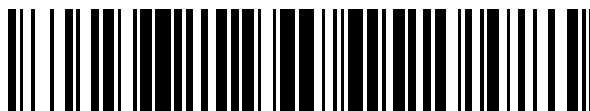


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 394 880**

51 Int. Cl.:

A23K 1/16 (2006.01)

A23K 1/18 (2006.01)

A01K 61/02 (2006.01)

C07C 403/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2003 E 03714095 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **08.12.2004 EP 1482979**

54 Título: **Tasas de alimentación y crecimiento mejoradas de animales acuáticos alimentados con un producto astaxantina derivado de extracto de caléndula**

30 Prioridad:

11.03.2002 US 363661 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

06.02.2013

73 Titular/es:

**DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)
HET OVERLOON 1
6411 TE HEERLEN, NL**

72 Inventor/es:

**RODRIGUEZ, GUSTAVO;
SCHLOEMER, GEORGE y
ARTOLA, VICTOR**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 394 880 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Tasas de alimentación y crecimiento mejoradas de animales acuáticos alimentados con un producto astaxantina derivado de extracto de caléndula

5

Solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica prioridad de la solicitud provisional de EE.UU. nº 60/363.661, presentada el 11 de marzo de 2002.

10

Antecedentes de la invenciónCampo de la invención

15

La presente invención se refiere al uso de un producto de pigmento de astaxantina obtenido por semi-síntesis a partir de extracto de caléndula para mejorar sustancialmente las tasas de alimentación y crecimiento de especies de granjas comerciales tales como trucha, salmón y gamba cuando se añaden a la comida, en concentraciones útiles para producir una coloración de los animales. Más particularmente, este producto induce tasas de crecimiento esencialmente mayores que cualquier aditivo alimentario actualmente disponible para la acuicultura. Tasas de crecimiento son especialmente mejoradas para especies salmónidas tales como salmón y trucha y para gamba. El impacto económico sobre la capacidad de recoger peces y otros animales tales como gambas en una fase mucho más temprana es muy significativa en la acuicultura comercial.

20

Descripción de la técnica relacionada

25

La acuicultura es un sector de comercio que crece en importancia en todo el mundo. Determinadas especies acuáticas derivan el color de la carne de fuentes de alimentación naturales. Especies de este tipo tales como salmón, trucha, koi (*Cyprinus carpio*), peces tropicales, oreja de mar, besugo y crustáceos tales como gamba y langosta son las especies más comunes que derivan este color rosa natural, astaxantina, del entorno. Sin embargo, cuando especies de este tipo se comercializan en granjas, éstas ya no tienen acceso a este colorante y es necesario añadirlo a la alimentación. Es sabido que la adición de este material a los alimentos para peces mejora la salud y reduce el estrés al pez, al tiempo que proporciona también el colorido necesario de la carne (Torrisen, O. J y Cristinansen, R., *J. Appl. Ichthyol.*, 11, 225 (1995). Hasta hace poco, las únicas fuentes comerciales del producto astaxantina se derivaban de la síntesis total o la fermentación de la levadura *Pfaffia rhodozyma* o del crecimiento del alga *Haematococcus*.

30

35

Recientemente, Breivik et al. (documento WO 03/003848) reseñaron que el crecimiento del salmón del Atlántico mejoraba cuando los peces eran alimentados con un diéster de astaxantina en combinación con un concentrado que comprendía dos ácidos grasos omega-3 diferentes, en comparación con peces alimentados con astaxantina sintética comercialmente disponible (Carophyll Pink, Roche). Debe señalarse que el incremento máximo en el crecimiento después de 15,5 meses era sólo del 9% por encima del testigo. Los autores de la invención sugieren que la forma diéster proporciona mejores tasas de crecimiento en especies salmónidas que la astaxantina no esterificada libre.

40

Sumario de la invención

45

Christiansen R. et al. (Effect of astaxanthin and vitamin A on growth and survival during first feeding of Atlantic salmon, *Salmo salar* L" AQUACULTURE AND FISHERIES MANAGEMENT, BLACKWELL SCIENTIFIC PUBLICATIONS, OXFORD, GB, vol. 2, 1994, páginas 903-904) describe un método para mejorar el consumo de alimentos y las tasas de crecimiento en salmón, que comprende añadir astaxantina a los alimentos.

50

E. J. Vemon-Carter et al. (Pigmentation of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) using Aztec marigold (*Tagetes erecta*) extracts as the carotenoid source "ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN, vol. 46, nº 3, 1996, páginas 243-246) describe la producción de astaxantina a partir de extracto de pétalos de caléndula.

55

La presente invención se refiere a un método para mejorar el consumo de los alimentos y las tasas de crecimiento para especies animales, en que el método incluye la etapa de añadir a la alimentación un producto astaxantina obtenido de un extracto de caléndula. Preferiblemente, el animal es un animal acuático tal como un pez o un crustáceo. En una realización preferida, el animal acuático se elige de trucha, salmón o gamba.

60

El producto astaxantina se añade a la alimentación en una cantidad suficiente para producir una concentración de producto astaxantina entre aproximadamente 10 y 200 ppm. Preferiblemente, el producto astaxantina se añade a la alimentación en una cantidad suficiente para producir una concentración de producto astaxantina entre 50 y 120

ppm. Para algunos animales tales como la gamba, el producto astaxantina puede añadirse a la alimentación en una cantidad suficiente para producir una concentración de producto astaxantina entre aproximadamente 20 y 30 ppm.

5 El producto astaxantina se obtiene del extracto de caléndula mediante un proceso que incluye las etapas de tratar el extracto de caléndula con una base fuerte para isomerizar luteína para formar zeaxantina; y oxidar la zeaxantina para obtener el producto astaxantina.

10 Preferiblemente, el producto astaxantina que se añade a la alimentación para un consumo de los alimentos y tasas de crecimiento mejorados de las especies animales contiene más de 75% de configuración R,S (meso) diastereomérica. Más preferiblemente, la alimentación contiene más de 85% de configuración (meso) diastereomérica. En una realización más preferida, el producto astaxantina está presente en la alimentación en una concentración mayor que 90% de configuración R,S (meso) diastereomérica. Preferiblemente, el animal es un animal acuático tal como un pez o crustáceo. Más preferiblemente, el animal acuático es una trucha, un pez o una gamba.

15 En una realización preferida, el producto astaxantina que contiene más de 75%, 85% o 90% de configuración R,S (meso) diastereomérica se añade a la alimentación en una cantidad suficiente para producir una concentración de producto astaxantina entre aproximadamente 10 y 200 ppm, preferiblemente de 50 a 120 ppm. En determinadas realizaciones, tales como suministrar el producto astaxantina que contiene más de 75%, 85% o 90% de configuración R,S (meso) diastereomérica a determinados animales tales como gamba, se prefiere una
20 concentración de producto astaxantina entre aproximadamente 20 y 30 ppm.

Aspectos, características y ventajas adicionales de esta invención resultarán evidentes a partir de la descripción detallada de las realizaciones preferidas que siguen.

25 Descripción detallada de la realización preferida

Los autores de la invención han demostrado una nueva y original fuente no costosa de producto astaxantina procedente de la conversión semi-sintética de extracto de caléndula (luteína) en astaxantina (Rodríguez, G.A., patente de EE.UU. N° 5.973.211; Rodríguez, G.A., et al, patente de EE.UU. N° 6.329.557, Schloemer, G.C. y J. L. Davis, solicitud de EE.UU. N° 09/813.685 y Schloemer, G.C., et al, patente de EE.UU. N° 6.372.946.

Preparación de luteína y zeaxantina a partir de extractos de caléndula

35 La preparación de luteína y zeaxantina se describe en la patente de EE.UU. N° 6.329.557. Más específicamente, los materiales brutos para este procedimiento incluyen extractos de caléndulas saponificados que contienen 20 g/kg o más de materia verde. En una realización preferida de la presente invención, en calidad de materiales de partida se utilizan extractos de caléndula que contienen de aproximadamente 40 a aproximadamente 150 gramos de carotenoides por kilogramo y de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 gramos de clorofila por kilogramo. Extractos de este tipo se producen por parte de Productos Deshidratados de Méjico (PROMEDEX), Los Mochis,
40 Sinaloa, Méjico. Las flores de caléndula utilizadas para producir estos extractos se pueden recolectar mecánicamente, con cantidades significativas de hojas, tallos, pedúnculos y otras partes de la planta ricas en clorofila y derivados.

45 Comidas de caléndula se preparan deshidratando las flores recolectadas mecánicamente. Existen varios modos de deshidratación que incluyen secadores de cinta, bandeja, estante y tambor, o secado al sol. El material seco se muele, y el proceso es seguido por una extracción con disolvente utilizando un disolvente no polar tal como, por ejemplo, hexano. Después, el disolvente se separa por evaporación y se obtiene una oleorresina de caléndula. La oleorresina se puede luego saponificar hasta la hidrólisis completa de los xantófilos y clorófilos presentes. La saponificación se puede conseguir mediante tratamiento de la oleorresina con hidróxido de sodio o potasio o algún
50 otro álcali. Las condiciones de saponificación son bien conocidas por los expertos ordinarios en la técnica.

Luteína libre, zeaxantina y otros xantófilos libres se obtienen durante la reacción de saponificación, así como sales de sodio y potasio de ácidos grasos tales como ácidos mirístico, palmítico y esteárico. Además, los grupos fitilo y metilo en las moléculas de pigmento se pueden sustituir por sodio o potasio, dependiendo de la base (p. ej. NaOH o KOH, respectivamente) utilizada como el agente de saponificación. También se pueden producir durante la saponificación clorofilinas solubles en agua.

Isomerización de luteína para formar zeaxantina

60 La luteína en la oleorresina de caléndula obtenida anteriormente se puede convertir en zeaxantina, esencialmente tal como se enseña por la patente de EE.UU. N° 5.973.211. Álcalis y una disolución de glicol se añaden al residuo con contenido en luteína obtenido anteriormente. El extracto se homogeneiza en una disolución de glicol tal como

propilenglicol, polietilenglicol, glicerol, etc., utilizando de 0,1 a 1 partes de glicol a una parte de extracto en peso. También se puede utilizar una mezcla de glicoles. El disolvente de la reacción preferido es propilenglicol. También se prefiere una relación ponderal de glicol a extracto de 0,2 a 0,5.

- 5 Después se añade un hidróxido de metal o una combinación de reactivos alcalinos, y la mezcla se calienta luego en un recipiente de reacción cerrado bajo nitrógeno. Cuando se utiliza una oleorresina extraída de flores de caléndula recolectadas mecánicamente, una mezcla de hidróxido de sodio e hidróxido de potasio es la elección preferida de reactivos alcalinos. Además de ello, la cantidad de álcali requerida variará dependiendo del sustrato y de las condiciones del procedimiento utilizadas. En general, la cantidad total de hidróxido o hidróxidos de metales se encuentra en el intervalo de 0,1 a 0,4 partes por parte de extracto en peso.

- 10 La adición del álcali se puede realizar en dos etapas. Primeramente, se añade suficiente hidróxido de metal para conseguir la saponificación del extracto. La cantidad necesaria dependerá del índice de saponificación del extracto que se puede medir mediante una determinación del índice de saponificación (adaptada de AOAC Official Methods of Analysis 15ª ed., 920.160 (1990)). Generalmente, la cantidad estequiométrica oscila entre 8% y 15% de álcali con respecto al peso del extracto.

- 15 La temperatura utilizada para la saponificación dependerá del material que se esté saponificando, y la etapa de saponificación se puede producir a una temperatura menor que la utilizada para la reacción de isomerización que sigue. La etapa de saponificación se produce preferiblemente a una temperatura entre aproximadamente 20° y aproximadamente 180°C, más preferiblemente entre aproximadamente 25° y 120°C, todavía más preferiblemente entre 40°C y aproximadamente 100°C.

- 20 En una segunda etapa, se puede añadir más álcali para efectuar la reacción de isomerización. La cantidad de álcali requerida está habitualmente dentro del intervalo añadido para la reacción de saponificación. El álcali se puede añadir en forma granular o dispersado en el glicol utilizado para la reacción de isomerización.

- 25 La velocidad de adición puede variar, y depende grandemente del mecanismo del reactor para la introducción de reaccionantes. Además de ello, cuando se introducen reaccionantes, es preferible no perturbar la manta de nitrógeno dentro del reactor mediante la introducción de aire.

- 30 El tiempo de reacción es variable y depende ampliamente de la temperatura real dentro del reactor. En general, el reactor se hace funcionar preferiblemente entre aproximadamente 25° y aproximadamente 180°C, siendo más preferida una temperatura de reacción de aproximadamente 50° a aproximadamente 150°C, siendo todavía más preferidas temperaturas entre aproximadamente 60° y aproximadamente 120°C, y siendo incluso más preferida una temperatura de reacción entre aproximadamente 80° y aproximadamente 110°C. Generalmente, las reacciones de la presente invención se pueden realizar utilizando tiempos de reacción entre aproximadamente 30 minutos y 5 horas o hasta que se alcance el nivel de isomerización deseado. El tiempo de reacción preferido es de aproximadamente 3 a 5 horas. Naturalmente, a temperaturas de reacción más elevadas, el tiempo de reacción es más corto.

- 35 No se requiere presión adicional a aplicar al reactor cuando se llevan a cabo las reacciones de la presente invención. La presión de reacción dentro de la cámara es de aproximadamente 5 a 15 psi manométricos (0,35 a 1,05 kg/cm²) debido principalmente a la manta de nitrógeno y a la presión de vapor de la disolución de glicol. Sin embargo, si se necesita, se puede aplicar una presión adicional. Las reacciones originales pueden también realizarse en vacío, si se desea.

- 40 El extracto saponificado e isomerizado se dispersa en agua y se diluye hasta una concentración final entre aproximadamente 0,1 y 30 gramos de xantófilos totales por kilogramo de la dispersión acuosa, preferiblemente entre aproximadamente 5 y 10 gramos por kilogramo de dispersión acuosa, según se describe en la patente de EE.UU. N° 6.329.557. Preferiblemente, la dispersión acuosa se mezcla a fondo para formar una mezcla homogénea.

- 45 El pH de la mezcla se ajusta luego a entre aproximadamente 1,0 y 7,0 y, preferiblemente, entre aproximadamente 5,0 y 6,5 utilizando disoluciones acuosas de un ácido seleccionado del grupo que consiste en ácido acético, fosfórico, sulfúrico, clorhídrico o cualquier ácido inorgánico u orgánico con características similares. La concentración de la disolución ácida puede fijarse entre aproximadamente 5 y 25% (p/p). La temperatura de la mezcla debería mantenerse entre aproximadamente 20° y 80°C y, preferiblemente, entre aproximadamente 45° y 70°C. El pH de la mezcla se reduce (neutraliza) lo suficientemente, cuando la fase acuosa, que contiene las clorofilinas solubles en agua y otras impurezas solubles en agua, se separa fácilmente del residuo oleoso superior. La fase acuosa inferior se puede retirar utilizando un aparato de separación convencional. El residuo oleoso contiene algo de clorofilinas solubles en agua residuales y los xantófilos.

Se pueden utilizar lavados con agua adicionales que mantienen un pH fijo para reducir la concentración de materia

verde soluble en agua residual procedente de la fase oleosa superior. Para cada uno de los lavados es posible utilizar entre 4 y 20 volúmenes de agua por volumen de residuo, pero preferiblemente entre 8 y 15 volúmenes de agua por volumen de residuo. Los lavados con agua pueden agruparse para el aislamiento subsiguiente de los pigmentos verdes. El lavado con agua se puede continuar hasta que el residuo oleoso esté esencialmente exento de clorófilos y compuestos relacionados y contenga principalmente lípidos, agua y xantófilos.

El residuo oleoso húmedo se extrae luego con un disolvente no polar. El disolvente se puede seleccionar del grupo que consiste en hidrocarburos alifáticos (p. ej. hexano) o aromáticos de cadena corta, disolventes alquilo-sustituídos o una mezcla de los mismos. Preferiblemente, los hidrocarburos tienen entre 6 y 8 átomos de carbono. Por cada parte de residuo oleoso se pueden utilizar aproximadamente 1 a 20 partes de disolvente no polar (p/p) y, preferiblemente, entre aproximadamente 5 y 10 partes (p/p) para cada extracción. Preferiblemente, se utilizan al menos dos extracciones. Las extracciones se realizan a una temperatura entre aproximadamente -20° y 70°C, preferiblemente entre aproximadamente 15° y 45°C y, más preferiblemente, entre aproximadamente 35° y 45°C. Los lípidos y carotenos, así como otras sustancias solubles en lípidos, se extraen en el disolvente no polar que puede separarse y agruparse.

Un sólido que precipita del disolvente no polar durante la extracción es rico en luteína y zeaxantina. Pueden seguir estando presentes cantidades residuales de clorófilos. Uno o dos lavados adicionales con un disolvente polar deberían ser suficientes para minimizar el nivel de contaminación por clorófilos. El disolvente polar puede ser una cetona, alcohol, amina o cualquier otro disolvente polar de naturaleza similar. El disolvente debería acidificarse utilizando el mismo ácido que el utilizado para la separación de clorofilina. Se pueden utilizar de 3 a 20 partes de disolvente con relación al peso del sólido residual, pero preferiblemente entre 6 y 10 partes. Los lavados se realizan preferiblemente a la temperatura ambiente. Los lavados con disolvente se pueden recoger, y el disolvente se puede recuperar. El disolvente se separa y el sólido final se seca utilizando métodos convencionales, preferiblemente realizados bajo una atmósfera inerte.

Preparación de astaxantina a partir de zeaxantina

La conversión de zeaxantina en astaxantina se lleva a cabo esencialmente según se describe en la patente de EE.UU. N° 6.372.946. El residuo con contenido en zeaxantina obtenido anteriormente se suspende en cloroformo. En una realización de la invención, la relación de zeaxantina a disolvente orgánico varía de 1:10 a 1:500, dependiendo de las condiciones de reacción. Preferiblemente, la relación de zeaxantina al disolvente orgánico es de aproximadamente 1:10 hasta aproximadamente 1:200. El pH es de carácter ácido y, preferiblemente, el pH es 1-3.

A esta mezcla se añade el agente oxidante que se forma a partir de una disolución de bromato de sodio a la que se añade gota a gota una disolución acuosa de metabisulfito sódico a lo largo de tres horas a temperaturas entre 20 y 30°C. La relación de agente oxidante con relación a zeaxantina puede variar entre una cantidad catalítica y 2 equivalentes molares. La expresión "cantidad catalítica" se refiere a una cantidad del agente oxidante que el menor que la cantidad estequiométrica de la zeaxantina utilizada en la reacción. El término "estequiométrico" se refiere al uso de una relación de moles equivalentes o cantidad de un reactivo con relación a un sustrato, molécula o compuesto seleccionado en la reacción.

Después de la adición, la mezcla de reacción se filtra a través de Celite y la fase acuosa se separa. El cloroformo se separa mediante evaporación en vacío a 40-42°C. El sólido ligeramente húmedo resultante se añade a etanol al 95% caliente (50°C). La mezcla se agita y se enfría lentamente hasta -10°C. El sólido resultante se separa por filtración y se seca en vacío.

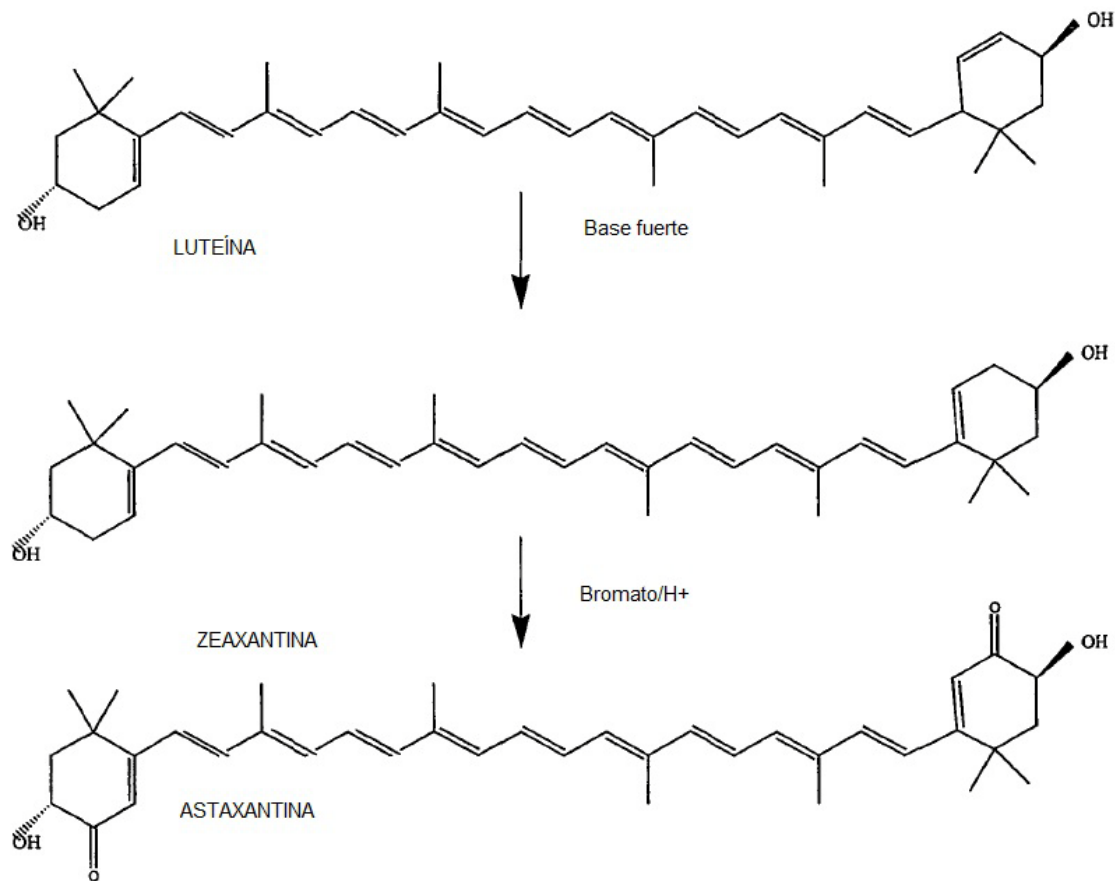
Uso de aditivo de astaxantina en la acuicultura

Estudios de alimentación en varios lugares han indicado una mejora sorprendente e inesperada en las tasas de alimentación y crecimiento para peces y otras especies acuáticas alimentados con comida preparada de modo similar, pero con el aditivo astaxantina de la presente invención en comparación con otros aditivos comercialmente disponibles. De hecho, los autores de la invención han observado una tasa de crecimiento mejorada de alrededor de 40%, lo cual tendría claramente beneficios económicos principales para todo aquel implicado en la acuicultura.

La capacidad de crecimiento y recogida con mayor rapidez de peces y otras especies acuáticas tales como gambas tiene beneficios económicos principales para todo aquel implicado en la acuicultura. Un mayor peso del pez o gamba por espacio de tiempo significa un uso mejorado de fuentes de capital y, así, un menor coste de producción. Por lo tanto, sería muy deseable cualquier aditivo que pudiera ser añadido de forma rentable a la alimentación para mejorar las tasas de alimentación y crecimiento. Los autores de la invención han derivado ahora un aditivo de este tipo que puede producir el doble papel de la coloración y la mejora en el crecimiento sustancial de peces o gambas de una manera económica. A pesar de que la invención se describe con referencia al salmón, trucha y gamba, ha de

entenderse que el aditivo astaxantina descrito en esta memoria puede ser útil como un suplemento de la alimentación en muchos productos de granjas comerciales que incluyen, pero no se limitan a salmón, trucha, pez koi, pez tropical, oreja de mar, gamba y besugo.

- 5 Aditivos astaxantina se han utilizado en la industria de la acuicultura del salmón y trucha para producir una coloración de la carne que resulta en un pescado más deseable en el mercado. El coste de obtener esta coloración es sustancial, y la adición de este material a la alimentación tiene un impacto económico importante. Recientemente, los autores de la invención han demostrado un método original para obtener un producto astaxantina mediante semi-síntesis a partir de luteína que se derivó de extracto de caléndula. La luteína se convierte primero en zeaxantina por una tecnología conocida y, finalmente, en producto astaxantina mediante oxidación (tal como se describe antes). Se han sometido a ensayo diversas concentraciones de astaxantina en el producto de los autores de la invención en varios estudios para la coloración de la carne. Aunque estos estudios indicaban una coloración excelente de la carne, también todos ellos indicaban tasas de crecimiento sorprendentemente mejoradas para los peces alimentados con el aditivo de los autores de la invención frente a peces alimentados con el aditivo líder comercialmente disponible. Se determinó que los peces alimentados con el aditivo comercialmente disponible dejarían de comer en un instante mucho más temprano que los peces alimentados con alimentos que contienen concentraciones similares del aditivo de los autores de la invención. La diferencia es sorprendente y sustancial, con mejoras observadas en la tasa de crecimiento de alrededor del 40%. Claramente, esto tiene beneficios económicos principales en la industria.
- 10
- 15
- 20 Aun cuando no se conoce exactamente por qué los peces consumen sustancialmente más alimentos que contienen aditivo derivado de caléndula, existen algunas diferencias claras en la composición. Primeramente, en el aditivo de la presente invención están presentes azúcares residuales y proteínas y otras sustancias derivadas del extracto de la flor de la caléndula. Éstos pueden tener el efecto de mejorar las tasas de alimentación de los peces. En segundo lugar, el producto astaxantina de los autores de la invención difiere de los actualmente disponibles debido a que tiene diastereoisómeros R,S-meso esencialmente puros (>90%), mientras que el material sintético es una mezcla de diastereoisómeros R,R y S,S y R,S. El producto astaxantina derivado de forma natural de algas y de levaduras contiene predominantemente el diastereoisómero R,R o S,S. Por lo tanto, el producto de los autores de la invención es único en este sentido. También esto puede contribuir a la alimentación mejorada observada. El aditivo se deriva por el siguiente esquema.
- 25
- 30

ESQUEMA DE REACCIÓN

5

EJEMPLOS DE TRABAJOEjemplo 1

10

Truchas arcoíris de un peso medio aproximado de 132 g se pesaron y colocaron en quince tanques de 150 l suministrados con 6 l/min de agua de manantial a 14,5°C, no tratada, disponiendo 35 peces en cada uno de los tanques. Los peces fueron alimentados *ad lib* durante un período de 15 semanas. Se midió la alimentación total consumida para cada tratamiento. Los peces se agruparon en cinco tratamientos diferentes, con tres réplicas para cada uno. Tres de los tratamientos recibieron alimentación con la inclusión de astaxantina derivada de extracto de caléndula, y los otros dos tratamientos se utilizaron como testigos. Uno de los testigos tenía astaxantina sintética añadida, y el otro testigo no tenía astaxantina de fuente alguna.

15

20

A lo largo del experimento, se sacrificaron 9 peces de cada una de las réplicas de cada uno de los tratamientos para las mediciones del crecimiento y la pigmentación. En la Tabla 1 se resumen las relaciones en peso, alimentación y conversión para este experimento. La Relación de Conversión de los Alimentos (F. C. R. – siglas en inglés) se utiliza en su significado habitual que se define como la cantidad de alimento añadido/cantidad de producto obtenido.

TABLA 1

DATOS PARA PESOS, ALIMENTOS CONSUMIDOS Y RELACIONES DE CONVERSIÓN DE LOS ALIMENTOS EN ENSAYO EXPERIMENTAL CON TRUCHA ARCOIRIS (Pesos en kg)

Dieta	Nº de peces al principio	Nº de peces al final	Peso total al principio	Peso total al final	Ganancia de peso total	Peso medio al principio	Peso medio al final	Ganancia de peso medio	Alimentación total	F.C.R.
Testigo 1	105	78	13,896	31,461	17,565	0,132	0,403	0,271	29,694	1,73
Florafil AX-1	105	78	13,941	40,839	26,901	0,133	0,524	0,391	43,569	1,62
Florafil AX-2	105	78	14,049	40,350	26,301	0,134	0,517	0,384	41,478	1,58
Florafil AX-3	105	78	13,503	40,449	26,946	0,129	0,519	0,390	44,103	1,64
Testigo 2	105	78	14,070	30,576	16,506	0,134	0,392	0,258	29,043	1,77

En los tratamientos con astaxantina derivada de caléndulas (FLORAFIL-AX™) se obtuvo una ganancia en peso de más de 46% en comparación con los testigos. También, en los tratamientos con FLORAFIL-AX™, el peso final medio era superior a 500 gramos, mientras que en los tratamientos testigo se obtuvieron aproximadamente 400 gramos. Los peces en los tratamientos con FLORAFIL-AX™ comían mucho más, consumiendo más de 40 kg de alimentos en comparación con menos de 30 kg en los testigos. La relación de conversión de los alimentos también era mejor en los tratamientos con FLORAFIL-AX™ con una media global de 1,61 en comparación con 1,75 en los tratamientos testigo.

Ejemplo 2

Se realizó un ensayo de campo con trucha arcoíris para evaluar la pigmentación y el crecimiento en una piscifactoría comercial. Se dejó que los peces se desarrollaran en estanques tipo estanque rectangular con recirculación de agua ("raceways") de hormigón en los que los peces fueron alojados en dos secciones de estanques rectangulares diferentes. En una sección, los autores de la invención tenían el tratamiento testigo que fue alimentado con alimentación que contenía astaxantina sintética a razón de 90 ppm. El otro estanque rectangular tenía un tratamiento con una alimentación que contenía 90 ppm de astaxantina derivada de luteína procedente de extracto de caléndula. La temperatura del agua era constante a 16°C a lo largo del ensayo, como lo era el caudal a razón de 60 l/s. Los peces fueron alimentados hasta saciedad, la alimentación consumida se pesó para cada uno de los tratamientos y se calcularon las tasas de conversión en base a la biomasa inicial y final. La Tabla 2 presenta los datos para este ensayo.

TABLA 2

DATOS DE CRECIMIENTO Y CONVERSIÓN PARA ENSAYOS DE CAMPO EN TRUCHA ARCOIRIS EN UNA PISCIFACTORÍA COMERCIAL (Pesos en kg)

Tratamiento	Nº de peces al comienzo	Biomasa inicial	Nº de peces al final	Biomasa final	Alimentación consumida	Relación de conv.	Peso inicial medio	Peso final medio	Ganancia de peso media
Astaxantina sintética	500	74,5	459	154,6	125,2	1,56	0,149	0,337	0,188
Astaxantina derivada de caléndula	500	76,1	467	236,7	245,0	1,52	0,152	0,507	0,355

Los resultados demuestran claramente que los peces con una alimentación que contiene producto astaxantina derivado de extracto de caléndula comen mucho más. Es evidente que esta alimentación potencia la ingesta y, por consiguiente, el crecimiento según se manifiesta por el peso corporal. Al final del ensayo de alimentación, la ganancia en peso media mejoró en un 88,8% en los grupos de astaxantina derivados de caléndula (355 gramos) frente a astaxantina sintética (188 gramos). Se encontró que las relaciones de conversión eran muy similares.

Ejemplo 3

Camarón patiblanco (*Lipopenaeus vannamei*) con un peso inicial medio de 0,96 g fue introducido a una densidad de 25,04 individuos/metro cuadrado en cuatro estanques de cultivo diferentes. Para cada uno de los tratamientos había tres estanques para dar un total de 12 estanques. El tamaño de los estanques difería ligeramente tal como se muestra en la Tabla 3, en donde también se presenta un resumen de los rendimientos obtenidos después de la recogida. Todos los estanques fueron alimentados con las mismas dietas variando sólo en el tipo de pigmento utilizado y manteniendo uno como un testigo sin la adición de pigmentos. Se registró diariamente el peso de los alimentos suministrados a cada uno de los estanques y se calculó la relación de conversión de la alimentación después de la recogida. La crianza de las gambas se realizó siguiendo procesos comerciales normales y realizando exactamente las mismas operaciones en todos los estanques. Después de la recogida, el único tratamiento que tenía una producción mayor en comparación con el testigo era uno con astaxantina derivada de caléndula incluida en la dieta. Los tratamientos con la astaxantina sintética y alto contenido en zeaxantina tenían una tasa de supervivencia baja.

TABLA 3
ENSAYO DE CAMPO EN UNA GRANJA COMERICAL DE GAMBAS UTILIZANDO VARIAS FUENTES DE PIGMENTOS PARA EVALUAR LA PRODUCCIÓN

ALIMENTACIÓN	SUPERFICIE (Hectárea)	TIEMPO DE CRIANZA (Días)	RECOGIDA			
			% de supervivencia	kg	Kg/Ha	Relación conv. de alimentación
Con astaxantina derivada de caléndula (25 ppm)	15,8	100	75,4	35,067	2,219	1,43
Con pigmento con alto contenido en zeaxantina (80 ppm)	12,6	96	58,5	20,515	1,628	1,80
Con astaxantina sintética (25 ppm)	14,6	92	66,5	18,729	1,283	1,62
Sin pigmento añadido	13,7	98	72,8	28,125	2,053	1,50

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Un método para mejorar el consumo de los alimentos y las tasas de crecimiento para animales, que comprende añadir a los alimentos un producto astaxantina obtenido de un extracto de caléndula, en donde el producto astaxantina se obtiene del extracto de caléndula mediante un proceso que comprende: tratar el extracto de caléndula con una base fuerte para isomerizar luteína para formar zeaxantina; y oxidar la zeaxantina para obtener el producto astaxantina.
- 10 2.- Un método según la reivindicación 1, en el que el animal es un animal acuático, p. ej. un pez o crustáceo.
- 3.- Un método según la reivindicación 2, en el que el pez se selecciona del grupo que consiste en trucha o salmón.
- 4.- Un método según la reivindicación 2, en el que el crustáceo es gamba.
- 15 5.- Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el producto astaxantina se añade a la alimentación en una cantidad suficiente para producir una concentración de producto astaxantina entre 10 y 200 ppm, preferiblemente entre 50 y 120 ppm y, más preferiblemente, entre 20 y 30 ppm.