

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**EFFECTOS DE PIGMENTACION EN EL MUSCULO DE TRUCHA
ARCOHIS (*Oncorhynchus mykiss*) MEDIANTE EL USO DE
EXTRACTOS PIGMENTANTES DE FLOR DE CEMPASUCHIL
(*Tajetes erecta*) y PAPRIKA (*Capolcum annuum*)
INCORPORADOS EN EL ALIMENTO BALANCEADO.**

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
ECOLOGIA ACUATICA Y PESCA**

POR

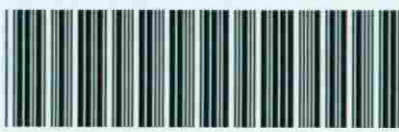
GENOVEVA INGLE DE LA MORA

MONTERREY, N.L.

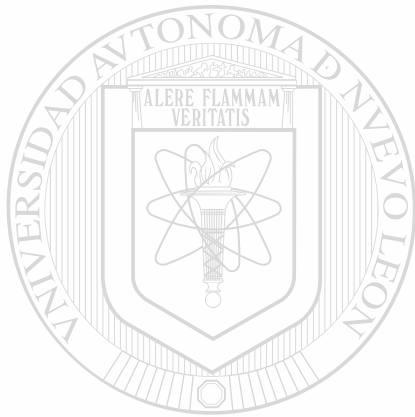
1996

COPIES 267

COPIES 266



1080072439



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

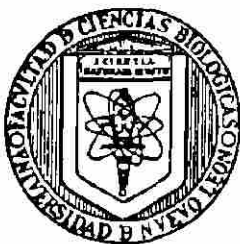


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



EFFECTOS DE PIGMENTACION EN EL MUSCULO DE TRUCHA ARCOIRIS (*Oncorhynchus mykiss*) MEDIANTE EL USO DE EXTRACTOS PIGMENTANTES DE FLOR DE CEMPASUCHIL (*Tagetes erecta*) y PAPRIKA (*Capsicum annum*) INCORPORADOS EN EL ALIMENTO BALANCEADO.

TESIS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL [®]
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
ECOLOGIA ACUATICA Y PESCA

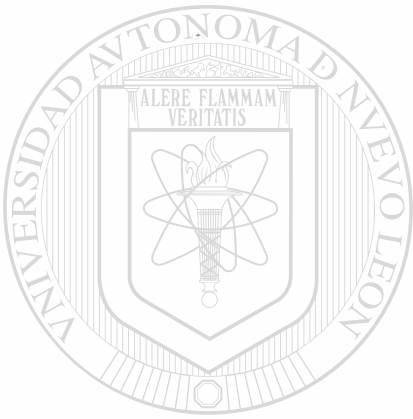
POR

GENOVEVA INGLE DE LA MORA

MONTERREY, N. L.

NOVIEMBRE DE 1996

TM
SH167
.T8C
IS



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

EFFECTOS DE PIGMENTACION EN EL MUSCULO DE TRUCHA ARCOIRIS
(*Oncorhynchus mykiss*) MEDIANTE EL USO DE EXTRACTOS
PIGMENTANTES DE FLOR DE CEMPASUCHIL (*Tagetes erecta*) y PAPRIKA
(*Capsicum annum*) INCORPORADOS EN EL ALIMENTO BALANCEADO.

TESIS

QUE EN OPCION AL TITULO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON
ESPECIALIDAD EN ECOLOGIA ACUATICA Y PESCA

PRESENTA

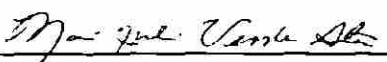
GENOVEVA INGLE DE LA MORA

APROBADA POR LA COMISION DE TESIS

PRESIDENTE:


M. en C. ARCADIO VALDEZ GONZALEZ

SECRETARIO:


Dra. JULIA VERDE STAR

VOCAL:

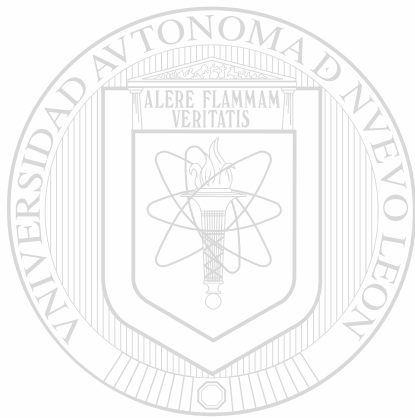

M. en C. ROBERTO MERCADO HERNANDEZ

ASESOR EXTERNO:


Dr. JOSÉ LUÍS ARREDONDO FIGUEROA

Monterrey, N.L.

Noviembre de 1996



A mi hijo , a mis Padres y a Luis

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa por facilitarme las instalaciones y equipo de la Planta Experimental de Producción Acuícola.

Al Dr. José Luis Arredondo Figueroa por su confianza, ejemplo y estímulo para el desarrollo y culminación de mis estudios de Maestría.

A la Dra. Isabel Guerrero Legorreta y al Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter por sus asesorías, valiosos comentarios y apoyo para la realización de esta Tesis.

A la empresa Productos Deshidratados de México. y en especial al Ing. Gustavo Rodríguez, por la donación de los extractos de pigmentos y apoyo de laboratorio y equipo.

A la empresa Alimentos el Pedregal por la donación de la mezcla de ingredientes de alimentos.

Al Instituto Nacional de la Pesca por el apoyo brindado.

Al Instituto Nacional de Nutrición por facilitarme sus instalaciones, equipo y en especial al Ing. Jesús Carmona De La Torre por su apoyo en la elaboración del alimento.

Al comité tutorial de la Universidad Autónoma de Nuevo León por sus valiosos comentarios y sugerencias para el desarrollo de esta tesis.

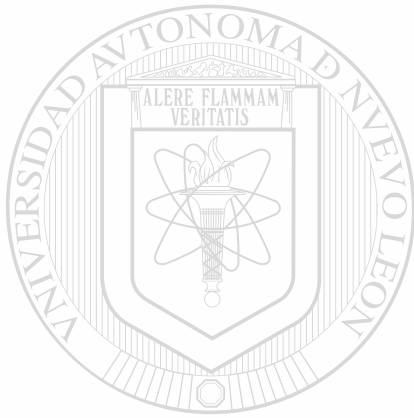
A todos aquellos que colaboraron de alguna manera para la realización de este trabajo.

A mis compañeros de la Planta experimental de producción acuícola, por su solidaridad y amistad.

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
INDICE DE TABLAS	i
INDICE DE FIGURAS	ii
RESUMEN	iv
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	2
III. OBJETIVOS	7
IV. HIPOTESIS	7
V. MATERIALES Y METODOS	8
1.- DESCRIPCION DEL SISTEMA	8
2.- CONDICIONES EXPERIMENTALES	8
2.1 DISEÑO ESPERIMENTAL	8
2.2 TANQUES EXPERIMENTALES	10
2.3 PARAMETROS FISICOQUIMICOS	10
3.- MANEJO DE ORGANISMOS	10
4.- PIGMENTOS Y TRATAMIENTOS	11
5.- PREPARACION DE DIETAS EXPERIMENTALES	12
6.- MEDICION DE COLOR MUSCULAR	13
6.1 EVALUACION CUANTITATIVA	13
6.2 EVALUACION CUALITATIVA	14
7.- ANALISIS QUIMICOS	14
7.1 ANALISIS BROMATOLOGICOS	14
7.2 DETERMINACION DE XANTOFILAS TOTALES	15
8.- ANALISIS ESTADISTICOS	15
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	16
1.- PARAMETROS FISICOQUIMICOS	16
2.- CRECIMIENTO	20
3.- PIGMENTOS	24
4.- ALIMENTO	25
5.- MEDICION DE COLOR MUSCULAR	26
5.1 EVALUACION CUANTITATIVA	26
5.2 EVALUACION CUALITATIVA	45
5.3 COMPARACION DE EVALUACIONES DE COLOR	47

VII. CONCLUSIONES	49
VIII. RECOMENDACIONES	50
IX. BIBLIOGRAFIA	51



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

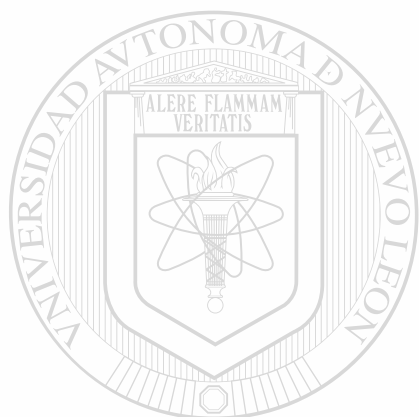
INDICE DE TABLAS

Tabla 1.-	Estadísticas generales de las variables fisicoquímicas durante la fase experimental en tanques y cisternas	20
Tabla 2.-	Pesos promedio por tratamiento para cada tiempo de experimentación, peso ganado, tasa específica de crecimiento y conversión alimenticia de trucha arcoiris	22
Tabla 3.-	Resultados analíticos de la determinación de xantofilas totales al alimento suministrado en los tratamientos	24
Tabla 4.-	Porcentaje de pérdida de pigmentos en los tratamientos durante los procesos de elaboración y almacenamiento de pellets	25
Tabla 5.-	Análisis proximal de las dietas experimentales en base seca	26
Tabla 6.-	Valores promedio de color CIE (1976) L* a* b* en el músculo de trucha arcoiris para cada tratamiento durante la fase experimental	26
Tabla 7.-	Resultado del análisis por prueba Tukey HSD para contrastar valores promedio de color L* a* b* por tratamiento en el músculo de trucha arcoiris.	28
Tabla 8.-	Valores promedio de color CIE, (1976) L*, a* y b* en el músculo de trucha arcoiris para cada tratamiento en los tres periodos de experimentación	29
Tabla 9.-	Resultado del análisis de la prueba de Tukey HSD para contrastar valores promedio de color L* a* b* por tratamiento y por tiempo, en el músculo de trucha arcoiris	31
Tabla 10.-	Diferencias de color promedio entre los tratamientos durante la fase experimental, calculados con respecto al obtenido con carofil rosa.	32
Tabla 11.-	Diferencias de los valores promedio entre las variables de color L* a* b* de cada tratamiento y los obtenidos con Carofil rosa, en cada tiempo de experimentación	35
Tabla 12.-	Valores promedio de la evaluación visual de color en músculo de trucha arcoiris durante la fase experimental	45
Tabla 13.-	Resultados obtenidos de la mejor valoración de color a través de la comparación de color de músculos de trucha arcoiris con colores estandarizados	48
Tabla 14.-	Resultados de la mejor obtención de color en el músculo de trucha arcoiris entre los tratamientos durante la fase experimental, calculados con respecto al obtenido con Carofil rosa.	48

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.-	Diagrama de flujo del reciclamiento y reacondicionamiento del agua dentro de la planta experimental de producción acuícola UAM-I.	9
Figura 2.-	Variación de la concentración de ortofosfatos, nitritos, amonio y pH en tanques durante la fase experimental	16
Figura 3.-	Variación de la concentración de ortofosfatos, nitritos, amonio y pH en cisternas durante la fase experimental	17
Figura 4.-	Variación de la concentración de alcalinidad total y dureza total en tanques y cisternas durante la fase experimental	18
Figura 5.-	Variación de la concentración de temperatura y oxígeno disuelto durante la fase experimental en tanques y cisternas	19
Figura 6.-	trucha arcoiris para cada tratamiento durante la la fase experimental	21
Figura 7.-	Curvas de crecimiento de trucha arcoiris por tratamiento durante la fase experimental.	22
Figura 8.-	Comparación del incremento en peso, tasa instantánea de crecimiento y factor de conversión alimenticia de cada tratamiento para trucha arcoiris	23
Figura 9.-	Representación gráfica de los valores promedio de color L* a* b* por tratamiento en el músculo de trucha arcoiris durante la fase experimental	27
Figura 10.-	Variación de los promedios de las variables de color L* a* b* por tratamiento y tiempos en el músculo de trucha arcoiris, durante la fase experimental	30
Figura 11.-	Diferencia de color promedio del músculo de trucha arcoiris entre tratamientos durante la fase tratamientos	34
Figura 12.-	Diferencia de color promedio del músculo de trucha arcoiris por tratamiento durante 15 días de experimentación	36
Figura 13.-	Diferencia de color promedio del músculo de trucha arcoiris por tratamiento durante 30 días de experimentación	37
Figura 14.-	Diferencia de color promedio del músculo de trucha arcoiris por tratamiento durante 45 días de experimentación	38
Figura 15.-	Evolución del color promedio del músculo de trucha arcoiris generado por el tratamiento con paprika 40 (1), durante los tres tiempos de experimentación	40
Figura 16.-	Evolución del color promedio del músculo de trucha arcoiris, generado por el tratamiento con paprika 40 (2), durante los tres tiempos de experimentación	41
Figura 17	Evolución del color promedio del músculo de trucha arcoiris generado por el tratamiento con paprika 80, durante los tres tiempos de experimentación	42
Figura18.-	Evolución del color promedio del músculo de trucha arcoiris generado por el tratamiento con cempasúchil, durante los tres tiempos de experimentación	43
Figura 19.-	Evolución del color promedio del músculo de trucha arcoiris generado por el tratamiento con carofil rosa, durante los tres tiempos de experimentación	44

- Figura 20.- Resultados de la evaluación visual de color en músculo de trucha arcoiris entre tiempos 46
- Figura 21.- Resultados de la evaluación visual de color en músculo de trucha arcoiris entre tratamientos 47



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN

Un importante elemento de comercialización de la Trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) es el impacto visual dado por la coloración rosa intenso de su carne, no presentándose este cuando la especie se somete a cultivo. Para proveer de este color se ha incluido en la dieta pigmentos sintéticos, los cuales son productos de importación, costosos y hasta el momento la única fuente disponible para pigmentar. Por lo anterior, la presente investigación se abocó a determinar el efecto de pigmentación en el músculo de Trucha arcoiris, causado por la adición a la dieta de pigmentos de extractos vegetales obtenidos de oleorresinas de flor de cempasúchil y paprika, en comparación con los resultados del uso de la astaxantina sintética (carofil rosa).

El experimento se realizó en las instalaciones de la planta experimental de producción acuícola de la Universidad Autónoma Metropolitana, utilizando seis tinas circulares de 5.3m³ de capacidad. Se manejaron 120 animales repartidos en seis lotes experimentales uno por cada tratamiento. Se contempló el manejo y seguimiento de la calidad del agua, incremento en biomasa. Los seis tratamientos consistieron en incorporar a la dieta extractos de: paprika 40 000 unidades de color (U.C.) en forma saponificada y no saponificada, paprika 80 000 cempasúchil no saponificado, Carofil rosa, y testigo. El color se evaluó cuantitativa y cualitativamente en el músculo de los animales a los 15, 30 y 45 días de experimentación. Para la evaluación cuantitativa se utilizó un colorímetro de refractancia, en relación con la valoración cualitativa se comparó el color de los músculos con tablas de colores estandarizados para salmónidos. Para ambas evaluaciones se utilizaron cinco réplicas para cada tiempo de experimentación.

Después de la ingestión de la dieta básica incorporando los cinco tratamientos con pigmentos el color se modifica para todos los casos en los tres tiempos de medición, presentando diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos y tiempos de experimentación. La máxima coloración para todos los tratamientos con excepción del testigo se alcanzó a los 30 días. Con respecto al tono obtenido todos los tratamientos mostraron diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) con respecto al pigmento sintético. La menor diferencia de color con respecto al carofil rosa durante la fase experimental se presentó con paprika 80 000 U.C. y cempasúchil. En cuanto a la valoración cualitativa la mejor coloración la obtuvo después del carofil rosa los tratamientos cempasúchil y paprika 80 000 U.C.

I. INTRODUCCION

Un factor importante que influye en la aceptación del consumidor y el valor del mercado de la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), es el color rosado de su carne. Los salmónidos y otros animales no pueden sintetizar los carotenoides *de novo*, los cuales pueden ser sintetizados principalmente por plantas, levaduras y fitoplancton, siendo múltiples las fuentes de carotenoides para los peces de vida silvestre: crustáceos, algas, pequeños peces entre otros, que actúan como organismos acumuladores (Steven, 1948). Debido a que en las granjas intensivas de cultivo de esta especie, no hay acceso al alimento vivo que contienen la pigmentación de carotenoides en forma natural, la coloración de su carne es blanca y por lo tanto es necesario suplementar en su dieta ingredientes ricos en carotenoides.

Los productos sintéticos, hasta la fecha, han sido la fuente de pigmentos más utilizada en la acuicultura mundial, por ser productos estandarizados, con una alta concentración de carotenoides y de fácil manejo. Estos, sin embargo, ofrecen ese único aporte a la dieta a un precio extremadamente alto, representando entre el 15 al 20% del costo de la dieta (Sinnott, 1989), con la consecuente salida de divisas del país, por ser productos importados. Por otro lado, su autorización como aditivo alimentario aún no es general a nivel mundial.

Es importante destacar la importancia que presenta la Trucha arcoiris en la producción acuícola nacional, que según registros de la FAO (1993) presentó un incremento inter anual de 1985 a 1991 del 34.8 %, variando la producción en los años citados de 269 a 1559 toneladas, respectivamente. Esta producción es ofertada a través de la operación de 183 granjas de producción localizadas en nueve entidades federativas (SEMARNAP 1994).

A pesar del creciente interés mundial que se tiene sobre los carotenoides naturales en México, prácticamente no existen trabajos específicos sobre el uso de éstos compuestos para colorear peces y crustáceos cultivados. Actualmente los truticultores utilizan como fuente pigmentante para producir la trucha salmonada el carofil rosa (astaxantina sintética al 8%), lo que incrementa considerablemente sus costos de producción, ofertándola al consumidor un 14% superior en comparación a la trucha no salmonada.

A fin de valorar el uso de extractos de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) y pimentón rojo o paprika (*Capsicum annuum*) como alternativa para pigmentar el músculo de trucha arcoiris, se evaluó el color inducido por los mismos cuantitativa y cualitativamente, además de compararlos con respecto a los resultados obtenidos incorporando el pigmento sintético.

II. ANTECEDENTES

Los pigmentos carotenoides representan un amplio grupo de pigmentos polienicos, los cuales varían en coloraciones del amarillo al rojo pasando por el naranja. Los carotenoides encontrados en salmónidos corresponden básicamente a astaxantina (3.3'-dihidroxi 4.4'-diceto- β -caroteno) y cantaxantina (4.4'-diceto- β -caroteno) (Steven, 1948 *op. cit.*). También es posible encontrar, aunque en menores concentraciones tisulares, adenorrubina, zeaxantina, luteína y otros compuestos carotenoides (Hata y Hata, 1973).

Dada la importancia comercial de la coloración de la trucha, se han realizado diversas investigaciones sobre pigmentación, evaluando los factores que la afectan, así como las diferentes fuentes de carotenoides. Entre los productos utilizados se ha recurrido a fuentes naturales de carotenoides, como crustáceos o desechos de procesamiento de estos, vegetales, algas y levaduras, con resultados variables (Torrissen *et al.*, 1989), y fuentes artificiales de pigmentos, de los cuales sólo existen el Carophyll red 10% (cantaxantina sintética) y "Carophyll pink" 8% (astaxantina sintética). Estos pigmentos sintéticos son marcas registradas de F. Hoffmann La Roche y Co. Suiza.

La coloración rosada de los salmónidos está dada por la presencia de carotenoides oxigenados en su tejido muscular (André, 1926), principalmente astaxantina y en forma menos abundante cantaxantina, aunque también se pueden encontrar pequeñas cantidades de otros carotenoides como zeaxantina, luteína y capsantina (Meyers, 1986).

La coloración en el pez, aunque depende de los pigmentos retenidos por el tejido muscular, no guarda una relación directa con la concentración muscular de los carotenoides. A niveles bajos de carotenoides la asociación es lineal entre la intensidad de pigmentación y la concentración muscular, sin embargo, si la concentración se encuentra entre 6 y 8 mg/kg, la relación se pierde debido a que la percepción visual no es suficientemente sensible para detectar la diferencia (Hardy y Torrissen, 1987). Otro elemento que influye sobre esta relación es la presencia de grasa intermuscular despigmentada que, si se encuentra en altas cantidades, puede enmascarar la pigmentación visual de la carne. Sinnott (1989 *op. cit.*) planteó que un ayuno prolongado previo a la cosecha movilizaría a estas grasas, de tal forma que se lograría un mejor nivel de pigmentación del producto.

Hardy y Torrissen, (1987, *op. cit.*) definieron que la astaxantina se absorbe principalmente en la parte posterior del intestino, mientras que Osborne *et al.*, (1982) determinaron que la absorción de carotenoides en pollos, otra especie animal en la que se realiza la pigmentación por carotenoides, no se relaciona con

la absorción de lípidos, concluyendo que hay procesos específicos de absorción de carotenoides, en lo que concuerdan con Bjerheng *et al.*, (1990) al plantear que la astaxantina y la cantaxantina se absorben por rutas diferentes. Sin embargo Storebakken, (1992) ha planteado que al ser liposolubles, los carotenoides probablemente se emulsifican en el micelio y se absorben junto con la bilis y lípidos a nivel intestinal.

La velocidad de absorción de la cantaxantina en trucha arcoiris fue determinada usando cantaxantina tritiada, por Choubert y Luquet, (1982) encontrándose su máxima concentración a las 24 horas, aunque según Hardy y Torrissen, (1987 *op. cit.*) es un proceso lento comparado con la absorción de nutrientes esenciales.

Aparentemente existe un factor químico en la velocidad de absorción de los carotenoides, siendo mayor en los que contienen grupos hidroxilo, tal es el caso de la astaxantina, la cual es hasta 1.7 veces más rápida de ser absorbida que la cantaxantina que no tiene estos grupos en su estructura (Hardy y Torrissen, 1987, *op. cit.*; Choubert y Storebakken, 1990; Christiansen *et al.*, 1991).

Otro aspecto importante en la absorción de estos pigmentos es el grado de esterificación que contienen. En la trucha arcoiris en agua dulce, como también en el salmón del Atlántico (*Salmo solar*) se observó un menor nivel de pigmentación al utilizar astaxantina esterificada como insumo pigmentante en comparación con astaxantina libre. Tanto en el plasma como en el músculo solo se encontró esta última, por lo que se deduce que la astaxantina esterificada fue hidrolizada en el tracto digestivo y absorbida en forma libre (Hardy y Torrissen, 1987, *op. cit.*).

Debido a que los lípidos en animales de sangre caliente son transportados por lipoproteínas de muy alta densidad (VHDL), pasando la sangre venosa por el hígado mientras que la linfa se drena al conducto torácico, la astaxantina y la cantaxantina en salmónidos son transportadas en la sangre unidas covalentemente a lipoproteínas (Kitahara, 1983; Choubert *et al.*, 1991). Estos investigadores también concluyen que la principal portadora de carotenoides es una lipoproteína de alta densidad (HDL). Kitahara (1983, *op. cit.*) también describe el transporte de carotenoides, principalmente astaxantina, por la vitelogenina desde el músculo o tracto gastrointestinal hasta los ovarios. Una vez en las ovas los pigmentos se unen a la lipovitelina de la yema del huevo o se encuentran en forma libre o como ésteres en solución en la fracción lipídica (Miki *et al.*, 1982).

Los salmónidos son incapaces de sintetizar astaxantina a partir de luteína, zeaxantina, β -caroteno o cantaxantina en la dieta, pero pueden depositar luteína y cantaxantina sin modificación en su tejido muscular (Meyers, 1986, *op. cit.*). Por otra parte, algunas especies (*Oncorhynchus* y *Salmo*) son capaces de depositar astaxantina sin modificarla y otras (*Salvelinus*) metabolizan a nivel muscular la

astaxantina a zeaxantina y luteína por lo que no pueden alcanzar el típico color rosado (Ando *et al.*, 1988). En el caso de la trucha arcoiris es posible que la astaxantina se transforme a vitaminas A1 y A2, si estos nutrientes no están en la dieta (No y Storebakken, 1992).

Se ha demostrado que la cantaxantina se deposita en el músculo blanco de la trucha arcoiris, mientras que en el músculo oscuro no se ha determinado el depósito de carotenoides. Esto se puede atribuir a la composición desigual de la actomiosina en los dos tipos de músculo o a las diferencias fisiológicas entre ellos (No y Storebakken, 1992, *op. cit.*).

La intensidad de la pigmentación se relaciona con la cantidad de pigmento retenido en el músculo, la cuál varía de acuerdo a factores fisiológicos o nutricionales, variando el porcentaje de retención entre, 1 y 18% para salmónidos (Hardy y Torrissen, 1987, *op. cit.*).

La presencia de pigmentos carotenoides tanto en el animal vivo como después de la muerte, representa diferentes funciones en el metabolismo de los procesos bioquímicos, además de las características de atractivo visual del alimento, lo que hace a estos pigmentos de gran importancia desde el punto de vista comercial.

Choubert (1986) reporta que los carotenoides oxigenados desempeñan un papel muy importante en los procesos reproductivos de los salmónidos, habiéndose estudiado sus efectos sobre la maduración y fertilización de los óvulos, la fotosensibilidad de las ovas y el desarrollo embrionario. Karashige *et al.*, (1990) fundamentan este efecto en el carácter antioxidante de los pigmentos, los cuales protegen a las membranas biológicas de posibles oxidaciones a través de la peroxidación de los lípidos mitocondriales.

Otros efectos *in vivo* de los pigmentos carotenoides son la síntesis de vitamina A en el intestino de peces que no reciben este nutriente en su dieta (Abdulrahman y Kenneth, 1988) y como promotor del crecimiento (No y Storebakken, 1991, *op. cit.*).

Se ha descrito la acción antioxidante de los pigmentos carotenoides, debido a su carácter reductor. En apariencia existe un efecto complementario de la vitamina E al actuar a nivel tisular en zonas de bajas presiones de oxígeno, mientras que la vitamina E actúa eficientemente en zonas con altas concentraciones de oxígeno (Sigurgisladottir *et al.*, 1994). Además de la presencia de oxígeno, afectan en la oxidación de pigmentos la luz ultravioleta, mientras que para la oxidación de lípidos el principal factor es la disponibilidad de oxígeno (Christopherson *et al.*, 1992), sin embargo, no se descarta la posibilidad de una oxidación acoplada pigmento-lípido, lo que hace necesario, en algunos casos la adición de antioxidantes (Chen y Meyers, 1982).

La estabilidad de la pigmentación también se ve alterada por el proceso de cocción, disminuyendo su luminosidad y su tonalidad rojiza, siendo este hecho más obvio en peces alimentados con cantaxantina que en los alimentados con astaxantina (Skrede y Storebakken, 1986; Skrede *et al.*, 1989; 1990).

Finalmente, y en relación a su aceptación como alimento, Josephson *et al.*, (1981) identificaron componentes de sabor en salmón, concluyendo que son derivados de astaxantina, a través de la modulación de la transformación de ácidos grasos responsables del sabor característico de salmón cocido.

En las plantas superiores la presencia de carotenoides tales como luteína, β -caroteno, flavoxantina, violaxantina y licopeno han sido reportados en cinco especies de flores del género *Adonis*, tales como: *A. aestivalis*, *A. annua*, *A. flammeus*, *A. turkestanica* y *Viola tricolor*. La primer especie ha sido empleada en la pigmentación de trucha arcoiris, aunque se corre el riesgo de una alta mortalidad debido a la presencia de glucósidos tóxicos. (Kamata, 1985)

Torrissen *et al.*, (1989) reportaron la utilización en trucha arcoiris de las plantas *Hypophae rhamoides* (luteína, zeaxantina, violaxantina, pero principalmente, β -carotenos), *Tagetes erecta* (principalmente luteína) y *Cucurbita marcia* (zeaxantina y luteína), sin embargo, estos investigadores concluyen que estas plantas tendrían sólo un pequeño potencial de utilización como pigmentantes, en dietas balanceadas de uso comercial.

Lee *et al.*, (1978) utilizó en la dieta de trucha arcoiris extractos de flores de *Tagetes erecta* y *Curcubita maxima marica* en concentraciones de 10 % durante ocho semanas y encontró que usando *Tagetes erecta* se obtuvo un color amarillo y con el segundo se tuvieron pocos resultados con respecto al testigo.

Por otro lado, Hannasch y Nelson (1990) al utilizar el extracto saponificado del pimentón rojo o paprika (principalmente capsantina y capsorrubina) como fuentes de pigmentación para trucha arcoiris y salmón Atlántico, han demostrado que este extracto tiene el potencial de reemplazar un 50% de la astaxantina utilizada en la formulación de dietas prácticas. Por lo tanto concluyen, que el extracto de paprika se perfila como una buena fuente complementaria de pigmentación para la salmonicultura comercial.

Peterson *et al.*, (1966), utilizó extractos de paprika (pimentón rojo), pétalos de maravilla y β -caroteno puro, incorporándolos en el alimento de trucha arcoiris y trucha café (*Salvenilus fontinalis*) durante ocho semanas, encontrando que paprika genera un color amarillo no deseable en la piel. Dichos extractos fueron depositados sin modificaciones en ambas especies.

El color juega un papel muy importante para el ojo humano, ya que es el primer contacto que tiene el consumidor con los productos, posteriormente se juzga la textura, el sabor, la forma, etc. Se ha comprobado que cuando el color de un alimento cambia (sin alterar su forma o sabor), se obtiene un rechazo por parte de los consumidores (Dergal S., 1980) La evaluación del color de la carne de los salmónidos se puede realizar por medio de métodos de análisis sensorial, a través de la comparación de color de muestras de peces con colores estandarizados, por medio de análisis instrumental basado en la luz refractada de muestras de peces, o por el análisis cuantitativo de los pigmentos.

Para lograr la pigmentación adecuada, las sustancias empleadas deben tener las características de tamaño, palatabilidad y digestibilidad, para que puedan ser consumidas por los animales y posteriormente asimiladas y finalmente depositados en los tejidos. Los pigmentos que cumplen con estas características, son los carotenoides, y de estos, los que más comúnmente se utilizan, son las xantofilas, mismas que se encuentran contenidas en una gran variedad de productos naturales. Sin embargo los carotenoides que han acaparado la demanda son sintéticos, teniendo una efectividad tan alta como su costo.

Las fuentes primarias de los pigmentos son naturales y en el mercado nacional existen extractos pigmentantes, como la oleoresina de la flor de cempasúchil y el chile (pimentón rojo), que contienen carotenoides tanto esterificados como libres (oleorresinas no saponificadas y saponificadas, respectivamente). Las cuales actualmente se utilizan con éxito en la industria avícola. y no presentan problemas de disponibilidad.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

III. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de pigmentación en el músculo de trucha arcoiris, causado por la adición a la dieta de pigmentos de extractos vegetales obtenidos de oleorresinas de flor de cempasúchil y paprika, en comparación con los resultados del uso de la astaxantina sintética (Carofil rosa).

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- * Determinar el color del músculo pigmentado por métodos cualitativos y cuantitativos.
- * Comparar los resultados de pigmentación obtenidos con los diferentes agentes pigmentantes.
- * Evaluar la posible sustitución de la astaxantina sintética por pigmentos de extractos vegetales obtenidos de oleorresinas de flor de cempasúchil y paprika.
- * Identificar las dosis de inclusión de pigmentos vegetales de oleorresinas de flor de cempasúchil y paprika, para emular el color obtenido por el uso de astaxantina sintética.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

IV. HIPOTESIS

Adicionando al alimento extractos de flor de cempasúchil y paprika; se obtendrán los mismos y/o mejores resultados en el color muscular de la trucha arcoiris, que los alcanzados con la incorporación del colorante sintético (carofil rosa) en el alimento.

V. MATERIALES Y METODOS

1.- DESCRIPCION DEL SISTEMA

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de la planta experimental de producción acuícola de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa. Dicha planta cuenta con 12 tanques circulares de lámina de acero galvanizado de 2.72 m de diámetro y 1.15 m de profundidad, con capacidad máxima operativa de 5.3 m³ cada uno.

El agua se mantiene en un sistema cerrado, figura 1, en donde se recicla y reacondiciona, el cual opera a través de siete etapas consecutivas, en las cuales se somete el agua a procesos que propician: la decantación, desinfección, homogeneización y distribución de la misma, las cuales son:

- 1) El agua proveniente del colector general de la descarga individual de cada tanque, llega al decantador. Pasa a través de una red tipo calcetín, que retiene la mayor parte de los sólidos en suspensión, otra parte de ellos se precipitan y son recuperados del fondo del decantador.
- 2) Se pasa por filtración biológica a base de bastidores con tres tipos de mallas colocados a la cisterna No. 1.
- 3) El flujo pasa hacia un filtro de arena seguido de otro de cartucho de carbón activado, ambos conectados en serie.
- 4) Se somete a una segunda biofiltración, utilizándose sacos con cuadros de poliuretano, dentro de la cisterna No. 2.
- 5) En la cisterna No. 3 el agua se homogeneiza a través de aireación.
- 6) Se pasa por lamparas de luz ultravioleta para su desinfección.
- 7) Finalmente, se pasa a la cisterna No. 4, de donde se reabastecen los tanques.

El suministro adicional de oxígeno al sistema, se realiza través de un soplador de turbina de 10 h.p. de capacidad.

2.- CONDICIONES EXPERIMENTALES

2.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental fue completamente aleatorio y en el se integró el manejo de seis tratamientos, siendo uno de ellos el control. La fase experimental tuvo una duración de 45 días, precedidos de una fase de aclimatación de 13 días.

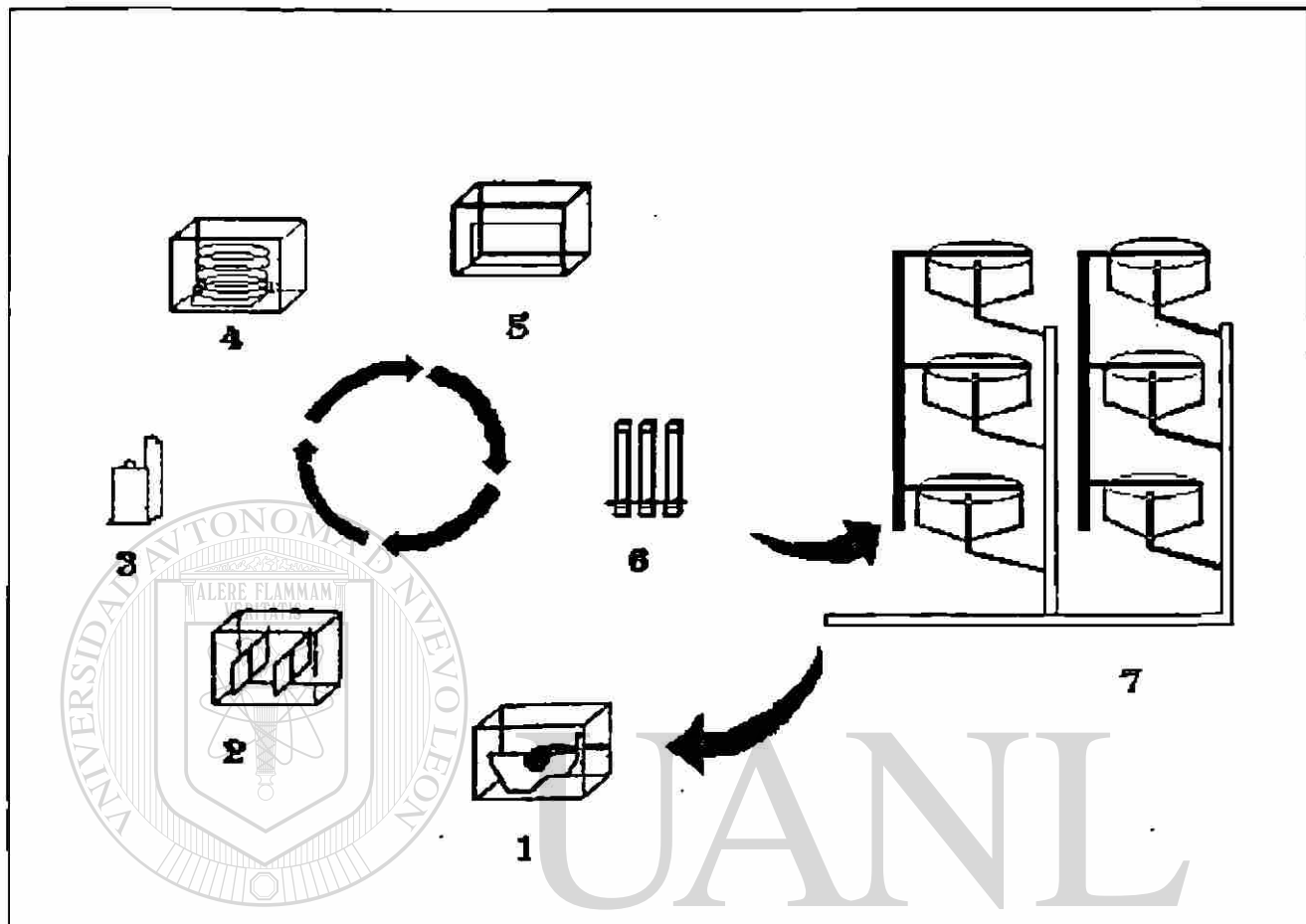


Figura 1.- Diagrama de flujo del reciclamiento y reacondicionamiento del agua dentro de la planta experimental de producción acuícola UAM-I.

Se manejaron 120 ejemplares repartidos en seis lotes experimentales, uno por cada tratamiento, usándose a cada ejemplar como replica de sí mismo.

Se contempló el manejo y seguimiento de las variables de calidad de agua, incremento de biomasa y la determinación cualitativa y cuantitativa del color adquirido en el músculo de los ejemplares; realizándose muestreos cada 15 días.

2.2 TANQUES EXPERIMENTALES

Se utilizaron seis de los doce tanques circulares, antes descritos, uno por cada tratamiento; manejando en cada tanque 20 organismos seleccionados al azar. El volumen de agua utilizado en cada uno fue de 1.8 m³, (un tercio de su capacidad), manteniéndose una tasa de flujo de 8 lt por minuto, lo que correspondió a un recambio total de 6.4 veces / día.

2.3 PARAMETROS FISICOQUIMICOS

Durante las fases de aclimatación y experimentación se registraron los principales parámetros fisicoquímicos de la calidad de agua, considerando principalmente aquellos que valoran la eficiencia del sistema de recirculación y reacondicionamiento de agua, además de los que condicionan la sobrevivencia y desarrollo de la trucha arcoiris.

Se seleccionaron inicialmente al azar dos de los tanques de experimentación (Nos. 7 y 11) como sitios de muestreo y se tomaron además muestras de las cisternas uno y cuatro, cada tercer día a las 10 de la mañana.

Valorándose:

Parámetro	Método
Amonio Ortofosfatos Nitritos	Químico.- técnicas descritas por APHA, (1980)
Dureza Alcalinidad total	Químico.- técnicas descritas por APHA, (1980)
Oxígeno disuelto Temperatura	Directo.- oxímetro YSI incorporated mod. 57

3.- MANEJO DE ORGANISMOS

Se utilizaron 120 truchas con un peso inicial promedio de 194 g que fueron adquiridas en la "Granja productora de trucha Jilotzingo" en San José de las Manzanas, Edo. de México. Posteriormente fueron trasladadas a la planta

experimental en bolsas de plástico. Los animales fueron aclimatados por un período de 13 días antes de iniciar el experimento, durante el cual, se les proporcionó una dieta de alimento balanceado comercial para trucha, tipo engorda 3116, marca "El Pedregal". La cantidad de alimento suministrado se basó en el 3% de la biomasa inicial.

Para determinar el crecimiento, durante la fase experimental, se tomaron registros quincenales del peso individual de todos los organismos para cada tratamiento, con una balanza eléctrica marca Mettler modelo PC440, con una sensibilidad de ± 0.001 g.

Para asegurar que todo el alimento suministrado fuera consumido, se alimentó a las truchas dos veces al día, durante la fase experimental, pero el cálculo se basó en el 1.5% de la biomasa, ajustándose esta ración alimenticia en base a los cambios de la misma.

La evaluación biológica consistió en comparar en condiciones ambientales similares, la tasa de crecimiento específica (TEC), conversión alimenticia (TCA) y sobrevivencia suscitados por los diferentes tratamientos. Estas determinaciones se obtuvieron utilizando las siguientes fórmulas:

$$TEC = \left(\frac{\log e \text{ peso final} - \log e \text{ peso inicial}}{\text{tiempo en días}} \right) \times 100$$

$$TCA = \frac{\text{alimento consumido}}{\text{peso ganado}}$$

4.- PIGMENTOS Y TRATAMIENTOS

Se usó como pigmento base el extracto pigmentante sintético de Carofil rosa (astaxantina sintética al 8%, Roche Co. Ltd.), el cual fue comparado con los extractos pigmentantes vegetales siguientes:

- Oleorresina no saponificada de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*),
- Oleorresina saponificada de Paprika (*Capsicum annum*) en dos concentraciones:
 - 40 000 unidades de color (U.C.) e identificada como (1)
 - 80 000 U.C.
- Oleorresina no saponificada de Paprika (*Capsicum annum*) de 40 000 U.C. e identificada como (2).

Los tres primeros extractos fueron donados por Productos Deshidratados de México, S.A. de C.V. y el último por Warnner-Jenkinson.

Sobre esta base se definieron los siguientes tratamientos:

Tratamiento	Descripción
1	Paprika 40,000 U.C. (1) (saponificada)
2	Paprika 40,000 U.C. (2) (no saponificada)
3	Paprika 80,000 U.C.
4	Cempasúchil
5	Carofil rosa
6	Sin pigmento (control)

5.- PREPARACION DE DIETAS EXPERIMENTALES

La materia prima utilizada para la elaboración de la dieta básica, fue una mezcla balanceada de los ingredientes del alimento comercial para engorda de trucha arcoiris, donada por "Alimentos Acuícolas el Pedregal", a la cual se le incorporó los diferentes pigmentos utilizados.

La dosificación de pigmentos se calculó en base a la concentración de Xantofilas[®] totales contenidos en cada uno de los extractos, indicadas por sus proveedores y posteriormente estandarizadas a 300 mg/kg. Para el caso del Carofil rosa, se calculó en base a la dosis preestablecida para cuatro semanas de alimentación por los laboratorios Roche de 100 mg/kg.

Los pigmentos vegetales fueron previamente disueltos en la cantidad de aceite de pescado considerado desde la formulación (dieta isolipídica).

El peletizado se realizó en las instalaciones del Instituto Nacional de Nutrición, inicialmente se pesaron seis lotes de 5 kg cada uno, utilizando para esto una balanza marca OHAUS con capacidad para 30 kg. Posteriormente se procedió a incorporar los extractos pigmentantes a la mezcla balanceada de ingredientes, homogeneizándola mediante el uso de una mezcladora marca Hobart con capacidad de 5 kg. Durante este proceso se adicionó un 18% de agua con respecto al peso seco de la mezcla.

La pasta resultante de cada lote, se colocó en una peletizadora marca California Moda, para obtener pellets de 3.2 mm de diámetro por 5 mm de largo. Entre cada tratamiento se limpió la peletizadora para evitar contaminación entre pigmentos.

El producto obtenido fue etiquetado y posteriormente secado de manera extendida sobre papel estraza a una temperatura ambiente de 34 °C, durante 3 días.

Una vez seco el alimento se puso en costales, almacenándolos en el laboratorio de nutrición de la planta experimental acuícola, oscureciendo el área donde fue estabulado.

6.- MEDICION DE COLOR MUSCULAR

Para la determinación del color muscular con respecto al tiempo, se procedió a seleccionar al azar cada 15 días, cinco ejemplares de trucha de cada tratamiento, los animales extraídos fueron individualmente pesados utilizando una balanza digital marca Mettler modelo PC440, con una sensibilidad de ± 0.001 g, posteriormente se extrajo el filete, se etiquetó y se evaluó el color cualitativa y cuantitativamente.

6.1.- EVALUACION CUANTITATIVA

Para la evaluación cuantitativa de color muscular se utilizó un analizador portátil de color muscular por reflectancia de superficie, marca Minolta Chroma Meter 11, modelo CR-200. Este equipo, basa su determinación en valores de tristímulo, representado por colores primarios. La información del espectro la representa en tres componentes $L^* a^* b^*$; donde L^* representa la luminosidad, a^* la cromaticidad de rojos y verdes mientras que b^* dimensiona la cromaticidad de azules y amarillos, de acuerdo con las recomendaciones dadas por la comisión internacional de iluminación (CIE), 1976. La medición de color se realizó seleccionando tres sitios al azar de la superficie del filete y colocando el cabezal del equipo el mismo, (el diámetro de cada medición correspondió a 8 mm.).

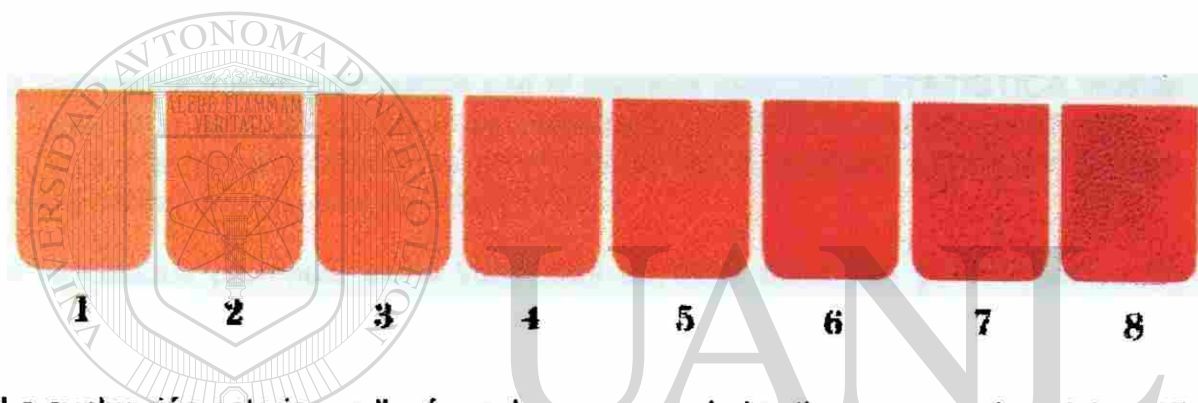
Las diferencias de color se obtuvieron usando las coordenadas de color $L^* a^* b^*$ definidos por la siguiente ecuación:

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Se utilizó como estándar los valores obtenidos del carofil rosa, para posteriormente obtener la diferencia en color con respecto al color obtenido en los diferentes tratamientos.

6.2.- EVALUACION CUALITATIVA

Para esta evaluación se diseñó un formato de registro de datos y se llevó a cabo un panel de evaluación con la participación de 20 personas seleccionadas al azar. A cada una de ellas se les presentaron los filetes colocados sobre fondo azul oscuro y se les indicó que deberían comparar el color de estas muestras, con la tabla de colores estandarizados para salmónidos publicada por ROCHE, misma que se presenta a continuación:



La evaluación anterior se llevó a cabo para uno de los tiempos experimentales, 15, 30 y 45 días.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

7.- ANALISIS QUIMICOS

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

7.1.- ANALISIS BROMATOLOGICO

La mezcla de ingredientes antes de peletizar y las dietas experimentales fueron analizados por el laboratorio del Instituto Nacional de la Nutrición, mediante el método de análisis proximal descrito por la A.O.A.C. (1975), en el cual se determinaron los siguientes parámetros:

- Humedad
- Materia seca
- Ceniza
- Extracto etéreo
- Fibra cruda
- Proteína

7.2.- DETERMINACIÓN DE XANTOFILAS TOTALES

Para evaluar la cantidad y permanencia de los extractos pigmentantes en los tratamientos, se extrajo aleatoriamente una muestra de 10 g del alimento suministrado en cada tratamiento, al inicio y término de la fase experimental. Determinándose la cantidad de xantofilas totales a dichas muestras por los laboratorios de Productos Deshidratados de México, S.A. de C.V., usando el método descrito por la A.O.A.C (1980).

8.- ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados fueron procesados con el paquete estadístico STATISTICA versión 4.5; para el análisis de los datos de crecimiento se utilizó la prueba de ANAVA de una sola vía, posteriormente se contrastaron las diferencias significativas entre medias aplicando la prueba de Tukey HSD.

Los resultados promedio de la valoración de color obtenidos por el método de colorimetría por refractancia, fueron agrupados a nivel de tratamiento y tiempo. A los cuales, de manera independiente se les aplicó inicialmente la prueba ji cuadrada de Bartlett para demostrar la homogeneidad de varianza, posteriormente se uso la prueba de ANAVA de una sola vía, seguido de la aplicación de la prueba de Tukey HSD. Para lo antes descrito se consideró como significativo una $P < 0.005$.

Así mismo, a los resultados de la valoración cualitativa de color por tratamientos y por tiempos, se les aplicó el análisis de varianza para pruebas no paramétricas ANAVA de Friedman y el contraste entre medias con la prueba de Wilcoxon.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

1.- PARAMETROS FISICOQUIMICOS

Los resultados obtenidos de las determinaciones fisicoquímicas del agua durante la fase experimental se muestran en las figuras 2 y 3, en donde se observa el comportamiento de los parámetros: ortofosfatos, nitrito, amonio y pH en los tanques 1 y 6 y en las cisternas 1 y 4.

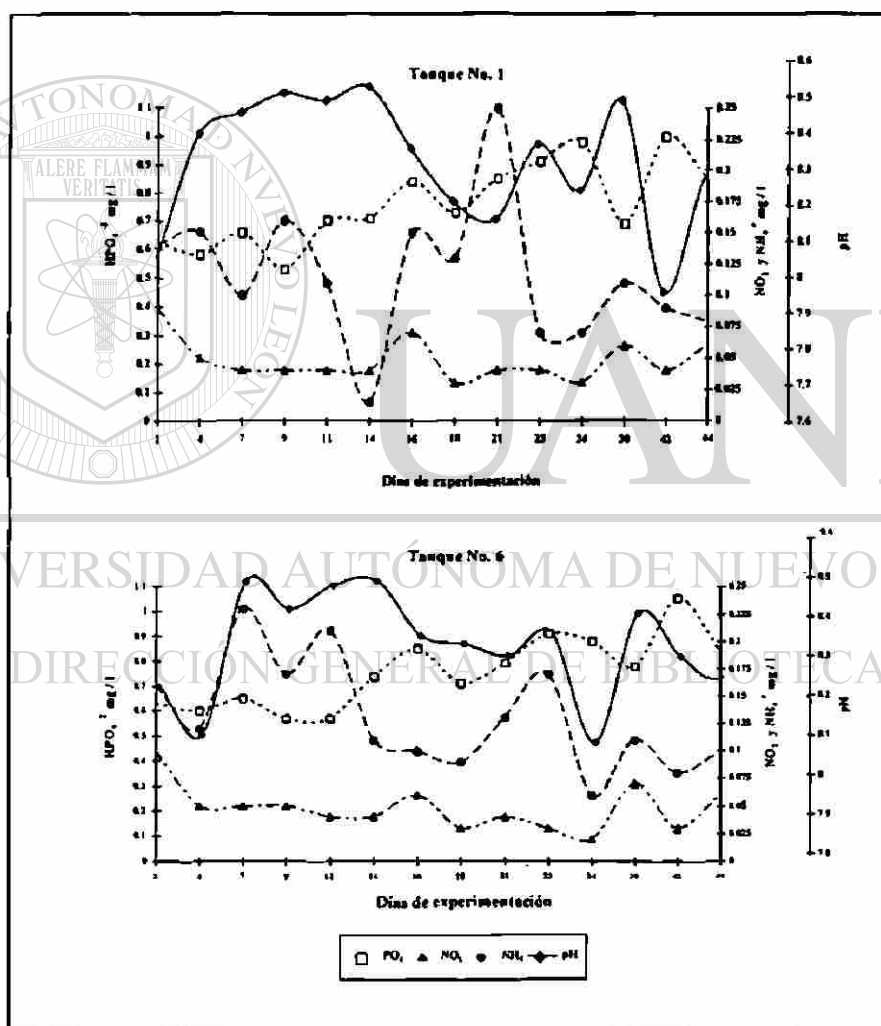


Figura 2.- Variación de la concentración de ortofosfatos, nitritos, amonio y pH en tanques durante la fase experimental.

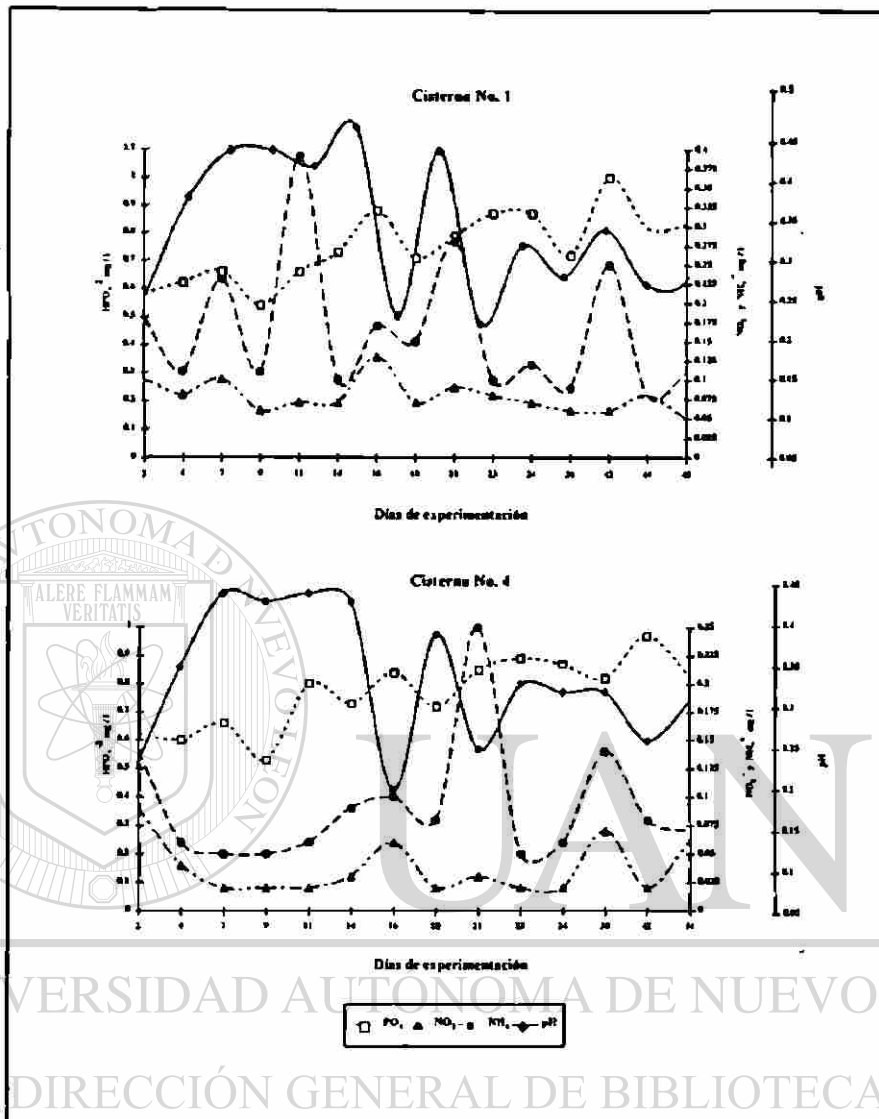


Figura 3.- Variación de la concentración de ortofosfatos, nitritos, amonio y pH en cisternas durante la fase experimental.

La concentración del nitrógeno amoniacal (NH_4^+) en el sistema se mantuvo entre 0.015 y 0.390 mg/l sobresaliendo la cisterna No. 1 en relación al máximo valor promedio registrado durante el período. Por otra parte, el comportamiento del nitrato (NO_2^-) se ubicó entre 0.020 y 0.130 mg/l ocurriendo la menor concentración promedio en la cisterna No. 4 (Figura 3). Estos valores no sobrepasan los límites de tolerancia reportados para trucha arcoiris SPEECE (1973), además de corroborar la eficiencia del funcionamiento del sistema en relación al control de metabolitos tóxicos.

En relación a los ortofosfatos solubles (HPO_4^{-2}) tanto en tanques como en cisternas presentaron la misma tendencia variando de 0.530 a 1.050 mg/l. El pH presentó una variación mínima con respecto a las medias de tanques y cisternas de 0.6. Estos valores se encuentran dentro de los rangos reportados como normales en el sistema Arredondo *et al.*, (inédito).

Al graficar los valores de alcalinidad total como (CaCO_3) (Figura 4) se observa que la concentración menor fue de 125 mg/l, la cual se presentó en el día 42 del experimento tanto en tinas como en cisternas.

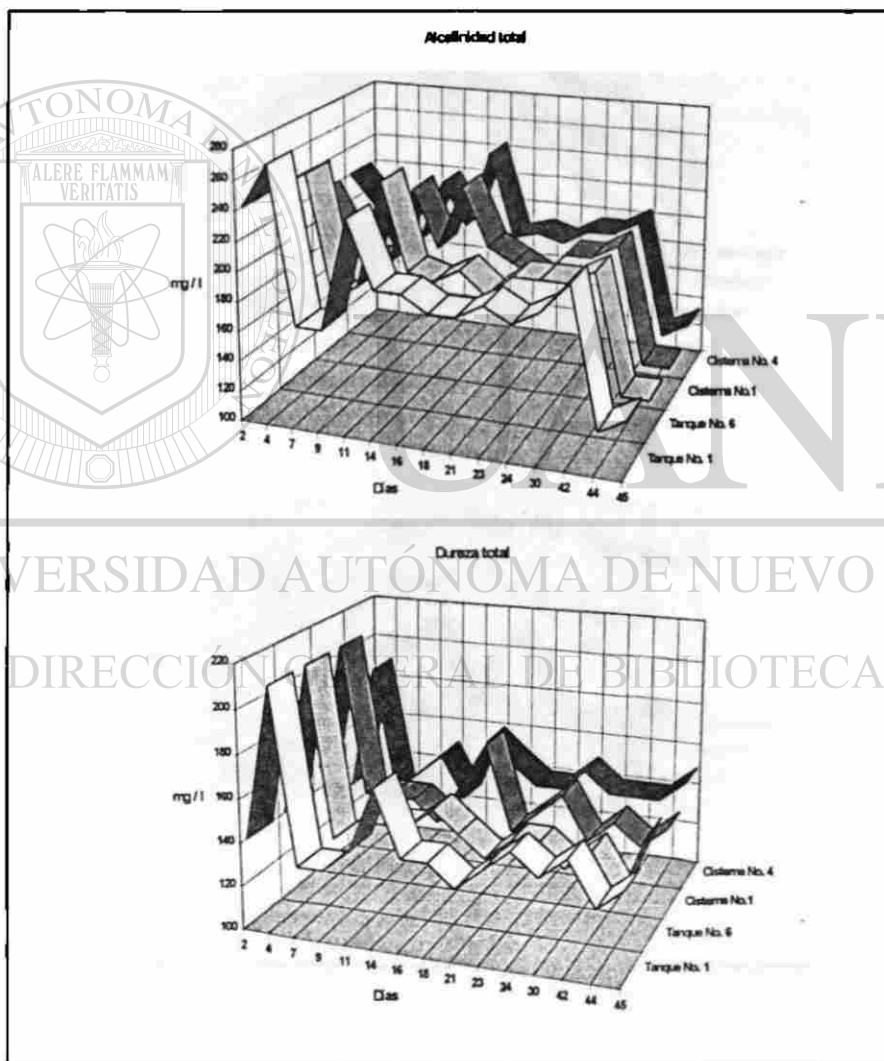


Figura 4.- Variación de la concentración de alcalinidad total y dureza total en tanques y cisternas durante la fase experimental.

Con respecto a la dureza total (CaCO_3) (Figura 5) las concentraciones obtenidas para todo el sistema se encontraron entre 120 a 210 mg/l.

Los resultados reportados para alcalinidad y dureza total son considerados como satisfactorios para esta especie, Wedemeyer (1977).

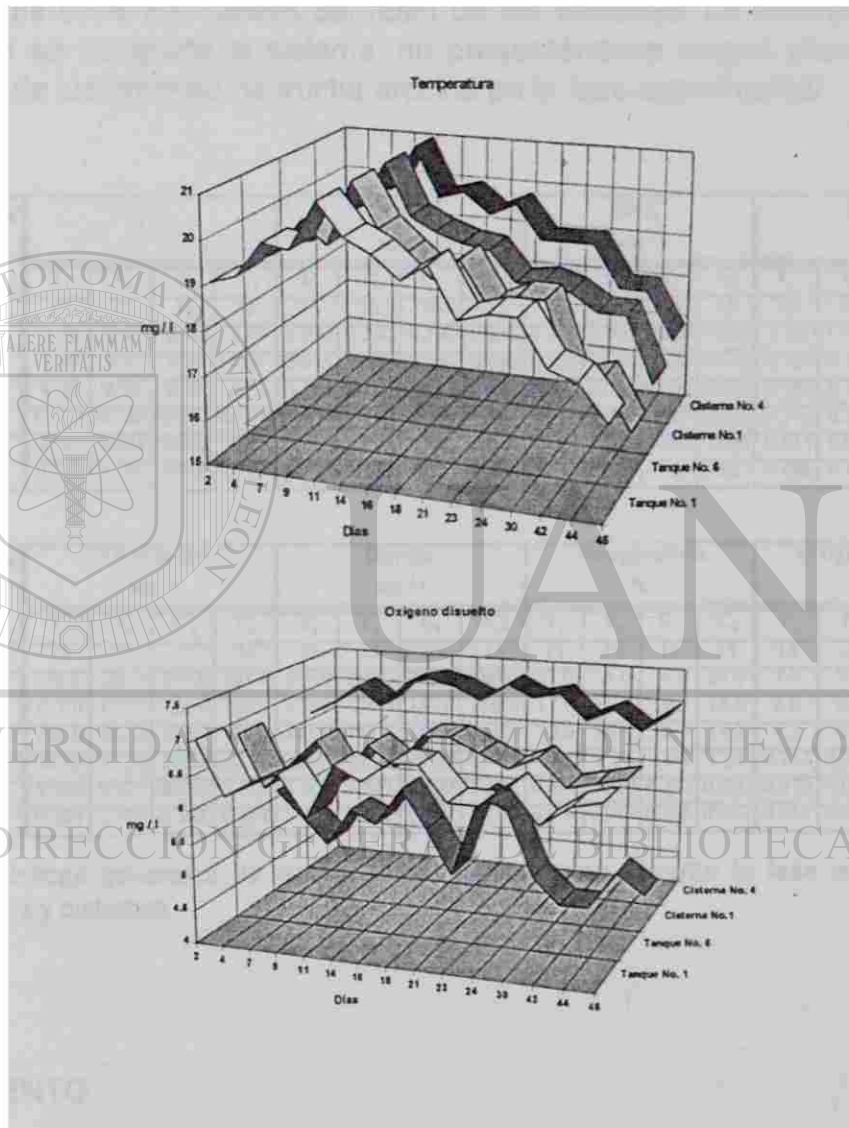


Figura 5.- Variación de la concentración de temperatura y oxígeno disuelto durante la fase experimental en tanques y cisternas.

El rango de temperatura y oxígeno disuelto que se mantuvo en el sistema fue de 16 a 21 ° C y de 4.2 a 7.0 mg/l respectivamente. El valor mínimo para este último

parámetro se presentó en la cisterna numero uno, mismo que no sobrepasa los límites de tolerancia para trucha arcoiris.

Los resultados de las variables fisicoquímicas analizadas se muestran en la tabla 1, en donde se observa que los coeficientes de variación para todas ellas presentan una mínima diferencia; para pH (0.9 - 2.1%) y temperatura (4.7 - 5.6%). La mayor variación se encontró en valores para NH_4^+ (41.5 - 57.3) y una variación media entre los valores del resto de las variables. Lo anterior, indica la forma en que se comportó el sistema, no presentándose ningún efecto adverso sobre la tasa de crecimiento de trucha arcoiris en la fase experimental.

ESTADISTICO	pH				NH_4^+ mg/l				NO_2^- mg/l				HPO_4^{2-} mg/l			
	T ₁	T ₂	C ₁	C ₂	T ₁	T ₂	C ₁	C ₂	T ₁	T ₂	C ₁	C ₂	T ₁	T ₂	C ₁	C ₂
N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
MAXIMO	8.50	8.40	8.40	8.40	0.250	0.230	0.390	0.250	0.090	0.100	0.130	0.090	1.00	1.050	1.00	0.970
MINIMO	7.90	8.00	8.20	8.20	0.015	0.050	0.080	0.050	0.030	0.020	0.050	0.020	0.530	0.570	0.530	0.530
MEDIA	8.30	8.30	8.30	8.30	0.114	0.126	0.165	0.092	0.047	0.047	0.078	0.036	0.769	0.763	0.752	0.774
DESV ESTANDAR	0.173	0.132	0.087	0.079	0.054	0.052	0.088	0.053	0.016	0.020	0.020	0.023	0.143	0.141	0.128	0.125
ERROR ESTANDAR	0.045	0.034	0.022	0.02	0.014	0.014	0.023	0.014	0.004	0.005	0.005	0.006	0.037	0.036	0.033	0.032
COEF VARIACION	0.021	0.016	0.010	0.009	0.476	0.415	0.534	0.573	0.343	0.418	0.262	0.637	0.186	0.185	0.170	0.162

ESTADISTICO	Alcalinidad mg/l				Dureza mg/l				Temperatura °C				Oxigeno disuelto mg/l			
	T ₁	T ₂	C ₁	C ₂	T ₁	T ₂	C ₁	C ₂	T ₁	T ₂	C ₁	C ₂	T ₁	T ₂	C ₁	C ₂
N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
MAXIMO	270.0	250.0	235.0	245.0	210.0	210.0	210.0	190.0	21.0	21.0	21.0	21.0	7.0	7.0	5.8	7.3
MINIMO	125.0	125.0	125.0	125.0	130.0	120.0	130.0	130.0	17.0	16.0	16.5	16.9	6.0	6.0	4.2	6.6
MEDIA	192.0	191.3	187.0	188.6	145.0	142.6	146.0	145.0	19.0	18.8	18.9	19.2	6.5	6.6	5.0	7.0
DESV ESTANDAR	38.00	37.20	31.50	30.80	20.60	20.16	20.60	15.00	1.04	1.26	1.06	1.01	0.287	0.285	0.553	0.221
ERROR ESTANDAR	9.900	9.617	8.130	7.900	5.300	5.207	5.300	3.200	0.270	0.327	0.275	0.260	0.070	0.070	0.140	0.050
COEF VARIACION	0.199	0.195	0.168	0.164	0.142	0.141	0.141	0.104	0.054	0.047	0.056	0.052	0.044	0.043	0.111	0.032

Tabla 1.- Estadísticas generales de las variables fisicoquímicas durante la fase experimental en tanques y cisternas.

2.- CRECIMIENTO

Durante la fase de experimentación la sobrevivencia fue del 100%, no se observó ningún efecto adverso ni diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$), en el crecimiento de las truchas alimentadas con los tratamientos en ensayo (Figuras 6 y 7) en comparación con el grupo control (sin pigmento en la dieta).

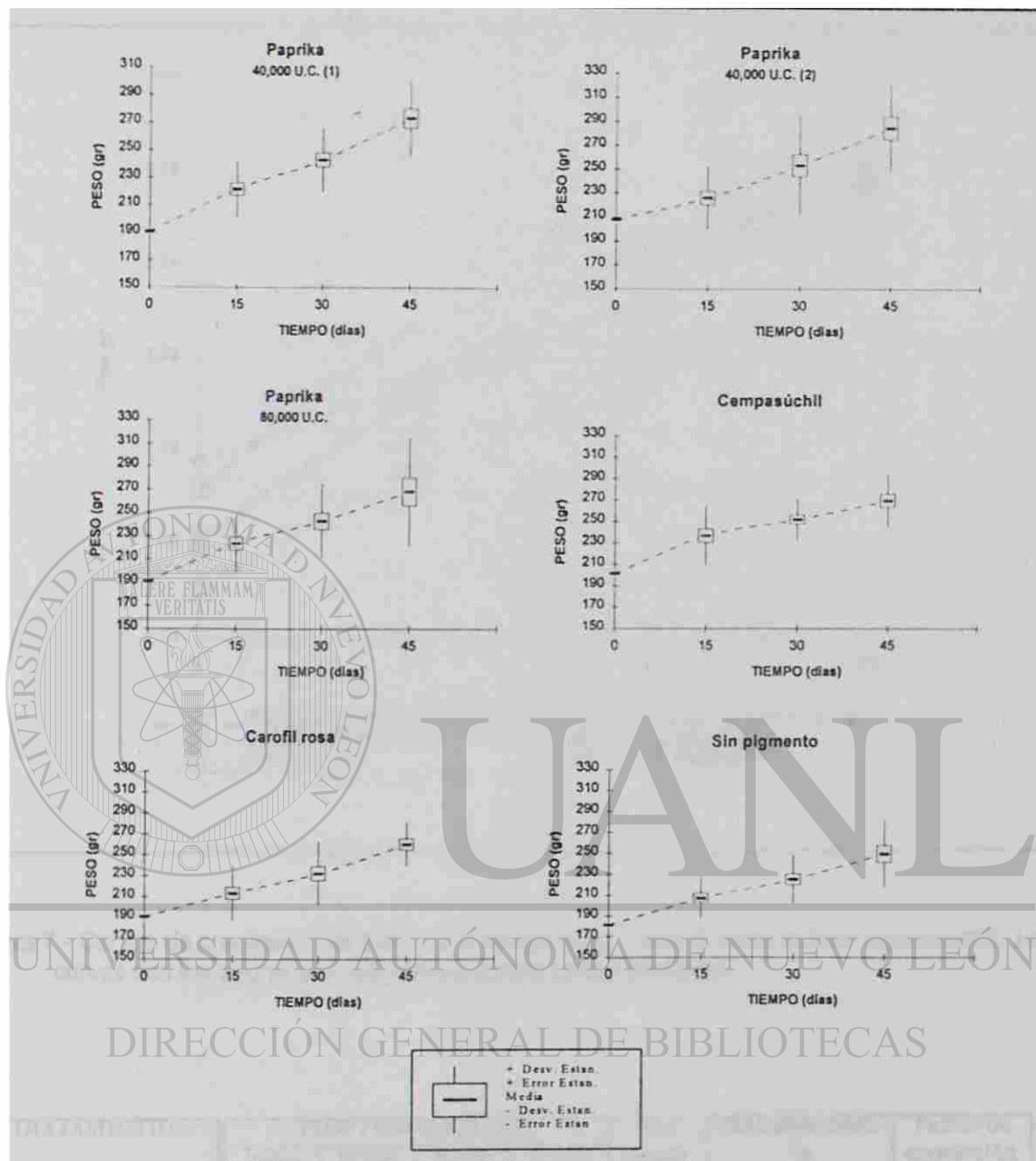


Figura 6.- Pesos promedios de trucha arcoiris por tratamiento durante la fase experimental.

Las diferencias en el peso promedio, peso ganado, tasa específica de crecimiento y conversión alimenticia; calculados para la biomasa total en cada grupo (tabla 2 y Figura 8), no fue estadísticamente significativo ($P > 0.05$) para ningún tratamiento.

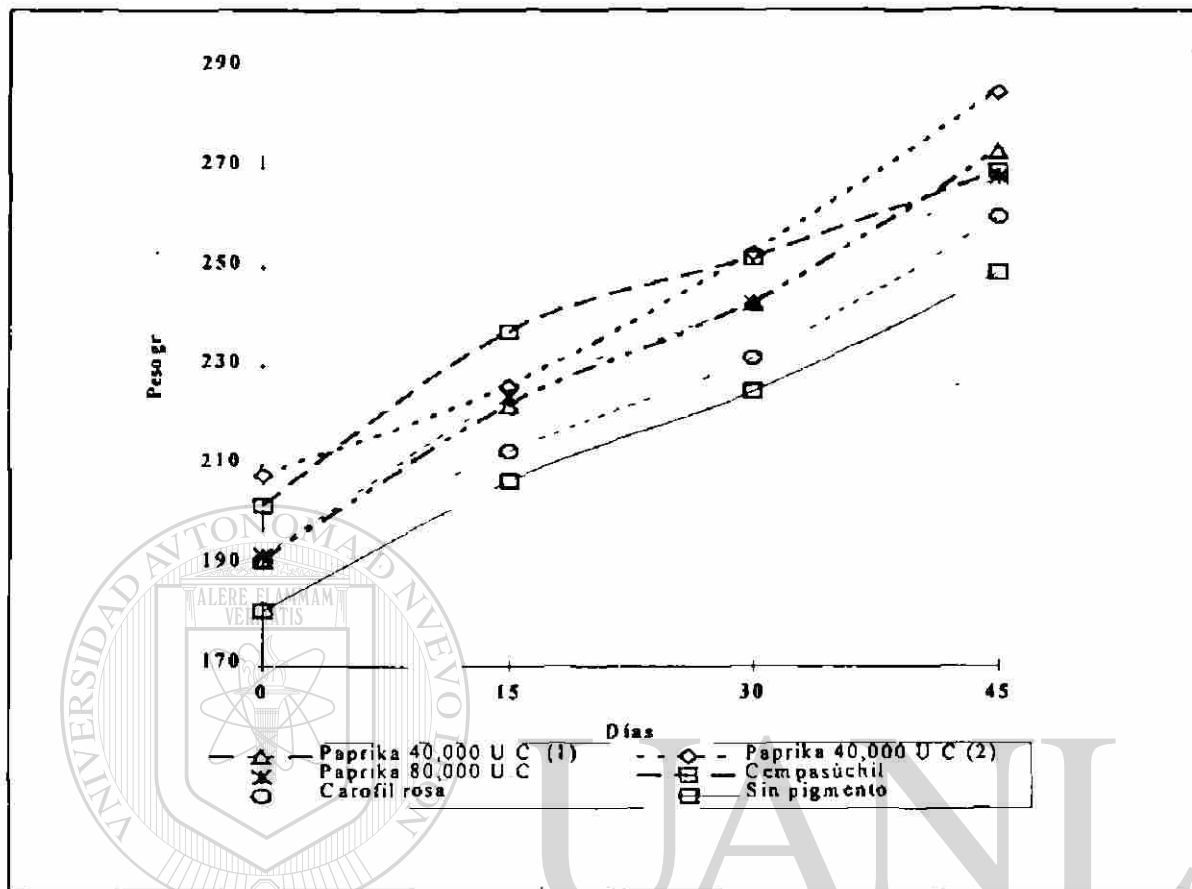


Figura 7.- Curvas de crecimiento de trucha arcoiris por tratamiento durante la fase experimental. Las curvas son los valores promedio de peso para cada tratamiento.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

TRATAMIENTO	PESO PROMEDIO (gr)				Peso ganado (gr)	Tasa específica de crecimiento %	Factor de conversión alimenticia
	Inicial	15 días	30 días	45 días			
* + Paprika 40,000 U.C (1)	191 ± 4.0	222 ± 4.6	243 ± 5.2	273 ± 7.1	82	0.79 ± 0.001	1.80 ± 0.2
* + Paprika 40,000 U.C (2)	208 ± 8.4	226 ± 5.8	253 ± 9.3	285 ± 9.6	77	0.69 ± 0.001	2.10 ± 0.2
* + Paprika 80,000 U.C.	192 ± 4.5	224 ± 5.6	243 ± 7.2	268 ± 12	76	0.74 ± 0.001	2.03 ± 0.3
* + Cempasúchil	202 ± 3.3	237 ± 6.2	252 ± 4.3	269 ± 6.2	67	0.64 ± 0.002	2.69 ± 0.7
* + Carotil rosa	191 ± 5.0	213 ± 5.8	232 ± 6.7	260 ± 5.4	69	0.68 ± 0.001	2.10 ± 0.3
* Sin pigmento	181 ± 4.8	207 ± 4.3	225 ± 5.2	249 ± 8.3	68	0.70 ± 0.001	2.09 ± 0.3

* = Dieta básica
Media ± Desviación estandar

Tabla 2.- Pesos promedio por tratamiento para cada tiempo de experimentación, peso ganado, tasa específica de crecimiento y conversión alimenticia de trucha arcoiris.

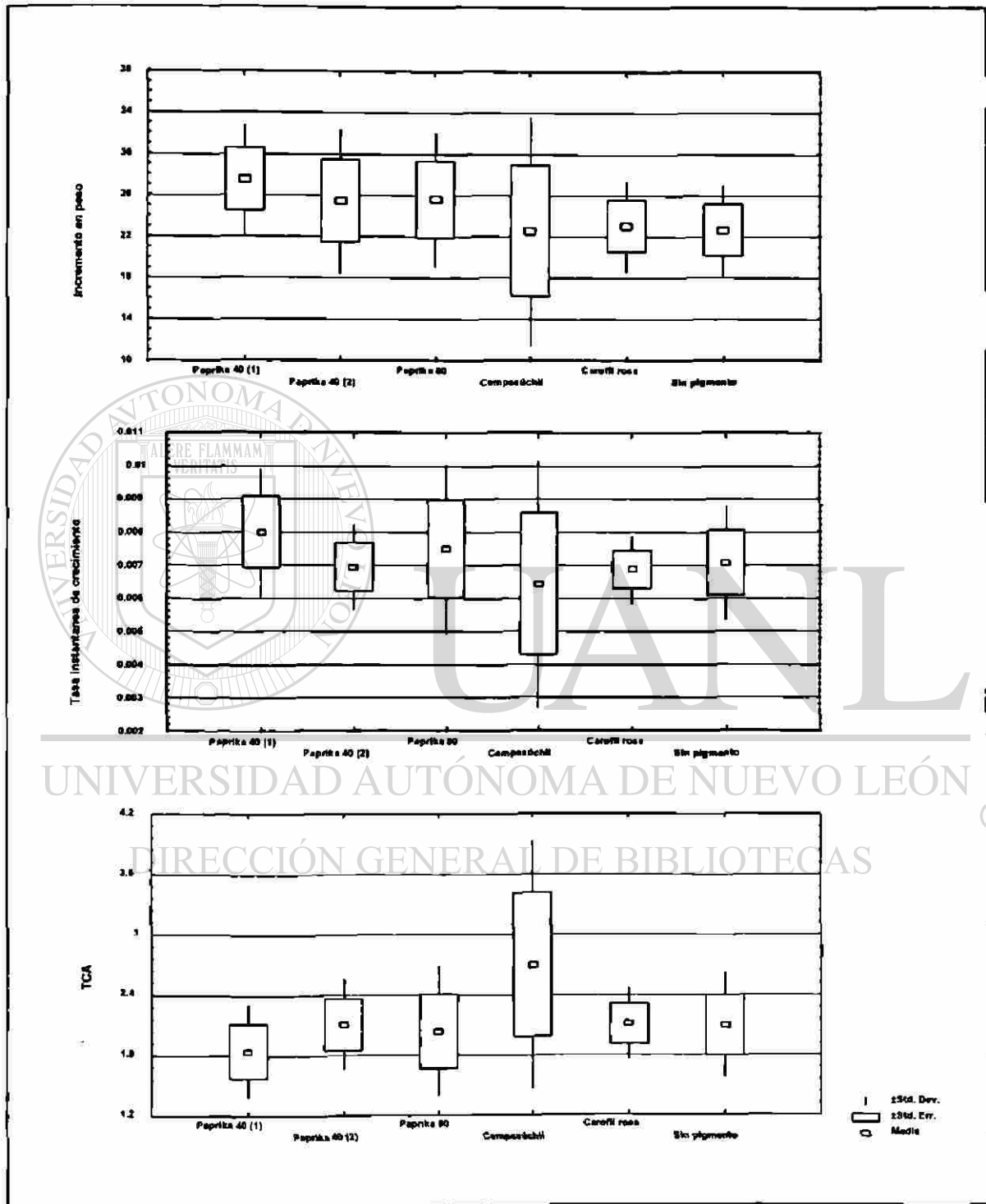


Figura 8.- Comparación del incremento en peso, tasa instantánea de crecimiento y factor de conversión alimenticia de cada tratamiento para trucha arcoiris.

El incremento en peso promedio de los animales durante la fase experimental, se consideró satisfactorio tomando en cuenta que la tasa de alimentación fue de 1.5%, la cual correspondió a la mitad de la que se administró en la fase de aclimatación. Esta tasa de alimentación se redujo porque se pretendió que todo el alimento administrado fuera consumido, y así obtener mejor tasa de fijación del pigmento.

Lo anterior, coincide con las observaciones de Storebakken y Choubert, (1990), quienes evaluaron los efectos de administrar diferentes raciones alimenticias en la utilización de carotenoides para pigmentación muscular de trucha arcoiris, encontrando que la concentración de carotenoides se incrementa durante periodos de restricción alimenticia, indicando además, que estos son catabolizados mas lentamente que las grasas y proteínas, siendo coincidente con Foss *et al.*, (1984); Choubert, (1985).

Así mismo, el cambio de la tasa de alimentación se vio reflejado en el promedio de los valores de la tasa de conversión alimenticia (T.C.A), la cual fue de 2.13, lo que se considera alto en comparación con el reportado por el fabricante del alimento balanceado, de 1.5 (Tabla 2).

3.- PIGMENTOS

Los resultados del análisis de la determinación de la concentración de xantofilas totales, presentes en el alimento suministrado en cada tratamiento al inicio y al término del experimento se presentan en la tabla 3.

Tratamiento	Xantofilas totales (gr/Kg)		
	Adicionadas	Saponificado	
		Inicio	Término
1.- * + Paprika 40 000 U.C. (1)	0.300	0.146	0.092
2.- * + Paprika 40 000 U.C. (2)	0.300	0.154	0.093
3.- * + Paprika 80 000 U.C	0.300	0.158	0.091
4.- * + Cempasúchil	0.300	0.144	0.122
5.- * + Carofil rosa	0.100		
6.- Dieta base (*)		0.010	

Tabla 3.- Resultados analíticos de la determinación de xantofilas totales al alimento suministrado en los tratamientos.

Las pérdidas de xantofilas totales en porcentaje durante los procesos de peletizado, secado y almacenado del alimento, con respecto a la cantidad teórica adicionada inicialmente, se presentan en la tabla 4. En donde se observó una pérdida total

promedio del 66.83% del pigmento, presentándose esta en un 49.83% durante las fases de peletizado y secado y un 17% durante su almacenado.

Tratamiento	% de pérdida de xantofilas totales		
	Peletizado y secado *	Almacenamiento	Total
1.- * + Paprika 40 000 U C (1)	51.33	18.00	69.33
2.- * + Paprika 40 000 U C (2)	48.67	20.33	69.00
3.- * + Paprika 80 000 U C	47.33	22.33	69.67
4.- * + Cempasúchil	52.00	7.33	59.33
5.- * + Carofil rosa			
6.- Dieta base (*)			

* Calculado en función de la concentración de xantofilas totales adicionada inicialmente en cada tratamiento.

Tabla 4.- Porcentaje de pérdida de pigmentos en los tratamientos durante los procesos de elaboración y almacenamiento de pellets.

El 74.5% de esta pérdida ocurrió durante las fases de peletizado y secado, lo cual puede atribuirse tanto a la abrasión, presión y elevación térmica a que son sometidos durante el peletizado, Choubert y Luquet, (1979); Choubert, (1983) como a la alteración de los pigmentos por su oxidación, causada por la presencia de luz y aire, durante el proceso de secado, Fassler et al., (1962); Tiews y Zucker, (1963); Choubert, (1983).

El 25.5% de la pérdida total de pigmentos fue durante el almacenamiento, lo que coincide con lo reportado por Choubert, (1983), quien encontró una pérdida del 35% durante un período de 2 meses de almacenamiento.

Por lo anterior, la concentración real de xantofilas totales contenida en cada tratamiento y empleadas en el experimento, es la presentada en la tabla 3. Por lo anterior, la concentración real de xantofilas totales contenidas en cada tratamiento y empleadas en el experimento, corresponde a la mitad de lo adicionado.

4.- ALIMENTO

La evaluación química realizada a los alimentos suministrados en los tratamientos se presenta en la tabla 5.

Los resultados muestran que la composición nutricional de las dietas experimentales es homogénea, y la variación en el análisis proximal se encuentra dentro del rango esperado de variabilidad del orden de 10 %.

Los valores promedio proteicos, obtenidos en base seca de las dietas manejadas en los tratamientos, coinciden con lo reportado como recomendado por Lovell (1973), Clampton (1985), y Shang (1983).

Los niveles de lípidos encontrados en las dietas experimentales coinciden con los reportados por Tacon, (1989) como recomendados para esta especie.

MUESTRA	Humedad	Proteína cruda (N X 6.25)	Extracto etéreo	Fibra cruda	Cenizas	E.L.N. *	Energía bruta cal/gr
Mezcla base	9.80 ± 0.10	40.59 ± 0.12	16.83 ± 0.02	1.11 ± 0.11	11.2 ± 0.38	20.47	4.95 ± 0.15
Mezcla base + Paprika 40.000 U.C. (1)	9.30 ± 0.10	39.02 ± 0.09	15.3 ± 0.07	0.91 ± 0.06	10.64 ± 0.09	24.73	4.17 ± 0.21
Mezcla base + Paprika 40.000 U.C. (2)	9.77 ± 0.10	40.07 ± 0.10	15.97 ± 0.10	0.95 ± 0.01	10.05 ± 0.44	23.19	4.14 ± 0.02
Mezcla base + Paprika 80.000 U.C.	9.75 ± 0.10	39.52 ± 0.06	15.23 ± 0.17	1.01 ± 0.02	10.18 ± 0.39	24.31	4.31 ± 0.06
Mezcla base + Cempasúchil	9.80 ± 0.10	40.24 ± 0.05	14.12 ± 0.09	1.28 ± 0.15	9.66 ± 0.05	24.9	4.16 ± 0.02
Mezcla base + Carofil rosa	9.5 ± 0.10	40.03 ± 0.13	17.77 ± 0.16	0.91 ± 0.10	9.85 ± 0.14	21.87	4.08 ± 0.12

* Extracto libre de nitrógeno
Media ± Error estándar

Tabla 5.- Análisis proximal de las dietas experimentales en base seca. Valores de energía bruta promedio expresados en porcentaje

5.- MEDICION DE COLOR MUSCULAR

5.1.- EVALUACION CUANTITATIVA

Los resultados de la medición instrumental de valores de color en el músculo de trucha arcoiris se presentan en la tabla 6. Los valores L* a* b* CIE (1976) muestran la variación de Luminosidad (L*), rojos (a*) y amarillos

entre tratamientos durante el periodo completo de experimentación equivalente a 45 días.

Tratamiento	Luminosidad (L*)	Rojo (a*)	Amarillo (b*)
1.- * + Paprika 40.000 U.C. (1)	47.793 ± 0.9	4.923 ± 0.47	12.965 ± 0.86
2.- * + Paprika 40.000 U.C. (2)	47.219 ± 1.0	4.262 ± 0.44	9.796 ± 0.86
3.- * + Paprika 80.000 U.C.	45.176 ± 0.7	5.869 ± 0.66	10.593 ± 1.20
4.- * + Cempasúchil	44.190 ± 0.7	5.976 ± 0.45	15.457 ± 0.72
5.- * + Carofil rosa	44.287 ± 0.9	9.992 ± 0.49	12.547 ± 0.59
6.- * + Sin pigmento	48.007 ± 0.7	2.45 ± 0.43	4.206 ± 0.48

* = Dieta básica
Media ± Error estándar

Tabla 6.- Valores promedio de color CIE (1976) L* a* b* en el músculo de trucha arcoiris para cada tratamiento durante la fase experimental.

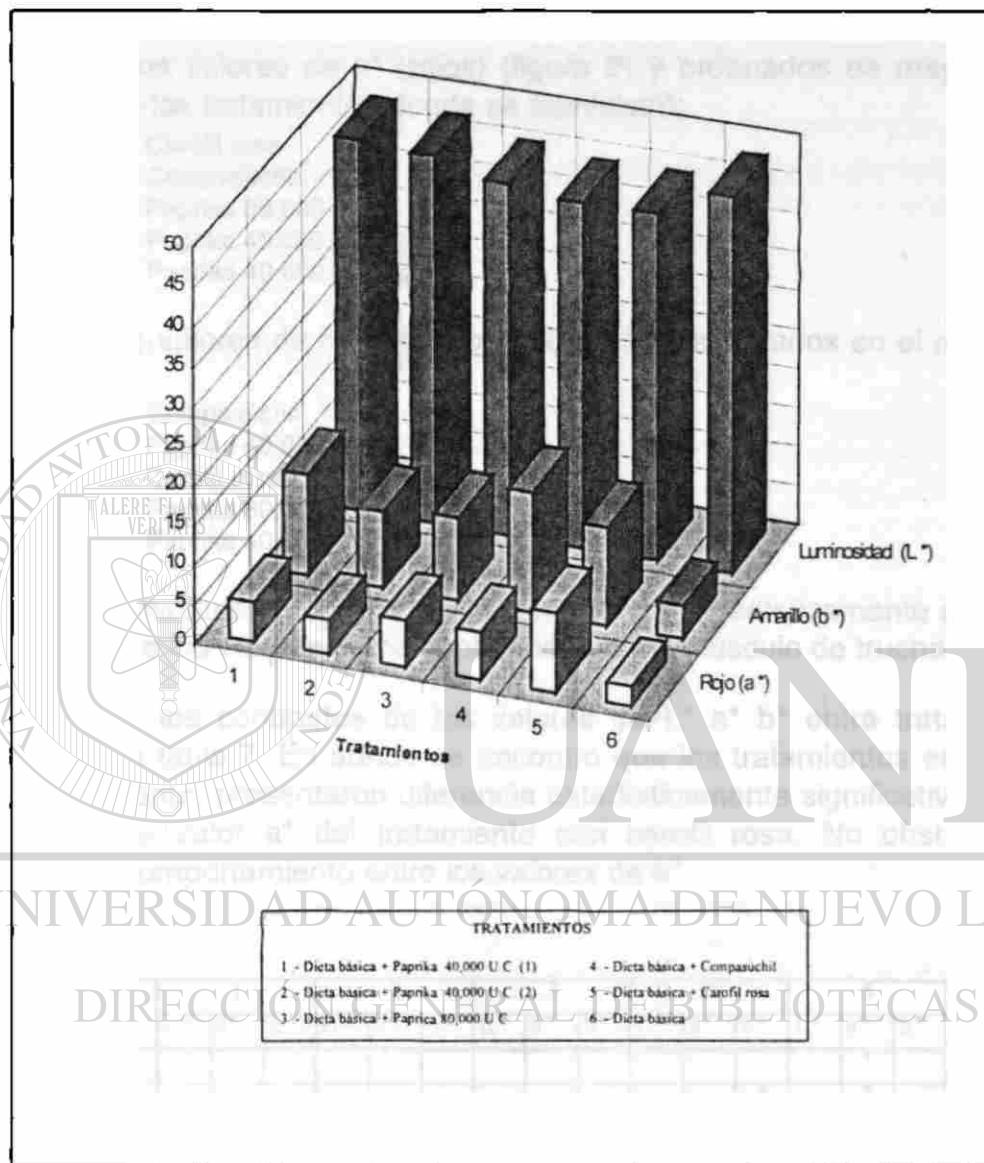


Figura 9.-- Representación gráfica de los valores promedio de color L^* a^* b^* por tratamiento en el músculo de trucha arcoiris durante la fase experimental.

Durante la fase experimental en su totalidad, la mayor luminosidad (L^*) y menores valores de rojos (a^*) y amarillos (b^*) se obtuvieron con el tratamiento sin pigmento. (figura 9). Lo que coincide con lo reportado por Choubert (1986) que indica que la

luminosidad disminuye a medida que la concentración de pigmento en el músculo aumenta.

En relación a los valores de a^* (rojos) (figura 9) y ordenados de mayor a menor corresponden a los tratamientos donde se administró:

- Carofil rosa
- Cempasúchil
- Paprika 80,000 U.C.
- Paprika 40,000 U.C. (1)
- Paprika 40,000 U.C. (2)

En cuanto a los valores de b^* (amarillos) (figura 9) presentados en el mismo orden son:

- Cempasúchil
- Paprika 40,000 U.C. (1)
- Carofil rosa
- Paprika 80,000 U.C.
- Paprika 40,000 U.C. (2)

Todos los tratamientos en ensayo mostraron efectos estadísticamente significativos ($P < 0.05$), sobre los valores de color obtenidos en el músculo de trucha arcoiris.

Los efectos de los contrastes de los valores de L^* a^* b^* entre tratamientos se presentan en la tabla 7. En donde se encontró que los tratamientos en los que se incorporó pigmento, presentaron diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) con respecto al valor a^* del tratamiento con carofil rosa. No obstante, no se presentó este comportamiento entre los valores de b^* .

TRATAMIENTO	1			2			3			4			5			6			
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	
1													*	*	*		*	*	*
2														*	*			*	*
3												*	*	*	*		*	*	*
4						*			*				*	*	*	*	*	*	*
5		*	*		*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
6		*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

TRATAMIENTOS

- | | |
|--|---------------------------------|
| 1.- Dieta básica + Paprika 40,000 U.C. (1) | 4.- Dieta básica + Cempasúchil |
| 2.- Dieta básica + Paprika 40,000 U.C. (2) | 5.- Dieta básica + Carofil rosa |
| 3.- Dieta básica + Paprika 80,000 U.C. | 6.- Dieta básica |

Tabla 7.- Resultado del análisis por prueba Tukey HSD para contrastar valores promedio de color L^* a^* b^* por tratamiento en el músculo de trucha arcoiris. Renglones con * dentro de efectos son estadísticamente significativos ($P < 0.05$)

Los tratamientos con paprika 80 y paprika 40 (2) mostraron diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) en los valores de b^* con respecto al tratamiento con cempasúchil, mientras que el tratamiento con paprika 40 (1) no presentó diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$) con los demás tratamientos con pigmentos vegetales.

Después de la ingestión de la dieta básica incorporando los cinco tratamientos con pigmento, el color se modifica para todos los casos en los tres tiempos de medición (tabla 8 y figura 10).

TIEMPO TRATAMIENTO	15 días		
	Luminosidad (L^*)	Rojo (a^*)	Amarillo (b^*)
Paprika 40,000 U.C. (1)	44.300 ± 1.03	6.376 ± 0.63	11.538 ± 1.09
Paprika 40,000 U.C. (2)	43.310 ± 0.82	5.046 ± 0.93	8.550 ± 1.37
Paprika 80,000 U.C.	43.138 ± 0.73	5.248 ± 1.18	8.526 ± 1.90
Cempasúchil	44.170 ± 0.25	7.380 ± 0.43	14.648 ± 1.03
Carofil rosa	41.278 ± 0.55	9.646 ± 1.17	11.622 ± 1.25
Sin pigmento	46.408 ± 1.18	3.468 ± 0.44	4.868 ± 0.46

TIEMPO TRATAMIENTO	30 días		
	Luminosidad (L^*)	Rojo (a^*)	Amarillo (b^*)
Paprika 40,000 U.C. (1)	50.898 ± 1.45	3.136 ± 0.49	12.966 ± 1.49
Paprika 40,000 U.C. (2)	51.016 ± 1.57	3.736 ± 0.81	11.200 ± 1.78
Paprika 80,000 U.C.	47.668 ± 1.13	4.726 ± 0.99	10.588 ± 2.42
Cempasúchil	47.220 ± 0.83	4.546 ± 0.59	14.458 ± 0.71
Carofil rosa	44.638 ± 1.16	9.940 ± 0.40	12.788 ± 0.31
Sin pigmento	50.816 ± 0.58	0.640 ± 0.38	3.582 ± 0.81

TIEMPO TRATAMIENTO	45 días		
	Luminosidad (L^*)	Rojo (a^*)	Amarillo (b^*)
Paprika 40,000 U.C. (1)	48.182 ± 0.40	5.256 ± 0.62	14.390 ± 1.84
Paprika 40,000 U.C. (2)	47.330 ± 1.15	4.004 ± 0.56	9.638 ± 1.37
Paprika 80,000 U.C.	44.722 ± 1.38	7.634 ± 1.03	12.666 ± 2.25
Cempasúchil	41.180 ± 1.07	6.002 ± 0.79	17.266 ± 1.65
Carofil rosa	46.944 ± 1.91	10.59 ± 0.96	13.232 ± 1.32
Sin pigmento	46.796 ± 0.86	3.242 ± 0.63	4.168 ± 1.16

Media ± Error estándar

Tabla 8.- Valores promedio de color CIE, (1976) L^* , a^* y b^* en el músculo de trucha arcoiris para cada tratamiento en los tres periodos de experimentación.

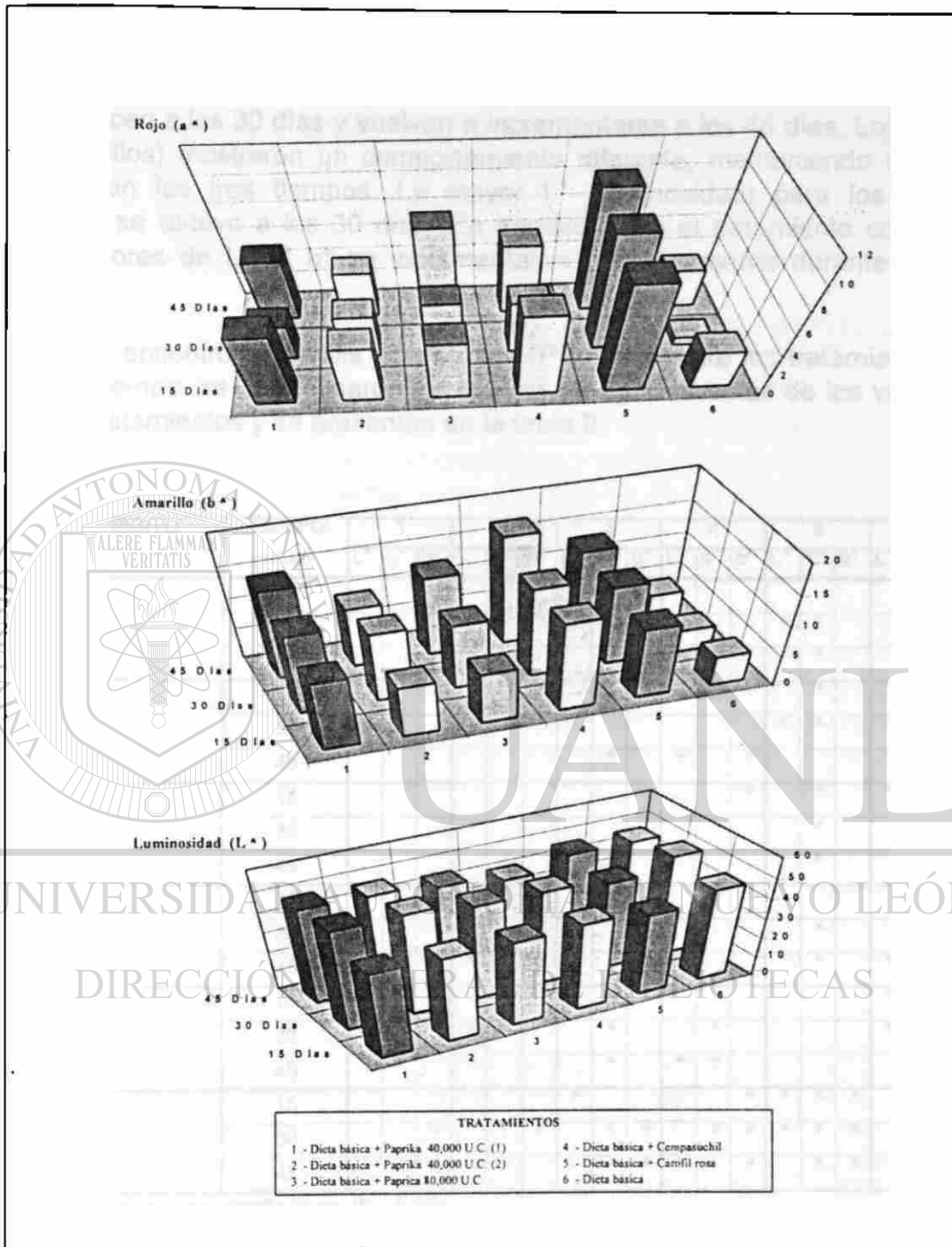


Figura 10.- Variación de los promedios de las variables de color L* a* b* por tratamiento y tiempos en el músculo de trucha arcoiris, durante la fase experimental.

Para los tratamientos con paprika 40 (1), paprika 40 (2), paprika 80 y cempasúchil, se detectó un incremento de los valores de a^* (rojos) a los 15 primeros días, los cuales decrecen a los 30 días y vuelven a incrementarse a los 45 días. Los valores de b^* (amarillos) mostraron un comportamiento diferente, manteniendo un ligero incremento en los tres tiempos. La mayor L^* (luminosidad) para los mismos tratamientos se obtuvo a los 30 días. En cambio, para el tratamiento con carofil rosa, los valores de L^* a^* b^* se incrementaron paulatinamente durante los tres tiempos.

Dado que se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los tratamientos con respecto al tiempo, se determinaron los efectos de los contrastes de los valores L^* a^* b^* entre tratamientos y se presentan en la tabla 9.

TRATAMIENTO	TIEMPO (días)	1			2			3			4			5			6		
		L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
1	15																		*
	30											*	*						*
	45									*			*						*
2	15										*	*							*
	30										*	*							*
	45							*		*	*	*							*
3	15										*	*						*	
	30										*	*						*	*
	45						*			*	*	*						*	*
4	15						*		*		*	*						*	*
	30						*		*		*	*						*	*
	45	*			*	*	*	*	*	*	*	*						*	*
5	15						*		*		*	*						*	*
	30	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*						*	*
	45	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*						*	*
6	15			*			*		*		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	30			*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	45			*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

* Estadísticamente significativos ($P < 0.05$)

TRATAMIENTOS	
1 - Dieta básica + Paprika 40,000 U C (1)	4 - Dieta básica + Cempasúchil
2 - Dieta básica + Paprika 40,000 U C (2)	5 - Dieta básica + Carofil rosa
3 - Dieta básica + Paprika 80,000 U C	6 - Dieta básica

Tabla 9.- Resultado del análisis de la prueba de Tukey HSD para contrastar valores promedio de color L^* a^* b^* por tratamiento y por tiempo, en el músculo de trucha arcoiris.

Del análisis de contraste presentado en la tabla 9, se desprende que con respecto a los valores de a^* del tratamiento con carofil rosa:

- A los 15 días sólo los tratamientos con paprika 40 (2) y paprika 80 presentaron diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).
- A los 30 días, todos los tratamientos con pigmentos vegetales fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$).
- A los 45 días, únicamente el tratamiento con paprika 40 (2) no presentó diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$).

Ahora bien, por lo que concierne a los valores de b^* del carofil rosa, no se encontró diferencia significativa con ningún tratamiento adicionado con pigmento vegetal ($P > 0.05$). En el comportamiento previamente señalado de las variables de color, resalta el de los amarillos (b^*) por su estabilidad en el músculo, lo cual podría retomarse, para posteriormente tratar de variar solamente la concentración de rojos.

El análisis del color cuando se expresa en unidades de CIELAB, (1976) y se maneja en forma independiente, como hasta ahora, solo manifiesta los atributos de luminosidad (L^*), rojos (a^*) y amarillos (b^*), por lo que cuando se requiere realizar comparaciones de colores es necesario el manejo integral de estas variables para calcular los incrementos entre ellas y el incremento $E^* ab$, mismo que define que tan distantes son los colores entre si.

Las diferencias de color promedio entre los tratamientos durante el periodo de experimentación, en comparación con el color obtenido con la incorporación de carofil rosa a la dieta básica, se muestran en la tabla 10, resaltándose las menores diferencias encontradas entre ellos

Tratamiento	Incremento L^*	Incremento a^*	Incremento b^*	Incremento $E^* ab$
Paprika 40.000 U.C. (1)	-3.50	5.06	-0.41	6.17
Paprika 40.000 U.C. (2)	-2.93	5.73	2.75	6.99
Paprika 80.000 U.C.	-0.88	4.12	1.95	4.64
Cempasúchil	0.03	4.01	-2.91	4.96
Carofil rosa	0.00	0.00	0.00	0.00
Sin pigmento	-3.72	7.54	8.34	11.84

Tabla 10.- Diferencias de color promedio entre los tratamientos durante la fase experimental, calculados con respecto al obtenido con carofil rosa.

Para el caso de luminosidad (L^*) la menor diferencia se encontró entre carofil rosa y cempasúchil, para rojo (a^*) con cempasúchil, para amarillo (b^*) con paprika 40 (1),

sin embargo para la integración de las tres variables el color más cercano al obtenido con carofil rosa fue con paprika 80. Cabe resaltar el comportamiento de las variables de color con respecto al tratamiento adicionado con cempasúchil, el cual contiene principalmente pigmentos de color amarillo (luteína 97%) y presenta la menor diferencia en rojos en comparación con la misma variable de carofil rosa. Estos resultados no concuerdan con lo reportado por Meyers, (1986) el cual encontró que los salmónidos no sintetizan astaxantina a partir de luteína y la depositan sin modificación en el músculo.

En la Figura 11 se esquematiza la representación tridimensional de las variables de color L^* a^* b^* , y se visualizan los efectos de pigmentación de todos los colorantes con respecto al tratamiento sin pigmento (6). En esta figura el plano horizontal está formado por los ejes x, y que corresponden a los rojos (a^*) y amarillo (b^*) respectivamente y el plano vertical lo integra el eje z que equivale a la luminosidad (L^*). Mediante esta esquematización se observa claramente que la variación de color entre los tratamientos adicionados con pigmentos vegetales se concentra en un espacio reducido del cuadrante, formado por los ejes a^* y b^* . Así mismo, se observan las diferencias de color indicadas en la tabla 10.

En la tabla 11 se presentan los valores promedio de color para cada tratamiento en los tres tiempos de experimentación, en donde se comparan las diferencias entre ellos y el obtenido con carofil rosa.

En los primeros 15 días de experimentación la menor diferencia de luminosidad (L^*) se encontró entre carofil rosa y paprika 80, para rojo (a^*) fue con cempasúchil y para amarillo y el color en su conjunto con paprika 40 (1).

A los 30 días de experimentación la menor diferencia de luminosidad (L^*) y para el color en su conjunto se encontró entre carofil rosa y cempasúchil, para rojo (a^*) fue con paprika 40 (2) y para amarillo con paprika 40 (1)

A los 45 días de experimentación la menor diferencia de luminosidad (L^*) se encontró entre carofil rosa y paprika 40 (2) y para rojo (a^*), para amarillo y el color en su conjunto con paprika 80.

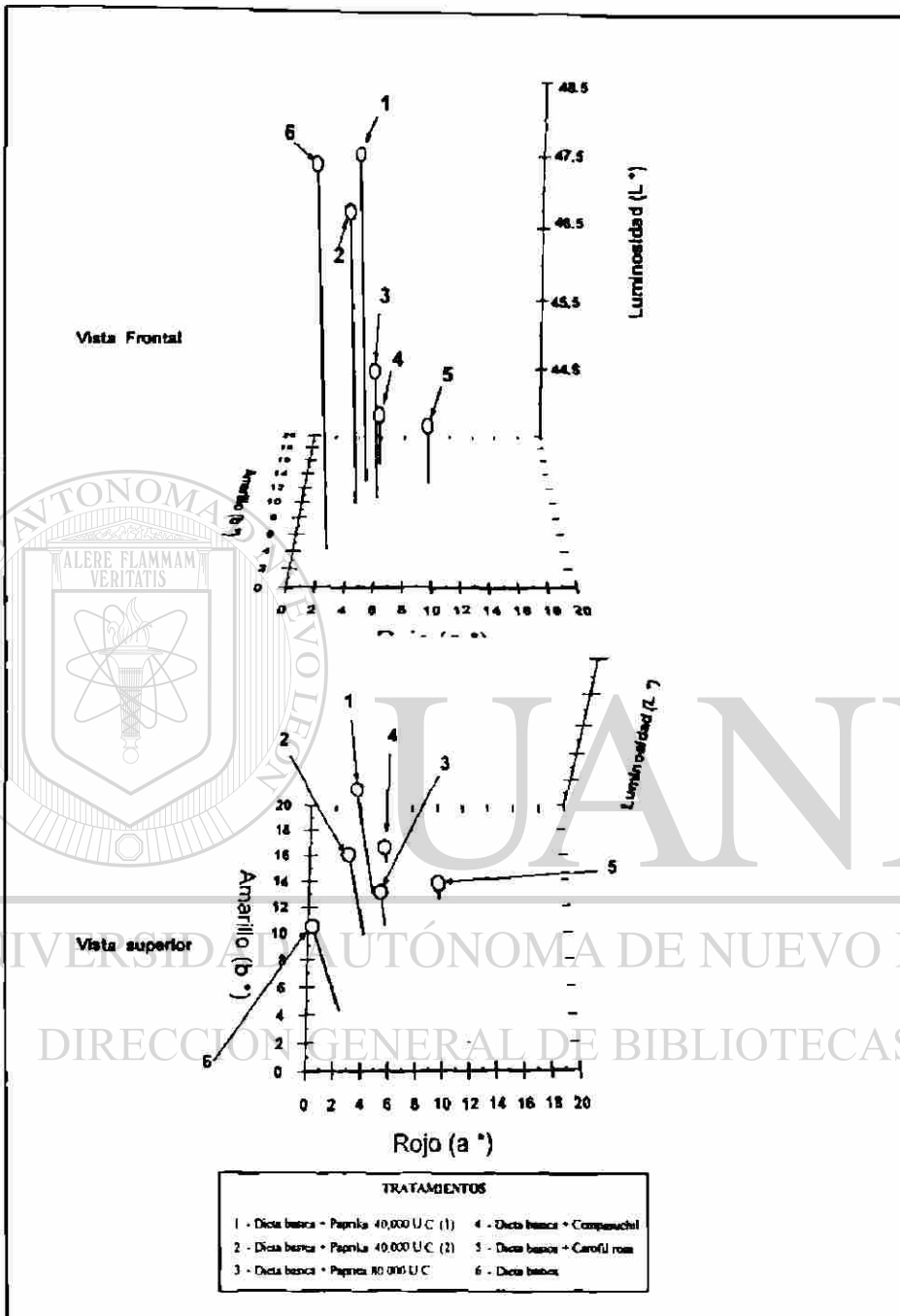


Figura 11.- Diferencia de color promedio del músculo de trucha arcoiris entre tratamientos durante la fase experimental.

15 días de experimentación

Tratamiento	Incremento L*	Incremento a*	Incremento b*	Incremento E* ab
Paprika 40,000 U.C (1)	-3.02	3.27	0.08	4.45
Paprika 40,000 U.C (2)	-2.03	4.60	3.07	5.89
Paprika 80,000 U.C	-1.86	4.39	3.09	5.69
Cempasúchil	-2.89	2.26	-3.02	4.75
Carofil rosa	0.00	0.00	0.00	0.00
Sin pigmento	-5.13	6.17	6.75	10.49

30 días de experimentación :

Tratamiento	Incremento L*	Incremento a*	Incremento b*	Incremento E* ab
Paprika 40,000 U.C (1)	-6.26	6.80	-0.17	9.24
Paprika 40,000 U.C (2)	6.20	1.58	1.58	9.03
Paprika 80,000 U.C	-3.03	5.21	2.20	6.41
Cempasúchil	-2.58	5.39	-1.67	6.20
Carofil rosa	0.00	0.00	0.00	0.00
Sin pigmento	-6.17	9.30	9.20	14.47

45 días de experimentación:

Tratamiento	Incremento L*	Incremento a*	Incremento b*	Incremento E* ab
Paprika 40,000 U.C (1)	-1.23	5.13	-1.15	5.40
Paprika 40,000 U.C (2)	-0.38	6.38	3.59	7.33
Paprika 80,000 U.C	2.22	2.75	0.56	3.58
Cempasúchil	5.76	4.38	-4.03	8.29
Carofil rosa	0.00	0.00	0.00	0.00
Sin pigmento	0.14	7.14	9.06	11.54

Tabla 11.- Diferencias de los valores promedio entre las variables de color L* a* b* de cada tratamiento y los obtenidos con Carofil rosa, en cada tiempo de experimentación.

La visualización tridimensional de las diferencias promedio de color en cada tiempo de experimentación se esquematizan en las figuras. 12, 13 y 14.

A los 15 días de experimentación y tal como se muestra en la tabla 11 el color mas cercano al obtenido con el tratamiento de carofil rosa fue el generado por paprika 40 (1). Sin embargo en la vista frontal de la figura 12 esto pareciera no ser cierto, dado que aparentan ser los mas cercanos al carofil rosa tanto el tratamiento con paprika 40 (2) como paprika 80 por presentar un menor incremento de luminosidad (L*). No obstante en la vista superior de esta misma figura se observa que estos dos últimos tratamientos presentan una mayor diferencia con respecto a rojo (a*) y amarillo (b*).

A los 30 días numéricamente la menor diferencia de color con respecto al carofil rosa se presentó con el tratamiento de cempasúchil, sin embargo es importante destacar que la diferencia entre estos colores y el del carofil rosa y paprika 80 es mínima, lo cual es ocasionado básicamente por la mayor luminosidad obtenida por paprika 80. Lo anterior se explica porque en el plano horizontal los valores de rojos

tanto de paprika 80 como de cempasúchil son prácticamente iguales, pero el segundo con un mayor nivel de amarillos, quedando ambos a igual diferencia del carofil , en este mismo plano.

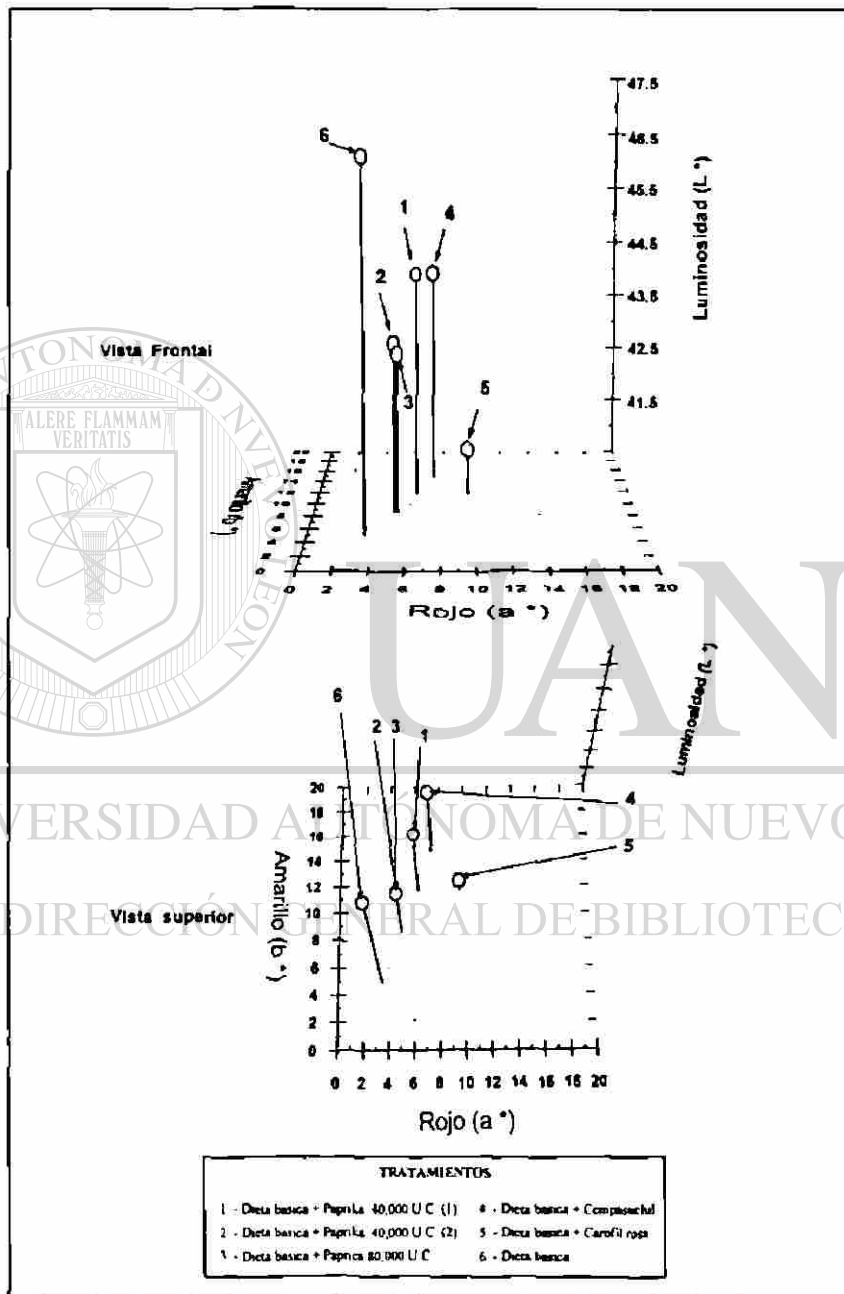


Figura 12.- Diferencia de color promedio del músculo de trucha arcoiris por tratamiento durante 15 días de experimentación.

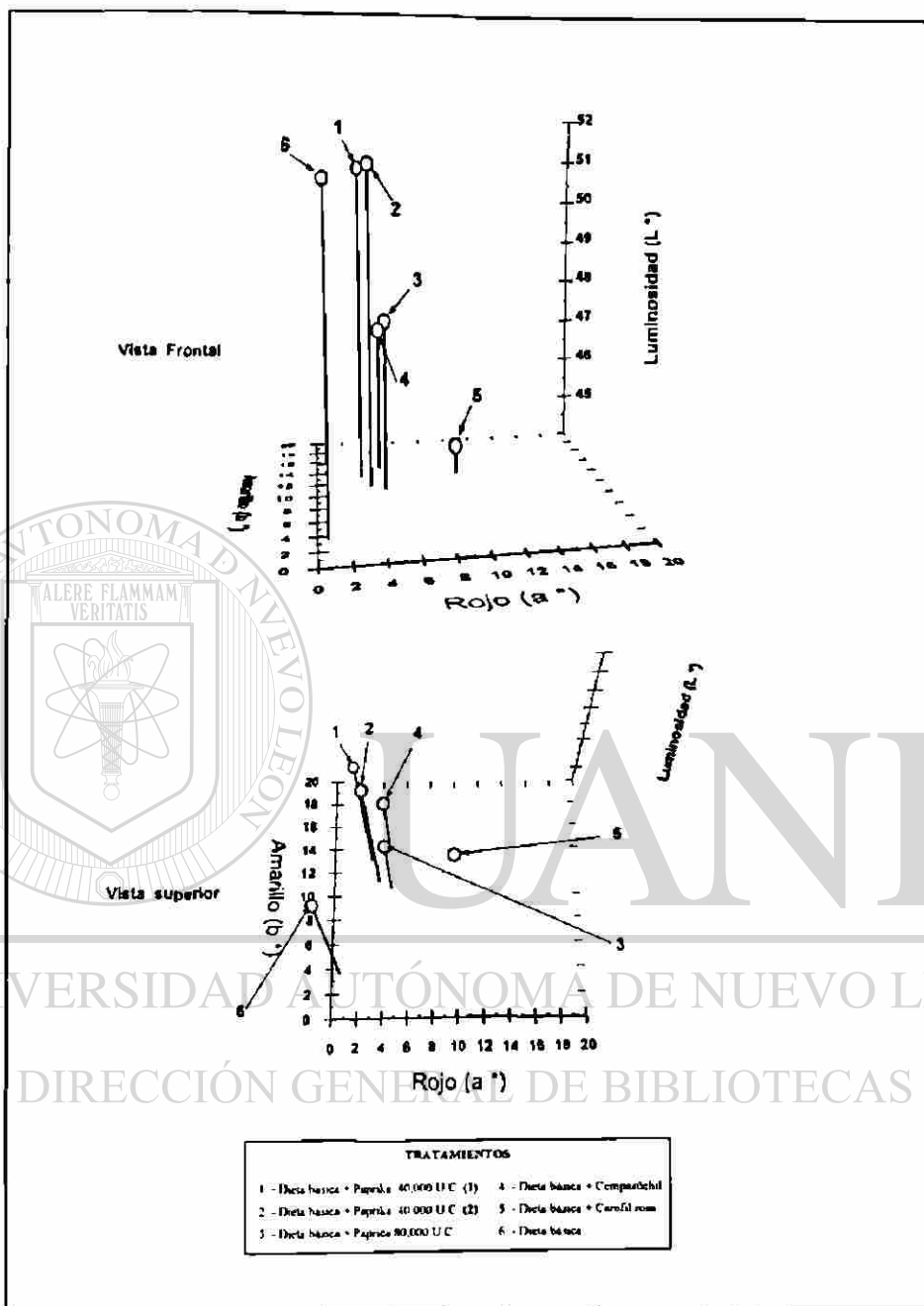


Figura 13.- Diferencia de color promedio del músculo de trucha arcoiris por tratamiento durante 30 días de experimentación.

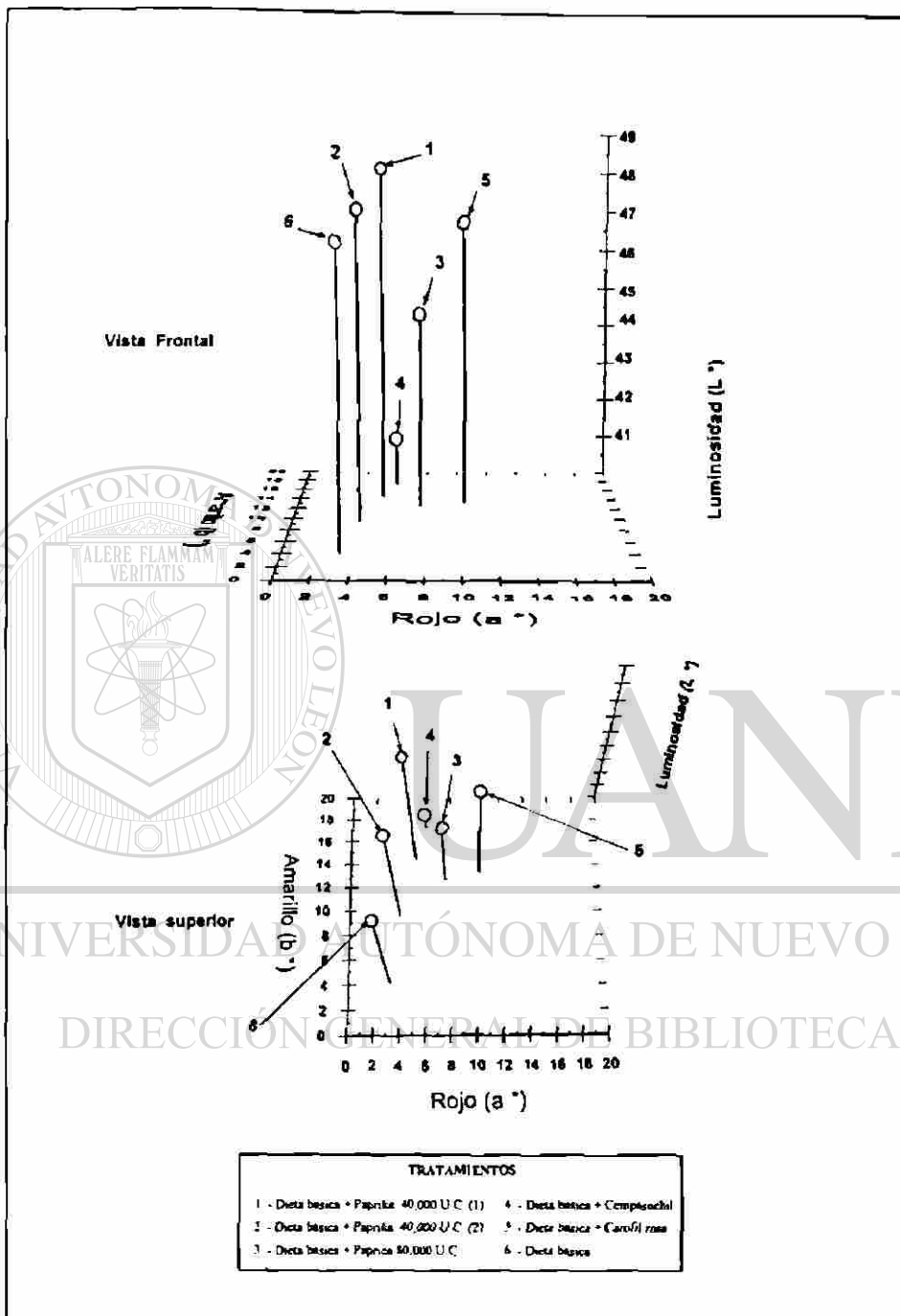


Figura 14.- Diferencia de color promedio del músculo de trucha arcoiris por tratamiento durante 45 días de experimentación.

Concluidos los 45 días de experimentación la menor diferencia de color con respecto a carofil rosa se obtuvo con el tratamiento de paprika 80, el cual presentó

además la menor diferencia tanto de rojos como de amarillos con respecto al resto de los tratamientos.

La visualización tridimensional del comportamiento de las variables de color para cada tratamiento se describen a continuación.

Para el tratamiento correspondiente a paprika 40(1) (figura 14) la variación del color con respecto al tiempo, se caracteriza por un incremento sostenido de los valores de amarillos y paralelamente una reducción del rojo a los 30 días, seguido por un incremento de este al término del experimento, pero sin llegar al nivel registrado a los 15 días.

Lo cual es coincidente con los resultados obtenidos con paprika 40 (2) (figura 15), siendo importante destacar que en este comportamiento no influyó la presentación de estos pigmentos como extractos saponificados (paprika 40 (1)) o no saponificados (paprika 40 (2)).

En relación al comportamiento del color resultante con paprika 80 (figura 16), el color evolucionó incrementándose sostenidamente los valores de amarillos y paralelamente una mínima reducción del rojo a los 30 días, seguido por un incremento de este al término del experimento, superando el nivel observado a los 15 días.

Para el caso del tratamiento con cempasúchil, el comportamiento de la variación del color es similar al descrito anteriormente para paprika 40 (1), pero en un rango de amarillos superior a este último.

Es coincidente el patrón de cambio de color descrito para los tratamientos con pigmentos vegetales antes descritos, pero con escalas de valores de color diferentes. En contraste con el cambio de color registrado con carofil rosa, mismo que presenta un incremento en los valores de a^* y b^* con respecto al tiempo.

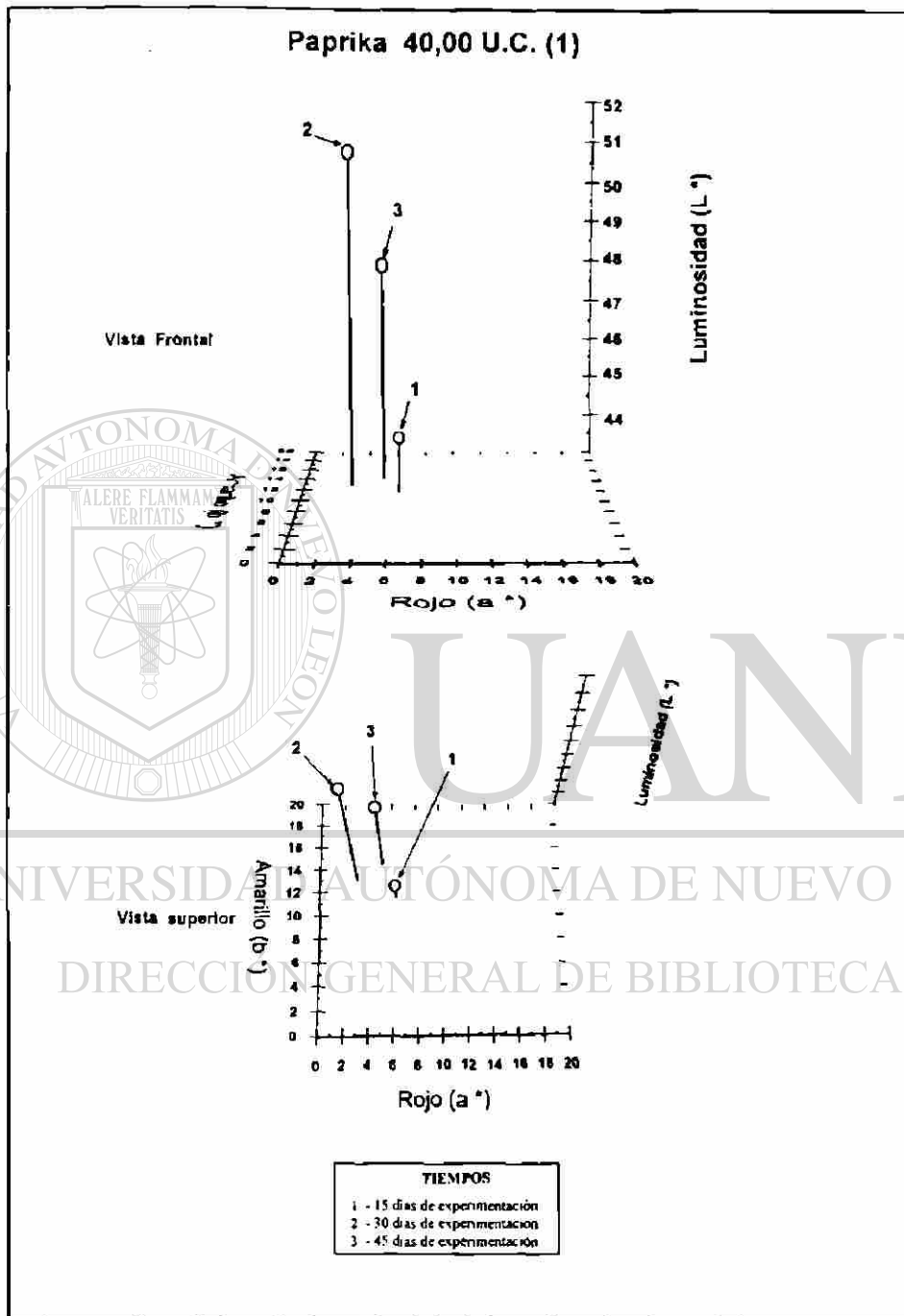


Figura 15.- Evolución del color promedio del músculo de trucha arcoiris generado por el tratamiento con paprika 40 (1), durante los tres tiempos de experimentación.

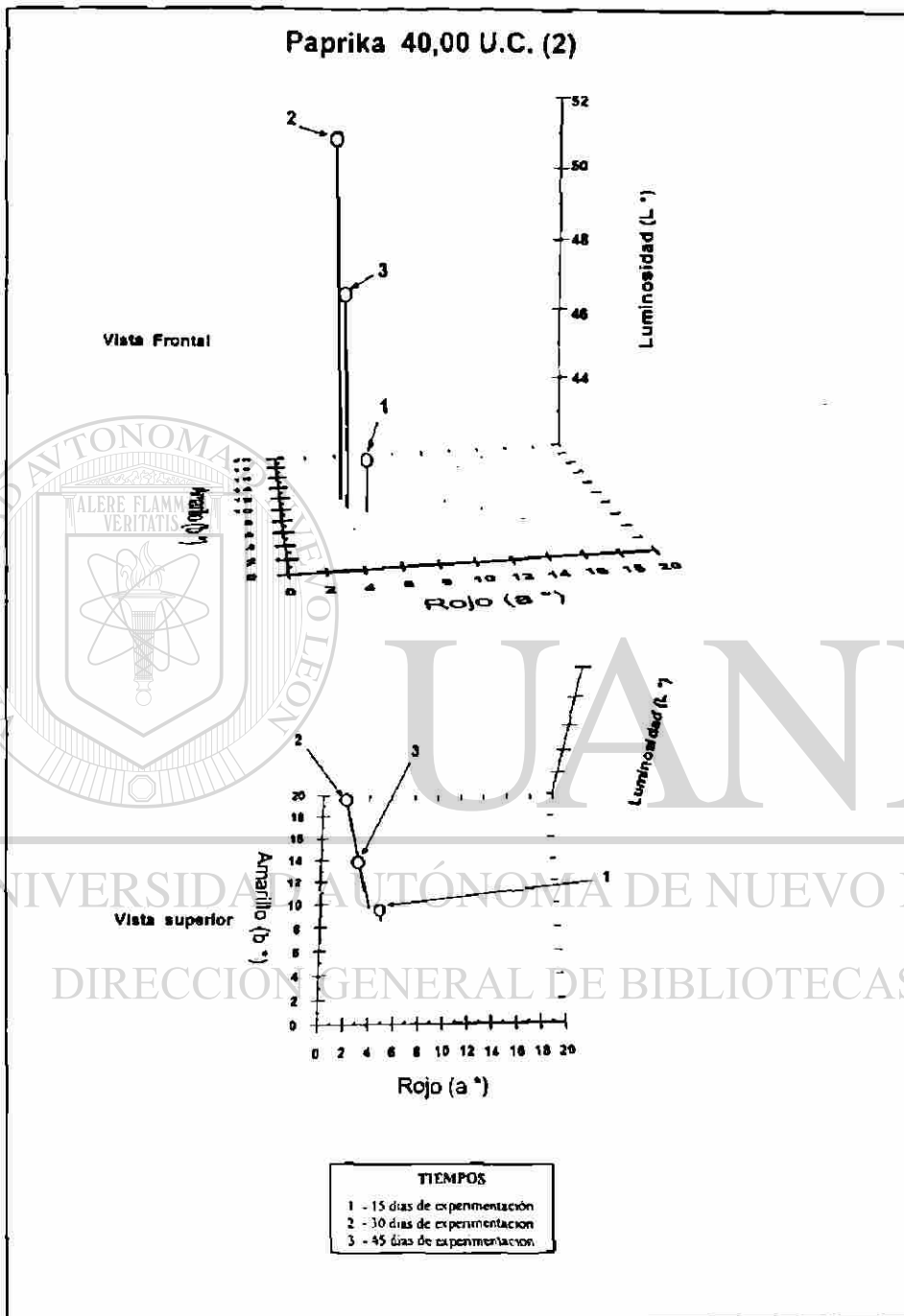


Figura 16.- Evolución del color promedio del músculo de trucha arcoiris generado por el tratamiento con paprika 40 (2), durante los tres tiempos de experimentación.

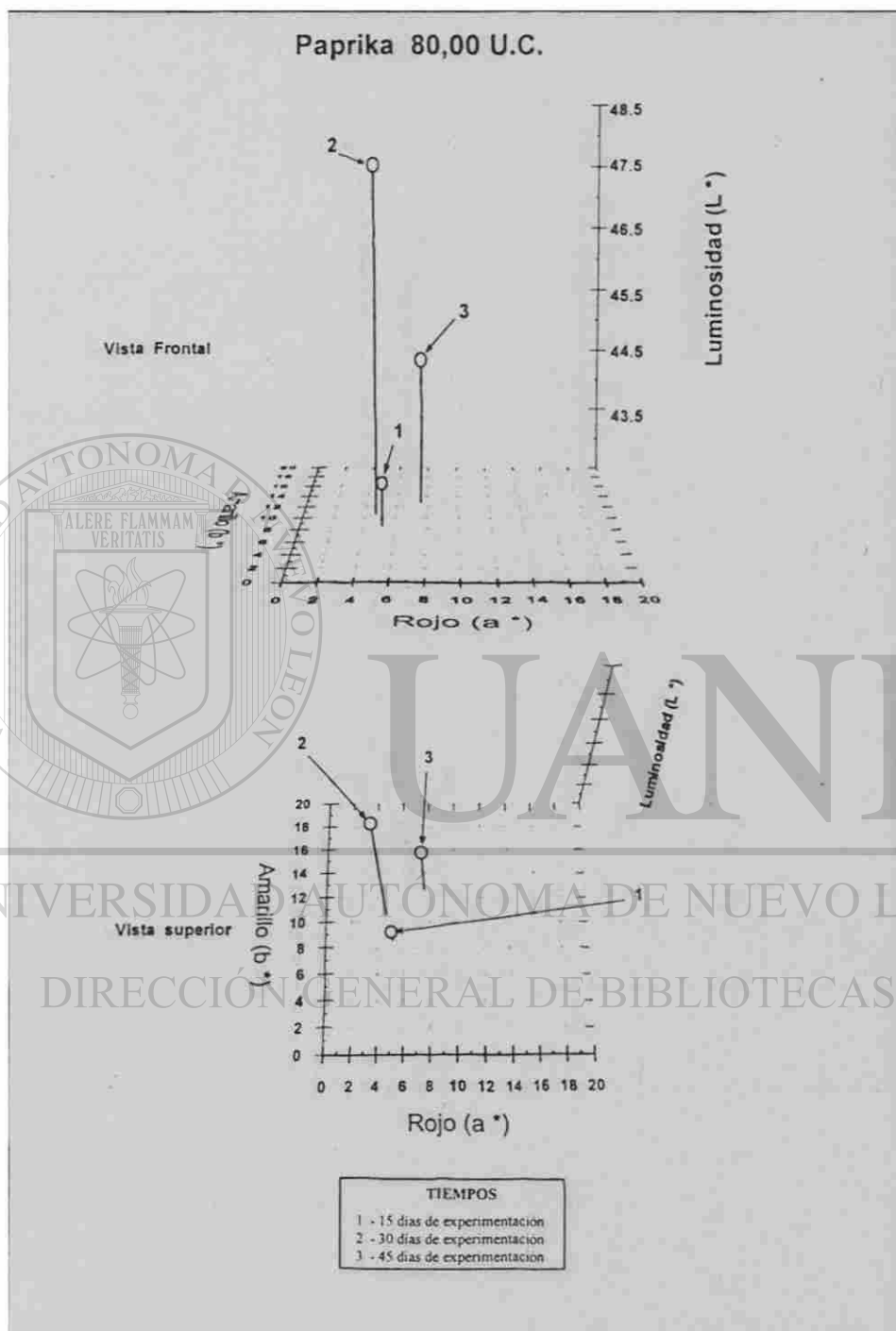


Figura 17.- Evolución del color promedio del músculo de trucha arcoiris generado por el tratamiento con paprika 80, durante los tres tiempos de experimentación.

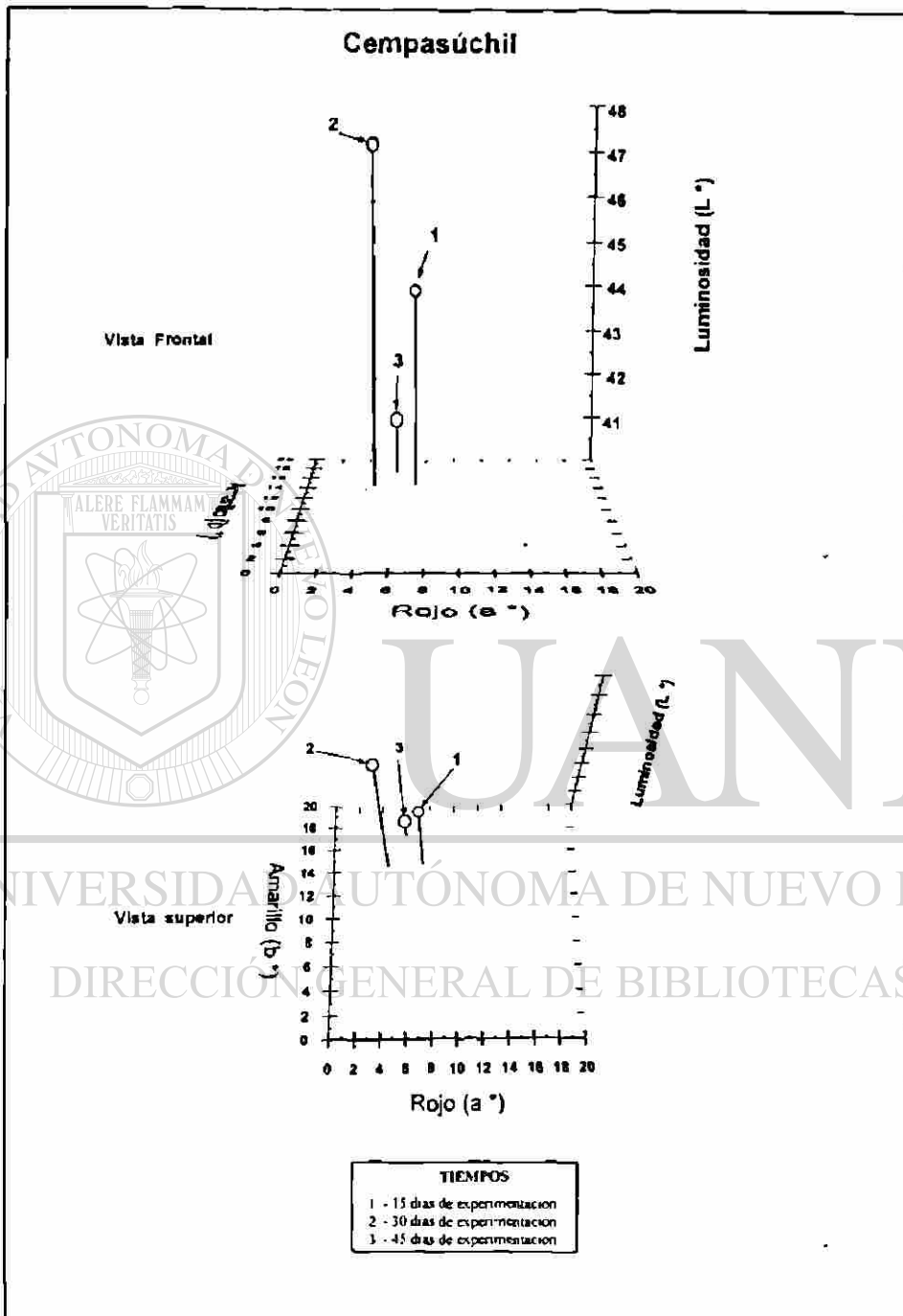


Figura 18.- Evolución del color promedio del músculo de trucha arcoiris generado por el tratamiento con cempasúchil, durante los tres tiempos de experimentación.

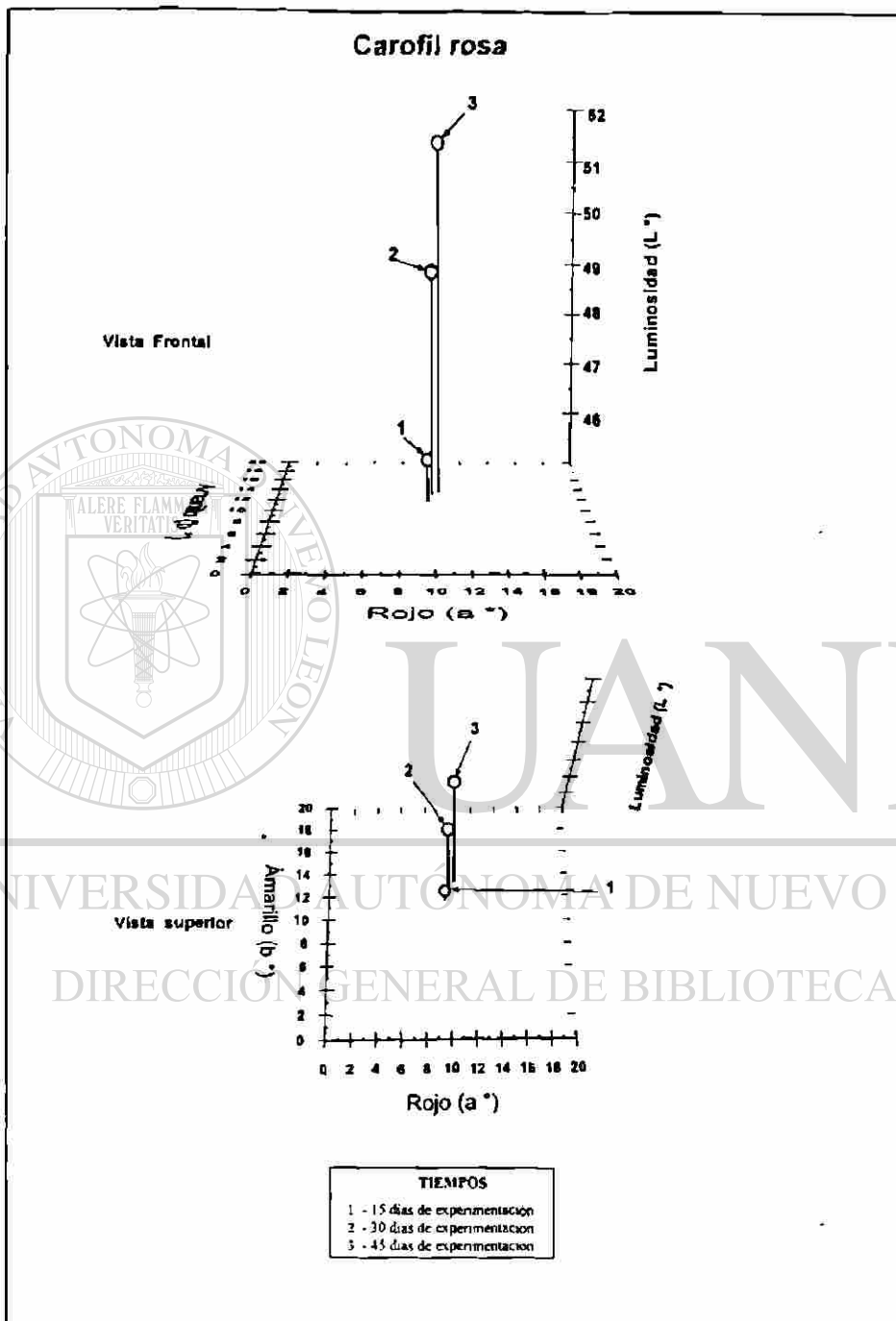


Figura 19.- Evolución del color promedio del músculo de trucha arcoiris generado por el tratamiento con carofil rosa, durante los tres tiempos de experimentación.

5.2.- EVALUACION CUALITATIVA

Los resultados de la evaluación cualitativa de color en el músculo de trucha arcoiris, obtenidos mediante la comparación visual con la tabla de color estandarizada para salmónidos (ROCHE), durante la fase experimental se presentan en la tabla 12.

TRATAMIENTO	TIEMPO			
	15 días	30 días	45 días	promedio
Paprika 40,000 U.C. (1)	1.54 ± 0.75 ^a	2.06 ± 0.54 ^b	1.58 ± 0.93 ^c	1.73 ± 0.79
Paprika 40,000 U.C. (2)	1.26 ± 0.44 ^a	1.50 ± 0.64 ^b	1.46 ± 0.60 ^a	1.41 ± 0.58
Paprika 80,000 U.C.	3.02 ± 1.12 ^a	2.54 ± 0.96 ^b	1.51 ± 0.82 ^c	2.35 ± 1.16
Cempasúchil	3.36 ± 0.84 ^a	2.38 ± 1.00 ^b	2.15 ± 0.68 ^c	2.63 ± 0.99
Carofil rosa	3.3 ± 1.22 ^a	4.54 ± 0.70 ^b	3.61 ± 0.83 ^c	3.82 ± 1.16
Sin pigmento	0.0	0.0	0.0	0.0

Valoración en escala graduada de 1 al 8. Los valores de cada tratamiento representan los valores medios

± desviación estandar de 20 valoraciones / pez / muestra.

Valores con diferente literal dentro de los efectos son estadísticamente significativos $P < 0.05$

Tabla 12.- Valores promedio de la evaluación visual de color en músculo de trucha arcoiris durante la fase experimental.

El análisis estadístico de la información antes referida indicó diferencias significativas ($P < 0.05$) entre todos los tratamientos en ensayo a los 15 y 30 días de experimentación y a los 45 días entre todos los tratamientos con excepción de paprika 40 (2).

En relación a la evaluación visual de color realizado, durante los tres tiempos de experimentación (tabla 12, figura 19), se observó que desde los primeros 15 días todos los tratamientos con pigmento provocaron un cambio favorable de color en el músculo de trucha arcoiris, obteniendo la mejor evaluación en la escala de color con el tratamiento de cempasúchil, seguido en orden decreciente por el carofil rosa, paprika 80, paprika 40 (1) y paprika 40 (2).

Para la segunda valoración correspondiente a los 30 días, los mejores resultados se obtuvieron por el tratamiento con carofil rosa, seguido por: paprika 80, cempasúchil, paprika 40 (1) y paprika 40 (2).

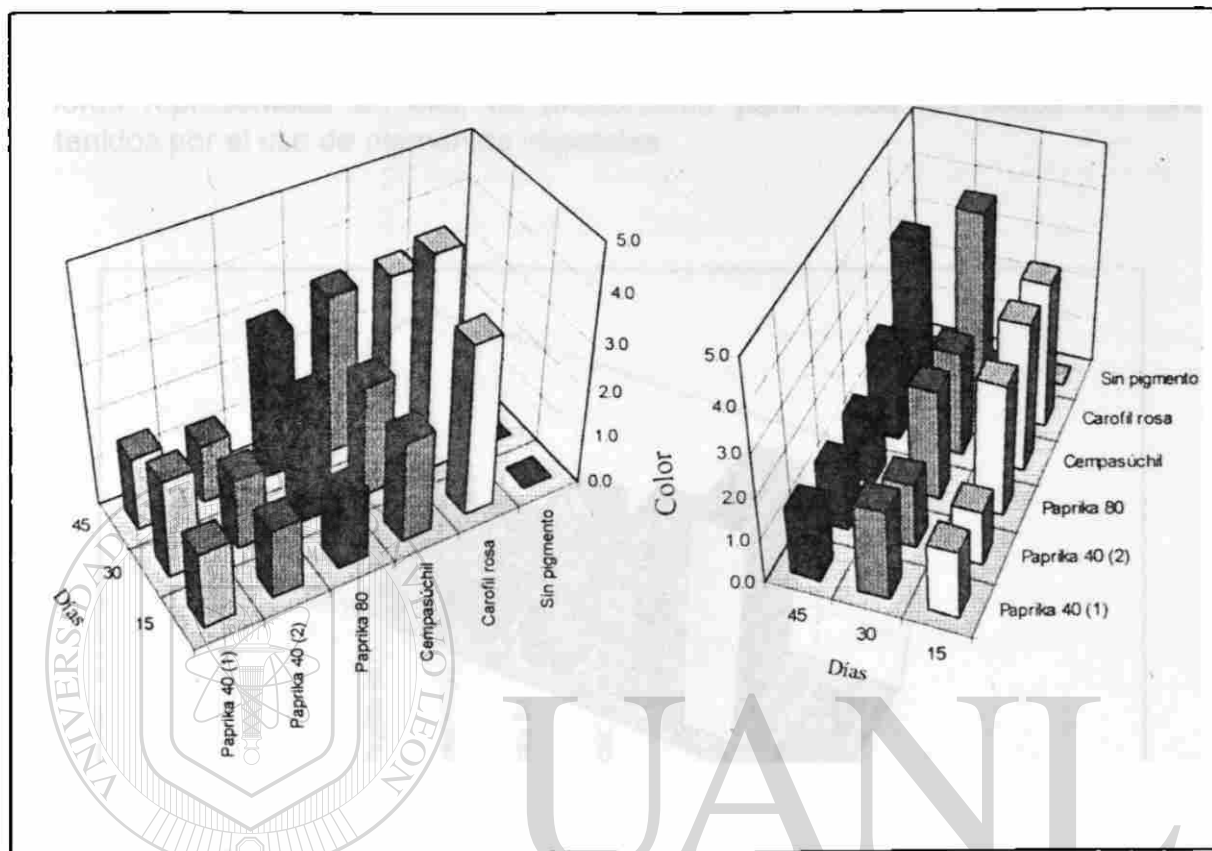


Figura 20.- Resultados de la evaluación visual de color en músculo de trucha arcoiris entre tiempos.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

A los 45 días, el color obtenido en comparación con el de los 30 días decreció para todos los tratamientos. La mejor evaluación de color en este periodo después del carofil rosa correspondió al tratamiento adicionado con cempasúchil. El comportamiento anteriormente descrito coincide con los resultados esperado para carofil rosa (Foss et al., 1984; Storebakken et al., 1986). para el caso de los tratamientos adicionados con pigmentos vegetales, no se contó con antecedentes sobre el comportamiento del color obtenido, ni de la evaluación de color por esta metodología.

Para el promedio de las tres evaluaciones antes descritas, todos los tratamientos en los que se incorporó pigmento, presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) con respecto a la evaluación visual del músculo de trucha arcoiris (tabla 12 y figura 21). La mayor valoración de color se obtuvo con el tratamiento de carofil rosa, seguido en orden decreciente del cempasúchil, paprika

80, paprika(1) y paprika 40 (2). Sin embargo, estos resultados se ven afectados por el uso de la carta de color para salmónidos, ya que esta fue elaborada en función del color obtenido utilizando carofil rosa como fuente pigmentante y la gama de colores representada en ella, no proporciona para todos los casos los tonos obtenidos por el uso de pigmentos vegetales.

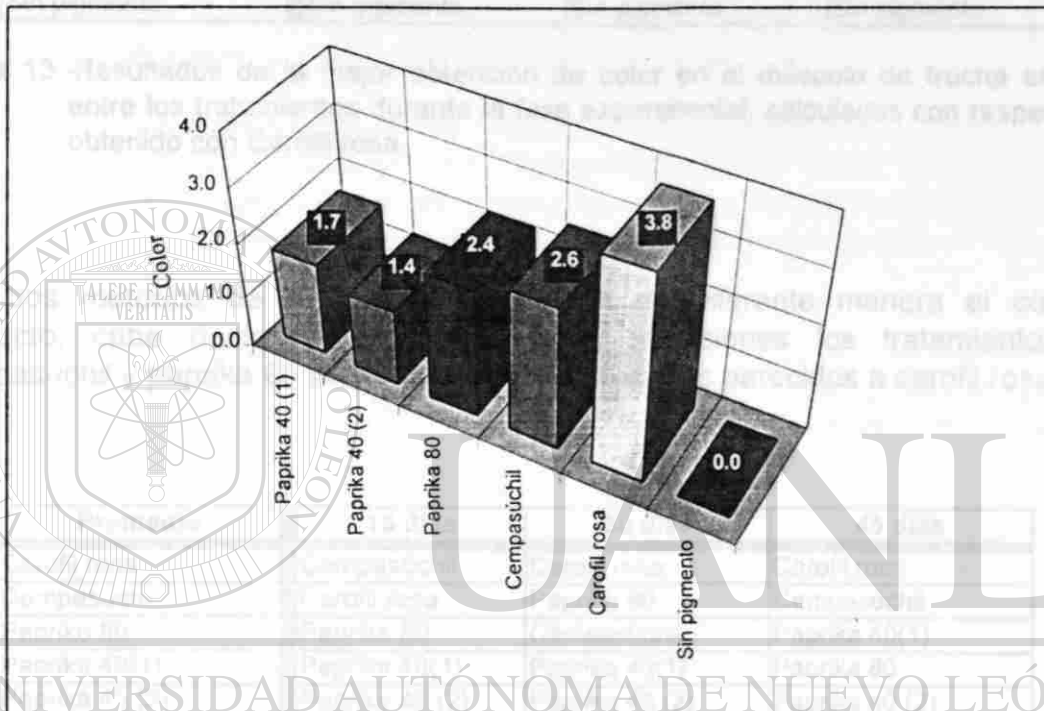


Figura 21.- Resultados de la evaluación visual de color en músculo de trucha arcoiris entre tratamientos.

5.3 COMPARACION DE EVALUACIONES DE COLOR

Los resultados de la evaluación instrumental y cualitativa del color en el músculo de trucha arcoiris en relación a la mejor coloración obtenida durante la fase experimental se presentan en las tablas 13 y 14

Promedio	15 días	30 días	45 días
Paprika 80	Paprika 40(1)	Cempasúchil	Paprika 80
Cempasúchil	Cempasúchil	Paprika 80	Paprika 40(1)
Paprika 40(1)	Paprika 80	Paprika 40(1)	Paprika 40 (2)
Paprika 40 (2)	Paprika 40 (2)	Paprika 40 (2)	Cempasúchil
Sin pigmento	Sin pigmento	Sin pigmento	Sin pigmento

Tabla 13.-Resultados de la mejor obtención de color en el músculo de trucha arcoiris entre los tratamientos durante la fase experimental, calculados con respecto al obtenido con Carofil rosa.

Los dos métodos de evaluación priorizaron de diferente manera el color, al respecto, cabe destacar que en las dos mediciones los tratamientos con cempasúchil y paprika 80 presentaron los colores más parecidos a carofil rosa.

Promedio	15 días	30 días	45 días
Carofil rosa	Cempasúchil	Carofil rosa	Carofil rosa
Cempasúchil	Carofil rosa	Paprika 80	Cempasúchil
Paprika 80	Paprika 80	Cempasúchil	Paprika 40(1)
Paprika 40(1)	Paprika 40(1)	Paprika 40(1)	Paprika 80
Paprika 40 (2)	Paprika 40 (2)	Paprika 40 (2)	Paprika 40 (2)

Tabla 14.- Resultados obtenidos de la mejor valoración de color a través de la comparación de color de músculos de trucha arcoiris con colores estandarizados

VII. CONCLUSIONES

1. El color se modifica significativamente para todos los tratamientos adicionados con pigmentos desde los primeros quince días de administración.
2. El efecto de los tratamientos adicionados con extractos vegetales y el del sintético fue mayor a los 30 días de experimentación
3. Todos los insumos pigmentantes utilizados fueron absorbidos y depositados en el músculo de la trucha arcoiris independientemente de la esterificación del mismo, sin embargo los resultados con respecto al color obtenido adicionado con extracto no saponificado de flor de cempasúchil, permiten cuestionar la forma de depositación en el músculo.
4. Pese a la pérdida de xantofilas totales sufrida, durante la peletización y almacenamiento de todos los tratamientos adicionados con pigmentos vegetales, la coloración obtenida en los músculos permiten estar en condiciones de identificar las dosis de inclusión de los pigmentos utilizados.
5. El comportamiento de las variable de color L^* , a^* , b^* en los tratamientos adicionados con pigmentos vegetales fue muy semejante, los valores de L^* decrecieron a medida que se incrementaba el color, los valores de b^* (amarillos) aumentaron paulatinamente con respecto al tiempo, en cambio los a^* (rojos) no presentaron un comportamiento homogéneo.
6. El color obtenido en el músculo de trucha arcoiris a partir del uso de extractos pigmentantes vegetales no coincidió con la coloración presentada por el uso de carofil rosa, en general fue rosa pálido para el uso de paprikas y con tono anaranjado para el caso del cempasúchil.
7. Los resultados obtenidos a través de la valoración visual del color de el músculo de trucha arcoiris, así como de la evaluación instrumental, funcionaron como indicadores del comportamiento del color de los insumos pigmentantes utilizados y proporcionan fundamentos para posteriores investigaciones.
8. La metodología utilizada para evaluar el color de la carne de la trucha arcoiris permite identificar el color y el comportamiento del mismo en relación a sus tres variables L^* , a^* , b^* , sin embargo la coloración superficial y la presencia de grasa intramuscular, puede alterar los resultados

VIII. RECOMENDACIONES

1. Para la obtención de valores de color utilizando el colorímetro de reflectancia se recomienda considerar lo siguiente:
 - a) unificar el espesor y fondo de la muestra
 - b) obtener la medición sobre una superficie clara
2. En general los valores de b^* (amarillos), se mantuvieron estables para todos los tratamientos, por lo que se recomienda proporcionar el tono variando la concentración de rojos.
3. Considerar el manejo experimental del extracto de pigmento de flor de cempasúchil en forma saponificada y no saponificada, lo cual sería importante para evaluar si existen diferencias en su forma de depositación.
4. Los resultados de esta investigación, permitieron evaluar el color obtenido en el músculo de trucha arcoiris por la inclusión en la dieta de extractos de pigmentos vegetales, pero para profundizar e inferir sobre el porcentaje de retención, forma de absorción y depositación es necesario cuantificar la concentración de carotenoides adicionados y depositados en el músculo, separar y aislar los pigmentos. Por lo anterior, se recomienda utilizar las técnicas cromatográficas de alta resolución.
5. Debido a las características de los carotenoides, se recomienda considerar su microencapsulación antes de adicionarlos a las dietas.

IX. BIBLIOGRAFIA

- Abdulrahman Al-Khalifa, S. and Kenneth L.S. 1988. *Metabolism of astaxanthin in the rainbow trout*. Comp. Biochem. Physiol., 91B (3): 563-568.
- Ando, S., Osada, K., Hatano, M. and Saneyoshi, M. 1989. *Comparison of carotenoids in muscle and ovary from four genera of salmonids fishes*. Comp. Biochem. Physiol., 93B (3): 503-508.
- Andre, E. 1926. *Influence de l'alimentation sur la pigmentation cutanée des Salmonidés*. Rev. Suisse Zool., 33:659-669.
- AOAC 1980. *Official methods of analysis of Official Analytical Chemists*. AOAC, 13th edition, Washington, D.C. 1108 p.
- APHA 1980. *Standard methods for the examination of water and waste-water* 15th edition. American Public Health Association, American Water Works Association, and Pollution Control Federation, APHA. Washington, D.C. 1134p.
- Arredondo, F.J., Valdivia, S.R., Hernández, L. y Campos, V.R. 1994. *Evaluación del crecimiento, factor de conversión de alimento y calidad de agua del cultivo de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) en un sistema cerrado UAM-I* (inédito) 17p.
- Bjerkeng, B., Storebakken, T., and Llaaen-Jensen, S. 1990. *Response to carotenoids by rainbow trout in the sea: resorption and metabolism of dietary astaxantin and canthaxanthin*. Aquaculture, 91: 153-162.
- Chen, H., Meyers, S.P., Hardy, R.W. and Biede, L. 1984. *Color stability of astaxanthin pigmented rainbow trout under various packaging concentration*. J.Food Sci., 49:1337-1340.
- Choubert, G. and Luquet, P. 1979. *Influence de l'agglomération et du stockage des aliments composés sur la teneur en cantaxanthine: conséquence sur la digestibilité et la fixation de ce pigment chez la truite arc-en-ciel*. Ann. Zootech., 28: 145-157.

- Choubert, G., et Luquet, P. 1982. *Fixation et retention musculaire de la canthaxanthine par la truite arc-en-ciel*. Ann Zootech., 31(1):1-8.
- Choubert, G., and Luquet, P. 1983. *Utilization of shrimp meal for rainbow trout (Salmo gairdneri Rich.) pigmentation. Influence of fat content of the diet*. Aquaculture, 32: 19-26.
- Choubert, G. 1985. *Effect of starvation and feeding on canthaxanthin depletion of muscle in rainbow trout (Salmo gairdneri Rich)* Aquaculture, 46: 293-298.
- Choubert, G. 1986. *Pigments carotenoides et reproduction des poissons*. Bull. Fr. Peche. Piscic., 300:25-32.
- Choubert, G. Storebakken, T. 1990. *Carotenoid digestibility in fish effect to pigment, dose, salinity feeding rate*. 9th International Symposium of Carotenoids. Kyoto, Japon. Mayo 20-25: 1990.
- Choubert, G., Miicua, J.C., Gómez Martínez, R., Petit, H., Negresadarguez, G., Castillo, R. and Triller, J.P. 1991. *Tansport of cantaxanthin in serum of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum)*. Abstr. 4th Int.Symp. Fish Nutrition and Feeding, Biarritz, France, 24-27 June.
- Christiansen, R., Torrissen, O.J., Struknaes, G. and Esterman, R. 1991. *Flesh color assessments of salmonids*. Abstr. 4th Int. Symp. Carotenoids, Kyoto, Japan, 20-25 May 1990.
- Christophersen, A.G., Bertelsen, G., Andersen, H.J., Knuthsen, P., Skibsted, L.H. 1992. *Storage life of frozen salmonids. Effect of light and packaging conditions on carotenoid oxidation and lipid oxidation*. Lebensm. Unters. Forsch., 194:115-119.
- Clampton, C.P. 1985. *The nutrition of salmonid (fishes : chemical and histological) studies of wild and domestic fish*. Journal of Nutrition, 61(4):465-478.
- Dergal Badul S. 1980 *Química de los alimentos*. Ed. Alhambra Mexicana. México.
- FAO 1993. *La Nutrición y la Alimentación en la acuicultura de America Latina y el Caribe*, Chile (20 de septiembre-7 de octubre de 1993) Proyecto AQUILA II, FAO, GCP/RLA/102/ITA., DOCUMENTO DE CAMPO No 9, 251 pp.

- Fassler, C., Vuilleumier, J.P., Brubacher, G.B. 1962. *Über die Stabilität von natürlichencarotenoiden in Futtermitteln unter Normalen Lagerbedingungen*. Int. Z. Vitaminforsch., 32 (4), 454 - 459.
- Foss, P., Storebakken, T., Schiedt, K., Liaaen-Jensen, S., Austreng, E., and Streif, K. 1984. *Carotenoids in diets for salmonids. Y. Pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin*. Aquaculture, 41: 213-226.
- Hannasch, K. and Nelson, C. 1990. *Efficacy of liquid Kem glo MR bran in the pigmentation of comercial atlantic salmom: Fiel trial in the Bay of Fundy*. Pigmenter Research. Bulletin of Kemin Industries Inc.
- Hardy, R.W. and Torrison, O.J. 1987. *Carotenoids pigmentation of salmonids*. Aquaculture Magazine, 1:8-14.
- Hata, M. and Hata, M. 1973. *Studies on astaxanthin formation in some fresh-water fishes*. Tohoku J. Agric. Res., 24 (4):192.
- Josephson, D.B., Lindsay, R.C. and Stuiker, D.A. 1981. *Volatile carotenoids related oxidation compounds contributing to cooked salmon flavor*. Food Sci., Technol., 24: 424-432.
- Kamata, T. 1985. *Study of astaxanthin diester in the flower Adonis aestivalis and its application for the pigmentation of rainbow trout*. Tesis para el grado de Ph.D., University of Rhode Island.
- Karashige, M., Okimasu, E., Masayasu Y. and Utsumi, K. 1990 *Inhibition of oxidative injury of biological membranes by astaxanthin*. Physiol. Chem. Phys. & Med. NRM, 22:27-38.
- Kitahara, T. 1983. *Behavior of carotenoid of the Chum salmon (*Oncorhynchus keta*) during anadromous migration*. Comp. Biochem. Phusiol. Chem. Phys. & Med. NRM, 22:27-38.
- Kitahara, T. and Aoe, H. 1987. *On studies of the salmons; II. Determination of muscle pigment*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 24:555-558.
- Lee, G.R., Neamtu GH., Lee, Tung-ching. and Simpson Kenneth. 1978. *Pigmentation of rainbow trout with extracts of floral parts from tagetes erecta and curcubita maxima marica*. Biochim., 15 (4), 287-293.

- Lovell, Tom. 1973. Diet, *management, environment affect fish food consumption*. Commercial Fish Farmer and Aquaculture News, 2 (6): 33-35.
- Meyers, S. 1986. *Carotenoids are important to aquaculture industries*. Feedstuffs, 29:22-23.
- Miki, W., Yamaguchi, K. and Konosu, S. 1982. *Comparison of carotenoids in the ovaries of marine fish and shellfish*. Comp. Biochem. Physiol., 71B: 7-17.
- No, H. K. and Storebakken, T. 1991. *Pigmentation of rainbow trout with astaxanthin at different water temperatures*. Aquaculture, 97: 203-216.
- No, H.K., Storebakken, T. 1992. *Color stability of rainbow trout fillets during frozen storage*. J. Food Sci., 56: 969-984.
- Osborne, D.J., Hamilton, P.B. and Burmeister, H.R. 1982. *Comparison of ochratoxin and T 2 toxin for their effects on selected parameters related to digestion and evidence for specific metabolism of carotenoids in chicken*. Poultry Sci., 61:1646.
- Peterson, D.H., Jager, G.M., Savage, G.N., Washburn G.N., Westers H. 1966 *Natural coloration of trout using xanthophylls*. Trans. Am. Fish. Soc. Vol. 95.
-
- SEMARNAP (Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca). 1995. *Anuario Estadístico de Pesca 1995*, México, D.F.
- Shang, R. 1983. *Optimum dietary protein to energy ratio for Atlantic salmon* Tech. Pap. U.S: Bur. Sport Fish. Wildl., 23: 2-15.
- Sinnott, R. 1989. *Keep them in the pink to stay competitive*. Fish Farmer, 12 (5): 23-26.
- Sigurgisladottir, S., Parrish, C.C., Lall, S.P., Ackman, R.G. 1994. *Effects of feeding natural tocopherols and astaxanthin of Atlantic salmon (Salmo salar) fillet quality*. Food Res. Int., 27: 23-32.
- Skrede, G. and Storebakken, T. 1986. *Instrumental colour analysis of farmed and wild Atlantic salmon when raw, baked and smoked*. Aquaculture, 53: 279-286.

- Skrede, G., Storebakken, T., Naes, T. 1989. *Color evaluation in raw, baked and smoked flesh of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fed astaxanthin or canthaxanthin*. J. Food Sci., 55: 1574-1578.
- Skrede, G., Storebakken, T. and Naes, T. 1990 *Evaluation of color in raw, cooked and smoked flesh of rainbow trout fed astaxanthin or canthaxanthin*. J. Food. Sci., 55:1574-1578.
- Speece, R. E. 1973. *Trout metabolism characteristics and the rational design of nitrification facilities for water re-use in hatcheries*. Transactions of the American Fisheries Society, 102(2): 323-334.
- Steven, D.M.1948. *Studies on animal carotenoids. Y. Carotenoids of the brown trout (*Salmo trutta* linn)*. J. Exp. Biol., 25. 369.
- Storebakken, T., Foss, P., Huse, Y., Waandsvik, A. and Lea, T.B., 1986. *Carotenoids in diets for salmonids. III. Utilization of canthaxanthin from dry and wet diets by Atlantic salmon rainbow trout and sea trout*. Aquaculture, 51: 245-255.
- Storebakken, T. and No, H. K., 1992. *Pigmentation of rainbow trout*. Aquaculture, 100: 209-229.
- Tacon, Albert G.J. *Manual de Capacitación de Nutrición y Alimentación de Peces y Camarones Cultivados*. Documento de campo No 4 . FAO 1989
- Tiews, J., Sparrow R.A.H. 1963. *Xanthophyll-ein Wertbestimmender Bestandteil der grünen Pflanzen*. Tierarztl. Umsch., 18: 590-597.
- Torrissen, O.J., Hardy, R.W. and Shearer, K.D., 1989. *Pigmentation of salmonids carotenoids deposition and metabolism*. CRC: Crit. Rev. Aquat. Sci., 1:209-225
- Wedemeyer, G. A. 1977. *Environmental requirements for fish health*, Pages 41-55 in Proceedings of the Pacific Scientific Congress 10: 72-75.

