

## Original

# Uso del colorante Azul Brillante en cerezas en conserva

Mariela Maldonado<sup>1,2</sup>, Marianela Zanon<sup>3</sup>, Marcela Almanza<sup>3</sup>, Mercedes Barroso<sup>3</sup>, Gustavo Polenta<sup>4</sup>, Gabriela Denoya<sup>4</sup>, Claudio Sanow<sup>4</sup>

<sup>1</sup>EEA Luján INTA Mendoza. <sup>2</sup>CONICET. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Don Bosco de Enología y Ciencias de la Alimentación. Universidad Católica de Cuyo. <sup>4</sup>INTA Castelar. Instituto de Tecnología de Alimentos.

### Resumen

**Fundamento:** La Eritrosina (ErB), es un colorante de toxicidad muy discutida, como son tóxicos también los productos fotoquímicos y de degradación bioquímica del mismo. Se ha reportado que causa varios tipos de alergia, actividad tiroidea, cancerígena, neurotóxica y daños en el DNA. A pesar de ello, es usada frecuentemente en la elaboración de cerezas en conserva y permitida por el Código Alimentario Argentino (CAA) y la Food and Drugs Administration (FDA). Por esto, es de suma importancia usar colorantes diferentes y de menor riesgo para elaborar alimentos. Por ello se eligió elaborar cerezas en conserva con colorante Azul Brillante, menos tóxico que la ErB y de Ingesta Diaria Admitida (IDA) menos restringida.

**Metodología:** Se elaboraron las cerezas en conserva mediante el proceso de confitado lento, hasta alcanzar una concentración de 55° Brix, como mínimo. Entre la tercera y cuarta impregnación se realizó la coloración con Azul Brillante. Luego se pasteurizaron comercialmente. Durante el proceso se midieron: grados Brix y temperatura, y color, actividad acuosa (aw) y textura en el producto final. Se efectuó un ensayo de estabilidad de color a la luz solar.

**Resultados y conclusión:** En todos los ensayos los parámetros resultaron ser los esperables. El colorante Azul Brillante cumplió con el objetivo planteado y tuvo buen grado de aceptación en la población ensayada. En el ensayo de estabilidad, las cerezas con azul permanecieron estables, mientras que el testigo con ErB se decoloró totalmente.

**Palabras clave:** Eritrosina. Azul brillante. Colorantes alimentarios. Cerezas en conserva.

### Introducción

La Eritrosina (ErB) consiste fundamentalmente en 2-(2,4,5,7-tetrayodo-3-óxido-6-oxoxanten-9-il) benzoato disódico monohidratado y otros colorantes secundarios, junto con cloruro sódico y/o sulfato sódico como principales componentes incoloros. Es ampliamente utilizada como colorante en alimentos, textiles, medica-

### USE OF BRILLIANT BLUE DYE ON CANNED CHERRIES

#### Abstract

**Background:** Erythrosine dye toxicity is much discussed, as are also toxic photochemical and biochemical degradation products thereof. It has been reported to cause various types of allergies, thyroid activity, carcinogenic, neurotoxic and DNA damage. However, it is often used in the preparation of canned cherries and permitted by the Código Alimentario Argentino (CAA) and the Food and Drug Administration (FDA). Therefore, it is important to use different dyes and less risky to produce food. So we chose to produce canned cherries Brilliant Blue dye, less toxic than erythrosine and with an Admitted Daily Intake (ADI) less restricted.

**Methodology:** Canned cherries were developed by comfit slow process, reaching at least 55° Brix. Between the third and fourth impregnation coloring was done with bright blue. Then they were pasteurized commercially. During the process they were measured: Brix and temperature, and color, water activity (aw) and texture in the final product. A stability test color to sunlight was made.

**Results and conclusion:** The expected parameters were observed in all trials proved. The bright blue dye met with the stated objective and had good acceptability in the tested population. In the stability test cherries blue remained stable, while the witness is completely decolorized with erythrosine.

**Key words:** Erythrosine. Bright blue. Food colors. Canned cherries.

mentos y cosméticos<sup>1-3</sup>. Su toxicidad, como la de otros colorantes azoados, está muy discutida. Provoca diversos tipos de alergias, modificaciones en la actividad de la tiroidea, carcinogenicidad, daño en el ADN y neurotoxicidad entre otras alteraciones en seres humanos y también en animales estudiados<sup>4-6</sup>. La degradación fotoquímica y bioquímica de la ErB no es recomendable debido a la formación de subproductos tóxicos<sup>4</sup>. Entre los colorantes alimentarios sintéticos, la ErB (tetrayodofluoresceína) es de tono rosa cerezo, de estructura xanténica y poliyodada. Es el único en esta clase, aprobado por la Food and Drug Administration (FDA). Aunque su utilización es permitida, la ErB, ha sido descrita que tiene una in-

Correspondencia: Mariela Maldonado,  
San Martín 3853, Mayor Drummond, Mendoza.  
E-mail: maldonado.mariela@inta.gov.ar  
marielabeatriz1972@yahoo.com.ar

fluencia en el comportamiento de la infancia a través de su consumo<sup>3</sup> e interfiriere con la función tiroidea debido al alto contenido de yodo<sup>5,7</sup>. Se ha reportado también que cuando se consume excesivamente, puede conducir al hipertiroidismo en algunos casos<sup>8</sup>.

En modelos *in vitro* mostró la inhibición de las enzimas que metabolizan drogas<sup>9</sup>, una potente inhibición de interacciones proteína-proteína que participa en el tumor factor de necrosis (TNF)<sup>1</sup> y alta citotoxicidad<sup>2</sup>. Drummond Chequer *et al.* estudiaron la genotoxicidad y el efecto mutagénico en células HepG2 concluyendo que la ErB puede provocar riesgos en la salud y debe ser usada con precaución<sup>6</sup>.

Según Amchova *et al.* mientras que el uso de la ErB en la industria alimentaria no parece ser de gran preocupación en Europa; sí lo es en los Estados Unidos con respecto a la toxicidad, donde ésta se utiliza en una gama mucho más amplia de alimentos<sup>10</sup>. Sin embargo, el Parlamento Europeo y el Consejo, publicó en 2008, el REGLAMENTO (CE) N° 1333/2008 sobre aditivos alimentarios<sup>11</sup>. El mismo establece que la toxicidad de los aditivos alimentarios que se evaluaron antes del 20 de enero 2009, deben ser re-evaluados por la EFSA. El programa se inició el 25 de marzo 2010 por el Reglamento (CE) N° 257/2010 y la creación del PROGRAMA para la reevaluación de aditivos alimentarios autorizados, que ha sido llamado para la presentación de nuevos datos.

Por su parte, el colorante Azul Brillante: trifenil metano, de carácter aniónico, es muy soluble en agua, también conocido como Blue 1. Su peso molecular es de: 792,85 g/mol (figura 1). Los datos toxicocinéticos confirmaron que el Azul Brillante no se absorbe bien en el tracto gastrointestinal y principalmente es excretado sin cambios en las heces<sup>10</sup>. El Nivel sin Efecto Adverso Observado (NOAEL) fue determinado en un estudio de la toxicidad crónica y reproductiva en ratas y corresponde a 631 mg/kg de peso corporal por día<sup>12</sup>. Sobre esta base, la European Food Safety Authority (EFSA) estableció el nuevo nivel de IDA a 6 mg/kg de peso corporal por día. Este valor corresponde aproximadamente a la ingesta real estimada en la población europea. No obstante, la más reciente evaluación por la EFSA realizó un dictamen científico que advierte que incluso éstos, en dosis reducidas, pueden causar reacciones de hipersensibilidad en individuos susceptibles<sup>10</sup>. Recientes estudios *in vitro* han dado resultados que demuestran capacidad citotóxica y potencial genotóxico de este colorante en cultivos de células de linfocitos de sangre humanos. En estos estudios dosis-dependiente, se observó una disminución en los valores de las frecuencias de índice mitótico, mientras frecuencia de micronúcleos se incrementó en la misma manera<sup>13</sup>. Se ha demostrado que el colorante Azul Brillante puede ser absorbido por la piel afeitada, por la mucosa oral y pasar a la circulación sanguínea<sup>14</sup>. Sin embargo, la Asociación Internacional de Fabricantes de Color afirma que la cantidad total absorbida por esta ruta está al menos 3600 veces por debajo de la ingesta diaria admisible (IDA), según lo establecido por la EFSA, y por lo tanto se puede considerar insignificante<sup>15</sup>.

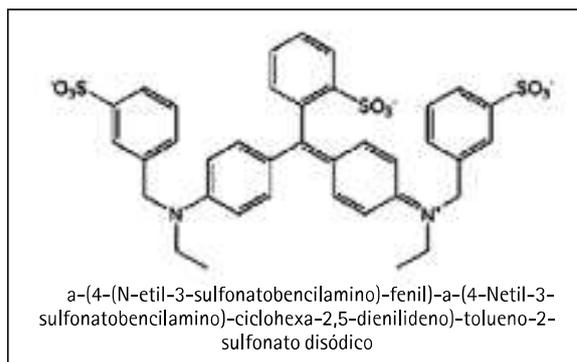


Fig. 1.—Fórmula química del colorante Azul Brillante.

Asimismo en Argentina la legislación admite una IDA: 6 mg/kg frente a la IDA de la ErB de 0-0,1 mg/kg<sup>16</sup>. Frente a tal debate, la presente investigación tiene el objeto de elaborar cerezas en conserva con estos dos colorantes y evaluar el empleo del colorante Azul Brillante. Este último, es un color no convencional para las cerezas, pero llamativo e innovador, atractivo a la vista del consumidor, y presenta una alternativa para el mercado local, con una IDA menos restringida y por lo tanto menos riesgosa para la salud.

Si bien se considera que el debate debe continuar, hay que destacar que aun siendo discutidos sus niveles de toxicidad puede haber opciones más recomendables que otras al momento de elegir un colorante sintético u otro.

## Material y métodos

Las cerezas variedad *Rainier sp*, enteras, descarozadas, despalladas, sulfitadas con 3.500 ppm, y de calibre 2,2 cm se prepararon por el método Francés. Este consiste en someter al producto a una serie de impregnaciones, con jarabes de distintas concentraciones, cada vez más altas, desde 25° a 65° Brix de concentración, a fin de evitar la lisis de las células de las cerezas. En este caso, la solución se hizo con azúcar blanca refinada (sacarosa). Previamente al candeado, se desulfitaron durante 24 horas con agua corriente y dos baños de inmersión consecutivos en agua a 60° C durante 10 minutos, hasta ausencia de anhídrido sulfuroso (método de Monier-Williams).

Se realizaron tres ensayos por triplicado cada uno: T1: cerezas coloreadas con ErB al 0,023 g/L; T2: cerezas coloreadas con Azul Brillante (azul claro al 0,023 g/L); y T3: cerezas coloreadas con Azul Brillante (azul oscuro al 0,046 g/L).

## Coloración

Después de la tercera impregnación, previo al agregado de los colorantes, el almíbar se calentó a una temperatura de  $50 \pm 2^\circ$  C. Se agregaron 9 mL de solución de ácido cítrico al 2% para llevar la solución a un pH cercano a 4,4 para la solubilización de la eritrosina ( $\text{pH}_{\text{inicial}} = 5,75$ ,  $\text{pH}_{\text{final}} = 4,45$ ). Se agregó el colorante y se

continuó con el proceso de impregnaciones. Al final del proceso, en la última impregnación, se ajustó el pH con una solución de ácido cítrico al 2% hasta llegar a un pH cercano a 3,80 y luego se agregó solución al 2% de bicarbonato de sodio hasta un pH = 4,2. Finalmente, las cerezas se envasaron en frascos hexagonales de 380 g y pasteurizaron durante 20 minutos a 100° C.

Durante la elaboración se midieron las siguientes variables: densidad del jarabe (por gravimetría y volumen), pH (AOAC 960.10), sólidos solubles de las soluciones y pulpa con refractómetro Arcano modelo 575 (A.O.A.C. 969.38), humedad<sup>17</sup>, y también se midió la textura, el color y la actividad de agua (aw).

#### *Textura de las cerezas*

Los análisis de firmeza se llevaron a cabo mediante texturómetro multipropósito utilizando el test de Kramer, en celda de Kramer 10 Blade, Pert code HDP/KS10, con una carga de 5,9 N. Las cerezas fueron cortadas por la mitad, colocándose aproximadamente 20 g en la celda de Kramer. Los frutos fueron sometidos a la fuerza de corte de la celda mediante una velocidad de avance de 3,33 mm/s a temperatura ambiente. Se registró el valor de firmeza máxima (N) correspondiente al pico en la curva carga-tiempo. Las diferencias correspondientes a la cantidad de fruta cargada fueron estandarizadas dividiendo la firmeza total por la masa de fruta cargada.

#### *Color de las cerezas*

Las mediciones de color (L\*, a\* y b\*) fueron evaluadas con un colorímetro (Kónica Minolta, CR-400, Iluminante D65), en donde L\* expresa el brillo o la oscuridad (0 es oscuro y 100 es brillante); -a\*, +a\*, -b\* y +b\* representan el color verde, rojo, azul y amarillo respectivamente.

Se tomaron 3 mediciones en distintas posiciones de la superficie por fruto y se evaluaron 3 frutos por unidad experimental, realizados sobre la superficie ecuatorial de los frutos con un cromómetro (Minolta, CR 300). El instrumento se calibró con una placa de calibración (Minolta, no. 16033148 - Y 92.4, x 0.3137, y 0.3194). Se utilizó como fuente de luz una lámpara de arco de xenon pulsátil y un área de 8 mm.

#### *Actividad de agua de las cerezas*

Las mediciones de actividad de agua (aw) fueron realizadas mediante un higrómetro de punto de rocío (AquaLab model, series 4 TE). La fruta fue cortada en pequeños trozos, llenándose las celdas junto con el líquido de equilibrio del interior de cada envase, hasta alcanzar aproximadamente un 80% del volumen. Las celdas fueron mantenidas en una plancha calefactora a 25° C hasta el momento de la medición. El higrómetro fue previamente calibrado con agua destilada.

#### *Pérdida de peso relativo*

Para ello, antes de efectuar la primera impregnación, se separaron 10 cerezas, se colocaron dentro de una bolsita de malla flexible de nylon atada con piolín de nylon, de manera que el jarabe pudiera impregnar las cerezas sin problemas. Se tomó el peso inicial de las cerezas embolsadas (P<sub>1</sub> = peso inicial) y se incorporaron a la olla junto con el resto (se mantuvieron sumergidas en el jarabe). Cada media hora se tomó la bolsita, se escurrió sacudiéndola suavemente 4 veces, se extrajo al máximo el jarabe secándola con papel secante, se taró un vaso plástico, se colocó la bolsita dentro de él, y se pesó en una balanza analítica (P<sub>2</sub> = peso de la bolsita con la muestra). Las pesadas se realizaron con una frecuencia de 30 minutos, durante 3 horas, luego de cada impregnación. La fórmula para su cálculo fue:

$$\text{Pérdida de peso \%} = \left( \frac{\text{peso inicial} - \text{peso de la bolsita con muestra}}{\text{Peso inicial}} \right) \times 100$$

#### *Análisis estadístico*

Se aplicó el análisis de la varianza (ANOVA) para establecer diferencias significativas entre los tratamientos y test de Fisher como prueba de comparación de medias para las variables de aw, textura y color, con un nivel de significancia del 5%. Cuando fue aplicable se utilizó el procedimiento de comparación múltiple de medias para determinar cuáles fueron los tratamientos diferentes. Se utilizaron los programas Excel de Microsoft y StatGraphics Centurion XVI.I.

#### *Análisis sensorial*

Se realizó Test de escala hedónica de 5 puntos y Test de preferencia con jueces no entrenados<sup>18</sup>.

#### *Ensayo de vida útil*

Por último se realizó un ensayo de estabilidad del colorante que consistió en colocar tres muestras de cada tratamiento a la oscuridad y otras tres muestras a la luz solar en el ambiente del laboratorio a 50 cm de una ventana de vidrio común (4 mm de espesor) durante seis meses, tratando de simular las condiciones a las que posiblemente estarían sometidos los frascos de las cerezas en las estanterías de las tiendas.

#### **Resultados y discusión**

En la figura 2 se pueden observar la disminución en el contenido de sólidos solubles (°Brix) en el jarabe que ocurre debido a la entrada de azúcares a la matriz de la cereza en cada impregnación, en el tratamiento T1. Se

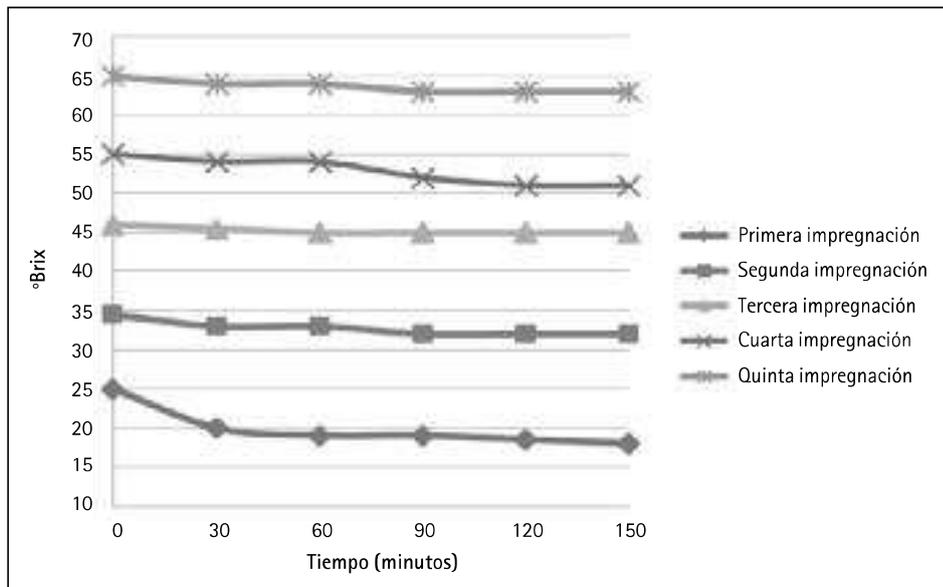


Fig. 2.—Variación en el contenido de sólidos solubles (°Brix) en el jarabe versus tiempo de cada impregnación. Ensayo T1: eritrosina.

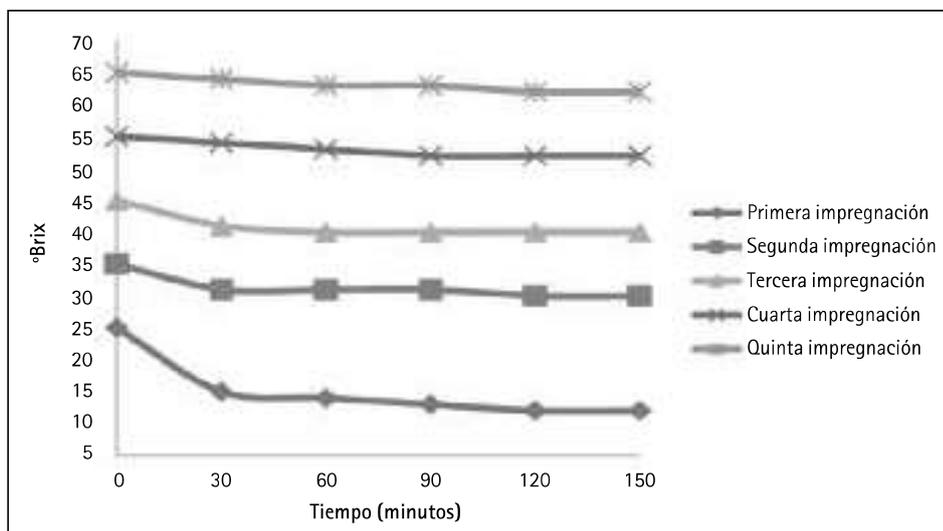


Fig. 3.—Variación en el contenido de sólidos solubles (°Brix) en el jarabe versus tiempo de cada impregnación. Ensayo T2: Azul Brillante.

comenzó con una concentración de 25° Brix y finalizó con el producto estabilizado a 63° Brix. Las distintas impregnaciones permitieron el intercambio osmótico típico, que ocurre en los productos deshidratados osmóticamente: salida de agua y otras sustancias y entrada de sólidos solubles, en este caso en forma de jarabe de sacarosa.

En la figura 3 se pueden observar las disminuciones en el contenido de sólidos solubles (°Brix) en el jarabe del tratamiento con Azul Brillante (T2), que sucedió debido a la entrada de azúcares a la matriz de la cereza en cada impregnación. En este caso también comenzó con un jarabe de 25° Brix, y terminó con un producto estabilizado a 62° Brix. Tanto el ensayo T2 como el T3 se comportaron de manera muy similar en el intercambio osmótico (datos no mostrados pero disponibles).

En todos los tratamientos el descenso lento de los sólidos solubles estuvo gobernado por la temperatura am-

biente ( $20 \pm 2^\circ \text{C}$ ) y la concentración de jarabe entre otras cosas. Pero el mismo fue más acentuado en las primeras impregnaciones y en las primeras horas.

En la figura 4 se encuentran representadas las pérdidas de peso relativas (%) a los pesos iniciales de las cerezas que se produjeron al finalizar cada una de las cinco impregnaciones, realizadas durante el confitado de las cerezas con ErB (T1). La pérdida de peso del tratamiento T1 fue de 47,29%, de manera gradual, siendo consistente con lo investigado por otros autores que han evaluado que los mayores intercambios ocurren en las primeras etapas del tratamiento<sup>19</sup>. Esta pérdida de peso relativa representa la salida de agua y de algunos solutos al medio, mientras en paralelo ocurre la entrada de sólidos solubles a la solución por difusión debido al fenómeno de deshidratación osmótica<sup>19,20</sup>.

En la figura 5 se observa que, la diferencia de pérdida de peso relativa (%) en el tratamiento T2 con Azul Bri-

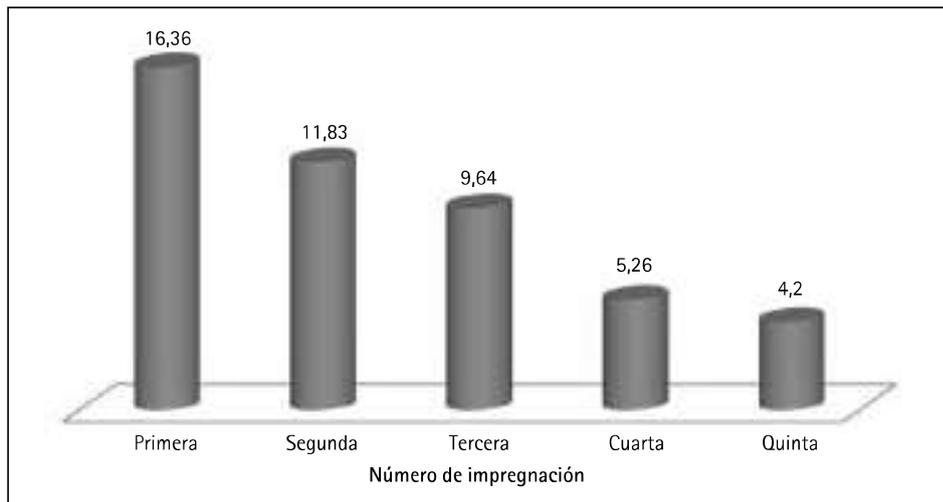


Fig. 4.—Pérdida de peso relativa (%) durante la deshidratación osmótica al finalizar cada una de las cinco impregnaciones. Ensayo T1: eritrosina.

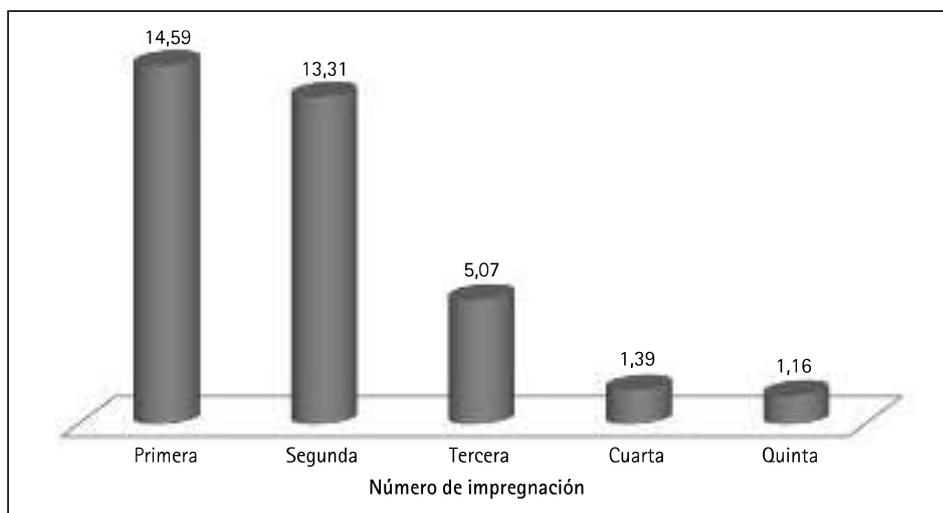


Fig. 5.—Pérdida de peso relativa (%) durante la deshidratación osmótica al finalizar cada una de las cinco impregnaciones. Ensayo T2: Azul Brillante.

llante (claro) arrojó un valor de 35,52% al final de las cinco impregnaciones, versus el tratamiento T1 que presentó una pérdida relativa de peso de 47,29%. Luego el tratamiento T3 con Azul Brillante (oscuro) fue de 34,40%, muy semejante al T2. Comparando la pérdida de peso relativa del tratamiento T2 con el T1, existió una diferencia de 12% y del 13% respecto del T3. El análisis de la varianza evaluó la existencia de una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza. Y el Test de Fisher definió que la diferencia significativa se presentó entre el grupo que formó el tratamiento T1 (ErB) respecto de los tratamientos T2 y T3 con Azul Brillante para una  $\alpha = 0,05$ .

Por su parte, la humedad registrada por todos los tratamientos fue semejante como puede verse en la figura 6. Como se puede observar en esta figura, la humedad fue disminuyendo en forma gradual y lineal en cada impregnación con una tendencia del tipo  $y = ax + b$  y presentaron un  $R^2$  de 0,9562 a 0,9894. El tratamiento T1 quedó con un 53,52% de humedad final, el T2 con 47,89% de humedad final y el T3 con 45,14% de humedad final. En este caso

también el análisis de la varianza evaluó la existencia de una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza. Y el Test de Fisher definió que la diferencia significativa se presentó entre el grupo que formó el tratamiento T1 respecto de los tratamientos T2 y T3 con Azul Brillante.

Por otro lado, esta diferencia de humedades halladas y pérdidas de peso (%) entre las tratadas con un colorante u otro, podría estar relacionada no sólo con la estructura química diferencial de los mismos, sino con su pureza, e interacciones físico químicas que tienen con el tejido vegetal. La ErB de grado alimentario usada presentó una pureza del 90%, acompañada de impurezas como material volátil, cloruros, sulfatos de sodio, entre otras sustancias, alcanzando un 10% aproximadamente. La ErB tiene partes de su molécula más hidrofílica que otras, por la presencia de grupos sulfónicos que actúan como grupo auxocrómico aumentando la disolución en agua del colorante. Pero tal disolución, sin embargo, puede encontrarse entorpecida por otros grupos químicos presentes en la molécula del colorante. Lo mismo ocurre con

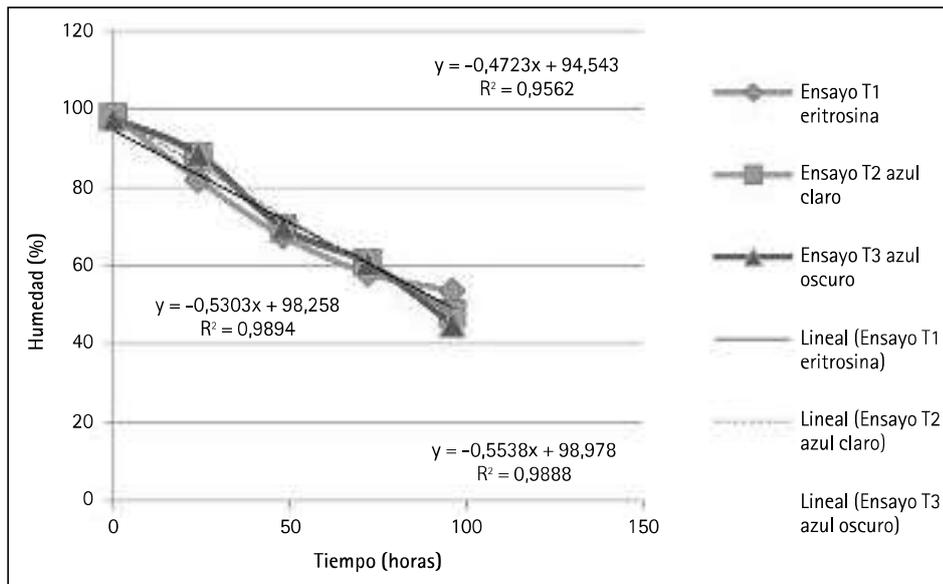


Fig. 6.—Variación del contenido de humedad en el producto final de las repeticiones de los diferentes tratamientos.

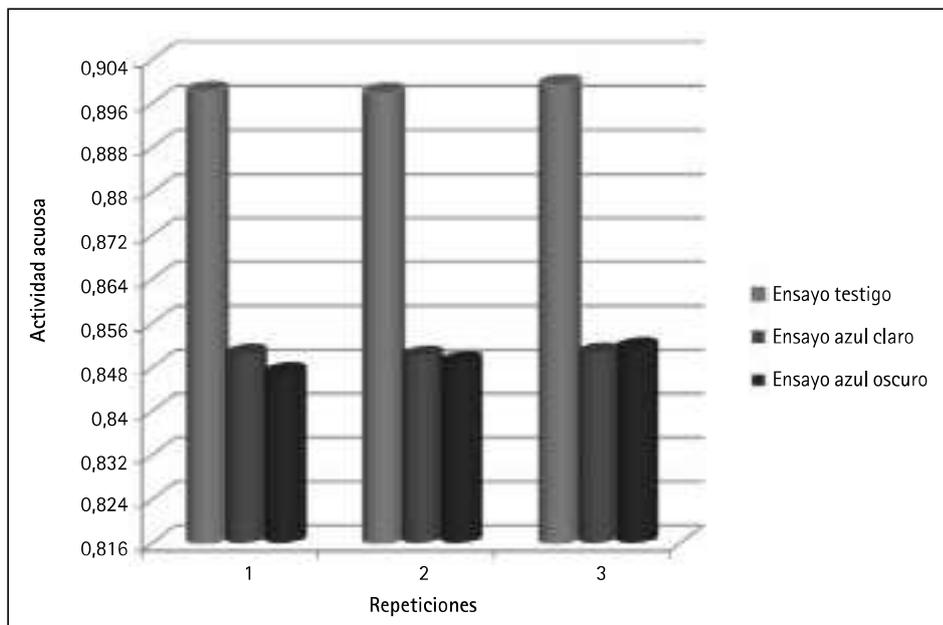


Fig. 7.—Variación en la actividad acuosa (aw) en el producto final de las repeticiones de los diferentes tratamientos.

el colorante Azul Brillante, donde los grupos sulfónicos y la presencia de nitrógeno favorecen las interacciones hidrofílicas. Dicho colorante, a pesar de ser altamente soluble: 200 g/L respecto de la Erb: 10 g/L, es más estable que la última.

En la figura 7 se observan los datos correspondientes a la actividad acuosa de los ensayos; donde la actividad acuosa del tratamiento T1 es un 5% mayor, respecto de los tratamientos con Azul Brillante (T2 y T3) al cabo de las cinco impregnaciones, para las dos concentraciones de Azul Brillante empleado. Cuanto menor es la actividad acuosa (aw), mayor es la estabilidad biológica del producto, por lo que podría decirse que las cerezas coloreadas con Azul Brillante son más estables biológica-

mente que las coloreadas con Erb. En las cerezas coloreadas con Azul Brillante (T2 y T3) el agua está menos disponible, por lo que podría suponerse, contribuye al agua fuertemente ligada o de constitución del alimento de manera diferente de lo que ocurre con la Erb. Por lo tanto, aparentemente, con el Azul Brillante, disminuye la disponibilidad de agua para los microorganismos, que es lo que representa la actividad acuosa.

También en este caso, con un ANOVA se evaluó la existencia de una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95% de confianza. Y el Test de Fisher precisó que la diferencia significativa se presentó entre el grupo que formó el ensayo T1 (Erb) respecto del grupo homogéneo que

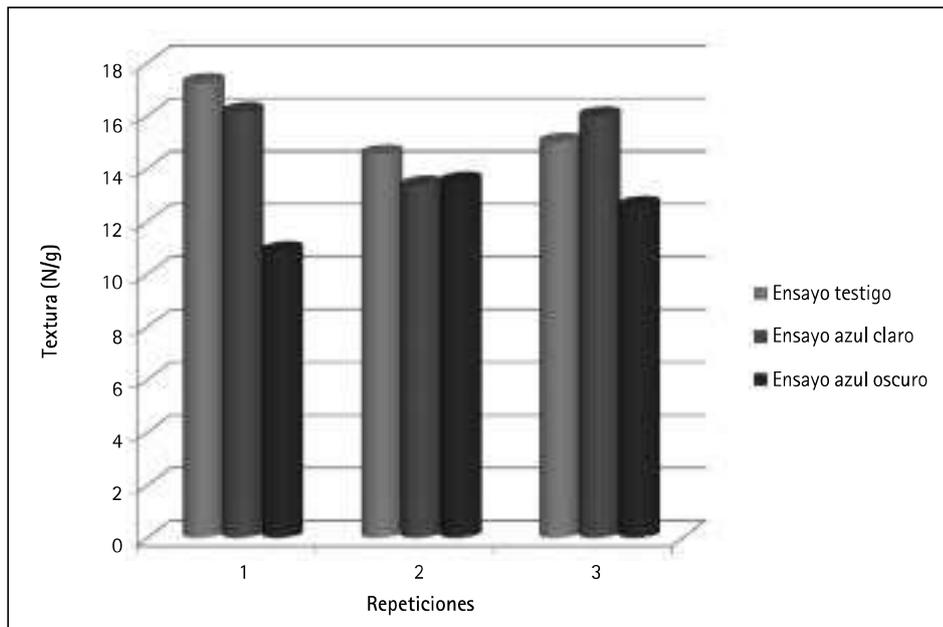


Fig. 8.—Resistencia al esfuerzo de corte en el producto final de las repeticiones de los diferentes tratamientos.

Tabla I  
Parámetros de color de las cerezas recién preparadas

Tratamientos	Media L*	Grupos homogéneos	Media a*	Grupos homogéneos	Media b*	Grupos homogéneos
Eritrosina T1	27,86	X	15,70	X	-8,58	X
Azul claro T2	26,22	X	0,77	X	-9,05	X
Azul oscuro T3	24,66	X	-1,13	X	4,04	X

formaron los tratamientos T2 y T3 con Azul Brillante para un  $\alpha$  de 0,05.

Estas discusiones del efecto de la deshidratación osmótica de las cerezas con los colorantes deben ser estudiadas más profundamente teniendo en cuenta la carga eléctrica del colorante (Z), el tamaño del colorante, el cual hace referencia al peso molecular, tamaño iónico, afinidad molecular (MA), la cual se relaciona con la hidrofiliidad o hidrofobicidad del colorante con la macromolécula tisular. El valor numérico de esta propiedad se calcula a partir del logaritmo del Coeficiente de Partición ( $\log P$ ) del colorante entre agua-octanol entre otras cosas. También debería estudiarse el número de enlaces conjugados (NUC), el cual representa el tamaño del sistema aromático de la molécula colorante. Además, tener en cuenta que a pH ácido las pectinas que permanecen en la matriz de las cerezas, forman un gel que retiene líquido y que la ErB precipita en medio ácido.

En la figura 8 se observa que, en promedio, la textura que presentan las cerezas rojas del ensayo T1 es muy similar a la textura de las cerezas azul claro (T2), mientras que las cerezas color azul oscuro (T3) tienen un valor inferior; con lo cual, las cerezas azul claro tienen mayor firmeza respecto a las cerezas azul oscuro. La textura promedio como resistencia de corte en las cerezas con ErB fue de 15,60

N/g, en el T1 o azul claro 15,18 N/g y en el T2 12,34 N/g. No se halló en el análisis ANOVA, existencia de diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

En la tabla I se puede observar los valores obtenidos por el colorímetro. La Luminosidad (L\*), es mayor para las cerezas coloreadas con ErB (T1) y las azul claro (T2) respecto de las coloreadas con Azul Brillante oscuro (T3) y presentan diferencia significativa para  $\alpha = 0,05$  y entre sí con el Test de múltiples rangos según la Prueba de Fisher para  $\alpha = 0,05$  formando dos grupos homogéneos.

La tendencia al rojo (a\*) es positiva para las cerezas tratadas con ErB (T1), y para el azul claro (T2), y negativa para el tratamiento con azul oscuro T2 (que tendió al verde). Presentaron diferencias estadísticamente significativas para  $\alpha = 0,05$  y entre sí con el Test de múltiples rangos según la Prueba de Fisher formando dos grupos homogéneos. Semejante comportamiento se observó para la tendencia al amarillo (b\*) donde se observó diferencia significativa para  $\alpha = 0,05$  y entre sí con el Test de múltiples rangos según la Prueba de Fisher para  $\alpha = 0,05$  formando dos grupos homogéneos. Los valores positivos muestran tendencia al amarillo mayores para el T1 y T2 y los negativos, muestran tendencia al azul, para el tratamiento T3.

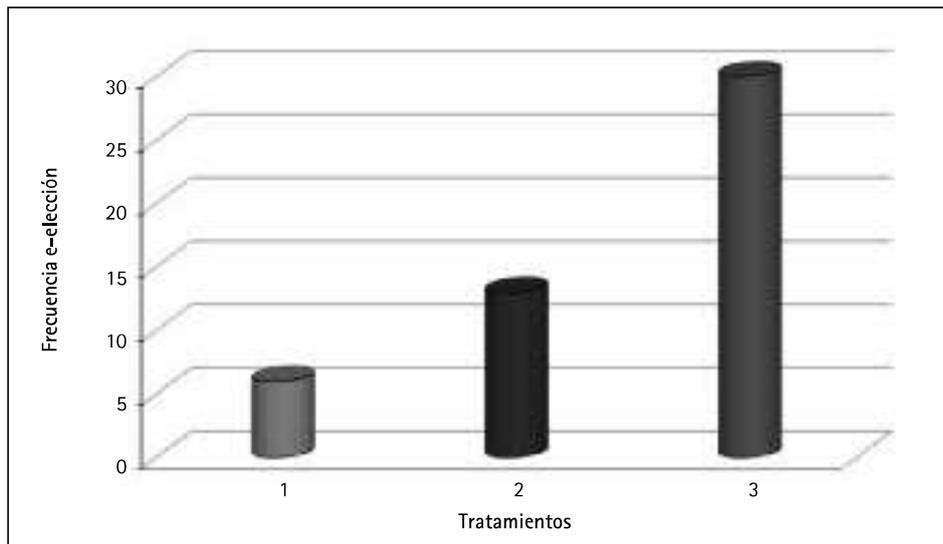


Fig. 9.—Histograma del Ensayo de preferencia del análisis sensorial de los distintos tratamientos.



Fig. 10.—Muestras del ensayo de estabilidad de los distintos tratamientos colocadas en la oscuridad.

En la figura 9 se muestran los resultados del análisis sensorial: el mismo se realizó a 49 jueces jóvenes, no entrenados. La edad promedio de los evaluadores fue de 23 años, detalle que resulta importante, pues las nuevas generaciones van adaptándose más rápido a la incorporación de nuevos colores en los alimentos que muy probablemente, liderarán el mercado del futuro. En esta figura se puede ver el histograma, que muestra la distribución de frecuencias de elección para cada uno de los tratamientos en la Prueba afectiva de aceptación y Test de preferencia realizado. Las cerezas de T2 Azul claro fueron más preferidas (30 preferencias) que las T3 azul oscuro (13 preferencias) y éstas a su vez que las del T1 con ErB (6 preferencias). Evidentemente el impacto del color produjo una innovación en la tendencia de elección de los tonos rojizos y amarillos que ancestralmente eran preferidos como indicadores de madurez del fruto.

En la figura 10 se muestran (de izquierda a derecha) las cerezas azul claro, azul oscuro y las rojas, que fueron mantenidas al abrigo de la luz, durante un periodo de 6 meses. Se observa la estabilidad del color de las cerezas mantenidas en la oscuridad. Mientras que en la figura 11

(de izquierda a derecha) se observan las cerezas azul claro, azul oscuro y las rojas con eritrosina, expuestas a la luz durante un mismo periodo de 6 meses mantenidas en la oscuridad.

Las cerezas de los tratamientos T2 y T3 mantuvieron el color estable mientras que las del ensayo T1, con ErB se decoloraron por ser fotosensibles. Este es un parámetro muy interesante para efectuar estudios futuros, y a tener en cuenta, ya que como expuso Mittal et al. (4), los productos de degradación de la misma son tóxicos. Esto llama poderosamente la atención debido a que la incidencia de la luz solar, inició la decoloración a simple vista de las cerezas con eritrosina, en las primeras semanas (2 semanas aproximadamente). Mientras que las cerezas con Azul Brillante oscuras y más claras, permanecieron estables durante el mismo periodo de tiempo. En general los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  variaron para el tratamiento T1 de manera significativa respecto de los tratamientos T2 y T3.

En la tabla II se muestra la Variación de la Luminosidad ( $L^*$ ) durante la conservación. Se observa que, dentro de los ensayos con Azul Brillante, el mayor valor de lumi-

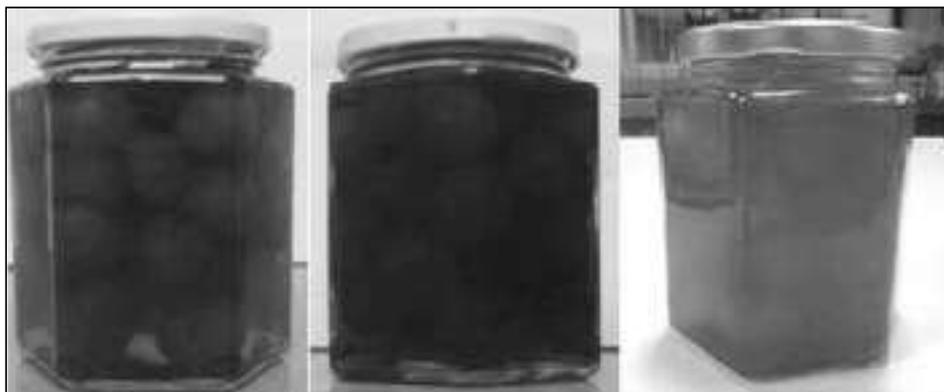


Fig. 11.—Muestras del ensayo de estabilidad de los distintos tratamientos colocadas en la luz.

Tabla II  
Valores de L\* Ensayo de estabilidad

Repeticiones	Cerezas con eritrosina		Cerezas azul claro		Cerezas azul oscuro	
	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad
1	35,61	28,44	25,97	24,82	24,68	25,14
2	36,35	27,60	26,18	25,05	24,34	22,98
3	34,64	27,66	26,33	25,75	24,86	24,00
Promedio	35,53	27,90	26,22	25,21	24,66	24,04

Tabla III  
Valores de a\* Ensayo de estabilidad

Repeticiones	Cerezas con eritrosina		Cerezas azul claro		Cerezas azul oscuro	
	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad
1	3,63	15,27	-1,07	-0,07	0,94	1,42
2	1,86	15,80	-2,10	0,25	0,76	1,48
3	3,06	15,89	-1,18	-0,10	1,10	1,11
Promedio	2,85	15,65	-1,13	0,03	0,77	1,34

nosidad se alcanzó en las cerezas azul claro expuestas a la luz; mientras que, comparando los 3 tratamientos, las cerezas rojas del ensayo T1 con ErB a la luz, presentó el mayor valor de luminosidad al estar casi totalmente decoloradas las cerezas y acercarse al blanco.

El análisis de ANOVA arrojó diferencias significativas a un nivel de significancia del 5% para los 6 ensayos. Para el test de Fischer o de múltiples rangos no existieron diferencias estadísticamente significativas en los valores de L\*, entre las cerezas azul oscuro mantenidas a la luz y oscuridad, ni entre las cerezas azul claro mantenidas a la luz y oscuridad; mientras que sí existieron diferencias significativas entre la luminosidad de las cerezas rojas expuestas a la luz y oscuridad entre ellas y con el resto de los ensayos (se formaron 4 grupos homogéneos, datos disponibles pero no mostrados).

En la tabla III se muestran los Valores de a\* (tendencia al rojo): a las 168 horas de iniciado la conservación. A partir de los valores presentados en la esta tabla se ob-

serva que el ensayo de las cerezas con ErB rojas mantenidas en oscuridad fue el que alcanzó el mayor valor de a\*, es decir, el tratamiento que más tendencia tuvo al color rojo, y dentro de ellas, las que se mantuvieron a la oscuridad, le siguieron las cerezas azul oscuro. Las cerezas azul claro presentaron valores cercanos a cero y negativos (-a\*), es decir, se observó una cierta tendencia al verde. El análisis de ANOVA arrojó diferencias significativas a un nivel de significancia del 5% para los 6 ensayos. El test de Fischer arrojó 5 grupos homogéneos. No existieron diferencias estadísticamente significativas entre las cerezas azul oscuro expuestas a la luz y mantenidas en la oscuridad, mientras que sí existieron diferencias estadísticamente significativas entre las cerezas rojas a la luz y en la oscuridad, y entre las cerezas azul claro.

En la tabla IV se muestran los Valores de b\* (tendencia al amarillo): a las 168 horas de iniciado la conservación. Las cerezas con ErB alcanzaron el valor más elevado. Los valores negativos (-b\*), indican la tendencia al azul, es

Tabla IV  
Valores de b\* Ensayo de estabilidad

Repeticiones	Cerezas con eritrosina		Cerezas azul claro		Cerezas azul oscuro	
	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad
1	5,84	3,92	-8,76	-7,53	-8,28	-5,22
2	5,23	3,91	-10,31	-8,12	-8,19	-6,16
3	5,25	4,29	-6,58	-8,18	-9,59	-4,85
Promedio	5,44	4,04	-9,05	-7,94	-8,58	-5,41

por esto que las cerezas tratadas con el colorante Azul Brillante presentaron los mayores valores negativos, y específicamente, las cerezas azul oscuro tuvieron la mayor tendencia al azul. El ANOVA arrojó diferencias significativas a un nivel de significancia del 5% para los 6 ensayos.

Se aplicó la prueba de múltiples rangos, donde se identificaron 3 grupos homogéneos. No existieron diferencias significativas entre las cerezas azul claro expuestas a la luz y mantenidas en la oscuridad. Tampoco existieron diferencias estadísticamente significativas entre las cerezas rojas (mantenidas a la luz y en la oscuridad) para el valor de b\* pero sí entre estas y las teñidas con Azul Brillante en cualquiera de las dosis (datos disponibles).

## Conclusiones

Los resultados demostraron que es posible elaborar con éxito cerezas en almíbar de coloración azul, mediante el empleo del colorante artificial Azul Brillante FCF, donde la estabilidad del color de las cerezas a la luz se mantiene intacta, a diferencia de lo que ocurre con las cerezas rojas (colorante eritrosina), cuya decoloración es absoluta al cabo de un tiempo de exposición a la luz. Asimismo, es importante destacar la menor IDA: 6 mg/kg que presenta el Azul Brillante frente al resto de los colorantes sintéticos, y fundamentalmente frente a la eritrosina, que es el colorante rojo más empleado en la industria de los alimentos, y en la coloración de las cerezas comerciales, cuya IDA es de tan solo 0-0,1 mg/kg.

Tanto la elevada estabilidad como la escasa toxicidad del Azul Brillante, lo hace merecedor de ser considerado como alternativa en la elaboración de cerezas en conserva.

El análisis sensorial planteado permitió determinar la mejor formulación para la elaboración de una conserva de cereza con adición del colorante artificial Azul Brillante, basándose en la percepción de un panel sensorial no entrenado, donde la preferencia fue claramente hacia las cerezas azules.

Si bien resulta difícil imponer un nuevo producto al mercado, los resultados que arrojó el análisis sensorial del presente trabajo fueron muy satisfactorios, con una aceptación y preferencia por las cerezas azules del 88% de los degustadores (el 12% restante del panel prefirió las cerezas rojas con eritrosina), lo cual incentiva a dar a conocer

este llamativo e innovador producto al mercado, y una alternativa frente a la discutida toxicidad de la eritrosina.

## Agradecimientos

CONICET: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Argentina.

INTA: Instituto nacional de tecnología agropecuaria. Por subsidios de Investigación PNFRU 53491 y PNNAT 1130043.

La presente investigación forma parte de la Tesis de licenciatura de la Brom. Marianela Zanón. Facultad de Don Bosco de Enología y Ciencias de la Alimentación.

Bruno Sollner por la donación del colorante Blue Brilliant.

## Referencias

- Ganesan L, Margolles-Clark E, Song Y, Buchwald P. The food colorant erythrosine is a promiscuous protein-protein interaction inhibitor. *Biochem Pharmacol* 2011; 81: 810-8.
- Mpountoukas P, Pantazaki A, Kostareli E, Christodoulou P, Kareli D, Poliliou S, et al. T. 2010. Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. *Food Chem Toxicol* 2010; 48 (10): 2934-44.
- Silbergeld EK, Anderson SM. Artificial food colors and childhood behavior disorders. *Bull NY Acad Med* 1982; 58: 275-95.
- Mittal A, Mittal J, Kurup L and Singh AK. Process development for the renewal and recovery of hazardous dye erythrosine from wastewater by waste materials bottom ash and de-oiled soya as absorbent. *J Hazard Mater* 2006; 138 (1): 95-105.
- Jennings AS, Schwartz SL, Balter NJ, Gardner D, Witorsch RJ. Effects of oral erythrosine (2', 4', 5', 7'-tetraiodofluorescein) on the pituitary-thyroid axis in rats. *Toxicol. Appl Pharma* 1990; 103: 549-56.
- Chequer FM, Venâncio VP, Bianchi ML, Antunes LM. Genotoxic and mutagenic effects of erythrosine B, a xanthene food dye, on HepG2 cells. *Food Chem Toxicol* 2012; 50 (10): 3447-51.
- Bora SS, Radichevich I, Werner SC. Artfactual elevation of PBI from an iodinated dye used to stain medicinal capsules pink. *J Clin Endocrinol Metab* 1969; 29: 1269-71.
- Bernstein R, Haugen HF, Frey H, Thyroid function during erythrosine ingestion in doses encountered in therapy with conventional antibiotics. *Scand. J Clin Lab Invest* 1975; 35: 49-52.
- Mizutani T. Toxicity of xanthene food dyes by inhibition of human drug-metabolizing enzymes in a noncompetitive manner. *J Environ Public Health* 2009; ID 953952.
- Amchova P, Kotolova H, Ruda-Kucerova J. Health safety issues of synthetic food colorants. *Regul Toxicol Pharmacol* 2015; 73 (3): 914-22.
- European Parliament, Council of the European Union. Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council

- of 16 December 2008 on food additives. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/celex:32008R1333>
12. Borzelleca JF, Depukat K, Hallagan JB. Lifetime toxicity/carcinogenicity studies of FD & C Blue No. 1 (Brilliant Blue FCF) in rats and mice. *Food Chem Toxicol* 1990; 28: 221-34.
  13. Kus E, Eroglu HE. Genotoxic and cytotoxic effects of Sunset Yellow and Brilliant Blue, colorant food additives, on human blood lymphocytes. *Pak J Pharm Sci* 2015; 28: 227-30.
  14. Lucova M, Hojerova J, Pazourekova S, Klimova Z. Absorption of triphenylmethane dyes Brilliant Blue and Patent Blue through intact skin, shaven skin and lingual mucosa from daily life products. *Food Chem Toxicol* 2013; 52: 19-27.
  15. Codrea SA. Comment on "Absorption of triphenylmethane dyes Brilliant Blue and Patent Blue through intact skin, shaven skin and lingual mucosa from daily life products" by Lucova et al. 2013. *Food Chem. Toxicol.* 52: 19-27. *Food Chem Toxicol* 2013; 57: 390.
  16. Código Alimentario Argentino - ANMAT - Disponible en: [www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas\\_alimentos\\_caa.asp](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp)
  17. A.O.A.C. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 1995: 100<sup>th</sup> Edition.
  18. Anzaldúa-Morales A. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. España. 198 p. 1994.
  19. Ceballos CG. Estudios en papaya mínimamente procesada por deshidratación osmótica [Tesis]. Valencia (España): Departamento de Tecnología de Alimentos Universidad Politécnica de Valencia; 2005.
  20. Barbosa-Canovas GV. Deshidratación de alimentos. España. Acribia Editorial; 2000.