

Bioensayo de pigmentación de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) con extractos de chile ancho (*Capsicum annuum*)

Jaime Vernon Carter¹, Jesús T. Ponce Palafox², y Ruth Pedroza Islas³

Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa; Universidad Autónoma del Estado de Morelo
y Universidad Iberoamericana. México.

RESUMEN. En el cultivo de la trucha se requiere de una dieta iniciadora que contenga pigmentos como la astaxantina y la cantaxantina para proporcionar el color rosado característico de las truchas silvestres. La producción de pigmentos sintéticos no alcanza a satisfacer los requerimientos del mercado acuícola, además de tener un precio alto de venta. Por lo anterior, en el presente estudio se evaluó la acumulación de los pigmentos contenidos en los extractos de chile ancho (*Capsicum annuum*), saponificados y esterificados, en la piel y músculo de la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). Para ello se emplearon tres tratamientos experimentales que consistieron en la inclusión de extractos de chile saponificado, sin saponificar y de astaxantina comercial en la dieta finalizadora. En cada tratamiento se tuvieron 150 organismos con un peso promedio inicial de 150 g y dos repeticiones. Se encontró que los extractos de chile ancho, en sus dos presentaciones, pigmentaban la piel y el músculo de la trucha, sin embargo el color producido fue más claro y menos rojo que el obtenido con la dieta que incluyó astaxantina.

SUMMARY. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) pigmentation bioassay using chili (*Capsicum annuum*) extracts. Farming of trouts requires a finishing diet containing pigments such as astaxanthin and canthaxanthin so that they may achieve a similar tissue pink coloration characteristic of wild trouts. The production of synthetic pigments is not enough so that the requirements of the aquaculture industry are not met, besides of having a high cost. Thus, the objective of the present study was to evaluate the deposition of saponified and esterified chili (*Capsicum annuum*) extracts in the skin and muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The experiment consisted of three treatments with the inclusion on the finishing diet of saponified and esterified chili extracts and of astaxanthin, respectively. Each treatment was carried out with 150 organisms with an average weight of a 150 g and done in duplicate. The results showed that both the saponified and esterified chili extracts pigmented the skin and muscle of rainbow trouts, although the pigmentation effect was less red than that produced by the astaxanthin control.

INTRODUCCION

Los cultivos que han exhibido el crecimiento mayor en Latinoamérica han sido los de salmónidos (salmón y trucha) y los de peneidos (camarones). Se estima que la producción de salmón por acuicultura, en 1989, fue de 233.700 toneladas, la de trucha de 248.618 toneladas y la de camarones, de 534.000 toneladas (1). No obstante, una de las limitaciones para el desarrollo, es la falta de alimentos balanceados con costos

adecuados (2). Además, por preferencias del mercado, algunas especies se cotizan mejor si presentan ciertas características de color, tal como es el caso de los salmónidos, donde se desea que el color del músculo del pez sea rosado. Cuando el cultivo se realiza en granjas es necesario adicionar a la dieta balanceada, agentes pigmentantes que son análogos sintéticos de los naturales (astaxantina y cantaxantina). Al no haber un suministro de pigmentos de origen natural, los sintéticos se siguen consumiendo aun cuando su precio de venta es muy elevado (3). La situación descrita ha llevado a los investigadores de varios países a explorar la posibilidad de producir los pigmentos naturales a partir de levaduras como *Phaffia rhodozyma* que produce astaxantina o de alga espirulina que es rica en carotenoides. (4,5).

En México existe una industria muy sólida de pigmentos naturales extraídos de la flor de compasúchil (*Tagetes erecta*)

- 1 Profesor titular «C». División de Ciencias Básicas e Ingeniería. Area de Ingeniería Química. UAM-I. Michoacán y Purísima s/n. C.P. 09340, México, D.F.
- 2 Profesor-Investigador. Centro de Investigaciones Biológicas. UAEM. Apdo. Postal 584, C.P. 62001, Cuernavaca, Morelos, México.
- 3 Profesor-Investigador. Dpto. Ciencias de Nutrición y de los Alimentos. UIA. Prol. Reforma 880. C.P. 01210, México. D.F.

y del chile ancho (*Capsicum annuum*), destinados principalmente a la industria avícola. En este estudio se utilizaron los extractos de chile saponificados y sin saponificar como fuentes de pigmentación de trucha, con el propósito de determinar si ocurría la depositación de los pigmentos en el músculo.

MATERIAL Y METODOS

A un alimento comercial con 35% de proteína se le adicionaron los pigmentos y se elaboraron las cuatro dietas siguientes: una dieta testigo (DT) constituida por el alimento comercial mismo sin la adición de pigmentos; dos dietas en las que se incluyeron, en una el extracto de chile saponificado (ECS) y en la otra el extracto esterificado (ECE) y la cuarta dieta o control (DC) se le incluyó un pigmento comercial (astaxantina).

En la Tabla 1 se presentan las concentraciones de carotenoides totales (CT) de las cuatro dietas y de la capsantina que es la xantofila roja predominante en los extractos de chile.

TABLA 1
CONCENTRACION TOTAL EN PPM DE
CAROTENOIDES, CAPSANTINA Y ASTAXANTINA
EN LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Dieta	Carotenoides	Capsantina	Astaxantina
DT	<1	0	0
ECS	428.4	144.4	0
ECE	584.8	214.2	0
DC	75	0	75

La selección de la concentración de los pigmentos en las dietas experimentales se hizo considerando que entre los acuicultores locales es práctica común el incluir 75 ppm de astaxantina en las dietas finalizadoras. Los extractos de chile fueron añadidos en una relación aproximada de 2:1 en el caso de la dieta ECS y en una relación de 3:1 en el caso de la dieta ECE, basados en la concentración de la capsantina en los extractos y con respecto a la concentración de astaxantina. Es conocido que la astaxantina es asimilada directamente como tal en la piel y el músculo de las truchas, mientras que se carece de conocimientos apropiados acerca de las rutas metabólicas que siguen las xantofilas en las truchas. Además se sabe que en pollos la eficiencia de depositación de pigmentos es marcadamente menor cuando se usan extractos esterificados.

De 1500 truchas adquiridas se seleccionaron 1200 para los cuatro tratamientos, con un peso inicial promedio de 150 g, provenientes de un mismo canal de agua. Los organismos fueron distribuidos en ocho estanques (4 x 3 x 1.2m). En cada una de las unidades experimentales se utilizaron 150 organismos seleccionados al azar. Los animales se alimentaron a demanda tres veces al día. El bioensayo tuvo una duración de cuarenta y cinco días. Durante el bioensayo se registraron las

condiciones de temperatura, transparencia, pH, concentración de oxígeno y bióxido de carbono del agua, determinados de acuerdo a las técnicas descritas por Boyd (6).

Al inicio de la experimentación se sacrificaron 35 organismos sin pigmentar y cada quince días se muestrearon 35 organismos de cada uno de los tratamientos. Se determinó el peso y longitud. Posteriormente se evisceraron y se conservaron en congelación con nitrógeno líquido y protegidos de la luz para su posterior análisis. Tanto el manejo de las muestras como la cuantificación de los pigmentos se hizo de acuerdo a lo descrito por Foss et al (7).

Se determinó el color del músculo fresco de cada uno de los lotes en los diferentes muestreos, utilizando un colorímetro Hunter-Lab modelo D-25 obteniendo los parámetros L a y b.

RESULTADOS Y DISCUSION

El efecto de las diferentes dietas, suministradas a la trucha arcoiris, sobre la ganancia en peso y talla, mostraron que no existieron diferencias apreciables (Tabla 2). No se observó mortalidad en ninguno de los estanques de experimentación, lo cual supone buenas condiciones de cultivo de acuerdo a Foss et al (8). Esto resulta importante ya que existían dudas sobre la aceptación de los extractos de chile por los organismos experimentales, debido a la pungencia característica del chile.

TABLA 2
GANANCIA EN TALLA Y PESO DE LAS TRUCHAS
EN RELACION A LAS DIFERENTES DIETAS

Parámetro	DT	DC	ECS	ECE
Peso inicial (g)	152	157.2	140	1160
Peso final (g)	244	244.3	230.6	250.6
Longitud inicial (cm)	26.1	25.4	26	26.3
Longitud final (cm)	27.8	27.9	27.5	27.9
Incrementos/semana (g)	15.3	14.5	15.1	15.1

Las condiciones fisicoquímicas del agua estuvieron dentro de los intervalos normales para el desarrollo de la trucha (Tabla 3).

TABLA 3
INTERVALO DE LAS CONDICIONES DEL AGUA DE
LOS ESTANQUES DURANTE EL EXPERIMENTO

Parámetro	Intervalo
Temperatura	10 a 15°C
Oxígeno disuelto	8 a 115 ppm
Bióxido de Carbono	0 a 12 ppm
pH	7 a 8
Transparencia	45 a 48 cm

En todos los tratamientos se encontró una mayor concentración de carotenoides totales depositados en la piel que en el músculo (Tabla 4). La misma tendencia ha sido informada por Massonet et al (9) quienes encontraron que la principal presencia de carotenoides en la piel de truchas fue en forma del monoéster de astaxantina, equinonona y betacaroteno, mientras que tan sólo se detectaron residuos insignificantes de astaxantina libre en el músculo.

TABLA 4
CONCENTRACION DE CAROTENOIDES TOTALES
(PPM) EN LA PIEL Y EL MUSCULO DE TRUCHA
ARCOIRIS

Tratamiento	Piel			Músculo fresco		
	Tiempo en días					
	15	30	45	15	30	45
ECS	12.5	18.9	17.4	2.2	2.9	2.4
ECE	15.4	26.9	16.3	2.4	22.1	1.8
DC	23.7	27.2	33.1	6.3	8.2	7.1

De acuerdo a los estudios realizados por Schiedt et al (10), en la trucha arcoiris, del 17 al 20% de los carotenoides presentes en la piel son astaxantina y cantaxantina, en tanto que compuestos como el beta-caroteno, la equinonona, la zeaxantina y la luteína, están presentes en un grado mucho menor.

En la Tabla 4 se muestra que, en general, la concentración de carotenoides totales en los tratamientos ECS y ECE es menor respecto de la cantidad depositada en el tratamiento DC a los 45 días, en la piel y el músculo. Esto se debe a que la depositación de los carotenoides con grupos hidroxilo en posición 3 y 3' es casi nula para los salmónidos, en comparación con grupos cetónicos en la posición 4 y 4' de acuerdo a lo descrito por Schiedt et al (11); entonces al suministrar los extractos e chile, resulta lógico suponer que ocurre una absorción preferencial de los carotenoides 3-3' hidroxilados.

Se determinaron registros máximos de concentración de CT en la piel a los 30 días con las dietas ECS y ECE disminuyendo ligeramente esta concentración a los 45 días, mientras que la dieta DC mostró un incremento constante en la concentración de CT con el tiempo. Es evidente que la depositación de la astaxantina en la piel es mucha más efectiva que la de las xantofilas, estén o no esterificadas. Sin embargo, resulta sorprendente que el nivel de depositación de las xantofilas esterificadas en la piel sea ligeramente mayor que el de las xantofilas saponificadas, aun cuando la concentración de capsantina fue mayor en ECE.

La depositación de los pigmentos en el músculo también alcanzó un máximo a los 30 días, bajando la concentración a los 45 días en todos los tratamientos. Este comportamiento ha sido observado (12) en truchas pigmentadas con astaxantina y cantaxantina en donde se presentó una buena asimilación de

los pigmentos durante las tres primeras semanas de experimentación, seguida de una etapa donde la eliminación de los carotenoides supera la depositación ocurriendo una desasimilación de pigmentos.

Aun cuando ocurre una depositación de las xantofilas esterificadas y saponificadas en el músculo, las concentraciones alcanzadas son de 2 a 4 veces menores que las alcanzadas con la astaxantina a cualquier tiempo de experimentación y el nivel de depositación de este último, coincide con datos informados en otros trabajos (7,8). En el músculo, la depositación de las xantofilas saponificadas es más eficiente que el de las esterificadas y está de acuerdo con otros estudios, donde se indica que la hidrólisis del enlace éster representa el paso limitante para lograr una buena asimilación de los pigmentos por los salmónidos (8, 13).

Al evaluar colorimétricamente el músculo de los diferentes tratamientos, se encontraron diferencias entre la DC y la DT con las dietas de los pigmentos experimentales, ECS y ECE (Tabla 5).

TABLA 5
VALORES DE LOS PARAMETROS CROMATICOS L,
A, B, DEL MUSCULO FRESCO DE TRUCHAS ALI-
MENTADAS CON LAS DIFERENTES DIETAS

Tratamiento	L	a	b
ECE			
15 días	46.9	7.9	13.3
30	50.9	9.5	13.2
45	49.8	8.0	11.9
ECS			
15 días	50.1	7.7	144.9
30	47.6	10.3	11.7
45	51.4	7.8	11.3
DC			
45 días	43.6	23.2	16.3
DT			
45 días	61.6	7.2	10.6

La luminosidad (L) del músculo para la DC alcanzó el valor más bajo, seguido sin diferencia perceptiva por las dietas experimentales ECE y ECS y mostrando el valor mayor, la DT; mientras que el parámetro a (intensidad de tonalidades rojas) mostró un máximo para la DC en una relación aproximadamente 3 veces mayor que el valor obtenido para las dietas ECE y ECS, que a su vez mostraron valores ligeramente mayores que los que presentaron los organismos alimentados con la DT.

Este comportamiento de la relación inversa entre L y a, ha sido informado por Skerede y Storebakken quienes encontraron

que al suministrar astaxantina, la intensidad de los rojos se incrementaba conforme aumenta la concentración de los carotenoides totales en el músculo (14). Sin embargo, estos mismos autores también notaron una relación inversa entre **L** y **b**, cosa que no sucedió con lo observado con las dietas ECE y ECS. Esto resulta interesante, ya que al presentar estas dietas valores tan bajos en el parámetro **a** comparadas con la dieta control y dado que las xantofilas amarillas y rojas de los extractos de Chile se encuentran en una relación aproximada de 1:1, se esperaría que el parámetro **b** aumentara con el tiempo de experimentación. Lo anterior es indicativo de que la absorción de las xantofilas de los extractos de Chile resulta pobre comparado con la astaxantina y sin embargo, la absorción de las xantofilas rojas, fue mejor, que la presentada por las amarillas, según los datos de cromaticidad.

Se concluye que los extractos de Chile si bien son depositados en el músculo y piel de la trucha arcoiris, la coloración que imparten se caracteriza por ser tonalidades rojas menos intensas que las generadas por la astaxantina, debido posiblemente a que los extractos de Chile están constituidos por una mezcla de xantofilas rojas y amarillas que tienden a producir una coloración resultante de dicha mezcla.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los Laboratorios Bioquímicos S.A. de C.V., por el suministro de los extractos de Chile y la colaboración de los Biólogos Samuel Macías y José Monroy y del alumno Francisco Chávez en los experimentos.

Este proyecto fue financiado por el CONACYT a través de los proyectos clave P122CCOT904923 y la DGICSA con claves C91-01-17-001-594-DGICSA: 91194888 y DGICSA 911558.

REFERENCIAS

1. SePesca. Anuario estadístico. Secretaría de Pesca, México. 1989.
2. Boonyaratpalin M. & DM Akiyama. The aquaculture industry in Southeast Asia. 3er. Intern. Symp. Feeding and Nutrition in Fish. Aug 28-Sep 1. Toba, Japón. 1989.
3. Higgins E. Fishery secret give salmon a healthy blush. The Australian. Monday Feb 26. pp.3, 1990.
4. Johnson E.A., T.G. Villa & M.J. Lewis. *Phaffia rhodozyma* as an astaxanthin source in salmonid diets. *Aquaculture*, 20: 1233-134. 1980.
5. Choubert G. Tentative utilization of Spirulin algae as a source of carotenoid pigments for rainbow trout. *Aquaculture* 18: 135-143. 1979.
6. Boyd C.E. Water quality in warmwater fish ponds. Auburn, Alabama p. 359. 1979.
7. Foss P., T. Storebakken, K. Schiedt, S. Liaaen-Jensen, E. Austreng & K. Streiff. Carotenoids in diets for salmonids. I. Pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin. *Aquaculture* 41: 213-226. 1984.
8. Foss P., E. Storebakken, E. Austreng & S. Liaaen-jensen. Carotenoids in diets for salmonids. V. Pigmentation of rainbow trout and sea trout with astaxanthin dipalmitate in comparison with canthaxanthin. *Aquaculture* 65(2): 293-305. 1987.
9. Massonet R., R. Grangaud & B. Legras. II Biogenese de la vitamine A. En *Nutrition des poissons*. París, Francia. Fountain, Edition du Centre National de la Recherche Scientifique. 1981.
10. Schiedt K., M. Vecchi, E. Glinz & E. Storebakken. Metabolism of carotenoids in salmonids. Metabolites of astaxanthin and canthaxanthin in the skin of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) *Helv. Chim. Acta.* 71: 887-896. 1988.
11. Schiedt K., F.J. Leuenberger, M. Vecchi & E. Glinz. Absorption, retention and metabolic transformation of carotenoids in rainbow trout, salmon and chicken. *Pure and Appl. Chem.* 57(5): 685-692. 1985.
12. Choubert G. & T. Storebakken. Dose response to astaxanthin and canthaxanthin pigmentation of rainbow trout fed various dietary carotenoid concentrations. *Aquaculture* 81(1): 69-77. 1989.
13. Schiedt K. & F.J. Leuenberger. Retention, distribution and metabolism of astaxanthin in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) *Abstr. 6th Int. Symp. Carotenoids, Liverpool.* 1981.
14. Skerrede G. & E. Storebakken. Instrumental color analysis of farmed and wild Atlantic salmon when raw, baken and smoked. *Aquaculture* 53(2): 271-278. 1986.

Recibido : 05-08-1992

Aceptado : 22-03-1994