

**Research Article**

## **Comparación de dos métodos de sacrificio en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*)**

**Jorge Diaz-Villanueva<sup>1</sup> & Hugo Robotham<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Fundación Chile, Alimentos y Biotecnología, P.O. Box 773, Santiago, Chile

<sup>2</sup>Instituto de Ciencias Básicas, Facultad de Ingeniería, Universidad Diego Portales  
P.O. Box 298V, Santiago, Chile

Corresponding author: Hugo Robotham (hugo.robotham@udp.cl)

**RESUMEN.** El método tradicional de sacrificio de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante aturdimiento automático seguido de desangre por corte branquias fue comparado con un método alternativo por disminución rápida de la temperatura (-3.5°C) con inmersión en hielo líquido sin usar desangrado. Se midió el pH muscular como un indicador de estrés alcanzado durante las fases de confinamiento y de sacrificio, y se evaluó la capacidad de retención de sangre que tienen las vísceras y cabezas como fuentes potenciales para uso y resguardo de la bioseguridad debido a riesgos de dispersión de sangre al medio. Los pesos medios de las vísceras y cabezas por ejemplar con el método alternativo de sacrificio superaron en 24,4 g al método tradicional, lo que equivale a un 1,07% del peso medio del cuerpo de un ejemplar promedio. El método alternativo acumuló un 5,3% más de peso por ejemplar en las vísceras, y un 4,9% más de peso en las cabezas que el método tradicional. La retención estimada de sangre debido a las vísceras y cabezas con el método alternativo correspondió al 44,6% del total de sangre derramada por el método tradicional. Proyectando una producción de salmónidos (truchas y salmones) al año 2014 de 900.000 ton, la retención de sangre sería al menos de 9.630 ton. No se evidenciaron diferencias significativas en el pH muscular entre los dos métodos. El pH de los peces en el punto de confinamiento fue igual a 7,06 magnitud que disminuyó aproximadamente a pH = 6,5 en la fase de sacrificio independiente del método de sacrificio utilizado. El método alternativo no produce la muerte instantánea del pez, pero tiene mayor capacidad que el método tradicional de retener sangre en vísceras y cabezas para ser usada en aumentar la bioseguridad, y si se combina con métodos más eficientes para alcanzar una rápida inconsciencia, por ejemplo aturdimiento eléctrico, se tendría un método de sacrificio combinado útil para mejorar los actuales métodos. La propuesta de métodos más eficientes y efectivos de sacrificio de los peces es un tema abierto que requiere más investigación.

**Palabras clave:** *Oncorhynchus mykiss*, trucha arcoiris, pH, estrés, cosecha, corte branquias, bioseguridad.

## **Comparison of two slaughtering procedures in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**

**ABSTRACT.** The traditional slaughter procedure of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by automatic stunning followed by bleeding by cutting gills was compared with an alternative slaughter procedures which involves rapid decreasing temperature (-3.5°C) by immersion in flow-ice without gill bleeding. Muscle pH was measured as an indicator of stress achieved during confinement and sacrifice phases. The capacity of blood retention in the gut and head is proposed as potential sources to assess biosecurity. The average weight of gut and head per fish with the alternative method was 24.4 g higher than the traditional method, equivalent to 1.04% of the body weight of an average specimen. The alternative method accumulated 5.3% more weight in gut per fish than the traditional method and 4.9% more in the head weight than the traditional method. The amount of blood retained in the gut and head with the alternative method represented 44.6% of total shed by the traditional method. For a forecast of 900,000 ton of salmonids in 2014, the blood retained in gut and head was estimated in at least 9,630 ton. No significant differences in muscle pH between the two methods were observed. The pH of the fish in the confinement point was equal to 7.06 decreasing approximately to 6.5 in the sacrifice phase independent of the method employed. The alternative method does not produce instant death of the fish; however, it has more capacity than the traditional method to retained blood in gut and head to be used in increasing

biosecurity and if combined with more efficient methods to achieve rapid unconsciousness, *e.g.* electrical stunning, we would have a combined sacrifice method useful to improve current methods. The proposal for more efficient and effective slaughter methods of fish is an open issue that requires further investigations.

**Keywords:** *Oncorhynchus mykiss*, rainbow trout, pH, stress, slaughter, gill cut, biosecurity.

## INTRODUCCIÓN

No hay normativas en Chile sobre métodos de sacrificio para peces, mientras que en algunos países han impuesto restricciones sobre algunos de los métodos de sacrificio utilizados en la industria, enfocándose principalmente en el bienestar animal, tema que en peces es relativamente nuevo y sólo recientemente en Europa se están desarrollando indicadores operativos de bienestar (Villarreal, 2013). Un estudio reciente en trucha arcoiris no presentó efectos estresantes medidos en indicadores hemáticos después de permanecer más de tres días en ayuno previo al sacrificio (López-Luna *et al.*, 2013). El estrés en los peces se presenta en varias de las fases de producción piscícola incidiendo en el bienestar del animal. Se encuentra ampliamente documentado que el estrés repercute negativamente en el sistema inmunológico de los peces, adelanta el *rigor mortis* y está asociado con la producción de radicales libres, que promueven la oxidación de la grasa en los tejidos, que empeora su calidad y conservación (Jerrett *et al.*, 1996; Robb *et al.*, 2000; Robb & Kestin, 2002; Sorensen *et al.*, 2004). Sin embargo, recientes trabajos realizados en filetes ahumados de salmón del Atlántico, señalan que las condiciones *pre-mortem* como stress, temperatura y tamaño del pez tiene poca influencia sobre el producto final mientras que las condiciones *post-mortem* serían más importantes (Roth *et al.*, 2009).

Se considera que en la etapa de sacrificio del pez, el método utilizado es apropiado para el bienestar animal en la medida que el mecanismo de sacrificio logra que el pez alcance rápidamente la pérdida total de consciencia y sensibilidad (Lambooy *et al.*, 2002; Robb & Kestin, 2002). Sin embargo, actualmente no hay una técnica de matanza de peces desarrollada, sin que tenga efectos nocivos en el bienestar. La muerte del pez se suele realizar de distintas formas y una de las más usuales y recomendada es combinando un método de aturdimiento seguido por desangramiento. No obstante, el desangre es uno de los puntos críticos de la bioseguridad de la industria chilena y por lo tanto requiere particular atención debido a que constituye un riesgo latente en la diseminación de enfermedades de alto riesgo como la anemia infecciosa del salmón (ISAv).

El método de aturdimiento mediante un golpe automático en la cabeza es recomendado frecuente-

mente para inducir pérdida de consciencia e insensibilidad en salmónidos. Siendo este método el más popular y el más usado en Chile, se sabe que genera un alto nivel de estrés cuando la técnica de aturdimiento se usa incorrectamente (EFSA, 2009). El método de asfixia por enfriamiento mediante suspensión en hielo y agua, para generar un shock térmico a una temperatura considerada letal de  $-1^{\circ}\text{C}$ , se emplea actualmente en algunas especies de peces como método de sacrificio (Fletcher *et al.*, 1988; EFSA, 2009). Sin embargo, el uso de este método se ha considerado como una práctica cuestionable, debido a que los peces no logran la pérdida total de consciencia de manera inmediata sino que lo hacen gradualmente, lo que provocaría un estrés mayor. Por parte de la industria, se argumenta a favor, que este sistema no rompe la cadena del frío (Skjervold *et al.*, 2001; Robb & Kestin, 2002) contribuyendo a reducir riesgos que afectan la seguridad alimentaria del consumidor. Se han descrito varios otros métodos de sacrificio, entre ellos destaca el aturdimiento eléctrico (Robb & Kestin, 2002; Robb *et al.*, 2002; Lines *et al.*, 2003; Wilkinson *et al.*, 2008; Roth *et al.*, 2012), que está siendo utilizado cada vez más frecuentemente en forma combinada con sistemas de enfriamiento por hielo y agua (Sattary, 2010). El aturdimiento eléctrico logra inconsciencia casi inmediata, su efectividad depende de la fuerza del campo eléctrico aplicado, la densidad y distribución de los ejemplares en el estanque (EFSA, 2009).

La búsqueda de métodos alternativos comerciales de cosecha que sean más aceptables no solo desde un enfoque de bienestar animal, sino también de bioseguridad, que ayude a reducir riesgos potenciales de diseminación de enfermedades, requiere disponer de información específica y comparada de los métodos de sacrificio en uso para las especies. En este trabajo, utilizando trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), se compara el efecto pH muscular como un indicador de estrés alcanzado durante la etapa de confinamiento, previo al sacrificio y posteriormente en la etapa de sacrificio; se evalúa además la capacidad de retención de sangre que tienen las vísceras y cabezas como fuentes potenciales para resguardo de la bioseguridad debido a riesgos por dispersión de sangre al medio, usando dos métodos de sacrificio; el más usado en Chile para salmónidos basado en aturdimiento automático por golpe en la cabeza y posterior desangre por corte de branquias y el método basado en asfixia

por inmersión en hielo líquido mediante un golpe de frío a  $-3.5^{\circ}\text{C}$ , sin desangramiento por corte de branquias.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio fue realizado en trucha arcoiris en las instalaciones de la empresa Trusal, Puerto Montt, Chile ( $41^{\circ}28'11''\text{S}$ ,  $72^{\circ}56'41''\text{W}$ ). Los experimentos se efectuaron durante octubre-noviembre 2010 y enero 2011 en el centro de cultivo Punta Iglesias. Todos los peces mantenidos en las jaulas de acopio estuvieron en ayuno 72 h antes de ser cosechados.

### Experimento 1: Efecto del pH en sistemas con hielo líquido

Se seleccionaron 200 ejemplares de trucha arcoiris para comparar el pH muscular bajo diferentes tiempos de exposición al frío. Los ejemplares seleccionados tenían un peso medio de 2.252,4 g con una desviación estándar de 648,2 g. El pH muscular fue medido en ejemplares cosechados por inmersión en hielo líquido a temperatura de  $-3,5^{\circ}\text{C}$  durante 5, 10, 15 y 20 min. Se incluyó el nivel de tiempo 0 min para las mediciones de pH muscular tomadas en el punto de confinamiento o corte, localizada inmediatamente a la salida de la balsa de acopio. La medición de pH muscular con el método tradicional en la fase de sacrificio se realizó a la salida del salmóduto (mesa de aturdimiento) en ejemplares que fueron succionados desde la balsa de acopio (punto de confinamiento). La medición de pH muscular con el método alternativo en la fase de sacrificio por inmersión en hielo líquido se realizó en ejemplares que estuvieron expuestos durante 5, 10, 15 y 20 min a temperatura de  $-3,5^{\circ}\text{C}$ . El punto de confinamiento se considera como un nivel de control donde se espera encontrar un mayor pH muscular que en la fase de sacrificio. Por cada intervalo de tiempo de exposición al frío y en el punto de confinamiento (control) se midió el pH muscular en 10 ejemplares, el diseño se replicó dos veces durante dos días seguidos, generando cuatro grupos de muestras (G1 a G4). Se utilizó una temperatura de enfriamiento a  $-3,5^{\circ}$  ya que esa temperatura es considerada letal para los peces, y el 100% de los ejemplares alcanza la inconsciencia total a partir de 5 min de exposición al frío (Fletcher *et al.*, 1988; EFSA, 2009). Para medir el pH muscular se utilizó un pHmetro (Hanna Instrumens, Modelo HI 98150), la metodología consistió en insertar el electrodo en la musculatura oscura localizada bajo la aleta dorsal de los peces.

### Experimento 2: Efecto pH entre métodos de sacrificio

Se seleccionó 60 ejemplares de truchas arcoiris para comparar el pH muscular con los métodos tradicional y

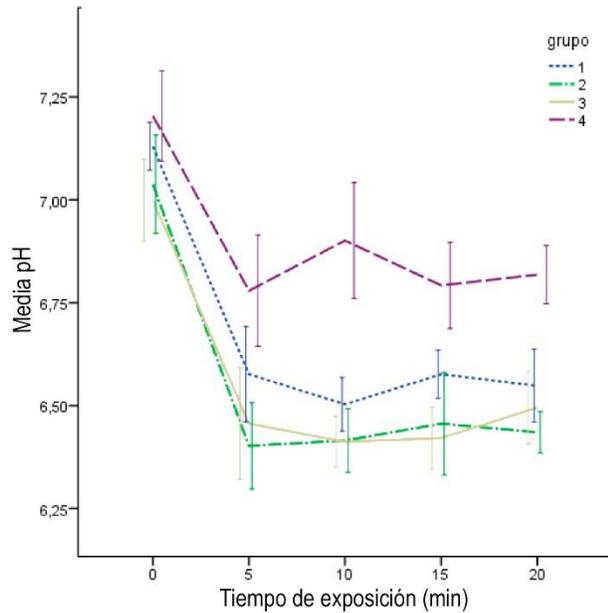
alternativo. Los ejemplares seleccionados presentaron un peso medio de 2.218,8 g y una desviación estándar de 805,9 g. La medición de pH muscular con el método tradicional se replicó siguiendo el enfoque presentado en el experimento 1. La medición de pH muscular con el método alternativo por inmersión en hielo líquido se replicó siguiendo el experimento anterior en ejemplares que estuvieron expuestos durante 5 min a  $-3.5^{\circ}\text{C}$ . Se utilizó como método de control las mediciones de pH muscular en peces localizados en el punto de corte inicial (confinamiento) en la balsa de acopio. Se midió el pH muscular de 10 ejemplares para cada método de cosecha y en el control. El diseño fue replicado durante dos días, generando dos grupos de muestras (G5 y G6).

### Experimento 3: Efecto peso vísceras, cabeza y HG (sin cabeza y sin vísceras)

Se seleccionaron 600 ejemplares de truchas arcoiris para este experimento, 300 peces por cada método de sacrificio. Los ejemplares se agruparon en grupos de 5 ejemplares por intervalos de peso de amplitud igual a 50 g, partiendo del rango inferior de peso 1.800-1.850 g al rango superior de 2.750-2.800 g. Se generaron 20 clases de intervalos de peso, y en cada intervalo se replicaron tres grupos de 5 ejemplares. Por cada grupo de ejemplares y método de sacrificio, se obtuvo el peso medio inicial, peso medio de vísceras, peso medio de cabezas y peso medio HG por ejemplar.

### Análisis estadístico

Los análisis estadísticos fueron realizados usando el programa IBM SPSS 20.0. Se utilizó la prueba de homogeneidad de varianzas de Levene. La prueba de Kolmogorov-Smirnov (K-S) se usó para verificar normalidad. El pH se analizó con la prueba ANOVA para diseños de efectos fijos. La significancia de los resultados para identificar diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos fue analizada usando la prueba de comparaciones múltiples de Tuckey. Los niveles medios de pH se indican incluyendo la medida promedio  $\pm 1$  error estándar (EE). Para comparar el efecto de acumulación de sangre entre los sistemas de sacrificio se usó un modelo de análisis de covarianza utilizando el modelo lineal generalizado (MLG). En este modelo se supone una relación lineal entre la variable de respuesta (peso de vísceras, peso cabezas o peso HG) y la covariable (peso inicial), se incluye en el modelo una componente que mide el efecto debido a los métodos de sacrificio. La covariable se incluye en el modelo como un efecto bloque cuya función es reducir el error experimental y aumentar la precisión.

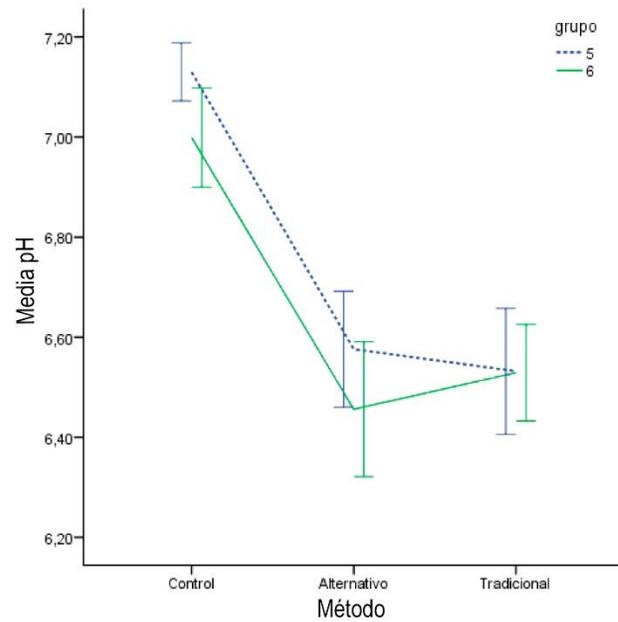


**Figura 1.** Variación del pH en truchas arcoiris debido a cinco niveles de exposición al frío (min) en hielo líquido según grupo de muestras.

## RESULTADOS

La Figura 2 muestra para cada grupo la evolución de los pH medios de los ejemplares por tiempo de exposición al frío. Los cuatro grupos de muestras analizados confirman el supuesto de varianzas homogéneas de los pH entre niveles de exposición al frío ( $P > 0,097$ ; Levene). Los pH medios por ejemplar en los cuatro grupos de muestras presentaron diferencias significativas entre los distintos tiempos de exposición al frío ( $P < 0,05$ ; ANOVA). Las comparaciones múltiples entre pares de niveles de exposición al frío confirmaron que la significancia observada ( $P < 0,0001$ ; Tukey), se atribuye en todos los grupos analizados al efecto pH muscular en el punto de confinamiento (control), mientras que las comparaciones múltiples de los pH medios entre pares de niveles de tiempo de exposición al frío a partir de los 5 min no presentaron diferencias significativas ( $P > 0,448$ ; Tukey).

Los pH medios por ejemplar en el punto de confinamiento por cada grupo variaron entre 7,0 y 7,2 siendo las estimaciones en cada grupo; G1:  $7,13 \pm 0,026EE$ ; G2:  $7,03 \pm 0,053EE$ ; G3:  $7,00 \pm 0,044EE$ ; G4:  $7,20 \pm 0,049EE$ . Al excluir el punto de confinamiento (0 min) y considerando solo los tiempos de exposición de los 5 min en adelante, los pH medios fueron inferiores al pH medio de confinamiento en todos los grupos (G1:  $6,57 \pm 0,018$ ; G2:  $6,43 \pm 0,020$ ; G3:  $6,45 \pm 0,021$ ; G4:  $6,48 \pm 0,027$ ). Los pH medios por ejemplar en los cinco niveles de tiempo presentaron

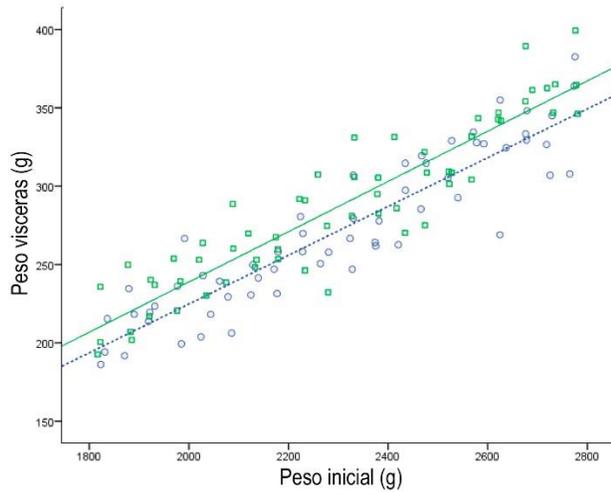


**Figura 2.** Variación del pH en truchas arcoiris por método de cosecha (control (confinamiento), alternativo y tradicional) según grupo de muestra.

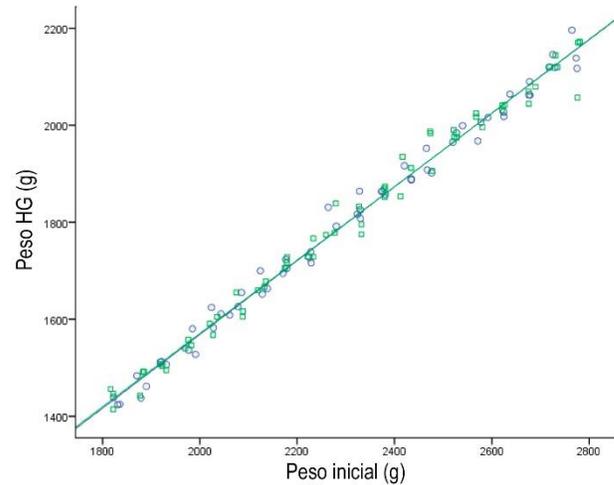
diferencias significativas ( $P < 0,05$ ; ANOVA), siendo las estimaciones en cada tiempo de exposición; 0 min:  $7,09 \pm 0,025EE$ ; 5 min:  $6,55 \pm 0,035EE$ ; 10 min:  $6,58 \pm 0,037EE$ ; 15 min:  $6,56 \pm 0,031EE$ ; 20 min:  $6,57 \pm 0,029EE$ .

Los pH medios de los peces debido a los dos métodos de cosecha y el control (punto de confinamiento) se indican en la Figura 3. Los dos grupos de muestras considerados en este experimento confirman el supuesto de homogeneidad de varianzas ( $P > 0,127$ ; Levene). Al comparar el pH medio por ejemplar entre métodos y control se observaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ; ANOVA) que se explicaron por el efecto pH muscular medido en el punto de confinamiento. El pH medio en el punto de confinamiento fue estimado en  $7,06 \pm 0,029EE$ . No se evidenciaron diferencias significativas entre los dos métodos ( $P > 0,954$ ; Tuckey). El pH medio en las truchas arcoiris cosechadas con el método alternativo fue de  $6,52 \pm 0,041EE$  y con el método tradicional en  $6,53 \pm 0,034EE$ .

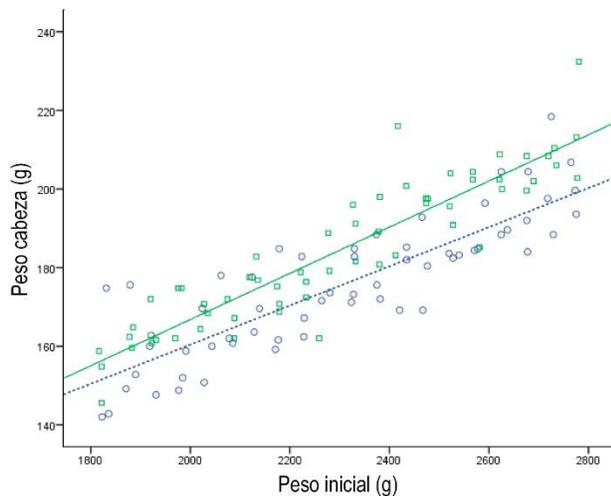
Usando el peso de las vísceras, cabezas y ejemplares HG, respectivamente, como la variable respuesta y el peso inicial como covariable se ajustaron tres modelos de covarianza utilizando el modelo lineal generalizado (Figs. 4-6). Las estadísticas del peso inicial de los ejemplares de trucha arcoiris seleccionados se indican en la Tabla 1. Los coeficientes de variación fueron igual a 12,5% con el método alternativo y 12,6% con



**Figura 3.** Efectos de los métodos de cosecha en el peso de las vísceras de trucha arcoiris. Líneas de regresión lineal: método alternativo (cuadrados, línea continua); método tradicional (círculos, línea de puntos).



**Figura 5.** Efectos de los métodos de cosecha en el peso HG (sin cabeza y sin vísceras) de las cabezas de trucha arcoiris. Líneas de regresión lineal: método alternativo (cuadrados, línea continua), método tradicional (círculos, línea de puntos).



**Figura 4.** Efectos de los métodos de cosecha en el peso de las cabezas de trucha arcoiris. Líneas de regresión lineal: método alternativo (cuadrados, línea continua), método tradicional (círculos, línea de puntos).

el tradicional lo que asegura para los análisis una distribución altamente homogénea de pesos por método. Se observó que el peso medio estimado para vísceras y cabezas es mayor con el método alternativo que el tradicional (Tabla 2). Los tres modelos lineales presentaron altos niveles de ajuste ( $R^2 > 0,727$ ) y la prueba de K-S confirmó que los residuos siguen un modelo normal en la mayoría de los casos, con la excepción del método alternativo cuando se usa el peso HG. Sin embargo, es posible considerar que se encuentra en un nivel aceptable para la validez del análisis ( $P > 0,034$ ; K-S). Los tres modelos ajustados

cumplen el supuesto de varianzas homogéneas ( $P > 0,137$ ; Levene). La covariable peso inicial ( $P < 0,0001$ ; MLG) y el efecto métodos ( $P < 0,0001$ ; MLG) fueron significativos al usar en el modelo la variable respuesta peso vísceras como al usar la variable peso cabezas, derivándose del resultado que el peso medio de las vísceras y cabezas difieren significativamente entre métodos. Para el modelo ajustado con la variable peso HG como respuesta, el análisis MLG mostró que la covariable peso inicial es significativa ( $P < 0,0001$ ; MLG), aunque, no se determinaron diferencias significativas entre los dos métodos de sacrificio ( $P > 0,799$ ; MLG).

La diferencia de los pesos medios eviscerados entre los métodos fue de 15,5 g y el intervalo de confianza de 95% para la diferencia media del peso por ejemplar fluctuó entre 8,4 y 22,7 g. El método de sacrificio alternativo acumuló un 5,3% más de peso por ejemplar en las vísceras que el método tradicional. La diferencia de medias de los pesos de las cabezas entre los métodos fue igual a 9,1 g y el intervalo de confianza del 95% para la diferencia fluctuó entre 6,1 y 12,1 g. El método de sacrificio alternativo acumuló un 4,9% más de peso por ejemplar de las cabezas que el tradicional. La diferencia de los pesos medios HG entre métodos fue de 1,1 g y el intervalo de confianza de 95% para la diferencia media fluctuó entre -9,8 y 7,6 g, este resultado al no incluir el valor cero confirma que los pesos medios HG no son significativos. El mayor peso estimado en vísceras y cabezas es atribuible principalmente a sangre retenida cuando no hay desangre por corte de agallas y la temperatura de los peces se enfría por inmersión en hielo líquido. En las Figuras 6a-6b se



**Figura 6.** Diferencia en el color de las vísceras y cabezas de trucha arcoiris. a) Sistema cosecha tradicional (color claro) y sistema cosecha alternativo (color café oscuro) de las vísceras, b) sistema de cosecha tradicional (color café oscuro) y sistema de cosecha alternativo (color rojo) de las cabezas.

muestra para cada método de sacrificio la marcada diferencia de tonalidad tanto en vísceras como cabezas debido a la presencia de los fluidos de sangre retenidos.

## DISCUSIÓN

Algunos artículos (Roth *et al.*, 2005) sostienen que una parte importante de los fluidos de sangre se retiran junto con los intestinos. Los resultados de este estudio coinciden con esta afirmación y muestran que los volúmenes de sangre retenidos en las vísceras fueron mayores al usar el método de sacrificio alternativo con hielo líquido que al usar el sistema tradicional. Una conclusión similar se puede obtener con respecto a la mayor retención de los fluidos de sangre en las cabezas. Las referencias sobre el contenido del volumen de sangre derramado en peces que se ha indicado en algunas publicaciones fluctúa entre 1,5% y 6% del cuerpo del ejemplar dependiendo de la especie (Smith, 1996; Roth *et al.*, 2005). La diferencia entre el peso

inicial y la suma de los pesos desagregados en vísceras, cabeza y HG se estimó en 56 g, la que se atribuye principalmente a sangre derramada en un ejemplar promedio de trucha (2.302 g), que equivale al 2,4% del peso del cuerpo. Estos niveles de sangre estarían dentro del rango indicado para los peces en la literatura; sin embargo, no fue considerado en la estimación de derrames debido a otras fuentes como las que se generan al efectuar incisiones en la carne para extraer cabezas y vísceras, lo que indica que la estimación del nivel de sangre derramado se encuentra subestimado. Los 15,5 g de diferencia en el peso medio de las vísceras del método alternativo sobre el tradicional equivale al 0,67% del peso medio del cuerpo de un ejemplar de trucha arcoiris, mientras que los 9,1 g de diferencia en el peso medio de las cabezas equivalen al 0,4% del peso medio del ejemplar. En total, el método de sacrificio alternativo retuvo 24,6 g más que el sistema tradicional que equivale al 1,07% del peso del cuerpo del ejemplar. La mayor retención estimada de sangre en vísceras y cabezas mediante el método de sacrificio alternativo, por no efectuar corte de branquias, significa retener el 44,6% del total de sangre que se evacúa (56 g) con el sistema de sacrificio tradicional, utilizando el corte de branquias.

Proyectando los volúmenes de sangre que retienen las vísceras y cabezas al usar el método alternativo, se estima que para una producción de salmónidos (truchas y salmones) al año 2014 de 900.000 ton, la retención de sangre al menos sería de 9.630 ton, asumiendo que la retención de sangre representa un 1,07% del cuerpo medio de un ejemplar. Una consecuencia de no realizar el desangre mediante corte de branquias tiene directa relación con la bioseguridad ya que permite optimizar la manipulación de los residuos en la fábrica, para reducir el riesgo de diseminación de enfermedades que podría provocar la dispersión de sangre al medio. La mayor acumulación de sangre retenida en las vísceras y cabezas debido al método alternativo que facilita el manejo de estos residuos y optimiza los espacios de trabajo, proporciona además una fuente potencial para uso en nuevos hidrolizados u otros productos que pueden ser usados para alimentación animal y otras aplicaciones como fertilizantes (Aspmo *et al.*, 2005).

Niveles muy bajos de pH en los peces son atribuibles a un alto estrés lo que los predispone en esta etapa del cultivo (cosecha) a una menor calidad del producto y decoloración de la carne, los niveles reportados de pH dependen de la especie. Robb *et al.* (2000) señalan que la trucha arcoiris (*O. mykiss*) en confinamiento tiene típicamente un pH muscular entre 7,6 y 7,8. En este estudio en la etapa de confinamiento se registraron valores de pH muscular entre 7,0 y 7,2 inferiores a los niveles promedios reportados por Robb

**Tabla 1.** Estadística descriptiva de los pesos de trucha arcoiris usados en los experimentos según método de cosecha.

Método sacrificio	Muestra (n)	Peso mínimo (g)	Peso máximo (g)	Peso medio (g)	Desviación estándar (g)
Alternativo	300	1.800	2.798	2.301,8	288,9
Tradicional	300	1.800	2.800	2.303,2	288,2

**Tabla 2.** Indicadores estadísticos de los modelos lineales de regresión ajustados: bondad de ajuste ( $R^2$ ), prueba Kolmogorov-Smirnov (K-S) y peso medio estimado de la variable respuesta (Media).

Variable	Método	$R^2$	K-S	Media (g)
Vísceras	Tradicional	0,841	0,200	271,9
	Alternativo	0,847	0,200	287,4
Cabezas	Tradicional	0,727	0,200	175,5
	Alternativo	0,836	0,860	184,6
HG	Tradicional	0,990	0,200	1.798,6
	Alternativo	0,986	0,034	1.799,7

*et al.* (2000). La medición de pH muscular en la etapa post-confinamiento, en la fase de sacrificio, sufrió una disminución del pH muscular quedando en un valor aproximado de  $\text{pH} = 6,5$  independiente del método de cosecha utilizado. Cuando se comparan los dos métodos y los distintos tiempos de exposición al frío (5 a 20 min) no se encontraron diferencias significativas. En consecuencia, se puede establecer como hipótesis que es posible exponer a los individuos a tiempos más prolongados de exposición al frío con temperaturas de  $-3,5^\circ\text{C}$  sin que afecte significativamente el nivel del pH muscular del pez.

La literatura considera el método de sacrificio tradicional como de bajo impacto en el bienestar animal (Robb & Kestin, 2002) respecto al de enfriamiento por hielo líquido. Sin embargo, no es posible evitar en procesos industrializados al menos tres manejos que generan stress durante el sacrificio tradicional, uno de ellos es la manipulación de los peces cuando son aturridos por golpe mecánico en la cabeza, el segundo cuando los peces deben ser manipulados para realizar el corte de branquias y el tercero la excesiva exposición de tiempo de los peces fuera del agua. Los métodos ideales de cosecha sugieren no remover los peces del agua y cuando esto no puede ser evitado, los peces no deberían salir del agua por más de 15 s, ya que después de este tiempo los peces muestran un comportamiento hostil (HSA, 2005). En procesos productivos con altos niveles de producción la probabilidad de fallas de manejo aumentan considerablemente. Si el aturdimiento falla y los peces son sometidos al corte de branquias sin estar totalmente inconscientes, el desan-

grado se desarrolla en una condición de agitación o fuerte stress en agua de baja calidad de oxígeno. Lo anterior es de gran relevancia respecto a la calidad, si se considera que los peces cuando son sometidos a situaciones de stress y de hipoxia, derivan el flujo de la sangre desde las vísceras hacia los músculos y además, provoca un aumento de la viscosidad de la sangre (Gallaughner *et al.*, 1995; Valenzuela *et al.*, 2002), generando en ambos casos factores adversos que evitan lograr un eficiente desangrado.

La enfermedad del ISA, es causada por el virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAv), que ha afectado a los salmones en Chile obligando a replantearse los riesgos que producen las cosechas de los salmones, como puede ser el desangrado por corte de branquias. En este sentido, si bien los métodos de sacrificio por reducción de temperatura en hielo líquido no se consideran adecuados bajo un enfoque del bienestar animal por no producir la muerte instantánea sugerida como menor a 1 s (EFSA, 2009), el método alternativo se hace potencialmente utilizable si se combina con un método más eficiente para alcanzar rápida inconsciencia como podría ser el aturdimiento eléctrico (Sattary, 2010). Si se combina el aturdimiento eléctrico como método para alcanzar una más rápida inconsciencia, evitando el aturdimiento por golpe mecánico, seguido por la aplicación de un golpe térmico con hielo líquido a  $-3,5^\circ\text{C}$ , evitando el desangramiento por corte de branquias, se podría tener un método alternativo que asegure mayor bienestar animal, que sea menos estresante, más efectivo y menos riesgoso en cuanto al potencial de riesgo de diseminación de patógenos al medio por fluidos de sangre. La propuesta de métodos más eficientes y efectivos de sacrificio de los peces es un tema abierto que requiere más investigación, particularmente si quiere incorporar bienestar animal, bioseguridad, calidad y seguridad alimentaria para los consumidores.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Marcelo Cortés y Rodrigo Matus por su apoyo en la gestión con la Empresa Trusal. Extendemos los agradecimientos a la Fundación Chile y Universidad Diego Portales en el apoyo al desarrollo del estudio.

## REFERENCIAS

- Aspmo, S.I., S.J. Horn & V.G.H. Eijsink. 2005. Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera. *Proc. Biochem.*, 40: 1957-1966.
- European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Species-specific welfare aspects of the main system of stunning and killing of farmed Atlantic salmon: scientific opinion of the panel on animal health and welfare. [<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1011.pdf>]. Revisado: 10 marzo 2014.
- Fletcher, G.L., M.H. Kao & J.B. Dempson. 1988. Lethal freezing temperatures of Arctic char and other salmonids in the presence of ice. *Aquaculture*, 71: 369-378.
- Gallaughan, P., H. Thoransen & A.P. Farrell. 1995. Hematocrit in oxygen transport and swimming in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Resp. Physiol.*, 102: 279-292.
- Humane Slaughter Association (HSA). 2005. Humane harvesting of salmon and trout: guidance notes N°5 Wheathamstead, UK: Humane Slaughter Association. [[www.humanesociety.org/assets/pdfs/farm/hsus-the-welfare-of-farmed-fish-at-slaughter.pdf](http://www.humanesociety.org/assets/pdfs/farm/hsus-the-welfare-of-farmed-fish-at-slaughter.pdf)]. Revisado: 14 abril 2013.
- Jerret, A.R., J. Stevens & A.J. Holland. 1996. Tensile properties of white muscle in rested and exhausted Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *J. Food. Sci.*, 61: 527-532.
- Lambooj, E., J.W. Van de Vis, R.J. Kloosterboer & C. Oietersen. 2002. Welfare aspects of live chilling and freezing of farmed eel (*Anguilla anguilla* L.); neurological and behavioral assessment. *Aquaculture*, 210: 159-169.
- Lines, J.A., D.H. Robb, S.C. Kestin, S.C. Crook & T. Benson. 2003. Electric stunning: a humane slaughter method for trout. *Aquacult. Eng.*, 28: 141-154.
- Lopez-Luna, J., L. Vázquez, F. Torrent & M. Villarroel. 2013. Short-term fasting and welfare prior to slaughter in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 400-401: 142-147.
- Robb, D.H.F., S.C. Kestin & P.D. Warris. 2000. Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. *Aquaculture*, 182: 261-269.
- Robb, D.H.F., M. O'Callaghan, J.A. Lines & S.C. Kestin. 2002. Electric stunning of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): factors that affect stun duration. *Aquaculture*, 205: 359-371.
- Robb, D.H.F. & S.C. Kestin. 2002. Methods used to kill fish: field observation and literature reviewed. *Anim. Welfare*, 11: 269-282.
- Roth, B., O.J. Torrissen & E. Slinde. 2005. The effect of slaughtering procedures on blood spotting in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 250: 796-803.
- Roth, B., A. Obach, D. Hunter, R. Nortvedt & F. Oyarzun. 2009. Factors affecting residual blood and subsequent effect on bloodspotting in smoked Atlantic salmon fillets. *Aquaculture*, 297: 163-168.
- Roth, B., E. Grimsbo, E. Slinde, A. Foss, L.H. Stien & R. Nortvedt. 2012. Crowding, pumping and stunning of Atlantic salmon, the subsequent effect on pH and rigor mortis. *Aquaculture*, 326-329: 178-180.
- Sattary, A. 2010. Industrial dry electro-stunning followed by chilling and decapitation as a slaughter method in Claresse (*Heteroclaris* sp.) and African catfish (*Claria gariepinus*). *Aquaculture*, 302: 100-105.
- Skjerbold, P.O., S.O. Fjera, P. Ostby & E. Olai. 2001. Live-chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmon salar*). *Aquaculture*, 192(2-4): 265-280.
- Sorensen, N.K., T. Tobiassen & M. Carleehog. 2004. How do handling and killing methods affect ethical and sensory quality of farmed Atlantic salmon? In: M. Sacaguchi (ed.). *More efficient utilization of fish and fisheries products*. Elsevier, Amsterdam, pp. 301-307.
- Smith, L.S. 1996. Blood volumes of three salmonids. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 23: 1775-1790.
- Valenzuela, A., K. Alveal & E. Tarifeño. 2002. Respuestas hematológicas de truchas a estrés hipóxico agudo. *Gayana*, 66(2): 255-261.
- Villarroel, M. 2013. Bienestar animal en peces: indicadores operativos. *Rev. Aquat.*, 37: 107-112.
- Wilkinson, R.J., N. Paton & M.J.R. Porter. 2008. The effects of pre-harvest stress and harvest method on the stress response, rigor onset, muscle pH and drip loss in barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*, 282: 26-32.

Received: 10 April 2014; Accepted 4 November 2014