

Artigo

Betalainas: das Cores das Beterrabas à Fluorescência das Flores

Gonçalves, L. C. P.; Marcato, A. C.; Rodrigues, A. C. B.; Pagano, A. P. E.; Freitas, B. C.; Machado, C. O.; Nakashima, K. K.; Esteves, L. C.; Lopes, N. B.; Bastos, E. L.*

Rev. Virtual Quim., 2015, 7 (1), 292-309. Data de publicação na Web: 9 de outubro de 2014

<http://www.uff.br/rvq>

Betalains: from the Colors of Beetroots to the Fluorescence of Flowers

Abstract: The diversity of colors found in the flora results from the interaction of a few classes of pigments with light. Betalains are nontoxic vacuolar pigments that replace anthocyanins in some families of angiosperms and some basidiomycete fungi. There are two classes of betalains: yellow betaxanthins and red betacyanins both biosynthesized from betalamic acid, a fluorescent aldehyde derivative of L-tyrosine. Betalains are found, for example, in beetroot, dragon fruit, fly agaric, bougainvillea and amaranth. In addition, the petals of yellow varieties of four-o'clock and eleven-o'clock are pigmented by fluorescent betaxanthins. In this review we discuss the major aspects of the occurrence and chemical and photophysical properties of betalains as well as some of their technological applications.

Keywords: Betalains; fluorescence; flowers; natural pigments.

Resumo

A diversidade de cores encontradas na flora resulta da interação de algumas poucas classes de pigmentos com a luz. Betalainas são pigmentos vacuolares e atóxicos que substituem as antocianinas em algumas famílias de angiospermas e alguns fungos basidiomicetos. Existem duas classes de betalainas: as betaxantinas amarelas e as betacianinas vermelhas, ambas biossintetizadas a partir de um aldeído fluorescente derivado da L-tirosina chamado de ácido betalâmico. Betalainas são encontradas, por exemplo, em beterrabas, pitaias, no agário das moscas, na primavera e no amaranto. Além disso, as pétalas das variedades amarelas de maravilha e da onze-horas são pigmentadas por betaxantinas fluorescentes. Nesta revisão são discutidos os principais aspectos da ocorrência e propriedades químicas e fotofísicas de betalainas, bem como algumas de suas aplicações tecnológicas.

Palavras-chave: Betalainas; fluorescência; flores; pigmentos naturais.

* Universidade de São Paulo, Instituto de Química, Departamento de Química Fundamental, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, Bl. 4S, sala 460, CEP 05508-000, São Paulo-SP, Brasil.

✉ elbastos@iq.usp.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20150015](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150015)

Betalaínas: das Cores das Beterrabas à Fluorescência das Flores

Letícia Christina P. Gonçalves,^a Amauri Cesar Marcato,^b Ana Clara B. Rodrigues,^c Ana Paula E. Pagano,^c Barbara C. de Freitas,^c Caroline de O. Machado,^c Karina K. Nakashima,^c Larissa C. Esteves,^c Nathana B. Lopes,^c Erick L. Bastos^{c,*}

^a Technische Universität Wien, Institut für angewandte Synthesechemie, Getreidemarkt 9, BIO2A09, A-1060 Wien, Austria.

^b Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Rua do Matão, trav. 14, nº 321, Ed. A. B. Joly, CEP 05508-090, São Paulo-SP, Brasil.

^c Universidade de São Paulo, Instituto de Química, Departamento de Química Fundamental, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, Bl. 4S, sala 460, CEP 05508-000, São Paulo-SP, Brasil.

* elbastos@iq.usp.br

Recebido em 25 de setembro de 2009. Aceito para publicação em 1 de outubro de 2014

1. Aspectos gerais: as cores das plantas
2. A química de betalaínas
3. Fontes de betalaínas
 - 3.1. Beterrabas
 - 3.2. Frutas de cactos: opuntia e pitaia
 - 3.3. Flores
4. Absorção, cor e fluorescência
5. Aplicações tecnológicas
6. Considerações Finais

1. Aspectos gerais: as cores das plantas

Clorofila é um pigmento vegetal¹ que captura a energia da luz do sol para a conversão de dióxido de carbono em glicose na fotossíntese.² Na via das pentoses-fosfato, D-glicose é o material de partida para a obtenção de D-eritrose-4-fosfato, composto

chave na biossíntese do ácido xiquímico. Aminoácidos aromáticos, como a L-fenilalanina e a L-tirosina, são produtos da via do xiquimato e, em plantas, dão origem às antocianinas e betalaínas. Em outras palavras, nas plantas a luz não somente possibilita os processos físicos e químicos relacionados à visão das cores, mas é a "matéria prima" que possibilita a biossíntese dos pigmentos.^{3,4} A Figura 1 apresenta alguns exemplos de pigmentos encontrados em

plantas.

Plantas que produzem flores (*i.e.*, Angiospermas) têm à sua disposição um maquinário de reprodução com grande apelo estético. Entretanto, há muito mais nas flores do que os olhos humanos podem ver. Pigmentos que absorvem luz na região do ultravioleta criam padrões de contraste nas

pétalas e em outras estruturas da planta que só podem ser vistos por espécies com aparelho visual adequado. Além disso, pigmentos fluorescentes são encontrados em algumas espécies de plantas, mas o motivo para a sua ocorrência ainda não foi compreendido.⁶

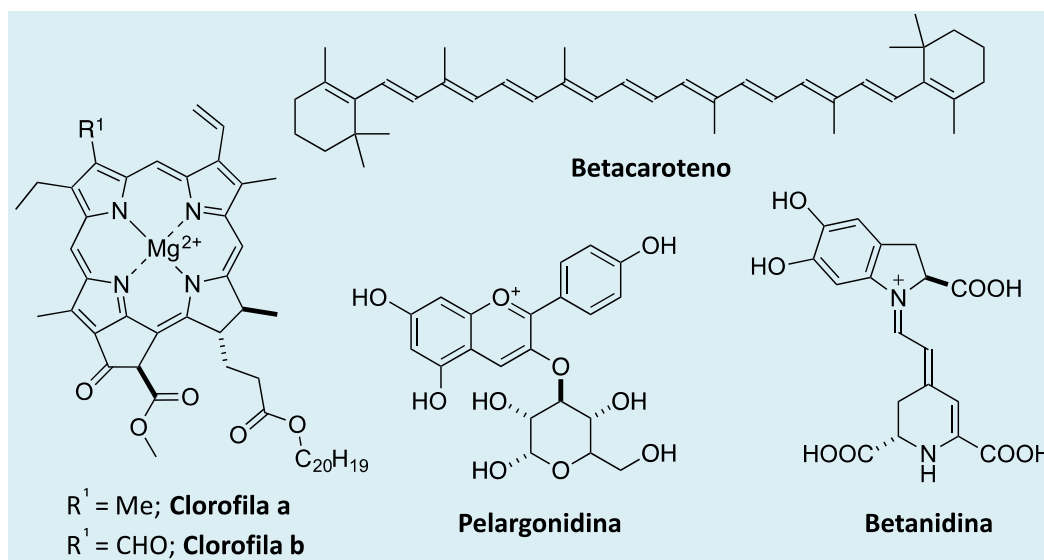


Figura 1. Estrutura de alguns exemplos de pigmentos vegetais: clorofila (tetrapirrol), pelargonidina (antocianina), betacaroteno (carotenoide) e betanidina (betalaína)^{2,3,5}

Betalaínas são alcaloides coloridos, atóxicos e solúveis em água que substituem as antocianinas em todas as famílias de plantas da Ordem Caryophyllales, exceto nas famílias Caryophyllaceae e Molluginaceae.⁷ Exemplos de plantas pigmentadas por betalaínas incluem a primavera (*Bougainvillea* spp.), o amaranto (*Amaranthus* spp.) e a beterraba (*Beta vulgaris* L.).⁸ Betalaínas também foram identificadas em alguns fungos basidiomicetos dos gêneros *Amanita* e *Hygrophorus*. Um exemplo é o agário-das-moscas (*Amanita muscaria* (L.) Lam.),⁹ bastante conhecido pelos seus componentes psicoativos e pelo seu píleo vermelho com pontos brancos.¹⁰

Assim como ocorre com as antocianinas, o papel das betalaínas em flores e frutos parece relacionar-se com a atração de vetores no processo de

polinização e dispersão de sementes.¹¹ No entanto, as vantagens evolutivas da presença de betalaínas em órgãos vegetativos e em fungos superiores ainda são desconhecidas.^{3,12,13} Ainda mais intrigante é o fato de algumas flores pigmentadas por betalaínas serem fluorescentes.¹⁴⁻¹⁶

2. A química de betalaínas

As duas classes de betalaínas naturais conhecidas possuem um sistema conjugado 1,7-diazseptametílico como cromóforo, que se origina de sua biossíntese a partir do ácido betalâmico, um aldeído α,β -insaturado instável (Figura 2). *Betaxantinas* (Latim: *beta* = beterraba; Grego: *xanthos* = amarelo) são iminas ou sais de imínio com máximo de absorção (λ^{abs}) entre 460 e 480 nm e que se

originam do acoplamento entre o ácido betalâmico e aminoácidos. Por outro lado, os produtos de condensação entre o mesmo ácido e derivados glicosilados da ciclo-DOPA

são chamados de *betacianinas* devido à sua coloração violeta intensa (Grego: *kyaneos* = azul, $\lambda^{abs} = ca. 540 \text{ nm}$).¹⁷⁻¹⁹

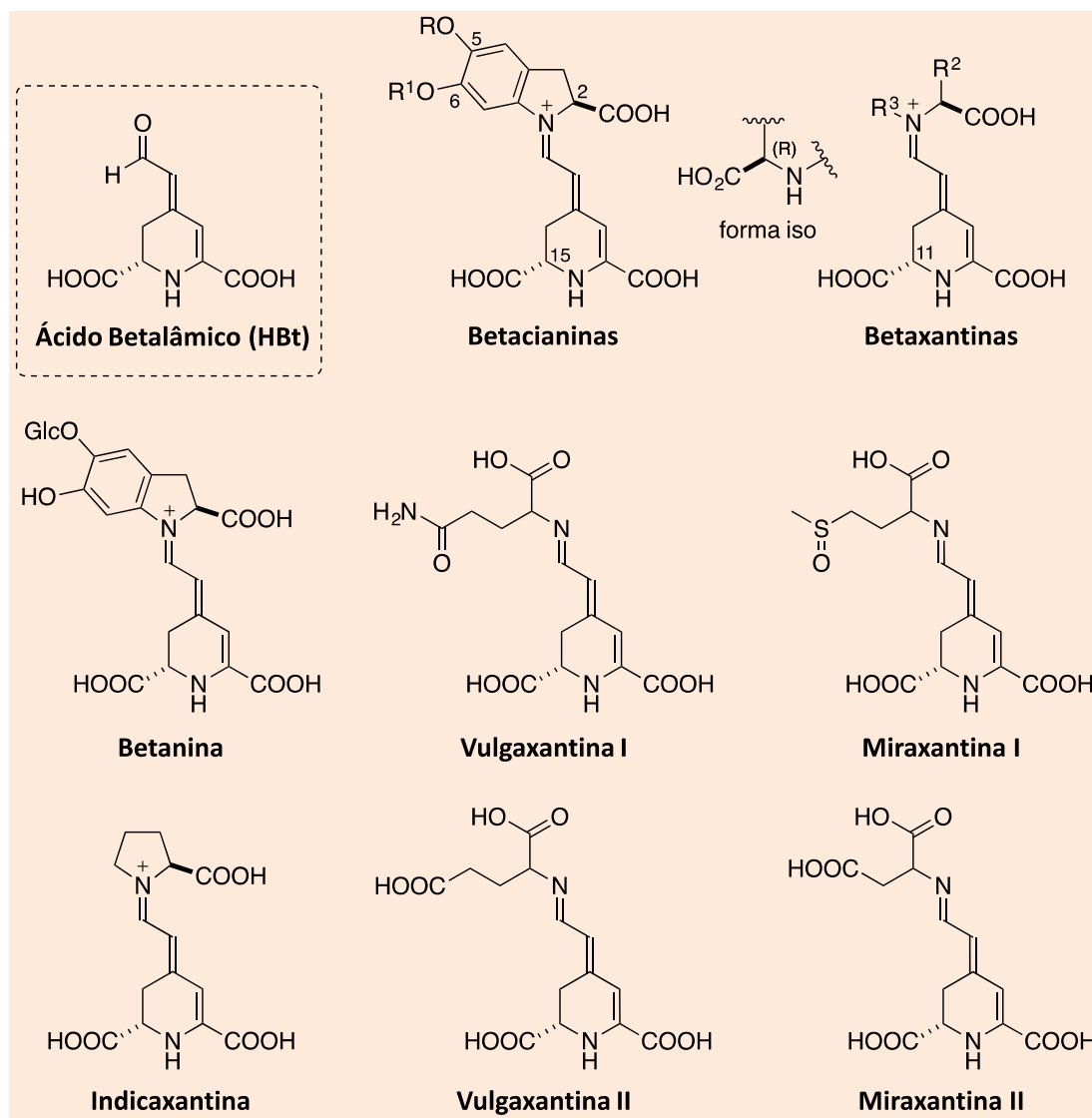


Figura 2. Estrutura geral das betacianinas vermelhas (R e $R^1 = H$ ou Glc) e das betaxantinas amarelas (R^2 e R^3 são grupos característicos de aminoácidos). Estrutura do ácido betalâmico, o precursor comum a todas as betalainas, e exemplos encontrados na natureza

Betaxantinas e betacianinas têm estruturas parecidas, mas as suas propriedades podem ser bastante diferentes. Por exemplo, a indicaxantina (betaxantina derivada da L-prolina) é amarela, pouco fluorescente em água (rendimento quântico de fluorescência (Φ_{Fl}) = 4×10^{-3})^{20,21} e tem, surpreendentemente, capacidade

antirradicalar 1,6 vezes mais alta do que a do padrão Trolox (*i.e.*, *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity* (TEAC) = 1,6). Por outro lado, a betanina (**Bn**, betacianina da ciclo-DOPA 5-*O*-glicosilada) é magenta, pouquíssimo fluorescente e tem capacidade antirradicalar comparável ao galato de epicatequina (TEAC ≈ 5).²² A estrutura destas

betalaínas difere apenas na ausência da porção catecol glicosilada na indicaxantina (Figura 2). Estas duas betalaínas apresentam atividade antioxidante na presença de lipoproteínas de baixa densidade (LDL)²³, sistemas-modelo de membranas celulares (lipossomas)²⁴ e células íntegras²⁵, modulam as vias de transdução de sinal mediadas por processos redox na resposta inflamatória de endotélio em cultura²⁶ e mostraram efeitos antiproliferativos em linhagens celulares de tumores humanos²⁷.

Cerca de 200 mg de betanina podem ser extraídos de 100 g de suco de beterraba²⁸ e o ácido betalâmico pode ser obtido pela hidrólise alcalina de betanina e purificado em coluna de troca iônica. Diversas betalaínas naturais foram semissintetizadas pela reação de amins ou aminoácidos com ácido betalâmico purificado, dado que corrobora a hipótese que a etapa final de biossíntese destes pigmentos é espontânea e não depende de catálise enzimática.¹⁸ Apesar disso, betalaínas são, em sua maioria, iminas ou sais de imínio higroscópicos, semissintetizados em microescala sendo, portanto, difícil se obter quantidades apreciáveis de amostra seca e livre de outros sais.²⁹⁻³⁴

3. Fontes de betalaínas

Os pigmentos mais comuns colorindo as flores, folhas, frutos e sementes das Angiospermas são os flavonoides, em especial as antocianinas. Betalaínas ocorrem apenas na ordem Caryophyllales, que é composta por 35 famílias que agrupam cerca de 10000 espécies e representam cerca de 7% da diversidade na classe das eudicotiledôneas.¹³ Nas espécies que produzem betalaínas não são encontradas antocianinas e nas poucas famílias pigmentadas por antocianinas (Molluginaceae e Caryophyllaceae) não se encontram betalaínas. Tal fato sugere que a ocorrência de betalaínas e antocianinas é mutuamente exclusiva, ou seja, a ocorrência

de uma classe elimina a possibilidade da ocorrência da outra.³⁵

Não se sabe precisamente o contexto em que as betalaínas evoluíram, nem a razão de betalaínas e antocianinas serem mutuamente exclusivas, dado que a reconstrução da história evolutiva desses pigmentos ainda não foi totalmente elucidada. Há apenas algumas hipóteses, como a existência de uma via regulatória comum na qual antocianinas atuam como inibidoras da biossíntese de betalaínas, e vice-versa.³⁶

3.1. Beterrabas

Beterrabas vermelhas (*Beta vulgaris* L.) têm sido usadas como a principal fonte de betalaínas desde o trabalho pioneiro de von Elbe e colaboradores.³⁷ Podem ser obtidas betanina, seu epímero isobetanina, prebetanina e quantidades menores de vulgaxantina I e vulgaxantina II (Figura 2), sendo que misturas destes pigmentos são comercializadas para uso como corante alimentício (beterraba em pó, EEC E162, < 1%_{m/m} de betanina).^{28,38} De forma geral, o conteúdo de betacianinas e betaxantinas em beterrabas vermelhas varia entre 0,04 - 0,21% e 0,02 - 0,14%, respectivamente, dependendo do cultivar.²⁹

O desenvolvimento de novas variedades e a manipulação genética têm aumentado o conteúdo de pigmentos destas plantas.³⁹ Por exemplo, a seleção recorrente de culturas de beterraba com alto conteúdo de betalaínas contribuiu para um aumento no rendimento de obtenção de betanina a partir de material vegetal bruto.³⁹ Ainda, biorreatores e culturas de células vegetais têm sido cada vez mais utilizados na produção em larga escala de betalaínas.⁴⁰ Quando usado como corante, o suco de beterraba é pasteurizado para eliminar microrganismos. A quantidade de açúcar em suco de beterraba pode chegar a 70%; assim, o suco é fermentado para aumentar o conteúdo de pigmento, o que resulta em uma maior intensidade de cor do

concentrado resultante.⁷ Assim como muitos pigmentos de origem natural, o suco de beterraba pode ser seco por aspersão (*spray-dried*) ou por liofilização (*freeze-dried*) de forma a produzir um pó.⁷ Os principais problemas das preparações com beterrabas vermelhas são o seu alto nível de nitrato e seu cheiro desagradável de terra causado pela presença de derivados pirazínicos e geosmina.⁴¹ Desta forma, um processo microbiano de desnitrificação é usado para reduzir os níveis de nitrato em preparações de beterraba vermelha.⁴² Além disso, devido ao seu alto poder corante, as quantidades de pó de suco de beterraba usadas como aditivos corantes em alimentos e bebidas tendem a serem pequenas.⁷

Beterrabas amarelas, também chamadas de douradas, são menos exploradas comercialmente do que as variedades vermelhas. Sua pigmentação resulta de uma combinação de até dez pigmentos, principalmente vulgaxantina I, vulgaxantina II, indicaxantina e ácido betalâmico (**Figura 2**).^{43,44} O maior potencial de uso da beterraba amarela é fornecer betaxantinas para a composição de misturas com betacianinas de beterraba vermelha de forma a aumentar a gama de cores para aplicação. Beterrabas são sujeitas ao escurecimento graças à presença de polifenol oxidases, e preparações de beterrabas douradas acabam se tornando pouco atraentes já que seu escurecimento é mais aparente do que nas variedades vermelhas.⁷ Apesar disso, o aroma de terra característico das beterrabas vermelhas é menos presente nas amarelas.

A acelga de talo, também conhecida como beterraba branca (*Beta vulgaris* var. *cicla*), é pigmentada por betalaínas e os talos (estipes) dos exemplares do cultivar *Bright Lights* são encontrados nas cores amarelo, laranja, vermelho e violeta.^{7,45} A análise por RP-HPLC/MS deste cultivar de acelga identificou 19 betaxantinas, algumas delas inéditas.⁴⁵ Contudo, o conteúdo de betalaínas na acelga é baixo, *i.e.*, 4 a 8 mg/100 g de estipe.⁷ A variedade vermelha desta hortaliça foi usada nos estudos da atividade de

polifenol oxidases.⁴⁶ Ainda, as propriedades antioxidantes de extratos de acelga foram determinadas, embora o efeito tenha sido atribuído erroneamente a antocianinas.⁴⁷

3.2. Frutas de cactos: opuntia e pitaita

As betalaínas de frutas de cactos cobrem um maior espectro de cores, desde o amarelo-laranja (*Opuntia* spp.) ao vermelho-violeta (*Hylocereus* spp.).^{43,48,49} As variedades amarelas destas frutas são de grande interesse, já que pigmentos naturais amarelos solúveis em água são pouco abundantes.⁵⁰ Ainda, estas plantas podem ser cultivadas em regiões áridas e semiáridas, o que é uma grande vantagem em termos de economia agrícola, e a ausência de geosmina e os níveis reduzidos de nitrato aumentam sua aplicabilidade em alimentos no lugar de extrato de beterraba.⁵¹

Opuntia (*Opuntia* spp., ingles: *cactus pear*, *prickly pear*) é um cacto suculento originário do México cuja fruta tem polpa rica em aminoácidos e apresenta tonalidades avermelhadas.⁴⁹ Supreendentemente, opuntia é uma fonte vegetal alternativa do aminoácido não essencial taurina, obtido principalmente de fonte animal, e é usada na composição de bebidas funcionais, como os energéticos.⁵² A L-prolina é o aminoácido predominante neste cacto, o que torna a indicaxantina (betaxantina amarela derivada da L-Pro) o seu pigmento principal.⁵³ A forma mais comum de opuntia é a *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (tabaibeira, figo do diabo); porém, outras espécies como a *O. undulata* Griffiths e *O. stricta* (Haw.) Haw. têm sido investigadas como fonte de betalaínas.⁵⁴ Um alto conteúdo de betacianinas (0,08%) foi detectado em *O. stricta*, que possui pele fina e menos semente do que outras espécies, além de, aparentemente, não conter betaxantinas.⁵⁴

Pitaitas (*Hylocereus* spp., *pitaya*, *saborosa*, *fruta do dragão*) são frutas nativas do México e América do Sul e que atualmente são

cultivadas em diversos países. Frutas das variedades *Hylocereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer são amarelas com polpa branca. *Hylocereus castaricensis* Britton & Rose e *Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose são vermelhas com polpa vermelha e contêm altas concentrações de betacianinas aciladas ou não aciladas (0,23 a 0,39%) e, em contraste com as beterrabas, não apresentam betaxantinas.⁵⁵⁻⁵⁷ A forma mais comum da fruta do dragão é a *Hylocereus undatus* Britton & Rose que tem cor vermelha e polpa branca ou magenta.⁵⁷ Os pigmentos responsáveis pelas cores desta variedade são a betanina, filocactina e a hilocerenina (betalaina do ácido 3-hidroxi-3-metilglutárico).⁵⁶

3.3. Flores

Os índios americanos da nação Hopi usam um corante extraído das flores do amaranto vermelho (*Amaranthus cruentus* L.) para colorir o pão de milho consumido em rituais religiosos.⁵⁸ Na região africana do Sahel, as folhas do amaranto têm uso na medicina popular no combate ao cansaço, febre e convulsões.⁵⁹ Tanto a cor carmesim característica^{60,61} quanto a ação terapêutica do amaranto são decorrentes da sua pigmentação por betalainas. A amarantina é

um pigmento característico das Amaranthaceae que foi identificado em extratos das inflorescências vermelhas de crista-de-galo (*Celosia argentea* var. *cristata* (L.) Kuntze) e inflorescências laranja-avermelhadas de crista-plumosa (*Celosia plumosa* (Voss) Burv).

Algumas flores pigmentadas por betalainas são fluorescentes.^{14,15,62} As pétalas das variedades amarelas da maravilha (*Mirabilis jalapa* L., Nyctaginaceae), onze-horas (*Portulaca grandiflora* Hook., Portulacaceae) e do cacto-margarida (*Lampranthus productus* N. E. Br., Aizoaceae) emitem fluorescência verde quando irradiados com luz azul. No caso da maravilha, por exemplo, a mistura entre betaxantinas amarelas e betacianinas violetas resulta em um interessante efeito de contraste nas pétalas, na medida em que ambos os pigmentos absorvem radiação UV-B, mas apenas os amarelos são fluorescentes (Figura 3).¹⁵ Embora esta fluorescência tenha sido relacionada ao favorecimento do processo de polinização, dados os padrões únicos de contraste nestas flores,¹⁴⁻¹⁶ estudos posteriores demonstraram que a eficiência de emissão é muito baixa para considerar o fenômeno relevante na interação entre espécies.⁶ A função de outros fenômenos emissivos na natureza, como a bioluminescência de fungos,⁶³ também é controversa.

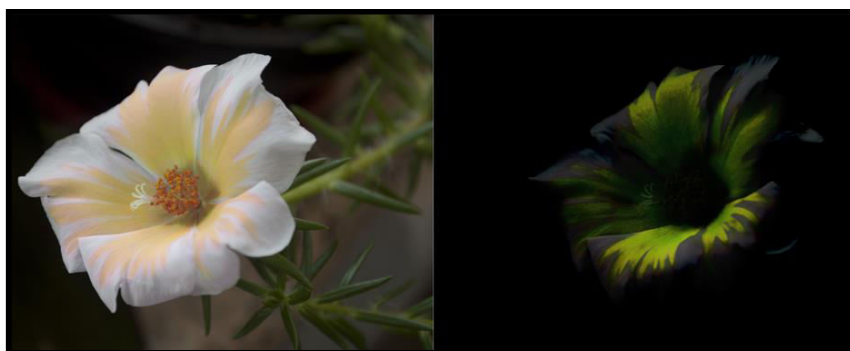


Figura 3. Emissão de fluorescência da flor de maravilha (*M. jalapa*). O contraste da foto no escuro e o reflexo da lâmpada foram alterados digitalmente para aumentar a visibilidade da fluorescência verde

4. Absorção, cor e fluorescência

O perfil de absorção de betalaínas é empregado frequentemente para descrever as propriedades espectrais destes pigmentos (Figura 4). Entretanto, modificações estruturais e alterações nas condições de medida (*e.g.*, pH, força iônica, solvente, temperatura) alteram significativamente o perfil de absorção.^{19,64} A maior parte das betaxantinas (naturais e artificiais) tem cor amarelo-alaranjada e muitas delas são fluorescentes, fenômeno não observado em betacianinas.^{15,17,62,65} Os valores de energia singlete de betalaínas variam tipicamente entre 50 e 60 kcal mol⁻¹ (*ca.* 240 kJ mol⁻¹) e não há estimativas da energia triplete para nenhum derivado. Os valores de coeficientes de absorção molar (ϵ) relatados para betalaínas em água apresentam grande incerteza dada a dificuldade em obter quantidades apreciáveis de amostra seca e pura.²⁹⁻³⁴ Por exemplo, para a betanina são relatados os seguintes valores de ϵ (em L mol⁻¹ cm⁻¹): 51000 (542 – 546 nm)⁶⁶, 62000 (536 – 538 nm)⁶⁷, 60500 (536 – 538 nm)⁶⁸, 60000 (538 nm)⁶⁹, 65000 (535 nm)³², 56234 (536 nm)³³, 61600 (536 nm)³¹ enquanto para a indicaxantina os valores relatados são: 42658 (485 nm)³⁰, 39810 (483 nm)³⁴, 62000 (483 nm)³⁴, 50119 (484 nm)³³. Desta forma, pode-se afirmar que o valor de ϵ utilizado frequentemente para betaxantinas (48000 L mol⁻¹ cm⁻¹)^{34,69,70} é

apenas estimado. Estes valores de ϵ são mais altos do que os valores médios para antocianinas glicosiladas na posição 3, que variam entre 11300 a 29000 L mol⁻¹ cm⁻¹.^{33,71}

A Tabela 1 apresenta alguns valores de propriedades fotofísicas de betalaínas, incluindo os comprimentos de onda máximos de absorção (λ^{abs}) e de emissão de fluorescência (λ^{fl}), intensidade relativa de fluorescência em relação à dopaxantina⁶² ou à betalaína derivada de L-Ala⁶⁵ (I^{fl} rel.) e deslocamento de Stokes ($\Delta\lambda$).

A maioria dos dados sobre a cor de betalaínas está relacionada ao seu uso como aditivos corantes em alimentos e utiliza o sistema de cores CIE L*a*b*, no qual a* e b* são coordenadas de cromaticidade. Valores positivos de a* indicam direção ao vermelho e valores negativos de a* indicam direção ao verde; valores positivos de b* indicam direção ao amarelo e valores negativos de b* indicam direção ao azul. L* indica brilho e seu valor varia entre 0 (objeto preto ideal) a 100 (objeto branco ideal). A degradação de betanina é acompanhada por um aumento no brilho (L*) e ângulo de matiz (*hue angle*, $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$) e por uma redução na cromaticidade (*chroma value*, $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$).^{64,72} Por outro lado, suco de beterraba contendo betacianinas e betaxantinas apresenta aumento nos valores de cromaticidade quando submetido a tratamento térmico.⁷³

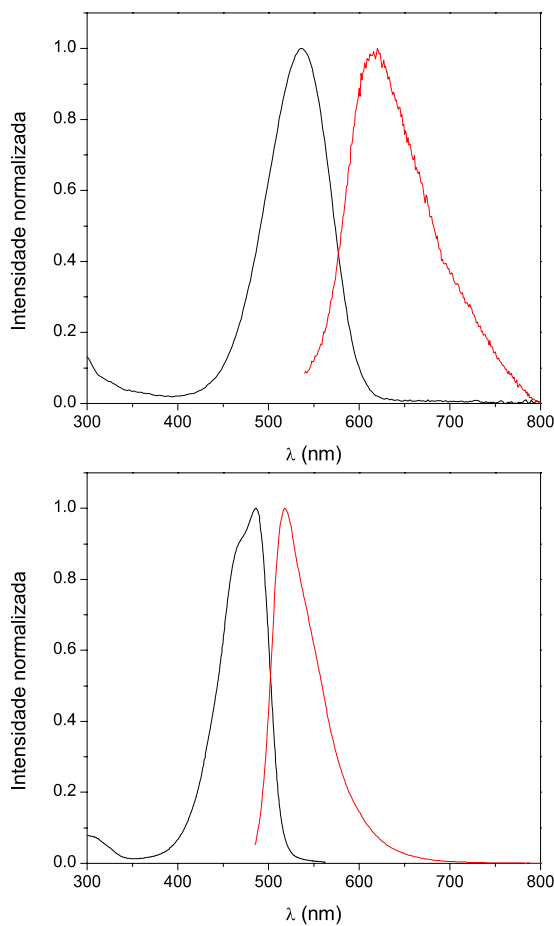


Figura 4. Espectros normalizados de absorção (preto) e fluorescência (vermelho) da betanina e da indicaxantina. A emissão de fluorescência de indicaxantina (520 nm) se sobrepõe a absorção de betanina ($\lambda^{\text{abs}} = 536$ nm). Desta forma, na presença de betanina, não se observa a fluorescência da indicaxantina

Tabela 1. Algumas propriedades fotofísicas de betaxantinas fluorescentes^{62,65}

Betaxantina	Nu	λ^{abs} (nm)	λ^{fl} (nm)	I^{fl} rel. (%)	$\Delta\lambda$ (cm ⁻¹)
Dopaxantina	DOPA	463	510	100 ^a , 81 ^b	1990
Indicaxantina	Pro	463	515	108 ^a , 88 ^b	2181
Portulacaxantina II	Tyr	474	509	116 ^a , 94 ^b	1451
Vulgaxantina I	Gln	464	509	127 ^a , 103 ^b	1905
Miraxantina V	Dopamina	465	512	67 ^a , 54 ^b	1974
Muscaurin VII	His	465	509	128 ^b	1859
Miraxantina I	MetSO	475	509	218 ^b	1406
Miraxantina II	Asp	474	507	111 ^b	1373
Vulgaxantina II	Glu	466	508	136 ^b	1774
–	Ala	463	508	100 ^b	1913
–	Met	464	509	138 ^b	1905
Miraxantina III	Tiramina	464	506	85 ^b	1789
–	Leu	464	509	128 ^b	1905
–	Phe	464	510	133 ^b	1944

^a em relação à dopaxantina⁶²; ^b em relação à betaxantina derivada de alanina.⁶⁵

5. Aplicações tecnológicas

Estudos teóricos e experimentais propõem o uso de extratos vegetais contendo betalaínas, além de betanina, indicaxantina, betanidina e ácido betalâmico purificados como fotossensibilizadores em células solares sensibilizadas por corantes (inglês: *Dye-Cells*).^{74,75,76} A porção carboxílica presente nas betalaínas favorece a interação com TiO_2 , utilizado como óxido semicondutor.⁷⁴ Dentre os pigmentos estudados, as betacianinas possuem aplicação mais promissora na conversão de energia fotovoltaica, por apresentarem melhor correspondência com o espectro de energia solar e coerência entre as bandas de condução e valência do TiO_2 e a transição HOMO-LUMO dos compostos.^{74,76}

A interação de betalaínas com TiO_2 reforça o potencial do uso destes pigmentos como ligantes. Sabe-se que a banda de absorção de betanina sofre um deslocamento batocrômico (para comprimentos de onda mais longos, menor energia) em baixas concentrações de íons Cu(I) e Cu(II) e deslocamento hipsocrômico (para comprimentos de onda mais curtos, maior energia) na presença de íons Hg(II) .⁷⁷ A

protonação das porções carboxílicas da betanina ($\text{p}K_a = 3,5$) ou a adição de quelantes adequados (*e.g.*, EDTA ou EGTA) deslocam o equilíbrio no sentido da betanina livre, indicando a formação de complexos. Complexos 1:1 de betanina e íons Eu(III) ($\log K$ para Bn:Eu(III) : 5,2)⁷⁸ foram caracterizados e usados na quantificação de esporos de *Bacillus anthracis*, o agente causador do carbúnculo. A concorrência entre a porção 1,2,3,4-tetrahydro-2,6-dipicolina presente nas betalaínas (Figura 5) e o sal de cálcio do ácido dipicolínico (CaDPA) presente no microrganismo por íons Eu^{3+} pode ser monitorada pela mudança de cor da solução de $[\text{Eu(Bn)}]^+$ de amarelo para vermelho quando submetida à presença de CaDPA.⁷⁸

Betalaínas também foram utilizadas como ponto de partida para o desenvolvimento de uma sonda fluorescente que é capaz de marcar eritrócitos infectados com *Plasmodium falciparum*, o agente causador da malária em humanos.²⁰ A Figura 6 mostra que a indicaxantina não marca os eritrócitos, estejam eles infectados ou não com *P. falciparum*. Por outro lado, a betalaína artificial betacumarina-120 (**BtC**) atravessa a membrana plasmática, a membrana do vacúolo parasitóforo e se acumula dentro do parasita.

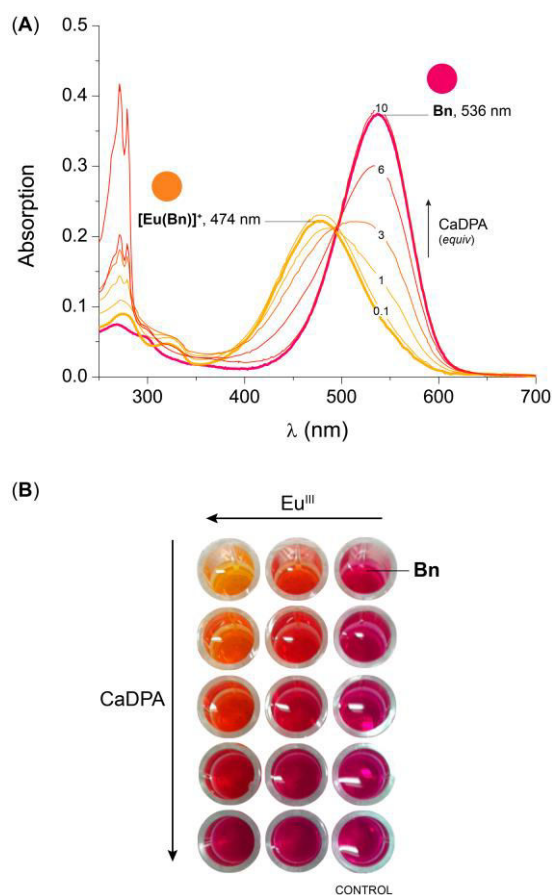


Figura 5. Efeito da adição de CaDPA em soluções aquosas de $[\text{Eu}(\text{Bn})]^+$. (A) O perfil de absorção quando o equilíbrio é deslocado para a formação de betanina livre (**Bn**) pela adição de CaDPA a uma solução de $[\text{Eu}(\text{Bn})]^+$; os números nas curvas indicam a concentração de CaDPA em equivalentes de betanina. (B) Foto de microplaca contendo **Bn** e quantidades crescentes de EuCl_3 e CaDPA. O fundo foi removido para facilitar a visualização. $[\text{Bn}] = 5,8 \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{EuCl}_3] = 34,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ (6 equiv.) em tampão MOPS pH = 7,5. Figura reproduzida com permissão a partir da ref. 78

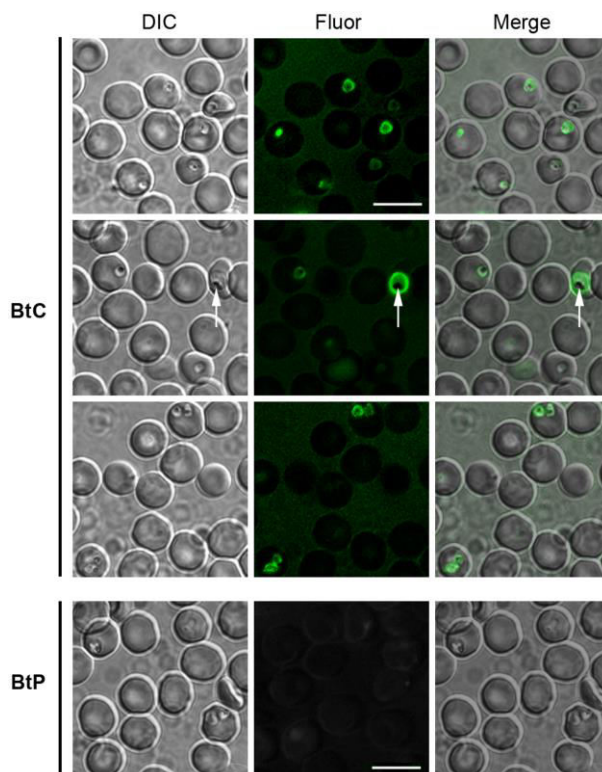


Figura 6. Marcação por betalaína de eritrócito vivo infectado por *P. falciparum* com **BtC** e experimento controle com **BtP**. Imagem obtida por microscopia de contraste por interferência diferencial (DIC), de fluorescência (Fluor) e sobreposição (Merge). As setas indicam os cristais de hemozoína não fluorescentes dentro do vacúolo digestivo do trofozoito maduro. **[BtC]** = $28 \mu\text{mol L}^{-1}$; **[BtP]** = $170 \mu\text{mol L}^{-1}$; incubação = 2 min a 25°C ; barra = $10 \mu\text{m}$. Figura reproduzida com permissão a partir da ref. 20

6. Considerações finais

No início do séc. XX, betalaínas eram conhecidas como "*antocianinas nitrogenadas*" dado o desconhecimento acerca de sua estrutura e suas propriedades. Apesar de muitos detalhes a respeito da química destes pigmentos terem sido descobertos nas décadas seguintes, apenas em 2005 descobriu-se que betalaínas eram os pigmentos responsáveis pela emissão de fluorescência das pétalas de algumas flores. Embora, até o momento, as betalaínas tenham sido menos estudadas em comparação a algumas outras classes de pigmentos vegetais, o potencial de aplicação destes pigmentos como antioxidantes, corantes em fotocélulas e sensores tem induzido o crescimento do interesse em

caracterizar suas propriedades e ampliar a escala para a sua obtenção. Em outras palavras, investigar o papel de betalaínas nas beterrabas e nas flores fluorescentes e sintetizar betalaínas naturais e artificiais nos permitem não somente entender melhor como estas substâncias interagem com a luz e a importância deste processo *in vivo* mas, inspirados na natureza, obter soluções tecnológicas para problemas contemporâneos.

Agradecimentos

À FAPESP pelos auxílios e bolsas concedidos (ELB: 2007/00684-6 e 2011/23036-5, LCPG: 2007/59407-1, KKN: 2013/24964-9, BCF: 2014/10563-5), à CAPES

e ao CNPq pelas bolsas concedidas aos estudantes e pela bolsa de produtividade (CNPq, ELB).

Referências Bibliográficas

¹ Em inglês, colorants (colorantes) são substâncias que absorvem ou emitem luz na região do espectro visível (400 - 700 nm). Colorantes podem ser *dyes* (corantes) ou pigments (pigmentos), termos que muitas vezes são utilizados indiscriminadamente. Pigmentos são praticamente insolúveis no meio ao qual são aplicados. Em produtos naturais, substâncias responsáveis pela cor de tecidos vegetais e animais são chamadas de pigmentos. Corantes, por outro lado, são solúveis ou parcialmente solúveis no meio. Em português, colorante é um sinônimo de corante e muitas vezes todos os termos são tratados como sinônimos. Assim, como betalaínas são ou se originam de produtos naturais o texto vai se referir a elas como pigmentos.

² Delgado-Vargas, F.; Jimenez, A. R.; Paredes-Lopez, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains - characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **2000**, *40*, 173. [CrossRef]

³ Tanaka, Y.; Sasaki, N.; Ohmiya, A. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant Journal* **2008**, *54*, 733. [CrossRef]

⁴ a) Davies, K. M. In *Annual Plant Reviews*; Davies, K. M., Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, 2004; Vol. 14, p 1; b) Stintzing, F. C.; Carle, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology* **2004**, *15*, 19. [CrossRef]

⁵ a) Grotewold, E. The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annual Review of Plant Biology* **2006**, *57*, 761; [CrossRef] b) Quina, F. H.; Moreira, P. F.; Vautier-Giongo, C.; Rettori, D.; Rodrigues, R. F.; Freitas, A. A.; Silva, P. F.; Macanita, A. L. Photochemistry of anthocyanins and their biological role in plant tissues. *Pure and*

Applied Chemistry **2009**, *81*, 1687; [CrossRef] c) Zsila, F.; Deli, J.; Simonyi, M. Color and chirality: carotenoid self-assemblies in flower petals. *Planta* **2001**, *213*, 937. [CrossRef]

⁶ Iriel, A.; Lagorio, M. Is the flower fluorescence relevant in biocommunication? *Naturwissenschaften* **2010**, *97*, 915. [CrossRef]

⁷ Stintzing, F. C.; Carle, R. In *Food Colorants: Chemical and Functional Properties*; Socaciu, C., Ed.; CRC Press: Boca Raton, 2008, p 277.

⁸ a) Heuer, S.; Richter, S.; Metzger, J. W.; Wray, V.; Nimtz, M.; Strack, D. Betacyanins from bracts of *Bougainvillea glabra*. *Phytochemistry* **1994**, *37*, 761; [CrossRef] b) Kugler, F.; Stintzing, F. C.; Carle, R. Characterization of betalain patterns of differently colored inflorescences from *Gomphrena globosa* L. and *Bougainvillea* sp. by HPLC-DAD-ESI-MSn. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2007**, *387*, 637; [CrossRef] c) Piattelli, M.; Imperato, F. Pigments of Centrospermae .13. Pigments of *Bougainvillea-Glabra*. *Phytochemistry* **1970**, *9*, 2557. [CrossRef]

⁹ a) Bowden, K.; Drysdale, A. C.; Moge, G. A. Constituents of *Amanita muscaria*. *Nature* **1965**, *206*, 1359; [CrossRef] b) Musso, H. The pigments of fly agaric, *Amanita muscaria*. *Tetrahedron* **1979**, *35*, 2843. [CrossRef]

¹⁰ Michelot, D.; Melendez-Howell, L. M. *Amanita muscaria*: chemistry, biology, toxicology, and ethnomycology. *Mycological Research* **2003**, *107*, 131. [CrossRef]

¹¹ Weiss, M. R. Floral Color-Change - a Widespread Functional Convergence. *American Journal of Botany* **1995**, *82*, 167. [CrossRef]

¹² a) Strack, D.; Vogt, T.; Schliemann, W. Recent advances in betalain research. *Phytochemistry* **2003**, *62*, 247; [CrossRef] b) Roberts, M. F.; Strack, D.; Wink, M. Biosynthesis of alkaloids and betalains. *Annual Plant Reviews* **2010**, *40*, 20; [CrossRef] c) Moreno, D. A.; Garcia-Viguera, C.; Gil, J. I.; Gil-Izquierdo, A. Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochemistry Reviews* **2008**, *7*, 261. [CrossRef]

- ¹³ Zryd, J.-P.; Christinet, L. Betalains. In *Annual Plant Reviews*; Davies, K. M., Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, 2004; Vol. 14, p 185.
- ¹⁴ Gandia-Herrero, F.; Garcia-Carmona, F.; Escribano, J. Floral fluorescence effect. *Nature* **2005**, *437*, 334. [CrossRef]
- ¹⁵ Gandia-Herrero, F.; Garcia-Carmona, F.; Escribano, J. Fluorescent pigments: New perspectives in betalain research and applications. *Food Research International* **2005**, *38*, 879. [CrossRef]
- ¹⁶ a) Chittka, L.; Wells, H. In *Complex worlds for simpler nervous systems*; Prete, F. R., Ed.; MIT Press: Bradford, 2004, p 165; b) Briscoe, A. D.; Chittka, L. *Annual Review of Entomology* **2001**, *46*, 471. [CrossRef]
- ¹⁷ Gandia-Herrero, F.; Escribano, J.; Garcia-Carmona, F. Structural implications on color, fluorescence, and antiradical activity in betalains. *Planta* **2010**, *232*, 449. [CrossRef]
- ¹⁸ Schliemann, W.; Kobayashi, N.; Strack, D. The decisive step in betaxanthin biosynthesis is a spontaneous reaction. *Plant Physiology* **1999**, *119*, 1217. [CrossRef]
- ¹⁹ Herbach, K. M.; Stintzing, F. C.; Carle, R. Betalain stability and degradation - Structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science* **2006**, *71*, R41. [CrossRef]
- ²⁰ Gonçalves, L. C. P.; Tonelli, R. R.; Bagnaresi, P.; Mortara, R. A.; Ferreira, A. G.; Bastos, E. L. A Nature-Inspired Betalainic Probe for Live-Cell Imaging of *Plasmodium*-Infected Erythrocytes. *Plos One* **2013**, *8*, e53874. [CrossRef]
- ²¹ Bartoloni, F. H.; Gonçalves, L. C. P.; Rodrigues, A. C. B.; Dörr, F. A.; Pinto, E.; Bastos, E. L. Photophysics and hydrolytic stability of betalains in aqueous trifluoroethanol. *Monatshefte fuer Chemie* **2013**, *144*, 567. [CrossRef]
- ²² Gonçalves, L. C. P.; Di Genova, B. M.; Dörr, F. A.; Pinto, E.; Bastos, E. L. Effect of dielectric microwave heating on color and antiradical capacity of betanin. *Journal of Food Engineering* **2013**, *118*, 49. [CrossRef]
- ²³ a) Tesoriere, L.; Butera, D.; D_Arpa, D.; Di_Gaudio, F.; Allegra, M.; Gentile, C.; Livrea, M. A. Increased resistance to oxidation of betalain-enriched human low density lipoproteins. *Free Radical Research* **2003**, *37*, 689; [CrossRef] b) Tesoriere, L.; Allegra, M.; Butera, D.; Livrea, M. A. Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant betalains in LDLs: potential health effects of betalains in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* **2004**, *80*, 941. [PubMed]
- ²⁴ a) Liveri, M. L. T.; Sciascia, L.; Lombardo, R.; Tesoriere, L.; Passante, E.; Livrea, M. A. Spectrophotometric evidence for the solubilization site of betalain pigments in membrane biomimetic systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, *55*, 2836; [CrossRef] b) Liveri, M. L. T.; Sciascia, L.; Allegra, M.; Tesoriere, L.; Livrea, M. A. Partition of Indicaxanthin in Membrane Biomimetic Systems. A Kinetic and Modeling Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2009**, *57*, 10959; [CrossRef] c) Allegra, M.; Tesoriere, L.; Livrea, M. A. Betanin inhibits the myeloperoxidase/nitrite-induced oxidation of human low-density lipoproteins. *Free Radical Research* **2007**, *41*, 335. [CrossRef]
- ²⁵ Tesoriere, L.; Allegra, M.; Butera, D.; Gentile, C.; Livrea, M. A. Cytoprotective effects of the antioxidant phytochemical indicaxanthin in beta-thalassemia red blood cells. *Free Radical Research* **2006**, *40*, 753. [CrossRef]
- ²⁶ a) Tesoriere, L.; Attanzio, A.; Allegra, M.; Gentile, C.; Livrea, M. A. Indicaxanthin inhibits NADPH oxidase (NOX)-1 activation and NF- κ B-dependent release of inflammatory mediators and prevents the increase of epithelial permeability in IL-1 β -exposed Caco-2 cells. *British Journal of Nutrition* **2013**, *FirstView*, 1; [PubMed] b) Gentile, C.; Tesoriere, L.; Allegra, M.; Livrea, M. A.; D'Alessio, P. Antioxidant betalains from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endothelial ICAM-1 expression. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2004**, *1028*, 481. [CrossRef]
- ²⁷ a) Sreekanth, D.; Arunasree, M. K.; Roy, K. R.; Reddy, T. C.; Reddy, G. V.; Reddanna, P. Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. *Phytomedicine* **2007**,

- 14, 739; [CrossRef] b) Reddy, M. K.; Alexander-Lindo, R. L.; Nair, M. G. Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, *53*, 9268; [CrossRef] c) Kapadia, G. J.; Azuine, M. A.; Rao, G. S.; Arai, T.; Iida, A.; Tokuda, H. Cytotoxic effect of the red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract compared to doxorubicin (Adriamycin) in the human prostate (PC-3) and breast (MCF-7) cancer cell lines. *Anticancer Agents Med Chem* **2011**, *11*, 280. [CrossRef]
- ²⁸ Gonçalves, L. C. P.; Trassi, M. A. D.; Lopes, N. B.; Dörr, F. A.; Santos, M. T.; Baader, W. J.; Oliveira, V. X.; Bastos, E. L. A comparative study of the purification of betanin. *Food Chemistry* **2012**, *131*, 231. [CrossRef]
- ²⁹ Nilsson, T. Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rubra* L.). *Lantbrukshögskolans Annaler* **1970**, *36*, 179. [Link]
- ³⁰ Piattelli, M.; Minale, L.; Prota, G. Isolation, structure and absolute configuration of indicaxanthin. *Tetrahedron* **1964**, *20*, 2325. [CrossRef]
- ³¹ Piattelli, M.; Imperato, F. Betacyanins of Family Cactaceae. *Phytochemistry* **1969**, *8*, 1503. [CrossRef]
- ³² Schwartz, S. J.; von Elbe, J. H. Quantitative determination of individual betacyanin pigments by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1980**, *28*, 540. [CrossRef]
- ³³ Trezzini, G. F.; Zryd, J. P. Characterization of some natural and semi-synthetic betaxanthins. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 1901. [CrossRef]
- ³⁴ Wyler, H.; Wilcox, M. E.; Dreiding, A. S. Umwandlung eines Betacyans in ein Betaxanthin. Synthese von Indicaxanthin aus Betanin. *Helvetica Chimica Acta* **1965**, *48*, 361. [CrossRef]
- ³⁵ Stafford, H. A. Anthocyanins and Betalains - Evolution of the Mutually Exclusive Pathways. *Plant Science* **1994**, *101*, 91. [CrossRef]
- ³⁶ Brockington, S. F.; Walker, R. H.; Glover, B. J.; Soltis, P. S.; Soltis, D. E. Complex pigment evolution in the Caryophyllales. *New Phytologist* **2011**, *190*, 854. [CrossRef]
- ³⁷ von Elbe, J. H.; Sy, S. H.; Maing, I. L. Y.; Gabelman, W. H. Quantitative analysis of betacyanins in red table beets (*Beta vulgaris*). *Journal of Food Science* **1972**, *37*, 932. [CrossRef]
- ³⁸ Nemzer, B.; Pietrkowski, Z.; Sporna, A.; Stalica, P.; Thresher, W.; Michalowski, T.; Wybraniec, S. Betalainic and nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts. *Food Chemistry* **2011**, *127*, 42. [CrossRef]
- ³⁹ Gaertner, V. L.; Goldman, I. L. Pigment distribution and total dissolved solids of selected cycles of table beet from a recurrent selection program for increased pigment. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **2005**, *130*, 424. [Link]
- ⁴⁰ a) Akita, T.; Hina, Y.; Nishi, T. Production of betacyanins by a cell suspension culture of table beet (*Beta vulgaris* L.). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **2000**, *64*, 1807; [CrossRef] b) Akita, T.; Hina, Y.; Nishi, T. New medium composition for high betacyanin production by a cell suspension culture of table beet (*Beta vulgaris* L.). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **2002**, *66*, 902; [CrossRef] c) Mukundan, U.; Carvalho, E. B.; Curtis, W. R. Growth and pigment production by hairy root cultures of *Beta vulgaris* L. in a bubble column reactor. *Biotechnology Letters* **1998**, *20*, 469; [CrossRef] d) Neelwarne, B.; Thimmaraju, R. Bioreactor for cultivation of red beet hairy roots and in situ recovery of primary and secondary metabolites. *Engineering in Life Sciences* **2009**, *9*, 227; [CrossRef] e) Pavlov, A.; Georgiev, V.; Kovatcheva, P. Relationship between type and age of the inoculum cultures and betalains biosynthesis by *Beta vulgaris* hairy root culture. *Biotechnology Letters* **2003**, *25*, 307; [CrossRef] f) Rudrappa, T.; Neelwarne, B.; Aswathanarayana, R. G. In Situ and Ex Situ Adsorption and Recovery of Betalains from Hairy Root Cultures of *Beta vulgaris*. *Biotechnology Progress* **2004**, *20*, 777; [CrossRef] g) Shin, K. S.; Murthy, H. N.; Ko, J. Y.; Paek, K. Y. Growth and betacyanin production by hairy roots of *Beta vulgaris* in

- airlift bioreactors. *Biotechnology Letters* **2002**, *24*, 2067. [CrossRef]
- ⁴¹ a) Acree, T. E.; Lee, C. Y.; Butts, R. M.; Barnard, J. Geosmin, Earthy Component of Table Beet Odor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1976**, *24*, 430; [CrossRef] b) Tyler, L. D.; Acree, T. E.; Smith, N. L. Sensory Evaluation of Geosmin in Juice Made from Cooked Beets. *Journal of Food Science* **1979**, *44*, 79; [CrossRef] c) Parliment, T. H.; Kolor, M. G.; Maing, I. Y. Identification of Major Volatile Components of Cooked Beets. *Journal of Food Science* **1977**, *42*, 1592. [CrossRef]
- ⁴² a) Czapski, J.; Maksymiuk, M.; Grajek, W. Analysis of bionitrification conditions of red beet juice using the response surface method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1998**, *46*, 4702; [CrossRef] b) Walkowiak-Tomczak, D. Microbiological denitrification of red beet juice. *European Food Research and Technology* **2002**, *215*, 401. [CrossRef]
- ⁴³ Stintzing, F. C.; Schieber, A.; Carle, R. Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50*, 2302. [CrossRef]
- ⁴⁴ a) Strack, D.; Reznik, H. High-Performance Liquid-Chromatographic Analysis of Beta-Xanthins in Centrospermae (Caryophyllales). *Zeitschrift Fur Pflanzenphysiologie* **1979**, *94*, 163; [CrossRef] b) Savolainen, K.; Kuusi, T. Stability Properties of Golden Beet and Red Beet Pigments - Influence of pH, Temperature, and Some Stabilizers. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung* **1978**, *166*, 19. [CrossRef]
- ⁴⁵ Kugler, F.; Stintzing, F. C.; Carle, R. Identification of betalains from petioles of differently colored Swiss chard (*Beta vulgaris* L. ssp. *cicla* L. Alef. Cv. Bright lights) by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, *52*, 2975. [CrossRef]
- ⁴⁶ Zakharova, N. S.; Petrova, T. A. Investigation of betalains and betalain oxidase of leaf beet. *Applied Biochemistry and Microbiology* **1997**, *33*, 481. [Link]
- ⁴⁷ Pyo, Y. H.; Lee, T. C.; Logendra, L.; Rosen, R. T. Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cicla*) extracts. *Food Chemistry* **2004**, *85*, 19. [CrossRef]
- ⁴⁸ Stintzing, F. C.; Herbach, K. M.; Mosshammer, M. R.; Carle, R.; Yi, W. G.; Sellappan, S.; Akoh, C. C.; Bunch, R.; Felker, P. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, *53*, 442. [CrossRef]
- ⁴⁹ Stintzing, F. C.; Schieber, A.; Carle, R. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *European Food Research and Technology* **2001**, *212*, 396. [CrossRef]
- ⁵⁰ Mosshammer, M. R.; Stintzing, F. C.; Carle, R. Colour studies on fruit juice blends from *Opuntia* and *Hylocereus* cacti and betalain-containing model solutions derived therefrom. *Food Research International* **2005**, *38*, 975. [CrossRef]
- ⁵¹ a) Azeredo, H. M. C. Betalains: properties, sources, applications, and stability - a review. *International Journal of Food Science and Technology* **2009**, *44*, 2365; [CrossRef] b) Stintzing, F. C.; Schieber, A.; Carle, R. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *European Food Research and Technology* **2003**, *216*, 303; [CrossRef] c) Castellar, M. R.; Obon, J. M.; Fernandez-Lopez, J. The isolation and properties of a concentrated red-purple betacyanin food colourant from *Opuntia stricta* fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2006**, *86*, 122. [CrossRef]
- ⁵² a) Tesoriere, L.; Fazzari, M.; Allegra, M.; Livrea, M. A. Biothiols, Taurine, and Lipid-Soluble Antioxidants in the Edible Pulp of Sicilian Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) Fruits and Changes of Bioactive Juice Components upon Industrial Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, *53*, 7851; [CrossRef] b) Reyner, L. A.; Horne, J. A. Efficacy of a 'functional energy drink' in counteracting driver sleepiness.

- Physiology & Behavior* **2002**, 75, 331. [CrossRef]
- ⁵³ Kugler, F.; Graneis, S.; Schreiter, P. P. Y.; Stintzing, F. C.; Carle, R. Determination of free amino compounds in betalainic fruits and vegetables by gas chromatography with flame ionization and mass spectrometric detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, 54, 4311. [CrossRef]
- ⁵⁴ Castellar, R.; Obon, J. M.; Alacid, M.; Fernandez-Lopez, J. A. Color properties and stability of betacyanins from Opuntia fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, 51, 2772. [CrossRef]
- ⁵⁵ Wybraniec, S.; Platzner, I.; Geresh, S.; Gottlieb, H. E.; Haimberg, M.; Mogilnitzki, M.; Mizrahi, Y. Betacyanins from vine cactus *Hylocereus polyrhizus*. *Phytochemistry* **2001**, 58, 1209. [CrossRef]
- ⁵⁶ Stintzing, F. C.; Schieber, A.; Carle, R. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. *Food Chemistry* **2002**, 77, 101. [CrossRef]
- ⁵⁷ Wybraniec, S.; Mizrahi, Y. Fruit flesh betacyanin pigments in *hylocereus* cacti. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, 50, 6086. [CrossRef]
- ⁵⁸ a) Büttner, R.; Hanelt, P.; Kilian, R.; Kilian, W. *Mansfeld's encyclopedia of agricultural and horticultural crops: (except ornamentals).. Algae, Fungi, Pteridophyta, Gymnospermae, Angiospermae - Dicotyledones: Magnoliaceae - Chrysobalanaceae : with 37 figures*; Springer, 2001; b) Moerman, D. E. *Native American Food Plants: An Ethnobotanical Dictionary*; Timber Press, 2010.
- ⁵⁹ Hilou, A.; Nacoulma, O. O. G.; Millogorasolodimby, J. In *Functional Foods for Chronic Diseases*; Martirosyan, D. M., Ed.; D&A Inc.: Richardson, 2006; Vol. 3, p 121.
- ⁶⁰ Amaranto (Red No 2, E123) também se refere a um azo-composto cujo uso como corante em alimentos e cosméticos foi banido em diversos países em 1976 graças a sua suposta ação carcinogênica.
- ⁶¹ Paterson, I. *A dictionary of colour: a lexicon of the language of colour*; Thorogood, 2004.
- ⁶² ⁶² Gandia-Herrero, F.; Escribano, J.; Garcia-Carmona, F. Betaxanthins as pigments responsible for visible fluorescence in flowers. *Planta* **2005**, 222, 586. [CrossRef]
- ⁶³ a) Mendes, L. F.; Bastos, E. L.; Desjardin, D. E.; Stevani, C. V. Influence of culture conditions on mycelial growth and bioluminescence of *Gerronema viridilucens*. *FEMS Microbiology Letters* **2008**, 282, 132; [CrossRef] b) Desjardin, D. E.; Oliveira, A. G.; Stevani, C. V. Fungi bioluminescence revisited. *Photochemical & Photobiological Sciences* **2008**, 7, 170; [CrossRef] c) Mendes, L. F.; Bastos, E. L.; Stevani, C. V. Prediction of Metal Cation Toxicity to the Bioluminescent Fungus *Gerronema Viridilucens*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2010**, 29, 2177. [CrossRef]
- ⁶⁴ Herbach, K. M.; Stintzing, F. C.; Carle, R. Stability and color changes of thermally treated betanin, phylloactin, and hylocerenin solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, 54, 390. [CrossRef]
- ⁶⁵ Gandia-Herrero, F.; Garcia-Carmona, F.; Escribano, J. A novel method using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection for the determination of betaxanthins. *Journal of Chromatography, A* **2005**, 1078, 83. [CrossRef]
- ⁶⁶ Wyler, H.; Dreiding, A. S. Darstellung Und Abbauprodukte Des Betanidins .3. Über Die Konstitution Des Randenfarbstoffes Betanin. *Helvetica Chimica Acta* **1959**, 42, 1699. [CrossRef]
- ⁶⁷ Wyler, H.; Vincenti, G.; Mercier, M.; Sassu, G.; Dreiding, A. S. Zur Konstitution Des Randenfarbstoffes Betanin .2. *Helvetica Chimica Acta* **1959**, 42, 1696. [CrossRef]
- ⁶⁸ Wilcox, M. E.; Wyler, H.; Mabry, T. J.; Dreiding, A. S. Die Struktur des Betanins. 7. Mitteilung. Über die Konstitution des Randenfarbstoffes Betanin. *Helvetica Chimica Acta* **1965**, 48, 252. [CrossRef]
- ⁶⁹ Wyler, H.; Meuer, U. Biogenesis of Betacyanins - Experiments with Dopaxanthine-2-C-14. *Helvetica Chimica Acta* **1979**, 62, 1330. [CrossRef]
- ⁷⁰ a) Girod, P. A.; Zryd, J. P. Secondary metabolism in cultured red beet (*Beta vulgaris* L.) cells: differential regulation of betaxanthin and betacyanin biosynthesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **1991**, 25, 1; [CrossRef] b) Allegra, M.; Furtmueller, P.

- G.; Jantschko, W.; Zederbauer, M.; Tesoriere, L.; Livrea, M. A.; Obinger, C. Mechanism of interaction of betanin and indicaxanthin with human myeloperoxidase and hypochlorous acid. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2005**, *332*, 837. [CrossRef] c) Kanner, J.; Harel, S.; Granit, R. Betalains - a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2001**, *49*, 5178. [CrossRef]
- ⁷¹ Stintzing, F. C.; Carle, R. In *Food Colorants: Chemical and Functional Properties*; Socaciu, C., Ed.; CRC Press: Boca Raton, 2008, p 87.
- ⁷² a) Herbach, K. A.; Rohe, M.; Stintzing, F. C.; Carle, R. Structural and chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* Weber Britton & Rose) betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives. *Food Research International* **2006**, *39*, 667; [CrossRef] b) Herbach, K. M.; Stintzing, F. C.; Carle, R. Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. *European Food Research and Technology* **2004**, *219*, 377. [CrossRef]
- ⁷³ Herbach, K. M.; Stintzing, F. C.; Carle, R. Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *Journal of Food Science* **2004**, *69*, C491. [CrossRef]
- ⁷⁴ Oprea, C. I.; Dumbrava, A.; Enache, I.; Georgescu, A.; Girtu, M. A. A combined experimental and theoretical study of natural betalain pigments used in dye-sensitized solar cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* **2012**, *240*, 5. [CrossRef]
- ⁷⁵ a) Hernandez-Martinez, A. R.; Estevez, M.; Vargas, S.; Quintanilla, F.; Rodriguez, R. Natural Pigment-Based Dye-Sensitized Solar Cells. *Journal of Applied Research and Technology* **2012**, *10*, 38; [Link] b) Calogero, G.; Yum, J. H.; Sinopoli, A.; Di Marco, G.; Gratzel, M.; Nazeeruddin, M. K. Anthocyanins and betalains as light-harvesting pigments for dye-sensitized solar cells. *Solar Energy* **2012**, *86*, 1563; [CrossRef] c) Sandquist, C.; McHale, J. L. Improved efficiency of betanin-based dye-sensitized solar cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2011**, *221*, 90; [CrossRef] d) Zhang, D.; Lanier, S. M.; Downing, J. A.; Avent, J. L.; Lum, J.; McHale, J. L. Betalain pigments for dye-sensitized solar cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry* **2008**, *195*, 72; [CrossRef] e) Qin, C. Y.; Clark, A. E. DFT characterization of the optical and redox properties of natural pigments relevant to dye-sensitized solar cells. *Chemical Physics Letters* **2007**, *438*, 26. [CrossRef]
- ⁷⁶ Dumbrava, A.; Enache, I.; Oprea, C. I.; Georgescu, A.; Girtu, M. A. Toward a More Efficient Utilisation of Betalains as Pigments for Dye-Sensitized Solar Cells. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* **2012**, *7*, 339. [Link]
- ⁷⁷ a) Attoe, E. L.; Von Elbe, J. H. Oxygen involvement in betanin degradation. Oxygen uptake and influence of metal ions. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* **1984**, *179*, 232; [CrossRef] b) Pasch, J. H.; Von Elbe, J. H. Betanine stability in buffered solutions containing organic acids, metal cations, antioxidants, or sequestrants. *Journal of Food Science* **1979**, *44*, 72; [CrossRef] c) Kuusi, T.; Pyyalo, H.; Pippuri, A. The effect of iron, tin, aluminum, and chromium on fading, discoloration, and precipitation in berry and red beet juices. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* **1977**, *163*, 196; [CrossRef] d) Pyyalo, H.; Kuusi, T. Role of iron and tin in discoloration of berry and red beet juices. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* **1973**, *153*, 224. [CrossRef]
- ⁷⁸ Gonçalves, L. C. P.; Da Silva, S. M.; DeRose, P.; Ando, R. A.; Bastos, E. L. Beetroot-pigment-derived colorimetric sensor for detection of calcium dipicolinate in bacterial spores. *Plos One* **2013**, *8*, e73701. [CrossRef]