

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 645 389**

51 Int. Cl.:

A23K 20/179 (2006.01)

A23K 50/80 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.06.2010 PCT/NO2010/000248**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.12.2010 WO10151147**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.06.2010 E 10792389 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.08.2017 EP 2445358**

54 Título: **Aditivo alimentario de mejora de la retención de pigmento**

30 Prioridad:

25.06.2009 NO 20092428

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

05.12.2017

73 Titular/es:

TROUW INTERNATIONAL B.V. (100.0%)

Veerstraat 38

5831 JN Boxmeer, NL

72 Inventor/es:

KOPPE, WOLFGANG, M.;

BAARDSEN, GUNVOR, KRISTIN, LIEN y

MÖLLER, NIELS, PETER

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 645 389 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

Aditivo alimentario de mejora de la retención de pigmento

La invención se refiere a un alimento para salmónidos. Más particularmente, se refiere a un alimento que contiene antioxidantes solubles en agua seleccionados del grupo que consiste en ácido gálico y ácido siríngico, que aumentan la retención de pigmento en la carne de los salmónidos.

Los salmónidos son únicos entre los peces en su capacidad para depositar carotenoides en la carne de pescado, lo que les da a estos peces característicos músculos de color rojo. Por salmónidos se entiende especies de peces pertenecientes a la familia de Salmonidae. Ejemplos de dichas especies de peces son el salmón (*Salmo salar*) y la trucha de mar (*S. trutta trutta*), y el salmón del pacífico tal como salmón plateado (coho) (*Oncorhynchus kisutch*), salmón Chinook (*O. Tshawytscha*), salmón jorobado (*O. Gorbuscha*), salmón chum (*O. Keta*), salmón rojo (sockeye) (*O. nerka*) y trucha arco iris (*O. Mykiss*). En los salmónidos naturales, es el carotenoide astaxantina (3,3'-dihidroxi β,β -caroteno-4,4'-diona), el que causa principalmente el color rojizo.

El salmón de piscifactoría incluido el salmón del pacífico, la trucha arco iris y la trucha, se alimentan con pigmentos naturales idénticos añadidos, tales como los carotenoides, en particular, astaxantina, pero también cantaxantina, o una combinación de los dos pigmentos. El salmón de piscifactoría se ha convertido en un alimento común bien conocido por los consumidores en muchos países. El consumidor usa el color de la carne de pescado para evaluar la calidad del producto. Existe una conexión, si no lineal, entre la cantidad de astaxantina química en la carne de pescado y la intensidad del color y la saturación de color de la carne. Por tanto, un alto nivel de astaxantina, por ejemplo, 6-8 mg de astaxantina por kg de carne (ppm) se experimentará como un color rojizo intenso, mientras que un bajo contenido de astaxantina, por ejemplo 3-4 ppm, se experimentará como un color de la carne rojizo pálido y menos atractivo.

La cantidad de astaxantina en la carne de pescado de salmón es un parámetro de calidad importante para el cultivador de peces. Como se mencionó, la astaxantina se proporciona al pez como un aditivo en la alimentación. La astaxantina es un aditivo alimentario relativamente costoso, que ha ascendido al 15-20 % del costo total de la materia prima (Torrissen, OJ (1995). Estrategias de pigmentación de salmónidos. J. Appl. Ichtyol. 11: 276-281).

Por deposición, retención o pigmentación se entiende lo mismo en el presente documento, es decir, la cantidad de astaxantina medida químicamente en los músculos de los peces. La medición química da el resultado como mg de astaxantina por kg de músculo de pescado (peso húmedo). Esto también se puede dar como ppm.

Ha resultado que solo el 15 % de la astaxantina añadida en el alimento se deposita realmente en la carne de pescado (Torrissen, OJ 1989. Pigmentación de salmónidos: Las interacciones de astaxantina y cantaxantina en la deposición de pigmentación en la trucha arcoiris. Aquaculture 79: 363-374). Por lo tanto, ha sido un problema de gran consideración el poder aumentar la deposición de astaxantina en los músculos de los salmónidos, ya que incluso un pequeño aumento puede dar ahorros considerable en el costo de alimentación.

Se ha indicado que la astaxantina es necesaria para el crecimiento y la supervivencia del alevín de salmón (*S. salar*) y se debe añadir astaxantina a toda la alimentación de peces en una cantidad de al menos 10 mg/kg de alimentación. (Torrissen y Christiansen, 1995, Crecimiento y supervivencia del salmón del atlántico, *Salmo salar* L. alimentó diferentes niveles dietéticos de astaxantina. Primera alimentación de salmones. Aquaculture Nutrition 1: 189-198). Para aumentar la cantidad de astaxantina en los músculos, es necesario que la alimentación contenga al menos 15-25 mg de astaxantina/kg de alimentación, dependiendo de muchos factores, incluidas las condiciones de crecimiento. La alimentación comercial de peces para salmónidos contiene normalmente entre 20 y 70 mg de astaxantina por kg de alimentación. Las autoridades han establecido un límite superior de 100 ppm de astaxantina para la adición de astaxantina en la alimentación de peces.

En el cultivo comercial de peces de salmón, es común aplicar niveles de astaxantina de entre 40 ppm y 70 ppm cuando es deseable aumentar la cantidad de astaxantina química en los músculos de los peces. Después de haber alcanzado el nivel deseado, el nivel de astaxantina en la alimentación se reduce al llamado nivel de mantenimiento. Esto puede ser entre 20 y 30 ppm.

La astaxantina es un antioxidante que tiene un fuerte «efecto de enfriamiento» hacia el oxígeno singlete, y la astaxantina tiene un fuerte efecto eliminador hacia los radicales libres (Miki 1991. Funciones y actividades biológicas de los carotenoides animales. Pure Appl. Chem., 63: 141-146). Esto indica que la astaxantina tiene un importante papel biológico.

Debido a la importancia de la astaxantina para la evaluación de la calidad de los salmónidos y como un factor de costo en el cultivo comercial de peces, se han llevado a cabo considerables trabajos de investigación para mejorar la comprensión de los mecanismos de estabilidad de la astaxantina en la alimentación de peces, la absorción de astaxantina en los intestinos, el metabolismo de la astaxantina en los peces y los mecanismos de deposición en el músculo de los peces. Esto se hace visible, entre otras cosas, en una gran cantidad de artículos de investigación. Se sabe que los mecanismos varían entre las diferentes especies de salmónidos. La naturaleza idéntica carotenoide cantaxantina (β,β -caroteno-4,4'-diona) se usa como una alternativa más razonable a la astaxantina, pero da una

carne de pescado más amarillenta. Ambos pigmentos pertenecen al grupo xantofilas dentro de los carotenoides. Se describe que la retención de cantaxantina en la trucha arco iris (*O. mykiss*) es peor que la retención de astaxantina. En el salmón (*S. salar*) esto es opuesto en cuanto a que la retención de astaxantina es peor que para la cantaxantina (Buttle y col., 2001. El efecto del tipo de pigmento de alimentación sobre la deposición y el color del pigmento de carne en el salmón atlántico cultivado, *Salmo salar* L., *Aquaculture Research*, 32, 103-111). Por lo tanto, se debe tener precaución al transferir los resultados de los ensayos en la trucha arcoiris al salmón. En el salmón se muestra que la retención disminuye con el aumento de la cantidad de astaxantina en la alimentación (Bjerkeng y col., 1999. Deposición de astaxantina en filetes de salmón del atlántico, *Salmo salar* L. alimentó dos niveles dietéticos de astaxantina en combinación con tres niveles de α -tocoferil acetato. *Aquaculture Research* 30, 637-646), sin embargo, el contenido total de astaxantina química en el músculo de los peces aumenta con el aumento de la cantidad de astaxantina añadida. Existen diferentes mecanismos que explican esto, pero significa que los resultados conseguidos con un alto nivel de adición de astaxantina no serán necesariamente válidos para un bajo nivel de adición. Por un bajo nivel de adición se entiende que la alimentación contiene de 10 a 30 ppm de astaxantina. Un nivel medio corresponde de 40 a 60 ppm y un alto nivel corresponde a más de 60 ppm de astaxantina en la alimentación. También se ha demostrado que el contenido de grasa en la alimentación es importante para la retención de astaxantina. La astaxantina es parcialmente soluble en grasa y la retención aumenta con el aumento de la cantidad de grasa (Bjerkeng y col., 1997, Parámetros de calidad de la carne del salmón del atlántico (*Salmo salar*) afectados por el contenido de grasa en la dieta y la harina de soja entera como sustituto parcial de la harina de pescado en la dieta. *Aquaculture* 157, 297-309). Un alimento que contiene menos del 15 por ciento de grasa en peso tiene un nivel muy bajo de grasa y no es adecuado para la alimentación de salmónidos. Los alimentos que contienen entre 15 y 20 por ciento de grasa en peso tienen un bajo nivel de grasa. Los alimentos que contienen entre 20 y 30 por ciento de grasa en peso tienen un nivel medio de grasa. Los alimentos que contienen entre 30 y 35 por ciento de grasa en peso tienen un alto contenido de grasa, y los alimentos que contienen más del 35 por ciento de grasa en peso tienen un contenido de grasa muy alto. Esto significa que los resultados conseguidos con un alimento que contiene muy poca grasa no se pueden transferir directamente a una situación en la que el pescado se alimenta con un alimento que contiene medio, alto o muy alto contenido de grasa. También se sabe que la vitamina E liposoluble en algunas circunstancias puede mejorar la pigmentación en el salmón (Bjerkeng y col., 1999. Deposición de astaxantina en filetes de salmón del atlántico, *Salmo salar* L. alimentó dos niveles dietéticos de astaxantina en combinación con tres niveles de α -tocoferil acetato. *Aquaculture Research* 30, 637-646); Christiansen y col., 1993. Efectos de los ácidos grasos poliinsaturados y la vitamina E sobre la pigmentación de la carne en el salmón del atlántico (*Salmo salar*). *Nutrición de pescado en la práctica*, Biarritz, 24-27 de junio, 1991. Ed. INRA Les Colloques, n.º 61).

La temporada y/o el tiempo en el mar en relativo al ciclo de vida han resultado ser importantes para la velocidad de la pigmentación. Esto se demuestra entre otros por Torrissen y col., 1995. Deposición de astaxantina en la carne del salmón del atlántico, *Salmo salar* L., en relación con la concentración de astaxantina en la dieta y el período de alimentación. *Aquacult Nutr.* 1:77-84, Nordgarden y col., 2003 Cambios estacionales en parámetros de calidad muscular seleccionados en el salmón del atlántico, (*Salmo salar* L. criados bajo luz natural y continua. *Aquacult Nutr.* 9: 161-168 y Ytrestøl y col., 2008. Utilización de astaxantina en el salmón del atlántico desde el traslado del agua de mar hasta el sacrificio. XIII Simposio Internacional sobre Nutrición y Alimentación de Peces. 1-5 de junio. Se señala en el presente documento que la velocidad de crecimiento tiene importancia para la retención de astaxantina y que la temperatura del agua juega un papel en la concentración de astaxantina en el plasma.

Normalmente, el nivel de astaxantina en los salmónidos aumentará con el aumento del peso de los peces. Esto se muestra en ao Torrissen y col., 1995. Deposición de astaxantina en la carne del salmón del atlántico, *Salmo salar* L., en relación con la concentración de astaxantina en la dieta y el período de alimentación. *Aquacult Nutr.* 1: 77-84 y Torrissen y Naevdal, 1998. Pigmentación de salmónidos - variación de los carotenoides de la carne del salmón del atlántico. *Aquaculture* 101, 305-310.

En su sentido original y más amplio, la extrusión significa crear un objeto que tiene un perfil transversal fijo. Esto se hace tirando o forzando un material formable a través de una abertura de la matriz que tiene la sección transversal deseada. En la industria de alimentación y la industria de alimentación para animales, especialmente en la industria de alimentación para peces, el término extrusión se usa en un sentido más restringido. En estas industrias se usan las denominadas extrusoras del tipo de un solo tornillo o doble tornillo. El material extruido es una mezcla de materias primas de proteína, materias primas que contienen almidón, grasa, por ejemplo en forma de aceites y agua. El agua puede añadirse a la mezcla en forma de agua o vapor. Además, la mezcla puede consistir en minerales y vitaminas y posiblemente en un pigmento. La mezcla se puede calentar previamente en un denominado preacondicionador en el que el calentamiento se lleva a cabo mediante la adición de vapor a la mezcla. También se puede añadir vapor y agua a la sustancia dentro de la extrusora. En la propia extrusora, la masa como sustancia se fuerza mediante los tornillos hacia una constricción en el extremo de salida de la extrusora y a través de una placa de matriz en la que la sustancia obtiene una forma de sección transversal deseada. En el exterior de la placa de la matriz, normalmente hay una cuchilla giratoria que corta la cuerda que sale de los orificios de la matriz en la longitud deseada. Normalmente, la presión en el exterior de la placa de la matriz será igual a la presión que la rodea. El producto extruido se denomina extrudado. Debido a la presión creada dentro de la extrusora y a la adición de vapor a la sustancia, la temperatura está por encima de 100 °C y la presión estará por encima de la presión atmosférica en la sustancia antes de que se fuerce a través de las aberturas de la matriz. Este procedimiento de extrusión también

se denomina extrusión de cocción.

5 La extrusión de cocción del material que contiene almidón provoca que los gránulos de almidón se hinchen de tal manera que el almidón cristalino en los gránulos se libera y puede desplegarse. Esto se denomina gelatinización del almidón. Las moléculas de almidón formarán una red que contribuirá a unir el producto extruido. Particularmente en la alimentación de peces carnívoros se añade almidón que contiene materias primas, debido a su capacidad como agentes aglutinantes en la alimentación para peces finalizada. La presa natural de los peces carnívoros no contiene almidón. Los peces carnívoros tienen pequeñas cantidades de enzimas capaces de cambiar el almidón a azúcar digerible. La cocción del almidón hace que sea más digerible. Esto se debe en parte a que el almidón ya no está en una forma bruta y cristalina, y en parte porque el procedimiento de cocción inicia una descomposición del almidón en unidades de azúcar más pequeñas, que son más fáciles de digerir.

Otro efecto de la extrusión de cocción sobre la mezcla de proteínas, carbohidratos y grasa, es que estos formarán complejos y uniones que pueden tener efectos tanto positivos como negativos sobre la digestibilidad de la mezcla.

15 Un efecto adicional de la extrusión de cocción es que el producto extruido se vuelve poroso. Esto se debe a la caída de presión y a la caída de temperatura sobre la abertura de la matriz. El agua en el producto extruido se expandirá inmediatamente y se liberará como vapor dejando una estructura porosa en el producto extruido. Esta estructura porosa se puede llenar de aceite en un paso posterior del procedimiento. Una alimento extruido típicamente contendrá entre 18 y 30 % de agua después de la extrusión. Después de la extrusión, este alimento pasa por una etapa de secado y la siguiente etapa de revestimiento de aceite. El producto final contiene aproximadamente un 10 % de agua o menos y, por tanto, será estable al almacenamiento, ya que la actividad del agua es tan baja en dichos alimentos, que se previene el crecimiento de hongos y mohos y también se evita la desintegración bacteriana. Después de revestir con aceite, el alimento se enfría y se embala.

Por extrusión se entiende lo siguiente, extrusión de cocción mediante una extrusora de un solo tornillo o una extrusora de doble tornillo. Por un alimento extruido se entiende un alimento producido por extrusión de cocción, mediante una extrusora de un solo tornillo o una extrusora de doble tornillo.

25 Por alimento prensado se entiende un alimento producido mediante una prensa de alimentación. Este procedimiento difiere de la extrusión de varias maneras. Se usa menos agua y vapor en el procedimiento. La mezcla de alimentación se fuerza a través de un anillo de matriz desde el interior hacia afuera mediante rodillos que giran en el interior del anillo de la matriz. La temperatura y la presión son más bajas que en la extrusión, y el producto no es poroso. El procedimiento implica que el almidón no es tan digestivo como después de la extrusión. Un alimento prensado normalmente contendrá menos del 10 % de agua después de presionar, y cualquier revestimiento de aceite. No es necesario secar un alimento prensado. El alimento se enfría antes de embalar.

30 Por alimento de pescado formulado se entiende un alimento compuesto por una o más fuentes de proteína tales como, pero sin limitación, proteínas marinas tales como harina de pescado y harina de krill, proteína vegetal tal como harina de soja, harina de semilla de colza, gluten de trigo, gluten de maíz, harina de altramuz, harina de guisante, harina de semilla de girasol y harina de arroz, y residuos de matadero, como harina de sangre, harina de huesos, harina de plumas y harina de pollo. Al mezclar diferentes fuentes de proteína, teniendo cada una su propio perfil de aminoácidos, es posible dentro de determinados límites conseguir un perfil de aminoácidos deseado en el alimento adaptado a las especies de peces para la que está destinado el alimento.

40 Un alimento formulado contiene además, como aceite de pescado y/o aceites vegetales tales como aceite de colza y aceite de soja, como fuente de energía. Un alimento formulado también contiene un aglutinante, generalmente en forma de materia prima rica en almidón, tal como trigo o harina de trigo, harina de patata, arroz, harina de arroz, harina de guisante, judías o harina de tapioca para darle al alimento la resistencia deseada y la estabilidad de forma.

45 Un alimento formulado contiene además los minerales y las vitaminas necesarios para cuidar del buen crecimiento y la buena salud de los peces. El alimento puede contener además otros aditivos tales como pigmentos, para conseguir determinados efectos.

50 Por tanto, un alimento de pescado formulado es un alimento compuesto en el que se calcula que las cantidades relativas entre proteínas, grasa, carbohidratos, vitaminas, minerales y cualquier otro aditivo se adaptan de manera óptima a las necesidades nutricionales de la especie de pescado basándose en la edad del pez. Es común que la alimentación se haga con solo un tipo de alimento y con que cada porción de alimento sea nutricionalmente adecuada.

Por un alimento formulado seco, se entiende un alimento del tipo prensado o extruido.

55 La persona versada en la técnica sabrá que puede existir condiciones que conduzcan a desviaciones entre un valor deseado para un componente de alimentación en una receta y un valor real para el componente en la alimentación producida. Por lo tanto, un secado demasiado pequeño o un secado demasiado grande del alimento en el procedimiento de producción lleva a que los otros componentes se «adelgazen» o «concentren», respectivamente. En consecuencia, una adición de aceite demasiado grande o demasiado pequeña al alimento secado llevará a un «adelgazamiento» o «concentración» de los otros ingredientes, respectivamente. Algunos componentes de

alimentación sensibles, tales como astaxantina, pueden incluso destruirse parcialmente en el procedimiento de producción del alimento, por ejemplo, en la etapa de extrusión o en la etapa de secado. Esto se conoce como la denominada pérdida de procedimiento. Además, la cantidad de componentes de alimentación sensibles puede reducirse en el almacenamiento del alimento, lo que se denomina pérdida de almacenamiento. En la formulación de un alimento para peces se prepara una asignación para estas condiciones, por ejemplo, añadiendo más astaxantina que el nivel deseado de astaxantina. Por tanto, en el análisis de la astaxantina en un alimento para peces, se puede encontrar que el valor real difiere por ser menor que el valor declarado o superior al valor declarado. Por tanto, una alimentación para peces declarada que contiene 10 ppm de astaxantina, puede contener menos de 10 ppm de astaxantina y, en consecuencia, una alimentación de peces declarada que contiene 40 ppm de astaxantina podría contener más de 40 ppm de astaxantina. Una desviación negativa, es decir, «menos de», puede ser, por regla general, mayor que una desviación positiva.

Los polifenoles son un grupo grande y complejo de sustancias naturales que se encuentran en las plantas. A continuación, la clasificación dada por Belitz y Grosch (1999) en Food Chemistry, 764-775. Springer, segunda edición, se usa como base. Estos autores dividen las sustancias fenólicas en:

- 1) Ácidos hidroxicinámicos, hidroxicumarinas y ácidos hidroxibenzoicos. Debe señalarse que otros usan el término ácidos fenol carboxílicos como un término común para estos tres grupos;
- 2) Flavan-3-oles (catequinas), flavan-3,4-oles y proantocianidinas (agentes de curtido condensados);
- 3) Antocianidinas;
- 4; flavanonas; y
- 5) flavonas y flavonoles

Debe señalarse que los grupos 2-5 de muchos se agrupan entre sí en un grupo principal llamado flavonoides.

El ácido ferúlico (ácido 3-(4-hidroxi-3-metoxifenol)prop-2-enoico) es un representante del grupo de los ácidos hidroxicinámicos. El ácido gálico (ácido 3,4,5-hidroxibenzoico) y el ácido siríngico (ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzoico) son representantes de ácidos hidroxibenzoicos.

El documento de patente EP 1284101 da cuenta del uso de polifenoles del tipo flavonoides, más particularmente proantocianidinas en combinación con carotenoides en la alimentación de peces para mejorar el color de la piel de pescado y de la carne de pescado. Más particularmente, es de 0,004-0,02 por ciento en peso de astaxantina usada en la alimentación. Esto es igual a de 40 a 200 mg de astaxantina por kg de alimentación, que también puede proporcionarse como 40 a 200 ppm. En un ejemplo con la trucha arco iris, el pescado fue alimentado durante dos meses con un alimento compuesto por 60 % de harina de pescado, 24 % de harina de trigo, 10 % de torta de aceite de soja y 6 % de otros ingredientes, incluyendo grasa y fosfato de calcio. Una persona versada en la técnica de la nutrición de los peces, con la ayuda de tablas de nutrición convencionales, descubrirá que esta alimentación tenía una composición de componentes principales igual a aproximadamente 46-47 % de proteína, 13-15 % de grasa, 9,2-9,4 % de ceniza y aproximadamente 1,8 % de fibra si los valores de la harina de soja entera o de soja extraída se usan para la torta de aceite de soja. En el documento de patente se menciona en la Tabla 2 que la composición de los componentes principales se encuentra dentro de los siguientes límites: proteína bruta > 46 %, grasa bruta > 12 % y ceniza bruta < 17 %. A esta alimentación se añadió 80 ppm de astaxantina. En la alimentación experimental, se añadió un 0,1 % adicional del producto comercial KPA-F de Kikoman KK. Se menciona que este producto contiene 16 % de proantocianidina. Convertido, esto es igual a que la alimentación contiene 160 ppm de proantocianidina. El documento de patente WO2001/095747 menciona que la proantocianidina en este producto es un extracto común de las semillas de toronja. Al final del experimento, se midió un contenido químico de 6,57 ppm de astaxantina en el músculo para el grupo que recibió astaxantina y 8,25 ppm en el músculo para el grupo que recibió además proantocianidina.

En otro ejemplo, el pescado fue alimentado con el producto comercial Tennen Shiageyou 5p vendido por Nippon Haigoou Shiryō KK. Esta es una alimentación prensada. La composición de esta alimentación fue de 54 % de harina de pescado, 39 % de trigo y soja extraída, 5 % de salvado de arroz y 2 % de fosfato de calcio, sal y cantaxantina. La composición de los componentes principales para esta alimentación fue proteína bruta > 46 %, grasa bruta > 7 % y ceniza bruta < 13 %.

La cantidad de astaxantina en la alimentación no se especifica, pero se supone que es igual que en el Ejemplo 1, es decir, 80 ppm. La cantidad de proantocianidina fue de 160 ppm.

El documento JP8332052 enseña a usar flavanol en combinación con ácido kójico para estabilizar el color, por ejemplo, en la carne de pescado molido, alimentos saludables y alimento para peces. Este documento de patente no enseña que la combinación de astaxantina, flavanol y ácido kójico en la alimentación para peces debería aumentar la retención de astaxantina en el músculo de los peces, y la persona versada en la técnica no puede deducir tal efecto a partir de este documento de patente.

El documento JP2006-50901-A /WO 2004/006687 se refiere a una alimentación, incluyendo la alimentación de peces, que contiene carotenoide, que incluye astaxantina, fenol propanoide, que incluye ácido ferúlico y ácido fítico. El documento de patente muestra que la mezcla tiene un efecto estabilizador ventajoso de la astaxantina en las

alimentaciones. El documento de patente no documenta que el alimento se le da al pescado. La persona versada en la técnica no puede deducir a partir de este documento de patente que el ácido ferúlico solo o en combinación con los otros aditivos debería dar una mayor retención de astaxantina en el músculo de los peces.

5 El documento JP2005-176799-A se refiere a un alimento para peces que contiene astaxantina y ácido ferúlico y gamma-orizanol. El documento de patente muestra que la mezcla de ácido ferúlico y gamma-orizanol actúa como estabilizador en la astaxantina en la alimentación de peces, como se muestra en la Tabla 6. El documento de patente muestra además que la combinación tiene un efecto favorable sobre el color de la piel de la dorada cuando la alimentación contiene 60 ppm de astaxantina. La mayor parte de este efecto se debe a los aditivos que evitan o reducen la producción de melanina de modo que los colores se vuelven más brillantes. El análisis químico de la piel
10 de los peces muestra un aumento en el nivel de astaxantina de aprox. 10 % en una combinación de 50 ppm de ácido ferúlico y 100 ppm de gamma-orizanol como se muestra en la Tabla 4. La adición de solo 100 ppm de ácido ferúlico no dio aumento y 1000 ppm de ácido ferúlico dio un aumento leve. La persona versada en la técnica no puede deducir a partir de este documento de patente que el ácido ferúlico debería dar una mayor retención de astaxantina en el músculo de los peces.

15 El documento JP 2002 218940 se refiere a una solución que contiene ácido gálico para estabilizar el color de un filete de pescado después de que el pescado haya sido sacrificado, congelado y descongelado.

El objeto de la invención es remediar o reducir, al menos, una de las desventajas de la técnica anterior.

El objeto se consigue en virtud de las características desveladas en la descripción anterior y en las siguientes reivindicaciones.

20 En un primer aspecto, la invención se refiere a un alimento para peces formulado y extrusado, que contiene menos de 10 por ciento en peso de ceniza, más de 20 por ciento en peso de grasa y menos de 20 por ciento en peso de un almidón que contiene materia prima y astaxantina. El alimento para peces contiene, al menos, un antioxidante soluble en agua seleccionado de un grupo que consiste en ácido gálico (ácido 3,4,5-hidroxibenzoico) y ácido
25 siríngico (ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzoico), en el que el antioxidante soluble en agua está presente en una cantidad de entre 10 a 75 ppm o en una cantidad de entre 76 a 750 ppm basándose en el peso total del alimento. El alimento para los peces contiene de 10 a 40 mg de astaxantina por kg de alimento.

Dicho pigmento puede ser una astaxantina natural idéntica, en especial, una astaxantina sintética. Dicho pigmento puede seleccionarse adicionalmente entre el grupo que consiste en astaxantina natural y astaxantina sintética.

30 Dicho alimento para peces contiene además más de 25 % de grasa. Esto tiene la ventaja de que el alimento para los peces es adecuado para la alimentación de salmónidos de piscifactoría. En una realización alternativa, dicho alimento para peces puede contener más de 30 % de grasa y en una realización alternativa adicional contiene más de 33 % de grasa.

En un segundo aspecto, la invención se refiere a un procedimiento para aumentar una retención de astaxantina en la carne de los salmónidos con el pescado que es alimentado con un alimento de acuerdo con la descripción anterior.

35 A continuación se describen ejemplos de las realizaciones preferentes ilustradas en las figuras adjuntas en los que:

La Figura 1 muestra la retención de astaxantina en el músculo de los peces dada como % de la cantidad añadida de astaxantina en la alimentación a tres niveles diferentes de astaxantina combinados con cuatro niveles diferentes de ácido gálico en la alimentación y comparados con una alimentación de control sin ácido gálico;

40 La Figura 2 muestra la retención de astaxantina en el músculo de los peces dada como cantidad química de astaxantina en el músculo de los peces a dos niveles diferentes de astaxantina en la alimentación para un alimentación de control y una alimentación con un nivel de inclusión bajo y medio de ácido ferúlico y

45 la Figura 3 muestra la retención de astaxantina en el músculo de los peces dada como cantidad química de astaxantina en el músculo de los peces a dos niveles diferentes de astaxantina en la alimentación para un alimentación de control y una alimentación con un nivel de inclusión bajo y medio de ácido siríngico.

Ejemplo 1

50 El ensayo se llevó a cabo en salmón (*S. salar*) durante un período de 5,5 meses entre el 11 de noviembre y el 5 de mayo. El ensayo se llevó a cabo en vasos que tenían un diámetro de 1 metro. Los vasos se llenaron de agua de mar y la temperatura del agua varió entre 8 y 12 °C en el período. Había 34-35 peces en cada vaso. El peso medio al inicio fue de 118 g. El grupo de control consistió en tres vasos, mientras que cada grupo de ensayo consistió en un vaso.

La Tabla 1 muestra la composición de la alimentación de control.

Tabla 1. Receta para la alimentación de control, formulada para contener 15, 30 y 45 ppm de astaxantina.

Materia prima	Cantidad (%)
Concentrado de proteína de soja, Imcopa	15,9
Trigo	16,2
Gluten de trigo	7,1
Harina de pescado, LT sudamericana	38,2
Aceite de pescado, nórdico	22,4
Betafin	0,042
35 % de lutavit C aquastab	0,014
Mezcla de minerales	0,1
Mezcla de vitaminas	0,1
Carofila rosa ¹⁾	0,015; 0,030; 0,045
¹⁾ Contiene un mínimo de 10 % de astaxantina pura	

Las alimentaciones tenían la siguiente composición principal de componentes: 43,5 % de proteína; 27,7 % de grasa; 7,8 % de agua y 8 % de ceniza.

5 Se produjo una alimentación que tenía tres niveles diferentes de astaxantina, 15, 30 y 45 mg de astaxantina/kg, respectivamente, tanto de las alimentaciones de control como de las alimentaciones de ensayo, en esas diferentes cantidades de Carophyll Pink se añadieron a la mezcla de alimentación antes de la extrusión.

10 La adición de ácido gálico en la mezcla de harinas a la misma receta que las alimentaciones de control proporcionó las alimentaciones de ensayo. Se añadió ácido gálico en cuatro niveles a las alimentaciones de ensayo, bajo, medio, alto y muy alto, respectivamente. El nivel bajo corresponde a un nivel de inclusión entre 10 y 75 ppm, representado en los ejemplos con un nivel de inclusión de 15 ppm, el nivel medio corresponde a un nivel de inclusión de entre 76 y 750 ppm, representado en los ejemplos con un nivel de inclusión de 400 ppm, el nivel alto corresponde a un nivel de inclusión de entre 751 y 1500 ppm, representado en el ejemplo con un nivel de inclusión de 1200 ppm, y el nivel muy alto corresponde a un nivel de inclusión de más de 1500 ppm, representado en el ejemplo con un nivel de inclusión de 3600 ppm.

15 Al término del ensayo, los peces pesaron en promedio 557 g. SGR estuvo entre 0,84 % /d y 0,89 %/d. Los peces fueron fileteados y los filetes fueron analizados para la determinación de astaxantina química en duplicados de muestras combinadas de filetes. La astaxantina se analizó con HPLC de acuerdo con un procedimiento desarrollado por Roche con modificaciones. Los resultados se muestran en la Figura 1.

20 Como se muestra en la Figura 1 la retención de astaxantina fue relativamente constante cuando el nivel variaba entre 15 y 40 ppm de astaxantina en la alimentación de control. Se sabe que la retención de astaxantina disminuye con el aumento de la cantidad de astaxantina, particularmente a niveles desde 40 ppm hacia arriba (Ytrestøl y col., 2008. Utilización de astaxantina en el salmón del atlántico desde el traslado del agua de mar hasta el sacrificio. XIII Simposio Internacional sobre nutrición y alimentación de peces. 1-5 de junio). Los resultados indican además que los altos niveles de inclusión del ácido gálico dificultan la retención de astaxantina. La adición de ácido gálico a un nivel muy alto da una retención peor que en los otros niveles ensayados. Esto puede deberse a que el ácido gálico en este nivel se comporta como un pro-oxidante. Este fenómeno lo describe Edwin N. Frankel, 2007, Antioxidants in Food and Biology, The Oily Press, 2007.

30 El ensayo muestra sorprendentemente que el nivel de inclusión más bajo de ácido gálico tiene un efecto igualmente bueno sobre la retención de astaxantina como un nivel medio. También es evidente que este efecto es mayor con bajos niveles de astaxantina en la alimentación, ya que hay poca diferencia en la retención cuando el contenido de astaxantina en las alimentaciones es de aprox. 40 ppm. Sin quedar ligado a esto como una teoría, el inventor supone que los efectos observados pueden deberse al antioxidante añadido que reduce la necesidad de astaxantina o sustituye algunas de las funciones biológicas de la astaxantina en las funciones de mantenimiento que la astaxantina podría tener a niveles más bajos de astaxantina.

35 El ensayo mostró que la retención de astaxantina aumentó considerablemente con bajos niveles de astaxantina en la alimentación. Se cree que los niveles de 15-20 ppm de astaxantina en la alimentación son un nivel de mantenimiento, es decir, que el pescado mantiene el nivel de astaxantina en el músculo cuando crece. Se cree que los niveles de 20-70 ppm son un nivel de coloración, es decir, que el pescado aumenta el nivel de astaxantina en el músculo cuando crece y, por lo tanto, la carne se vuelve de un color rojo más intenso. Utilizando la invención, la cantidad de astaxantina en la alimentación puede reducirse para mantener el nivel de pigmento en los músculos.

Utilizando la invención también se puede usar un nivel más bajo de astaxantina en la alimentación de lo que es, por el contrario, normal, para mejorar el color rojizo en el músculo. Ambas utilidades proporcionarán ahorros considerables en el costo del pigmento.

Ejemplo 2

5 El ensayo se llevó a cabo con salmón (*S. salar*) desde el 4 de mayo hasta el 20 de agosto. El ensayo se llevó a cabo en vasos que tenían un diámetro de 1 metro. Los vasos se llenaron de agua de mar y la temperatura del agua varió entre 8,3 y 11,8 °C en el período. Había 30 peces en cada vaso que tenían un peso medio de 0,2 kg al inicio. El grupo de control consistió en dos vasos por dieta, mientras que el grupo de ensayo consistió en un vaso a la inclusión media de ácido ferúlico y dos vasos por dieta a baja inclusión de ácido ferúlico.

10 Tabla 2. Composición de la alimentación de control formulada para contener 20 ppm y 40 ppm de astaxantina.

Materia prima	Inclusión (%)
Trigo	13,7
Gluten de trigo	10,9
Harina de pescado, LT sudamericana	38,0
Concentrado de proteína de soja, Imcopa	13,4
Aceite de pescado, nórdico	23,7
Minerales y vitaminas	0,3
Carofila rosa ¹⁾	0,020; 0,040
¹⁾ Contiene un mínimo de 10 % de astaxantina pura	

La alimentación tenía la siguiente composición principal de componentes: 44,5 % de proteína; 28,2 % de grasa; 7,6 % de agua y 7,2 % de ceniza.

15 La alimentación de ensayo tenía la misma composición que la mostrada en la Tabla 2 y además había añadido ácido ferúlico como polvo seco en la mezcla de harinas antes de la extrusión. El ácido ferúlico se añadió a dos niveles: bajo y medio, en el que los niveles se definen como en el Ejemplo 1.

Cada alimento se formuló con dos niveles de astaxantina, 20 y 40 mg/kg.

20 Al término del ensayo, los peces pesaron 0,7 kg como promedio. Los peces mostraron un crecimiento como se esperaba en cuanto a que el factor de conversión del alimento estaba entre 0,84 y 0,88, mientras que el SGR estaba entre 1,10 %/d y 1,21 %/d. Los peces fueron fileteados y el filete, analizado para la determinación de astaxantina. Treinta peces por vaso fueron analizados individualmente con NIR. Los resultados se muestran en la Figura 2. La Figura 2 muestra los valores analizados reales para la astaxantina en las diferentes alimentaciones.

25 El ensayo mostró como se esperaba que la cantidad de astaxantina química aumentó en los músculos con una mayor cantidad de astaxantina en la alimentación en este intervalo de inclusión. La adición de un bajo nivel de ácido ferúlico tuvo un efecto favorable sobre la retención de astaxantina cuando la alimentación contenía menos de 20 ppm de astaxantina. La adición de un nivel medio de ácido ferúlico tuvo un efecto favorable sobre la retención de astaxantina cuando la alimentación contenía más de 30 ppm de astaxantina.

Ejemplo 3

30 El ensayo se llevó a cabo con salmón (*S. salar*) desde el 4 de mayo hasta el 20 de agosto. El ensayo se llevó a cabo en vasos que tenían un diámetro de 1 metro. Los vasos se llenaron de agua de mar y la temperatura del agua varió entre 8,3 y 11,8 °C en el período. Había 30 peces en cada vaso que tenían un peso medio de 0,2 kg al inicio. El grupo de control consistió en dos vasos por dieta, mientras que el grupo de ensayo consistió en un vaso a la inclusión media de ácido siríngico y dos vasos por dieta a baja inclusión de ácido siríngico.

La Tabla 3 muestra la composición de las alimentaciones de control.

Tabla 3. Composición de la alimentación de control formulada para contener 20 ppm y 40 ppm de astaxantina.

Materia prima	Inclusión (%)
Trigo	13,7
Gluten de trigo	10,9
Harina de pescado, LT sudamericana	38,0
Concentrado de proteína de soja, Imcopa	13,4
Aceite de pescado, nórdico	23,7
Minerales y vitaminas	0,3
Carofila rosa ¹⁾	0,020; 0,040
¹⁾ Contiene un mínimo de 10 % de astaxantina pura	

La alimentación tenía la siguiente composición principal de componentes: 44,3 % de proteína; 28,4 % de grasa; 7,5 % de agua y 7,2 % de ceniza.

5 A la alimentación de control se añadió ácido síngico como polvo seco en la mezcla de harinas antes de la extrusión. El ácido síngico se añadió a dos niveles: bajo y medio, en el que los niveles se definen como en el Ejemplo 1.

Cada alimento se formuló con dos niveles de astaxantina, 20 y 40 mg/kg.

10 Al término del ensayo, los peces pesaron 0,7kg. El pescado había mostrado un crecimiento como se esperaba en cuanto a que el factor de conversión del alimento estaba entre 0,84 y 0,86, mientras que el SGR estaba entre 1,10 %/d y 1,21 %/d. El pescado fue fileteado y el filete analizado para la determinación de astaxantina (30 peces por vaso fueron analizados individualmente con NIR). Los resultados se muestran en la Figura 3. La Figura 3 muestra los valores analizados reales para la astaxantina en las diferentes alimentaciones.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Alimento para peces formulado y extruido, que contiene menos de 10 por ciento en peso de ceniza, más de 20 por ciento en peso de grasa y menos de 20 por ciento en peso de materia prima que contiene almidón y astaxantina, **caracterizado porque** el alimento para peces contiene, al menos, un antioxidante soluble en agua seleccionado de un grupo que consiste en ácido gálico y ácido siríngico, en el que el antioxidante soluble en agua está presente en una cantidad de 10 a 75 ppm o en una cantidad de 76 a 750 ppm en base al peso total del alimento y en el que el alimento para peces contiene de 10 a 40 mg de astaxantina por kg de alimento.
- 10 2. Alimento para peces de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** dicho alimento para peces contiene más de 25 por ciento en peso de grasa.
- 15 3. Procedimiento para aumentar la retención de pigmento en la carne de los salmónidos, en el que el procedimiento consiste en proporcionar un alimento para peces que contiene menos de 10 por ciento en peso de ceniza, más de 20 por ciento en peso de grasa y menos de 20 por ciento en peso de materia prima que contiene almidón y astaxantina, **caracterizado porque** el alimento para peces se complementa con, al menos, un antioxidante soluble en agua seleccionado de un grupo que consiste en ácido gálico y ácido siríngico, en el que el antioxidante soluble en agua está presente en una cantidad de 10 a 75 ppm o en una cantidad de 76 a 750 ppm en base al peso total del alimento y en el que el alimento para peces se complementa adicionalmente con de 10 a 40 mg de astaxantina por kg de alimento para peces y dicho pez salmónido es alimentado con el alimento, con el fin de aumentar la retención de astaxantina en la carne.

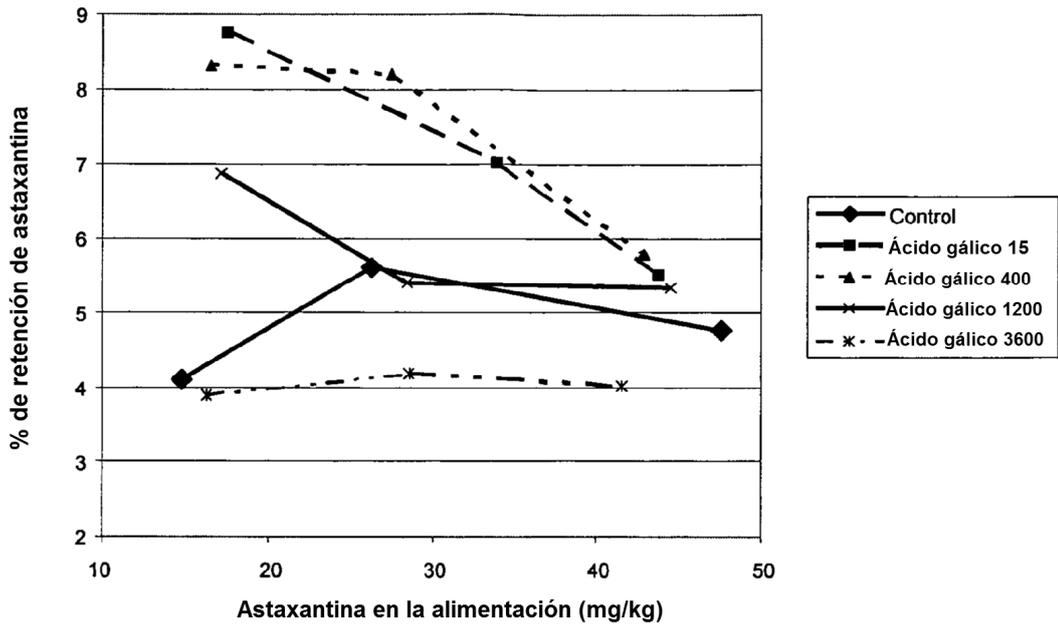


Figura 1. Retención en % de astaxantina relativa a la cantidad de astaxantina y ácido gálico (ppm) en la alimentación

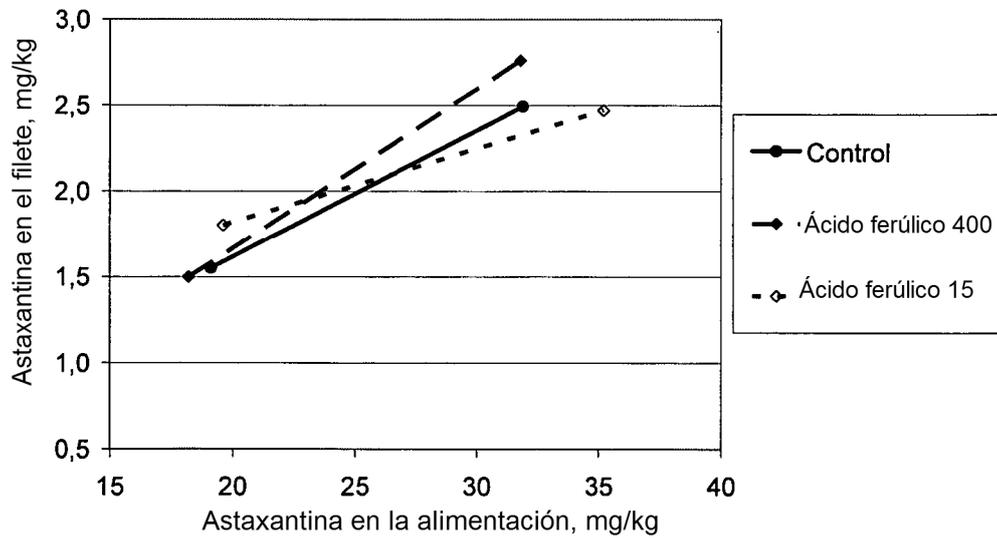


Figura 2. Astaxantina en el filete de pescado relativa a la cantidad de astaxantina y ácido ferúlico (ppm) en la alimentación

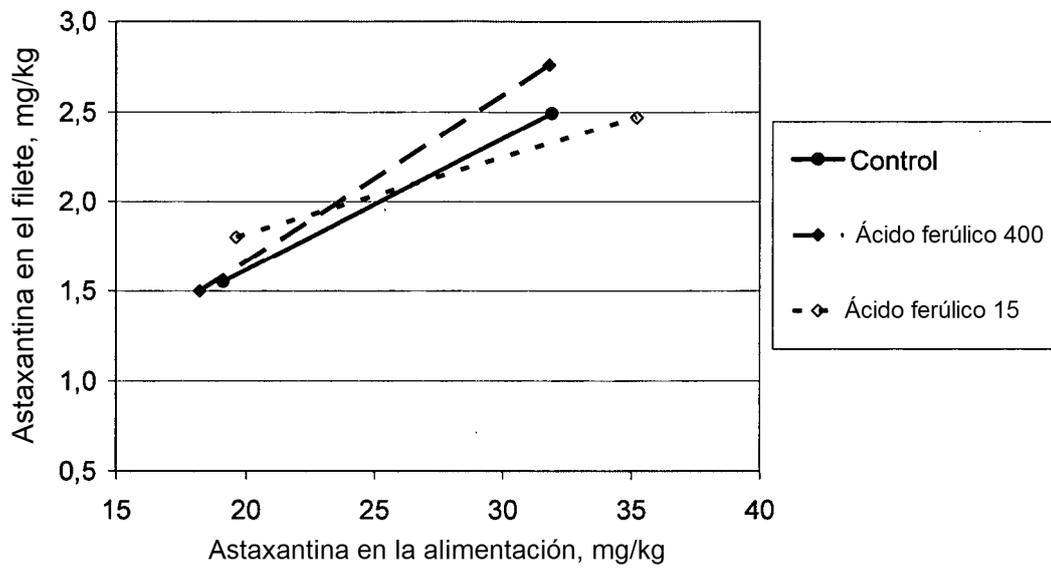


Figura 3. Astaxantina en el filete de pescado relativa a la cantidad de astaxantina y ácido síringico (ppm) en la alimentación.