

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE PATOLOGÍA ANIMAL

Utilización de una astaxantina natural (Naturorse[®]) en la
pigmentación de salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*)

Memoria de título presentada
como parte de los requisitos
para optar al Título de Médico
Veterinario

Claudio Francisco Arcos Navarro

Valdivia-Chile

2004

PROFESOR PATROCINANTE : DR. RICARDO ENRIQUEZ S.

PROFESOR COLABORADOR : DR. VICTOR PALMA L.

PROFESORES CALIFICADORES : DR. FREDERICK AHUMADA M.

DR. RAFAEL TAMAYO C.

FECHA DE APROBACIÓN : 16 de Julio del 2004.

**Dedico esta tesis a todos
los forjadores de personas,
en especial a mi padre
(Q.E.P.D.).**

INDICE

	Pag.
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCION.....	3
4. MATERIAL Y METODO.....	9
5. RESULTADOS.....	14
6. DISCUSIÓN.....	21
7. CONCLUSIONES.....	29
8. BIBLIOGRAFÍA.....	30
9. ANEXOS.....	34
10. AGRADECIMIENTOS.....	51

1. RESUMEN

Utilización de una astaxantina natural (Naturose[®]) en la pigmentación de salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*).

Se estudió el desarrollo de la pigmentación muscular en salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) durante el ciclo productivo en el mar, desde Mayo a Diciembre del 2001.

Se dividió la población de peces del ensayo en dos grupos, el primero alimentado con Naturose[®] y el segundo alimentado con Carophyll Pink[®]. La estrategia de pigmentación utilizada incorporó desde Mayo a Julio 60 ppm, subiendo a 80 ppm desde Agosto a Octubre y terminando con 100 ppm en Noviembre a Diciembre.

Los peces durante el ciclo productivo fueron muestreados en promedio cada 4 semanas, utilizando un muestreo estratificado. Se les midió peso (g), astaxantina muscular (mg/kg), color visual del músculo (escala color Roche), porcentaje de retención de pigmento (%) y lípidos totales presentes en el músculo (mg/100g). Al final del ciclo productivo de los peces con mayor crecimiento de los pigmentados con Naturose[®] y C. Pink[®], se obtuvieron 30 filetes que fueron congelados. Se descongelaron a intervalos promedio de 16 días y se les midió color visual de músculo (escala color Roche).

Los resultados obtenidos se sometieron a dos pruebas estadísticas considerando una probabilidad de 0,05. Se realizó análisis de varianza a los resultados obtenidos dentro de cada grupo, entregando un $p > 0,05$. Posteriormente a los resultados promedios de cada uno de los grupos se les realizó prueba t de Student arrojando un $p > 0,05$. Se comparó el costo de utilizar Naturose[®] respecto de C. Pink[®], tomando en cuenta biomasa, pigmento entregado y costo del pigmento. Los resultados obtenidos mostraron que Naturose[®] no interfiere en la ganancia de peso de los peces y que presenta un comportamiento similar a C. Pink[®] en el depósito de astaxantina muscular, expresión de color del músculo, porcentaje de retención y lípidos totales presentes. Los filetes congelados sufrieron una fuerte pérdida de color, producto de una baja concentración de astaxantina muscular al momento de la cosecha, más la pérdida de pigmento por grasas que se liberaron al momento de la descongelación. La comparación de costos entregó que los peces pigmentados con Naturose[®] presentaron menores costos que los con C. Pink[®].

En conclusión, el análisis estadístico determinó que no existen diferencias significativas al momento de aplicar estos pigmentos. Pero, al realizar una comparación de costos entre el uso de Naturose[®] y C. Pink[®], se determinó que económicamente Naturose[®] es más conveniente.

Palabras claves: Pigmentación, Naturose[®], salmón Coho.

2. SUMMARY

Use of a natural astaxantine (Naturose[®]) in Coho salmon pigmentation (*Oncorhynchus kisutch*)

Development of muscular pigmentation in Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) was studied during its reproductive cycle in the sea, from May to December 2001.

Fish sampling population was divided into two groups, the first one fed with Naturose[®], and the second fed with Carophyll Pink[®]. Pigmentation strategy included 60 ppm from May to July, being elevated to 80 ppm in August to October, and finishing with 100 ppm in November and December.

During reproductive cycle, fish were sampled by means of stratified sampling every 4 weeks in average. Weight (g), muscular astaxantine (mg/kg), muscle visual color (Roche color degree), pigment percentage retention (mg/100g) were measured. 30 fillets, frozen afterwards, were obtained at the end of the reproductive cycle of fish with higher growth from those pigmented with Naturose and C. Pink. They were unfrozen at average intervals of 16 days and muscle visual color was measured (Rocher color degree).

Results obtained were submitted to two statistic tests, considering a probability of 0,05. Results obtained in each group were submitted to variance analysis, giving a $p > 0,05$. Posterior to average results in each group, one of the groups was submitted to Student t-test, giving a $p > 0,05$. The cost of using Naturose[®] was compared with that of using C. Pink[®], considering biomass, the pigment provided, and cost of that pigment. Results showed that Naturose[®] has no interference in weight gain in fish, and its behavior is similar to that of C. Pink[®] concerning muscular astaxantine deposit, muscle color, retention percentage, and total lipids. Frozen fillets underwent a strong color loss due to a low astaxantine concentration at harvest, plus pigment loss due to fat liberation at the moment of unfreezing. Cost comparison indicated that fish pigmented with Naturose[®] showed lower costs than those pigmented with C. Pink[®].

In conclusion, the statistic analysis determined that there are no significant differences at the moment of applying these pigments. Nevertheless, when making a cost contrast between the use of Naturose[®] and C. Pink[®], it was determined that Naturose is economically more convenient.

Key words: Pigmentation, Naturose[®], Coho salmon.

3. INTRODUCCION

La industria del salmón en Chile se inicia en la década de 1980 y ha mostrado el mayor dinamismo y crecimiento dentro del sector acuicultor. Este crecimiento no hubiese sido posible si el país no contara con las características naturales de sus zonas marítimas costeras, lacustres y fluviales que ofrecen óptimas condiciones para el cultivo de esta especie (Achurra, 1996; Tellez, 1998).

Chile hoy en día es el segundo productor mundial de salmón y trucha con una producción en el año 2003 de 493.600 toneladas brutas, esta cifra representa una disminución de un 2,5% respecto al año 2002. La disminución del volumen total ha sido compensado por un incremento de los productos de valor agregado, que ha permitido a la industria obtener mejores retornos (Salmón Chile, 2004).

El volumen exportado de salmón y trucha en el periodo 2003 fue de 258.000 toneladas netas, presentando una caída de un 14% en comparación al año 2002, eso si que los retornos alcanzaron US \$ 1.147 millones de dólares (FOB), siendo estos un 18% mayor en relación al año 2002 (Salmón Chile, 2004).

Los principales mercados compradores de Chile son:, Estados Unidos (47,4%), Japón (37,2%) Unión Europea (5,1%), Latinoamérica (4,7%) (SalmónChile, 2004).

El desglose a grandes rasgos de los costos involucrados incluye el alimento para peces con un 50% de los costos totales de producción y el restante esta dado por los costos de planta de proceso (20%), smolt (10%), gastos operacionales y administrativos (5%), mano de obra (10%), gastos de venta (4%) y otros (1%), (Wurmann, 1997).

El alimento a entregar a los peces también lleva implícito costos que son interesantes de analizar, es así que la harina de pescado corresponde al 50% de los costos del alimento, otro 20% corresponde al aceite de pescado y el tercer elemento de interés con un 20% de participación es el pigmento, el 10% restante corresponde a otros insumos (Wurmann, 1997).

La pigmentación de la carne de salmonídeos resulta de la absorción y depósito de carotenoides oxigenados en el músculo a nivel del complejo de actino-miosina (Bjerkeng y col., 1992; Christiansen y col., 1995), entonces una correcta pigmentación del músculo del salmón dará como resultado una coloración rosada o roja de su carne (Castro y Mena, 1993).

Los carotenoides corresponden a un grupo de pigmentos que se encuentran ampliamente difundidos en la naturaleza. Químicamente los carotenoides son una familia de compuestos terpenoides, los cuales por su estructura de

hidrocarburos poliinsaturados de cadenas largas, ramificadas, con dobles enlaces conjugados, cerrados en uno o ambos extremos, forman sistemas de anillo cíclico ionona que lleva a reflejar diferentes longitudes de onda dependiendo las disposiciones que adopte la estructura (González, 1998).

En la naturaleza, los carotenoides son producidos por bacterias, algas, microalgas, plantas, y a través de la cadena alimentaria los pigmentos llegan a los peces (Torrissen y col., 1989).

Es así, que en el salmón silvestre el pigmento más encontrado es astaxantina, mientras que en las especies cultivadas es posible encontrar mayor variedad de pigmentos, producto de la gran variedad de ingredientes utilizados en las dietas de los salmonídeos. Encontrándose en las especies cultivadas básicamente astaxantina y cantaxantina y en concentraciones tisulares adenorrubina, zeaxantina, luteína y otros (Castro, 1993).

Al industrializarse el sistema productivo de especies acuícolas y comenzar con la crianza en cautiverio de diferentes especies de peces como lo son los salmonídeos, no sólo hay que cumplir con los requerimientos que los peces necesitan; sino también cumplir con los estándares que exige el mercado consumidor, entre ellos el color. Para ello, se desarrollaron tecnologías que produzcan pigmentos que cumplan con las exigencias de color requeridos, siendo la astaxantina el pigmento más solicitado por la industria del salmón, principalmente por su capacidad de fijación, estabilidad en el tiempo y color que entrega al músculo (Almendras y Sabelle, 1998).

Existe una serie de factores que inciden en la pigmentación del músculo de los peces. Estos se pueden resumir en factores asociados al pez, al alimento, al tipo de pigmento, al ambiente y enfermedades (González, 1998).

De los factores asociados al pez podemos mencionar: La especie, las cuales no todas presentan la misma eficiencia de pigmentación. Factores genéticos, en donde dentro de una misma población se presentan diferencias de eficiencia de pigmentación. El peso vivo, donde existe un peso mínimo que por debajo del cual los salmonídeos no tienen capacidad de pigmentarse (March y col., 1990). El estado de desarrollo, en que peces con buena condición corporal presentan una mejor capacidad de pigmentación, más si esta buena condición se asocia con la concentración de lípidos presentes en el músculo, se establece una relación directa entre la concentración de lípidos y la fijación de pigmento al músculo (Torrissen, 1985). La madurez sexual, periodo en el que existe una gran movilización de pigmentos desde el músculo a los órganos sexuales y piel (Longinova, 1977).

De los factores asociados al alimento podemos mencionar el contenido de grasa del alimento, que a medida que aumenta el contenido de grasa, aumenta la

digestibilidad aparente de los pigmentos (Torrissen, 1985). El tipo de grasa, en el que al parecer la utilización de ácidos grasos insaturados favorece la absorción de carotenoides al compararlos con los saturados (Hardy y col., 1987). El tipo de procesamiento del alimento, debido a que los carotenoides son compuestos sensibles a factores como la temperatura, efectos mecánicos y oxidación; por lo tanto debe existir una evaluación periódica de los procesos de extrusión y peletización (González, 1998). El almacenaje del alimento, el cual si es mantenido en condiciones de alta humedad y temperatura lleva a un rápido deterioro de los carotenoides presentes en el alimento (Castro, 1999).

De los factores asociados al pigmento, debemos tomar en cuenta el tipo de carotenoide y de la fuente de donde se obtiene. De la concentración de pigmento a entregar en la dieta y de la longitud del periodo de entrega del mismo (González, 1998).

Entre los factores ambientales a tomar en cuenta se encuentra la temperatura del agua, pues existe una relación directa con el depósito de astaxantina en el músculo, donde la digestibilidad de los carotenoides disminuye a bajas temperaturas (No y Storebakken, 1991a). La calidad del agua, donde a mayor calidad menor estrés ambiental y menos enfermedades (González, 1998).

Los peces que presentan enfermedades ven disminuido su consumo de alimento y por lo tanto la disponibilidad de pigmento, además se produce una redistribución interna del pigmento producto de la baja del consumo (Choubert, 1985).

Dentro de las fuentes de carotenoides se destacan:

A las levaduras, en la cual la de mayor importancia comercial es ***Phaffia rhodozyma***. Esta tiene la característica de fermentar azúcares y sintetizar carotenoides. Las cepas silvestres contienen hasta 500 mg de carotenoides por kg de materia seca de los cuales 90% corresponde astaxantina en forma libre y el resto corresponde a otros carotenoides de menor importancia (Andrewes y col., 1976). En la actualidad a través de programas de selección se han desarrollado cepas de ***P. rhodozyma*** con producciones de 3.000 o más ppm de astaxantina en procesos de fermentación industrial (Johnson, 1989).

Actualmente existen dos productos disponibles comercialmente para la industria del salmón. Uno corresponde a Ecotone^{®1} el cual en su presentación garantiza una concentración mínima de 0,5% de astaxantina presente. Otro producto

¹ Ecotone[®] : Elaborado por ADM Company, Decatur. Illinois 62526 USA.

corresponde a Astaxin^{®2} que en su presentación comercial garantiza una concentración mínima de 0,8% de astaxantina presente.

De las plantas que poseen carotenoides son de nuestro interés las del género **Adonis**. La forma predominante es astaxantina como diésteres de ácidos grasos. El contenido de astaxantina encontrado en los pétalos deshidratados de **Adonis annua** es cerca de 11.000 ppm y flores de **Adonis aestivalis** contienen alrededor de 1.600 ppm (Markovits, 1991).

La utilización del extracto de pimentón rojo o Paprika (**Capsicum annuum**) posee principalmente captaxantina y capsorrubina como fuente de pigmento y puede reemplazar hasta un 50% de la astaxantina utilizada en las dietas de trucha y salmón (Hannasch y Nelson, 1990).

El extracto de flor de marigold o cempazúchitl (**Tagetes erecta**) que contiene alrededor de un 2% de astaxantina se utiliza en alimentación de aves de corral y en salmones, conociéndose el producto comercial para salmones como Florafil-Ax^{®3}.

En los crustáceos podemos encontrar astaxantina en forma libre, esterificada o formando complejos con proteínas. Astaxantina es el carotenoide más abundante en los crustáceos, siendo éstos la fuente natural de pigmentos para salmónidos silvestres (Castro y Mena, 1993). Su utilización en la alimentación de peces en cautiverio es limitada, debido a lo variable de su concentración de carotenoides y al alto contenido de humedad y cenizas. Se ha intentado con la utilización de desechos de la industria conservera y utilización de harina de camarones o harina de krill (Torrissen y col., 1989).

Los carotenoides sintéticos hasta la fecha, han sido los más utilizados por la industria salmonera mundial y nacional, por ser productos estandarizados, con altas concentraciones y de fácil manejo (Tellez, 1998).

Uno de los mayores productores de pigmentos sintéticos a nivel mundial es DSM S. A., produciendo principalmente astaxantina y cantaxantina sintética (Almendras y Sabelle, 1998).

² Astaxin[®] : Elaborado por Igene Biotechnology Inc. Columbia, Maryland, USA.

³ Florafil-Ax[®] : Elaborado por Promedex S. A. Los Mochis 81364, Sinaloa, México.

El producto comercial más usado en la industria corresponde a Carophyll Pink^{®4}, el cual lleva más de una década pigmentando el músculo de los salmones de cultivo.

La astaxantina presente en Carophyll Pink[®] corresponde a astaxantina libre; dado a lo sensible de esta molécula a la oxidación una vez sintetizada es empacada en un “Beadlet”, estructura que básicamente es una matriz de gelatina y carbohidratos recubiertos de almidón de maíz, mas la incorporación de antioxidantes tales como etoxiquina y palmitato de ascorbilo incluidos en el “Beadlet”. De esta forma se protege la astaxantina en los procesos de elaboración del alimento (Almendras y Sabelle, 1998).

Dentro de las algas, las microalgas del género ***Chlorophyceae*** tienen la capacidad de sintetizar gran cantidad de astaxantina, cantaxantina, betacaroteno y luteína bajo condiciones de estrés (Torrissen y col., 1989).

La más representativa del género corresponde a ***Haematococcus pluvialis***, donde su contenido de astaxantina llega hasta un 2%. Estudios recientes han dado resultados promisorios en la alimentación de diferentes especies de peces (Almendras y Saballe, 1998).

Otra microalga analizada es ***Chlorella vulgaris***, y los carotenoides encontrados corresponden principalmente a astaxantina, cantaxantina, luteína y sus ésteres (Almendras y Sabelle, 1998).

Naturose[®] es el nombre comercial de una fuente natural de astaxantina, que se obtiene de la microalga ***H. pluvialis***, cultivada en Kona, Hawaii, USA por Corporación Cyanotech, donde el clima y la pureza del agua, permiten que la microalga cumpla con un ciclo de cultivo de alrededor de un año (Lorenz, 1998a).

H. pluvialis corresponde a una microalga de agua dulce que en su clasificación taxonómica pertenece al phylum ***Chlorophyta***, clase ***Chlorophyceae***, orden ***Volvocales*** y familia ***Haematococcaceae*** (Lorenz, 1998b).

El proceso productivo desarrollado para ***H. pluvialis*** por la Dirección Biológica de Cultivos Integrada de Cyanotech Com. permite que la pared celular de esta microalga se rompa de forma mecánica, sin alterar la estabilidad de los carotenoides. Esta característica incrementa la biodisponibilidad de la astaxantina. Posteriormente el producto obtenido es reducido a un polvo de color rojo oscuro, el cual es envasado en bolsas herméticas que protegen el producto de la luz, oxígeno y humedad. En estas condiciones puede ser incorporado al

⁴ Carophyll Pink[®] : Fabricado por DSM S. A. El teniente 061, Parque Industrial, Puerto Montt, Chile.

alimento en las dosis requeridas, utilizándose en la alimentación de animales acuáticos y aves de corral (Lorenz, 1998a).

H. pluvialis es una microalga que en su composición general contiene en 100 gr de materia seca: 2% de astaxantina; 25% de proteína; 37% de carbohidratos; 11% de cenizas; 21% de grasas y 6-9% de humedad, (Lorenz, 1998b).

De la fracción total de carotenoides presentes en ***H. pluvialis*** un 70% corresponde a astaxantina monoéster, 10% astaxantina diéster, 5% astaxantina libre, 4% luteína, 5% cantaxantina y un 6% a beta-caroteno (Lorenz, 1999).

La utilización en salmonídeos no ha sido muy difundida, pero algunos estudios preliminares no muestran diferencias significativas con los pigmentos artificiales (Lorenz, 1998a).

Dentro de las proyecciones de este trabajo, es evaluar para ofrecer al mercado de la salmonicultura, un producto alternativo y natural para la pigmentación del músculo de salmón, en comparación con los pigmentos sintéticos existentes y a futuro disponer de una alternativa de pigmentación con énfasis en la utilización de productos naturales en el proceso productivo.

La hipótesis de trabajo es que "Naturose[®]" pigmenta el músculo de salmón Coho (***Oncorhynchus kisutch***) de forma similar a una astaxantina sintética.

De lo anterior el objetivo principal de este estudio es medir la factibilidad de utilizar la astaxantina natural "Naturose[®]", en la pigmentación del músculo del salmón Coho (***O. kisutch***), comparando la pigmentación obtenida con astaxantina sintética de Carophyll Pink[®].

4. MATERIAL Y METODO

4.1 MATERIAL

4.1.1 Población en estudio

Corresponde a salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*), provenientes de la cepa CN-40 de Pacific Star S. A. ingresados al mar durante el mes de Enero del 2001. La población en estudio corresponde a 420.000 ejemplares aproximadamente. Estos presentaron un peso promedio de ingreso de 45 gr y fueron distribuidos en los centros de cultivo Pichagua (33°11' lat. Sur, 73°35' long. Este) y Guamblad (43°20' lat. Sur, 73°45' long. Este). Estos centros de cultivos se ubican en la decima región de Chile, isla de Chiloe, cercanos a la ciudad de Quellón.

4.1.2 Alimento

El alimento correspondió a un extruído elaborado por la Planta de Alimentos Alitec S. A. Las concentraciones proximales de los principales componentes de la dieta, presentaron en promedio la siguiente distribución: proteína (40%), lípidos (30%) y astaxantina (de 60 ppm hasta 100 ppm, dependiendo de la etapa productiva).

El alimento se entregó "ad libitum", vía alimentador automático (AF-3000), para los grupos control y en estudio.

4.1.3 Material técnico

Nylon de pescar, anzuelos y señuelos para captura de los peces.

Quecha, que se ocupó para la obtención de los peces desde las jaulas en estudio.

Pesa electrónica para la determinación de peso de los peces y gónadas.

Envases, que se utilizaron para enviar las muestras al laboratorio (cajas de Aislapol, hielo y bolsas plásticas).

Cuchillo y tijera para evicerado.

Guantes de goma desechables para manipulación de muestras.

Material de seguridad como botas, salvavidas y trajes de agua.

4.2 METODO

4.2.1 Estrategia de pigmentación

La estrategia de pigmentación utilizada incorporó 60 ppm desde Mayo a Julio, 80 ppm desde Agosto a Octubre y 100 ppm durante Noviembre y Diciembre de pigmento activo de Naturose[®] y astaxantina sintética (Carophyll Pink[®]), para los peces salmón Coho (*O. kisutch*) del estudio.

4.2.2 Obtención de las muestras

La experiencia se realizó durante el año 2001 y se sometieron a estudio 420.000 peces aproximadamente. De los cuales 210.000 corresponden a controles que se pigmentaron con Carophyll Pink[®] y 210.000 que se pigmentaron con Naturose[®], distribuidos en tres jaulas balsas cada grupo.

Se inició el estudio con un muestreo inicial (T0), realizado el 16 de mayo del 2001, para determinar el nivel de pigmentación muscular de ambos grupos. Posteriormente se realizó un muestreo cada 4 semanas en promedio, hasta completar un número de siete muestreos el 19 de Diciembre del 2001.

Se realizó un muestreo estratificado (anexo 25) del cual se obtuvieron tres peces por jaula a través de pesca con anzuelo, los peces capturados debían cumplir con las características de ser peces clínicamente sanos y de un peso cercano al peso promedio de la balsa donde se obtuvo la muestra. Si alguno de los peces capturados no cumplía con estas características se capturaba un nuevo pez y el rechazado era eliminado.

Los peces seleccionados se sometieron a corte de branquias, eviscerado y obtención de gónadas.

Las muestras fueron individualizadas en bolsas según fecha, N° de jaula y centro de cultivo donde se obtuvieron.

Las muestras se almacenaron en bolsas plásticas, guardadas en cajas de Aislapol con hielo y enviadas al laboratorio a primera hora del día siguiente.

Cuando los peces de las balsas en estudio se encontraban en periodo de cosecha, se obtuvieron 15 peces de cada balsa con mayor crecimiento del grupo control y del grupo alimentado con Naturose[®]. Las muestras fueron individualizadas en bolsas según fecha, N° de jaula y centro marino de obtención, guardadas en cajas de Aislapol con hielo y enviadas a la planta de proceso. Los peces de cada grupo fueron procesados a filetes trim c, a los cuales

se midió el color presente en músculo (escala de color Roche) y se distribuyeron en grupos de 5 filetes los cuales se congelaron. Posteriormente se realizó un descongelado por grupo a intervalos de 16 días promedio.

4.2.3 Análisis de las muestras

4.2.3.1 Determinación del peso

El control del peso de las 18 muestras obtenidas en cada muestreo, fue realizado al momento de su obtención desde la balsa, utilizando una balanza digital de 10 kg y de una precisión de 1g.

4.2.3.2 Determinación de astaxantina en el músculo

Las 18 muestras obtenidas en cada muestreo, fueron enviadas al Laboratorio de Diagnóstico Bioquality⁵, quienes determinaron la concentración de astaxantina en el músculo mediante la técnica de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Método de cromatografía líquida en fase normal, en la cual se distingue una fase móvil que consiste en un fluido que arrastra una muestra a través de una fase estacionaria fijada en un sólido. Los componentes de la muestra interaccionan de distinta forma con la fase estacionaria y con la fase móvil. De este modo, los componentes atraviesan la fase estacionaria a distintas velocidades y se van separando. Después de haber pasado los componentes por la fase estacionaria y haberse separado pasan por un detector que genera un resultado.

4.2.3.3 Evaluación visual del color

La evaluación visual del color del músculo de las 18 muestras obtenidas en cada muestreo lo realizó el Laboratorio Bioquality, usando la tarjeta para salmónidos Roche, la cual presenta una escala graduada de color que fluctúa entre 11 a 18, de menor a mayor intensidad.

4.2.3.4 Fijación de astaxantina

Corresponde al porcentaje de astaxantina que queda retenido en el músculo. El valor se obtiene con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ retención} = (m/M) \times 100$$

⁵ Laboratorio Bioquality: Itata 1080, Puerto Varas, Chile.

Donde: m = Miligramos de astaxantina encontrado en el músculo.
M =Miligramos de astaxantina totales, entregados en el alimento.

4.2.3.5 Determinación del contenido de lípidos en el músculo

El contenido de lípidos lo realizó el Laboratorio Bioquality, determinando la cantidad en el músculo mediante la técnica de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) en fase normal.

4.2.4 Pruebas de descongelado

4.2.4.1 Estabilidad del color

De las 15 muestras de cada grupo se obtuvieron 30 filetes por grupo a los cuales se les midió color después de la descongelación a intervalos de 16 días promedio. La escala utilizada para medir color correspondió a la escala de color Roche utilizada para salmones.

4.2.4.2 Porcentaje pérdida de color

Para determinar el porcentaje de pérdida de color, primero se midió el color al momento del congelado (día cero) y posteriormente al momento que se descongeló la muestra. Esto se resume en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ pérdida} = ((M_0 - M_x)/M_0) \times 100$$

M₀: Color al día del congelado (día cero)

M_x: Color al día del descongelado

4.2.5 Análisis de los resultados

4.2.5.1 Análisis de los datos

El análisis de los resultados se realizó sobre la base de estadística descriptiva utilizando tablas y pruebas de Análisis de varianza (ANDEVA) y pruebas t de Student.

Se utilizó el programa computacional Microsoft Excel 8.0 para analizar y ordenar los datos.

4.2.5.2 Análisis económico

Se realizó un análisis de costos basado en la cantidad de pigmento utilizado y los precios de referencia de los productos, posteriormente los productos fueron sometidos a dos supuestos.

5. RESULTADOS

Los resultados obtenidos se presentan a continuación:

5.1 Determinación del peso

Los resultados de la determinación del peso promedio de las muestras obtenidas en el grupo control (pigmentados con Carophyll Pink®) y de los peces en el grupo estudio (pigmentados con Naturose®) se presentan en la figura 1. En los anexos 1 y 2 se señalan los datos del peso promedio de los peces por grupo muestreado.

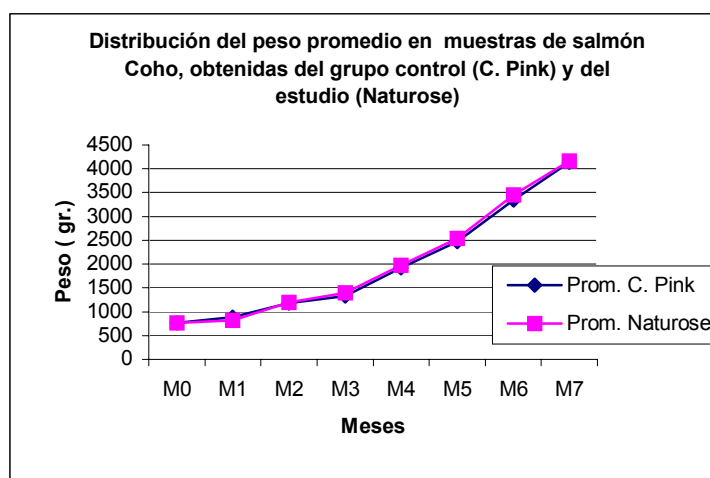


Figura N° 1: Distribución mensual del peso promedio (g) de salmón Coho (*O. kisutch*) pigmentados con Carophyll Pink® (controles) y con Naturose® (estudio) según periodo de muestreo.

En la figura 1 se observa un aumento sostenido desde los meses de Mayo a Diciembre (2001) en la ganancia de peso por parte de los peces de ambos grupos, resultando los peces pigmentados con Carophyll Pink® en 4.139 g y con Naturose® en 4.158 g promedio.

5.2 Nivel de pigmentación

5.2.1 Astaxantina en músculo

Los resultados promedio de los niveles de astaxantina en el músculo de las muestras obtenidas en el grupo control (pigmentados con Carophyll Pink®) y de las muestras en el grupo estudio (pigmentados con Naturose®) se presentan en

la figura 2. Los datos de astaxantina en el músculo por grupo muestreado se presentan en los anexos 3 y 4. Los niveles de astaxantina encontrados en el músculo de salmón Coho se expresan en miligramos por kilo de músculo.

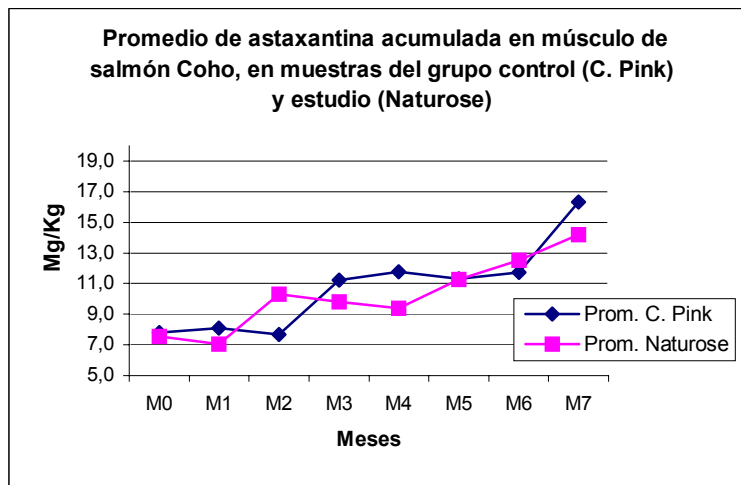


Figura N° 2: Promedio de astaxantina acumulada en músculo (mg/kg) de salmón Coho (*O. kisutch*) de pigmentados con Carophyll Pink® (controles) y con Naturöse® (estudio) desde Mayo (M0) a Diciembre (M7) del 2001.

En el grupo control se observa un aumento gradual, terminando con un nivel de 16,3 mg/kg de astaxantina en el músculo. A su vez en los peces del grupo en estudio se observó un aumento a 10,3 mg/kg en M2, posteriormente un leve descenso en M4 y luego un aumento constante para terminar con 14,2 mg/kg de astaxantina.

5.2.2 Evaluación visual de color del músculo

Los resultados promedio de la evaluación visual del color del músculo de las muestras obtenidas en el grupo control (pigmentados con Carophyll Pink®) y de las muestras obtenidas en el grupo estudio (pigmentados con Naturöse®) se presentan en la figura 3. Los resultados por grupo muestreado se presentan en los anexos 5 y 6.

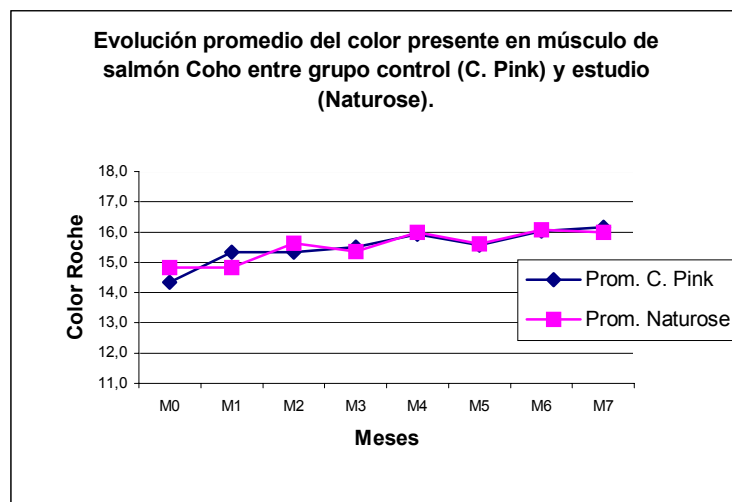


Figura N° 3: Evolución promedio de color (escala de color Roche) en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), pigmentados con Carophyll Pink® (controles) y con Naturose® (estudio), desde Mayo (M0) a Diciembre (M7) del 2001.

En el grupo control se observa un nivel de color visual de 16,2 en el último muestreo y en el grupo estudio un nivel de color visual de 16,0.

5.2.3 Porcentaje de retención de astaxantina en el músculo

El porcentaje de retención promedio obtenido para cada grupo se presenta en la figura 4. En los anexos 7 y 8 se presentan los datos de retención acumulada por grupo analizado.

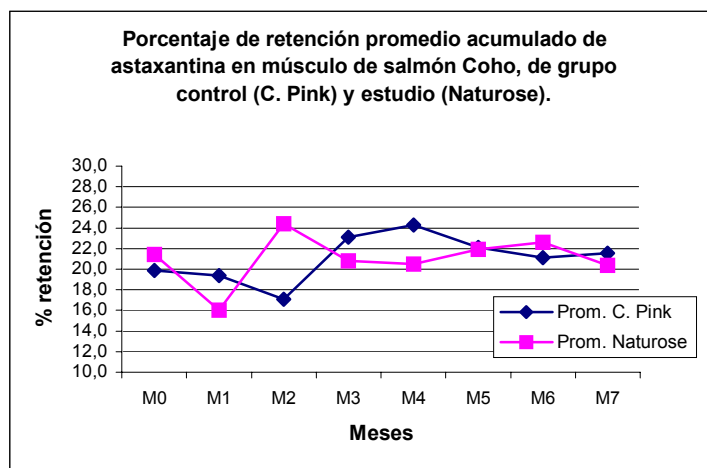


Figura N° 4: Porcentaje de retención de astaxantina en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), pigmentados con Carophyll Pink® (controles) y con Naturose® (estudio), durante Mayo (M0) a Diciembre (M7) del 2001.

Los datos presentados para el caso de peces del grupo control muestran su punto más bajo en M2, para luego alcanzar su punto más alto en M4, posteriormente se estabiliza entre un 20% a 22%. Para el caso de los peces del grupo estudio la curva de retención de astaxantina sufre un descenso entre M0 a M2, para luego estabilizarse hasta M7 entre un 20 % a un 22% de retención.

5.2.4 Cantidad de lípidos en el músculo

La cantidad de lípidos promedio en el músculo (mg de lípidos/100 g de músculo) para ambos grupos de peces se presentan en la figura 5. En los anexos 9 y 10 se señalan los datos de lípidos en el músculo por grupo muestreado.

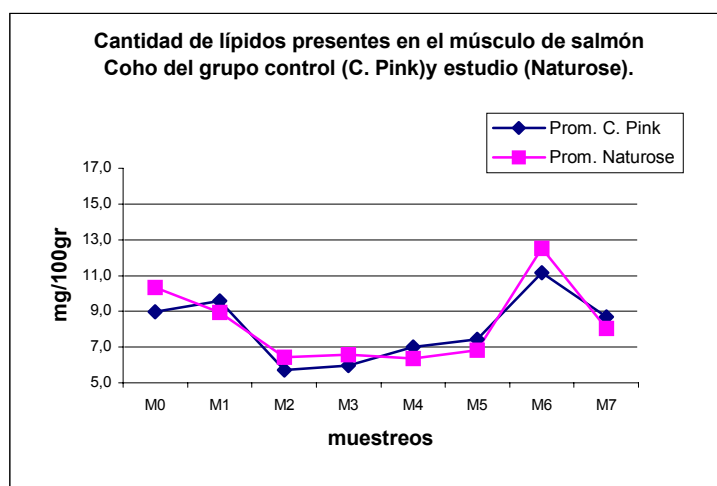


Figura N° 5: Presencia de lípidos en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*) en el grupo pigmentados con Carophyll Pink® (controles) y con Naturose® (estudio), desde Mayo (M0) a Diciembre (M7) del 2001.

Para ambos casos los lípidos sufren un descenso desde M0 a M2 aumentando levemente desde M4, con un fuerte aumento a niveles de 11,2 y 12,5 mg/100g en M6, para posteriormente descender nuevamente a 8,7 y 8,1 mg/100g, respectivamente.

5.3 Prueba de estabilidad del color a la descongelación

Se muestran los resultados en la figura 6 de los 30 filetes a los cuales se les midió el color según escala de color Roche después de su descongelación, cada 16 días aproximadamente.

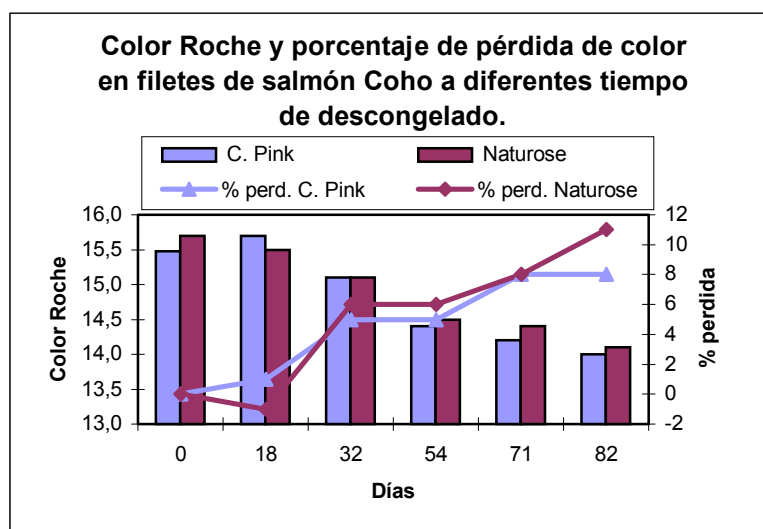


Figura N° 6: Evolución de estabilidad de color (escala Roche) del músculo de salmón Coho (*O. kisutch*) a diferentes tiempos de descongelado, de peces pigmentados con Carophyll Pink® (controles) y con Naturose® (estudio).

Los filetes del grupo control presentan un leve aumento en el color para posteriormente descender progresivamente. En el caso de los filetes del grupo estudio desde el día cero comienza un descenso progresivo en el color.

Los resultados presentados se sometieron a dos pruebas estadísticas considerando una probabilidad de 0,05. En primer lugar para verificar si existían diferencias dentro de los grupos alimentados con C. Pink® y los alimentados con Naturose®, se realizó análisis de variancia a los resultados obtenidos, entregando un $p > 0,05$; por lo tanto no existen diferencias estadísticamente significativas. Posteriormente a los resultados promedios de cada uno de los grupos se les realizó prueba t de Student arrojando un $p > 0,05$; por lo tanto no existen diferencias estadísticamente significativas entre los peces alimentados con C. Pink® y los alimentados con Naturose®.

5.4 Costos involucrados al utilizar Carophyll Pink® y Naturose®

Para comparar los costos económicos entre Carophyll Pink® y Naturose® se consideran los siguientes parámetros:

Tabla N° 1: Costos involucrados en pesos (\$) al incorporar un ppm de pigmento en el alimento utilizado durante el estudio.

Pigmento	C. Pink	Naturose
Costo (\$/kg)	144000	21000
Concentración (ppm)	80000	15000
Costo ppm (\$)	1,8	1,4
Pérdida en fabricación (%)	3%	20%
Pérdida en fabricación (\$)	0,054	0,28
Uso planta (\$/ppm)	0	0,14
Costo total ppm (\$)	1,854	1,82
Delta (\$)		-0,034

Tomando en cuenta los costos básicos involucrados en la incorporación de un ppm de pigmento en el alimento, se analizan las diferencias presentadas entre Carophyll Pink® y Naturose® en relación a los costos del uso de uno u otro pigmento.

En primer lugar se presentan los costos en que se incurrió al utilizar C. Pink® y Naturose® durante el estudio, datos que se presentan en la tabla 2. Cabe considerar que el costo por ppm de pigmento presentado en la tabla 2 considera costo ppm (\$) y uso planta (\$/ppm) y no considera el costo de la pérdida de pigmento durante la fabricación del alimento, ya que este fue asumido por las empresas proveedoras.

Tabla N° 2: Costos en pesos (\$) al utilizar C. Pink® y Naturose® en la pigmentación de salmón Coho (*O. kisutch*), durante el periodo de mayo a diciembre del 2001.

	Ppm kg de pez	Biomasa (kg.)	Costo ppm (\$)	Costo (\$)	Delta (\$)
C. Pink	83,1	813.273	1,80	121.655.251	
Naturose	74,1	758.510	1,54	86.589.297	-35.065.954

En la tabla presentada, además de la diferencia de costo de un ppm de pigmento, se observa diferencia en la cantidad de pigmento entregado por kilogramo de pez y en la biomasa de cada grupo.

Para evitar estas diferencias y hacer comparables C. Pink[®] con Naturose[®] se asumió ppm por kg de pez y biomasa iguales para ambos grupos, como se presentan en la tabla 3.

Tabla N° 3: Costos en pesos (\$) al utilizar C. Pink[®] y Naturose[®] asumiendo ppm por kg de pez y biomasa iguales, en la pigmentación de salmón Coho (*O. kisutch*), durante el periodo de mayo a diciembre del 2001.

	Ppm kg de pez	Biomasa (kg.)	Costo ppm (\$)	Costo (\$)	Delta (\$)
C. Pink	80,0	800.000	1,80	115.200.000	
Naturose	80,0	800.000	1,54	98.560.000	-16.640.000

En un tercer ejercicio se asumió ppm por kg de pez y biomasa iguales para ambos grupos y a los costos por ppm (\$), se les sumó las pérdidas del producto durante la fabricación del alimento, con lo cual el costo de la ppm se eleva a 1,85 pesos para el caso de C. Pink[®] y 1,82 pesos para el Naturose[®], como se presenta en la tabla 10.

Tabla N° 4: Costos en pesos (\$) al utilizar C. Pink[®] y Naturose[®] asumiendo ppm por kg de pez iguales, biomasa iguales y el costo de las pérdidas del producto durante el proceso de fabricación del alimento, en la pigmentación de salmón Coho (*O. kisutch*) durante el periodo de Mayo a Diciembre del 2001.

	Ppm kg de pez	Biomasa (kg.)	Costo ppm (\$)	Costo (\$)	Delta (\$)
C. Pink	80,0	800.000	1,85	118.656.000	
Naturose	80,0	800.000	1,82	116.480.000	-2.176.000

En los tres ejercicios realizados se observa que los costos al usar Naturose[®] son más bajos que al usar C. Pink[®].

6. DISCUSION

Es importante tomar en cuenta que estudios de pigmentación con Naturose[®] en salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) con peces de un peso de 700 gr hasta peso de cosecha, considerando un periodo de engorda en fase marina de alrededor de 8 meses no existían hasta realizar este estudio. De esta forma se contribuye a aportar antecedentes de como el salmón Coho responde a la suplementación con pigmentos de origen natural.

Respecto a la evolución del peso de los peces alimentados con Naturose[®], no se demostraron diferencias estadísticamente significativas con el grupo alimentado con Carophyll Pink[®], dado que ambos desarrollan una ganancia de peso de forma ascendente y progresiva, situación que se corrobora por el crecimiento presentado por el resto de la población. Por lo tanto Naturose[®] es un producto que no altera la ganancia de peso de los salmones Coho. Situación similar se presenta en estudios de pigmentación realizados en trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), en el cual la ganancia de peso era independiente de la concentración de pigmento en el alimento (Storebakken y Fjalestad, 1992).

Para analizar la pigmentación del músculo de los peces se deben tomar en cuenta la concentración de astaxantina, el color, concentración de lípidos y porcentaje de retención de astaxantina en el músculo.

Considerando que durante el estudio se presentaron condiciones ambientales y de alimentación similares para ambos grupos, estos pueden ser comparables. Los resultados de astaxantina en músculo de los peces alimentados con Naturose[®] (14,2 mg) y con Carophyll Pink[®] (16,3 mg) no presentaron diferencias estadísticamente significativas por lo que se puede deducir que Naturose[®] se fija al músculo del salmón Coho de igual forma que Carophyll Pink[®]. Struksnaes y Torrissen (1991) compararon astaxantina sintética con Naturose[®], alimentando salmón del Atlántico (*Salmo salar*) utilizando las mismas concentraciones para ambos grupos, al cabo de 11 meses no encontraron diferencias significativas en el depósito de astaxantina entre los peces alimentados con Naturose[®] y los alimentados con astaxantina sintética.

La acumulación de astaxantina en el músculo durante el tiempo presenta fluctuaciones con una marcada tendencia ascendente, situación que se presenta para ambos grupos, siendo levemente mejor la acumulación de astaxantina al finalizar el estudio para el grupo alimentado con Carophyll Pink[®] (16,3 mg). Las causas de las fluctuaciones pudieran explicarse por un efecto de dilución de la astaxantina en el músculo, dado por las tasas de crecimiento que presentaron estos peces. Experiencias realizadas en otras especies demuestran comportamientos similares en el depósito de astaxantina en músculo al comparar

Naturose[®] con astaxantina sintética. Es el caso de pruebas realizadas en trucha Arcoiris (*O. mykiss*) por Sommer y col. (1991), en el cual describe comportamientos ascendentes en el depósito de astaxantina en músculo para el grupo alimentados con Naturose[®] y el grupo control. Esto se explica ya que la astaxantina es un caretenoide de depósito que se fija al complejo actino-miosina a través de doble puentes hidrógeno (Henmi y Hata, 1989).

Es importante también considerar que tanto los peces alimentados con Carophyll Pink[®] como con Naturose[®] presentan niveles de astaxantina en el músculo inferiores a los reportados por autores como Shiedt y col. (1981) y Kitahara (1984), estos informan que en salmón Coho con pesos superiores a 1500 gr se presentan niveles de 20 a 25 mg/kg de astaxantina en el músculo, igualmente Téllez (1998) informa niveles similares de pigmentación para salmón Coho cultivados en Chile. Situación que para este estudio no se manifiesta, dado que los peces alimentados con Carophyll Pink[®] cuando alcanzan un peso sobre 1500 g (M4) presentaron 11,8 mg/kg de astaxantina en el músculo y los alimentados con Naturose[®] 9,4 mg/kg de astaxantina en el músculo. Terminando el estudio con pesos sobre los 4 kg y valores de astaxantina en músculo de 16,3 mg/kg para los pigmentados con Carophyll Pink[®] y de 14,2 mg/kg los pigmentados con Naturose[®]. Valores similares de astaxantina en el músculo se han encontrados en salmón Coho silvestre por Mori y col. (1991) que menciona valores de 11 mg/kg de astaxantina presente en músculo de salmón Coho en libertad.

Existen múltiples factores que pueden afectar el depósito de astaxantina en el músculo, pero en este estudio lo causa más probable de esta baja concentración de astaxantina, es por una dosis baja de pigmento en el alimento y elevados índices de crecimiento.

Con respecto a la relación existente entre el peso de los peces y la acumulación de astaxantina en el músculo, se presenta una relación directa entre ambos parámetros, lo que hace inferir que a mayores pesos, mayor es la acumulación de astaxantina (anexo 24). No y Storebakken (1991b) indican que existe una relación lineal entre peso vivo y pigmentación muscular. Situación que depende de diversos parámetros paralelos, como lo son la estrategia de pigmentación asumida, el factor de conversión de alimento, índice de crecimiento (Bird y Savage, 1990) y la madurez sexual de los peces (Longinova, 1977; Guillou y col., 1991).

Torrissen y col. (1995) describe esta misma asociación en estudios realizados en salmón del Atlántico (*S. salar*), indicando que la cantidad de astaxantina en músculo presenta una respuesta positiva frente a la ganancia de peso y al tiempo de suplementación con astaxantina.

La evolución del color del músculo durante el estudio tiene un comportamiento ascendente, aunque mostrando fluctuaciones del color entre muestreos. Ambos grupos llegan a color comercial al final del estudio, no mostrando diferencias estadísticamente significativas entre los alimentados con Naturose[®] (16,0) y Carophyll Pink[®] (16,2). Lorenz (1998a) informa de estudios realizados en Trucha Arcoiris en Chile, donde se alimentó un grupo con astaxantina sintética y otro con Naturose[®] durante 210 días. Ambos grupos presentaron un aumento de color desde el inicio hasta el final del estudio. En estudios realizados en salmón del Atlántico, se alimentaron por 120 días dos grupos, uno con Naturose[®] y otro con astaxantina sintética, a una ración de 75 ppm por kilo de alimento. Ambos grupos presentaron colores comerciales, siendo levemente mejor el color expresado por el grupo alimentado con Naturose[®] (Lorenz, 1998a).

Para el caso del salmón Coho, Lorenz (1998a) comunica de pruebas realizadas en Canadá, donde se sometió a estudio tres grupos de peces, alimentado con astaxantina sintética, cantaxantina sintética y con Naturose[®], con un peso inicial de 45 gr alimentándose por cinco meses. Al final del periodo no presentaron diferencias significativas. Para el caso del grupo alimentado con Naturose[®] concluyeron que el color obtenido era aceptable para el mercado.

La expresión de color presente en músculo no solo depende de la cantidad de astaxantina depositada, sino también de la concentración de lípidos presente en músculo (Little y col., 1979). Christiansen y col. (1995) en pruebas realizadas en salmón del Atlántico, menciona que filetes con alto porcentaje de lípidos el color tiende a diluirse, debido al contenido graso presente en el tejido conectivo y entre los miómeros, que interfiere en la percepción visual del color.

González (1998) recomienda que para el salmón Coho valores de 16 a 18 mg/kg de astaxantina en músculo son necesarios para obtener colores de 16-17 en escala de color Roche. En el caso de este estudio con valores de 12 mg/kg se observan colores sobre 16 en escala de color Roche.

La retención de astaxantina en el músculo depende principalmente de tres factores, absorción, transporte y depósito. En la absorción se postula que esta se realiza a través de lipoproteínas específicas y dado su naturaleza lipofílica, su absorción está ligada al nivel de grasas presente en la dieta (Guillou y col., 1991). Los salmonídeos absorben primordialmente la forma libre de la astaxantina, las formas mono y diester aparentemente son hidrolizados en la pared intestinal previo a su absorción (Bird y Savage, 1990). El transporte igualmente se realiza ligado a lipoproteínas (VLDL, LDL, HDL, VHDL) y la concentración de estas va a depender de la etapa productiva del pez, especie y sexo (Bird y Savage., 1990). El depósito en la etapa productiva del pez, se realiza principalmente en tejido muscular, uniéndose a través de puentes hidrógeno a la actinmiosina (Henmi y col., 1989).

La retención promedio para el grupo alimentado con Naturose[®] fue un 21,3% y para el grupo alimentado con Carophyll Pink[®] de 21,1%, siendo estos resultados superiores a los descritos por algunos autores como Almendras y Saballe (1998) que menciona para el caso del salmón Coho una retención promedio de un 14% a 18%. Smith y col. (1992) en pruebas realizadas en salmón Coho “pan-size”, determinaron un 19,8% de retención promedio en dietas con distintas concentraciones de astaxantina.

Los niveles de retención tanto para el grupo alimentado con Naturose[®] y Carophyll Pink[®], se presenta durante la primera mitad del estudio de forma irregular, tendiendo a estabilizarse en la segunda mitad. Esta situación tiene directa relación con el promedio de astaxantina acumulada en músculo, la cual presenta un comportamiento similar. Por lo tanto al disminuir la eficiencia de retención disminuye el depósito de astaxantina en el músculo, a su vez en los momentos que aumenta la eficiencia de retención aumenta la cantidad de miligramos de astaxantina en el músculo. Bjerkeng y col. (1990) alimentaron truchas con niveles crecientes de astaxantina y cantaxantina por un periodo de 16 semanas observando que la concentración de pigmento en el músculo aumentó al incrementar la cantidad de pigmento en la dieta, sin embargo la eficiencia de pigmentación (% retención) disminuye, dándose una relación inversa.

Se postulan dos teorías en relación a los modelos hipotéticos sobre el depósito de pigmento en salmones. En el primero, la concentración de carotenoides es considerada como una función lineal con el incremento de peso, entonces la eficiencia de retención aumentara como aumenta el peso (Spinelli y Mahnken, 1978; Storebakken y col., 1987; March y col., 1990). El segundo modelo asume una tasa de retención constante independiente de la talla del pez (Torrissen y col., 1989; Storebakken y col., 1986).

Los resultados obtenidos en este estudio no demuestran una relación directa con ninguna de las teorías mencionadas anteriormente. Los resultados son irregulares durante la primera mitad del estudio para ambos grupos y en la segunda mitad se presenta un modelo mas similar a la segunda teoría para el grupo alimentado con Naturose[®] y para el grupo alimentado con Carophyll Pink[®]. Entre las posibles causas de este comportamiento, se pueden mencionar problemas de fabricación del alimento, en el cual el fabricante no incorporó las cantidades solicitadas de pigmento, situación que hubiese sido explicable para el grupo alimentado con Naturose[®] ya que el fabricante calibra las recetas del alimento al uso de Carophyll Pink[®], pero el comportamiento mencionado se presento para ambos grupos. En segundo lugar se puede relacionar con la composición grasa de la dieta, pues los peces después de la alimentación presentaban una fuerte regurgitación de grasas de color blanco anaranjado, las

cuales quedaban adheridas a las redes de cultivo y estructuras aledañas, situación que no se había presentado en los cultivos de años anteriores. Hardy y col. (1987) observaron que la concentración de carotenoides en el músculo del salmón del Atlántico disminuye cuando recibe dietas con grasa animal, que cuando se utiliza aceite de pescado.

Tomando en cuenta lo antes mencionado, podemos inferir que si los peces recibieron dietas con un contenido lipídico irregular en la concentración de aceite de pescado, por ejemplo que una partida de alimento, los lípidos totales el 60% era aceite de pescado y en otra partida de alimento de los lípidos totales el 70% era aceite de pescado, esta variación interfirió en el depósito de astaxantina en el músculo y en el porcentaje de retención.

En relación a la concentración de lípidos en músculo, se observa un comportamiento similar en el depósito de lípidos en el músculo entre el grupo alimentado con Naturose[®] y con Carophyll Pink[®], no presentándose diferencias estadísticamente significativas.

La literatura describe una relación positiva entre depósito de astaxantina en el músculo y un aumento de lípidos en los tejidos, dado que los lípidos facilitan el transporte de astaxantina y su unión a la actino-miocina (Hemmi y col., 1991), situación que no se observa con claridad durante el estudio, mas bien la correlación existente entre astaxantina y lípidos en músculo es vagamente positiva en ambos grupos.

Entre las causas de este comportamiento se encuentra lo antes mencionado, en relación a que si los peces recibieron dietas con una concentración irregular de aceite de pescado, el depósito de astaxantina en el músculo se ve afectado. La literatura también describe a la temperatura del agua (No y Storebakken, 1991a), dado que a bajas temperaturas los peces ven disminuido su metabolismo y por ende el consumo de alimento, esto pudiera explicar el descenso en la concentración de lípidos durante el primer tercio del estudio, pues corresponde a la época de otoño-invierno del hemisferio sur. Otra causa posible esta dado por la influencia hipotética del pequeño tamaño de la muestra y por último lo ocurrido en el punto siete del muestreo donde se observa una baja en la concentración de lípidos en ambos grupos, causado por los ayunos de pre-cosecha. Almendras y Saballe (1998) recomienda ayunar los peces días antes de su cosecha con el objeto de disminuir la concentración de lípidos en el músculo y de esa forma resaltar el color.

No y Storebakken (1991a), en pruebas realizadas en truchas describen una relación directa entre la temperatura del agua y el depósito de astaxantina y lípidos en el músculo, dado que al disminuir la temperatura del agua disminuye el metabolismo de los peces y por ende el consumo. También estos autores

observaron que la digestibilidad de los carotenoides disminuye a bajas temperaturas.

Como el principal mercado del salmón Coho corresponde a Japón y el mayor porcentaje de venta se realiza como producto congelado, se sometieron un grupo de filetes a pruebas de estabilidad de color en congelado.

Los resultados obtenidos en estas pruebas no fueron favorables. Si pensamos que el mayor porcentaje del salmón Coho que se produce en Chile tiene como futuro el mercado japonés, y los envíos se realizan por vía marítima donde el producto se transporta congelado, es importante llegar al lugar de destino con un producto en óptimas condiciones de color.

Los resultados presentan una caída constante de color a partir del día 32, siendo lo esperado una caída en el color del filete después del día 60 post-congelado. Situación que se presenta de igual forma para el porcentaje de pérdida de color, siendo levemente menor las pérdidas en el grupo alimentado con C. Pink[®]. En pruebas de estabilidad de astaxantina en salmón del Atlántico realizadas por Sheehan y col. (1998), en la cual después de doce semanas de congelado la concentración de astaxantina y el color presentaron mínimas variaciones. Pruebas realizadas también en salmón del Atlántico en Chile en filetes congelados por 90 días se observaron incluso un aumento en la concentración de astaxantina, esto posiblemente por la deshidratación del músculo⁶.

Esta caída anticipada en el color de ambos grupos se puede explicar por dos causas. En primer lugar González (1998), recomienda para el salmón Coho obtener valores de astaxantina mayores a 18 mg/kg en peces que van a ser congelados. Almendras y Sabelle (1998) son mucho más exigente y recomienda valores que oscilen los 22 mg/kg. Por otra parte si se observan valores cercanos a 12 mg/kg de astaxantina muscular, el color del músculo es poco fiable (Storebakken y Fjalestad, 1992). En segundo lugar, el músculo del salmón desde el momento que el pez es sacrificado comienza un proceso de degradación con liberación de radicales libres y rancidez de las grasas, que llevan a un gran consumo de antioxidantes. El primer antioxidante en movilizarse es la astaxantina, proceso que prácticamente se detiene al congelar a $-17\text{ }^{\circ}\text{C}$; pero que se acelera al descongelar (Burton, 1989; Bjerkeng y Johnsen, 1995). Andersen y col. (1990) demostraron que en filetes congelados de peces del género **Oncorhynchus** al aumentar la rancidez a nivel muscular disminuye la concentración de astaxantina muscular situación que se acentúa al pasar del tiempo.

Vale consignar, que al momento de realizar la descongelación de los filetes, estos aparte de liberar agua, liberaban una gran cantidad de grasas de color

⁶ Boletín de progreso N° 3, Laboratorio Kemifar (1999).

anaranjado, lo cual indica un secuestro de pigmento desde el músculo hacia el exterior, pudiendo estar relacionado este fenómeno con la calidad de los lípidos entregados en la dieta de los peces.

La baja concentración de astaxantina muscular al momento de cosecha, más el secuestro de pigmento por parte de las grasas que se liberaban al momento de la descongelación llevan a una pérdida de color en los filetes de ambos grupos antes de lo esperado.

Medir la estabilidad del color durante el almacenaje en congelado tiene relevancia para saber como se comporta el color durante el tiempo. Para a futuro corregir los posibles errores que se detecten.

Se realizó una comparación simple de los costos económicos de la utilización entre Naturose[®] y Carophyll Pink[®].

En la tabla 2 se obtiene un ahorro considerable de dinero al usar Naturose[®], que expresado en porcentaje corresponde a un 29% de ahorro en comparación con el grupo alimentado con Carophyll Pink[®]. Esta diferencia está influenciada por presentar el grupo alimentado con Naturose[®] un menor consumo de alimento y por ende de pigmento y una menor biomasa, producto de tener un mejor factor de conversión biológico y por las diferencias en las épocas de cosecha de los peces.

Es importante tomar en cuenta que las pérdidas que sufren ambos productos durante el proceso de fabricación del alimento, fueron asumidas por las empresas que suministran el producto, por ello en el ejercicio de la tabla 8 no está considerado el costo de estas pérdidas.

Para evitar las diferencias presentadas en la tabla 2 y hacer comparables Naturose[®] con Carophyll Pink[®] se asumió en la tabla 3 una dosis de ppm por kg de pez y biomasa iguales, obteniéndose al realizar el ejercicio un ahorro en pesos de un 14% al usar Naturose[®]. Siendo favorable el uso de Naturose[®] bajo estas condiciones, dado que durante el estudio la pigmentación del músculo del salmón Coho no mostró diferencias estadísticamente significativas con Carophyll Pink[®].

Se realizó un tercer ejercicio en el cual se asumió una dosis de ppm por kg de pez y biomasa iguales, más las pérdidas del producto durante la fabricación del alimento (costo que durante el estudio asumieron las empresas que distribuyen el producto), con lo cual el costo de la ppm se eleva 1,82 pesos para el Naturose[®] y a 1,85 pesos para el caso del Carophyll Pink[®]. A pesar de la gran pérdida que sufre el Naturose[®] durante el proceso de fabricación del alimento, todavía se obtiene un ahorro de dinero.

Las pérdidas que sufren los pigmentos durante la fabricación del alimento para peces, se explican por que este proceso es altamente agresivo e involucra la exposición a altas temperaturas, humedad y fuerzas mecánicas, que pueden producir un severo daño, si es que no se incluyen mecanismos y formas de protección (Almendras y Sabelle,1998). Para ello la astaxantina sintética ha sido protegida con antioxidantes y cubiertas de carbohidratos llevando a mínimas pérdidas en la fabricación (Almendras y Sabelle, 1998).

Esta pérdida que en Naturose[®] puede llegar a un 20%, se produce por que no posee este tipo de protección y sus pigmentos se encuentran más expuestos, situación que se podría ir revirtiendo si las empresas que fabrican el alimento mejoran las medidas de control del proceso. Principalmente la temperatura, humedad, efectos mecánicos y exposición al oxígeno, dado que los carotenoides son muy sensibles a estos factores.

Si se considera solo el aspecto económico, Naturose[®] es evidentemente mas conveniente para la utilización como agente pigmentante, más aún cuando el distribuidor del producto asume el costo de las pérdidas en el proceso de fabricación.

7. CONCLUSIONES

El pigmento Naturose[®] no influencia la ganancia de peso de los peces.

Naturose[®] pigmenta el músculo del salmón Coho de forma similar a Carophyll. Pink[®].

Los peces alimentados con Naturose[®] presentan un color en el músculo similar a los peces alimentados con C. Pink[®].

Los peces alimentados con Naturose[®] alcanzan color comercial en la misma cantidad de meses que C. Pink[®].

El porcentaje de retención de astaxantina muscular en los peces alimentados con Naturose[®] presenta un comportamiento similar a los alimentados con C. Pink[®].

No se observa una relación directa entre la concentración de lípidos en el músculo y la acumulación de pigmento en el músculo de los peces.

La pérdida de color presentada en las pruebas de descongelación se manifiesta de igual forma para los filetes con Naturose[®] y C. Pink[®].

Naturose[®] económicamente es más conveniente como agente pigmentante que C. Pink[®].

Adicionalmente se concluye, que si los peces recibieron dietas con un contenido lipídico irregular en la concentración de aceite de pescado, esta variación interfirió en el depósito de astaxantina en el músculo y en el porcentaje de retención.

La baja concentración de astaxantina muscular al momento de la cosecha, más el secuestro de pigmento por parte de las grasas que se liberaban al momento de la descongelación, llevan a una pérdida de color de los filetes antes de lo esperado.

8. BIBLIOGRAFIA

ALMENDRAS, F., M. SABALLE. 1998. Guía practica: Uso de pigmentos en Salmonídeos bajo condiciones comerciales de Lab. Roche. El Teniente061, Parque Industrial, Puerto Montt, Chile.

ACHURRA, M. 1996. Salmones: Una experiencia exitosa se exportación. *Chile pesq.* 91:28-33.

ANDREWES, A., H. PHAFF, M. STARR. 1976. Carotenoids of *Phaffia rhodozyma* a red-pigmented fermenting yeast. *Phytochem.* 15: 1003-1007.

ANDERSEN, H., G. BETELSEN, A. CHRISTOPHERSEN, A. OHLEN, L. SKIBSTED. 1990. Development of rancidity in salmonoid steaks during retail display. A comparison of practical storage life of wild salmon and farmed rainbow trout. *Leb. Unt. Forsh* 191: 119-122.

BIRD, J., G. SAVAGE. 1990. Carotenoid pigmentation in aquaculture. *Proc. Nut. Soc. Of New Zeland.* 15:45-56.

BJERKENG, B., T. STOREBAKKEN, S. LYAAEN-JENSEN. 1990. Response to carotenoids by rainbow trout in the sea: resorption and metabolism of dietary astaxanthin and canthaxanthin. *Aquaculture* 91: 153-162.

BJERKENG, B., G. JOHNSEN. 1995. Frozen storage quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as affected by oxygen, illumination, and fillet pigment. *J. Food sci.* 60: 284-288.

BURTON, G. W. 1989. Antioxidant action of carotenoids. *J. Nutr.* 119:109-111.

CASTRO, E., G. MENA. 1993. Pigmentos carotenoides – Rol nutricional en especies salmonídeas y fuentes de pigmentación. Programa cooperativo gubernamental. FAO – Italia. GCP/RLA/102/ITA. Proyecto Aquila II. Documento de campo N° 16: 213- 227.

CASTRO, E. 1993. Evaluación de pigmentos carotenoides. *Aquanot. Int.* Vol. 3: 4-7.

CASTRO, H. 1999. Efficiency of utilization of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* yeast in comparison with a synthetic source in atlantic salmon. Final report from ADM com.

CHOUBERT, G. 1985. Effects of starvation and feeding on canthaxanthin depletion in the muscle of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 46: 293-298.

CHRISTIANSEN, R., G. STRUKNAES, R. ESTERMANN, O. TORRISEN. 1995. Assessment of flesh colour in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquacult. Res.* 26: 311-321.

GONZALEZ, J. 1998. Fisiología de los carotenoides y pigmentación de salmones. Pag. 2-9, 11-15.

GUILLOU, A., G. CHOUBERT, J. DE LA NOUE. 1991. Carotenoids in mature female rainbow trout: Absorption and blood clearance. *Fish Nut. Practice (France)*. Ed Inra, Paris 1993 (Les Colloques, n° 61). Pg. 349-353.

HANNASH, K., C. NELSON. 1990. Efficacy of liquid Kem Glo™ in the pigmentation of commercial Atlantic salmon: Field trial in the bay of Fundy . *Pigmenter Research. Bull. Of Kemin Industries Inc.*

HARDY, R., T. SCOTT, L. HARREL. 1987. Replacement of herring oil with menhaden oil, soybean oil, or tallow in the diets of Atlantic salmon raised in marine net-pens. *Aquaculture* 65: 267-277.

HENMI, H., M. HATA. 1989. Astaxanthin and/or acthaxanthin-actomyosin complex in salmon muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55: 1583-1589.

HEMMI, H., M. HATA, M. TAKEUCHI. 1991. Studies on the carotenoids in the muscle of salmon V. Combination of astaxanthin and cantaxanthin white bovine serum albumin and egg albumin. *Comp. Biochem. Physiol.* 99B:609-612.

JONHNSON, E. A. 1989. A pigment source in salmonids feed. *Feed Management* 40: 18-21.

KITAHARA, T. 1984. Carotenoids in the pacific salmon during the marine period. *Comp. Biochem. Physiol.* 78b: 859-862.

LITTLE, A., C. MARTINSEN, L. SCEURMAN. 1979. Colour assessment of experimentally pigmented rainbow trout. *Colour res. And Appl.* n 4: 92-95.

LONGINOVA, T. A. 1977. Carotenoids of rainbow trout during the growth of gonads and spawns. *Metabolism and biochemistry of fishes. Indian Natl. Sci.* pg. 530-536.

LORENZ, T. 1998a. Naturose® (Natural Astaxanthin). *Technical Bulletin.* Vol 1: pag. 1-4.

LORENZ, T. 1998b. General Specifications of NatuRose® Natural Astaxanthin (*Haematococcus* algae meal). *Technical Bulletin.* Vol. 5: Pag. 1, 7-20.

LORENZ, T. 1999. NatuRose[®] Natural Astaxanthin (*Haematococcus* algae meal) as a Carotenoid and Vitamin Source for Salmonids. Technical Bulletin. Vol. 55: Pag. 7.

MARCH, B., W. HAJEN, G. DEACON, C. MACMILLAN, M. WALSH. 1990. Intestinal absorption of astaxanthin, plasma astaxanthin concentration, body weight, and metabolic rate as determinants of flesh pigmentation in salmonid fish. *Aquaculture*. Vol. 90: 313-322.

MARKOVITS, A. 1991. Adonis: Potencial fuente vegetal de astaxantina. *Alimentos* 16: 49.

MORI, T., S. OKADA, K. YAMAGUCHA, S. KONOSU, Y. YAMADA, M. SÁCATE, K. SPRINGATE. 1991. Kepping salmon in the pink. *Fish farmer*, Sep-Oct: 47.

NO, H., K. STOREBAKKEN. 1991a. Pigmentation of rainbow trout with astaxanthin at different water temperature. *Aquacult.* 97: 203-216.

NO, H., K. STOREBAKKEN. 1991b. Color stability of rainbow trout fillets during frozen storage. *J. of Food Sc.* 56: 969-984.

SALMONCHILE. 2004. Informe de producción y exportación, periodo Enero a Diciembre del 2003. Boletín marzo 2004.

SHEEHAN, E., T. O'CONNOR, P. SHEEHY, D. BUCKLEY, R. FITZGERALD. 1998. Stability of astaxanthin and cantaxanthin in raw and smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage. *Food Chemistry*. 63: pag. 313-317.

SHIEDT, K., F. LEVENBERG, M. VECCHI. 1981. Natural enantiomeric and meso-astaxanthin.5. Ex wild salmon (*Salmo salar* and *Oncorhynchus*). *Helv. Chim. Act.* 64: 455.

SMITH, B. E., R. W. HARDY, O. J. TORRISSEN, 1992. Synthetic astaxanthin deposition in pan-size coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquacult.* 104: pp. 105-119.

SOMMER, T., W. POTTS, N. MORRISSY. 1991. Utilization of microalgal astaxanthin by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult.* 94: Pag 88.

SPINELLI, J., C. MAHNKEN. 1978. Carotenoid deposition in pen-reared salmonids diets containing extracts of red crab (*Pleuroncodes planipes*). *Aquacult.* 13:213-223.

STOREBAKKEN, T., P. FOSS, I. HUSE, A. WANSVIK, T. LEA. 1986. Carotenoids in diets for salmonids. III. Utilization of cantaxanthin from dry and wet diets by Atlantic salmon, Rainbow trout and Sea trout. *Aquacult.* 51, 245-255.

STOREBAKKEN, T., P. FOSS, K. SCHIEDT, E. AUSTRENG, S. LIAAEN-JENSEN, U. MANZ. 1987. Carotenoids in diets for salmonids. IV. Pigmentation of Atlantic salmon with astaxanthin, astaxanthin dipalmitate and cantaxanthin. *Aquacult.* 51: 245-255.

STOREBAKKEN, T., K. FJALESTAD. 1992. Maling av farge laksefisk I. Kjøttlarge og targemaling. *Norsk fiskeoppdrett* 12: 44-45.

STRUKNAES, G., O. TORRISSEN. 1991. Pigmentation of Atlantic salmon with *Haematococcus pluvialis*. Nutreco, Aquacul. Research Center. Junio 1.

TÉLLEZ, V. 1998. Tesis Dinamica de pigmentación en *Oncorhynchus kisutch*, *Oncorhynchus mykiss* y *Salmo salar* en fase marina de cultivo. Pag. 3, 13.

TORRISSEN, O. 1985. Pigmentation of salmonids: factors affecting carotenoid deposition in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 46: 133-142.

TORRISSEN, O., R. HARDY, K. SHEARER. 1989. Pigmentation of salmonids – Carotenoid deposition and metabolism. *CRC Crit. Rev. In Aquat. Sc.* 1: 209-225.

TORRISSEN, O., R. CHRISTIANSE, G. STRUKNAES, R. ESTERMANN. 1995. Astaxanthin deposition in the flesh of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. in relation to dietary astaxanthin concentration and feeding period. *Aquacult. Nut.* 1:77-84.

WURMANN, C. 1997. Alimentos para peces: Se ajusta el mercado. *Aquanot. Int.* 97: 7-25.

9. ANEXOS

ANEXO N° 1a

Peso promedio (gr) de salmón Coho (*O. kisutch*), por balsa alimentada con C.Pink® de muestreos mensuales obtenidos durante periodo de engorda, desde mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3	Prom	DS
M0	973	670	670	771	174,9
M1	977	867	807	883	86,4
M2	1107	1227	1197	1177	62,3
M3	1147	1561	1290	1333	210,5
M4	1640	1983	1850	1824	173,1
M5	2410	2523	2477	2470	57,0
M6	3067	3317	3633	3339	283,8
M7	3533	4350	4533	4139	532,6

ANEXO N° 1b

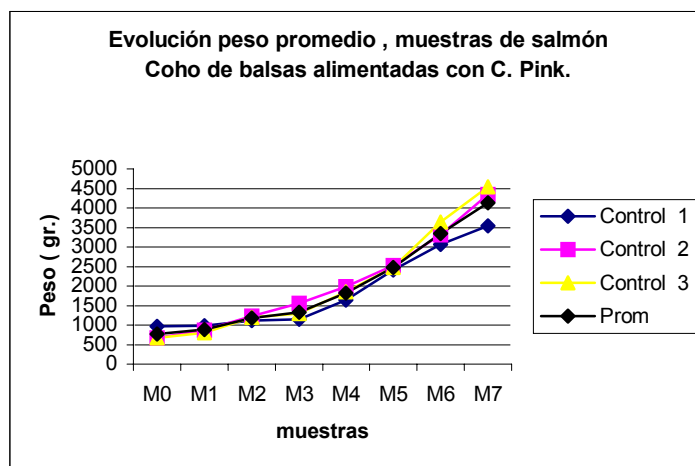


Figura 7: Evolución del peso promedio (gr) de salmón Coho (*O. kisutch*), por balsa alimentada con C.Pink® de muestras obtenidas durante el periodo de engorda, desde mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

ANEXO N° 2a

Peso promedio (gr) de salmón Coho (*O. kisutch*), por balsas alimentadas con Naturose® de muestras obtenidas durante periodo de engorda, desde mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestras	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3	Prom	DS
M0	883	707	693	761	105,9
M1	863	807	770	813	46,8
M2	1097	1263	1220	1193	86,3
M3	1233	1657	1293	1394	229,2
M4	1820	2133	1817	1923	181,9
M5	2460	2733	2407	2533	175,2
M6	3150	3650	3550	3450	264,6
M7	3833		4483	4158	459,9

ANEXO N° 2b

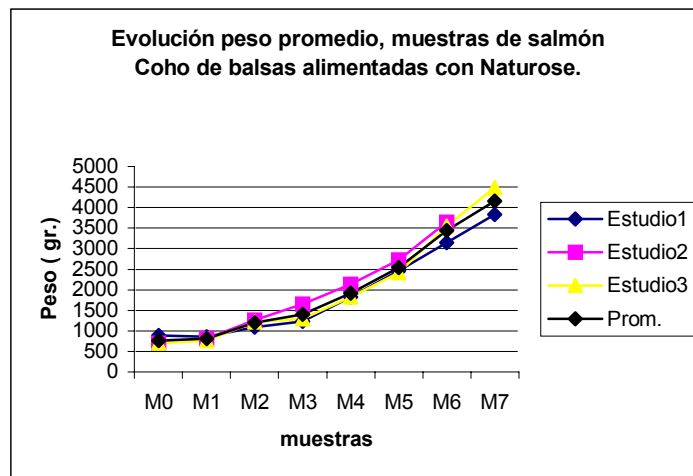


Figura 8: Evolución peso promedio (gr.) de salmón Coho (*O. kisutch*), por balsa alimentada con Naturose® de muestras obtenidas desde mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

ANEXO N° 3a

Astaxantina presente en músculo (mg/kg) de salmón Coho (*O. kisutch*), en muestras obtenidas de balsas alimentada con C.Pink®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3	Prom	DS
M0	5,8	8,8	8,8	7,8	1,7
M1	8,2	7,2	8,9	8,1	0,9
M2	6,9	9,0	7,1	7,7	1,2
M3	12,3	11,6	9,8	11,2	1,3
M4	12,1	12,9	10,3	11,8	1,3
M5	12,0	11,3	10,6	11,3	0,7
M6	12,9	12,0	10,3	11,7	1,3
M7	14,4	18,8	15,8	16,3	2,2

ANEXO N° 3b

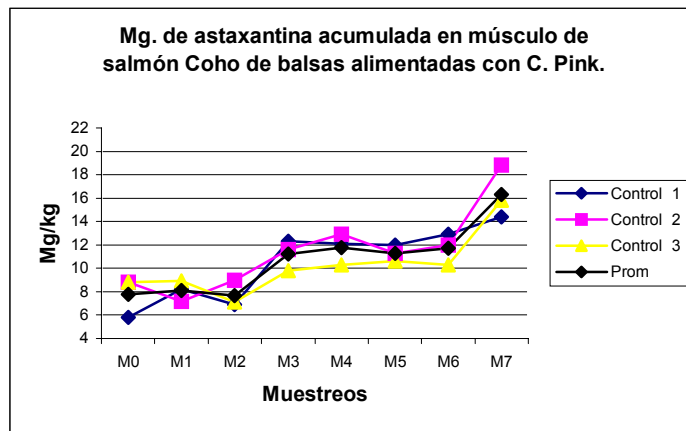


Figura 9: Astaxantina presente en músculo (mg/kg) de salmón Coho (*O. kisutch*), en muestras obtenidas de balsas alimentada con C.Pink® de cada grupo y a diferentes muestreos. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

ANEXO N° 4a

Astaxantina presente en músculo (mg/kg) de salmón Coho (*O. kisutch*), en muestras obtenidas de balsas alimentadas con Naturose®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3	Prom.	DS
M0	7,0	7,7	8,0	7,6	0,5
M1	6,1	7,3	7,7	7,0	0,8
M2	12,0	10,0	8,9	10,3	1,6
M3	9,5	9,1	10,8	9,8	0,9
M4	10,0	9,8	8,3	9,4	0,9
M5	10,2	10,1	13,5	11,3	1,9
M6	13,8	12,3	11,5	12,5	1,2
M7	13,5		14,9	14,2	1,0

ANEXO N° 4b

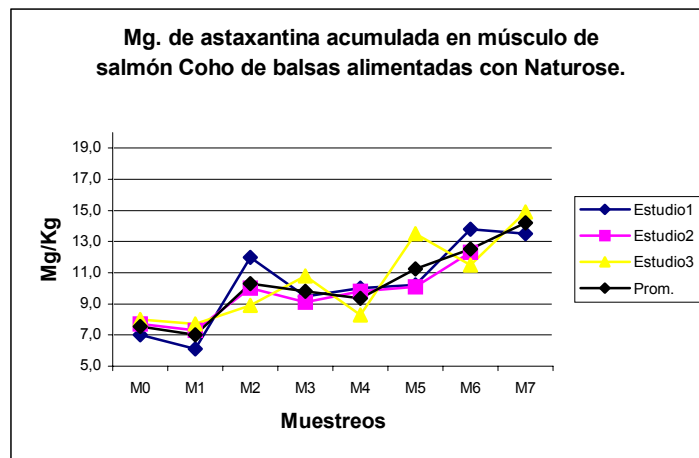


Figura 10: Astaxantina presente en músculo (mg/kg) de salmón Coho (*O. kisutch*), en muestras obtenidas de balsas alimentadas con Naturose®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

ANEXO N° 5a

Color Roche presente en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), de muestras obtenidas de balsas alimentadas con C.Pink®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3	Prom	DS
M0	13,0	15,0	15,0	14,3	1,2
M1	15,5	15,5	15,0	15,3	0,3
M2	15,0	15,5	15,5	15,3	0,3
M3	15,5	15,5	15,5	15,5	0,0
M4	15,5	16,3	16,0	15,9	0,4
M5	15,7	15,5	15,5	15,6	0,1
M6	16,3	16,0	15,8	16,0	0,3
M7	16,5	16,0	16,0	16,2	0,3

ANEXO N° 5b

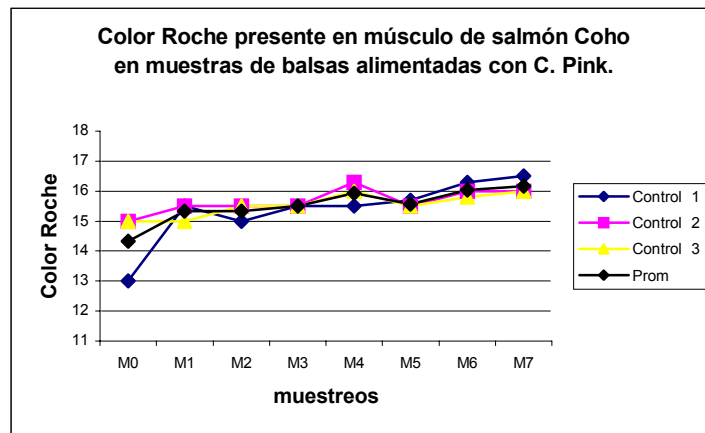


Figura 11: Color Roche presente en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), en muestras obtenidas de balsas alimentadas con C. Pink®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

ANEXO N° 6a

Color Roche presente en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), de muestras obtenidas de balsas alimentadas con Naturose®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestras	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3	Prom.	DS
M0	14,5	15,0	15,0	14,8	0,3
M1	14,5	15,0	15,0	14,8	0,3
M2	15,7	15,7	15,5	15,6	0,1
M3	15,3	15,3	15,5	15,4	0,1
M4	16,0	16,0	16,0	16,0	0,0
M5	15,5	15,5	15,8	15,6	0,2
M6	16,2	16,0	16,0	16,1	0,1
M7	16,0		16,0	16,0	0,0

ANEXO N° 6b

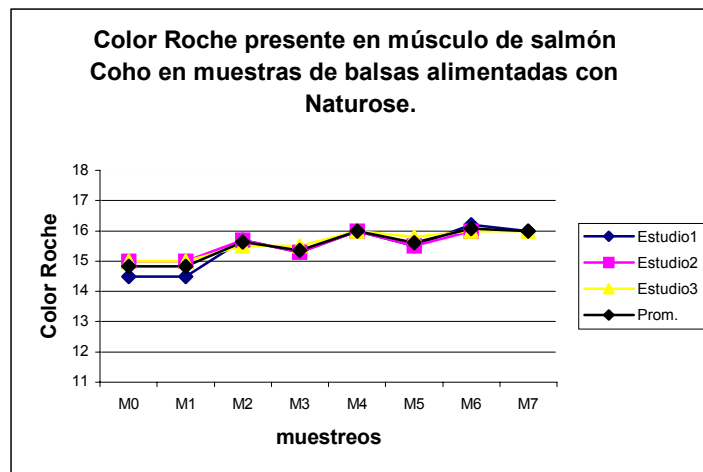


Figura 12: Color Roche presente en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), en muestras obtenidas de balsas alimentadas con Naturose®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

ANEXO N° 7a

Porcentaje de retención acumulado de astaxantina, presente en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), de muestras obtenidas de balsas alimentadas con C. Pink®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3	Prom	DS
M0	15,2%	22,2%	22,2%	19,9%	4,0%
M1	18,3%	17,1%	22,7%	19,4%	2,9%
M2	15,0%	20,2%	16,0%	17,1%	2,8%
M3	25,0%	22,3%	22,0%	23,1%	1,7%
M4	24,1%	26,3%	22,4%	24,3%	2,0%
M5	23,0%	22,2%	21,2%	22,1%	0,9%
M6	21,0%	22,6%	19,8%	21,1%	1,4%
M7	18,9%	24,4%	21,3%	21,5%	2,8%

ANEXO N° 7b

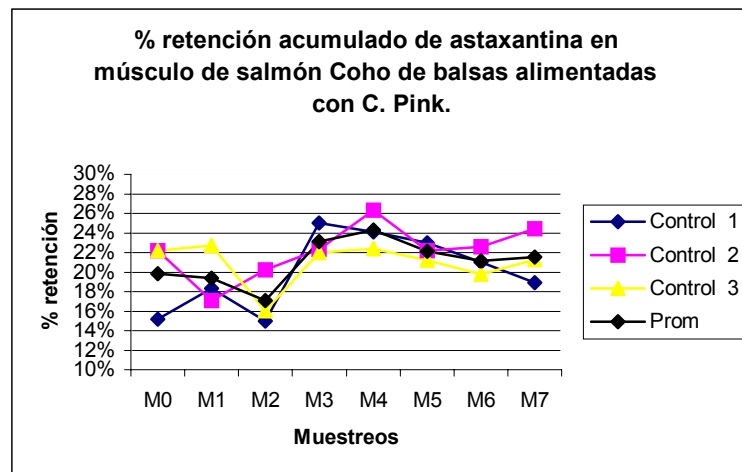


Figura 13: Porcentaje de retención acumulado de astaxantina presente en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), de muestras obtenidas de balsas alimentadas con C. Pink®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

ANEXO N° 8a

Porcentaje de retención acumulado de astaxantina, presente en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), de muestras obtenidas de balsas alimentadas con Naturose®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3	Prom.	DS
M0	19,2%	20,5%	24,5%	21,4%	2,8%
M1	13,0%	19,0%	16,1%	16,0%	3,0%
M2	27,3%	25,1%	20,9%	24,4%	3,3%
M3	20,0%	19,9%	22,5%	20,8%	1,5%
M4	21,4%	22,8%	17,3%	20,5%	2,9%
M5	19,3%	20,0%	26,5%	21,9%	4,0%
M6	23,0%	23,2%	21,7%	22,6%	0,8%
M7	18,2%		22,6%	20,4%	3,1%

ANEXO N° 8b

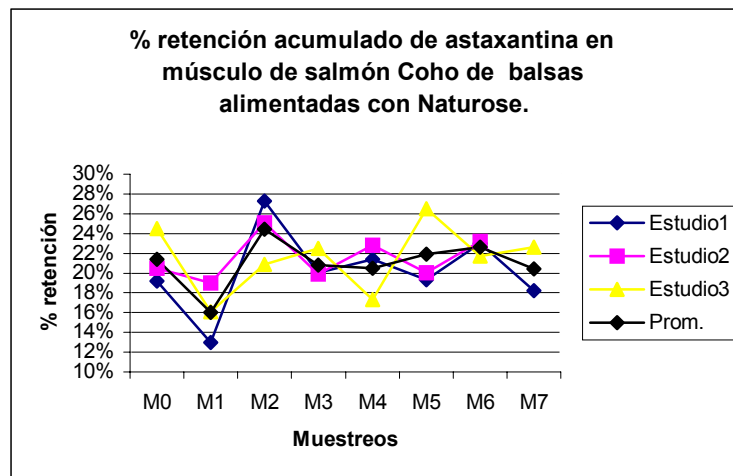


Figura 14: Porcentaje de retención acumulado de astaxantina presente en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), de muestras obtenidas de balsas alimentadas con Naturose®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

ANEXO N° 9a

Lípidos presente en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), de balsas alimentadas con C. Pink®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3	Prom	DS
M0	10,0	8,9	8,0	9,0	1,0
M1	9,1	11,9	7,8	9,6	2,1
M2	5,3	6,9	5,0	5,7	1,0
M3	5,8	7,1	5,0	6,0	1,1
M4	8,0	6,6	6,4	7,0	0,9
M5	8,1	7,6	6,6	7,4	0,8
M6	8,7	13,8	11,0	11,2	2,6
M7	10,0	7,1	9,0	8,7	1,5

ANEXO N° 9b

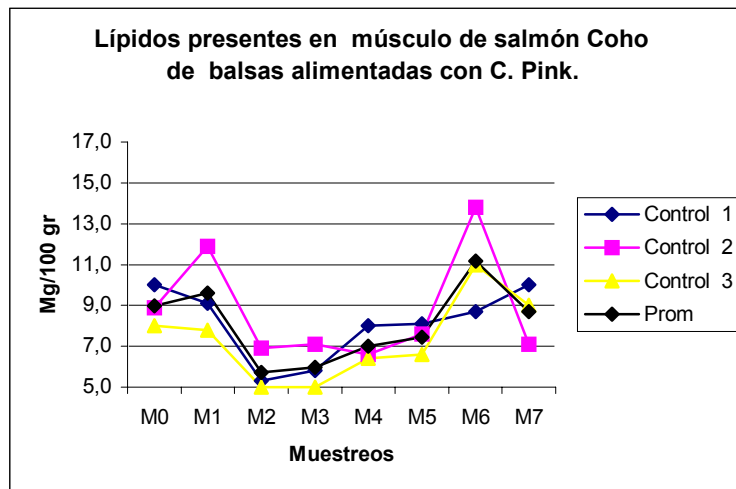


Figura 15: Lípidos presente en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), de balsas alimentadas con C. Pink®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

ANEXO N° 10a

Lípidos presente en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), de balsas alimentadas con Naturose®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3	Prom.	DS
M0	8,7	10,3	12,0	10,3	1,7
M1	5,9	9,0	11,9	8,9	3,0
M2	6,2	7,2	5,9	6,4	0,7
M3	5,2	9,0	5,5	6,6	2,1
M4	7,2	6,8	5,1	6,4	1,1
M5	7,0	8,1	5,4	6,8	1,4
M6	8,9	17,0	11,7	12,5	4,1
M7	9,0		7,1	8,1	1,3

ANEXO N° 10b

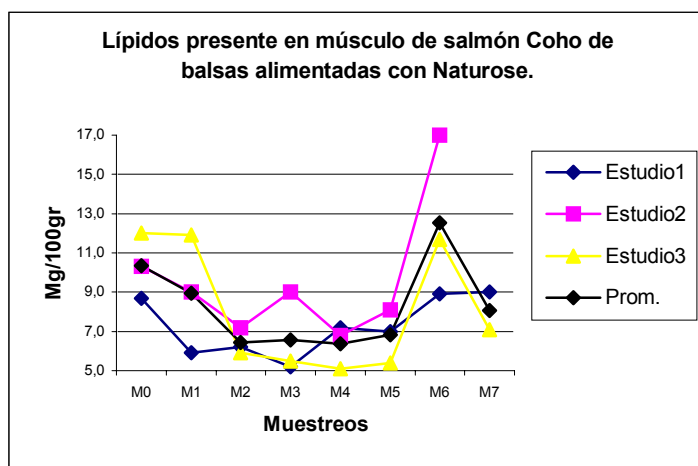


Figura 16: Lípidos presente en músculo de salmón Coho (*O. kisutch*), de balsas alimentadas con Naturose®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

ANEXO N° 11

Resultados promedios de la prueba de estabilidad de color (escala Roche) en músculo de salmón coho (*O. kisutch*) a diferentes días de descongelación en peces pigmentados con Carophyll Pink® (controles) y con Naturose® (estudio).

Días	C. Pink	% perd.	Naturose	% perd.
0	15,5	0%	15,7	0%
16	15,7	1%	15,5	-1%
32	15,1	5%	15,1	6%
50	14,4	5%	14,5	6%
66	14,2	8%	14,4	8%
82	14	8%	14,1	11%

ANEXO N° 12

Factor de conversión biológico acumulado (Fcba) de salmón Coho (*O. kisutch*), del grupo alimentado con C. Pink®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestras	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3
M0	1,07	0,85	0,92
M1	1,04	1,01	1,02
M2	1,03	0,99	0,95
M3	1,08	0,94	0,92
M4	1,00	0,90	0,93
M5	1,01	1,00	1,00
M6	1,02	1,02	1,02
M7	1,02	1,03	1,02

ANEXO N° 13

Factor de conversión biológico acumulado (Fcb) de salmón Coho (*O. kisutch*), del grupo alimentado con Naturose®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3
M0	1,05	0,85	1,04
M1	1,03	0,97	1,03
M2	1,00	0,92	1,06
M3	1,08	0,92	0,97
M4	1,05	0,93	0,93
M5	1,04	0,95	0,97
M6	1,03	0,99	0,98
M7	1,04		0,99

ANEXO N°14

Índice de crecimiento en GF3 acumulado de salmón Coho (*O. kisutch*), del grupo alimentadas con C. Pink®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3
M0	3,98	3,70	3,60
M1	3,00	2,96	2,96
M2	2,90	2,87	2,65
M3	3,30	3,40	3,32
M4	2,97	2,95	3,01
M5	3,02	3,01	3,05
M6	3,02	2,99	3,01
M7	3,11	2,98	3,18

ANEXO N° 15

Índice de crecimiento en GF3 acumulado de salmón Coho (*O. kisutch*), del grupo alimentado con Naturose®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3
M0	3,52	3,60	3,62
M1	2,60	2,78	2,75
M2	2,74	2,96	2,50
M3	3,28	3,10	3,25
M4	2,80	3,10	3,08
M5	3,00	2,99	3,01
M6	3,01	2,90	2,98
M7	2,84		2,75

ANEXO N° 16

Peso promedio proyectado (g) de salmón Coho (*O. kisutch*), de las jaulas del grupo alimentadas con C. Pink® al momento del muestreo. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3
M0	707,3	741,9	727,0
M1	919,5	951,9	930,6
M2	1186,1	1225,0	1177,2
M3	1577,6	1602,4	1556,2
M4	2046,1	2075,0	2024,6
M5	2664,0	2699,6	2642,1
M6	3468,6	3306,3	3437,4
M7	4147,2	4280,3	4165,3

ANEXO N° 17

Peso promedio proyectado (g) de salmón Coho (*O. kisutch*) de las jaulas del grupo alimentado con Naturose® al momento del muestreo. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3
M0	677,6	790,3	741,9
M1	853,8	1010,0	945,9
M2	1087,7	1309,0	1182,4
M3	1444,5	1714,7	1566,7
M4	1848,9	2246,3	2049,2
M5	2403,6	2918,0	2666,0
M6	3127,1	3464,2	3460,5
M7	4015,2		4112,2

ANEXO N° 18

Numero de peces de salmón Coho (*O. kisutch*), por jaula de grupo alimentado con C. Pink® por periodo de muestreo. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3
M0	64987	72942	67337
M1	64878	72748	67176
M2	64596	72418	66855
M3	64334	72073	66551
M4	63961	71650	66055
M5	63571	71106	64600
M6	63169	70132	63797
M7	61918	69045	62674

ANEXO N° 19

Numero de peces de salmón Coho (*O. kisutch*), por jaula de grupo alimentado con Naturose® por periodo de muestreo. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3
M0	63512	69707	75669
M1	63366	69541	75497
M2	63094	69308	75206
M3	62840	69082	74902
M4	62509	67189	74160
M5	61959	65952	73219
M6	61308	64844	72582
M7	60088	0	71166

ANEXO N° 20

kilogramos de alimento entregado por calibre al grupo de salmón Coho (*O. kisutch*) alimentado con C. Pink®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Calibre	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3
5m.m.	16209	19550	20275
7m.m.	24697	42775	32500
9m.m.	53023	65050	62150
11m.m.	121300	115375	101601
Total Alimento	215229	242750	216526

ANEXO N° 21

kilogramos de alimento entregado por calibre al grupo de salmón Coho (*O. kisutch*) alimentado con Naturose®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Calibre	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3
5m.m.	14328	13825	17900
7m.m.	35709	40150	49200
9m.m.	48600	61575	67925
11m.m.	121880	56857	101060
Total Alimento	220517	172407	236085

ANEXO N° 22

Índice gonadal de salmón Coho (*O. kisutch*) observado en muestras obtenidas de balsas alimentadas con C. Pink®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3	Prom.
M0	0,1%	0,3%	0,0%	0,1%
M1	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%
M2	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%
M3	0,1%	0,3%	0,1%	0,2%
M4	0,2%	0,3%	0,5%	0,3%
M5	0,4%	0,2%	0,3%	0,3%
M6	1,0%	1,0%	0,7%	0,9%
M7	1,0%	2,0%	2,0%	1,7%

ANEXO N° 23

Índice gonadal de salmón Coho (*O. kisutch*) observado en muestras obtenidas de balsas alimentado con Naturose®. Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

Muestreos	Balsa 1	Balsa 2	Balsa 3	Prom
M0	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
M1	0,2%	0,1%	0,1%	0,1%
M2	0,1%	0,2%	0,1%	0,1%
M3	0,1%	0,2%	0,2%	0,2%
M4	0,3%	0,3%	0,3%	0,3%
M5	0,4%	0,2%	0,3%	0,3%
M6	0,9%	0,9%	0,7%	0,8%
M7	1,0%		2,0%	1,5%

ANEXO N° 24

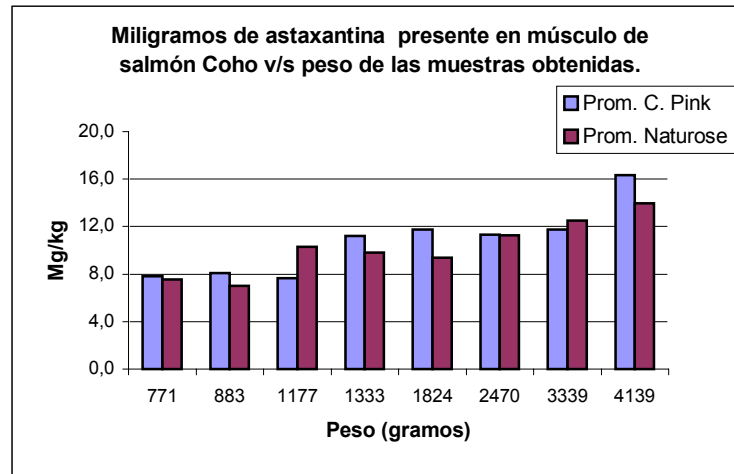


Figura 17: Miligramos de astaxantina en músculo v/s peso de las muestras obtenidas en salmón Coho (*O. kisutch*). Mayo (M0) a diciembre (M7) del 2001.

ANEXO N° 25



Figura N° 18: Estrategia de muestreo realizado para S. Coho (*O. Kisutch*) de peces pigmentados con C. Pink® y con Naturose®. Mayo a Diciembre del 2001.

10. AGRADECIMIENTOS

Después de una larga tarea, se agradece de corazón a todos los que se involucraron directa o indirectamente con este trabajo.

Se agradece a todo el personal del área de mar de la empresa Pacific Star S. A. por la colaboración prestada y por su puesto a la empresa en si por darme la oportunidad de realizar esta tesis en sus instalaciones.

En especial al Dr. Víctor Palma que mas que un profesor colaborador fue un verdadero guía y orientador.

A la Sra. Sandra Arcos que me cobijó y dio calor de familia durante la estadía en su casa.

Al Laboratorio Centrovét S. A. por facilitar el producto Naturose[®] y por toda la colaboración prestada, en especial a Don David Farcas y Don Raúl Acuña.

Al Dr. Ricardo Enríquez, profesor patrocinante, por su comprensión y colaboración.