



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

COMPOSICIÓN, PROPIEDADES Y USOS DE LAS BETALAÍNAS
Y EL ANNATTO EN ALIMENTOS Y BEBIDAS

TRABAJO ESCRITO VÍA CURSOS DE EDUCACIÓN CONTINUA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA:

MARIANA SÁNCHEZ ARAIZA

RODOLFO FONSECA LARIOS



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Ruiz Terán Francisco
VOCAL: Fonseca Larios Rodolfo
SECRETARIO: Sánchez Chinchillas Argelia
1er. SUPLENTE: Montiel Pacheco Carmina

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

EDIFICIO H, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

ASESOR DEL TEMA: FONSECA LARIOS RODOLFO

SUSTENTANTE: SÁNCHEZ ARAIZA MARIANA

Índice

1. Introducción.....	1
2. Objetivo General.....	5
Objetivos Particulares.....	5
3. Colorantes.....	6
3.1 Definición	6
3.2 Clasificación	7
3.3 Colorantes Naturales.....	8
4. Annatto.....	10
4.1 Obtención.....	15
4.2 Factores que afectan su estabilidad	20
4.2.1 Oxidación	20
4.2.2 Temperatura.....	22
4.2.3 Luz.....	23
4.2.4 pH	25
4.3 Especificaciones y parámetros de calidad.....	26
4.4 Usos y aplicaciones.....	29
5. Betalaínas.....	30
5.1 Obtención.....	33
5.2 Factores que afectan su estabilidad	36
5.2.1 pH	37
5.2.2 Temperatura.....	38
5.2.3 Oxígeno.....	40
5.2.4 Luz.....	40
5.2.5 Actividad de agua (a_w).....	41
5.3 Especificaciones y parámetros de calidad.....	41
5.4 Usos y aplicaciones.....	42
6. CONCLUSIONES.....	44
BIBLIOGRAFÍA	45

1. Introducción

De acuerdo con la COFEPRIS en el “Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias”(2012), un aditivo alimentario es: *“Cualquier sustancia que en cuanto tal no se consume normalmente como alimento, ni tampoco se usa como ingrediente básico en alimentos, tenga o no valor nutritivo, y cuya adición al producto es con fines tecnológicos en sus fases de producción, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, resulte o pueda preverse razonablemente que resulte (directa o indirectamente) por sí o sus subproductos, en un componente del producto o un elemento que afecte a sus características (incluidos los organolépticos). Esta definición no incluye “contaminantes” o sustancias añadidas al producto para mantener o mejorar las cualidades nutricionales”.*

Los aditivos alimentarios se pueden agrupar según sus funciones como: acidulantes, antioxidantes, colorantes, edulcorantes, espesantes, estabilizantes, gelificantes, inhibidores de cristalización, reguladores de pH, saborizantes y texturizantes entre otros de menor importancia (Durán, 2001).

Los colorantes, en general, son uno de los grupos de aditivos más llamativos y polémicos, ya que son la primera sensación percibida en un alimento (Ibáñez, *et al.*, 2003). El empleo de colorantes responde más a las exigencias de carácter estético de los consumidores, que a necesidades del fabricante o comerciante. Un ejemplo claro son los dulces, sobre todo si están destinados a los niños, para quienes su aspecto atractivo es un factor decisivo en la aceptación o rechazo del producto (Durán, 2001).

El tamaño estimado en el 2016 del mercado de los colorantes usados en la industria alimentaria fue de 1.7 billones de dólares, en el 2006 se estimó que se producían al año 700 toneladas de colorantes sintéticos y naturales (Badui, 2006).

Actualmente los consumidores están más conscientes sobre los ingredientes, aditivos alimentarios, procesamiento y hasta materiales de empaque que se utilizan en los alimentos que adquieren con regularidad. Existe una preocupación por mantener la sustentabilidad y reducir al máximo el consumo de alimentos que puedan contribuir al cambio climático y al equilibrio de ecosistemas que pongan en riesgo la vida de especies vegetales y animales en nuestro planeta. Debido a una precaria investigación y una carente estrategia de comunicación por parte de la industria alimentaria, el uso de aditivos se puede apreciar como una elección con cierta connotación negativa, aunque en la realidad el consumidor obtiene beneficios de su uso, no solo desde un punto de vista nutrimental, funcional, estético e incluso, de tipo sanitario (Durán, 2001).

Como se mencionó, actualmente el consumidor prefiere alimentos donde no exista la presencia de aditivos, sin embargo, el consumidor también manifiesta que en caso de que éstos deben ser añadidos para mejorar la calidad de los mismos, que dichos aditivos sean de origen natural y evitar en lo posible el consumo de productos que contengan aditivos sintéticos. Por esta razón, desde hace ya algunas décadas, los aditivos alimentarios naturales han ganado terreno y cada vez despiertan un mayor interés y preferencia, tanto por parte del mercado, como de los fabricantes de alimentos y bebidas (Restrepo, 2007; Carochó, *et al.*, 2015).

Parte del temor manifestado por el consumidor respecto a la ingesta de alimentos con aditivos alimentarios artificiales que puedan ser nocivos para la salud, se debe a una serie de información que éste recibe, sobre todo a través de los medios de comunicación no especializados, y que argumentan sin fundamento científico el uso de inadecuadas prácticas de manufactura en la utilización de aditivos, con fines exclusivamente comerciales, manifestando que pueden ser nocivos para la salud o la integridad de los consumidores (Durán, 2001).

Es una obligación tanto de los académicos como de los industriales dentro del sector alimentario proporcionar información veraz, clara y accesible para los consumidores sobre estos compuestos, que se agregan intencionalmente a los alimentos -para

mejorar sus atributos- en el sentido de comprobar su inocuidad y que en ningún caso representan un problema sanitario en contra del consumidor (Carocho,2015).

Lo anterior ha propiciado una mayor investigación en el campo de los colorantes, enfocándose principalmente en la obtención de colorantes naturales y buscar una sustitución gradual de los colorantes artificiales (Restrepo, 2007). Esto debido a que los colorantes naturales pueden presentar algunas limitaciones en el proceso de manufactura de diversos productos, ya que tienden a ser sensibles a las altas temperaturas y generalmente son oleosolubles lo que complica su adición a la gran mayoría de los productos alimenticios. Sin embargo, la gran ventaja que presentan los colorantes naturales sobre los artificiales es que no tienen limitaciones sobre uso desde el punto de vista normativo, solo se recomienda utilizarlos bajo las buenas prácticas de manufactura.

El objetivo del presente proyecto es realizar una revisión monográfica y de actualización sobre la composición, propiedades y usos de dos colorantes de origen natural: el annatto y las betalaínas. Ya que en México a pesar de su potencial, se ha mostrado poco interés a los cultivos de los cuales se obtienen estos colorantes. En el caso del achiote es empleado principalmente para fines gastronómicos como condimento en platillos tradicionales y en el caso del cultivo de remolacha se cultiva la remolacha azucarera (FAO, 2006; Avendaño-Arrazate, *et al.*, 2018). Sin embargo, en el mundo el achiote se aplica en la industria de la cerámica, en la elaboración de barnices, pinturas y lacas, en la tinción de telas de seda y algodón y en la industria alimentaria como colorante en mantequillas, quesos, helados, yogur, bebidas y postres, así como en la industria de cosméticos, farmacéutica y productos dedicados al cuidado del cuerpo. Mientras que en el caso de la remolacha se puede usar como forraje y a partir de la remolacha roja se pueden obtener las betalaínas, las cuales se pueden utilizar como base para suplementos dietéticos, en celdas solares, como colorantes textiles, como biosensores químicos, fluoróforos para marcar proteínas y marcadores para la transformación genética y también como colorante alimentario natural en helados, bebidas lácteas, productos lácteos,

glaseados y decoraciones (Avendaño-Arrazate, *et al.*, 2018; Polturak & Aharoni, 2018).

Esta investigación contempla desde las generalidades de cada colorante, hasta su uso en la Industria Alimentaria y de Bebidas. La finalidad es realizar una recopilación de información actualizada sobre ambos colorantes, y exponga la realidad veraz sobre la inocuidad y beneficios que ambos colorantes brindan en una extensa gama de alimentos.

2. Objetivo General

- Realizar una recopilación de información actualizada del Annatto y de las Betalaínas, describiendo su composición, propiedades y usos como colorantes naturales para exponer el potencial, la inocuidad y los beneficios de ambos colorantes en de la Industria Alimentaria

Objetivos Particulares

- Describir la composición química y características del annatto y de las betalaínas e identificar los factores que inciden en su estabilidad.
- Comparar los distintos procesos de obtención del annatto y de las betalaínas en relación a su eficiencia
- Revisar diferentes aplicaciones que pueden tener el annatto y las betalaínas en la Industria Alimentaria.

3. Colorantes

3.1 Definición

De acuerdo con la *Code of Federal Regulations (CFR) 21 Part 70*, que es el Código de Regulaciones Federales que rige a los alimentos y fármacos dentro de los Estados Unidos de América, un colorante es *“cualquier material, tinte, pigmento u otra sustancia elaborada mediante un proceso de síntesis, extraído, aislado o derivado de otra manera, con o sin cambio de identidad intermedio o final, de una fuente vegetal, animal, mineral u otra fuente, y que cuando se agrega o aplica a un alimento, medicamento o cosmético, es capaz (solo o mediante reacción con otra sustancia) de impartir un color”*

El color es uno de los atributos más importantes que incide directamente en la elección de alimentos y el deseo de comer o apetito de los consumidores. Éste afecta al reconocimiento del sabor y la aceptabilidad del producto (Sezgin, 2017).

Los colorantes se pueden agregar generalmente en alimentos procesados como: bebidas, bocadillos, caramelos, fondant, gelatinas, gomas de mascar, margarina, pudines, quesos, refrescos y rellenos de pastelería entre otros (Sezgin, 2017).

Hoy en día, debido al desarrollo de la industria alimentaria, y la evolución misma del mercado, la necesidad de colorear los productos alimenticios ha aumentado por diversas razones (Sezgin, 2017):

- Restaurar el color natural perdido durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos.
- Realzar y estandarizar el color existente.
- Fortalecer cuando el color original del alimento es débil.
- Colorear los alimentos y bebidas que en realidad son incoloros.
- Dar identidad y una idea sobre el sabor del alimento en cuestión.

3.2 Clasificación

De acuerdo con la Food and Drug Administration (FDA) y el *CFR 21, Part 70-74, 80 y 82*, los colorantes alimentarios están regulados por separado de otros aditivos alimentarios y no pueden recibir el estado de Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS, por sus siglas en inglés).

Los colorantes alimentarios se pueden clasificar debido a su origen en tres grupos (Carocho, 2015):

- Colorantes naturales.
- Colorantes idénticos a los naturales, que químicamente tienen la misma estructura pero que son sintetizados en forma industrial.
- Colorantes artificiales o sintéticos.

Las regulaciones actuales de la FDA clasifican a los colorantes en dos tipos (Sigurdson, *et al.*, 2017):

- **Certificados:** Se sintetizan químicamente, cada lote del colorante producido debe evaluarse para determinar su identidad y nivel de pureza para que sea apto para consumo.
- **Exentos de certificación:** Pigmentos naturales derivados de fuentes naturales de plantas, animales o minerales, pero que también incluyen aquellos que son sintetizados idénticos a los naturales

La clasificación de los colorantes como certificados o exentos de certificación distingue si la FDA considera que los colorantes son sintéticos o naturales (Sigurdson, *et al.*, 2017).

3.3 Colorantes Naturales

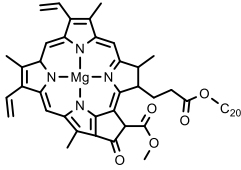
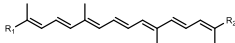
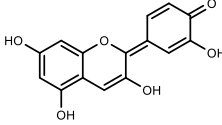
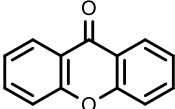
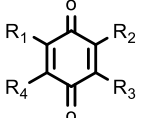
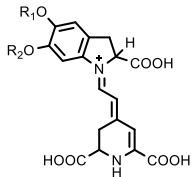
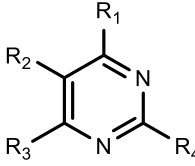
De acuerdo con la Natural Food Colours Association (NATCOL) los colorantes alimentarios naturales son los que proceden de fuentes como verduras, frutas, , minerales y otras fuentes naturales comestibles. Estos se pueden obtener por extracción física y/o química resultando en una extracción selectiva de los pigmentos.

Sin embargo, hoy en día no se tiene una definición legal de colorante natural, lo que genera confusión entre el consumidor y la industria, por lo que para decir que un colorante es natural, se sugiere seguir estas disposiciones para llamar a un colorante como natural:

- Presencia e identificación de la sustancia en la naturaleza.
- Obtención de la sustancia a partir de una materia prima natural.
- Principios aplicables a los procesos de fabricación empleados.

Se puede clasificar a los colorantes naturales de acuerdo con los grupos funcionales que los caracterizan, como se muestra en la Tabla 1 (Lock, 1997).

Tabla 1. Clasificación de los colorantes naturales según su naturaleza química (Lock, 1997).

Naturaleza Química	Ejemplos	Color predominante	Rango de absorción a la mayor λ [nm]	Ejemplo de las estructuras químicas
Tetrapirroles (lineales y cíclicos)	Ficobilinas	Azul-verde Amarillo-rojo	610-650 (ficocianinas) 540-570 (ficoeritrinas)	
	Clorofila	Verde	640-660	
Carotenoides (tetraterpenoides)	Carotenoides	Amarillo-anaranjado	400-500	
Flavonoides	Flavonas	Blanco-crema	310-350	
	Flavonoles	Amarillo-blanco	330-360	
	Chalconas	Amarillo	340-390	
	Auronas	Amarillo	380-430	
	Antocianinas	Rojo-azul	480-550	
Xantonas	Xantonas	Amarillo	340-400	
Quinonas	Naftoquinonas	Rojo-azul-verde	420-460	
	Antraquinonas	Rojo-púrpura		
Derivados indigoides e indoles	Índigo	Azul-rosado	470-485 (betaxantinas) 530-554 (betacianinas)	
	Betalaínas	Amarillo-rojo		
Pirimidinas sustituidas	Pterinas	Blanco-amarillo		
	Flavinas	Amarillo		
	Fenoxazinas	Amarillo-rojo		
	Fenazinas	Amarillo-púrpura		

La legislación de cada país en que el alimento se va a comercializar determina cuál o cuáles colorantes naturales pueden emplearse.

En la Tabla 2 se muestra una lista con los principales colorantes naturales de uso en la Industria Alimentaria y si están permitidos en la legislación de EUA, Europa y en México.

Tabla 2. Colorantes permitidos en EUA, Europa y México.

Colorante	EUA	Europa	México
Antocianinas	Permitido	Permitido	Permitido
Betabel (Betalaínas)	Permitido	Permitido	Permitido
Carbon black	No permitido	Permitido	Permitido
Carotenos	Permitido (No permite el éster etílico del ácido beta-apo-8-carotenoico)	Permitido	Permitido
Clorofila	Permitido	Permitido	Permitido
Color Caramelo	Permitido	Permitido	Permitido
Complejos cúpricos y sódicos de clorofilina	No permitido	Permitido	Permitido
Cúrcuma	Permitido	Permitido	Permitido
Dióxido de Titanio	Permitido	Permitido	Permitido
Espirulina	Permitido	Permitido	Permitido
Extracto de Annatto	Permitido	Permitido	Permitido
Extracto de Cochinilla	Permitido	Permitido	Permitido
Licopeno	Permitido	Permitido	Permitido
Luteína	No permitido	Permitido	Permitido
Paprika	Permitido	Permitido	Permitido
Riboflavina	Permitido	Permitido	Permitido

4. Annatto

El annatto es un colorante natural que se obtiene a partir de las capas externas (pericarpio) de las semillas del arbusto tropical *Bixa orellana L*, en la figura 1 se ilustra este último. Los extractos de annatto se formulan generalmente para impartir

tonos de color en el rango de rojo-naranja-amarillo en diferentes alimentos (Prabhakara, 2005).



Figura 1. A) Cultivo de achiote, B) arbusto de achiote, C) semillas de achiote.

El cultivo del achiote es originario de la América Tropical. En el tiempo en el que llegaron los europeos, el achiote era cultivado desde México hasta Brasil, Figura 2, siendo su área de origen, posiblemente, la hoya amazónica (Devia, 2003). Como se mencionó, la planta del achiote es un arbusto el cual puede crecer en altitudes desde 100 hasta 1000 m.s.n.m. (metros sobre el nivel del mar), aunque prospera mejor en zonas relativamente bajas (100 a 500 m) y planas, además, puede soportar temperaturas desde 24 hasta 35 °C (Camacaro, 2018).



Figura 2. Países de donde es originario el cultivo de achiote (Devia, 2003).

El arbusto de la planta del achiote es de rápido crecimiento, y puede alcanzar de cuatro a seis metros de altura, presenta flores de color blanco o rosado según sea la variedad; el fruto es una cápsula de color pardo rojizo o amarillo verdoso que contiene de 30 a 45 semillas cubiertas por una delgada capa, que, por su contenido de Bixina, es de color rojo o anaranjado y constituye la sustancia tintórea. Botánicamente tiene la siguiente clasificación (Devia, 2003):

- Subdivisión: Angiosperma
- Clase: Dicotiledóneas
- Orden: Parietales
- Familia: Bixáceas
- Género: *Bixa*
- Especies: *B. Orellana* Linneo, *B. Sphaerocarpa* Triana, *B. Urucurana* Willd, *B. Purpurea* Hort, etc.

En México, los estados que se dedican al cultivo del achiote son, Figura 3, siendo el estado de Quintana Roo el de mayor producción.



Figura 3. Estados de la Republica Mexicana donde se cultiva el achiote (Zamora-Bustillos & Sandoval-Gío, 2018).

En la Unión Europea, el annatto y sus extractos se designan como aditivos con el número E160b. Tanto en la Unión Europea como los Estados Unidos de Norteamérica y en México, se usa para brindar un color muy atractivo, que puede ir desde el rojo hasta el amarillo, a productos de confitería, para harinas y azúcar, productos lácteos, alimentos salados y platillos muy tradicionales, bebidas y refrescos, bases de fruta y pescado, entre muchos otros (Kendrick, 2012).

Los principales compuestos de color del annatto, los cromóforos, son los carotenoides bixina y norbixina. Estos químicamente son muy similares, pero sus diferencias son responsables de que existan cambios en su solubilidad, estabilidad y comportamiento cromatográfico (Scotter, 2009).

Es la deslocalización de los electrones π a lo largo de la cadena principal del polieno lo que da a los carotenoides sus espectros electrónicos característicos y es en gran parte responsable de las propiedades foto-físicas y fotoquímicas de estas moléculas, incluida la foto-isomerización cis-trans (Badui-Dergal, 2006).

La mayoría de los carotenoides de origen natural existen predominantemente en la forma trans (Badui-Dergal, 2006). Sin embargo, la bixina se presenta predominantemente como el isómero cis, que tiene esta configuración alrededor del doble enlace 9'-trisustituido (Scotter, 2009).

El componente colorante principal del annatto es el apo-carotenoide 9'-cis-bixina ($C_{25}H_{30}O_4$), como se muestra en la Figura 4, el cual se encuentra hasta en un 80% (Balaswamy, *et. al.*, 2006).

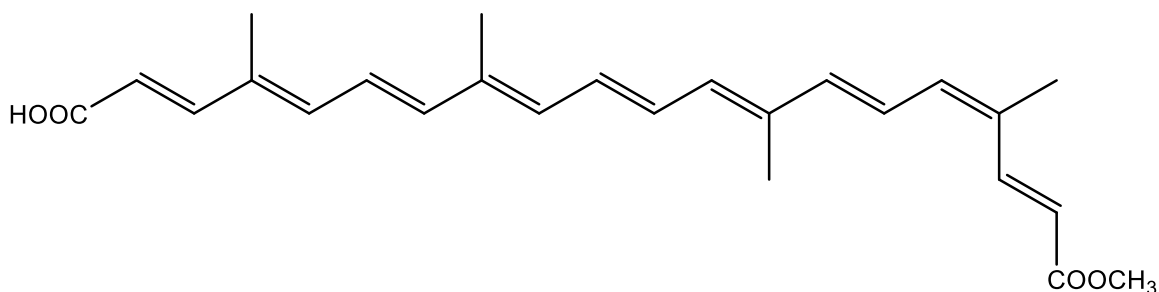


Figura 4. Estructura química de la 9'-cis-bixina.

La 9'-cis-bixina es soluble en la mayoría de los disolventes orgánicos polares, a los que les imparte un color naranja, pero es en gran parte insoluble en aceite vegetal, generalmente se encuentran soluciones en aceite del 0.1 al 0.3% (Kendrick, 2012).

Por su parte, la trans-bixina, Figura 5, es el isómero más estable y tiene propiedades similares al isómero cis, pero exhibe un color rojo en disolución y es soluble en aceite vegetal (Scotter, 2009).

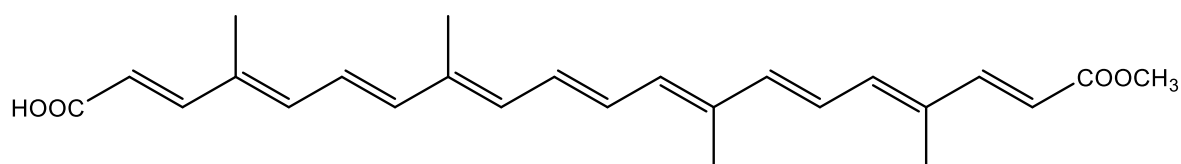


Figura 5. Estructura química de la 9'-trans-bixina.

El derivado soluble en agua es la 9'-cis-norbixina (C₂₄H₂₈O₄), Figura 6, que también lo es en disolventes polares, a los que imparte un color naranja. La 9'-cis-norbixina es escasamente soluble en cloroformo e hidróxido de sodio 0,1 M (Delgado-Vargas & Paredes-López, 2003) .

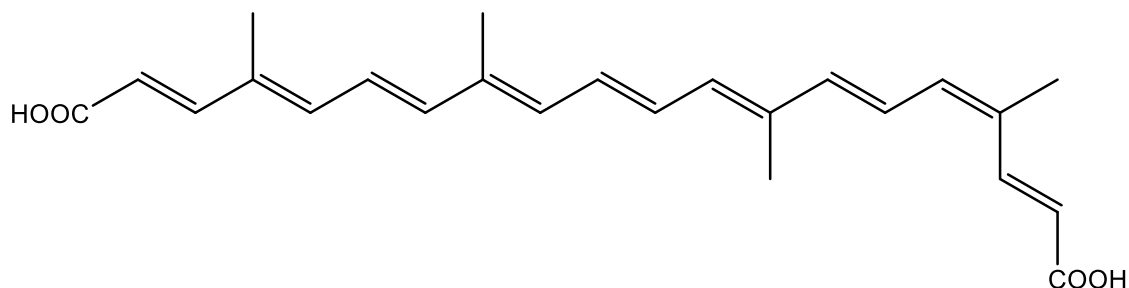


Figura 6. Estructura química de la 9'-cis-norbixina.

4.1 Obtención

La bixina se obtiene mediante la extracción de la cubierta exterior de las semillas del annatto (*Bixa orellana L.*) con uno o más de los siguientes disolventes: acetona, metanol, hexano, diclorometano o dióxido de carbono, seguida de una eliminación total del disolvente. Esto último se hace por medio de un secado al vacío donde

queda el polvo de bixina, los disolventes usados se pueden recuperar para volver a usarse por medio de destilación al vacío, pero esto ya implica costos adicionales al proceso (Guarin-Lizarazo,2019).

La 9'-cis-bixina se puede convertir en el isómero trans debido a su inestabilidad en la forma aislada en disolución. Comercialmente, la isomerización cis a trans de la bixina se puede lograr calentando una suspensión del isómero cis en aceite a 130 °C al vacío (Scotter, 2009).

En condiciones de extracción, la 9'-cis-bixina sufre una isomerización para producir disoluciones oleosas que contienen aproximadamente 0.2 a 0.5% de pigmento que comprende una mezcla de trans y 9'-cis-bixina en proporciones variables y productos de degradación característicos, m-xileno, y el 4,8, éster monometílico de dimetil-tetradecahexanodioco ácido mejor conocido como C₁₇ y tolueno, según la temperatura y el tiempo de extracción (Scotter, 2009).

La 9'-cis-norbixina también puede aislarse de semillas de achiote por agitación en una solución con álcali a menos de 70 °C o se puede extraer a partir de una hidrólisis alcalina en agua de cis-bixina para obtener su sal de sodio o potasio (Erazo & Caso, 2001) .

Los extractos de annatto en base oleosa se preparan mediante una extracción de la cubierta externa de las semillas del árbol del achiote (*Bixa orellana L.*) con aceite vegetal comestible. El extracto de annatto en aceite contiene varios componentes coloreados, de los cuales el principal es la bixina, que puede estar presente en forma cis y trans, pero también pueden estar presentes productos de la degradación térmica de la bixina (Guarin-Lizarazo,2019).

En las Figuras 7, 8 y 9 se pueden observar los diagramas de la obtención de bixina con disolventes orgánicos, la obtención de norbixina con álcali y la obtención de bixina con aceite vegetal, respectivamente.

Es importante señalar la relevancia que tiene el pH para la extracción del colorante, si es un pH sumamente básico la bixina pasara a ser norbixina debido a la

generación de una reacción de saponificación, sin embargo, la eficiencia de la extracción es mejor a pH básicos.

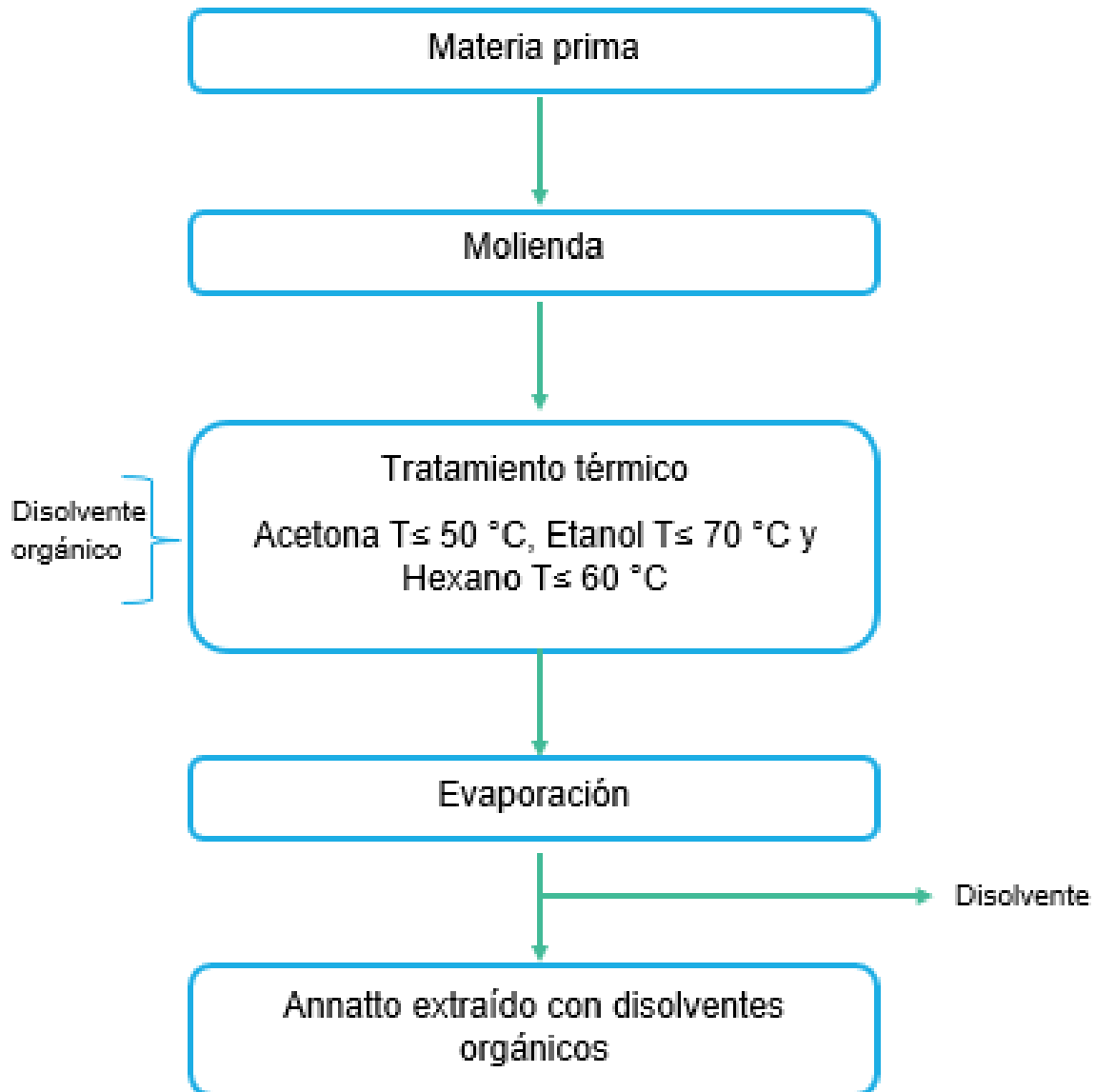


Figura 7. Proceso de obtención del annatto con disolventes orgánicos (Guarin-Lizarazo,2019)

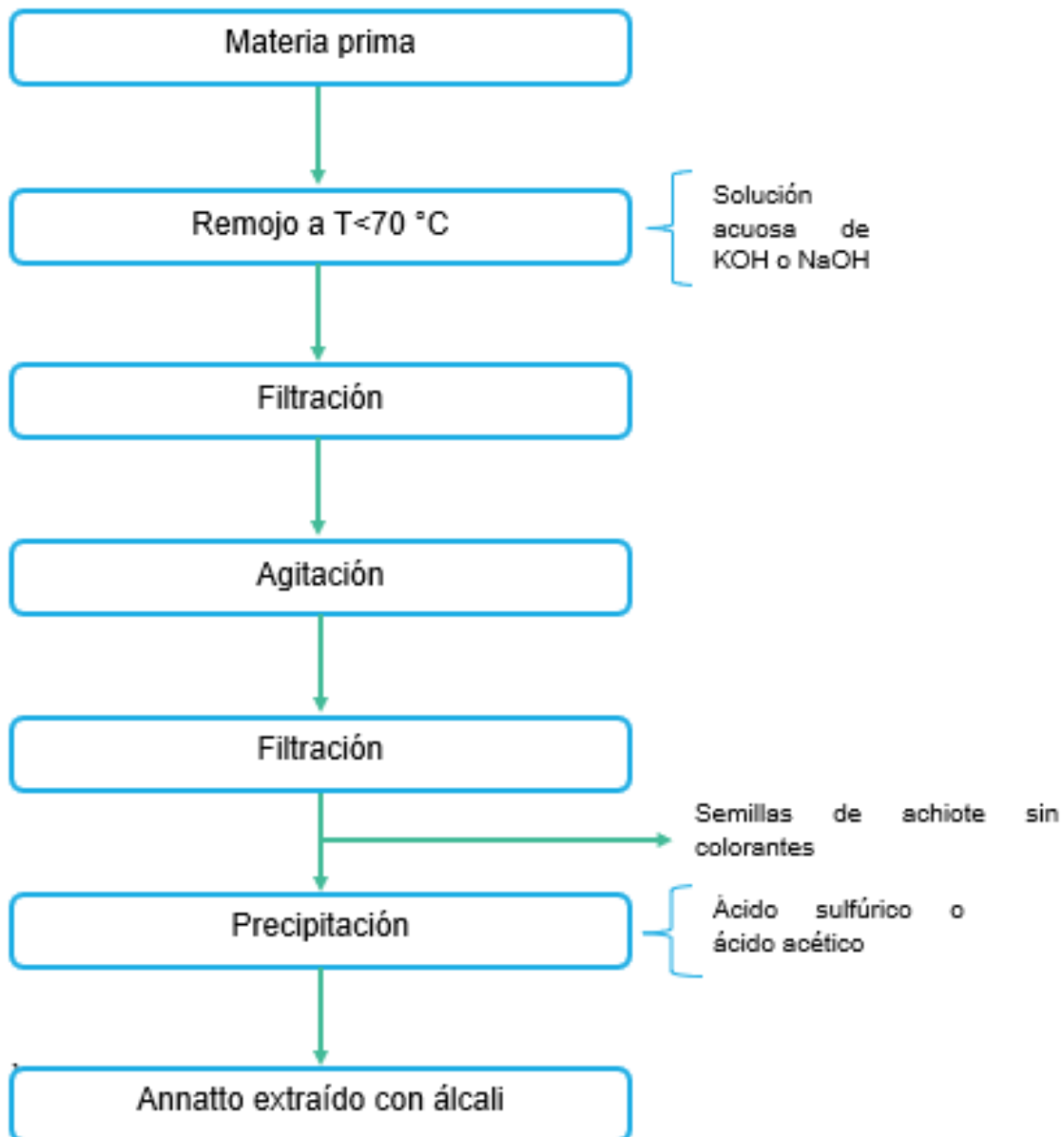


Figura 8. Proceso de obtención del annatto con álcalis (Erazo & Caso, 2001)

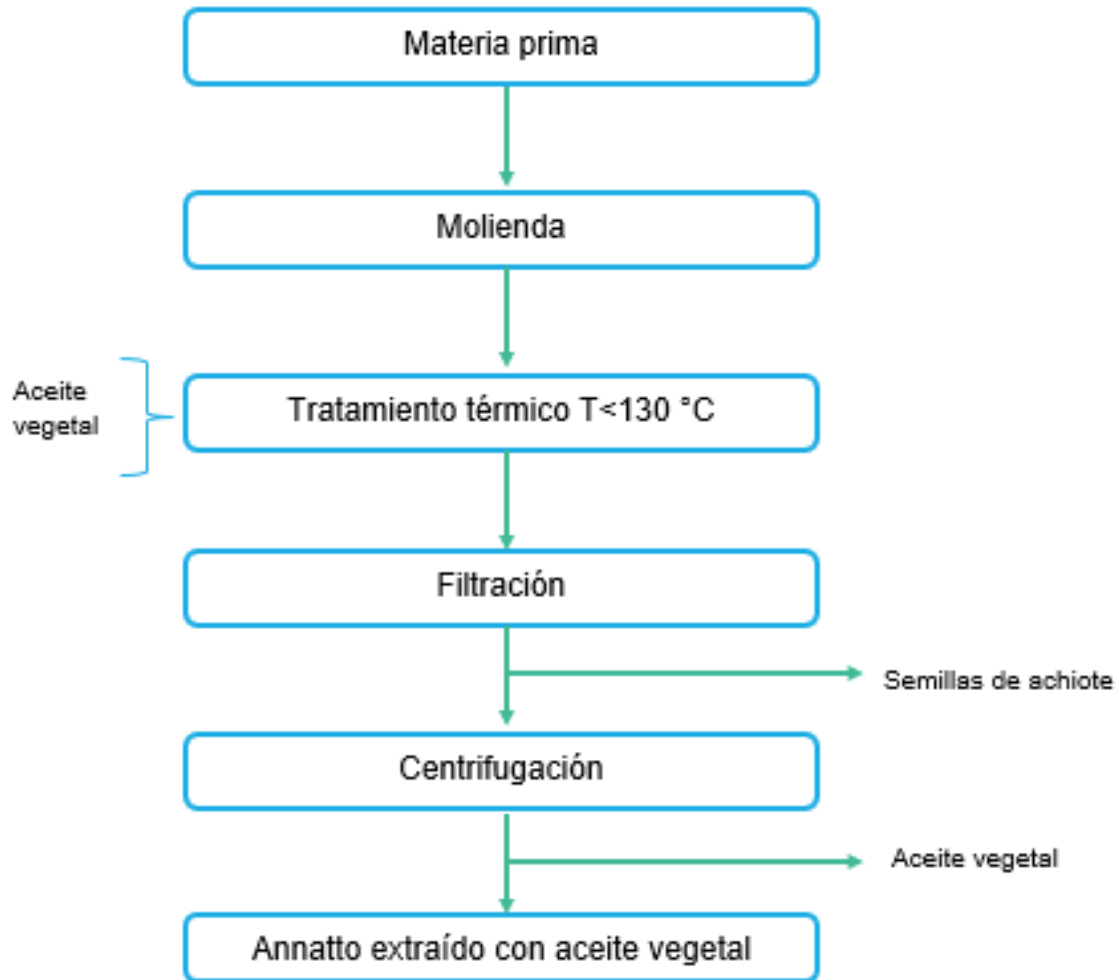


Figura 9. Proceso de obtención del annatto con aceite vegetal (Guarin-Lizarazo, 2019)

Entre los diferentes métodos y disolventes conocidos para extraer el colorante del achiote, se debe tomar en cuenta que (Devia, 2003):

- El proceso de obtención del colorante con mejor rendimiento y calidad es el que emplea hidróxido de potasio en disolución al 2% P/V (Jaramillo-Moreno & Muñoz-Moreno, 1992).
- Según Proexport, los disolventes que extraen un porcentaje de compuesto activo por encima del 30%, son el acetato de etilo y el hidróxido de potasio.
- De los disolventes aceptados, el hidróxido de potasio es el más económico, porque algunos otros disolventes pueden ser recuperados por destilación al

vacío, sin embargo, éste es un procedimiento que implica costos adicionales para el proceso.

La selección adecuada de semillas es muy importante ya que se ha comprobado que mientras más frescas se encuentren, mejor rendimiento y calidad se obtendrá, el rendimiento de la extracción también depende del estado de maduración de la semilla (Devia, 2003).

4.2 Factores que afectan su estabilidad

Se sabe que la cadena de polieno que está presente en todos los carotenoides es la responsable de la inestabilidad de éstos, debido a la susceptibilidad que presenta a la oxidación por diversos agentes como (Kendrick, 2012):

- oxígeno y peróxidos.
- la adición de ácidos
- la isomerización cis/trans debida a factores como la temperatura y la luz.

Otras reacciones indeseables también pueden ser favorecidas por una alta temperatura, por encima de los 125 °C, y una constante exposición a la luz, así como también debe evitarse su exposición a ácidos y álcalis fuertes (Kendrick, 2012).

4.2.1 Oxidación

Durante el aislamiento y análisis de los carotenoides, se recomienda la exclusión de la presencia de aire atmosférico por un gas inerte o de vacío para minimizar el riesgo de la oxidación, destrucción o de reacciones no deseadas y esta condición incluye el caso del annatto (Scotter, 2009).

El annatto, y en especial la norbixina, es susceptible a la oxidación, particularmente cuando se aplica en forma de polvo, debido a su gran superficie de contacto. Por lo

que se recomienda adicionar además del colorante, algún agente que tenga un efecto estabilizador como podrían ser el ácido cítrico o el ácido ascórbico de acuerdo con el tipo de producto. Otra recomendación es emplear goma acacia o maltodextrina como vehículo y agente encapsulante para evitar oxidación durante el proceso de secado de la norbixina (Scotter, 2009).

Por su parte, la bixina es más estable al encontrarse en sistemas alimentarios con un valor medio o de alta actividad de agua (0.6-0.9). Esto se debe a la gran capacidad del agua para excluir el oxígeno de los materiales liposolubles mediante adsorción superficial, aquí el enlace de hidrógeno con hidroperóxidos inactiva la catálisis por la acción de iones metálicos, reduce los radicales libres y disminuye la estabilidad del oxígeno singlete (Boon, *et. al.*, 2010).

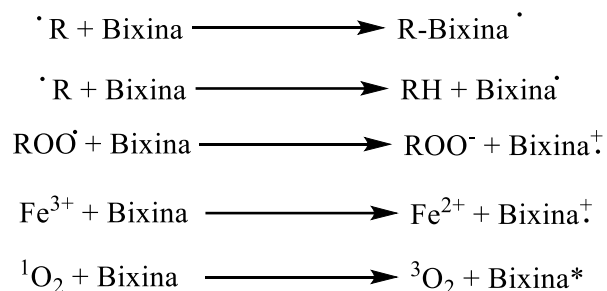


Figura 10. Reacciones de degradación de la bixina por radicales libres, cationes metálicos y oxígeno singlete (Boon, *et. al.*, 2010)

Se ha encontrado que la oleoresina de achiote preparada por extracción de aceite vegetal proveniente de semillas es más estable que una formulación de bixina en polvo durante su almacenamiento, en períodos de aproximadamente 1 año, siendo la luz ultravioleta el principal factor de esta degradación.

Se ha observado que el annatto inhibe la formación de hidroperóxidos, quienes desencadenan a su vez la autooxidación de los triglicéridos al atrapar los radicales peróxido (Scotter, 2009).

En conclusión, una rápida pérdida de color en el alimento puede ocurrir siempre y cuando en el sistema se promueva la formación de radicales libres (Scotter, 2009).

4.2.2 Temperatura

Tanto la bixina como la norbixina presentan una buena estabilidad térmica durante el procesamiento de alimentos en comparación con otros carotenoides (Kendrick, 2012).

La 9'-cis-bixina sufre una serie de reacciones de degradación a las temperaturas de extracción comerciales, para producir una gama de productos coloreados que van desde un tono amarillo pálido hasta un color naranja brillante (Scotter, 2009).

El análisis termogravimétrico se ha utilizado para investigar la degradación térmica de la bixina obtenida a partir de semillas de achiote con diferentes condiciones de calentamiento dentro de un intervalo que está entre los 25-900 °C. Los resultados obtenidos indican que la descomposición del sólido 9'-cis-bixina ocurre en la fase líquida cuando la temperatura fluctúa entre los 205-545 °C, presentándose una isomerización a la forma trans que ocurre entre los 200-240 °C (Scotter, 2009).

Se ha estudiado el efecto de las condiciones de procesamiento utilizadas para la preparación de alimentos tradicionales de India para evaluar la estabilidad de la bixina, entre estos, se encuentra el horneado, la fritura, la cocción en microondas y cocción aplicando una presión controlada. También se ha estudiado en procesos orientados a la preparación de pasteles, *chegodis* (botana india frita hecha a base de harina de arroz), galletas y arroz frito. Las mayores pérdidas de bixina se observaron en la exposición directa al horneado (pérdida de un 54%) y al hacer un freído en mucha grasa (47%), mientras que en la cocción con microondas el color no se vio afectado durante exposición directa o aplicada en productos alimenticios. En bocadillos con un freído profundo se observó una pérdida máxima de bixina de un 65%, debida en gran parte a la disolución de este colorante en el aceite. Finalmente, en la cocción a presión, se observaron pérdidas entre un 25-33%. En

el caso de los pasteles, la pérdida fue de un 30%, pero se encontraron pérdidas insignificantes en el caso de galletas (sólo un 1.5%) (Prabhakara, 2005).

Tabla 3. Porcentaje de pérdida del colorante bixina en diferentes productos alimenticios sometidos a diferentes procesos de cocción (Prabhakara, 2005).

Proceso	Porcentaje de pérdida
Horneado	54
Freído	47
Freído profundo	65
Cocción a presión	25-33
Cocción por microondas	0

4.2.3 Luz

La exposición directa a la luz, degrada a los carotenoides y esta reacción predomina sobre la destrucción directa por oxígeno. Se han propuesto varios mecanismos de acción (Flores-Juárez, 2018):

- La fotooxidación que produce una especie de cationes radicales.
- Las moléculas del carotenoide en el estado excitado pueden volver al estado fundamental, donde pueden ser atacadas por subproductos o radicales que se han producido durante la reacción anterior y que van a experimentar un proceso de degradación un poco más lento, y que posiblemente promuevan la formación de cationes radicales.

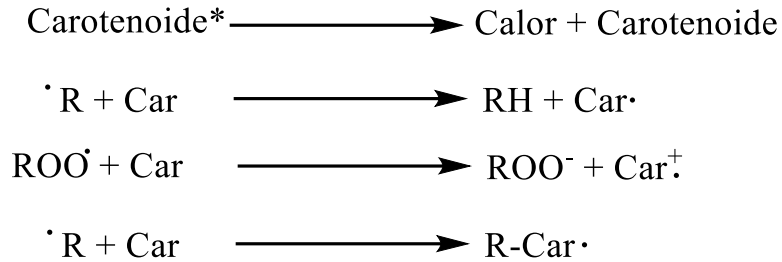


Figura 11. Reacción del carotenoide al regresar del estado excitado con las subsecuentes reacciones de degradación del carotenoide por radicales libres (Boon, *et. al.*, 2010)

Se realizó un estudio donde se midió el grado de degradación de un extracto de bixina microencapsulado y un extracto de bixina puro por 30 días y se observó que la tasa de degradación de la bixina en el extracto microencapsulado fue menor al ser de aproximadamente solo un 0.05% por día, mientras que la del extracto puro fue de un poco más del doble, con un valor promedio del 0.11% por día (Balaswamy, *et. al.*, 2006).

También se han realizado estudios en los cuales se sometieron algunas soluciones comerciales de achiote (norbixina) solubles en agua, bajo diferentes tratamientos de temperatura, durante un tiempo específico para investigar la estabilidad del color. La reacción de degradación de la norbixina siguió una cinética de segundo orden, mientras que para otros parámetros de color se obtuvo una cinética de primer orden. Los cambios de color mostraron un aumento de la claridad de la disolución y de un color amarillo, obteniéndose a la vez una disminución del color rojo. Se observó una estabilidad de dos órdenes de magnitud mayor para la bixina en la oscuridad, en comparación con las condiciones iluminadas y en ausencia de luz, mientras que la inestabilidad de la bixina en las soluciones encapsuladas fue aproximadamente diez veces mayor que en los sistemas no encapsulados (Scotter, 2009).

De igual forma, se han estudiado los efectos combinados de la luz y la temperatura sobre el extracto de achiote bajo diferentes condiciones de almacenamiento, mismas que se evaluaron durante un período de 360 días. La oleorresina de annatto fue más estable durante su almacenamiento con respecto al contenido de bixina del

polvo de annatto obtenido por extracción con disolvente de las semillas de achiote. La pérdida de bixina en oleorresinas almacenadas en condiciones de refrigeración (5-8 °C) y protegidas de la luz fue menor (11%) a lo largo de todo el estudio, mientras que se tuvieron pérdidas considerables en el colorante en polvo (23%). Asimismo, la disminución de la bixina almacenada a temperatura ambiente en la oscuridad fue de un 8% y 54% para oleorresina y polvo respectivamente (Balaswamy, *et. al.*, 2006).

En condiciones de luz diurna difusa y temperatura ambiente (20-25°C), las pérdidas fueron del 14% para la oleorresina y del 60% para la versión en polvo, mientras que la semilla de bixina almacenada en sacos de yute mostró una pérdida de sólo un 15% (Scotter, 2009).

Las constantes de velocidad para la degradación de la bixina fueron más altas en el polvo, $k_{2 \text{ sin luz}} = 1.36 \times 10^{-2}$, $k_{2 \text{ luz}} = 1.75 \times 10^{-2}$, comparado con la oleorresina, $k_{2 \text{ sin luz}} = 8.11 \times 10^{-4}$, $k_{2 \text{ luz}} = 1.45 \times 10^{-3}$. Esto se relaciona a que en la oleorresina el color está protegido de la exposición al oxígeno y la luz en comparación con el colorante en polvo por la gran superficie de contacto que éste presenta (Balaswamy, *et. al.*, 2006).

4.2.4 pH

Las formulaciones solubles en agua de annatto basadas en la norbixina son inestables en soluciones ácidas y pueden llegar a precipitar a un pH bajo. Sin embargo, los principales proveedores de formulaciones de colores naturales han superado este problema y tienen disponibles fórmulas estables a los ácidos. Estas son generalmente mucho más débiles en su intensidad de poder tintorial que los productos estándar, por lo que las dosis deben ajustarse (Kendrick, 2012).

Se ha investigado la estabilidad de la norbixina con respecto al efecto del pH en la luz y en la oscuridad. Primero, se varió el pH en un rango entre 6.0 y 11.5, donde la norbixina era soluble en solución acuosa. La reducción del pH de 11.5 a 6, dio como resultado una disminución de la estabilidad de la norbixina durante un período de 24 horas de almacenamiento, tanto en luz, como en oscuridad, y se observó una

interacción entre la presencia de luz y el pH, que dio como resultado un mayor blanqueamiento de norbixina cuando se combinan ambos en un pH reducido (Møller, *et. al.*, 2018).

En un intervalo de pH entre 9.0-11.5, la norbixina mostró una estabilidad similar a cuando se almacenó a la luz, pero se vio muy afectada a pH 6.0-7.5. Mientras que cuando se almacenó en la oscuridad, en este mismo rango, se observó un efecto más lineal del pH (Møller, *et. al.*, 2018).

4.3 Especificaciones y parámetros de calidad

El uso de colorantes alimentarios en México está controlado por el Acuerdo en el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. Éste enlista los usos permitidos del annatto y los niveles máximos de adición en cada uno. En la Tabla 4 se pueden observar algunos de éstos.

Tabla 4. Usos y niveles máximos de adición del annatto en alimentos y bebidas (Acuerdo en el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias).

Categoría de Producto	Límite máximo (mg/kg)
Leche saborizada	0.05
Producto lácteo combinado saborizado	0.05
Mantequilla	20
Quesos madurados	60
Carne fresca	20
Licores	BPF
Bebidas saborizadas no alcohólicas	50 mg/L
Polvo para preparar bebidas saborizadas no alcohólicas	50 mg/L
Productos de panificación	10
Tortillas de maíz nixtamalizado preenvasadas	20

El Reglamento (UE) N° 231/ 2012 de la Comisión Europea del 9 de marzo de 2012, por el que se establecen las especificaciones para los aditivos alimentarios que figuran en los anexos II y III del Reglamento (CE) n° 1333/ 2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, establece las especificaciones de los colorantes alimentarios en la cual se prescriben los criterios de pureza para la bixina y la norbixina extraídas con disolvente, annatto extraído con álcali y annatto extraído con aceite.

Las formulaciones de bixina y norbixina extraídas con disolventes, a menudo se denominan formulaciones de annatto extraídas indirectamente, mientras que el annatto extraído con álcali y aceite se denominan como directamente extraído.

Las especificaciones de pureza, el contenido mínimo del material colorante y los límites máximos permitidos de los solventes residuales, se describen en la Tabla 5.

Tabla 5. Especificaciones de la bixina y norbixina (El Reglamento (UE) N° 231/ 2012).

Parámetro	Especificaciones
Bixina y Norbixina extraídas con disolventes orgánicos	
Contenido mínimo del material colorante	Contenido de polvo de bixina no inferior al 75% de carotenoides totales, expresados como bixina. Contenido de polvo de norbixina no inferior al 25% de carotenoides totales, expresados como norbixina.
Residuos de disolventes	Acetona, metanol y hexano no más de 50 mg/kg por separado o en conjunto. Diclorometano no más 10 mg/kg
Arsénico	No más de 3 mg/kg
Plomo	No más de 2 mg/kg
Mercurio	No más de 1 mg/kg
Cadmio	No más de 1 mg/kg
Annatto extraído con Alcalis	
Contenido mínimo del material colorante	Contiene no menos del 0.1% de carotenoides totales, expresados como norbixina.
Arsénico	No más de 3 mg/kg
Plomo	No más de 2 mg/kg
Mercurio	No más de 1 mg/kg
Cadmio	No más de 1 mg/kg
Annatto extraído con Aceite Vegetal	
Contenido mínimo del material colorante	Contiene no menos del 0.1% de carotenoides totales, expresados como bixina.
Arsénico	No más de 3 mg/kg
Plomo	No más de 2 mg/kg
Mercurio	No más de 1 mg/kg
Cadmio	No más de 1 mg/kg

4.4 Usos y aplicaciones

Según el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación del Reino Unido (MAFF, por sus siglas en inglés), el annatto era el colorante natural más consumido en el Reino Unido, donde el consumo per cápita se estimó en 0.065 mg/kg de peso corporal al día, lo que representa un 12.5% de la ingesta diaria admisible (IDA).

La bixina soluble en aceite vegetal se utiliza generalmente en aplicaciones de alimentos grasos, mientras que la norbixina, debido a su capacidad para unirse fuertemente a las proteínas, es especialmente adecuada para la coloración de alimentos con alto contenido proteico y base acuosa (Scoter, 2009). Al unirse con proteínas, el annatto cambiará ligeramente a un tono más rojo, que se puede ver en aquellos quesos coloreados con annatto (Kendrick, 2012).

Los colorantes que contienen annatto a menudo se combinan con otros aditivos alimentarios, como los emulsificantes, para obtener formas de annatto solubles en agua que además son estables al efecto de ácidos, la presencia de iones metálicos y de sales (Scoter, 2009).

Los principales usos del annatto soluble en aceite vegetal son en productos lácteos y aquellos a base de grasas como mantequilla, margarina, queso procesado, yogur, cremas, postres, productos horneados y aperitivos (Prabhakara, 2005).

Otras aplicaciones del annatto es en helados, pescados amarillos como arenques ahumados, pan rallado, queso Red Leicester y queso fundido enharinado (Kendrick, 2012).

La legislación de la UE restringe el uso del annatto en algunas aplicaciones y respetando niveles específicos; por ejemplo, no está permitido adicionar éste en refrescos en Europa (Kendrick, 2012).

5. Betalaínas

Las betalaínas son pigmentos nitrogenados, solubles en agua, que pueden dar tonalidades que van del rojo-violeta y el amarillo, estas forman una de las principales clases de pigmentos que proporcionan colores muy llamativos, muy similares a los de los órganos de algunas plantas (Polturak & Aharoni, 2018).

Su estabilidad en un amplio rango de pH, las ha convertido en un pigmento de buena elección para la industria alimentaria, donde se utilizan y declaran como colorantes naturales (Polturak & Aharoni, 2018).

Las betalaínas se encuentran en plantas del orden *Caryophyllales* así como en algunas *Basidiomycota*. Dentro de las *Caryophyllales*, las betalaínas se encuentran de manera mutuamente excluyente con las antocianinas, pues no se ha encontrado ninguna planta que produzca naturalmente ambos tipos de colorantes (Pires-Gonçalves, 2012).

Las betalaínas se encuentran predominantemente en frutos y flores, así como en hojas, tallos, raíces y semillas, y hasta ahora se tienen descritos alrededor de unos setenta derivados naturales (Pires-Gonçalves, 2012).

Según su estructura química y propiedades de absorción de luz, las betalaínas se clasifican generalmente en dos grupos: las betacianinas de color rojo-violeta y las betaxantinas que presentan un color amarillo.

Las betacianinas se pueden dividir a su vez en subgrupos que incluyen pigmentos de tipo betanina, gomfrenina, amaranto y buganvilina (Polturak & Aharoni, 2018).

Todas las betalaínas derivan del ácido betalámico, cuya estructura se observa en la Figura 12, y como se mencionó, se dividen en dos grupos (García, 2012; Polturak & Aharoni, 2018):

- Betacianinas, se puede observar su estructura en la Figura 13, las cuales se forman por condensación de una estructura ciclo-DOPA (dihidroxifenilalanina) con el ácido betalámico. Presentan un máximo de absorción aproximadamente a 535–538 nm.

- Betaxantinas, se puede observar su estructura en la Figura 14, las cuales se sintetizan a partir de diferentes compuestos amino y el ácido betalámico. Suelen mostrar su mayor absorción en el rango de 460–480 nm, según la estructura molecular y el tipo de disolvente empleado.

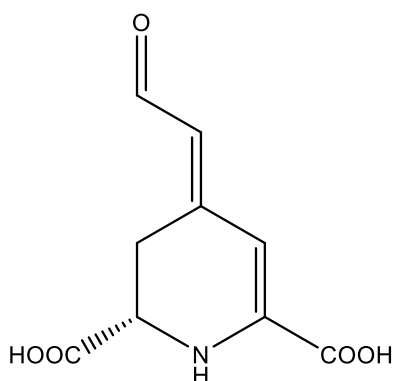


Figura 12. Estructura química del ácido betalámico.

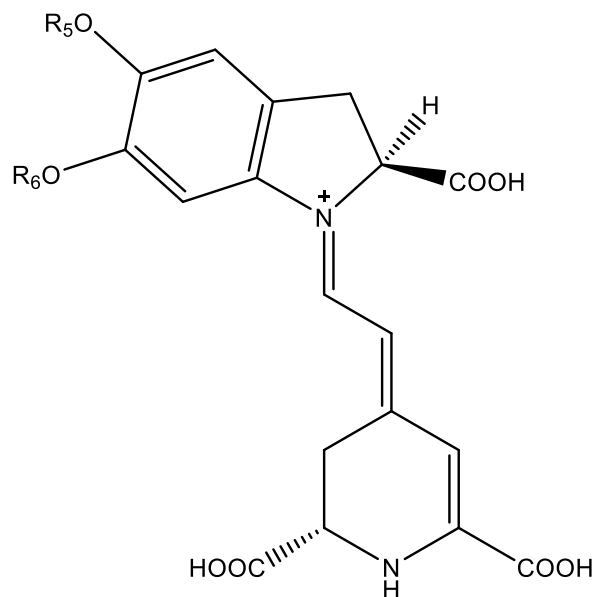


Figura 13. Estructura química básica de las betacianinas.

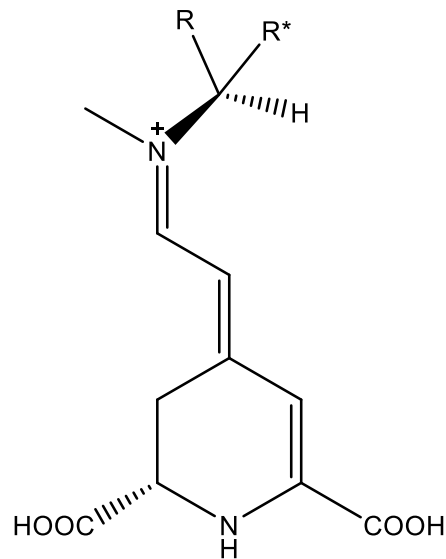


Figura 14. Estructura química básica de las betaxantinas.

Las diferencias estructurales obtenidas tras la condensación del ácido betalámico con varios compuestos determinan las diferencias de los dos subgrupos de betalaínas ():

- Las betacianinas
- Las betaxantinas

La betanina (CI Natural Red 33, número E162, betanidina 5-Ob-glucósido) es la única betalaína aprobada para su uso en alimentos y se obtiene casi en su totalidad de cultivos de remolacha roja (Pires-Gonçalves, 2012).

El betabel es originario del Norte de África que colinda con el mar Mediterráneo y para su desarrollo se prefieren climas fríos (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2019). Se cultiva principalmente en América del Norte, América Central y Gran Bretaña (Gengatharan, Dykes & Choo, 2015). En México se cultiva durante todo el año, siendo el estado de Puebla el mayor productor (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2016).

Botánicamente la remolacha roja tiene la siguiente clasificación:

- Subdivisión: Spermatophytina
- Clase: Magnoliopsida

- Orden: Caryophyllales
- Familia: Amaranthaceae
- Género: *Beta*
- Especie: *vulgaris*

5.1 Obtención

El potencial estimado de producción global anual de betabel es 96.8 gigatoneladas, 9.68×10^{10} toneladas (Khan & Giridhar, 2015).

El rojo de remolacha se obtiene de las raíces de cepas de la remolacha roja (*Beta vulgaris* L. var. *rubra*) por presión de la remolacha triturada o mediante extracción acuosa de sus raíces troceadas con posterior enriquecimiento del principio activo, en las Figuras 15 y 16 se presentan los diagramas de flujo para la obtención del jugo de remolacha y del colorante rojo de remolacha, respectivamente.

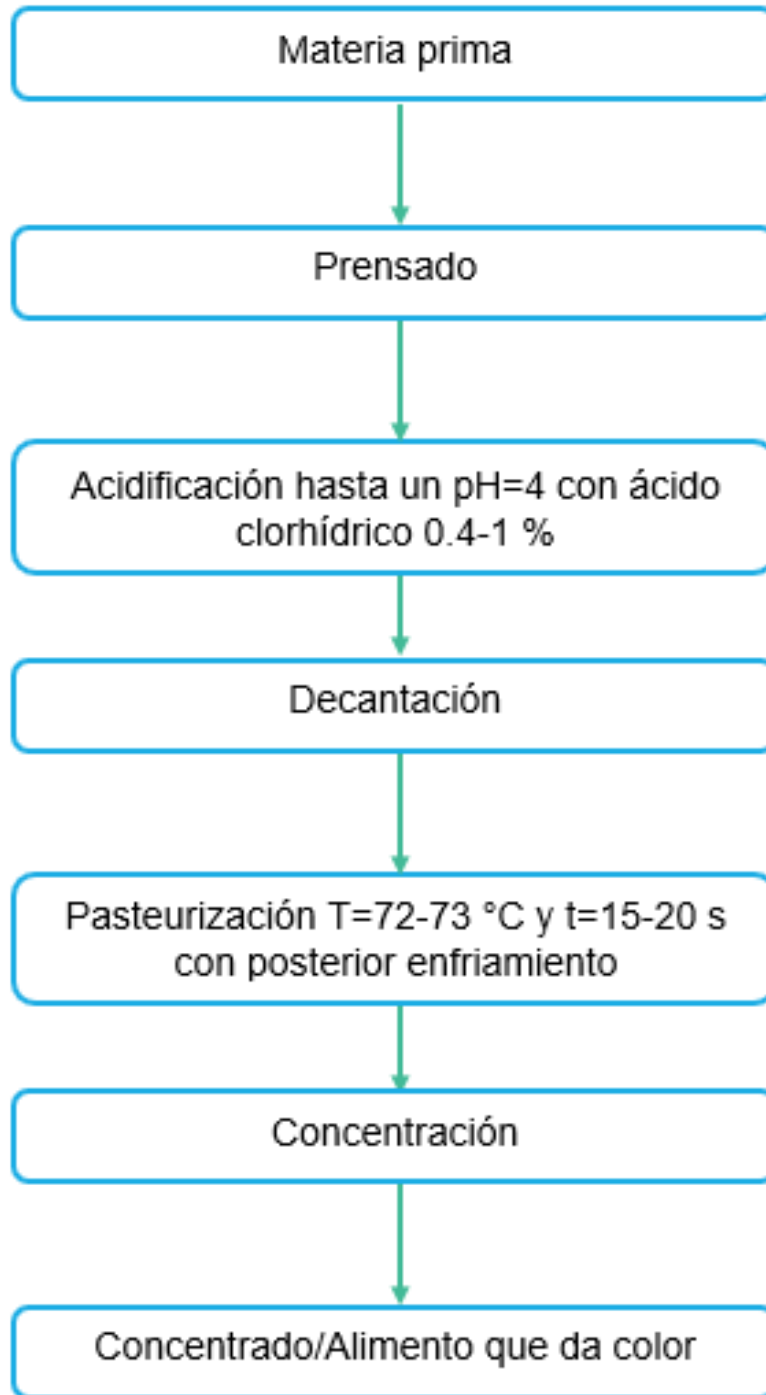


Figura 15. Proceso de obtención de jugo de betabel para dar color (Socaciu, 2008).

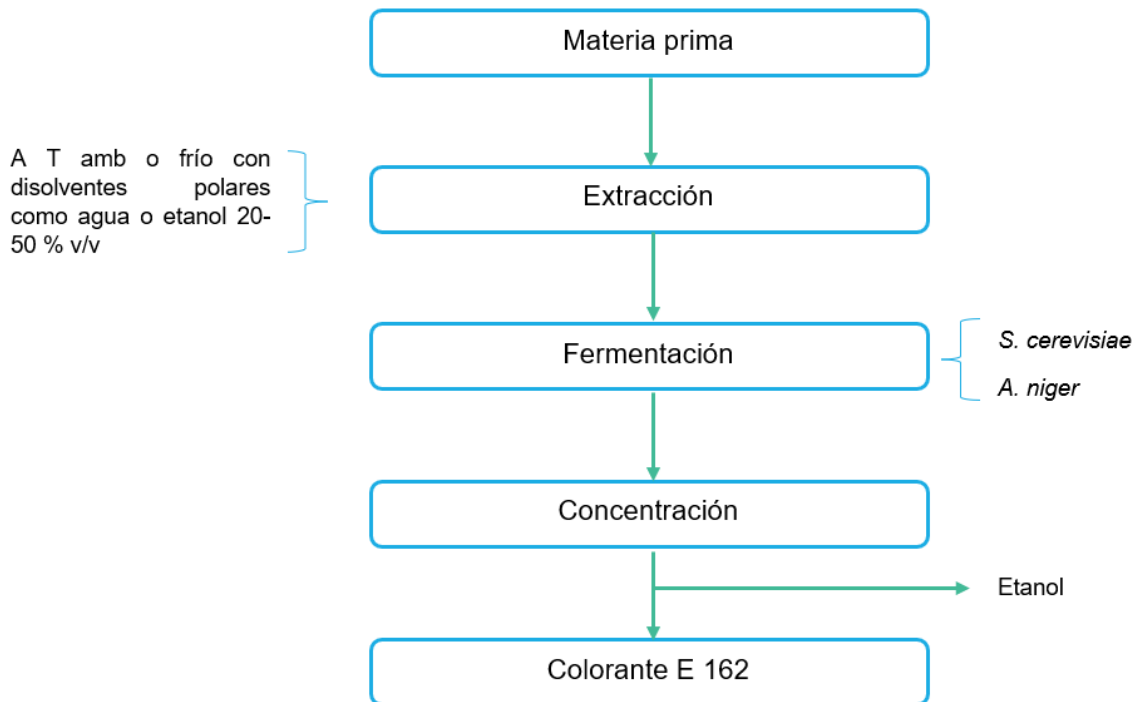


Figura 16. Proceso de obtención del colorante rojo de remolacha (Delgado-Vargas & Paredes-López, 2003).

El colorante está formado por diferentes pigmentos pertenecientes a la clase de la betalaína, el principal colorante consiste en betacianinas (rojo) donde la betanina representa un 75-95%, pero también pueden estar presentes pequeñas cantidades de betaxantina (amarillo) y productos de degradación de las betalaínas (marrón claro).

Además de los colorantes, el jugo o extracto contiene azúcares, sales o proteínas presentes naturalmente en la remolacha roja. La solución puede concentrarse y algunos productos pueden refinarse con el fin de eliminar la mayoría de los azúcares, sales y proteínas.

Por lo general se obtienen entre 40 y 200 mg de betanina por 100 g de remolacha (Pires-Gonçalves, 2012).

El bajo nivel de extracción comercial de betalaínas se puede atribuir a que estas no son muy estables, lo que resulta en una pérdida significativa de color durante el

procesamiento. Solo las betacianinas se consideran económicamente viables para la extracción, ya que su pérdida es menor comparada con la extracción de betaxantinas. Por lo que hoy en día es necesario mejorar tecnológicamente la extracción y el procesamiento posterior para minimizar la pérdida del pigmento (Khan & Giridhar, 2015).

Se ha demostrado que dependiendo de las cantidades relativas de betaxantinas y betacianinas en un producto, se pueden producir diferentes tonos de color que van del amarillo al púrpura. (Stintzing, & Carle, 2004).

Dado que las betalaínas de la remolacha roja presenta un escaso rango de color y un sabor terroso adverso debido a la geosmina y algunas pirazinas, no es deseable cuando se aplican a ciertos productos alimenticios como los productos lácteos. Por lo tanto, se ha intentado explorar fuentes alternativas de betalaínas.

La familia más prometedora entre las plantas portadoras de betalaína es la Cactaceae. Entre ellos, los cactus (género *Opuntia*) y pitayas (géneros *Cereus*, *Hylocereus* y *Selenicereus*) se manejan comúnmente como cultivos frutales y son los más adecuados para ser estudiados como fuentes de betalaínas para colorear alimentos.

Los frutos de nopal pueden usarse en alimentos sin impactos negativos en el sabor como los derivados de extractos de remolacha. Las betalaínas del cactus también cubren un espectro de colores más amplio, desde amarillo-naranja (*Opuntia* sp.) hasta rojo-violeta (*Hylocereus* sp.) (Azeredo, 2008).

5.2 Factores que afectan su estabilidad

Para asegurar una retención óptima del colorante y del color en los alimentos, se deben controlar muy cuidadosamente las condiciones particulares de tiempo y temperatura durante la fabricación de los alimentos (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

Además, durante el almacenamiento, deben tenerse en cuenta los factores externos como la temperatura, la luz y la exposición al oxígeno así como internos como el pH y la actividad de agua (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

También se ha observado que la concentración de betalaína es un factor crucial que determina la estabilidad de ésta durante su procesamiento ya que se ha visto que su estabilidad aumenta con la concentración del colorante. La pérdida de color se puede minimizar durante el procesamiento y almacenamiento de fuentes de betalaína eligiendo condiciones adecuadas de temperatura y pH, así como minimizando el acceso al oxígeno y la luz (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

También se sabe que, durante el procesamiento, puede ocurrir la isomerización, descarboxilación o el rompimiento de betacianinas por acción del calor o ácido. Las primeras alteraciones no tienen consecuencias visibles, pero las últimas vienen acompañadas de una pérdida total de su color (Stintzing, & Carle, 2004).

5.2.1 pH

Las betalaínas mantienen su apariencia en un amplio rango de pH de 3 a 7, pero se degradan por debajo de pH 2 y mayores de pH 9 (Stintzing, & Carle, 2004).

Las betaxantinas durante de 24 horas de almacenamiento a 22 °C presentan alta estabilidad en valores de pH entre 4.0-7.0, siendo el valor de pH óptimo para obtener la máxima estabilidad de éstas a 5.5. La betaxantina exhibe una mayor estabilidad que la betanina a pH de 7 (Stintzing, & Carle, 2004; Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

El pH óptimo para que la betanina sea más estable oscila entre 4 y 6, mientras que condiciones de temperatura elevada (mayor a 60°C) desplazan el pH óptimo hacia un valor de 6 (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

En presencia de oxígeno, la betanina es más estable en un pH entre 5.5 y 5.8, mientras que, en condiciones de anaerobiosis, valores de pH más bajos, entre 4.0 y 5.0, fueron los más favorables (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

Las condiciones alcalinas provocan la hidrólisis del enlace aldimina, impidiendo así que se pueda volver a formar el pigmento. A pH de 7.5 o superior, la betanina se degrada y adquiere un color amarillo/marrón (Kendrick, 2012).

La acidificación puede inducir a que exista una recondensación del ácido betalámico y el compuesto amino para formar betaxantinas o con el ciclo-Dopa 5-O- β -glucósido para formar betacianinas (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

Se encontró que las soluciones de betanina son considerablemente menos estables a un pH de 2 en comparación con un pH de 3 (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

Se sabe que los tratamientos fuertemente ácidos causan la formación irreversible de la 14,15-deshidrobetanina amarilla, la neobetanina (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

5.2.2 Temperatura

La temperatura puede considerarse el factor con mayor influencia en la estabilidad de las betalaínas, tanto en el procesamiento, conservación y el almacenamiento de los alimentos (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

La degradación del color varía según la aplicación y factores específicos como la temperatura aplicada, la duración del calentamiento y la actividad de agua del propio producto. En los alimentos que son coloreados con remolacha uno de los factores críticos para su degradación es el tiempo que se aplica calor (Kendrick, 2012).

Se sabe que las betalaínas son colorantes que pierden estabilidad a temperaturas elevadas, por lo que genera una desventaja en su uso, ya que la conservación de alimentos suele incluir la aplicación de tratamientos térmicos para así garantizar su inocuidad (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

El jugo de remolacha es estable al procesamiento HTST (temperatura alta y tiempo corto) siempre que se aplique inmediatamente una etapa de enfriamiento. La pasteurización es más desafiante, pero hay estudios que demuestran que el color

de la remolacha se mantiene en productos con baja actividad de agua. Los procesos más extremos, como la esterilización y la extrusión, degradan la intensidad del color de la remolacha (Kendrick, 2012).

La regeneración de betanina, la cual consiste en una resíntesis parcial de betanina a partir de sus productos de hidrólisis, involucra la condensación del grupo amino del ciclo-dopa-5-O-glucósido con el grupo aldehído del ácido betalámico; la betanina es rápidamente formada cuando los dos compuestos son mezclados en disolución (Azeredo, 2008).

La degradación térmica de las betalaínas, sigue una cinética de reacción de primer orden. Además de que la degradación de éstas se ve acelerada con el aumento de la temperatura y el tiempo de calentamiento. Entonces, la estabilidad térmica de las betalaínas está en función de ambos parámetros, pero también depende de otros factores como la estructura del colorante y la presencia de luz (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

Se ha observado que a temperatura ambiente (20 °C) las betacianinas son más estables que las betaxantinas, y sucede de igual manera cuando ambas se someten a calentamiento (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

La estabilidad térmica de la betanina disminuye cuando el valor de pH es menor de 3 y mayor de 7, y cuando hay presencia de oxígeno (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

Debido a que la remolacha solo ofrece un espectro de color reducido, los fabricantes intentan extender la variedad de tonos disponibles mediante la transformación de los glucósidos de betanidina en sus respectivas agliconas. Sin embargo, estas últimas son químicamente más lábiles y propensas a una mayor oxidación que podría dar como resultado la pérdida de color rojo y todavía posterior pardeamiento (Stintzing, & Carle, 2004).

5.2.3 Oxígeno

Las betalaínas tienden a reaccionar con el oxígeno molecular (Azeredo, 2008). Por lo que el almacenamiento de disoluciones de betanina a niveles bajos de oxígeno provoca una menor degradación del colorante que a condiciones atmosféricas, ya que los niveles bajos de oxígeno favorecen que las betalaínas se recuperen parcialmente aún después de la degradación (Azeredo, 2008).

Debido a esto el oxígeno puede generar desviaciones en la cinética de la reacción de degradación de la betanina de primer orden, y en ausencia de este gas, la reacción puede ser incluso reversible (Azeredo, 2008).

Por lo anterior, se ha visto que la estabilidad de la betalaína mejora con la presencia de antioxidantes, que impiden su reacción con el oxígeno, o mediante la aplicación de una atmósfera de nitrógeno (Azeredo, 2008).

Se ha observado también que, en distintas betacianinas la glicosilación aumenta su estabilidad contra especies activas de oxígeno, sin embargo, la betanina, no mejora su estabilidad frente al oxígeno con las glicosilaciones (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

5.2.4 Luz

La susceptibilidad de las betalaínas a la degradación inducida por la luz se puede explicar por la absorción de luz en el rango UV y en el visible que conduce a la excitación de los electrones, del cromóforo de la betalaína, a un estado más energético, lo que provoca una mayor reactividad o una menor energía de activación de la molécula (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

El jugo de remolacha tiene bastante estabilidad a la luz, pero es insuficiente para respaldar su uso en una bebida de color rojo en envases transparentes (Kendrick, 2012).

La degradación inducida por la luz depende del oxígeno, ya que se encontró que los efectos perjudiciales de la luz son insignificantes en condiciones anaeróbicas (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

Los efectos de la luz y el oxígeno tienen un efecto sinérgico que va en deterioro de la estabilidad de estos colorantes naturales. Mientras que la luz y oxígeno provocan la degradación de la betanina en un 15.6% y 14.6%, respectivamente, su presencia simultánea provoca la descomposición de la betanina hasta un nivel del 28.6% (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

5.2.5 Actividad de agua (a_w)

Debido a las reacciones hidrolíticas dependientes del agua, la actividad del agua es otro factor crucial para la susceptibilidad de la betanina debido a la ruptura del enlace aldimina (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

La estabilidad del pigmento es mayor cuando se seca por aspersión que cuando se encuentra en una solución acuosa, esto se puede deber a que la concentración del pigmento es mayor, pero también puede atribuirse a valores de a_w variables (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

Se ha visto que la estabilidad de la betanina mejora con valores de actividad de agua menores a 0.63 (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

La mayor estabilidad de este tipo de colorantes en valores bajos de a_w se explica debido a que la movilidad de los reactivos disminuye (Herbach, Stintzing & Carle, 2006).

5.3 Especificaciones y parámetros de calidad

El uso de colorantes alimentarios en México está controlado por el Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. Las indicaciones para el uso del rojo

betabel o rojo remolacha están en el Anexo IV sobre colorantes que pueden ser utilizados de acuerdo con BPF, por lo que no tiene reportada una ingesta diaria aceptable (IDA) para ningún alimento.

El Reglamento (UE) N° 231/ 2012 de la Comisión Europea de 9 de marzo de 2012 por el que se establecen especificaciones para los aditivos alimentarios que figuran en los anexos II y III del Reglamento (CE) n° 1333/ 2008 del Parlamento Europeo y del Consejo establece las especificaciones de los colorantes alimentarios en la cual se prescriben los criterios de pureza para el rojo de remolacha. Las especificaciones de pureza, el contenido mínimo del material colorante y los límites para metales pesados, se describen en la Tabla 6.

Tabla 6. Especificaciones del rojo de remolacha (El Reglamento (UE) N° 231/ 2012).

Parámetro	Especificaciones
Contenido mínimo del material colorante	Contenido de colorante rojo no inferior al 0.4%, expresado en betanina.
Nitrato	No más de 2 g de anión nitrato/g de colorante rojo
Arsénico	No más de 3 mg/kg
Plomo	No más de 2 mg/kg
Mercurio	No más de 1 mg/kg
Cadmio	No más de 1 mg/kg

5.4 Usos y aplicaciones

Las betalaínas, sirven como base para numerosos productos de suplementos dietéticos y también se han explorado para su uso potencial en celdas solares sensibilizadas con colorante y como colorantes textiles. Por sus propiedades de color se pueden utilizar como biosensores químicos, fluoróforos que marcan proteínas y marcadores para la transformación genética (Polturak & Aharoni, 2018).

Sin embargo, el uso más destacado de las betalaínas es su aplicación como colorante alimentario natural, colorea los productos alimenticios y las bebidas de

color rosa, rojo o violeta (Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021), aunque su uso se limita a ciertos productos alimenticios debido a su tendencia a degradarse con la exposición a altas temperaturas y a la luz. Sin embargo, las betalaínas tienen varias ventajas para su uso como colorantes alimentarios (Polturak & Aharoni, 2018):

- Las betalaínas tienen una mayor solubilidad en agua que las antocianinas.
- Tienen una fuerza tintorial significativamente mayor que las antocianinas.
- Son estables en un rango de pH entre 3 y 7, lo que las hace más adecuadas para su aplicación en alimentos neutros y de baja acidez.

Hoy en día, el extracto de remolacha roja es la única fuente comercialmente utilizada de betalaínas como colorante alimentario (Polturak & Aharoni, 2018).

Las aplicaciones tradicionales para el uso de la remolacha roja como colorante alimentario son en: helados, bebidas lácteas, productos lácteos, nieves, glaseados, decoraciones, postres, budines a base de almidón y yogurt, así como en jaleas, gelatinas, aderezos, mezclas de sala, productos cárnicos, bebidas frías como refrescos y mezclas de bebidas en polvo (Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021) (Azeredo, 2008) (Choo, 2019). Estas aplicaciones tienen condiciones de procesamiento y cadena de suministro que se adaptan perfectamente a la inestabilidad térmica de la remolacha, al no sufrir ningún tipo de aplicación de procesos térmicos (Polturak & Aharoni, 2018).

Se dice que la concentración de pigmento puro necesaria para obtener el tono deseado es relativamente pequeña, rara vez supera los 50 mg / 1 kg, en betanina (Azeredo, 2008), aunque algunos expertos han sugerido la necesidad de utilizar mayores cantidades de betanina (0,1-1,0% p / p) (Polturak & Aharoni, 2018).

También últimamente se han utilizado las betalaínas en los productos alimenticios como antioxidantes de origen natural para sustituir los antioxidantes de origen sintético (Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021).

6. CONCLUSIONES

A lo largo de la recopilación de información realizada se observó que estos compuestos son vitales en la industria de colorantes naturales, ya que pueden aportar un amplio perfil de colores a los productos alimenticios; además de que en el caso del annatto, es uno de los carotenoides más resistentes a la temperatura que se utiliza como colorante y en el caso del rojo de remolacha tiene la ventaja de ser uno de los pocos colorantes de origen natural que son hidrosolubles y que la gama de color no es dependiente del pH, como es el caso de las antocianinas.

Es factible invertir en la producción de estos colorantes naturales ya que la tendencia del desarrollo de productos sin aditivos de origen sintético sigue en aumento,

El mercado de colorantes representa una oportunidad para el aprovechamiento del cultivo tanto de annatto como de remolacha roja en México, por lo que podría perfilarse como uno de los principales exportadores de estos colorantes para su uso en la industria alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA

- Avendaño-Arrazate, C.H., Pinzón-López, L.L., Mendoza-López, A., Campos-Rojas, E., Correa-Navarro, P.J., Godoy-Hernández, G., Mijangos-Cortés, J.O., Rivera-Madrid, R. (2018). Rescate y conservación del achiote (*Bixa orellana* L.) en México. *Agro Productividad*, 5. Recuperado a partir de: <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/407>
- Azeredo, H. M. C. (2008). Betalains: properties, sources, applications, and stability - a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(12), 2365–2376. DOI:10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x
- Badui-Dergal, S. (2006). Química de los alimentos. Cuarta edición PEARSON EDUCACIÓN, México, S.A de C.V
- Balaswamy, K., Prabhakara, P. G., Satyanarayana, A., Rao, D.G. (2006). Stability of bixin in annatto oleoresin and dye powder during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 39(8), 952–956. DOI:10.1016/j.lwt.2005.07.004
- Boon, C.S., McClements, D.J., Weiss, J., Decker, E.A. (2010). Factors Influencing the Chemical Stability of Carotenoids in Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(6), 515-532 DOI: 10.1080/10408390802565889
- Camacaro, J., Gómez, J., Jiménez, M., Vega, C., Manganiello, L. (2018). A liposoluble colorant from Annatto seeds (*Bixa Orellana* L.) as an input for food industry. *Revista Ingeniería UC*, 25 (2), 291-306.
- Carocho, M., Morales, P., Ferreira, I. C. F. R. (2015). Natural food additives: Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 284–295.
- Choo, W. S. (2019). Betalains: Application in Functional Foods. *Reference Series in Phytochemistry*, 1471–1498. DOI:10.1007/978-3-319-78030-6_38
- Code of Federal Regulations (CFR) 21 Part 70. Disponible en: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=70&showFR=1&subpartNode=21:1.0.1.1.25.1>
- COFEPRIS Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. Publicado en el Diario Oficial de la Federación el 16 de julio de 2012. Disponible en: https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5259470
- Delgado-Vargas, F., Paredes-López, O. (2003). Natural colorants for food and nutraceutical uses. CRC Press: USA. pp. 201.

- Devia-Pineda, J.E., Saldarriaga- Calderón, L. (2003). Planta piloto para obtener colorante de la semilla del achiote (*Bixa orellana*). Universidad Eafit. 39(131), pp. 8-22.
- Durán, L. 2001. Aditivos naturales. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Arbor CLXVIII (661), pp.87-107.
- Erazo, R., Caso, M.J., (2001). Diseño de una planta de producción de carmín y annatto. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* 3(1), pp. 48-56.
- FAO, 2006. Fichas técnicas. Remolacha *beta vulgaris*. Extraído de: <http://www.fao.org/3/au174s/au174s.pdf>
- Flores-Juárez, R. (2018). Acomplejamiento y microencapsulado de Bixina para el desarrollo de colorantes hidrosolubles estables de grado alimenticio. Tesis de maestría. IPN. 28.
- García-Cruz, L., Salinas-Moreno, Y., Valle-Guadarrama, S.. (2012). Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en pitaya de mayo (*Stenocereus griseus h.*) betalains, phenolic compounds and antioxidant activity in pitaya de mayo (*Stenocereus griseus H.*). Nota Científica *Revista Fitotecnica Mexicana*, 35(5), 1–5.
- Gengatharan, A., Dykes, G. A., Choo, W. S. (2015). Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 645–649. DOI:10.1016/j.lwt.2015.06.052
- Guarín-Lizarazo, L.K. (2019). Extracción de pigmento rojo de achiote (*Bixa Orellana*) y oleorresina roja de paprika (*Capsicum annum*) en la formulación de pinturas para juguetes de madera. Fundación Universidad América. Tesis de Licenciatura. Bogotá.
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., Carle, R. (2006). Betalain Stability and Degradation? Structural and Chromatic Aspects. *Journal of Food Science*, 71(4), R41–R50. DOI:10.1111/j.1750-3841.2006.00022.x
- Ibáñez, F.C., Torre, P., Irigoyen A. (2003). Aditivos alimentarios. Universidad Pública de Navarra.
- Jaramillo Moreno, C. A., Muñoz Moreno, O. A. (1992). Extracción de colorante de Achiote. Trabajo de Grado (Ingeniero Químico). Medellín: Universidad Nacional. Facultad Nacional de Minas. Departamento de Procesos Químicos.
- Kendrick, A. (2012). Natural food and beverage colourings. *Natural Food Additives, Ingredients and Flavourings*, 25–40. DOI:10.1533/9780857095725.1.25
- Khan, M. I., Giridhar, P. (2015). Plant betalains: Chemistry and biochemistry. *Phytochemistry*, 117, 267–295. DOI:10.1016/j.phytochem.2015.06.008

- Lock Sing, O., 1997. Colorantes Naturales. Lima, Perú: Fondo Natural de la Pontificia, pp.1-4, 45, 46, 63.
- Møller, A. H., Jahangiri, A., Madsen, B., Joernsgaard, B., Vaerbak, S., Hammershøj, M., Dalsgaard, T. K. (2018). Effect of light, pH, metal ions and antioxidants on the colour stability of norbixin in aqueous solution. *International Journal of Food Science & Technology*, DOI:10.1111/ijfs.14035
- Pires-Gonçalves, L.C., de Souza-Trassi, M.A., Barbosa-Lopes, N., Dörr, F.A., Texeira-dos Santos, M., Baader, W.J., Oliveira, V.X, Leite-Bastos, E (2012). A comparative study of the purification of betanin. *Food Chemistry*, 131, 231-238. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.08.067
- Polturak, G., Aharoni, A. (2018). “La Vie en Rose”: Biosynthesis, Sources, and Applications of Betalain Pigments. *Molecular Plant*, 11(1), 7–22. DOI: 10.1016/j.molp.2017.10.008
- Prabhakara Rao, P. G., Jyothirmayi, T., Balaswamy, K., Satyanarayana, A., Rao, D. G. (2005). Effect of processing conditions on the stability of annatto (*Bixa orellana* L.) dye incorporated into some foods. *LWT - Food Science and Technology*, 38(7), 779–784. DOI: 10.1016/j.lwt.2004.08.015
- Restrepo, M., 2007. Sustitución de colorantes en alimentos. *Lasallista de investigación*, 4(1), pp. 35-39.
- Sadowska-Bartosz, I., Bartosz, G. (2021). Biological Properties and Applications of Betalains. *Molecules*, 26(9), 2520. DOI:10.3390/molecules26092520
- Scotter, M. (2009). The chemistry and analysis of annatto food colouring: a review. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 26(8), 1123–1145.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2016). Betabel, un vegetal con mucha historia. Consultado el 14/12/2020. Extraído de: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/betabel-un-vegetal-con-mucha-historia>
- Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. (2019). ¿En realidad sabes todo sobre el betabel? Consultado el 14/12/2020. Extraído de: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/en-realidad-sabes-todo-sobre-el-betabel>
- Sezgin, Aybuke and Ayyıldız, Sibel. (2017). Food additives: Colorants. *Science within Food: Up-to-Date Advances on Research and Educational Ideas*, España, pp.87-94.

- Sigurdson, G. T., Tang, P., Giusti, M. M. (2017). Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources. *Annual Review of Food Science and Technology*, 8(1), 261–280. DOI:10.1146/annurev-
- Socaciu, C. (2008). Food colorants chemical and functional properties. CRC Press: USA. pp. 91.
- Stintzing, F. C., Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 15(1), 19–38. DOI:10.1016/j.tifs.2003.07.004
- Zamora-Bustillos, R., Sandoval-Gío, J.J. (2018). Avances y perspectivas de la biotecnología en la península de Yucatán. Mérida: Universidad Tecnológica Metropolitana. pp. 60-74.
- (2018). Food Colors Market Size, Share & Trend Analysis Report By Product (Synthetic, Natural), By Application (Non-dairy Food, CSD & Non-alcoholic Beverages), And Segment Forecasts, 2018 – 2025.