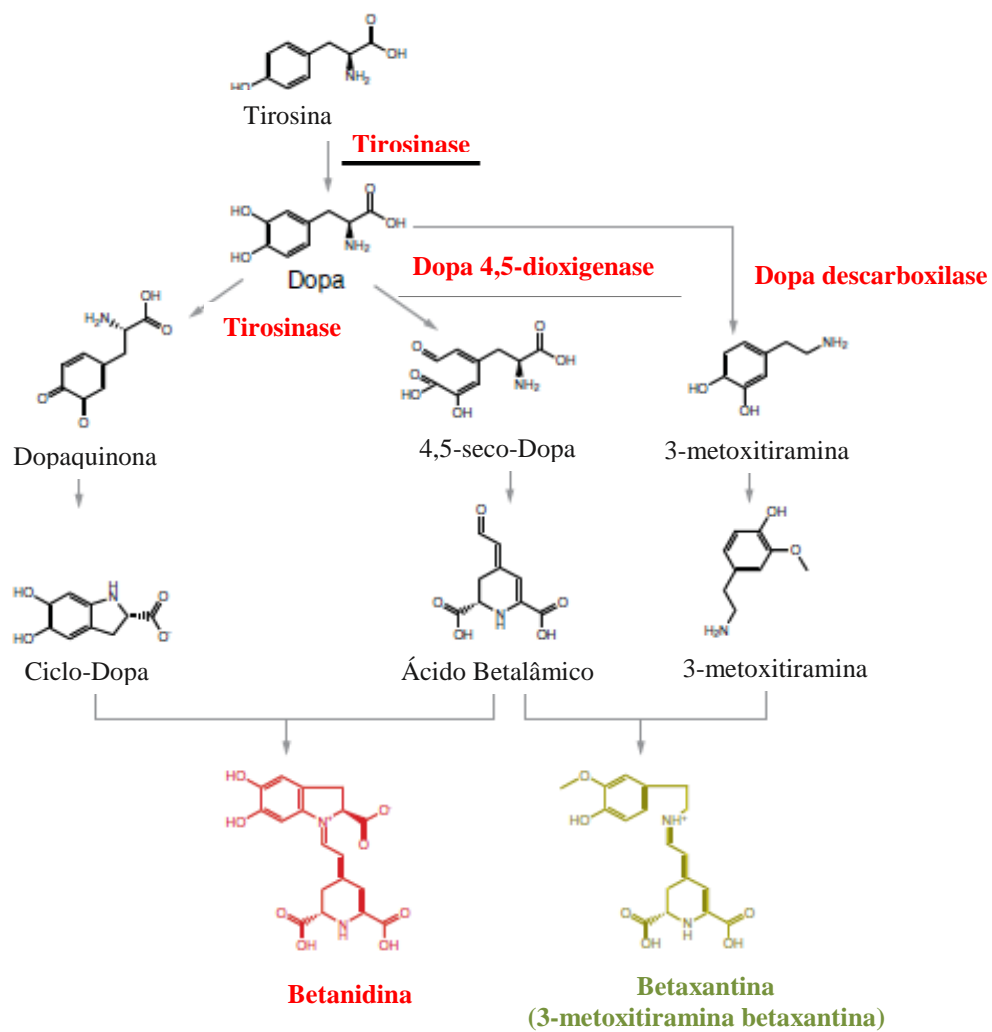


Figura 6 - Esquemática da biossíntese do pigmento betalaina e várias classes do mesmo (Adaptado de [34], tradução da autora).

5. Exemplos de espécies vegetais ricas em betalaínas

As betalaínas podem ser encontradas em 13 famílias da ordem Caryophyllales assim como em alguns géneros de fungos superiores (*Amanita muscaria*, *Hygrocybe* e *Hygrophorus*). Na família Amaranthaceae, as betalaínas ocorrem em espécies dos géneros *Alternanthera*, *Amaranthus*, *Beta*, *Chenopodium*, *Celosia* e *Gomphrena*. As betalaínas estão dissolvidas dentro de vacúolos como *bis*-aniões.^(16, 36)

Em termos ecológicos, as betalaínas são importantes na atração de polinizadores e frugívoros para fertilização e dispersão de sementes uma vez que se encontram nas plantas e apresentam cores atrativas. As betalaínas têm sido usadas como suplemento dietético, na indústria alimentar (sobremesas, produtos lácteos e carnes) e têxtil como corante natural, biossensor químico, entre outras aplicações.^(2, 7, 11)

Vários fatores afetam a acumulação de betalaínas em plantas (genéticos, forma de cultivo, partes da planta, estado de maturação, salinidade, stress oxidativo, luz, concentração de micronutrientes, insetos, seca, temperatura e tipos de práticas agrícolas).⁽²⁾

Exemplos de espécies vegetais mais usadas onde se podem encontrar as betalaínas incluem a beterraba e o figo da Índia ou figo de pita.^(7, 11)

Em diferentes países são atribuídas denominações comuns diferentes a *Opuntia ficus indica*. Em Portugal é conhecida como Figo da Índia, Figueira da Índia, Piteira ou Figo do Diabo.⁽¹⁵⁾

A planta *Opuntia ficus-indica* é originária das altas montanhas vulcânicas do México (maior produtor mundial seguida da Itália). Esta planta foi trazida para a Europa, África e Médio Oriente, mostrando ser uma planta com elevada capacidade de adaptação para os climas áridos e semiáridos nas regiões tropicais e subtropicais. Este fruto é facilmente consumido pelas pessoas por ter um aspeto e sabor agradáveis (apesar de quase nulo). O fruto é colhido entre Julho e Outubro, quando estão maduros.^(15, 37) As principais betalaínas identificadas em frutos de figo da Índia de origem portuguesa foram asparagina-betaxantina, ácido aspártico-betaxantina, prolina-betaxantina, betanina, isobetanina, gonfrenina I, neobetanidina 5-O-(6'-Omalonil)- β -glucosido, descarboxilado, entre outros.⁽³⁸⁾ Através das Figuras 7 e 8 é possível observar a forma de um figo de pita, este de cor laranja, assim como a planta de onde o fruto é originado.

A composição da polpa dos figos da índia – além de ser uma fonte de compostos bioativos, vitaminas e fibra e com um grande poder antioxidante - é maioritariamente água e açúcares e das sementes é sobretudo fibra e proteína. Adicionalmente, é uma fonte de minerais como o potássio, cálcio, magnésio, sódio e fósforo e também de vitaminas como a vitamina E e a vitamina C.^(39, 40)

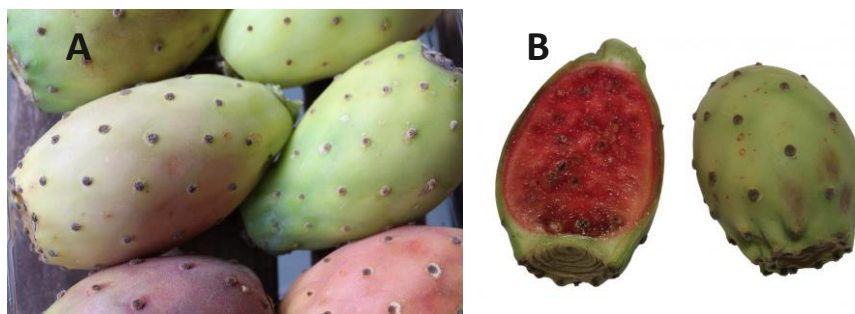


Figura 7 - Fruto da planta *Opuntia ficus-indica*; A: Representação do fruto inteiro, casca; B: Representação da polpa do fruto



Figura 8 - Planta de *Opuntia ficus-indica*

Adicionalmente, as betalaínas encontram-se também na beterraba (Figura 9) (*Beta vulgaris*) na forma de betacianinas (particularmente betanina), dando portanto a cor roxa tão característica do alimento.⁽³⁾ Na beterraba vermelha sabe-se que é na raiz onde se encontram as maiores quantidades de betanina.⁽⁸⁾



Figura 9 – *Beterraba*. A: *Beterraba inteira*; B: *Beterraba cortada ao meio*

Gomphrena globosa L. é uma espécie da família Amaranthaceae proveniente da América Latina conhecida por perpétua roxa (Figura 10), possuindo na sua composição uma grande variedade de compostos com atividade biológica, tal como as betalaínas que possuem uma capacidade corante três vezes superior à das antocianinas, estas últimas são frequentemente utilizadas na indústria.^(32, 41)

Num estudo realizando uma análise por cromatografia líquida de alta eficiência identificaram-se seis derivados de betacianidinas, dos quais duas eram gonfreninas II, uma de gonfrenina III, isogonfreninas II e III e 17-descarboxi-amarantina, sendo que estes pigmentos pertencem ao tipo isogonfrenina (betanidina/isobetanidina substituída em C6), como podemos analisar na Figura 11.^(32, 42)



Figura 10 - *Gomphrena globosa* L.conhecida como perpétua roxa

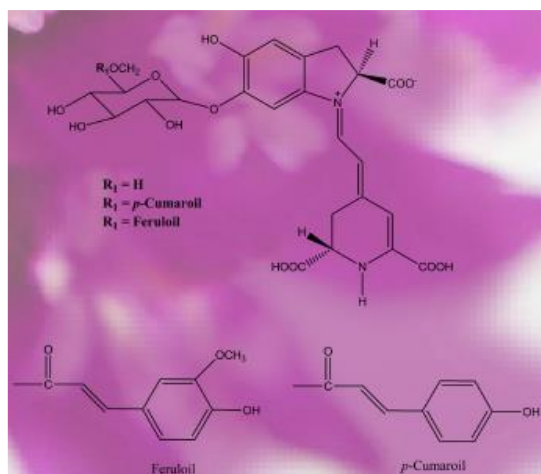


Figura 11 – Estrutura química da betacianidina (betacianina acilada em C6)⁽⁴²⁾

Uma das fontes de betalaína que poderiam ser prometedoras, as bagas de *Phytolacca americana* L. (conhecida como a erva-tintureira ou uva-de-rato) são conhecidas por conterem saponinas tóxicas, razão pela qual ainda permanecem sem grande interesse comercial.⁽¹²⁾ Esta é uma planta herbácea da família Phytolaccaceae⁽⁴²⁾, originária da América do Norte, que se encontra em regiões temperadas, especificamente nas regiões de clima mediterrânico como por exemplo Portugal, sendo utilizada na medicina tradicional para o tratamento de problemas do trato gastrointestinal, processos inflamatórios, erupções cutâneas e atualmente como anticancerígeno e antiviral.

Estas bagas, apresentam uma cor vermelho vivo quando sofrem um processo designado de maceração, produto este que foi outrora utilizado pelas indústrias de tintas e como aditivo em vinhos tintos que não tinham a cor desejada. Alguns estudos relatam a presença de 17 betalaínas nas bagas de *P. americana* L., entre as quais diferentes isómeros de betaninas e betaxantinas.⁽⁴³⁾ Esta fonte do pigmento está representada na Figura 12.

Estudos toxicológicos de extratos ricos em betalaína de frutos de *Myrtillocactus geometrizans*, *Rivina humilis* e *Hylocereus polyrhizus* foram realizados em roedores e demonstraram que estes não são preocupantes no que toca a efeitos tóxicos, pelo que a porta está aberta para a possibilidade de produção sustentável de betalaínas seguras a partir de diversas fontes botânicas.⁽¹²⁾



Figura 12 - Bagas de Phytolacca americana L. (conhecida como a erva daninha)

6. Atividades Biológicas

Os pigmentos naturais, independentemente da sua natureza ou classificação, desempenham um papel importante nas atividades biológicas do ser humano influenciando, positivamente, a saúde de quem os inclui na sua alimentação. Esta afirmação aparenta ter uma crescente importância visto que atualmente estão repletos de fatores de risco que culminam em doenças crónicas e patologias associadas à má nutrição. De todos os fatores de risco alguns podem ser destacados, como a alimentação desequilibrada, – que em muito se relaciona com a ingestão excessiva de gorduras saturadas e *trans*, hidratos de carbono simples e com pouca fibra, alimentos processados e produtos refinados – uma vida stressante e sedentária, ou seja, pouco tempo dedicado à prática de exercício físico, tabagismo e consumo de álcool.⁽¹²⁾

Todo este cenário culmina então num perfil epidemiológico pouco favorável em que as doenças como obesidade, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares aterotrombóticas, diabetes, osteoporose e cancro são os principais protagonistas.⁽¹²⁾

De forma a contrariar este perfil epidemiológico, deve-se manter uma boa saúde sendo que, para tal, é necessário ingerir vários tipos de alimentos contendo nutrientes e não nutrientes, cada qual seguindo diversas rotas metabólicas e desempenhando distintos efeitos biológicos e fisiológicos protetores à saúde humana, isto é, alimentos com função bioativa. Uma alimentação variada, colorida, equilibrada em quantidade e qualidade é o mesmo que a garantia de ingestão de todos os nutrientes essenciais recomendados, bem como os não nutrientes (pigmentos naturais).⁽¹²⁾

Os pigmentos naturais, tais como as betalaínas, além de serem importantes corantes logo estimulantes visuais para o consumo de determinados alimentos, também eles aportam propriedades particulares promotoras da saúde por prevenirem e auxiliarem no tratamento de certas doenças.^(12, 44-49)

Em algumas investigações em humanos foi mostrado que o consumo de frutas frescas de *Opuntia ficus-indica* diminui o stress oxidativo em indivíduos saudáveis e que os compostos betanina e outras betalaínas apresentam uma boa biodisponibilidade no organismo, informação esta bastante favorável e prometedora.^(44, 50, 51) Noutros estudos sobre absorção, excreção, metabolismo, distribuição e efeitos cardiovasculares do extrato de beterraba mostraram que a betanina administrada por via oral, foi mal absorvida e a maior parte foi metabolizada no intestino.^(2, 12) Estes dados parecem

sugerir que a matriz alimentar pode desempenhar um papel na bioacessibilidade e biodisponibilidade das betalaínas.

Um dos primeiros estudos sobre a atividade biológica das betalaínas mostrou que a betanina que se encontra na beterraba - quando injetada pela via intravenosa - causou aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca ⁽⁵²⁾ mas, quando a mesma foi administrada oralmente o mesmo resultado não ocorreu, possivelmente por haver degradação do pigmento a nível gastrointestinal. ^(12, 53)

Segundo a referência ⁽¹²⁾, as betalaínas betanina e indicaxantina desempenham funções de proteção das partículas de LDL (“*low density lipoproteins*”) à oxidação. Os autores verificaram que as LDL ficavam protegidas contra a oxidação e que era altamente dependente da concentração das betalaínas, ao contrário do que se verificava com a vitamina E e o β -caroteno, quando 8 voluntários ingeriram 500 g de fruta de *Opuntia ficus-indica*. ^(12, 14)

Segundo alguns estudos, o consumo de figo de pita afetou de forma positiva o balanço redox do organismo, diminuindo o dano oxidativo dos lípidos e aumentando o *status* antioxidante, devido à betanina e indicaxantina. No que toca aos restantes como sejam as vitaminas C e E, carotenóides e polifenóis estes podem desenvolver um efeito antioxidante isolado ou sinérgico nos efeitos observados. ^(12, 50)

Segundo um outro estudo, foram analisados os efeitos de uma suplementação num intervalo de tempo reduzido, de 250 g da polpa de figo da índia que foi comparada com uma suplementação de 75 mg de vitamina C no estado oxidativo corporal total, em dezoito pessoas saudáveis. O resultado culminou numa diminuição do dano oxidativo dos lípidos e aumento do estado antioxidante. ^(20, 50)

Segundo um estudo comparativo entre a casca e a polpa do fruto da *Opuntia ficus indica* verificou-se que a casca aparenta ser uma melhor fonte de antioxidantes do que a polpa, de forma que os extratos de *Opuntia ficus indica*, principalmente os extraídos da casca, apresentam um efeito antioxidante cuja utilização revela uma crescente importância na indústria farmacêutica, alimentar e cosmética. ⁽²⁰⁾

Uma vez descritas as atividades biológicas e aplicações deste pigmento, convém referir que as betalaínas não são igualmente antioxidantes e que este atributo está altamente dependente da estrutura química do pigmento. Desta forma, verifica-se que

nas betaxantinas havendo um aumento do número de resíduos –hidroxi e –imino na estrutura básica do pigmento, há também um aumento da capacidade para eliminar os radicais livres. Nas betacianinas, a capacidade antioxidante diminui com o grau de glucosilação da molécula e aumenta com o grau de acilação.⁽¹³⁾

Os concentrados de sumo de beterraba com elevado teor em neobetanina - um produto de degradação da betanina formado durante o processamento - mostraram diminuir a resposta pós-prandial à insulina e glicose.^(12, 54)

✓ **O caso da beterraba (*Beta vulgaris* L.)**

Raiz rica em compostos fitoquímicos - como se pode verificar na Figura 13, incluindo os pigmentos bioativos, as betalaínas.⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾

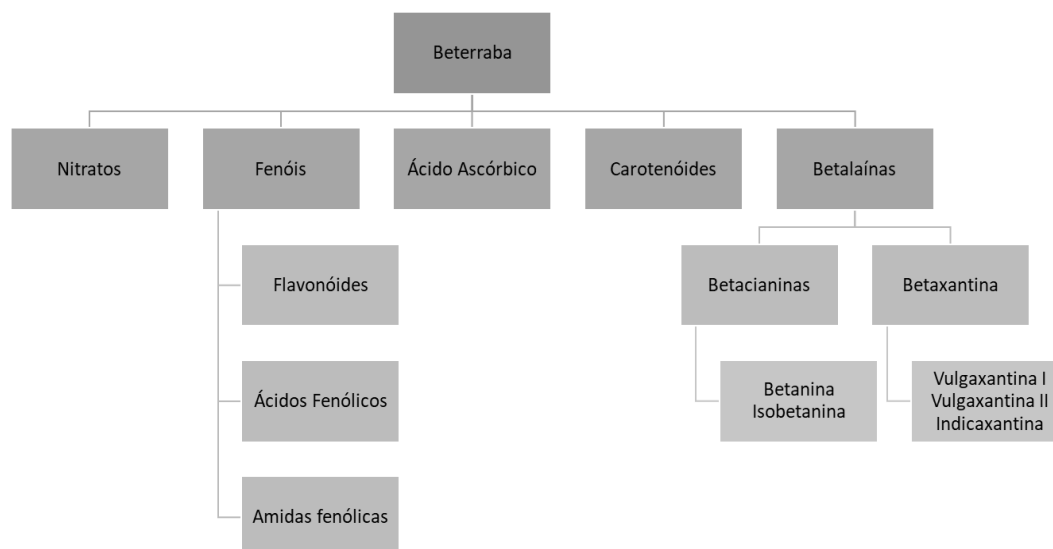


Figura 13 – Esquema representando os constituintes fitoquímicos da beterraba como principal fonte de betalaínas

Um dos maiores interesses da betanina da beterraba passa pelo facto de poder desempenhar as funções de proteção e auxílio em patologias clínicas onde os processos de stress oxidativo e inflamação crónica estão presentes, tais como o cancro e doenças do fígado.^(55, 58)

O circuito farmacocinético dos compostos em geral começam pela ingestão, seguida pela absorção no trato gastrointestinal e passagem destes para a circulação sanguínea, onde são depois utilizados pelas células, se estes se encontrarem em quantidades favoráveis e suficientes. Só e apenas se este circuito for cumprido pelos compostos, sejam eles fármacos ou pigmentos como as betalaínas, ou seja, estarem biodisponíveis no organismo, é que podem desempenhar as suas funções benéficas para a saúde humana. Além do mais, todo este caminho a percorrer pelas moléculas tem de permitir que as mesmas cheguem ao alvo, as células, com a estrutura molecular adequada para exercer a ação benéfica.^(55, 59, 60)

A biodisponibilidade das betalaínas é considerada alta em humanos, porque estes pigmentos permanecem estáveis ao longo do trato gastrointestinal, não havendo perda

das propriedades biológicas. Face a esta informação, o seu valor como aditivo alimentar aumenta fortemente. No entanto, há que considerar que esta característica é viável e verdadeira quando se fala do pigmento enquanto constituinte de um alimento, fruto, ou planta.⁽⁶¹⁾

Estudos sobre a biodisponibilidade da betanina foram realizados pela análise da urina em humanos depois do consumo de um único sumo de beterraba, resultando em valores de 0,5% a 0,9% de betacianinas presentes na urina após 12 h do consumo de 300 mL de sumo. Este facto dá indicação de que as betacianinas conseguem ser absorvidas pelos seres humanos. O único senão destes estudos relaciona-se com o facto de que a única premissa é que o pigmento era unicamente eliminado por via renal, o que provavelmente não corresponde à verdade e desta forma os valores obtidos não são correspondentes a uma biodisponibilidade verdadeira ou real. Uma outra falha é o facto de que não foi analisado se houve alterações estruturais durante o percurso no organismo, não podendo ser afirmado se o que é absorvido é a molécula de pigmento com as propriedades descritas.^(55, 62, 63)

Um segundo estudo utilizando um modelo *in vitro* que imitava um epitélio intestinal humano permitiu concluir sobre a biodisponibilidade das betalaínas face a esta barreira funcional assim como se estas moléculas passavam a mesma na sua forma inicial ou alterada (metabolito secundário). Como resultado, e tendo em conta que *in vivo* há fatores adicionais que podem originar resultados diferentes, as betalaínas são bem absorvidas na circulação sistémica e na sua forma inalterada, mantendo assim as suas funções biológicas.^(55, 59, 60)

Uma das funções da beterraba – que pode ser utilizada como suplemento – é combater o stress oxidativo. Quando há um desequilíbrio celular de agentes antioxidantes e pró-oxidantes (espécies reativas de oxigénio e espécies reativas de azoto) e estes últimos encontram-se em maioria (exposição à luz UV, xenobióticos), os agentes antioxidantes endógenos não conseguem suportar e defender o organismo dos agentes prejudiciais, pelo que vários processos e células do organismo entram no chamado “stress oxidativo”.^(55, 64, 65)

Um estudo realizado para comparar os sumos concentrados de certos alimentos e/ou frutas face à sua capacidade antioxidante, ou seja de eliminar determinados radicais obteve como resultado que o sumo de beterraba, comparativamente aos de tomate e

cenoura, frutas (laranja e abacaxi ou romã) e outros, tem um maior poder antioxidante.^(55, 66, 67)

As betalaínas (betacianinas do tipo violeta-violeta e beta-anantinas principalmente) apresentam maior atividade antioxidante comparativamente aos antioxidantes tradicionais, sendo eles o ácido ascórbico, a rutina e a catequina.^(16, 68, 69)

Posto isto, e destacando a beterraba como a maior e melhor fonte de betalaína – e um dos dez antioxidantes mais potentes – esta raiz (parte da beterraba comestível) apresenta especial interesse em muitas vertentes, contendo aproximadamente 75-95% de betacianina (do grupo das betaninas) e 5% de betaxantina (vulgaxantina I).⁽¹³⁾

Estudos realizados na beterraba e numa transformação genética de células vegetais da beterraba vermelha *B. vulgaris* cv. *O Detroit Dark Red* por *Agrobacterium rhizogenes* observaram que houve um aumento da atividade antioxidante naturalmente presente na beterraba intacta associado a concentrações aumentadas de compostos fenólicos que podem ter efeitos sinérgicos com as betalaínas.⁽³³⁾ Resumindo, o extrato de betalaína de culturas de *B. vulgaris* cv. *Detroit Dark Red* transformadas por *Agrobacterium rhizogenes* é um produto inovador com alta capacidade antioxidante, sendo que ambos os extratos têm um enorme potencial nas indústrias alimentar, cosmética e farmacêutica como corante vermelho, protetor oxidativo e como fonte rica em antioxidantes biodisponíveis.⁽³³⁾

Outra propriedade da suplementação com beterraba é o efeito anti-inflamatório. Um processo inflamatório persistente, crónico, a longo prazo origina muitos malefícios à saúde, originando em muitos casos uma inflamação crónica, que culmina no surgimento de patologias mais graves, tais como a obesidade, doenças hepáticas, cardíacas e cancro. Uma alternativa aos anti-inflamatórios não esteróides são as fontes naturais de alimentos, destacando-se então os pigmentos betalaínas presentes na beterraba.^(55, 70-72)

As betalaínas vão atuar como agentes anti-inflamatórios na cascata de inflamação, como se pode observar na Figura 14.

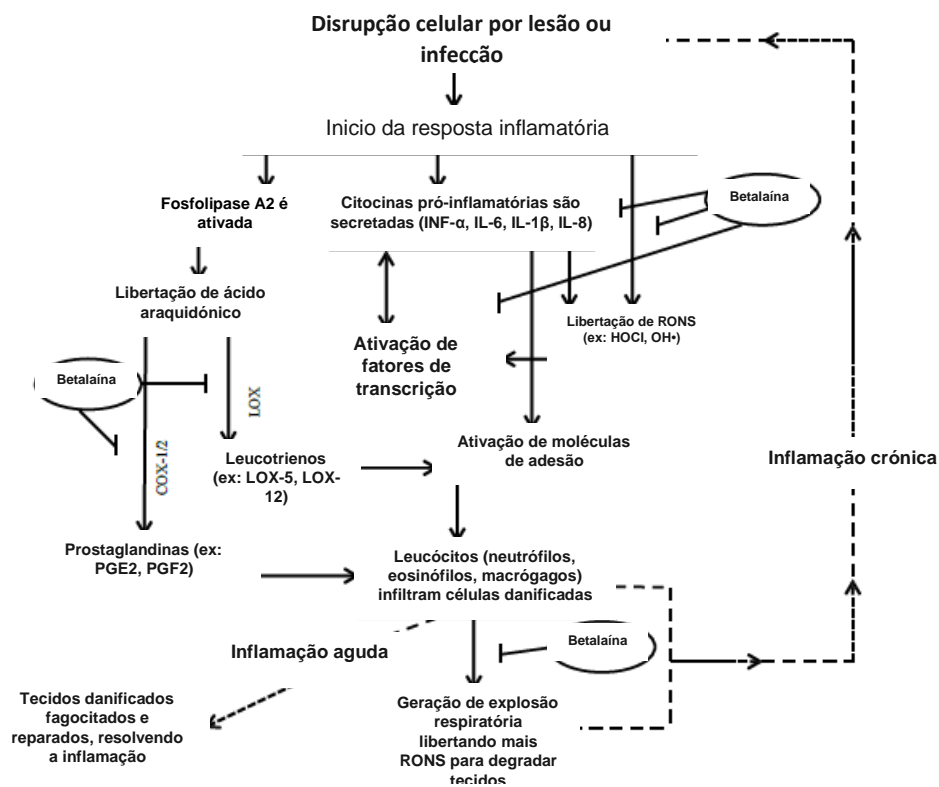


Figura 14 – Cascata de inflamação e locais de atuação da betalaina (Tradução da autora)

A lipoxigenase (LOX) e a ciclooxygenase (COX) são duas enzimas que convertem o ácido araquidônico em leucotrienos e prostaglandinas, sendo estes últimos dois mediadores químicos da inflamação. Através de um estudo *in vitro*, verificou-se que a fenilamina-betaxantina foi o inibidor mais potente da COX, enquanto a betanidina foi um eficiente inibidor da LOX. Noutro estudo envolvendo a indicaxantina e a betanina concluiu-se que estas moléculas reprimiram fortemente a molécula de adesão celular intercelular-1 (ICAM-1), que foi expressa em resposta a um aumento dos oxidantes intracelulares desencadeados pelo tratamento de citocinas. Uma vez que a ICAM-1 é um estímulo para o processo inflamatório, este estudo reforçou o papel anti-inflamatório das betalainas. Concluiu-se com o estudo que a betanina foi mais eficiente do que a indicaxantina.⁽¹²⁾

No que concerne às atividades antimutagénica e anticarcinogénica do pigmento betanina, as mesmas foram avaliadas em cinco estirpes bacterianas de *Salmonella typhimurium* e verificou-se ausência de mutagenicidade. Com base nestas conclusões, para além dos benefícios para a saúde que as betalainas podem trazer, elas não serão

tóxicas, pelo menos em termos de mutagenicidade, embora estudos suplementares sejam necessários efetuar para confirmar esta ausência de toxicidade. (12, 73, 74)

A Tabela 1 representa as principais fontes de betalaínas nas quais foram realizados estudos de propriedades farmacológicas, assim como as suas funções farmacológicas correspondentes e patologia interveniente.

Tabela 1 – Fontes de betalaínas que se encontram em estudo relativamente às suas possíveis propriedades farmacológicas, descrição das funções farmacológicas das mesmas e qual a patologia interveniente dessas propriedades. (Realizado pela autora com base em dados de [16])

FUNÇÃO FARMACOLÓGICA	PATOLOGIA INTERVENIENTE	REFERÊNCIAS
EXTRATO DE BETA VULGARIS	Inibição da oxidação proteica induzida pelo ácido hipocloroso libertado pelos neutrófilos ativos	Dor associada à osteoartrite (16, 58)
BETANIDINAS E BETANINAS	Inibição da LOX da soja (lipoxigenase (LOX) e a ciclooxigenase (COX) são enzimas envolvidas na conversão do ácido araquidónico em mediadores inflamatórios)	Inflamação (16, 62)
BETANINAS E BETAXANTINAS	Inibição das COX-1 e COX-2	Inflamação (16, 61)
EXTRATO DE BETERRABA VERMELHA RICO EM BETALINA E BETAÍNA	Indução da enzima quinina redutase da fase II (relacionado com o efeito hepatoprotector)	Doenças hepáticas (16, 56, 75)
EXTRATO DE AMARANTHUM TRICOLOR CONTENDO BETALAÍNAS (RATOS DIABÉTICOS)	Redução do nível de colesterol, triglicéridos e LDL (lipoproteínas de baixa densidade) e aumento do nível de lipoproteínas de alta densidade (HDL)	Distúrbios cardiovasculares Prevenção do colesterol (16, 76, 77)
BETALAINAS DO SUMO DE BETERRABA VERMELHA	Inibição do metabolismo oxidativo de neutrófilos em indivíduos obesos Redução do crescimento de microrganismos Gram + e Gram–	Hiperlipidémia Infeções (16, 76, 78)
EXTRATO RICO EM BETANINA/ AMARANTINA DE AMARANTHUS SPINOSUS EM MURGANHOS	Formar complexos catiões internos Ca ²⁺ , Fe ²⁺ e Mg ²⁺ e bloqueio do transporte intracelular da colina de parasitas	Malária (16, 79)

7. Aplicações

As betalaínas têm sido usadas como corante, na indústria alimentar (sobremesas, produtos lácteos e carne), na indústria têxtil, biossensor químico, marcadores proteicos fluoróforos e marcadores para transformação genética, entre outras aplicações.^(2, 7, 11) Adicionalmente as betaninas têm sido usadas como corantes em cosméticos e produtos farmacêuticos.⁽⁴³⁾

Na indústria alimentar, a quantidade de pigmento puro necessária para obter a cor desejada é relativamente pequena, raramente excedendo 50 mg por cada 1 kg, calculado como betanina (tendo que se ter atenção à possibilidade de se degradar após a exposição a temperaturas elevadas e à luz).^(7, 11)

Na Tabela 2 está compilada as fontes de algumas betalaínas usadas na alimentação.

Tabela 2 - Informação relativamente às fontes de betalaínas na alimentação, espécie da fonte, código do aditivo alimentar/corante e possíveis aplicações (Realizado pela autora)

FONTES DE BETALAÍNAS NA ALIMENTAÇÃO	ESPÉCIES	CÓDIGO DO ADITIVO ALIMENTAR/COR	APLICAÇÃO
RAÍZES DE BETERRABA VERMELHA	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> <i>vulgaris vulgaris</i> ; Conditiva Group	E-162 (betanina)/Rosa ou violeta	Iogurtes de fruta, geleias, gelados, gomas, molhos, sopas
FRUTOS DE CATOS (EX: FIGO DE PITA)	<i>Opuntia ficus-indica</i>	-	-
FRUTOS DO DRAGÃO	<i>Hylocereus polyrhizus</i>	-	-
ACELGA	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> convar. <i>cicla</i> . var. <i>Flavescens</i> ; Grupo <i>Flavescens</i>	-	-

Atualmente, o extrato de beterraba vermelha é a única fonte comercialmente utilizada de betalaínas como corantes alimentares sendo considerada no mercado como o mais antigo e abundante corante alimentar de cor vermelha, designado de betanina e conhecido como E-162 na União Europeia.^(9, 32) Uma vez que a existência deste

pigmento no mundo vegetal consumível é escassa (inferior a 1%), têm sido feitos estudos para aumentar o rendimento das betalaínas na beterraba (vermelha) uma vez que é o único a ser usado comercialmente, ou procurar o pigmento noutras plantas e em culturas de células que pudesse ser extraído, bem como desenvolver novas fontes do pigmento a partir da engenharia metabólica de plantas.^(7, 11)

Alternativamente à planta *B. vulgaris* existe uma outra da mesma família, *Amaranthaceae* e do género *Amaranthus*. Estudos avaliaram a cor, as características espectrais e a estabilidade de betacianinas de sete espécies de *Amaranthus* e concluíram que os pigmentos apresentam estabilidade e características de cor semelhantes às betalaínas da beterraba, sendo um futuro potencial alternativo ao pigmento da beterraba. Um género da família *Amaranthaceae*, a *Celosia*, foi igualmente estudado como uma possível fonte de betacianinas e betaxantinas.⁽¹¹⁾

Uma alternativa ao alimento beterraba vermelha, são os frutos dos catos (figos de pita) que, ao terem um sabor agradável mas quase nulo, não são muito consumidos pelas pessoas. Desta forma, ganha-se espaço para que estes frutos sejam quase unicamente utilizados como corantes naturais à base de plantas, contendo betalaínas, e que têm uma gama de cores mais abrangente que a beterraba, desde a cor amarelo alaranjado (*Opuntia sp.*) até ao vermelho/violeta (*Hylocereus sp.*). As cores dos frutos de *Opuntia* vão desde o amarelo brilhante ao vermelho/violeta, dependendo da proporção de betacianina/betaxantina e das suas concentrações absolutas.⁽⁷⁾

A família de plantas com maiores expectativas contendo betalaínas é a *Cactaceae*. As espécies do género *Opuntia* e a pitaia (géneros *Cereus*, *Hylocereus* e *Selenicereus*) são cultivadas como culturas frutíferas e mais adequadas para ser estudadas como fontes de betalaínas para utilização como corante natural.⁽⁷⁾ De facto, já na medicina tradicional mexicana, de onde a planta *Opuntia ficus-indica* (figo da índia) é originária, a mesma é utilizada para tratamentos de doenças como diabetes, reumatismo, tosse convulsa, entre outras patologias.^(20, 80-84) O figo da índia tem sido utilizado na medicina tradicional, de forma crescente, no tratamento de gastrite, hiperglicémia, arteriosclerose e diabetes. Na China é utilizada para combater inflamações e dor.^(15, 85)

O que atrai as pessoas e os investigadores ao consumo e estudo do figo de pita são os seus benefícios nutricionais e promotores de saúde, ricos em componentes

antioxidantes bioativos. De entre estes antioxidantes bioativos, ácido ascórbico e polifenóis, estão incluídas também as betalainas. Outras propriedades deste fruto, que contém betalainas é o poder antiulcerogénico e atividade antiproliferativa.⁽³⁷⁾

Devido às propriedades: antioxidante, antiproliferativo, cardioprotetor, antimicrobiano, anticancerígeno, hipolipemiante, antidiabético, hepatoprotetor, anti-inflamatório, entre outras, as betalainas têm sido comercializadas como suplemento dietético.^(7, 11, 15)

8. Segurança e toxicidade

Apesar do interesse cada vez maior na utilização de betalaína do amaranto e quinoa, a maioria dos estudos envolvendo betalaínas para avaliar a segurança alimentar, atividade biológica e biodisponibilidade têm sido realizados usando beterraba vermelha como fonte principal dos pigmentos.

Estudos realizados e referidos na revisão de ⁽¹²⁾ revelaram ausência de reações alérgicas, genotoxicidade, mutagenicidade e toxicidade a curto prazo das betalaínas de beterraba em *Salmonella typhimurium* e ratos. Outros estudos toxicológicos de extratos ricos em betalaína dos frutos de *Myrtillocactus geometrizans*, *Rivina humilis* e *Hylocereus polyrhizus*, referenciados no mesmo trabalho, realizados em roedores concluíram que estes extratos não produzem efeitos tóxicos em seres humanos.⁽¹²⁾

Segundo vários autores, uma das vantagens destes corantes naturais é ser nulo em termos de toxicidade, ação mutagénica ou ainda de reações alérgicas.^(11, 12, 61, 64-67, 70, 71, 86) Outros estudos mencionados em ⁽¹²⁾ referem que a classe de pigmento betanina inibia a produção de IgE e IgG, indicando ausência de resposta alérgica ao pigmento.^(12, 87) Ainda assim, estudos sobre embriotoxicidade, teratogenicidade e toxicidade geracional encontram-se ainda limitados ou mesmo ausentes, pelo que é um alerta a ter em consideração em estudos posteriores.⁽¹²⁾

Uma das razões que levam à mudança de pensamento relativamente aos antioxidantes sintéticos em detrimento dos naturais, como o caso do pigmento betanina, é o facto dos suplementos dietéticos, quando usados de forma errada e excessiva, poderem levar a um “stress antioxidante” e provocar um desequilíbrio com efeitos negativos no organismo, podendo originar hemorragias, diarreias, distúrbios gastrointestinais, cancro, arteriosclerose, litíase renal, hiperbetacarotenemia, perda de cabelo, fadiga, perturbações no sistema nervoso, etc.^(20, 88)

9. Conclusão

Sabe-se que no mercado atual de todos os corantes alimentares, os pigmentos naturais correspondem apenas a um quarto do total. No entanto, o uso de corantes sintéticos tem vindo a diminuir, aparentando ser uma perspectiva positiva para a evolução de um estilo de vida, alimentação e saúde mais saudáveis na sociedade.⁽⁷⁾

As betalaínas, corante natural abordado ao longo desta monografia, não tem sido muito estudado e desenvolvido porque a sua existência na natureza é muito reduzida. Apesar disso, uma das suas propriedades, entre muitas, que o tornou importante corante alimentar foi o seu poder antioxidante.⁽⁷⁾

Betacianinas são pigmentos naturais que fornecem tons de cor vermelho/violeta com potencial utilização em alimentos de baixa acidez. Além disso, as betalaínas são estabilizadas pelo ácido ascórbico.⁽⁷⁾

Apesar das fontes de betaxantina serem escassas em todo o mundo, a sua solubilidade em água pode impulsionar sua aplicação como corantes de alimentos de cor amarela.⁽⁷⁾

A comercialização de frutos de catos (figos de pita) como fontes alternativas de corantes alimentares pode proporcionar um espectro de cores maior do que a beterraba vermelha e contribuir para o desenvolvimento sustentável das regiões semiáridas geralmente subdesenvolvidas.⁽⁷⁾

A razão pela qual as betalaínas e as antocianinas não coexistem é uma questão interessante ainda não resolvida e explicada, apesar das variadas teorias existentes.⁽⁴⁾

Está estabelecido que preparações com betalaínas de origem vegetal são seguras para consumir. No entanto, faltam dados sobre a segurança das betalaínas processadas por várias tecnologias.⁽¹²⁾

As desvantagens dos pigmentos betalaínas passam pela sua falta de estabilidade (em condições de temperatura, atividade da água, pH e luz) durante o processamento e no armazenamento.⁽²⁾

Contudo, no que toca à estabilidade das betalaínas e, quando comparados com outros pigmentos naturais como é o caso das antocianinas (flavonóides), sabe-se que são estáveis para uma gama de pH relativamente ampla e são capazes de regenerar após o tratamento térmico.⁽¹⁶⁾

Devido aos fatores que podem afetar grandemente a estabilidade deste pigmento em estudo, as suas utilizações nos alimentos resumem-se a alimentos congelados, produtos lácteos de baixa temperatura ou alimentos com prazos de validade muito curtos, produzidas por um tratamento térmico mínimo, e embaladas e comercializadas num estado seco sob níveis restringidos de luz, oxigénio e humidade. As betalaínas têm várias aplicações em alimentos, sendo que a quantidade de pigmento puro necessária nestes grupos de alimentos para obter o tom desejado é relativamente pequena, não ultrapassando os 50 ppm de betalaínas, calculadas como betaninas. Os problemas associados com a deterioração da betalaína e a recuperação do pigmento durante as operações de processamento são de importância económica e devem ser resolvidos para que as betalaínas troquem a aplicação de corantes sintéticos em alguns produtos alimentares.⁽⁶⁾

Se uma das razões para se usar corantes naturais são os potenciais efeitos benéficos na saúde, eles devem estar biodisponíveis quando ingeridos. Assim sendo, a biodisponibilidade dos corantes naturais também deve ser estudada de uma forma mais aprofundada e em diversas matrizes alimentares.⁽⁸⁾

Os compostos bioativos existem em alimentos num complexo equilibrado conjuntamente com outras substâncias, as vitaminas e os minerais, fazendo com que o alimento nunca substitua um nutriente ou composto bioativo isolado. Indivíduos que consomem mais frutas e hortaliças, consomem menos gorduras e possuem estilos de vida mais saudáveis pelo que o consumo regular das mesmas está associado à diminuição dos riscos de doenças como o cancro, doenças cardiovasculares, doenças vasculares aterotrombóticas, catarata e outros distúrbios funcionais relacionados com a idade. A maioria das evidências científicas a respeito das atividades biológicas destes pigmentos naturais foi verificada *in vitro*. O consumidor poderá ter uma melhoria em muitas de suas funções biológicas, assim como a prevenção e até a cura para certas doenças. Desta forma, se a indústria associar à sua marca produtos com estas vantagens atingirá uma diferenciação em relação a todas as outras indústrias adversárias, conseguida pelo uso destes aditivos naturais.⁽¹²⁾

No que toca ao papel do farmacêutico, o incentivo à investigação destes pigmentos é crucial, assim como a partilha de informação com os utentes relativamente aos benefícios dos corantes naturais em detrimento dos sintéticos de forma a melhorar questões de saúde quer individual quer coletiva. Do ponto de vista científico, garantir que todos os profissionais desta área se encontram atualizados e sensibilizados para estes potenciais adjuvantes do tratamento ou prevenção de patologias comuns na sociedade.

10. Perspetivas futuras

Há uma necessidade de investigação mais aprofundada sobre segurança, estabilidade e aplicabilidade de formulações ricas em betalaínas produzidas através das várias tecnologias de processamento.^(12, 22, 28, 30)

Como as betalaínas, particularmente as betaxantinas, são propensas à degradação, pesquisas futuras devem ser focadas no sentido de obter formulações que aumentem a biodisponibilidade e que diminuam a degradação dos pigmentos em formas não bioativas. Para tal poder-se-á recorrer a uma série de técnicas convencionais, como encapsulamento e complexação, ou emergentes, como nanotecnologia para entrega direcionada e maior solubilidade e estabilidade em uma ampla gama de formulações, ou através da modificação estrutural dos pigmentos. No entanto, a estabilização pode comprometer a biodisponibilidade, como no caso da glicosilação que estabiliza pigmentos como a betanina e a gonfrenina, mas reduz a biodisponibilidade. Esta complexidade de assuntos e de problemas que têm de ser resolvidos exige uma colaboração muito estreita entre técnicos e investigadores de diversas áreas: químicos, bioquímicos, engenheiros alimentares, médicos, farmacêuticos, entre outros.

11. Referências Bibliográficas

- [1] Dias A.S., Candeias A.E. (2007) Pigmentos e corantes naturais. Entre as artes e as ciências. *Évora, Universidade de Évora*, 183 pp.
- [2] Celli G.B., Brooks M. S-L., (2017) Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison of properties with anthocyanins — A current review. *Food Research International*, **100**: 501-509.
- [3] Fernández-López J. A., Almela L., (2001) Application of high-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits. *Journal of Chromatography A*, **913**: 415-420.
- [4] Tanaka Y., Sasaki N., Ohmiya A., (2008) Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal*, **54**: 733-749.
- [5] Harris N.N., Javellana J., Davies K. M., Lewis D.H., Jameson P.E., Deroles S.C., Calcott K.E., Gould K.S., Schwinn L.E., (2012) Betalain production is possible in anthocyanin producing plant species given the presence of DOPA-dioxygenase and L-DOPA. *Plant Biology*, **12**: 34.
- [6] Delgado-Vargas F., Jiménez A.R., Paredes-López O., (2000) Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains — characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **40**: 173-289.
- [7] Azeredo H.M.C., (2009) Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science and Technology*, **44**: 2365-2376.
- [8] Kaimainen M., (2014) Stability of natural colorants of plant origin. PhD thesis, *Food Chemistry and Food Development, Department of Biochemistry, Turku, Finland*.
- [9] Aberoumand A. (2011) A review article on edible pigments properties and sources as natural biocolorants in foodstuff and food industry. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, **6**: 71-78.
- [10] Schiozer A.L., Barata L.E.S. (2007) Estabilidade de corantes e pigmentos de origem vegetal. *Revista Fitos Eletrônica*, **3**: 6-24.
- [11] Polturak G., Aharoni A., (2018) “La vie en rose”: biosynthesis, sources, and applications of betalain pigments. *Molecular Plant*, **11**: 7-22.
- [12] Khan M.I., (2016) Plant betalains: safety, antioxidant activity, clinical efficacy, and bioavailability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **15**: 316-330.
- [13] Volp A.C.P., Renhe I.R.T., Stringueta P.C. (2009) Pigmentos naturais bioativos. *Alimentos e Nutrição*, **20**: 157-166.

- [14] Schoefs B. (2004) Determination of pigments in vegetables. *Journal of Chromatography A*, **1054**: 217-226.
- [15] Semedo A.C.J. (2011/2012) Compostos bioativos de *Opuntia ficus indica*. *Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia*.
- [16] Miguel M.G., (2018) Betalains in some species of the Amaranthaceae family: A review. *Antioxidants*, **7**: 53.
- [17] Strack D., Vogt T., Schliemann W., (2003) Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, **62**: 247-269.
- [18] Ngmwonglumert L., Devahastin S., Chiewchan N. (2017) Natural colorants: pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pre-treatment and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **57**: 3243–3259.
- [19] Herbach K.M., SDtintzing F.C., Carle R. (2006) Betalain stability and degradation-structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, **71**: R41–R50.
- [20] Valente R.G. (2017) Avaliação qualitativa dos frutos de ecótipos/cultivares de *Opuntia-Ficus Indica L.* colhidos a sul de Portugal. *Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Faro*.
- [21] Wilson E. (n.d.) (2017) Betalaínas: colorantes naturales con actividad antioxidante, *from*
https://www.academia.edu/7758146/Betala%C3%ADnas_colorantes_naturales_con_actividad_antioxidante.
- [22] Zvitov R., Schwartz A., Nussinovitch A. (2007) Comparison of betalain extraction from beet (*Beta vulgaris*) by low DC electrical field versus cryogenic freezing. *Journal of Texture Studies*, **34**: 83–94.
- [23] Kannan V. (2011) Extraction of bioactive compounds from whole red cabbage and beetroot using pulsed electric fields and evaluation of their functionality. *Food Science and Technology Department, University of Nebraska Lincoln, USA, Dissertations, Theses, & Student Research in Food Science and Technology*, **11**.
- [24] Shynkaryk M.V., Lebovka N.I., Vorobiev E. (2008) Pulsed electric fields and temperature effects on drying and rehydration of red beetroots. *Drying Technology*, **26**: 695–704.
- [25] Cardoso-Ugarte G.A., Sosa-Morales M.E., Ballard T., Liceaga A., Martín-González M.F.S. (2014) Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). *LWT - Food Science and Technology*, **59**: 276–82.
- [26] Moussa-Ayoub T.E., Jaeger H., Knorr D., El-Samahy S., Rohn S., Kroh L.W. (2011) Impact of traditional and innovative technologies on some characteristics and

bioactive compounds of *Opuntia macrorhiza* juice. *Procedia Food Science*, **1**: 1410–1416.

[27] Chethana S., Nayak C.A., Raghavarao K.S.M.S. (2007) Aqueous two phase extraction for purification and concentration of betalains. *Journal of Food Engineering*, **81**: 679–87.

[28] Nayak C.A., Chethana S., Rastogi N.K., Raghavarao K.S.M.S. (2006) Enhanced mass transfer during solid–liquid extraction of gamma-irradiated red beetroot. *Radiat Physics Chemistry*, **75**: 173–178.

[29] Krifa F., Villet A., Roussel A-M., Alary J. (1987) Pourpre de barbarie, nouveau colorant naturel extrait d'*Opuntia stricta*. *Annales des Falsifications et de L'Expertise Chimique et Toxicologique*, **928**: 183-191.

[30] Cruz-Cansino N. del S., Ramírez-Moreno E., León-Rivera J.E., Delgado-Olivares L., Alanís-García E., Ariza-Ortega J.A., Manríquez-Torres J. de J., Jaramillo-Bustos D.P. (2015) Shelf life, physicochemical, microbiological and antioxidant properties of purple cactus pear (*Opuntia ficus indica*) juice after thermoultrasound treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, **27**: 277–86.

[31] Thimmaraju R., Bhagyalakshmi N., Narayan M.S., Ravishankar G.A. (2003) Food-grade chemical and biological agents permeabilize red beet hairy roots, assisting the release of betalains. *Biotechnology Progress*, **19**: 1274–82.

[32] Roriz C.L., Barros L., Carvalho A.M., Santos-Buelga C., Ferreira I.C.F.R. (2017) Gomphrena globosa L. como fonte de corantes naturais: caracterização em betacianidinas. *Revista de Ciências Agrárias, Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal*, **40**: 151-154.

[33] Georgiev A.G., Weber J., Kneschke E-M., Denev P.N., Bley T., Pavlov A.I. (2010) Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit Dark Red. *Plant Foods for Human Nutrition*, **65**: 105-11.

[34] Grotewold E., (2006), The genetics and biochemistry of floral pigments. *Department of Plant Cellular and Molecular Biology, Plant Biotechnology Center, Ohio State University, Columbus*, **57**: 761–80.

[35] Hemerski L., Rezende M.J.C., Silva B.V. (2013) Usando as cores da natureza para atender aos desejos do consumidor: substâncias naturais como corantes na indústria alimentícia. *Revista Virtual de Química*, **5**: 394-420.

[36] Gandía-Herrero F., Escribano J., García-Carmona F. (2016) Biological activities of plant pigments betalains. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **56**: 937–945.

[37] Albano C., Negro C., Tommasi N., Gerardi C., Mita G., Miceli A., De Bellis L., Blando F., (2015) Betalains, phenols and antioxidant capacity in cactus pear [*Opuntia*

ficus-indica (L.) Mill.] fruits from Apulia (South Italy) genotypes. *Institute of Sciences of Food Production (ISPA), Italy. Department of Biological and Environmental Sciences and Technologies (DISTeBA), Salento University, Italy. Antioxidants*, **4**: 269-280.

[38] Miguel M.G., Gago C., Valente R., Guerreiro A., Antunes D., Manhita A., Barrocas-Dias C. (2018) Qualitative evaluation of fruits from different *Opuntia ficus-indica* ecotypes/cultivars harvested in South Portugal. *Journal of Food Biochemistry*, <https://doi.org/10.1111/jfbc.12652>.

[39] Galati E.M., Mondello M.R., Giuffrida D., Dugo G., Miceli N., Pergolizzi S., Taviano M.F., (2003) Chemical characterization and biological effects of sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**: 4903–4908.

[40] Silva M.A., Albuquerque T.G., Pereira P., Vicente F., Ramalho R., Costa H.S. Figo-da-Índia (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.): análise comparativa da atividade biológica da polpa e casca. *Boletim Epidemiológico - Observações (Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge)*, **5**: 22-25.

[41] Roriz C.L., Barros L., Carvalho A.M., Santos -Buelga C., Ferreira I.C.F.R. (2014) *Pterospartum tridentatum*, *Gomphrena globosa* and *Cymbopogon citratus*: A phytochemical study focused on antioxidant compounds. *Food Research International*, **62**: 684-693.

[42] Roriz C.L., Barros L., Carvalho A.M., Santos-Buelga C., Ferreira I.C.F.R. *Gomphrena globosa* L. como fonte alternativa de pigmentos naturais: caracterização de betacianidinas por HPLC-PDA-ESI/MS. *Revista de Ciências Agrárias*, **40**, from <http://dx.doi.org/10.19084/RCA16235>.

[43] Guedes V.A.P.S. (2015) *Phytolacca americana* L.: potencial das bagas de uma planta invasora. *Tese de Mestrado em Controlo de Qualidade, Especialidade em Água e Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto*.

[44] Livrea M.A., Tesoriere L. (2006) Health benefits and bioactive components of the fruits from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, **8**: 73-90.

[45] Kalra E.K. (2003) Nutraceutical - definition and introduction. *Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, **5**: 27-28.

[46] Downham A., Collins P. (2000) Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology*, **35**: 5–22.

[47] Hasler C.M. (2000) The changing face of functional foods. *Journal of the American College of Nutrition*, **19**: 499S-506S.

- [48] Lampe J. W. (1999) Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **70**: 475-490.
- [49] Lila M. A. Plant pigments and human health. In DAVIS, K.M., (2004) *Plant pigments and their manipulation*, **14**: 248-274. Blackwell Publishing, CRC Press, USA and Canada.
- [50] Tesoriere L. et al. (2004) Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant betalains in LDLs: potential health effects of betalains in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **80**: 941-945.
- [51] Tesoriere L., Butera D., Pintaudi A.M., Allegra M., Livrea M.A. (2004a) Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruits decreases oxidative stress in healthy humans. A comparative study with vitamin C. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **80**: 391-395.
- [52] Krantz C., Monier M., Wahlstrom B. (1980) Absorption, excretion, metabolism and cardiovascular effects of beetroot extract in the rat. *Food and Cosmetics Toxicology*, **18**: 363–366.
- [53] Reynoso R.C., Giner T.V., de Mejia E.G. (1999) Safety of a filtrate of fermented garambullo fruit: biotransformation and toxicity studies. *Food and Chemistry Toxicology*, **37**: 825–830.
- [54] Wootton-Beard P.C., Brandt K., Fell D., Warner S., Ryan L. (2014) Effects of a beetroot juice with high neobetanin content on the early-phase insulin response in healthy volunteers. *Journal of Nutritional Science*, **3**: e9, <https://doi.org/10.1017/jns.2014.7>
- [55] Clifford T., Howatson G., West D.J., Stevenson E.J., (2015) The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*, **7**: 2801-2822.
- [56] Lee C.H., Wettasinghe M., Bolling B.W., Ji L.L., Parkin K.L. (2005) Betalains, phase II enzyme-inducing components from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts. *Nutrition and Cancer*, **53**: 91–103.
- [57] Vulić J.J., Čebović T.N., Čanadanović-Brunet J.M., Četković G.S., Čanadanović V.M., Djilas S.M., Tumbas Šaponjac V.T. (2014) In vivo and in vitro antioxidant effects of beetroot pomace extracts. *Journal of Functional Foods*, **6**: 168–175.
- [58] Pietrzkowski Z., Nemzer B., Spórna A., Stalica P., Tresher W., Keller R., Jimenez R., Michalowski T., Wybraniec S. (2010) Influence of betalin-rich extracts on reduction of discomfort associated with osteoarthritis. *New Medicine*, **1**: 12–17.
- [59] Rein M.J., Renouf M., Cruz-Hernandez C., Actis-Goretta L., Thakkar S.K., da Silva Pinto M. (2013) Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **75**: 588–602.

- [60] Ting Y., Jiang Y., Ho C.T., Huang Q. (2014) Common delivery systems for enhancing in vivo bioavailability and biological efficacy of nutraceuticals. *Journal of Functional Foods*, **7**: 112–128.
- [61] Reddy M.K., Alexander-Lindo R.L., Nair M.G. (2005) Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 9268–9273.
- [62] Frank T., Stintzing F.C., Carle R., Bitsch I., Quaas D., Strass G., Netzel M. (2005) Urinary pharmacokinetics of betalains following consumption of red beet juice in healthy humans. *Pharmacological Research*, **52**: 290–297.
- [63] Kanner J., Harel S., Granit R. (2001) Betalains a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 5178–5185.
- [64] Kannan K., Jain S.K. (2000) Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology*, **7**: 153–163.
- [65] Kohen R., Nyska A. (2002) Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicology Pathology*, **30**: 620–650.
- [66] Wootton-Beard P.C., Moran A., Ryan L. (2011) Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. *Food Research International*, **44**: 217–224.
- [67] Ryan L., Prescott S.L. (2010) Stability of the antioxidant capacity of twenty-five commercially available fruit juices subjected to an in vitro digestion. *International Journal of Food Science + Technology*, **45**: 1191–1197.
- [68] Díaz M.D.S.S., de la Rosa A.P.B., Héliès-Toussaint C., Guéraud F., Nègre-Salvayre A., (2017) *Opuntia spp.*: characterization and benefits in chronic diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, <https://doi.org/10.1155/2017/8634249>.
- [69] Cai Y. Z., Sun M., Corke H. (2005) Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. *Trends in Food Science and Technology*, **16**: 370-376.
- [70] Monteiro R., Azevedo I. (2010) Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Mediators of Inflammation*, [doi:10.1155/2010/289645](https://doi.org/10.1155/2010/289645).
- [71] García-Lafuente A., Guillamón E., Villares A., Rostagno M.A., Martínez J.A. (2009) Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*, **58**: 537–552.
- [72] O’Byrne K.J., Dalglish A.G. (2001) Chronic immune activation and inflammation as the cause of malignancy. *British Journal of Cancer*, **85**: 473–483.

- [73] Stintzing F. C., Carle R. (2004) Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends Food Science and Technology*, **5**: 19-38.
- [74] Stintzing F.C., Reinhold C. (2004) Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology*, **15**: 19-38.
- [75] Wettasinghe M., Bolling B., Plhak L., Xiao H., Parkin K. (2002) Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts from phenotypes of different pigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**: 6704–6709.
- [76] Gengatharan A., Dykes G.A., Choo E.S. (2015) Betalains: natural plant pigments with potential application in functional foods. *LWT Food Science and Technology*, **64**: 645–649.
- [77] Clemente A.C., Desai P.V. (2011) Evaluation of the haematological, hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant properties of *Amaranthus tricolor* leaf extract in rat. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **10**: 595–602.
- [78] Zielinska-Przyjemska M., Olejnik A., Dobrowolska-Zachwieja A., Grajek W. (2009) In vitro effects of beetroot juice and chips on oxidative metabolism and apoptosis neutrophils from obese individuals. *Phytotherapy Research*, **23**: 49–55.
- [79] Hilou A., Nacoulma O.G., Guiguemde T.R. (2006) In vivo antimalarial activities of extracts from *Amaranthus spinosus* L. and *Boerhaavia erecta* L. in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **103**: 236–240.
- [80] Alves J. C. R., Mota M. O., & M., C. (2014) A figueira-da-índia. Retrieved January 25, 2016, from <http://www.agronegocios.eu/noticias/a-figueira-da-india/>.
- [81] Ashraf N.M.E., Zeinab I.N., Sahar A.R. (2011) Prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill] peels: chemical composition, nutritional value and protective effects on liver and kidney functions and cholesterol in rats. *Functional Plant Science and Biotechnology*, **5**: 30–35.
- [82] Kossori R.L. El, Villaume C., Boustani E. El, Sauvaire Y., & Méjean L. (1998) Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp.). *Plant Foods for Human Nutrition*, **52**: 263–270.
- [83] Patro R. (2013) Figueira-da-índia – *Opuntia ficus-indica*. Retrieved February 22, 2016, from <http://www.jardineiro.net/plantas/figueira-da-india-opuntia-ficus-indica.ht>.
- [84] DeFelice M. (2004) Prickly pear cactus, *Opuntia* spp.—A Spine-Tingling Tale. *Weed Technology*, **18**: 869–877.

- [85] Stintzing F.C, Carle R. (2005) Cactus stems (*Opuntia spp.*): a review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition and Food Research*, **49**: 175 – 194.
- [86] Tesoriere L., Fazzari M., Angileri F., Gentile C., Livrea M.A. (2008) In vitro digestion of betalainic foods. Stability and bioaccessibility of betaxanthins and betacyanins and antioxidative potential of food digesta. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**: 10487–10492.
- [87] Pourrat A., Lejeune B., Grand A., Bastide P., Bastide J. (1987) Propriétés du jus et des colorants de la betterave rouge. *Médecine Nutr*, **23**: 166–72.
- [88] Poljsak B., Šuput D., Milisav I. (2013) Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **11**, from <http://doi.org/10.1155/2013/956792>. Barreiros, A. L. B. S., & David, J. P. (2006).