PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, NATURALES Y AMBIENTALES

CARRERA DE QUÍMICA

Betanina vs Rojo 40: Una evaluación comparativa de colorantes naturales y sintéticos en la industria alimentaria y sus implicaciones en la salud

Monografía previa a la obtención del título de: Química

María José Pozo Sisa

Quito, 2023

CERTIFICACIÓN

Certifico que la monografía presentada por la estudiante María José Pozo, de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, titulada "*Betanina vs. Rojo 40: Una valuación comparativa de colorantes naturales y sintéticos en la industria alimentaria y sus implicaciones en la salud*", correspondiente a la carrera de Química, cumple con los parámetros académicos metodológicos necesarios para ser evaluada por el tribunal calificador que se designe.

Quito, 17 de mayo del 2026

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
GABRIELA FERNANDA
CUEVA TIRIRA

Mtr. Gabriela Cueva

DEDICATORIA

El desarrollo de este trabajo se lo dedico a mis padres, Edison Pozo y Katheryne Sisa, quienes han sido mi apoyo incondicional, mi fortaleza, y mi guía a lo largo de cada etapa de este camino. Gracias por su esfuerzo y por impulsarme siempre alcanzar una meta más en mi formación profesional.

De manera especial, dedico este logro a mi hija, Noah Pozo, por ser la mayor inspiración de mi vida, mi mayor motivación para seguir adelante y la razón para culminar esta etapa.

María José Pozo

TABLA DE CONTENIDOS

Pág.

RESUMEN …… 1

ABSTRACT……2

INTRODUCCIÓN……..3

OBJETIVOS……..5

DESARROLLO TEÓRICO……..6

5.1 COLORANTES Y ADITIVOS ALIMENTARIOS……..6

5.1.1. DEFINICIÓN DE ADITIVOS ALIMENTARIOS……..6

5.1.2. CLASIFICACIÓN……6

5.1.3. FUNCIÓN TECNOLÓGICA DE LOS COLORANTES……6

5.1.4. REGULACIÓN INTERNACIONAL (FDA, EFSA Y CODEX ALIMENTARIUS)……7

5.2. COLORANTE SINTÉTICO ROJO 40……7

5.2.1. ESTRUCTURA QUÍMICA Y GRUPO FUNCIONAL……..7

5.2.2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS……..8

5.2.3. OBTENCIÓN Y SÍNTESIS ……9

5.2.4. CARACTERIZACIÓN……10

5.2.5. EFECTOS BIOLÓGICOS DE LA BETANINA RELACIONADOS CON EL ESTRÉS OXIDATIVO…….12

5.3. COLORANTE NATURAL BETANINA ……..13

5.3.1. ESTRUCTURA QUÍMICA Y GRUPO FUNCIONAL……13

5.2.2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS……14

5.3.3. OBTENCIÓN Y EXTRACCIÓN ……15

5.3.4. CARACTERIZACIÓN……16

5.3.5. EFECTOS BIOLÓGICOS DE LA BETANINA RELACIONADOS CON EL ESTRÉS OXIDATIVO……19

5.4. ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE ROJO 40 Y BETANINA……20

5.5. COMPARACIÓN DE CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS, TECNOLÓGICAS Y REGULATORIAS……22

5.6. COMPARACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y EFECTOS BIOLÓGICOS……25

CONCLUSIONES……27

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……28

1. RESUMEN

Los colorantes alimentarios constituyen aditivos ampliamente utilizados en la industria alimentaria debido a su capacidad de mejorar la apariencia visual de los productos y aumentar su aceptación por parte de los consumidores. Entre los colorantes más empleados se encuentra el rojo 40 (Allura Red Ac), de origen sintético y a betanina, un colorante de origen natural que pertenece al grupo de las betalaínas. El objetivo de esta investigación fue comparar las propiedades químicas, la estructura molecular y las implicaciones en la salud de la betanina y el rojo 40 como colorantes natural y sintético ampliamente utilizados en la industria alimentaria identificando sus ventajas y limitaciones. Por ellos, se realizó una revisión bibliográfica de literatura científica publicada entre los años 2000 y 2026, empleando información obtenida de artículos científicos, libros especializados y documentos oficiales de organismos reguladores como la FDA, EFSA y Codex Alimentarius. Se analizaron die estudios relacionados cona actividad antioxidante y efectos biológico, además de investigaciones sobre estabilidad, aplicaciones agentes regulaciones y técnicas analíticas para identificación y cuantificación entre las UV-VIS, HPLC, FTIR Y LC-M. Los resultados mostraron que el rojo 40 presenta una elevada estabilidad térmica resistencia a variaciones de pH, alta intensidad y amplio uso industrial. Mientras que a betanina se caracteriza por su origen natural y por poseer actividad antioxidante, capacidad para disminuir especies reactivas y efectos protectores frente al estrés oxidativo. Sin embargo este pigmento presenta un menor estabilidad frente a la luz, oxígeno y altas temperaturas. En conclusión la betanina presenta una alternativa sostenible y de menor riesgo a la salud en su utilización en matrices alimentarias.

Palabras claves:

Betanina, Colorantes, Estrés oxidativo, Rojo 40, Seguridad alimentaria

2. ABSTRACT

Food colorants are widely used additives in the food industry due to their ability to enhance the visual appearance of products and increase their acceptance by consumers. Among the most commonly used colorants are Red 40 (Allura Red AC), which is synthetic, and betanin, a naturally occurring colorant belonging to the betalain group. The objective of this research was to compare the chemical properties, molecular structure, and health implications of betanin and Red 40 as natural and synthetic colorants widely used in the food industry, identifying their advantages and limitations. To this end, a literature review was conducted of scientific publications from 2000 to 2026, using information obtained from scientific articles, specialized books, and official documents from regulatory agencies such as the FDA, EFSA, and Codex Alimentarius. en studies related to antioxidant activity and biological effects were analyzed, along with research on stability, applications, regulatory agents, and analytical techniques for identification and quantification, including UV-VIS, HPLC, FTIR, and LC-MS. The results showed that Red 40 exhibits high thermal stability, resistance to pH variations, high intensity, and widespread industrial use. Betanin, on the other hand, is characterized by its natural origin and its antioxidant activity, ability to reduce reactive oxygen species, and protective effects against oxidative stress. However, this pigment exhibits lower stability when exposed to light, oxygen, and high temperatures. In conclusion, betanin offers a sustainable alternative that poses fewer

health risks when used in food products.

Keywords:

Betanin, Food colorings, Oxidative stress, Red 40, Food safety

3. INTRODUCCIÓN

Los colorantes alimentarios son uno de los aditivos más utilizados en la industria alimentaria, debido a que permiten mejorar la apariencia de los productos y aumentar la aceptación por parte de los consumidores. Su empleo contribuye a recuperar la coloración que puede perderse durante procesos como la elaboración, almacenamiento y distribución de los alimentos, además de proporcionar características visuales asociadas con calidad y frescura. De acuerdo con el Codex Alimentarious, los colorantes forman parte de los aditivos autorizados para cumplir funciones tecnológicas específicas, siempre que su utilización no represente un riesgo para la salud del consumidor (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura FAO/ Organización Mundial de la Salud WHO, 2019).

Entre los colorantes utilizados en la industria alimentaria se encuentran los de origen sintético los de origen natural. Dentro de los sintéticos, el Rjo 40 o Allura Red AC (E129) destaca por ser uno de lo más empleados en bebidas, confitería, cereales, gelatinas, productos lácteos y otros alimento procesados. Según Scotter (2009), este colorante azoico presenta una elevada intensidad de color, buena solubilidad en agua y una alta estabilidad frente a variaciones de pH y temperatura, características que favorecen su aplicación industrial. Asimismo, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria estableció una ingesta diaria admisible de 7mg/kg de peso corporal por día para este compuesto (EFSA,2014). Sin embargo diferentes investigaciones han analizad los posibles efectos biológicos asociados a su consumo, incluyendo procesos relacionados con estrés oxidativo, alteraciones celulares y la formación de metabolitos aromáticos producidos por la reducción del grupo azo en el tracto intestinal (Amchova et., 2015).

Por otra parte, el interés por los colorantes naturales ha aumentado considerablemente debido a la creciente demanda de productos elaborados con ingredientes de origen natural. En este campo la betanina (E162), principal pigmento de la remolacha *(Beta Vulgaris)*, ha recibido especial atención por su capacidad para proporcionar una coloración rojo-violeta intensa (Azeredo,2009). Además su función como colorante, diversos estudios han demostrado que posee actividad

antioxidante, atribuida principalmente ala presencia de grupos fenólicos y sistemas conjugados capaces de neutralizar especiales reactivas de oxígeno (Esatbeyoglu et al., 2015). No obstante, su utilización industrial puede verse limitada por su sensibilidad a factores como la luz, el oxígeno y altas temperaturas, los cuales favorecen su degradación y reducen su estabilidad.

En La búsqueda de alternativas más seguras ha impulsado numerosas investigaciones orientadas a evaluar el potencial de la betanina como sustituto parcial o total de colorantes sintéticos como el Rojo 40. Azeredo, (2009) y Amchova et al., (2015) han generado una amplia comparación de estos compuestos en base a sus propiedades fisicoquímicas y sus utilización en diferentes matrices alimentarias. Para su estudio se emplean técnicas analíticas como la espectrofotometría UV-visible, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la espectrofotometría de Fouries (FTIR) y la cromatografía líquida de alta resolución (LC-MS) , las cuales permiten determinar su composición, estabilidad y comportamiento en los alimentos (yamjala et al ., 2016).

A pesar de la amplia información que existe resulta necesarios integrar y comparar los resultados reportados en la literatura científica para evaluar de manera conjunta sus propiedades químicas, funcionales y biológicas, por esta razón el objetivo de esta investigación es comparar las características químicas, la estabilidad, la actividad antioxidante los efectos biológicos, las aplicaciones industriales y los métodos analíticos par estos dos colorantes mediante literatura científica publicado en los años 2000 y 202

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar las propiedades químicas, la estructura molecular y las implicaciones en la salud de la betanina y el rojo 40 como colorantes natural y sintético, respectivamente, utilizados en la industria alimentaria identificando sus ventajas y limitaciones.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir la estructura química, origen, propiedades fisicoquímicas de la betanina y rojo 40 utilizados como colorantes alimentarios.
- Comparar la estabilidad e intensidad de color de la betanina y rojo 40 frente a factores externos que afectan su desempeño a partir de estudios reportados.
- Analizar los efectos toxicológicos de la betanina y del rojo 40 en la salud, evaluando cual presenta menor riesgo a la salud.

5. DESARROLLO TEÓRICO

5.1. Colorantes y aditivos alimentarios

5.1.1. Definición de aditivos alimentarios

De acuerdo con Damodaran y Parkin (2017), los aditivos alimentarios son sustancias naturales o sintéticas que se encuentran intencionalmente en los alimentos para mejorar mantener sus características como estabilidad, seguridad, textura, sabor o vida útil del producto.

También según el Codex Alimentarius, un aditivo alimentario es cualquier sustancia que normalmente o se consume como alimento por sí solo ni se utiliza como un ingrediente Su incorporación es intencional durante la fabricación, procesamiento, preparación y tratamiento con finalidad específica (FAO/WHO,2019).

5.1.2. Clasificación

Según FAO/WHO (2019), los aditivos alimentarios se clasifican de acuerdo con su función tecnológica que desempeñan los alimentos. Los principales se encuentran en la TABLA 1:

Tabla 1: Principales aditivos alimentarios (FAO/WHO, 2019)

Aditivo Alimentario	Función
Colorante	Aportan, restauran o intensifican el color
Conservantes	Inhiben el crecimiento microbiano
Antioxidantes	Retrasan las reacciones de oxidación
Emulsionantes	Favorecen la mezcla de fases inmiscibles
Estabilizantes	Mantienen las propiedades estables en el proceso de almacenamiento

5.1.3. Función tecnológica de los colorantes

Según Scotter (2009), los colorantes alimentarios tienen la función de restaurar e intensificar el color a los alimentos, para que cumpla con una buena aceptación por parte del consumidor. También se utiliza para compensar pérdidas decoloro ocasionado por el procesamiento, almacenamiento o exposición a distintos factores ambientales

5.1.4. Regulación internacional (FDA, EFSA Y Codex Alimentarius)

Los colorantes alimentarios se encuentran regulados específicamente por las tres entidades mencionadas, para determinar criterios de evaluación toxicológica, especificaciones de pureza y limites de uso. La FDA es el organismo responsable de regular los colorantes utilizados en alimentos, medicamentos y cosméticos en Estados Unidos. Establecen una serie de especificaciones como identidad, pureza etiquetado y condiciones de utilización para cada colorante aprobado (FDA, 2023).

La EFSA es la entidad encargada de evaluar científicamente la seguridad de los aditivos alimentarios en la Unión Europea. Entre sus funciones esta la evaluación de riesgos, reevaluación periódica de cada aditivo ya autorizado y el establecimiento de la ingesta diaria admisibles (IDA) (EFSA,2014).

El Codex Alimentarius es un conjuntos de normas, directrices y códigos de prácticas internacionales desarrollados por la FAO y la OMS con el fin de proteger a los consumidores (FAO/WHO, 2019).

Entre los colorantes autorizados por estos organismos reguladores se encuentran tanto compuestos sintéticos como naturales. El que más destaca entre los sintéticos es el rojo 40 y entre los naturales destaca la betanina, los cuales serán analizados en los siguientes apartados.

5.2. COLORANTE SINTÉTICO: ROJO 40

5.2.1. ESTRUCTURA QUÍMICA Y GRUPO FUNCIONAL

Según Hunger (2003), el rojo 40 es un colorante sintético que pertenece a los colorantes azoicos, caracterizado por la presencia del grupo funcional azo, el cual actúa como cromóforo principal. Como se observa en la FIGURA 1, el enlace azo se conecta a sistemas aromáticos sulfonados aumentando la conjugación electrónica y la solubilidad en agua, desde la parte estructural el grupo azo permite una elevada deslocalización electrónica responsable de su intensa absorción en la región visible generando la coloración roja estable.

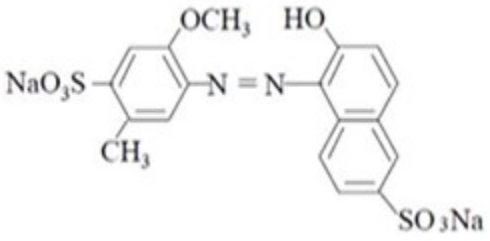


FIGURA 1 Estructura del Rojo 40(Ramírez Gutiérrez, 2024)

5.2.2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL ROJO 40

De acuerdo con Amchova et al. (2015), entre las propiedades físicas de este colorante se evidencia la alta solubilidad en agua debido al grupo sulfonato, tiene elevada estabilidad térmica, resistencia frente a variaciones de pH y luz, alta intensidad colorante y bajo costo. Estas propiedades lo convierten en el colorante ampliamente utilizado en la industria alimentaria ya que mantiene su intensidad de color a diferentes condiciones de procesamiento.

El rojo 40 presenta estabilidad en un intervalo de pH entre 3 y 10, sin embargo en condiciones extremadamente ácidas (pH2) o altamente alcalinas (mayor a pH 10) pueden producir variaciones en la estructura electrónica del cromóforo, lo que ocasiona cambios en la tonalidad y una ligera disminución de la absorbancia. (Amchova et al,.2015; Scotter,2009).

Como indica la EFSA (2014) el rojo 40 resiste variaciones térmicas en un rango de 60°C a 100°C sin degradación significativa. No obstante, temperaturas superiores a 120°C puede ocasionar procesos de degradación térmica y alteraciones en la intensidad de color. En general el congelamiento no genera variaciones debido a la presencia del grupo azo en su estructura (Scotter, 2009).

5.2.3. OBTENCIÓN Y SÍNTESIS

La síntesis de rojo 40 se basa en una reacción de acoplamiento que ocurre en dos etapas principales, se observa también en la FIGURA 2:

A. Diazotación: Ocurre cuando una amina aromática primaria reacciona con nitrito de sodio en medio ácido generalmente HCL, formando una sal de diazonio aromática (Zolinger,2003). En este proceso, la reacción se realiza en una proporcional 1:1 entre la amina aromática y el nitrito de sodio, a temperaturas bajas entre 0 y 5 °C, con el fin de estabilizar la sal de diazonio y evitar su descomposición. El control de estas condiciones permite mejorar el rendimiento y eficiencia de la síntesis (Hunger, 2007; Christie,2015).

B. Acoplamiento azoico: la sal de diazonio actúa como electrófilo y reacciona con un compuesto aromático activo, formando un enlace -N=N- mediante un mecanismo de sustitución electrofílica aromática (Zolinger,2003). Para la síntesis del rojo 40, esta reacción ocurre con el 6-hidroxi-2-naftalenosulfónico, manteniendo un pH entre 5 y 7 a temperatura en un rango de 5 a 15 °C. Estas condiciones favorecen la formación este del enlace azo (Hunger, 2007; Christie,2015).

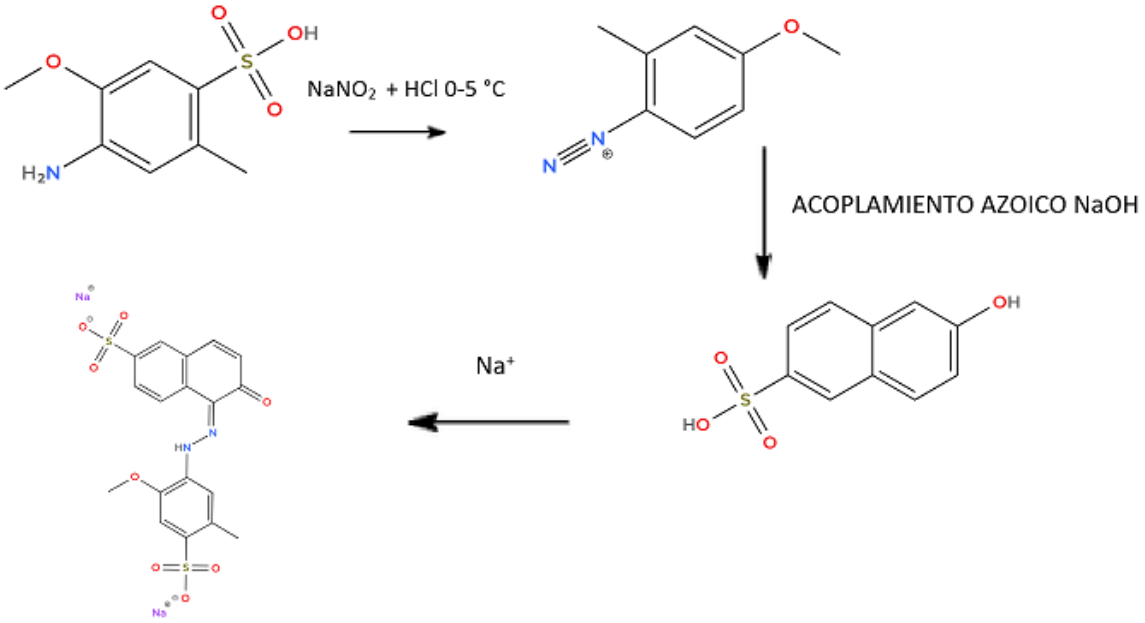


FIGURA 2 Síntesis del Rojo 40

Nota: Elaboración propia utilizando Sofware MolView

5.2.4. CARACTERIZACIÓN

Los métodos más utilizados para la caracterización del rojo 40 se encuentran descritos en TABLA 2 con sus condiciones de trabajo

TABLA 2 Métodos analíticos por el cual se analiza al rojo 40

Método Analítico	Principio	Condiciones de trabajo	Evalúa	Estudio	Aplicación Rojo 40
UV-VIS	Medición de absorbancia	Longitud de onda 504 nm	Concentración	Yamjala et al. (2016)	Cuantificación en bebidas y confitería
HPLC	Separación cromatográfica	Columna C18; fases móviles acuosas y acetonitrilo	Pureza y concentración	Scotter (2009)	Determinación en matrices alimentarias
FTIR	Identificación de grupos funcionales	Rango espectral 4000-400 cm^{-1}	Grupo azo y sulfónico	Christie (2015)	Confirmación estructural
LC-MS	Relación masa/carga	ESI negativa	Identificación molecular	Ntrallou et al. (2020)	Detección de metabolitos y degradación

Según Yamjala et al. (2016), la espectrofotometría UV-Visible constituye una de las técnicas más empleadas para la cuantificación de colorantes alimentarios debido a su simplicidad y rapidez. Por otra parte, Scotter (2009) señala que HPLC proporciona una mayor selectividad para la identificación de colorantes presentes en matrices complejas.

En el estudio Dinc, Uñal & Ertkin. (2021), se puede identificar diferentes bandas espectrales en el rojo 40 a diferentes intervalos de pH. Se analizó en una longitud de onda entre 207 y 620 nm. El pico máximo esta alrededor de los 500 nm, esta fuerte absorción es lo que provoca la característica coloración roja del colorante, al aumentar el pH se puede observar la disminución progresiva en la intensidad de la absorbancia como se observa en la FIGURA 3.

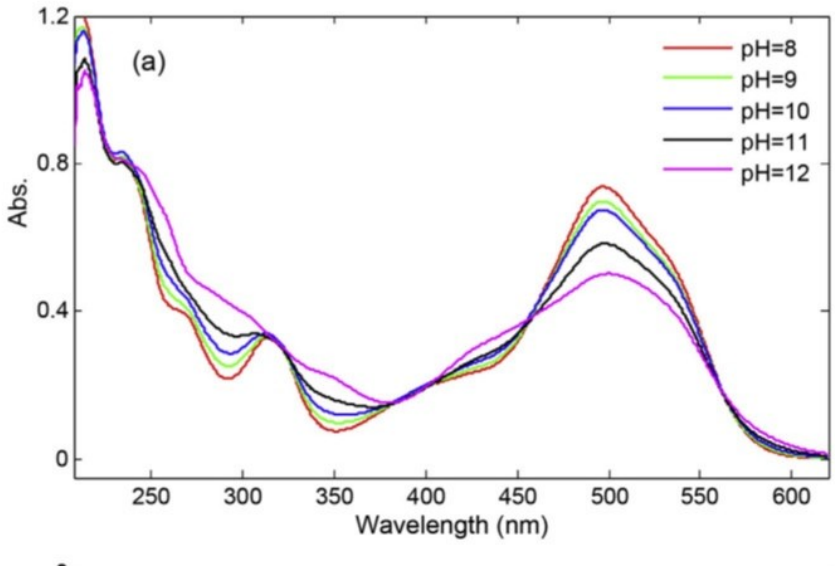


FIGURA 3 Espectro UV-VIS del rojo 40 (Dinc, Uñal & Ertkin (2021)

Por otra parte en el estudio Al Shamari et al. (2020), se determinó la espectrometría de masas, el análisis se realizó a seis muestras de AR (0,8 mg L^{-1}) y se verificó la estabilidad de señal y respuesta. Se observa en el análisis una altura de pico uniforme y un área de pico estable a lo largo de estas réplicas, también se determinó la desviación estándar relativa del área del pico es de 1,95%.

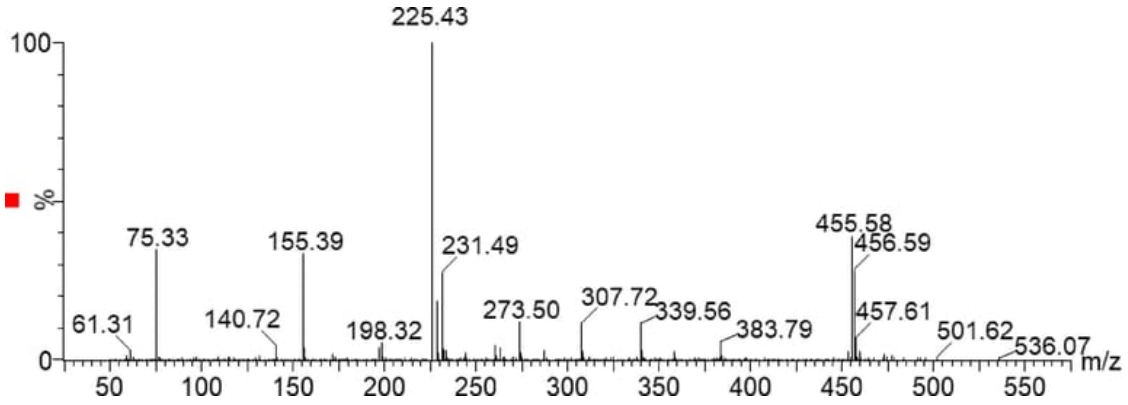


FIGURA 4 Espectro FTIR del colorante rojo 40 (Al Shamari et al. 2020)

5.2.5. EFECTOS BIOLÓGICOS DEL ROJO 40 RELACIONADOS CON EL ESTRÉS OXIDATIVO

El rojo 40 es un colorante azoico el cual ha presentado posibles efectos biológicos asociados a procesos de estrés oxidativo. Según Amchova et al. (2015), algunos colorantes sintéticos puedes favorecer la generación de especias reactivas de oxígeno cuando son metabolizados en el organismo. En este caso la reducción del enlace azo por la microbiota intestinal puede producir metabolitos aromáticos capaces de inducir alteraciones celulares y aumentar los niveles de estrés oxidativo.

Estudios *in vitro* realizados por Rowe et al. (2019), han reportado disminuciones en la viabilidad celular e incremento en marcadores de daño oxidativo tras exposición a concentraciones elevadas del colorante. De igual manera, se ha descrito una baja actividad antioxidante en comparaciones con pigmentos naturales como la betanina, presentando una inhibición inferior al 20% en ensayos de captación de radicales libres. Recalcando que un antioxidante es una sustancia capaz de prevenir o retrasar procesos de oxidación.

El límite permisible de ingesta diaria del rojo 40 es 7mg/kg, por ello algunos estudios demuestran que la exposición continua a este colorante puede tener efectos en niños pequeños. Según McCann et al. (2007), evaluó el efecto de la mezcla de colorantes artificiales en niños de 3 a 9 años. Los resultados mostraron un incremento en niveles de hiperactividad y déficit de atención en algunos participante susceptibles. Otro estudio como el de Amchova et al. (2015), algunos individuos susceptibles pueden presentar manifestaciones como urticaria, prurito, erupciones cutáneas y reacciones pseudoalérgicas tras la ingesta de colorantes azoicos. Estos efectos se presentan principalmente en personas con predisposición alergias. Adicional el estudio de Bateman et al. (2004) también evaluó que los colorantes artificiales en niños de preescolar aumentan comportamiento hiperactivos.

Por otro lado existen estudios en animales donde se demostró la alta exposición a cantidades de rojo 40 según Kwon et al. (2022), demostró que la exposición crónica a rojo 40 aumentó la susceptibilidad a colitis en ratones, los animales expuestos presentaron alteraciones en la serotonina intestinal, mayor inflamación y respuestas exacerbada. Estos resultados sugieren que el consumo prologando a este colorante podría afecta la homeostasis intestinal y favorecer procesos inflamatorios. De acuerdo con Khayyat et al. (2018), evaluó el efecto del rojo 40 en ratas durante cuatro semanas y observó un aumento en marcadores de daño hepático y renal, además detecto la presencia del indicador peroxidación lipídica junto con disminución de las defensas antioxidantes.

5.3. COLORANTE NATURAL: BETANINA

5.3.1 ESTRUCTURA QUÍMICA Y GRUPO FUNCIONAL

Azeredo (2009) y Delgado et al. (2000) identifican a la betanina como el principal pigmento de la remolacha (*Beta bulgaris*) perteneciente al grupo de las betalaínas. Es un compuesto nitrogenado hidrosoluble derivado del ácido betalámico. Presenta un sistema conjugado responsable de su color rojo-violeta y a diferencia de los colorantes sintéticos, la betanina contiene enlaces más complejos y reactivos.

La betanina posee enlaces y grupos funcionales susceptibles a trasformaciones químicas. Entre ellos se encuentran los grupos imina, los cuales pueden hidrolizarse en condiciones ácidas o básicas. Asimismo, presenta grupos fenólicos (-OH aromáticos), que son altamente reactivos frente a procesos oxidación. También contiene enlaces glicosídicos (C-O-C), susceptibles a romperse mediante hidrólisis térmica. Además la presencia de dobles enlaces conjugados (C=C) favorece la deslocalización electrónica, característica responsable de su coloración; sin embargo esta estructura hace que el compuesto sea más sensible a la exposición a la luz y procesos de degradación. La distribución de estos grupos funcionales se puede visualizar en la FIGURA 5 (Azeredo,2009; Herbach et al,. 2006).

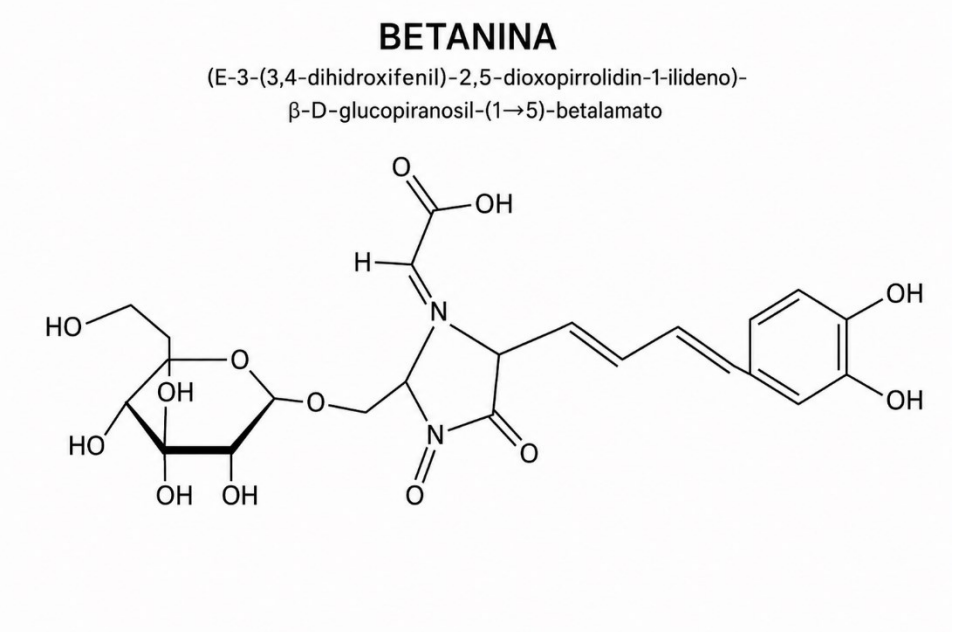


FIGURA 5 Estructura de la betanina (Generado por IA)

5.3.2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LA BETANINA

De acuerdo con Herbach et al (2006), las propiedades fisicoquímicas de la betanina es su alta solubilidad en agua, su sensibilidad a la oxidación y su inestabilidad frente a la temperatura y luz. Además, presenta actividad antioxidante y color intenso; sin embargo, muestra menor estabilidad en procesos industriales lo que puede limitar su uso industrial.

La betanina es un pigmento sensible a condiciones de pH y temperatura. En cuanto al pH, presenta mayor estabilidad en medios ácidos en un rango de 4-6, donde conserva su color rojo-violeta característico. Sin embargo, a valores de pH menores a 3 puede producirse una hidrólisis que afecta su estructura química. Por otro lado a condiciones alcalinas superiores a pH 7 ocurre una degradación progresiva del pigmento, provocando cambios de tonalidades a marrones y amarillentas Azeredo,2009; Herbach et al,. 2006).

Con respecto a temperatura, la betanina se mantiene estable entre 20-40 °C, no obstante, al superar los 50°C comienza a degradarse debido a procesos de oxidación y a la ruptura del sistema conjugado. A temperaturas mayores de 70°C, la degradación se acelera ocasionando una disminución en la absorbancia e intensidad de color (Azeredo,2009; Herbach et al,. 2006).

5.3.3. OBTENCIÓN Y EXTRACCIÓN

Según Azeredo (2009) y Delgado (2000) la betanina se obtiene mediante extracción sólido-líquido a partir de la remolacha utilizando agua y mezclas hidroalcohólicas como solventes. Desde el enfoque de la química verde, este método se considerados sustentables debido al empleo solventes no tóxicos, materias primas renovables y condiciones ambientales como temperatura ambiente y presión atmosférica a 1 atm. En la FIGURA 6 se puede observar la ruta biosintética para la extracción de la betanina.

El procesos inicia con el lavado, pelado, seguido de una etapa de trituración para facilitar la liberación del pigmento. Posteriormente se añade una mezcla hidroalcohólica, generalmente entre 20-50% (v/v) en relación sólida: líquida de 1:5 a 1:10 (g/mL). La extracción se realiza a una temperatura entre 20-40 °C y en un rango de pH de 4-6, a condiciones que favorecen a solubilización de la betanina y minimizando su degradación. Los tiempos de extracción suelen variar entre 30 y 120 min con agitación constante, lo que genera una buena recuperación del compuesto. Finalmente se realiza una filtración para separar el extracto liquido de los sólidos (Azeredo, 2009; Herbach et al., 2006).

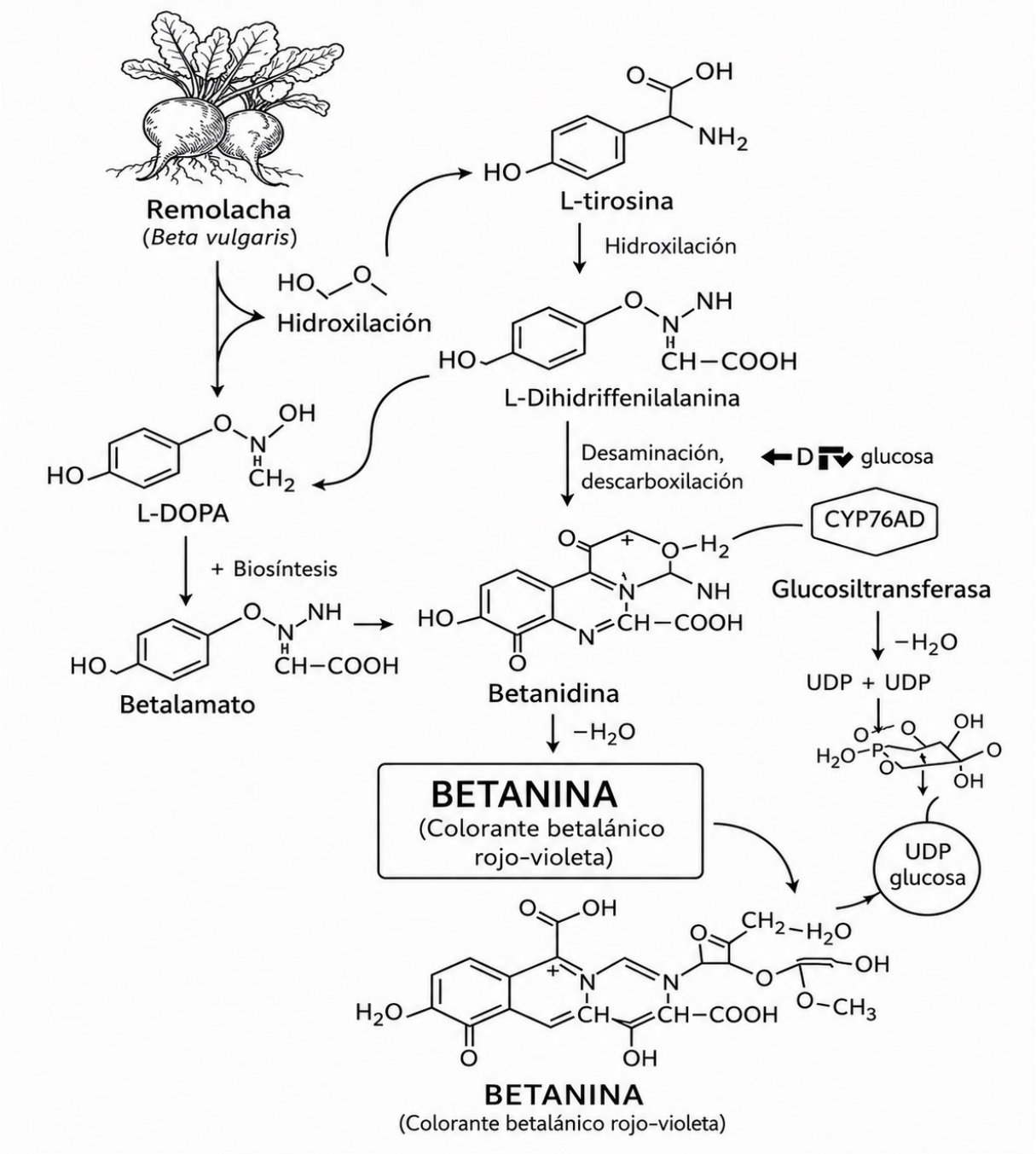


FIGURA 6 Síntesis de la betanina (Generado por IA)

5.3.4. CARACTERIZACIÓN

Los métodos de caracterización de la betanina se encuentran descritos en la TABLA 3 con sus condiciones de trabajo.

TABLA 3 Métodos de caracterización de la betanina

Método Analítico	Principio	Condiciones de trabajo	Evalúa	Estudio	Aplicación
UV-VIS	Medición de absorbancia	Longitud de onda 538-540 nm	Concentración	Azeredo (2009)	Cuantificación de betanina
HPLC	Separación cromatográfica	Columna C18	Pureza y degradación	Herbach et al. (2006)	Separación de betalaínas
FTIR	Identificación de grupos funcionales	Rango espectral 4000-400 cm^{-1}	OH, C=N C-O-C	Solis-Rodríguez et al. (2019)	Confirmación estructural
LC-MS	Relación masa/carga	ESI positiva	m/c≈ 551	Kachlicki et al. (2021)	Identificación De derivados betalánicos

De acuerdo con Herbach et al. (2006) se utiliza HPLC para la betanina para evaluar su estabilidad y productos de degradación mientras que Kachlicki et al. (2021) emplea LC-MS para la identificación de compuestos betalánicos y sus derivados.

Según el estudio de Aztatzi-Rugerio et al. (2019) en el espectro UV-visible se ha reportado una longitud de onda máxima de 536 a 540 nm. La longitud de onda máxima de absorción para la betanina se observó en 538 nm a partir de la cual se evaluaron cambios de absorbancia. Con el cambio de temperatura se evaluó cambios de absorbancia a los 75°C es de 0,85, después de 120 min fue de 0,446 los resultados sugieren una disminución en la concentración de la betanina debido ala degradación térmica como se observa en la FIGURA 7.

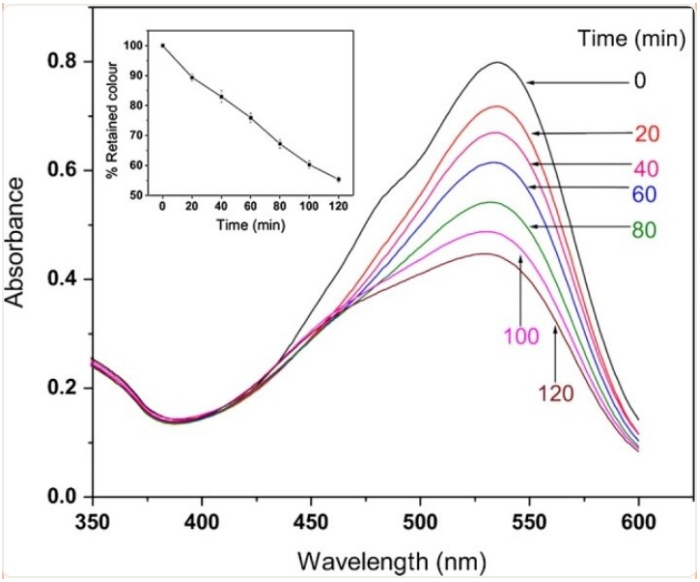


FIGURA 7 Espectro UV-Vis de la betanina (Aztatzi-Rugerio et al 2019)

Los análisis de espectroscopia infrarroja (FTIR) según el estudio de Aztatzi-Rugerio et al. (2019), se llevó a cabo para la determinación de frecuencias de vibración características de los grupos funcionales de la betanina, así como cambios estructurales en la molécula. En la figura de muestra la betanina en la región de 4000 a 400 cm^{-1}. La banda a 3359 cm^{-1} se atribuye a la vibración de estiramiento del enlace -OH, la banda ubicada a 1624 cm^{-1} es la vibración del enlace C=N y la banda de 1073 cm^{-1} es la vibración de estiramiento simétrico del enlace C-O-C así como se observa en la FIGURA 8.

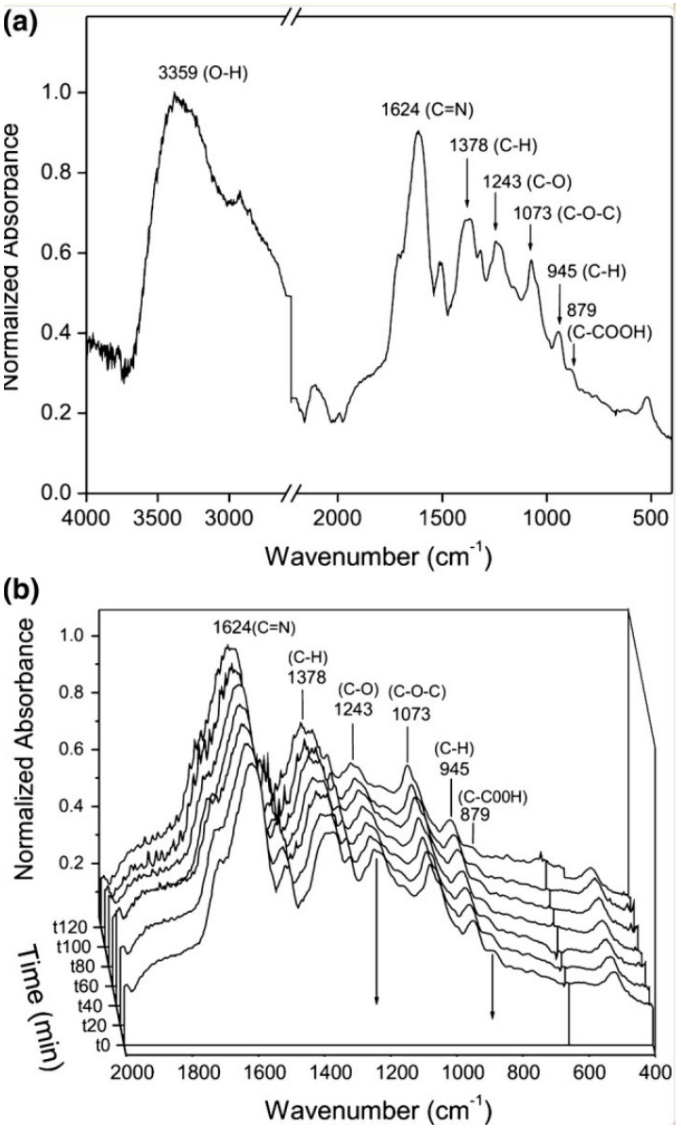


FIGURA 8 Espectro FTIR de la betanina (Aztatzi-Rugerio et al, 2019)

5.3.5. EFECTOS BIOLÓGICOS DE LA BETANINA RELACIONADOS CON EL ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo se produce cuando existe un desequilibrio entre la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la capacidad antioxidante del organismo para neutralizarlas (Sies,2017).

De acuerdo con Clifford et al. (2015), la estructura química de la betanina, esta caracterizada por la presencia de sistemas conjugados y grupos funcionales fenólicos que le confieren la capacidad de actuar como donador de electrones o átomos de hidrógeno. Estos grupos permiten estabilizar radicales libres mediante resonancia, evitando la propagación de reacciones de oxidación en cadena.

Además según Esatbeyoglu et al. (2015), la betanina desde el punto fisiológico favorece a la protección celular frente al daño inducido por radicales libres, disminuyendo la peroxidación lipídica y contribuye al mantenimiento de sistemas antioxidantes endógenos. Por otro lado el estudio *in vitro* ha reportado valores de IC50 cercanos a 3,4 ug/mL en ensayos DPPH evidenciando esta capacidad antioxidante.

La betanina ha sido evaluada por organismos reguladores como la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y la Food and Drug Administration. Sin embargo, no se ha establecido un límite de ingesta diaria admisible debido a su baja toxicidad y a que este pigmento se degrada fácilmente en el organismo. No obstante, un consumo elevado puede ocasionar efectos como color rojizo en la orina y las heces, sin implicaciones medicas alarmantes (EFSA,2015).

La FDA clasifica a la betanina como una sustancia “Generally Recognized as Safe” (GRAS) autorizando su uso en diversos productos alimentarios, siempre que cumpla con los criterios de pureza que están en la normativa 21 CFR 73.40 (FDA,2022; FAO/WHO,2019).

5.4. ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE ROJO 40 Y BETANINA

Desde una perspectiva industrial, el rojo 40 presenta ventajas económicas y tecnológicas debido a su estabilidad, intensidad de color y bajo costo lo que facilita su aplicación en múltiples productos alimentarios. En contraste, la betanina presenta una alternativa más sostenibilidad. Sin embargo, el desafío actual radica en mejorar la estabilidad química de los colorantes naturales para ampliar su aplicación (Delgado et al., 2000)

El colorante rojo 40 presenta una alta eficiencia en procesos industriales debido a su capacidad para mantener la estabilidad e intensidad de color bajo diversas condiciones de procesamiento y almacenamiento. Por esta razón es utilizado en un sin número de productos, como gelatinas, confites, bebidas gaseosas, jugos artificiales, cereales, entre otros (Scotter,2009).

Por otra parte, la betanina es un colorante natural cuya aplicación se ha orientado hacia los productos sometidos a condiciones de procesamiento más suaves, como yogurt, helados, bebidas naturales. Esto se debe a que dichos productos mantienen condiciones favorables para su estabilidad, especialmente valores de pH ácidos y temperaturas moderadas (Azeredo,2009; Días et l., 2020).

En este contexto, pueden destacarse investigaciones relacionadas con la fabricación de yogurt, en las cuales se ha logrado mantener la estabilidad de color mediante condiciones de enfriamiento para su conservación. En estos estudios, la betanina se incorpora después del proceso de fermentación con el fin de evitar su degradación térmica. El yogurt se obtiene mediante fermentación láctea a un pH de 4-5 a temperaturas de -25°C; en esta esta etapa se añade el colorante natural mediante agitación (Días et al., 2020).

Otro ejemplos es la incorporación de betanina en helados. En este caso, se añade el colorante después del proceso de pasterización. Posteriormente, la mezcla se enfría a temperaturas de 4-10°C, momento en el cual la betanina se incorpora por agitación. Finamente, durante la etapa de maduración y congelación, el colorante mantiene una buena estabilidad (Sigwela et al., 2022).

Para que un colorante sea aceptado en la industria alimentaria como un producto viable para su utilización, debe cumplir con diversos parámetros fisicoquímicos y toxicológicos que garanticen su estabilidad, seguridad y funcionalidad en diferentes matrices alimentarias. Entre los ítems más importantes se encuentra la estabilidad frente a cambios de pH, temperatura, luz y oxígeno, así como la intensidad del color, solubilidad, pureza química y capacidad de mantener sus propiedades durante procesos industriales y de almacenamiento. Asimismo, también se consideran parámetros como los grados Brix debido a su efecto sobre la apariencia del colorante en los alimentos (Scotter,2009; Azeredo,2009).

En este contexto, el rojo 40 presenta mayores ventajas debido a su elevada estabilidad y la constancia que mantiene en los diferentes parámetros evaluados. Por otra parte, la betanina, aunque es más sensible a factores ambientales, cumple con varios de los requisito necesarios para su aplicación en la industria alimentaria, lo que proporciona bases importantes para mejorar su estabilidad y favorece su uso como alternativa a colorantes sintéticos (Herbach et al., 2006).

5.5. COMPARACIÓN DE CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS, TECNOLÓGICAS Y REGULATORIAS

TABLA 4 características del rojo 40 y la betanina

Característica	Rojo 40	Betanina	Interpretación	Referencia
Origen	Sintético	Natural (Beta vulgaris)	La betanina se obtiene en fuentes vegetales renovables, mientras el rojo 40 es producido mediante síntesis química industrial.	Azeredo (2009); Scotter (2009)
Estructura química	Colorante azoico con grupo -N=N-	Betalaína (betacianina)	La presencia del grupo azo confiere mayor estabilidad al Rojo 40, mientras que la estructura fenólica de la betanina favorece su actividad antioxidante.	Hunger (2007); Esatbeyoglu et al. (2015)
Tipo de colorante	Artificia	Natural	La tendencia actual de la industria favorece el uso de colorantes naturales debido a la demanda de etiquetas impecables.	FAO/WHO (2019)
Estabilidad térmica	Alta	Moderada a baja	El rojo 40 resiste mejor procesos como pasteurización y esterilización, mientras la betanina puede degradarse con el calor.	Herbach et al, (2006); Scotter (2009)
Estabilidad a pH	Amplio rango (2-10)	Óptimo entre 4-6	La betanina presenta mayor sensibilidad a cambios extremos de pH	Herbach et al. (2006)
Solubilidad	Alta en agua	Alta en agua	Ambos son adecuados para bebidas y matrices acuosas	Azeredo (2009)
Intensidad colorante	Muy alta	Alta	El rojo 40 requiere menores concentraciones para alcanzar la misma intensidad visual	Scotter (2009)
Actividad Antioxidante	Baja o nula	Elevada	La betanina posee capacidad para neutralizar radicales libres debido a su estructura química	Esatbeyoglu et al. (2015)
IC50/ % Inhibición	Limitada	Reportado entre 3,4-49	Los valores bajos de IC50 indican una mayor eficacia antioxidante de la betanina	Esatbeyoglu et al.(2015);

		µM según el ensayo		Kang et al. (2023)
Capacidad reductora	Limitada	Alta	La betanina presenta mayor capacidad de donar electrones y reducir especias oxidativas.	Esatbeyoglu et al. (2015)
Citotoxicidad	Algunos estudios presentan efectos celulares adversos	Baja	La betanina presenta un mejor perfil biológico en concentraciones alimentarias	Amchova et al. (2015)
Efecto sobre ROS	Puede incrementar en ciertos modelos experimentales	Reduce la formación de ROS	La diferencia refleja el potencial antioxidante de la betanina frente al rojo 40	Amchova et al. (2015); Esatbeyoglu et al. (2015)
Viabilidad celular	Disminución en algunos estudios *in vitro*	Protección frente al daño oxidativo	La betanina favorece la conversación de la integridad celular	Esatbeyoglu et al. (2015)
Aplicaciones	Bebidas, confitería, gelatinas cereales y lácteos	Yogures, helados, bebidas naturales y alimentos funcionales	La estabilidad del rojo 40 amplia su uso industrial, mientras que la betanina aporta valor funcional.	Azeredo (2009); Scotter (2009)
Regulación	FDA, EFA y Codex	FDA, EFA y Codex	Ambos están autorizados para uso alimentario bajo limites establecidos	EFSA (2014); FDA; Codex Alimentarius
Ventajas	Alta estabilidad, bajo costo y elevada intensidad colorante	Natural, antioxidante y de origen vegetal	La elección depende de si se prioriza estabilidad o funcionalidad biológica	Scotter (2009); Esatbeyoglu et al. (2015)
Desventajas	Posible preocupación sobre efectos biológicos reportados	Sensibilidad a luz, oxígeno y temperatura	La principal limitación de la betanina es su menor estabilidad y la de la betanina es sus efectos por consumo elevado.	Herbach et al. (2006); Amchova et al. (2015)

Los resultados comparativos de la TABLA 4 recalcan las diferencias cruciales entre el rojo 40 y la betanina desde el punto de vista químico como tecnológico y biológico. En primer lugar, ambos compuestos cumplen la función de proporcionar coloración a los alimentos; sin embargo, difieren en su origen y estructura química. El rojo 40 es un colorante sintético perteneciente al grupo de los

colorantes azoicos, mientras la betanina es n pigmento natural perteneciente a las betalaínas, obtenido principalmente de la remolacha *(Beta vulgaris) (*Azeredo,2009; Scotter,2009).

En cuanto a las propiedades tecnológicas, el rojo 40 presenta una mayor estabilidad térmica y una mejor resistencia frente a variaciones de pH, característica que favorecen su utilización en la industria alimentaria. Por otro lado, la betanina es más susceptible a la degradación por presencia de luz, calor, oxígeno y condiciones extremas de pH lo que puede afectar la intensidad y estabilidad del color durante procesos de fabricación y almacenamiento (Herbach et al., 2006). Además los dos compuestos presentan una alta solubilidad en agua, como consecuencia su incorporación en bebidas y otras matrices alimentarias se ve favorecida.

Entre las propiedades biológicas, la principal diferencia es la actividad antioxidante que se presenta la cual solo se observa en a la betanina. Diversos estudios han demostrado que la betanina posee una elevada capacidad para neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS), por la presencia de grupos funcionales capaces de donar electrones y su capacidad de estabilizar radicales libres, además, contribuye la protección celular frente al daño oxidativo favoreciendo mecanismos antioxidantes endógenos (Esatbeyoglu et al., 2015).

Desde el enfoque industrial el rojo 40 es uno de los colorantes más utilizados debido a que posee ventajas significativas como su bajo costo, elevada intensidad y su excelente estabilidad tecnológica. Sin embargo, a creciente demand de productos elaborados con ingredientes naturales ha impulsado el interés por el uso de sustitutos como la betanina, aunque presenta limitaciones, también posee fortalezas en otros ámbitos como su capacidad antioxidante y su origen totalmente natural el cual lo coloca en un puesto bastante competitivo para el desarrollo de alimento (Azeredo, 2009).

5.6. COMPARACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y EFECTOS BIOLÓGICOS

TABLA 5 Comparación de la actividad antioxidante del rojo 40 y betanina

Compuesto	Método analítico	Parámetro evaluado	Valor reportado IC5	Actividad Antioxidante	Citotoxicidad / actividad biológica	Referencia
Betanina	ESR Y DPPH	Captación radicales libres	Depende de la concentración	Alta	Protección frente al daño oxidativo de ADN	Esatbeyoglu et al., (2015)
Betanina	Ensayos celulares	Activación de defensas antioxidantes	Incremento de HO-1 Y GSH	Alta	Inducción Nrf2 y aumento glutatión celular	Esatbeyoglu et al., (2015)
Betanina	DPPH	Actividad antioxidante	ICE50=49,18 ± 2,12 µM	Muy alta	Superior ácido ascórbico y Trolox	Kang et al,. (2023)
Betanina	DPPH	Actividad antioxidante	ICE50=55,8 ± 11,6 µM	Alta	Similar a la betanina purificada	Kang et al,. (2023)
Betanina	ORAC Y ESR	Radicales piróxilo y NO	2,83-10,70 mol TEA/mol compuesto	Alta	Captación directa de óxido nítrico	Taira et al., (2015)
Betanina	Ensayos celulares	Estrés oxidativo	Disminución de ROS	Significativa	Protección celular frente oxidación	Esatbeyoglu et al., (2015)
Rojo 40	Estudio toxicológico	Estrés oxidativo	Incremento de ROS	Baja	Alteraciones celulares por metabolitos azoicos	Amchova et al. (2015)
Rojo 40	Estudio *in vitro*	Viabilidad celular	Disminución de viabilidad	No presenta	Incremento de estrés oxidativo	Amchova et al. (2015)
Rojo 40	Estudio en animales	Inflamación intestinal	Incremento de colitis	No aplica	Alteración fisiológica intestinal	Allura red AC,2022
Rojo 40	Evaluación biológica	Metabolismo intestinal	Formación de aminas aromáticas	No aplica	Efectos biológicos por estrés oxidativo	Amchova et al. (2015)

Los estudios recopilados en la TABLA 5 demuestran las diferencias entre la betanina y el rojo 40 con respecto a su actividad antioxidante y sus efectos biológicos. En el caso de la Betania, los resultados demuestran una elevada capacidad para neutralizar especies reactivas de oxígeno esto se demostró mediante metodologías analíticas entre ellas 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), Resonancia de espín electrón (ESR) y Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC). Según Esatbeyoglu et al. (2015), la betanina actúa como un antioxidante eficaz al inducir mecanismos de defensa celular relacionados con al activación de Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), el incremento de glutatión intracelular y la expresión de enzimas antioxidantes como HO-1. Estos efectos contribuyen a reducir el daño oxidativo y preservar la integridad celular.

De igual manera, Kang et al. (2023), reporta valores bajos e IC50 para betanina en ensayos DPPH, lo que indica una elevada capacidad captadora de radicales libres. Generalmente un menor valor de IC50 representa una mayor eficiencia antioxidante por lo que los resultados sustentan el potencial que posee este colorante natural. De igual manera estas características se deben a la presencia de grupos fenólicos y sistemas conjugados.

En contraste, los estudios analizados para el rojo 40 evidencian un comportamiento diferente. De acuerdo con Amchova et al. (2015), el rojo 40 no presenta actividad antioxidante significativa y su principal interés científico se centra en evaluaciones de sus posibles efectos biológicos. El metabolismo de los colorantes azoicos genera compuestos derivados capaces de participar en procesos relacionados con estrés oxidativo. Un sin número de estudios *in vitro* han reportado incremento de ROS y disminución en la viabilidad celular cuando se utilizan concentraciones elevadas.

6. CONCLUSIONES

1. La comparación entre la betanina y el rojo 40 permitió establecer que ambos colorantes cumplen eficazmente la función de aportar color a los alimentos; sin embargo presentan diferencias significativas en su estructura molecular, propiedades químicas e implicaciones para la salud. Siendo así la betanina el pigmento natural el cual genera menor riesgo a la salud por su actividad biológica favorable.

2. De acuerdo con la descripción de las propiedades fisicoquímicas, estructura química, origen se determinó que la betanina pertenece al grupo de las betalaínas y se obtiene de la remolacha, mientras el rojo 40 es un colorante azoico sintético. Estas diferencias explican las distintas características de cada colorante permitiendo la utilización de la betanina en ciertas matrices alimentarias.

3. Comparando la estabilidad e intensidad de color, el rojo 40 mostró una mayor resistencia frente a factores externos como temperatura, luz y variaciones de pH. Por el contrario la betanina presento una menor estabilidad durante procesos de almacenamiento y a condiciones extremas de fabricación aunque se aborda métodos para poder utilizarla en algunos productos de mayor consumo.

4. Analizado los efectos biológicos se determinó que la betanina presenta elevada capacidad antioxidante, asociada con la neutralización de especies reactivas de oxígeno y protección frente al daño celular, al contrario el rojo 40 mostro actividad antioxidante insignificante recalcando que su consumo causar efectos como la hiperactividad, alergias por lo cual se sustenta que la betanina es un colorante favorable, sostenible y seguro para su utilización dentro de la industria alimentaria.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ali, R. T. M., & Jameel, Q. Y. (2023).Red beetroot betalains as a novel source of colorant in ice-cream as compared with Red Dye 40 (E129). Functional Foods in Health and Disease, 13(4), 225–239.https://doi.org/10.31989/ffhd.v13i4.1096

Azeredo, H. M. C. (2009). Betalains: Properties, sources, applications, and stability – A review. International Journal of Food Science & Technology, 44(12), 2365–2376.https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x

Al Shamari, Y. M. G., Alwarthan, A. A., Wabaidur, S. M., Khan, M. A., Alqadami, A. A., & Siddiqui, M. R. (2020). New ultra performance liquid chromatography-mass spectrometric method for the determination of Allura Red in soft drinks using corncob as solid phase extraction sorbent: Analysis and food waste management approach. Journal of King Saud University – Science, 32(1), 1135–1141. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.10.011

Aztatzi-Rugerio, L., Granados-Balbuena, S. Y., Zainos-Cuapio, Y., Ocaranza-Sánchez, E., & Rojas-López, M. (2019). Analysis of the degradation of betanin obtained from beetroot using Fourier transform infrared spectroscopy. Journal of Food Science and Technology, 56(8), 3677–3686. https://doi.org/10.1007/s13197-019-03826-2

Bateman, B., Warner, J. O., Hutchinson, E., Dean, T., Rowlandson, P., Gant, C., ... Stevenson, J. (2004). Effects of a double blind, placebo controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children. Archives of Disease in Childhood, 89(6), 506–511.

Christie, R. M. (2015). Colour Chemestry. Cambridge: Royal Society of Chemistry.

Clifford, T., Howatson, G., West, D. J., & Stevenson, E. J. (2015).
The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. Nutrients, 7(4), 2801–2822.https://doi.org/10.3390/nu7042801

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(3), 173–289.https://doi.org/10.1080/10408690091189257

Dias, M. G., Camoes, M. F. G. F. C., & Oliveira, L. (2020). Stability of betalain pigments in foods and their Application as natural colorants. Foods, 9(6), 771. https://doi.org/10.3390/foods9060771

Dinç, E., Ünal, N., & Ertekin, Z. C. (2021). Three-way analysis-based pH-UV-Vis spectroscopy for quantifying allura redin an energy drink and determining colorant's pKa. Journal of Food and Drug Analysis, 29(1), 76–86. https://doi.org/10.38212/2224-6614.1275

Food and Agriculture Organization/ World Health Organization. (2019). General Standard for Food Additives (GSFA) Codex Alimentarius Commission.

European Food Safety Authority (EFSA). (2014). Scientific opinion on the re-evaluation of Allura Red AC (E 129) as a food additive.EFSA Journal, 12(7), 3768.https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3768

Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation—Structural and chromatic aspects. Food Research International, 39(6), 667–679.https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.12.002

Hunger, K. (2007). Colorantes y pigmentos industriales: Química y aplicaciones (edición en español). Reverté.

Khayyat, L. I., Essawy, A. E., Sorour, J. M., & Soffar, A. (2018). Sunset Yellow and Allura Red modulate Bcl2 and COX2 expression levels and confer oxidative stress-mediated renal and hepatic toxicity in male rats. PeerJ, 6, e5689. https://doi.org/10.7717/peerj.5689

Kwon, Y. H., Banskota, S., Wang, H., Rossi, L., Grondin, J. A., Syed, S. A.,Giannalis, E., Wade,

N. S., De Palma, G., Wallace, L. M., Green-Johnson,S. M., Smith, J. A., Surette, M. G., Steinberg, G. R., & Khan, W. I. (2022).Chronic exposure to synthetic food colorant Allura Red AC promotes susceptibility to experimental colitis via intestinal serotonin in mice.Nature Communications, 13(1), 7617. https://doi.org/10.1038/s41467-022-35309-y

McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L., Prince, E., Sonuga-Barke, E. J. S., Warner, J. O., & Stevenson, J. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: A randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. The Lancet, 370(9598), 1560–1567. https://doi.org/10

Mikołajczyk-Bator, K., Błaszczyk, A., Czyżniejewski, M., & Kachlicki, P. (2016).Characterisation and identification of triterpene saponins in the roots of red beets (Beta vulgaris L.) using two HPLC-MS systems. Food Chemistry, 192, 979–990. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.111

Ntrallou, K., Gika, H. G., & Tsochatzis, E. D. (2020).Analytical and sample preparation techniques for the determination of food colorants in food matrices. Foods, 9(1), 58. https://doi.org/10.3390/foods9010058

Rowe, K. S., Gentry, T. S., & Sullivan, L. M. (2019).Advanced chromatographic separation and thermal stability profiling ofbetanin pigments from natural matrices. Journal of Food Composition and Analysis, 78, 112–121.

Scotter, M. J. (2009). The chemistry and análisis of food colour additives. Cambridge: Woodhead Publishing.

Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017).Oxidative stress. Annual Review of Biochemistry, 86, 715–748. https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037

Sigwela, A. M., et al. (2022). Applictin of betalains in food products. Acta Horticulturae.

U.S. Food and Drug Administration (FDA). (2022). Color additivespermitted for use in food.U.S. Department of Health and Human Services.

Solís-Rodríguez, O. S., Coral-Martínez, T. I., & Rivera-Madrid, R. (2019). Evaluación de métodos analíticos para la extracción y cuantificación de betanina. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 18(3), 845–855

Taira, J., Tsuchida, E., Katoh, C., Uehara, M., & Ogi, T. (2015).Antioxidant capacity of betacyanins as radical scavengers for peroxyl radical and nitric oxide. Food Chemistry, 166, 531–536. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.057

Yamjala, K., Nainar, M. S., & Ramisetti, N. R. (2016). Methods for the análisis of azo dyes emplloyed in food industry – A review. Food Chemistry, 192,813-824. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.0885