

LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS: REVISIÓN

Anthocyanins As Natural Colorants And Bioactive Compounds. A Review

GLORIA ASTRID GARZÓN¹, Ph. D.

¹Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia.

AA 14490 Bogotá, Colombia; teléfono (571) 316 50 00, ext. 14457;

Fax (571) 316 52 20; agarzonmo@unal.edu.co

Presentado 2 de mayo de 2008, aceptado 31 de mayo de 2008, correcciones 14 de agosto de 2008.

RESUMEN

En la actualidad existe una demanda considerable de colorantes naturales alternativos a los colorantes sintéticos, como el rojo No. 40, debido a su toxicidad en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos. Las antocianinas son pigmentos vegetales con gran potencial para el reemplazo competitivo de colorantes sintéticos; por tanto es de gran importancia conocer los aspectos bioquímicos que enmarcan estos pigmentos. El objetivo de esta revisión es ofrecer un esquema actualizado sobre el potencial de las antocianinas como colorantes de origen natural, y de sus propiedades químicas y bioactivas. Las antocianinas son pigmentos responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul de muchas frutas, vegetales y cereales. El interés en estos pigmentos se ha intensificado gracias a sus posibles efectos terapéuticos y benéficos, dentro de los cuales se encuentran la reducción de la enfermedad coronaria, los efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Las propiedades bioactivas de las antocianinas abren una nueva perspectiva para la obtención de productos coloreados con valor agregado para el consumo humano.

Palabras clave: antocianinas, colorantes naturales, bioactividad.

ABSTRACT

At present there is a considerable demand for natural colorants to replace synthetic ones such red No. 40 due to their toxicity when added to food products, pharmaceuticals or cosmetics. Anthocyanins are vegetable pigments with high potential for replacement of synthetic dyes. Consequently, it is important to know the biochemical aspects that characterize these pigments. The objective of this review is to offer an updated overview of the potential of anthocyanins as natural colorants and their chemical and bioactive properties.

Anthocyanins are pigments responsible for colors varying between red and purple in many fruits, vegetables and cereals. Interest in these pigments has intensified due not

only to their potential as natural colorants, but also because of their therapeutic properties. Health benefits associated with anthocyanin extracts include reduced risk of coronary heart disease, anticarcinogen and antitumoral activity, anti-inflammatory and antidiabetic effects, improved visual acuity, and improved cognitive behavior. The bioactive properties of anthocyanins open new perspectives for the use of these pigments in obtaining value-added colored products for human consumption.

Key words: anthocyanins, natural colorants, bioactivity.

INTRODUCCIÓN

Las antocianinas representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo humano (Strack y Wray, 1994). Estos pigmentos son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en varias frutas, vegetales y cereales, acumulados en las vacuolas de la célula (Wagner, 1982). Las antocianinas poseen diferentes funciones en la planta como son la atracción de polinizadores para la posterior dispersión de semillas y la protección de la planta contra los efectos de la radiación ultravioleta y contra la contaminación viral y microbiana.

El interés por los pigmentos antocianínicos e investigación científica se han incrementado en los últimos años, debido no solamente al color que confieren a los productos que las contienen sino a su probable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer, diabetes; a sus efectos antiinflamatorios y mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo. Por lo tanto, además de su papel funcional como colorantes, las antocianinas son agentes potenciales en la obtención de productos con valor agregado para el consumo humano. A pesar de las ventajas que ofrecen las antocianinas como sustitutos potenciales de los colorantes artificiales, factores como su baja estabilidad y la falta de disponibilidad de material vegetal limitan su aplicación comercial (Wrolstad, 2000; Cevallos-Casals y Cisneros Zeballos, 2004).

El objetivo de esta revisión es ofrecer un esquema actualizado sobre el potencial de las antocianinas como colorantes de origen natural, además de sus propiedades químicas y bioactivas.

LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES

La creciente preocupación por la toxicidad de los colorantes sintéticos usados en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos ha sido investigada por Hallagan, 1991, y Lauro, 1991, quienes reportaron que los colorantes rojo No. 2 y No. 40 se han prohibido en Austria, Japón, Noruega y Suecia, pero el rojo No. 40 aún se encuentra en escrutinio en Estados Unidos. Al mismo tiempo, dichos hallazgos se relacionan con modificaciones en la hiperactividad de niños de edad escolar lo cual puede considerarse un mal neuronal agudo (Breakey *et al.*, 2007). Tales antecedentes son indicios suficientes para disminuir la demanda de colorantes artificiales a favor del consumo generalizado de colorantes naturales como las antocianinas (Huck y Wilkes, 1996; Birks, 1999; Ersus y Yurdagel, 2007; Olaya *et al.*, 2008; Wallace y Giusti, 2008).

Las políticas regulatorias en cuanto al uso de colorantes derivados de las antocianinas varían de país a país (Ottersäater, 1999). Estados Unidos es el país más restrictivo en

cuanto al uso de las antocianinas como colorantes naturales. Allí, cuatro de los 26 colorantes que están exentos de certificación y aprobados para el uso en alimentos se derivan de la cáscara de la uva, del extracto de la uva, del jugo de vegetales y del jugo de frutas. Las fuentes más comunes de jugo de vegetales son el repollo morado, los rábanos y diferentes variedades de bayas (Wrolstad, 2004). En contraste, en la Unión Europea, Chile, Colombia, Irán, Israel, Corea del Sur, Malta, Perú, Arabia Saudita y los Emiratos Árabes todos los colorantes derivados de las antocianinas son reconocidos como naturales (Ottersäater, 1999).

ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS Y COLOR

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 C. Variaciones estructurales del anillo B resultan en seis antocianidinas conocidas (Fig. 1).

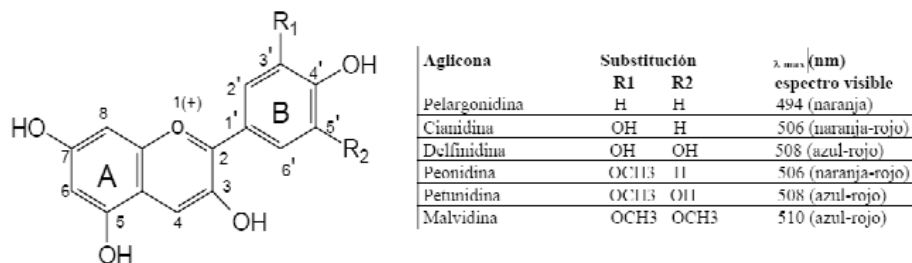


Figura 1. Estructura y sustituyentes de las antocianinas (Durst y Wrolstad, 2001).

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas.

En la naturaleza, las antocianinas siempre presentan sustituciones glicosídicas en las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos que incrementan su solubilidad. Dentro de los sacáridos glicosilantes se encuentran la glucosa, galactosa, xilosa, ramnosa, arabinosa, rutinosa, soforosa, sambubiosa y gentobiosa. Otra posible variación en la estructura es la acilación de los residuos de azúcares de la molécula con ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos pueden ser alifáticos, tales como: malónico, acético, málico, succínico u oxálico; o aromáticos: p-coumárico, caféico, ferúlico, sinápico, gálico, o p-hidroxibenzóico. Stintzing *et al.*, 2002, demostraron que el tipo de sustitución glicosídica y de acilación producen efectos en el tono de las antocianinas; es así como sustituciones glicosídicas en la posición 5 al igual que acilaciones aromáticas, producen un desplazamiento hacia las tonalidades púrpura.

BIOSÍNTESIS DE LAS ANTOCIANINAS

Los precursores de las antocianinas son bien conocidos (Springob *et al.*, 2003). Se ha establecido experimentalmente que al anillo A de las antocianinas se sintetiza por la ruta del ácido malónico con la condensación de tres moléculas de malonil-CoA, mientras que el anillo B se sintetiza por la ruta de ácido shikímico. El ácido shikímico

da paso a la fenilalanina que por acción de una fenilalanina amonía liasa (PAL), y después de una pérdida de NH₃ se convierte en ácido p-coumárico. El p-coumaril-CoA luego participa en una reacción de condensación con las tres moléculas de malonil-CoA para formar una chalcona de 15 C, reacción propiciada por una chalcona sintetasa. Este compuesto intermedio de 15 C es transformado en una flavanona en una reacción catalizada por una chalcona isomerasa. Finalmente, la flavanona es transformada en la correspondiente antocianidina por una reacción de hidroxilación en el carbono 3 seguida por una deshidratación (Fig. 2). La molécula de antocianidina se estabiliza por glicosilación del heterociclo; reacción en la que interviene una glicosil transferasa y posterior posibles reacciones de metilación de los hidroxilos seguidas de acilaciones.

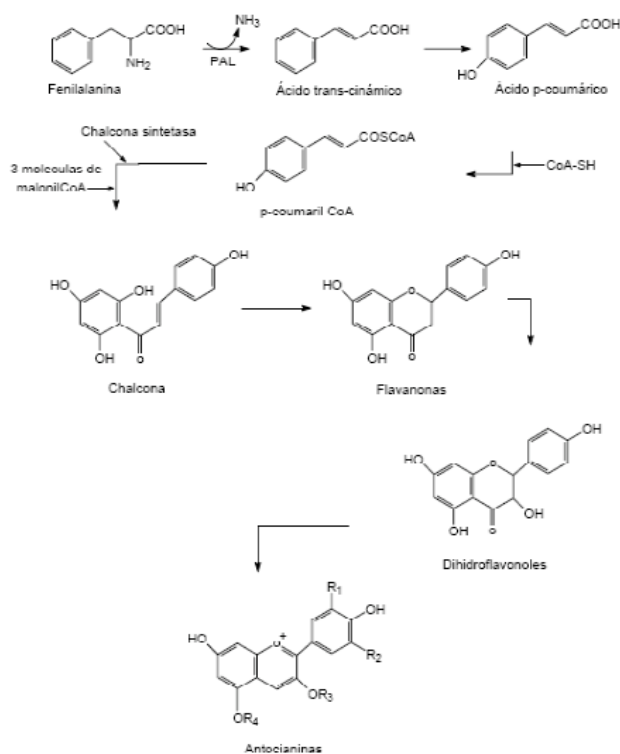


Figura 2. Ruta General de biosíntesis de las antocianinas (Delgado-Vargas, 2000).

FACTORES QUÍMICOS QUE DETERMINAN EL COLOR Y LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS

A pesar de las ventajas que las antocianinas ofrecen como posibles sustitutos de los colorantes artificiales, su incorporación a matrices alimenticias o productos farmacéuticos y cosméticos son limitadas debido a su baja estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento (Wrolstad, 2000; Cevallos-Casals y Cisneros Zeballos, 2004). Factores como su misma estructura química, pH, temperatura, presencia de oxígeno y ácido ascórbico, concentración y actividad de agua de la matriz determinan la estabilidad del pigmento.

Efecto del pH. El pH tiene efecto en la estructura y la estabilidad de las antocianinas (Fig. 3). La acidez tiene un efecto protector sobre la molécula. En soluciones acuosas a valores de pH inferiores a dos, básicamente 100% del pigmento se encuentra en su forma más estable o de ión oxonio o catión flavilio (AH^+) de color rojo intenso. A valores de pH más altos ocurre una pérdida del protón y adición de agua en la posición 2, dando lugar a un equilibrio entre la pseudobase carbinol o hemicetal (B) y la forma chalcona (C), o de cadena abierta. Tanto el hemicetal como la chalcona, son formas incoloras y bastante inestables. A valores de pH superiores a 7 se presentan las formas quinoidales (A, A⁻) de color púrpura que se degradan rápidamente por oxidación con el aire (Hutchings, 1999).

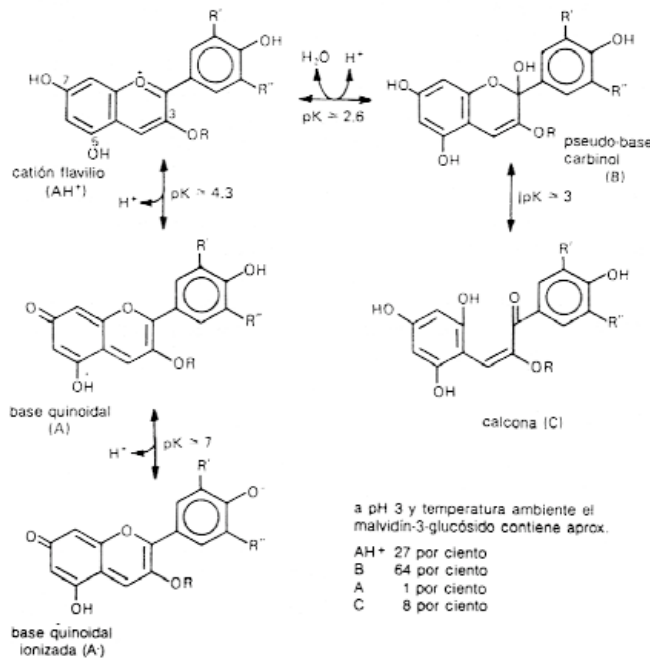


Figura 3. Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH (Coultrate, 1984).

Efecto de la temperatura. Incrementos de temperatura resultan en pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y apertura de anillo con la consecuente producción de chalconas incoloras (Timberlake, 1980).

Efecto del oxígeno y el ácido ascórbico. El efecto degradativo del oxígeno y el ácido ascórbico sobre la estabilidad de las antocianinas está relacionado. Sondheimer y Kertesz, 1953, reportaron que las condiciones que favorecen la oxidación aeróbica del ácido ascórbico en jugo de fresa y en sistemas modelo que contenían pelargo-nidina-3-glucósido proveniente de la fresa causaban grandes pérdidas de antocianinas, pero cuando el oxígeno era excluido del sistema no se observaba deterioro del color. De igual manera, Markakis *et al.*, 1957, reportaron un efecto sinérgico entre el ácido ascórbico y el oxígeno sobre la degradación de la pelargonidina-3-glucósido en solución. En investiga-

ciones más recientes, Garzón y Wrolstad, 2002, confirmaron la aceleración de la destrucción de antocianinas de fresa cuando el ácido ascórbico está presente tanto en sistemas naturales como en sistemas modelo. El efecto del ácido ascórbico sobre la estabilidad de las antocianinas ha sido explicado por Jurd, 1972, y Poei-Langston, 1981, como una posible reacción de condensación entre el ácido y los pigmentos.

Otros factores. La concentración del pigmento y la actividad de agua de la matriz afectan la estabilidad del color. Garzón y Wrolstad, 2002, compararon la estabilidad de la antocianina de fresa (pelargonidina-3-glucósido) con la de la antocianina de la cáscara de rábano (pelargonidina-3-soforósido 5-glucósido acilada con ácidos aromáticos y alifáticos) y encontraron que dicha estabilidad era independiente de la estructura, a una misma concentración de pigmento. Hoshino *et al.*, 1992, y Dangles *et al.*, 1994, demostraron que cuando la concentración de antocianinas alcanza valores altos, se presentan fenómenos de autoasociación entre dos cationes flavilio, dos formas hemiacetal, dos bases quinoidales, e inclusive, entre una base quinoidal y un catión flavilio y protegiendo la molécula de antocianina. Por otro lado, incrementos en la actividad de agua del medio causan degradación de las antocianinas probablemente debido a una mayor interacción entre el agua y el catión flavilio para formar la pseudobase inestable (Garzón y Wrolstad, 2001; Olaya *et al.*, 2008).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LAS ANTOCIANINAS

El interés en los pigmentos antocianínicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas. Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas (Miyazawa *et al.*, 1999) y ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante. Estudios con fracciones de antocianinas provenientes del vino han demostrado que estas son efectivas en atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas (Ghiselli *et al.*, 1998). Estos resultados sugieren que las antocianinas son la explicación de la conocida "Paradoja Francesa". Aunque varias hipótesis existen, se propone que el bajo riesgo de la enfermedad coronaria en Francia se asocia con el alto consumo de vino tinto (St. Leger *et al.*, 1979; Xia *et al.*, 1998). De igual manera, Wang y Jiao (2000) y Wang y Lin (2000) han demostrado que frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y contra radicales peróxido, ($ROO\cdot$), superóxido ($O_2\cdot^-$), hidroxilo ($\cdot OH$) y oxígeno singulete (1O_2).

A las antocianinas también se les atribuye actividad antitumoral y anticancerígena. Hagiwara *et al.*, 2002, demostraron que el suministro de papas púrpuras dulces y repollo morado a ratas de laboratorio, causan supresión de tumores. De igual manera, Koide *et al.*, 1997, reportaron efectos antitumorales al usar extractos de frijoles rojos de soya que contenían cianidina conjugada con glucosa y ramnosa. En cuanto a la actividad anticancerígena, Kamei *et al.*, 1998, reportaron la supresión de células cancerígenas HCT-15 provenientes del colon humano y de células cancerígenas gástricas AGS al suministrar fracciones de antocianinas del vino tinto. Así también,

Tristan *et al.*, 2005, realizaron bioensayos que demuestran que los arándanos inhiben las etapas de iniciación, promoción y progresión de la carcinogénesis.

Referente a la actividad antiinflamatoria, Wang y Mazza, 2002, encontraron en extractos concentrados de antocianinas efecto inhibitorio de la producción de óxido nítrico en macrófagos activados. Por otra parte, Vuorela *et al.*, 2005, encontraron efecto supresor de prostaglandina EG_2 , sinónimo de actividad antiinflamatoria en extractos de antocianinas de frambuesa.

De acuerdo a Tristan *et al.*, 2008, antocianinas provenientes de cuatro especies de arándanos silvestres: *Amelanchier alnifolia*, *Viburnum trilobum*, *Prunus virginian* y *Shepherdia argentea*, muestran propiedades hypoglicémicas. Tales frutos, con alto contenido de sustancias fitoquímicas, han sido consumidas tradicionalmente por tribus norteamericanas para la protección de enfermedades crónicas como diabetes. Otro ejemplo de actividad antidiabética de las antocianinas fue reportado por Perossini *et al.*, 1987. Estudios clínicos realizados en Italia revelaron que 79% de los pacientes diabéticos consumidores de extracto de bayas rojas (160 mg dos veces al día durante un mes) mostraron alivio en los síntomas de retinopatía diabética. Finalmente, el mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo como resultado del consumo de antocianinas han sido reportados por Ohgami *et al.*, 2005, quienes suministraron extractos de frutas ricas en antocianinas a ratas con deficiencia ocular, lo cual resultó en un efecto antiinflamatorio y de aumento de la agudeza visual. Joseph *et al.*, 1999, y Shukitt-Hale *et al.*, 2005, han demostrado que el comportamiento cognitivo y las funciones neuronales de ratas de laboratorio puede ser mejorado a través de suplementación nutricional con extractos de arándanos y fresas.

CONCLUSIÓN

Las antocianinas son pigmentos naturales que imparten colores a las plantas para diversas funciones. Estos pigmentos representan un potencial para el reemplazo competitivo de colorantes sintéticos en alimentos, productos farmacéuticos y cosméticos y para la obtención de productos con valor agregado dirigidos al consumo humano. Sin embargo, mucho hay por aprender en cuanto a su estabilidad en matrices específicas y a la relación entre su estructura, la actividad biológica de los metabolitos bioactivos, los efectos sinérgicos y las dosis efectivas. Estos temas son objeto de investigaciones actuales y futuras.

BIBLIOGRAFÍA

BREAKEY J, REILLY C, CONNELL H. The Role of Food Additives and Chemicals in Behavioral, Learning, Activity, and Sleep Problems in Children. In: BRANEN A L, DAVIDSON PM, SALMINEN S, THORNGATE III J H, editors. Food additives. New York: Marcel Dekker Inc.; 2002. p. 87-88.

BIRKS S. The Potential of Carrots. Food-Manuf. 1999;47(4):22-23.

CEVALLOS-CASALS BA, CISNEROS-ZEBALLOS L. Stability of Anthocyanin-based Aqueous Extract of Andean Purple Corn and Red Fleshed Sweet Potato Compared to Synthetic and Natural Colorants. Food Chem. 2004;86:69-77.

COULTATE TP. FOOD: The chemistry of its components. Burlington House, London: The Royal Society of Chemistry. 1984. p. 113.

DELGADO-VARGAS F, JIMÉNEZ AR, PAREDES-LÓPEZ O. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains-Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2000;40(3):173-289.

DURST R, WROLSTAD RE. Separation and Characterization of Anthocyanins by HPLC. In: *Handbook of Food Analytical Chemistry.* New Jersey: John Wiley & Sons; 2001. p. 33-45.

ERSUS S, YURDAGEL U. Microencapsulation of Anthocyanin Pigments of Black Carrot (*Daucus carota* L.) by Spray Drier. *J Food Eng.* 2007;80:805-812.

GARZÓN GA, WROLSTAD RE. The Stability of Pelargonidin-based Anthocyanins at Varying Water Activity. *Food Chem.* 2001;75:185-96.

GARZÓN GA, WROLSTAD RE. Comparison of the Stability of Pelargonidin-based Anthocyanins in Strawberry Juice and Concentrate. *J Food Sci.* 2002;67(4):1288-1299.

GHISELLI A, NARDINI M, BALDI A, SCACCINI C. Antioxidant Activity of Different Phenolic Fractions Separated From an Italian Red Wine. *J Agric Food Chem.* 1998;46 (2),361-367.

HAGIWARA A, YOSHINO H, ICHIHARAM T, KAWABE M, TAMANO S, AOKI H, *et al.* Prevention by Natural Food Anthocyanins, Purple Sweet Potato Color and Red Cabbage Color, of 2-Amino-1-Methyl-6-Phenylimidazo[4,5-B]Pyridine (Phip)-Associated Colorectal Carcinogenesis in Rats. *J Toxicol Sci.* 2002;27:57-68.

HALLAGAN JB. The Use of Certified Food Color Additives in the United States. *Cereal Food World.* 1991;36:945-948.

HOSHINO T, MATSUMOTO U, GOTO T, HARADA N. Evidence for the self-association of anthocyanins in neutral aqueous solution. *Tetrahedron Lett.* 1982;23:433.

HUCK P, WILKES MC. Beverage Natural Colors: Chemistry and Application. In: *International Congress and Symposium on Natural Colorants, Puerto de Acapulco. Abstracts.* México: Asociación Mexicana de Especialistas en Colorantes y Pigmentos Naturales, A.C; 1996. p. 11.

HUTCHINGS JH. *Food Color and Appearance.* 2nd ed. Gaithersburg, Md.: Aspen Publishers, Inc. 1999.

JOSEPH JA, SHUKITT-HALE B, DENISOVA NA, BIELINSKI DB, MARTIN A, MCEWEN JJ, *et al.* Reversals of Age-Related Declines in Neuronal Signal Transduction, Cognitive and Motor Behavioral Deficits With Blueberry, Spinach, or Strawberry Dietary Supplementation. *J Neurosci.* 1999;19:8114-21.

JURD L. Some advances in the chemistry of anthocyanin-type pigments. In: Chichester CO, Editor. *The Chemistry of Plant Pigments.* New York: Academic Press, 1972. p. 123-142.

KAMEI H, HASHIMOTO Y, KOIDE T, KOJIMA T, HASEGAWA M. Anti-Tumor Effect of Methanol Extracts from Red and White Wines. *Cancer Biother Radiopharm.* 1998;13(6):447-52.

KOIDE T, KAMEI, H, HASHIMOTO Y, KOJIMA T, HASEGAWA M. Antitumor Effect of Anthocyanin Fractions Extracted from Red Soybeans and Red Beans *in vitro* And *in vivo.* *Cancer Biother Radio.* 1997;12(4):277-280.

LAURO GJ. A primer on Natural Colors. J Am Assoc Cer Chem. 1991;36(11):949-953.

MARKAKIS P., LIVINGSTON GE, FELLERS, RC. Quantitative Aspects of Strawberry Pigment Degradation. Food Res. 1957;22:117-130.

McCANN D, BARRETT A, COOPER A, CRUMPLER D, DALEN L, GRIMSHAW K, *et al.* 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. Lancet. 2007;370(9598):1560-1567.

MIYAZAWA T, NAKAGAWA K, KUDO M, MURASHI K, SOMEYA K. Direct Intestinal Absorption of Red Fruit Anthocyanins, Cyanidin-3-Glucoside and Cyanidin-3,5-Diglucoside, Into Rats and Humans. J Agric Food Chem. 1999;47:1083-1091.

OHGAMI K, ILIEVA I, SHIRATORI K, KOYAMA Y, JIN XH, YOSHIDA K. *et al.*, 2005. Anti-inflammatory Effects of Aronia Extract on Rat Endotoxin-Induced Uveitis. Inv Opht Vis Sci. 2005;46:275-281.

OLAYA CM, CASTAÑO MP, GARZÓN GA. Effect of Temperature and Water Activity on the Stability of Microencapsulated Anthocyanins Extracted From Andes Berry (*Rubus glaucus*) and Tamarillo (*Solanum betaceum*). 2008; Observations not published.

OTTERSÄATER G. Coloring of Food, Drugs and Cosmetics. New York, N.Y.: Marcel Dekker, Inc.; 1999.

PEROSSINI M, GUIDI G, CHIELLINI S, SIRAVO D. Studio Clinico Sull'impeigo Degli Antocianisidi del Mirtillo (Tegens) nel Trattamento Delle Microangiopathi Retiniche di Tipo Diabetico ed Ipertensivo. Ottal Clin Ocul. 1987;113:1173-90.

POEI-LANGSTON MS, WROLSTAD RE. Color Degradation in an Ascorbic Acid-Anthocyanin-Flavanol Model System. J. Food Sci. 1981;46(4):1218-1222, 1236.

SHUKITT-HALE B, GALLI RL, METERKO V, CAREY A, BIELINSKI DF, MCGHIE T, *et al.* Dietary Supplementation with Fruit Polyphenolics Ameliorates Age-related Deficits in Behavior and Neuronal Markers of Inflammation and Oxidative Stress. Age. 2005;27(1):49-57.

SONDHEIMER E, KERTESZ ZI. Participation of Ascorbic Acid in the Destruction of Anthocyanin in Strawberry Juice and Model Systems. Food Res. 1953;18:475.

SPRINGOB K, NAKAJIMA JI, YAMAZAKI M, SAITO K. Recent advances in the Biosynthesis and Accumulation of Anthocyanins. Nat Prod Rep. 2003;20:288-303.

STINTZING FC, STINTZING AS, CARLE R, FREI B, WROLSTAD RE. Color and Antioxidant Properties of Cyanidin-based Anthocyanin Pigments. J Agric Food Chem. 2002;50:6172-81.

ST. LEGER AS, COCHRANE AL, MOORE F. Factors Associated with Cardiac Mortality in Developed Countries with Particular Reference to the Consumption of Wines. Lancet. 1979;1:1017-1020.

STRACK D, WRAY V. The Anthocyanins. In: HARBONE JB, editor. The Flavonoides. Advances in Research Since 1986. Boca Raton FL: CRC Press; 1994.

TRISTAN F, KRAFT B, SCHMIDT BM, YOUSEF GG, KNIGH CTG, CUENDET M, *et al.* Chemopreventive Potential of Wild Lowbush Blueberry Fruits in Multiple Stages of Carcinogenesis. J Food Sci. 2005;70(3):S159-S166.

TRISTAN F, MOUL D, ROGERS RBD, RIBNICKY DM, GIPP WT, CEFALUO, *et al.* Phytochemical Composition and Metabolic Performance-Enhancing Activity of Dietary Berries. *J Agric Food Chem.* 2008;56(3):654-660.

TIMBERLAKE CF. Anthocyanins-Occurrence, Extraction and Chemistry. *Food Chem.* 1980;5(1)69-80.

VUORELA S, KREANDER K, KARONEN M, NIEMINEN R, HÄMÄLÄINEN M, GALKIN A, *et al.* Preclinical Evaluation of Rapeseed, Raspberry, and Pine Bark Phenolics for Health Related Effects. *J. Agric Food Chem.* 2005;53(15):5922-5931.

WAGNER GJ. Cellular and Subcellular Location in Plant Metabolism. In: CREASY L, HRAZDINA G. editors. *Recent advances in Phytochemistry.* New York: Plenum Press; 1982. p. 1-45.

WALLACE TC, GIUSTI MM. Determination of Color, Pigment, and Phenolic Stability in Yogurt Systems Colored with Nonacylated Anthocyanins from *Berberis boliviana* L. as Compared to Other Natural/Synthetic Colorants. *J Food Sci.* 2008;C1-C7.

WANG SY, JIAO H. Scavenging Capacity of Berry Crops on Superoxide Radicals, Hydrogen Peroxide, Hydroxyl Radicals, and Singlet Oxygen. *J Agric Food Chem.* 2000;48:5677-5684.

WANG SY, LIN HS. Antioxidant Activity in Fruit and Leaves of Blackberry, Raspberry, and Strawberry is Affected by Cultivar and Maturity. *J Agric Food Chem.* 2000;48:140-146.

WANG J, MAZZA G. Inhibitory Effects of Anthocyanins and Other Phenolic Compounds on Nitric Oxide Production in LPS/IFN Gamma-Activated RAW 264.7 Macrophages. *J Agric Food Chem.* 2002;50:850-857.

WROLSTAD RE. Anthocyanins. In: Lauro GJ, Francis FJ, editors. *Natural Food Colorants.* New York, N.Y.: Marcel Dekker, Inc.; 2000. p. 237-252.

WROLSTAD R E. Anthocyanin Pigments-bioactivity and Coloring Properties. *J Food Sci.* 2004;69(5):C419-C425.

XIA J, ALLENBRAND B, SUN GY. Dietary Supplementation of Grape Polyphenols and Chronic Ethanol Administration on LDL Oxidation and Platelet Function. *Life Sci.* 1998;63:383-390.