

**Universidade de Évora – Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado em Engenharia Zootécnica**

Dissertação

**Qualidade nutricional do perfil da carne de achigã  
(*Micropterus salmoides*) capturado em épocas distintas  
numa das principais albufeiras do Alentejo**

Ana Marta Félix e Costa de Almeida

Orientadores | Maria João Marinho Lança Silva de Almeida  
Maria da Graça Janeiro Machado

Évora 2019

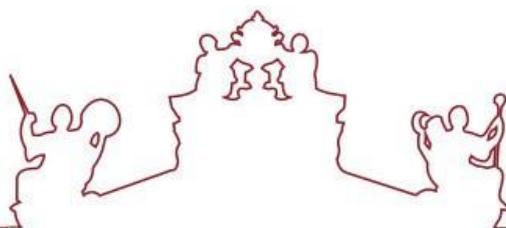
---

---

---

---

---



**Universidade de Évora – Escola de Ciências e Tecnologia**

Mestrado em Engenharia Zootécnica

Dissertação

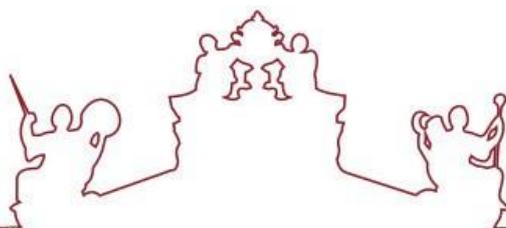
**Qualidade nutricional do perfil da carne de achigã  
(*Micropterus salmoides*) capturado em épocas distintas  
numa das principais albufeiras do Alentejo**

Ana Marta Félix e Costa de Almeida

Orientadores | Maria João Marinho Lança Silva de Almeida  
Maria da Graça Janeiro Machado

Évora 2019





A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

- Presidente / Fernando Paulo de Sousa e Sá Correia Marques (Universidade de Évora)
- Vogal / Maria João Pires de Bastos Cabrita (Universidade de Évora)
- Vogal-orientador / Maria João Marinho Lança Silva de Almeida (Universidade de Évora)

*Para os meus pais*

## AGRADECIMENTOS

Numa fase em que dou por finalizada esta dissertação, gostaria de demonstrar o meu sincero agradecimento a todos aqueles que me apoiaram e incentivaram na conclusão de mais uma etapa académica.

Em primeiro lugar, gostaria de prestar um grande e especial agradecimento à Professora Doutora Maria João Lança, por mais uma vez aceitar o desafio de me orientar em mais um trabalho e pela oportunidade que me deu em realizá-lo numa área que me dá gozo. Por todos os ensinamentos, apoio e tempo disponibilizado, o meu muito obrigado.

Gostaria também de agradecer à Engenheira Graça Machado por também ela me aceitar enquanto sua orientanda. Agradeço toda a paciência, compreensão, ajuda e disponibilidade que demonstrou para comigo durante a concretização deste trabalho.

Um agradecimento especial ao Professor Doutor Pedro Raposo de Almeida por, apesar de todas as voltas e reviravoltas, juntamente com a restante equipa do Projeto GAMEFISH, ter concordado em consentir-me a realização desta dissertação.

Ao André Jorge, companheiro de laboratório, pelos ensinamentos que me transmitiu, pelo seu companheirismo, pela paciência e disponibilidade que demonstrou, por todo o apoio durante a realização do trabalho laboratorial, bem como pela análise das amostras através do método de Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massa.

A todos os amigos e familiares que sempre demonstraram o seu genuíno interesse no meu sucesso e que sempre me presentearam com palavras de apoio e incentivo.

Um especial obrigado à Tatiana e à Filipa, duas verdadeiras amigas que Évora me deu e que foram, sem dúvida, dois grandes pilares de apoio nesta cidade. Agradeço a vossa constante amizade, a vossa paciência e a vossa crença nas minhas capacidades.

Ao Henrique, porque, apesar desta montanha russa, és uma constante na minha vida. Obrigada pela amizade, pelo apoio, pelas palavras certas. Obrigada por me ouvires e amparares, sem nunca me deixar desistir.

Aos meus sobrinhos, pela paciência, por entenderem e respeitarem que muitas vezes não vos podia dar a atenção que mereciam, por na vossa inocência serem vocês quem me alegra o dia e me dá força para continuar.

À minha irmã, por ter sempre assumido o seu papel de mana mais velha. Por ser o meu *role model* académico colocando sempre a fasquia no alto, sem nunca deixar de me ajudar ou de me incentivar a ir mais longe.

Aos meus pais, essência de quem eu sou. Obrigada por todo o vosso amor. Obrigada por sempre terem apostado em nós, muitas vezes em detrimento das vossas próprias aspirações. Obrigada por também vós me obrigarem a dar o meu melhor, nunca me dando a hipótese de desistir. Sem dúvida que sem o vosso empenho enquanto pais nada disto seria possível.

A todos, o meu sincero obrigado. Bem hajam.

## RESUMO

Sendo o achigã uma espécie com potencial dinamizador de regiões interiores alentejanas por via da pesca desportiva, o objetivo geral desta dissertação consistiu em determinar a qualidade nutricional da carne de achigã em duas épocas distintas, de forma a avaliar se o seu consumo poderá ser considerado uma prática saudável na dieta dos portugueses.

Foram capturados 41 animais divididos entre inverno e verão, provenientes da Albufeira de Póvoas e Meadas, a fim de caracterizar a composição química e a qualidade nutricional do músculo de achigã.

Verificou-se que a época influenciou significativamente o perfil lipídico e o teor proteico da carne de achigã. Os resultados obtidos revelam que a parte edível apresenta qualidade nutricional ao nível destes compostos. Contudo, a sua composição química no verão pode revelar-se uma prática menos saudável, já que o seu perfil apresenta alteração ao nível dos principais grupos de lípidos analisados.

**Palavras-chave:** *Micropterus salmoides*, Achigã, Perfil Nutricional, Época, Alentejo

**Title:** Nutritional quality of the meat profile of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) captured in distinct seasons in one of the main reservoirs of Alentejo

## **ABSTRACT**

As the largemouth bass is a species with potential for promoting Alentejo inland regions through sport fishing, the general purpose of this dissertation was to determine the nutritional quality of largemouth bass meat at two different seasons, in order to assess if this species consumption maybe considered as a healthy practice in Portuguese diet.

In order to characterize the chemical composition and nutritional quality of the largemouth bass meat, 41 animals from Póvoas e Meadas reservoir, were captured between winter and summer.

It was shown that season has significantly influenced the lipidic and protein profile of the largemouth bass meat. The obtained results also suggest that the edible part presents nutritional quality in these profiles. However, largemouth bass chemical compositions in summer can be an unhealthier practice, since its profiles shows changes in the main lipid groups analysed.

**Keywords:** *Micropterus salmoides*, Largemouth Bass, Nutritional Profile, Season, Alentejo

# ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS .....	i
RESUMO .....	iii
ABSTRACT .....	iv
ÍNDICE DE TABELAS .....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS .....	x
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1. Importância do consumo de pescado na nutrição humana .....	1
1.2. Espécies invasoras – o caso do achigã ( <i>Micropterus salmoides</i> ) em Portugal .....	3
1.3. Enquadramento do projeto GAMEFISH .....	5
1.4. Objetivo geral .....	6
1.5. Objetivos específicos .....	6
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
2.1. O achigã ( <i>Micropterus salmoides</i> , Lacépede, 1802).....	9
2.1.1. Caracterização geral .....	9
2.1.1.1. Filogenia e taxonomia.....	9
2.1.1.2. Características morfológicas.....	10
2.1.1.3. Tolerâncias fisiológicas e habitat.....	12
2.1.1.4. Alimentação .....	14
2.1.1.5. Reprodução .....	16
2.1.2. Origem e papel invasor.....	17
2.1.3. Distribuição na Península Ibérica .....	18
2.2. Qualidade nutricional .....	19
2.2.1. Humidade .....	21

2.2.2.	Proteína .....	21
2.2.3.	Lípidos .....	22
2.2.3.1.	Classificação dos lípidos.....	22
2.2.3.2.	Ácidos gordos e seus isómeros .....	23
2.2.3.3.	Nomenclatura dos ácidos gordos .....	25
2.2.3.4.	Tipos de ácidos gordos .....	27
3.	METODOLOGIA .....	31
3.1.	Estratégia e captura.....	31
3.2.	Recolha de dados biométricos, tecido muscular e determinação do sexo	31
3.3.	Procedimento experimental.....	32
3.3.1.	Determinação do teor de Humidade .....	32
3.3.2.	Determinação do teor Proteína Bruta.....	33
3.3.3.	Determinação dos Lípidos Totais e análise da composição em Ácidos Gordos.....	34
3.4.	Parâmetros nutricionais.....	39
3.4.1.	Índice polinsaturados/saturados .....	39
3.4.2.	Índice $\omega$ 3/ $\omega$ 6 .....	39
3.4.3.	Índice de trombogenicidade .....	40
3.4.4.	Índice de aterogenicidade .....	41
3.4.5.	Índice hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos .....	42
3.5.	Análise estatística .....	42
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	44
4.1.	Parâmetros biométricos .....	44
4.2.	Composição química do músculo de achigã em teor de humidade, lípidos totais e proteína .....	45
4.3.	Perfil de ácidos gordos do músculo .....	48

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
6. REFERÊNCIAS.....	65

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Parâmetros de extração e respectivas condições do método utilizado no ASE.....	36
<b>Tabela 2</b> - Fórmulas dos somatórios de ácidos gordos polinsaturados, saturados e da razão entre eles.....	39
<b>Tabela 3</b> - Fórmulas dos somatórios de ácidos gordos das famílias $\omega 3$ e $\omega 6$ .....	40
<b>Tabela 4</b> - Parâmetros biométricos do achigã em duas épocas distintas (inverno e verão): Peso Eviscerado (PE), Comprimento Total (CT), Peso do Fígado (PF) e Sexo (M – machos; F – fêmeas). ....	44
<b>Tabela 5</b> - Composição química por 100 g de matéria seca de músculo de achigã em duas épocas distintas (inverno e verão). ....	46
<b>Tabela 6</b> - Perfil em ácidos gordos (média $\pm$ desvio padrão) expresso em percentagem (%) relativa ao total de ácidos gordos identificados do músculo de achigã em duas épocas distintas (inverno e verão). ....	48
<b>Tabela 7</b> - Valores obtidos para os índices de avaliação nutricional – índice de polinsaturados/saturados, índice $\omega 3/\omega 6$ e índice EPA/DHA – nas duas épocas analisadas, inverno e verão. ....	57
<b>Tabela 8</b> - Valores obtidos para os índices de avaliação nutricional – índice de trombogenicidade (IT), índice de aterogenicidade (IA) e índice de hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos (h/H) – nas duas épocas analisadas, inverno e verão.....	60

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Ilustração de achigã ( <i>Micropterus salmoides</i> , Lacepède, 1802).....	10
<b>Figura 2</b> - Morfologia do achigã ( <i>Micropterus salmoides</i> , Lacepède, 1802). .....	12
<b>Figura 3</b> – Distribuição geográfica observada (a) e prevista (b) de achigã na Península Ibérica. ....	18
<b>Figura 4</b> - Exemplo de ácido gordo com configuração <i>trans</i> (A) e <i>cis</i> (B). ....	24
<b>Figura 5</b> - Representação da estrutura de ácido gordo C15:0 não ramificado e de dois ramificados com conformações <i>iso</i> e <i>anteiso</i> . ....	25
<b>Figura 6</b> – Exemplos de métodos de numeração dos ácidos gordos: (a) – numeração a partir do grupo carboxilo, utilizando as letras $\alpha$ , $\beta$ e $\gamma$ ; (b) – numeração a partir do grupo metilo (CH <sub>3</sub> ) utilizando as letras n ou $\omega$ . ....	25
<b>Figura 7</b> - Representação do ácido linoleico (C18:2 $\omega$ 6) com destaque para a posição da ligação dupla $\omega$ 6. ....	26
<b>Figura 8</b> - Famílias de ácidos gordos $\omega$ 3, $\omega$ 5, $\omega$ 6, $\omega$ 7, $\omega$ 9 e $\omega$ 11. ....	27
<b>Figura 9</b> - Extrator de PLE em funcionamento. ....	35
<b>Figura 10</b> – Evaporação do solvente recorrendo a um evaporador rotativo e a banho de água sob temperatura e pressão controladas. ....	37
<b>Figura 11</b> - Secura do solvente por meio de corrente de azoto. ....	38
<b>Figura 12</b> - Frascos em banho-maria de forma a promover o processo de saponificação. ....	38
<b>Figura 13</b> - Composição química média em g/100 g de matéria seca (MS) de músculo de achigã em duas épocas do ano (inverno e verão). ....	48
<b>Figura 14</b> - Caracterização do músculo de achigã quanto ao grau de saturação dos seus ácidos gordos nas duas épocas analisadas, inverno e verão. ....	50
<b>Figura 15</b> - Comparação dos somatórios das famílias de ácidos gordos $\omega$ 3, $\omega$ 5, $\omega$ 6, $\omega$ 7 e $\omega$ 9 nas duas épocas analisadas, inverno (1) e verão (2). ....	54
<b>Figura 16</b> - Comparação dos somatórios de ácidos gordos ímpares saturados (Ímpares SFA), ácidos gordos ímpares monoinsaturados (Ímpares MUFA), ácidos gordos <i>iso</i> (ISO) e <i>anteiso</i> (ANTEISO), nas duas épocas analisadas, inverno (1) e verão (2). ....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Arachidonic acid – Ácido araquidónico
ALA	Alfa Linoleic acid – Ácido alfa-linolénico
ASE	Accelerated Solvent Extraction – Extração acelerada por solvente
BF <sub>3</sub>	Trifluoreto de Boro
BHT	Butylated hydroxytoluene - Hidroxitolueno butilado
CT	Comprimento Total
DHA	Docosahexaenoic acid – Ácido docosahexaenóico
DPA	Docosapentaenoic acid – Ácido docosapentaenóico
EFA	Essential fatty acids – Ácidos gordos essenciais
EPA	Eicosapentaenoic acid – Ácido eicosapentaenóico
GAMEFISH	Gestão e Promoção da Pesca Recreativa em Albufeiras da Região Mediterrânica
GC	Cromatografia Gasosa
GC/MS	Cromatografia Gasosa com espectrometria de massa acoplada
h/H	Índice hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos
HDL	High-density lipoprotein – Lipoproteínas de elevada densidade
HUFA	High unsaturated fatty acid – Ácidos gordos altamente insaturados
IA	Índice de aterogenicidade
IAAPR	Índice de Adequabilidade das Albufeiras para a Pesca Recreativa
ICAAM	Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas
IT	Índice de trombogenicidade
LA	Linoleic acid – Ácido linoleico
LDL	Low-density lipoprotein – Lipoproteínas de baixa densidade
MARE	Centro de Ciências do Mar e do Ambiente
MS	Matéria seca
MUFA	Monounsaturated fatty acids – Ácidos gordos monoinsaturados
NT	Azoto Total
PB	Proteína Bruta
PE	Peso Eviscerado
PF	Peso do Fígado

PLE	Pressurized Liquid Extraction – Extração líquida pressurizada
PUFA	Poliunsaturated fatty acids – Ácidos gordos polinsaturados
SFA	Saturated fatty acids – Ácidos gordos saturados
$\omega$ 3	Ácidos gordos polinsaturados da família ómega 3
$\omega$ 6	Ácidos gordos polinsaturados da família ómega 6
$\omega$ 9	Ácidos gordos polinsaturados da família ómega 9

# 1. INTRODUÇÃO

O aumento da prática de pesca desportiva nas últimas duas décadas tem tido um grande contributo para o desenvolvimento de várias áreas rurais próximas dos principais centros pesqueiros. Embora possua uma relevância menor quando comparada com a pesca profissional realizada em ambientes marinhos ou estuarinos, a verdade é que face ao elevado número de praticantes e à soma de dinheiro por eles investido, a pesca em águas interiores possui um grande interesse económico para as comunidades locais (Almeida *et al.*, 2017). Uma maior valorização e visibilidade desta pesca poderá levar ao aumento de visitas a zonas isoladas, contribuindo deste modo para o aumento da economia local através do incremento do número de alojamentos requeridos, da restauração visitada e dos gastos em lojas locais de venda de artigos de pesca (Almeida *et al.*, 2017).

Segundo Almeida *et al.* (2017), as albufeiras constituem os locais preferidos para a pesca desportiva e/ou recreativa pelos pescadores. Estes locais caracterizam-se por uma reduzida diversificação e pela presença predominante de espécies exóticas. Uma gestão correta das albufeiras, objetivando um melhor equilíbrio entre espécies autóctones e exóticas passa pela promoção do interesse dos pescadores desportivos na captura de espécies exóticas (Almeida *et al.*, 2017). Um exemplo de uma espécie exótica com uma presença predominante nas albufeiras portuguesas é o achigã (*Micropterus salmoides*, Lacépede, 1802), uma das espécies mais apreciadas pelos pescadores desportivos. Todavia, o consumo de achigã em Portugal é meramente local, estando apenas presente na gastronomia regional (Jorge, 2018), e não apresentando grande expressão nacional.

## 1.1. Importância do consumo de pescado na nutrição humana

A preocupação com a saúde e a nutrição humana é um tópico cada vez mais relevante na sociedade atual. O consumidor moderno tem mostrado uma crescente preocupação com a sua saúde e bem-estar, querendo saber de que forma os seus hábitos alimentares poderão contribuir para este aspeto (Nunes *et al.*, 2003).

Face ao desenvolvimento de várias tecnologias, a dieta humana tem sofrido várias alterações, com consequências na saúde da população. Tendo sido os primeiros homens caçadores e coletores, a sua dieta era rica em proteína, cálcio, potássio e ácido ascórbico (Simopoulos, 2002), e pobre em gordura total e com menor concentração de ácidos gordos polinsaturados da família ómega 6 ( $\omega 6$ ) (Broughton & Wade, 2002). Embora este nos possa parecer um passado longínquo, a verdade é que os nossos genes não nos permitem uma correta adaptação à dieta hoje praticada (Simopoulos, 2002). De facto, em oposição ao passado, atualmente estamos perante elevados consumos de hidratos de carbono e desequilíbrios nos rácios de ácidos gordos polinsaturados das famílias ómega 3 ( $\omega 3$ ) e  $\omega 6$  (Simopoulos, 2002), que inicialmente eram ingeridos em proporções idênticas (Broughton & Wade, 2002). Simopoulos (2002) caracteriza as sociedades industrializadas atuais por: (1) um alto consumo energético e uma diminuição no gasto do mesmo; (2) um aumento do consumo de gorduras saturadas, ácidos gordos  $\omega 6$  e *trans*, com diminuição na ingestão de  $\omega 3$  (Broughton & Wade, 2002; Simopoulos, 2002); (3) uma diminuição da ingestão de hidratos de carbono e fibras complexos; (4) um aumento no consumo de grãos de cereais em oposição à diminuição de fruta e vegetais; e (5) uma diminuição na ingestão de proteína, antioxidantes e cálcio.

Os seres humanos evoluíram, assim, de uma dieta onde o rácio de ácidos gordos essenciais  $\omega 6/\omega 3$  era de aproximadamente 1, para uma dieta ocidental completamente desequilibrada com rácios de 15/1 a 16,7/1 (Simopoulos, 2002). Esta inadequação da dieta face àquilo que o organismo humano realmente requer tem vindo a contribuir para vários problemas, nomeadamente doenças crónicas como a aterosclerose, hipertensão, obesidade, diabetes e uma vasta gama de cancros. Dado que a nutrição é um fator ambiental com uma grande importância na saúde humana, estes problemas são ainda mais exacerbados dado os estilos de vida sedentários e a exposição a substâncias nocivas (Simopoulos, 2002). Face a estas disparidades, um dos conselhos é de que o rácio  $\omega 6/\omega 3$  ótimo seja entre 1/1 a 4/1 (Simopoulos, 2002) e daí o crescente interesse no consumo de pescado.

Consumir pescado de origem marinha e derivados pode contribuir em larga escala para hábitos alimentares mais saudáveis (Hossain, 2011). Em vários países europeus, não só existe um grande consumo *per capita* (Nunes *et al.*, 2003), como o peixe também se apresenta como uma fonte proteica de alta qualidade e facilmente digestível, rica em aminoácidos essenciais, minerais e vitaminas A, D e E (Tocher, 2009), e com baixo valor calórico (Nunes *et al.*, 2003). Por outro lado, o seu conteúdo lipídico pode ser bastante superior ao proteico (Tocher, 2003), trazendo vários benefícios nutricionais. De facto, pela riqueza em ácidos gordos  $\omega 3$  aliada à escassez em  $\omega 6$ , é importante que a população aumente o consumo em pescado e afins (Simopoulos, 2002). Os ácidos gordos polinsaturados  $\omega 3$  aos quais tem sido dada maior atenção nos últimos anos são o eicosapentaenóico (EPA, 20:5  $\omega 3$ ) e o decosahexaenóico (DHA, 22:6  $\omega 3$ ) (Hossain, 2011; Tocher, 2009).

## 1.2. Espécies invasoras – o caso do achigã (*Micropterus salmoides*) em Portugal

O crescente recurso a águas interiores para atividades de recreio, navegação e fornecimento de alimento, tem levado a um aumento da conectividade entre sistemas aquáticos e à introdução de numerosas espécies não nativas (com grande capacidade de adaptação aos novos ecossistemas), tendo como consequência a homogeneização das comunidades aquáticas (Anastácio *et al.*, 2019; Banha *et al.*, 2017). Em consequência, os ecossistemas de água doce apresentam um grande declínio na sua biodiversidade (Banha *et al.*, 2017), sendo que os invasores biológicos são apontados como a principal causa desse declínio. A Península Ibérica é um bom exemplo de preocupação conservativa, já que possui um grande número de espécies endémicas (Banha *et al.*, 2017). Para além das modificações severas ao nível da morfologia dos canais e do fluxo, aliadas à degradação da qualidade das águas em consequência das descargas de resíduos industriais e de efluentes não tratados, a introdução de espécies exóticas nestes ecossistemas tem afetado em grande escala as espécies autóctones (Banha *et al.*, 2017). Na verdade, um grande número de espécies invasoras já se encontra estável na Península Ibérica e representa um importante vetor das atividades de pesca desportiva (Banha *et al.*, 2017).

Quanto a Portugal, a sua situação não é diferente da presente no restante território ibérico, dando-se a situação de existirem ecossistemas de água doce relativamente isolados, permitindo a evolução de diversas espécies endémicas. Em Portugal, a maioria das espécies exóticas presentes são nativas da América do Norte ou da Europa, sendo as grandes razões apuradas para a introdução destes indivíduos o controlo de espécies já presentes nos ecossistemas (32,1%) e a introdução intencional para atividades piscatórias (31,3%) (Anastácio *et al.*, 2019). A entrada de espécies com fins ornamentais (20,2%), a introdução clandestina (4,8%), o controlo biológico (2,4%) e a produção animal (1,2%) são também outras razões apontadas (Anastácio *et al.*, 2019).

Tais como outros grupos faunísticos, a introdução de espécies piscícolas exóticas tem impactos de vários níveis, nomeadamente hibridização, transmissão de doenças, perturbação de interações bióticas e efeitos em todo o ecossistema (Anastácio *et al.*, 2019). No entanto, nem todas as introduções resultam neste tipo de problemas, podendo ter benefícios socioeconómicos e de conservação. Na verdade, no caso do achigã e da carpa comum (*Cyprinus carpio*), por serem bastante apreciados pelos pescadores recreativos em Portugal, poderão gerar benefícios económicos em algumas regiões (Almeida *et al.*, 2017; Anastácio *et al.*, 2019). Deste modo, torna-se importante a realização de levantamentos das espécies existentes nestes ecossistemas bem como de estudos relativos à interação entre as mesmas, permitindo a integração destas espécies em programas de gestão e ordenamento pesqueiro, e a rentabilização económica da sua ocorrência em ecossistemas lênticos (Almeida *et al.*, 2017). Para além disso, o sumário dos vetores de introdução, dos impactos ecológicos e económicos e das possíveis ações de mitigação desses impactos são também de extrema relevância (Anastácio *et al.*, 2019). De facto, a existência de registos oficiais da introdução de espécies piscícolas desde o século XIX a fim de promover a pesca recreativa, permite perceber que até aos anos de 2000 existiram introduções oficiais de salmonídeos não nativos no território continental português, sendo que atualmente estas ainda ocorrem nos arquipélagos dos Açores e Madeira (Anastácio *et al.*, 2019).

### 1.3. Enquadramento do projeto GAMEFISH

A presente dissertação integra-se no projeto GAMEFISH – Gestão e Promoção da Pesca Recreativa em Albufeiras da Região Mediterrânica (ALT20-03-0145-FEDER-000016), projeto este que tem como entidade promotora a Universidade de Évora, em parceria com o MARE – Centro de Ciências do Mar e do Ambiente (MARE-UÉ) e com o ICAAM – Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, sendo cofinanciado pela União Europeia por meio do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional, enquadrado no ALENTEJO 2020 (Programa Operacional Regional do Alentejo) (Almeida *et al.*, 2017). Em termos de objetivo principal, o projeto supracitado pretende desenvolver um plano de gestão direcionado para as albufeiras alentejanas de pequena-média dimensão que as promova para a prática da pesca recreativa (Almeida *et al.*, 2017). Para tal, o plano assenta:

- i. No aumento sustentável das espécies/dimensões de peixes mais interessantes para a pesca lúdica;
- ii. Na redução da probabilidade de ocorrência de mortalidades massivas de peixes em períodos de escassez de água;
- iii. Na integração das espécies mais interessantes para a atividade em causa, muitas delas não-indígenas, nos programas de gestão pesqueira.

De forma a atingir o objetivo a que se propõe, o projeto GAMEFISH tem planeadas cinco ações de carácter técnico-científico. Estas são (Almeida *et al.*, 2017):

- 1) A definição das tipologias de adequabilidade para a pesca recreativa;
- 2) A identificação de indicadores ambientais de fenómenos de mortalidade massiva;
- 3) O reconhecimento de padrões de utilização e residência das espécies piscícolas em resposta ao melhoramento artificial do habitat;
- 4) A caracterização do perfil lipídico e nutricional de espécies com interesse para a pesca recreativa;

- 5) O desenvolvimento de um plano de gestão para albufeiras mediterrânicas.

Esta dissertação integra-se na ação 4 do projeto. Esta pretende caracterizar o perfil lipídico e nutricional de indivíduos de uma determinada espécie, considerada relevante do ponto de vista piscatório, e relacionar a qualidade nutricional da sua carne com as características ambientais das albufeiras de residência, com as idades dos exemplares obtidos e com a estação do ano (Almeida *et al.*, 2017). A espécie selecionada para análise foi o achigã.

#### 1.4. Objetivo geral

Tendo em conta o propósito do projeto GAMEFISH, a situação socioeconómica portuguesa e dispersão geográfica atual do achigã no país, bem como a relevância do consumo de pescado na nutrição humana, o objetivo geral desta dissertação consistiu em determinar a qualidade nutricional do perfil lipídico e o teor proteico da carne de achigã em duas épocas distintas, inverno e verão. Com isto, pretendeu-se averiguar se o consumo deste peixe poderia ser considerado uma prática saudável na dieta dos portugueses, justificando a aposta em planos de gestão pesqueira desta espécie em Portugal.

#### 1.5. Objetivos específicos

##### I. Conhecer:

- A distribuição de achigã na Península Ibérica;
- Os hábitos alimentares e comportamentos reprodutivos do achigã, bem como as suas tolerâncias fisiológicas;
- O teor proteico bruto da carne de achigã;
- A estrutura e classificação dos lípidos com destaque para os ácidos gordos das famílias  $\omega 3$  e  $\omega 6$ ;
- As famílias  $\omega 3$  e  $\omega 6$  no músculo de achigã;

- A qualidade nutricional da carne de achigã de uma albufeira alentejana específica.

## II. Aplicar:

- Metodologia para a determinação da humidade presente no músculo de achigã;
- Metodologia para determinação do teor de proteína bruta no músculo de achigã mediante quantificação de azoto libertado por combustão;
- Metodologia para a determinação do teor de lípidos totais presentes no músculo de achigã mediante extração por solvente a elevada pressão;
- Metodologia para preparação de ésteres metílicos de ácidos gordos para cromatografia em fase gasosa (GC);
- Metodologia para conhecer o perfil em ácidos gordos das famílias  $\omega 3$  e  $\omega 6$  mediante cromatografia em fase gasosa (GC);
- Tratamento estatístico dos dados.

## III. Determinar:

- Teor de proteína bruta;
- Teor de lípidos totais;
- Perfil de ácidos gordos;
- Razão ácidos gordos polinsaturados/saturados;
- Razão ácidos gordos  $\omega 3/\omega 6$ ;
- Índice de trombogenicidade;
- Índice de aterogenicidade;
- Índice hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos.

IV. Compreender:

- As características nutricionais da carne de achigã, nomeadamente ao nível do seu conteúdo lipídico e proteico, comparando com as de outras espécies habitualmente consumidas em Portugal.

V. Valorizar:

- O estudo do perfil lipídico e do teor proteico do músculo de achigã de modo a incentivar o consumo da sua carne num estilo de vida saudável na população portuguesa.
- O consumo de carne de achigã de forma a promover a economia local de regiões rurais isoladas.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. O achigã (*Micropterus salmoides*, Lacépede, 1802)

O achigã (*Micropterus salmoides*) é uma espécie altamente adaptável a novos ecossistemas que se encontra bem estabelecida em Portugal. Se no nosso país o seu consumo é apenas característico de algumas zonas e fruto de pesca desportiva, noutros países esta espécie tem um papel bastante preponderante na economia local. Na China, por exemplo, o achigã é muito conhecido pela sua riqueza nutricional, excelente paladar e preço adequado (Shi *et al.*, 2018). Já nos Estados Unidos da América (EUA), o achigã apresenta-se como um candidato promissor à aquicultura, sendo, esta espécie comercializada, em média, a 10\$/kg por grosso e a 18\$/kg na venda a retalho, estando equiparada com outras espécies (Egnew *et al.*, 2019).

De seguida caracteriza-se o achigã de forma geral, explorando aspetos como os seus hábitos alimentares, comportamentos reprodutivos, habitat, tolerâncias fisiológicas, mas também o papel que desempenha enquanto espécie invasora e a sua distribuição no território ibérico.

#### 2.1.1. Caracterização geral

##### 2.1.1.1. Filogenia e taxonomia

Cientificamente descrito por Lacepède em 1802 (Long *et al.*, 2015), o achigã (*Micropterus salmoides*) (Figura 1) pertence à família Centrarchidae. Esta é nativa do continente norte americano e é uma das mais representativas no mesmo, com um total de 30 espécies (Brown, *et al.*, 2009). O nome científico do achigã deriva do Grego *micropterus*, “pequena barbatana” e do Latim *salmoides*, “semelhante a truta” (Brown *et al.*, 2009). De acordo com Brown *et al.* (2009), o achigã é classificado na seguinte posição filogenética:

Reino Animalia

Filo Chordata

Subfilo Vertebrata

Classe Actinopterygii

Ordem Perciformes

Subordem Percoidei

Família Centrarchidae

Género *Micropterus*

Espécie *Micropterus salmoides*



Figura 1 - Ilustração de achigã (*Micropterus salmoides*, Lacepède, 1802). Adaptado de Brown *et al.* (2009).

#### 2.1.1.2. Características morfológicas

O achigã é uma espécie piscícola relativamente comprida. Estes indivíduos poderão ultrapassar os 600 mm, havendo diferenças entre machos e fêmeas em que os primeiros, por norma, não ultrapassam os 400 mm e os segundos os 560 mm (Sanches & Rodrigues, 2011). Quanto ao peso em adulto, este varia entre 7 e 12 kg, no entanto, o mais frequente é variar entre 100 g e 2 kg. A esperança média

de vida é de 15 anos em ambiente selvagem e de 6 anos em cativeiro (Sanches & Rodrigues, 2011).

Com um corpo alongado, ovoide e ligeiramente comprimido nos flancos, os achigãs possuem um perfil do dorso mais ou menos convexo, conforme a idade dos indivíduos (Sanches & Rodrigues, 2011). A sua forte cabeça poderá representar cerca de um terço do comprimento total do corpo, excluindo a barbatana caudal (Sanches & Rodrigues, 2011), tal como é possível de observar na Figura 2. A referida barbatana possui características específicas que conferem ao achigã rapidez em águas abertas e uma excelente capacidade aceleratória (Brown *et al.*, 2009). Para além da barbatana caudal, o achigã possui ainda outras barbatanas ímpares (dorsal e anal) e pares (ventrais e peitorais) (Figura 2). Característica dos membros da família Centrarchidae, a barbatana dorsal encontra-se dividida em duas partes: a primeira com raios duros ou espinhosos simples, e a segunda mais alta e arredondada com raios moles ramificados (Brown *et al.*, 2009; Sanches & Rodrigues, 2011). Por sua vez, a barbatana anal, localizada na região ventral logo após a papila ano-genito-urinária, é constituída por três raios espinhosos e simples e os restantes dez a doze são moles e ramificados (Sanches & Rodrigues, 2011). Quanto às barbatanas pares, e começando pelas ventrais, estas são constituídas por um primeiro raio espinhoso e por outros cinco raios moles ramificados. Já as barbatanas peitorais, localizadas ventralmente um pouco atrás da cabeça (Figura 2), possuem também raios moles ramificados mas em maior número (catorze a quinze raios) (Sanches & Rodrigues, 2011).

Um aspeto bastante diferenciador do achigã e que revela o seu papel enquanto predador, é a grande boca que, depois de aberta, é capaz de atingir o diâmetro do seu corpo (Sanches & Rodrigues, 2011). Este animal possui ainda um opérculo escamoso com o bordo livre liso e a terminar em ponta, bem como olhos relativamente grandes, com íris amarelo-alaranjada (Figura 2). Os orifícios nasais externos situam-se rostralmente aos olhos, comunicando com os sacos olfativos (Sanches & Rodrigues, 2011).

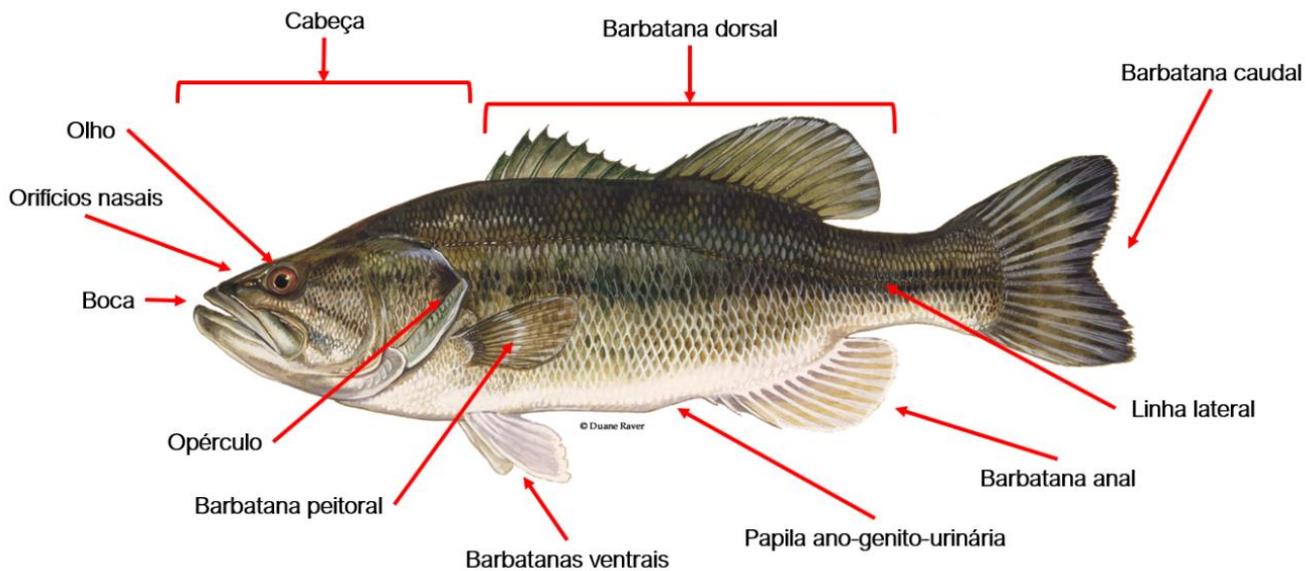


Figura 2 - Morfologia do achiçã (*Micropterus salmoides*, Lacepède, 1802). Adaptado de Raver (s.d.).

É ainda possível identificar uma linha contínua que se estende ao longo do corpo, desde o opérculo até à barbatana caudal, designada de linha lateral (Figura 2). Esta linha é de cor preta, possuindo uma fiada de manchas castanhas ou negras, facilmente identificáveis em indivíduos adultos. Quanto à cor do dorso, este apresenta-se bronzeado-escuro com um tom verde-escuro ou oliváceo (Sanches & Rodrigues, 2011), sendo que durante a época reprodutiva os machos poderão apresentar uma coloração mais escura (Brown *et al.*, 2009). Já os flancos são verde-oliváceos com reflexos prateados ou dourados e pintas irregularmente disseminadas abaixo da linha lateral; e o ventre é branco amarelado, sendo que o opérculo possui duas barras escuras e uma mancha preta (Sanches & Rodrigues, 2011).

### 2.1.1.3. Tolerâncias fisiológicas e habitat

A temperatura é sem dúvida o fator ambiental com maior influência nos hábitos dos indivíduos da família Centrarchidae, já que, como organismos poiquilotérmicos, este fator irá influenciar o ciclo reprodutivo, as taxas de ingestão e metabólicas, a performance natatória, a taxa de crescimento, e a sua distribuição em lagos e rios

(Charles, 1975). Outros parâmetros químicos da água com importância no bem-estar destes animais são a concentração de oxigênio dissolvido, o pH e a salinidade da mesma.

No que toca às exigências térmicas do achigã, as condições de temperatura variam consoante a sua fase de vida e atividade (Brown *et al.*, 2009). Brown *et al.* (2009) recolhe dados de vários autores concluindo que na fase de crescimento em adulto, a temperatura ótima varia entre 24 e 30 °C, sendo as temperaturas limite, mínima e máxima 15 °C e 36 °C, respetivamente. No verão, quando a temperatura da água atinge os 27 °C, o achigã procura águas mais profundas e, conseqüentemente, mais frias durante o dia (Sanches & Rodrigues, 2011). Já no outono, como a temperatura da água baixa e o número de horas de sol também se reduz, o achigã permanece em águas pouco profundas durante todo o dia. Em alturas em que a água atinge os 7 °C, como no inverno, o achigã vê a sua atividade reduzir drasticamente (Brown *et al.*, 2009; Sanches & Rodrigues, 2011). De facto, abaixo dos referidos 7 °C a ingestão de alimento diminui drasticamente e a 3 °C o achigã entra em dormência (Sanches & Rodrigues, 2011).

As fases de desova e incubação requerem temperaturas na gama de 13-26 °C, sendo a ótima 20-21 °C. A sobrevivência dos ovos e embriões é pouco provável abaixo dos 10 °C e acima dos 30 °C. Na fase larvar o crescimento dá-se entre 27 e 30 °C, cessando acima dos 32 °C e abaixo dos 15 °C. Por último, na fase juvenil, a taxa de crescimento será maior em temperaturas entre os 26 e 28 °C (Brown *et al.*, 2009).

O achigã não ocorre em águas com níveis de oxigênio dissolvido inferior a 3,0 mg/L, conseguindo, porém, sobreviver em ambientes de 1,5 mg/L quando as temperaturas são ótimas (Brown *et al.*, 2009). Contudo, abaixo de 1,0 mg/L os níveis de oxigênio dissolvido serão letais (Brown *et al.*, 2009). Assim, irá evitar águas com baixa concentração de oxigênio dissolvido, optando por águas com concentrações mais elevadas de modo a manter o seu normal metabolismo (Sanches & Rodrigues, 2011). Quanto ao pH, o ótimo ocorre entre 6,5 e 8,5, sendo que os achigãs toleram exposições a valores de pH mínimos de 3,9 e máximos de 10,9 (Brown *et al.*, 2009). Apesar desta tolerância, a desova fica comprometida sob

pH inferior a 5,0 e os ovos não sobrevivem com pH superior a 9,6 (Brown *et al.*, 2009).

Por último, relativamente à salinidade, o achigã habita ambientes de salinidades compreendidas entre 0,5 e 5,0 (Brown *et al.*, 2009), suportando bem águas salobras (Sanches & Rodrigues, 2011).

Tendo estas exigências fisiológicas em conta, o achigã tem preferência por meios lânticos ou cursos de água com fraca corrente (Sanches & Rodrigues, 2011), podendo, no entanto, frequentar pântanos, lagoas, lagos, barragens, riachos, estuários e grandes rios (Brown *et al.*, 2009). A presença de vegetação subaquática é muito importante, fornecendo às larvas e juvenis esconderijo de predadores (Sanches & Rodrigues, 2011). Todavia, esta vegetação não deverá ser demasiado densa de modo a não dificultar a captura de alimento. Em fases de desenvolvimento mais avançadas, a vegetação subaquática permite ainda locais de proteção da intensidade de luz e de esconderijos para emboscadas. Outros locais com acumulação de pedras, fundos com detritos, troncos submersos, galhos e outros objetos oferecem as mesmas vantagens (Sanches & Rodrigues, 2011).

O achigã é capaz de viver em águas com elevado grau de turbidez e mesmo com um certo grau de poluição, porém, uma turvação elevada irá inviabilizar o sucesso de captura de alimento, tal como acontece com a elevada densidade de vegetação, e condicionar negativamente o desenvolvimento do animal (Sanches & Rodrigues, 2011).

#### **2.1.1.4. Alimentação**

O achigã é uma espécie essencialmente piscívora e bastante voraz, sendo caracterizada por apresentar diferentes regimes de alimentação de acordo com as diferentes fases de desenvolvimento (Brown *et al.*, 2009; Sanches & Rodrigues, 2011). Além do mais, a sua alimentação não se centra apenas em espécies piscícolas, mas inclui também anfíbios, crustáceos e insetos aquáticos (Han *et al.*, 2016).

De acordo com Sanches & Rodrigues (2011), na fase de alevim, os achigãs alimentam-se de zooplâncton (cladóceros, copépodes e rotíferos) e de invertebrados tais como larvas aquáticas de insetos. Após atingirem os 40-50 mm e antes dos 100 mm, adicionalmente ao zooplâncton anterior, os achigãs passam a ingerir também efemerópteros. Entre os 100 e os 200 mm de comprimento, a alimentação centra-se em ninfas de odonata, insetos que caem na água, crustáceos, moluscos e pequenos peixes. Com mais de 200 mm, estes peixes alimentam-se de ninfas de odonata, outros peixes, lagostins, e até anfíbios (rãs e salamandras) e pequenos mamíferos (Sanches & Rodrigues, 2011). Pode assim afirmar-se que o achigã tem uma dieta bastante flexível e adaptável ao alimento disponível. Em alturas de escassez de alimento, o achigã poderá eventualmente recorrer ao canibalismo (Sanches & Rodrigues, 2011), o que posiciona esta espécie no topo da cadeia trófica como *apex predator*, e a caracteriza como um excelente bioindicador do ecossistema onde vive.

Tal como já referido, a temperatura é um fator condicionante na ingestão do achigã, já que este não se irá alimentar quando a temperatura da água for inferior a 5 °C ou superior a 37 °C (Sanches & Rodrigues, 2011). Para além da influência no comportamento de ingestão, segundo estudos citados por Sanches & Rodrigues (2011), a temperatura também influencia a taxa de digestão, i.e., verificou-se que em águas de diferentes temperaturas, o tempo de digestão não dependia apenas do tamanho da presa mas também da temperatura do meio. O amanhecer e o entardecer são as alturas preferenciais para o achigã caçar, assim como locais pouco profundos (Sanches & Rodrigues, 2011).

Um fator que poderá influenciar o regime alimentar do achigã é o próprio local onde o animal se encontra. García-Berthou (2002) desenvolveu um estudo no Lago de Bañolas, na Catalunha, onde concluiu que a presença de camarões de água doce (*Echinogammarus* sp., *Atyaephyra desmaresti*, *Procambarus clarkii*) tinha uma grande importância na dieta do achigã na medida em que estes, frequentemente, substituíam a ingestão de insetos por camarões.

### 2.1.1.5. Reprodução

Espécie ovípara, segundo Sanches & Rodrigues (2011), o achigã atinge a maturidade sexual entre os 2 e os 5 anos de idade. Já Brown *et al.* (2009), afirma que, no Canadá, a maturidade sexual nas fêmeas ocorre aos 4-5 anos e nos machos aos 3-4 anos. Contudo, esta maturidade sexual é mais dependente do tamanho do que da idade do animal (Sanches & Rodrigues, 2011), podendo ser mais célere em regiões mais a sul (Brown *et al.*, 2009). Em Portugal, a maturidade sexual é atingida com cerca de 250 a 300 mm de comprimento (2 a 3 anos de idade), sendo que no norte do país, devido ao facto da temperatura das águas ser inferior, a maturidade sexual é mais tardia.

Não apresentando dimorfismo sexual evidente, os órgãos genitais ladeiam simetricamente a bexiga natatória em machos e fêmeas (Sanches & Rodrigues, 2011). Se por um lado os machos apresentam dois testículos estreitos, compridos e de cor esbranquiçada, por outro lado as fêmeas possuem dois ovários longos e de aspeto granuloso e cor amarela. Com o aproximar da época reprodutiva, os órgãos genitais de ambos os sexos aumentam de volume, e na altura da desova as fêmeas mostram o abdómen distendido e uma dilatação saliente de cor vermelha no orifício urogenital (Sanches & Rodrigues, 2011). A maturação das gónadas é influenciada não só pela temperatura, mas também pelo fotoperíodo. Por norma, a época reprodutiva tem lugar entre março e junho quando a temperatura da água se situa entre os 16 e 18 °C e o fotoperíodo é crescente (Sanches & Rodrigues, 2011).

A construção dos ninhos compete aos machos que, com o auxílio da barbatana caudal, escavam uma depressão de forma circular sobre um fundo arenoso ou entre raízes aquáticas, circundando-a depois à procura de uma fêmea (Sanches & Rodrigues, 2011). O início destas atividades tem como fator limitante a temperatura da água que tem de estar a, pelo menos, 15,6 °C (Brown *et al.*, 2009). Estes ninhos são construídos em águas pouco profundas (entre 300 e 1200 mm, podendo ser de 6 m em águas muito claras), de fraca corrente e de grandes densidades vegetativas. Várias fêmeas podem desovar no mesmo ninho, sendo que cada uma apresenta posturas entre 750 a 11500 ovos com 1,5-2,5 mm de diâmetro (Sanches & Rodrigues, 2011). Os ovos aderem ao substrato do fundo e são cuidadosamente

vigiados pelo macho durante e depois da incubação, que dura 5 a 10 dias, dependendo da temperatura da água (Brown *et al.*, 2009; Sanches & Rodrigues, 2011). Os machos de achigã são bastante territoriais, pelo que atacam de forma agressiva qualquer intruso que ameace o seu ninho e os ovos (Sanches & Rodrigues, 2011). Pela observação da diminuição da ingestão de alimento durante o período de cuidados parentais, pode afirmar-se que a fase reprodutiva é bastante stressante para os machos, sendo importante que haja um prévio comportamento de elevado consumo calórico.

### 2.1.2. Origem e papel invasor

O achigã é nativo da América do Norte da região dos Grandes Lagos (Sanches & Rodrigues, 2011), e uma das espécies com maior distribuição a nível mundial devido à sua grande popularidade para a pesca desportiva (Brown *et al.*, 2009; Han *et al.*, 2016). No continente norte americano é a espécie em maior disponibilidade para os pescadores, tendo a sua expansão começado nos anos de 1800, potenciada pela sua população numerosa e natureza adaptável (Brown *et al.*, 2009). Foi no final do século XIX que o achigã foi introduzido no continente europeu, nomeadamente em países como França, Alemanha, Espanha, Itália e Rússia (Sanches & Rodrigues, 2011). Especificamente em Portugal, a sua introdução remonta ao ano de 1952 (Godinho *et al.*, 1997).

Esta espécie tem, na verdade, uma natureza altamente adaptável e capaz de se distribuir para além do seu ponto de introdução inicial, com vastas consequências, as quais vão desde simples relações de competição e predação, perturbações na cadeia alimentar local (Han *et al.*, 2016), alterações nas comunidades e ecossistemas (Brown *et al.*, 2009). De facto, por ser um predador de topo e não ter inimigos naturais, a presença desta espécie conduz a alterações estruturais e funcionais nos ecossistemas, como a redução da biodiversidade dos mesmos (Han *et al.*, 2016), pelo que é considerado uma espécie invasora. Assim, o achigã deverá ser contemplado como uma ameaça à biodiversidade dos cursos de água doce, não apenas pela sua capacidade de alterar as comunidades nativas,

mas também pelo seu potencial em afetar populações de salmonídeos (Brown *et al.*, 2009).

Um estudo realizado por Maezono *et al.* (2005) e citado por Han *et al.* (2016), propôs que a pressão predatória criada pelo achigã em comunidades biológicas nativas é a variável com maior impacto na biodiversidade das espécies. De facto, cerca de 50 países têm já experienciado problemas decorrentes da dominância de várias espécies exóticas, tais como o achigã (Han *et al.*, 2016).

### 2.1.3. Distribuição na Península Ibérica

De forma a prever os locais favoráveis à distribuição do achigã na Península Ibérica (Figura 3), Bae *et al.* (2018) desenvolveram um estudo em que, a temperatura média anual e capacidade do reservatório a montante e local eram das variáveis mais significativas na predição da presença de achigã. O melhor modelo prevê a presença de achigã em locais com temperaturas anuais relativamente altas ( $14,9\text{ }^{\circ}\text{C} \leq T \leq 17,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), níveis intermédios de precipitação anual e gamas térmicas acima de  $12,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Em oposição, é menos provável encontrar achigãs em locais onde exista menor capacidade de reservatório e em que as temperaturas médias do ar não ultrapassem  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Bae *et al.*, 2018).

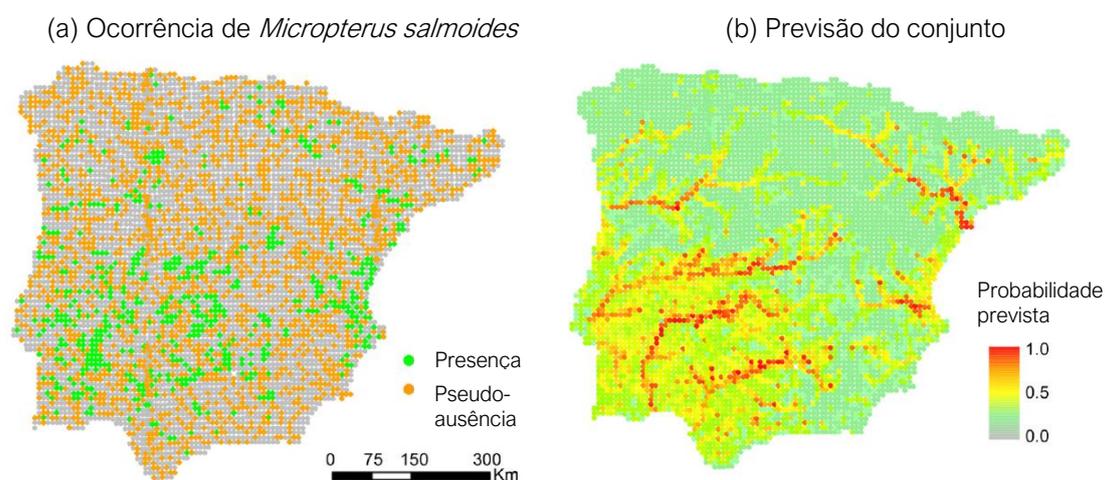


Figura 3 – Distribuição geográfica observada (a) e prevista (b) de achigã na Península Ibérica. Adaptado de Bae *et al.* (2018).

Segundo este mesmo estudo, a temperatura mostrou ser o fator mais relevante na distribuição do achigã, sendo que este era menos prevalente em locais mais frios e húmidos como o nordeste da Península Ibérica, e ainda em regiões mais quentes e secas como o sudeste espanhol (Bae *et al.*, 2018). Esta importância da temperatura para o achigã não é surpreendente já que vai de encontro à dependência que esta espécie tem da temperatura da água para várias atividades como a desova, reprodução e crescimento (Brown *et al.*, 2009; Sanches & Rodrigues, 2011). Por essa razão, idealmente ter-se-ia utilizado a temperatura da água como preditor, em vez da temperatura do ar, porém, em geral, esta não estava sempre disponível no estudo de Bae *et al.* (2018).

O clima maioritariamente mediterrânico, característico da Península Ibérica, explica o carácter invasivo do achigã comparativamente a muitos países do norte da Europa. Este clima caracteriza-se por invernos amenos e secos, e verões quentes, pelo que as condições requeridas pelo achigã se mantêm por vários meses (Bae *et al.*, 2018). Em Portugal, o achigã encontra-se estabelecido em Portugal Continental e Açores, existindo, no entanto, ainda áreas sem a sua prevalência. De facto, segundo dados históricos, a introdução do achigã iniciou-se nos Açores, mais precisamente na Lagoa das Sete Cidades na Ilha de São Miguel, com exemplares oriundos dos EUA (Sanches & Rodrigues, 2011). É já na segunda metade do século XX, e com o objetivo de controlar as populações de gambúsias (*Gambusia holbrokii*), que o achigã é trazido para o Continente, onde a existência de grandes barragens favoreceu a sua aclimação ao meio (Sanches & Rodrigues, 2011).

## 2.2. Qualidade nutricional

A qualidade nutricional de um alimento resultará, entre outros fatores, da sua riqueza em determinados nutrientes. Os macronutrientes, i.e., as proteínas, os lípidos e os hidratos de carbono, serão aqueles com maior importância aquando da análise do valor nutricional do alimento em causa. Para além destes, poderão ainda ser considerados micronutrientes como as vitaminas e os sais minerais, bem como o valor energético (Afonso, 2009).

A parte edível de pescado, apresenta uma composição química que varia de espécie para espécie, mas também entre indivíduos da mesma espécie, dependendo da idade, sexo, ambiente e época de captura (Huss, 1995). Para além dos fatores referidos, também a ingestão de alimento se encontra relacionada com a composição química do músculo de pescado (Huss, 1995). Esta ingestão poderá ser influenciada por diferentes períodos de stress para o animal, como a fase reprodutiva, ou simplesmente pela escassez de alimento.

Os principais constituintes deste tipo de alimento serão as proteínas, lípidos, hidratos de carbono e água (Afonso, 2009). Será, mais uma vez, a riqueza nestes constituintes, aliada ao valor energético, que irá determinar a qualidade nutricional do alimento (Afonso, 2009).

Nos peixes, os hidratos de carbono encontram-se quantitativamente muito menos representados, sendo as proteínas, os lípidos e ácidos gordos os maiores compostos orgânicos constituintes (Ventura, 2014). Ao contrário dos mamíferos, cuja principal fonte energética presente na dieta são os hidratos de carbono, o regime alimentar natural da maioria dos peixes teleósteos é pobre em hidratos de carbono, pelo que o pescado terá um conteúdo nestes componentes muito baixo (inferior a 0,5%) (Huss, 1995). Tal facto, levou a que na generalidade, os peixes não consigam metabolizar hidratos de carbono eficientemente (Huss, 1995), recorrendo aos lípidos como principal fonte de energia e ao processo de neoglucogénese (Tocher, 2003). Estes compostos podem representar 20% do peso fresco de algumas espécies de peixes marinhos, podendo exceder largamente o conteúdo proteico em determinadas fases do ciclo de vida de algumas espécies (Tocher, 2003; Ventura, 2014). Além do mais, os lípidos são ainda os constituintes que exibem maior variação, podendo oscilar muito mais que o teor em água, proteína ou minerais (Ventura, 2014).

### 2.2.1. Humidade

O pescado apresenta um elevado teor de água, ainda que seja muito variável entre diferentes espécies (Afonso, 2009). Este teor variará entre 60 a 80-82% no músculo dos peixes (Afonso, 2009; Huss, 1995), tendo implicações nas proporções de outros constituintes como os lípidos e as proteínas (Afonso, 2009).

### 2.2.2. Proteína

Do Grego *proteios*, que significa “primeiro” (Morrison & Boyd, 1996), as proteínas são compostos orgânicos de alto peso molecular, contendo oxigénio, hidrogénio, carbono, azoto e enxofre (McDonald *et al.*, 2002). Encontradas em todas as células vivas, são o principal constituinte da pele, músculos, tendões, nervos, sangue, enzimas, anticorpos e muitas hormonas (Morrison & Boyd, 1996). Cada espécie terá proteínas específicas, podendo, inclusivamente, existir um grande número de proteínas nas suas células e tecidos. Daí ser possível uma grande variedade de proteínas na natureza (McDonald *et al.*, 2002; Morrison & Boyd, 1996).

São classificadas enquanto polímeros, mais precisamente poliamidas, sendo os monómeros que as formam  $\alpha$ -aminoácidos carboxílicos (Morrison & Boyd, 1996). Os aminoácidos surgem a partir da hidrólise de proteínas por ação de enzimas, ácidos ou álcalis (McDonald *et al.*, 2002), e são caracterizados por ter um grupo azotado básico, geralmente um grupo amina ( $-\text{NH}_2$ ) e um grupo carboxilo ( $-\text{COOH}$ ) (McDonald *et al.*, 2002).

O pescado é uma excelente fonte proteica, contendo todos os nove aminoácidos essenciais (Nunes *et al.*, 2003). Comparativamente a outras fontes proteicas como a carne bovina e a de aves, o peixe apresenta a vantagem de ter menos tecido conjuntivo, pelo que a sua proteína é de maior digestibilidade (Nunes *et al.*, 2003). Além disso, estes compostos são ainda um componente fundamental ao adequado funcionamento celular e dos órgãos, estando o consumo proteico associado de forma inversa ao risco do aumento de doenças cardiovasculares e diminuição da pressão sanguínea (Afonso, 2009).

### 2.2.3. Lípidos

Os lípidos, compostos que possuem uma cadeia alifática (formada por  $-\text{CH}_2-$ ) com, pelo menos, oito átomos de carbono (C) (Campos, 2009), constituem um grupo heterogêneo de substâncias que apresentam a propriedade comum de serem relativamente insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos não polares, tais como benzeno, éter, clorofórmio e acetona (Azevedo & Sunkel, 2012; McDonald *et al.*, 2002; Morrison & Boyd, 1996; Murray *et al.*, 2003; Ventura, 2014). Neste grupo encontramos compostos como gorduras, óleos, esteróis, ceras e outros relacionados. Desempenham funções homeostáticas nos seres vivos, nomeadamente de isolamento térmico e reservas energéticas, fazendo parte integrante das membranas biológicas, graças aos fosfolípidos e esteróis (Ventura, 2014), e atuando também como transportadores de eletrões e cofatores enzimáticos (McDonald *et al.*, 2002). Conhecer a bioquímica deste grupo de compostos químicos é necessário para o entendimento de certas doenças, tais como a obesidade, a diabetes, a aterosclerose, e também para o conhecimento do papel de vários ácidos gordos polinsaturados na nutrição e saúde (Murray *et al.*, 2003).

Nos animais, incluindo os peixes, a maioria dos lípidos é de reserva energética, principalmente sob a forma de triacilgliceróis. Um triacilglicerol é um éster simples formado pela união de três ácidos gordos a uma molécula de glicerol cujos três grupos  $-\text{OH}$  se ligam aos radicais carboxílicos dos ácidos gordos (Morrison & Boyd, 1996). Geralmente, nos peixes os lípidos são armazenados em vários órgãos, como o fígado, e músculos, apresentando também gordura mesentérica (Ventura, 2014), não existindo tecido adiposo propriamente dito como nos mamíferos.

#### 2.2.3.1. Classificação dos lípidos

Com base na capacidade dos lípidos sofrerem ou não hidrólise, é possível distinguir lípidos simples e lípidos complexos (Ventura, 2014). Os primeiros dizem respeito a todos os lípidos que, por hidrólise, originam um álcool e um ou mais ácidos gordos (Campos, 2009), sendo deste modo ésteres de ácidos gordos com

vários álcoois. Neste grupo englobam-se as gorduras e as ceras, que contêm glicerol e álcoois monoídricos com alto peso molecular (Murray *et al.*, 2003). Já os lípidos complexos, por hidrólise, libertam também ácido fosfórico, oses e outros compostos, para além de um álcool e ácidos gordos (Campos, 2009). Exemplos de lípidos complexos são os fosfolípidos e os glicolípidos (Murray *et al.*, 2003).

### 2.2.3.2. Ácidos gordos e seus isómeros

Entende-se por ácido gordo qualquer “ácido monocarboxílico alifático que possa libertar-se por hidrólise a partir de óleos ou gorduras naturais” (Campos, 2009). Sendo ácidos monocarboxílicos de cadeia linear não ramificada, os ácidos gordos caracterizam-se por possuírem número par de átomos de carbono e um grupo carboxilo ( $-\text{COOH}$ ), estando os átomos ligados entre si por ligações covalentes simples ou duplas. Se numa extremidade da cadeia é possível encontrar o grupo carboxilo, também designado de grupo terminal, na outra extremidade situa-se o grupo metilo ( $\text{H}_3\text{C}-$ ), formado por um átomo de carbono ligado a três átomos de hidrogénio (Ventura, 2014). Reconhece-se que os ácidos gordos com número par de átomos de carbono entre 4 e 30 são os mais importantes e frequentes (Campos, 2009). Contudo, é também importante referir a possibilidade de ocorrerem ácidos gordos de cadeia ímpar por perda de um carbono num ácido gordo de cadeia par, bem como de ramificações (Jorge, 2018).

Os ácidos gordos podem ter ou não ligações duplas, sendo que o seu grau de insaturação depende do número de ligações duplas que possui. Na grande maioria dos ácidos insaturados a dupla ligação possui isomeria *cis* (Campos, 2009), o que lhes confere um ponto de fusão bastante baixo (Morrison & Boyd, 1996). De facto, o ponto de fusão será tanto maior quanto maior for a cadeia carbonatada, mas irá diminuir face ao aumento das insaturações, já que as ligações duplas de configuração *cis* conferem ângulos de  $120^\circ$  na cadeia (Figura 4B), levando a uma menor agregação (Jorge, 2018). Por outro lado, ligações com configuração *trans* (Figura 4A) formam cadeias mais lineares, resultando em moléculas mais rígidas (Graça, 2015).

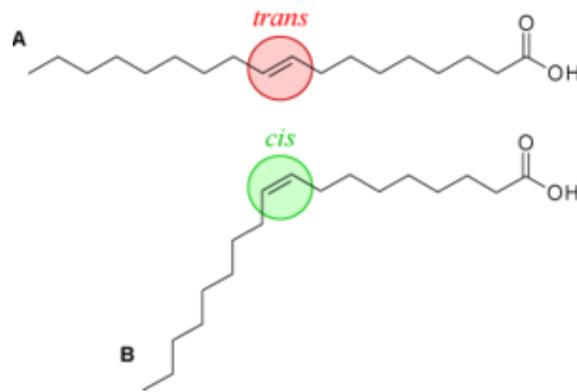


Figura 4 - Exemplo de ácido gordo com configuração *trans* (A) e *cis* (B). Fonte: Wikibooks.

Os ácidos gordos *trans* resultam de um processo de hidrogenação, que pode ser natural ou industrial (Graça, 2015). Neste processo são adicionados átomos de hidrogénio nas ligações duplas dos ácidos gordos, eliminando-as. Porém, se a hidrogenação for parcial, haverá a conservação de algumas ligações duplas e, conseqüentemente, formar-se-ão isómeros, por alteração da configuração *cis* para *trans* (Graça, 2015).

A nível nutricional, o consumo de ácidos gordos *trans* está relacionado com diversos efeitos prejudiciais à saúde (Graça, 2015), pelo que o seu consumo é contraindicado. Entre os efeitos mencionados, salienta-se o aumento do risco cardiovascular, devido ao aumento da inflamação sistémica, da trombogénese e da redução da função endotelial (Graça, 2015).

Em alguns organismos há ainda a possibilidade de surgirem isómeros de ácidos gordos *iso* e *anteiso* (Figura 5), dependendo da posição que o grupo metilo ocupa na cadeia carbonada. Caso o grupo metilo ocorra no penúltimo carbono da cadeia é utilizado o termo *iso* para designar o ácido gordo, caso o grupo metilo se posicione no antepenúltimo carbono o termo a utilizar é *anteiso*. Este tipo de isómeros de ácidos gordos são típicos de algumas espécies de bactérias (Kaneda, 1977, 1991), sendo que aparecem sempre ácidos gordos com dois carbonos de diferença, tais como o *iso*-C15 e *iso*-C17, e o *anteiso*-C15 e o *anteiso*-C17 (Kaneda, 1991). Assim, por os ácidos gordos ramificados do tipo *iso* e *anteiso* ocorrerem numa grande

variedade de microrganismos, estes ácidos podem ser utilizados como indicadores da presença dos mesmos (Kaneda, 1991).

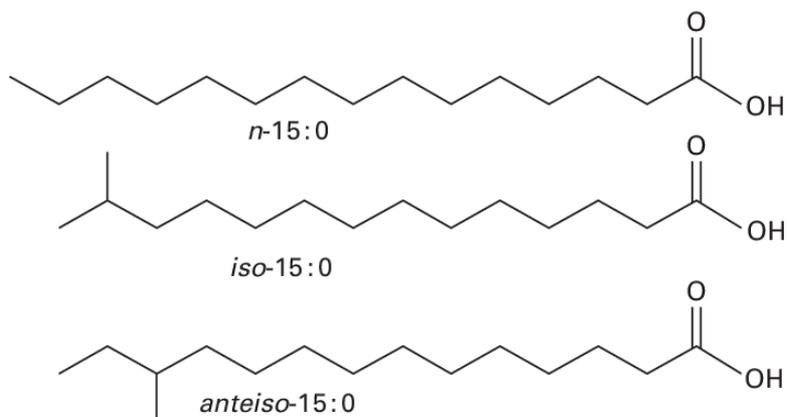


Figura 5 - Representação da estrutura de ácido gordo C<sub>15</sub>:0 não ramificado e de dois ramificados com conformações *iso* e *anteiso*. Fonte: Ran-Ressler *et al.* (2014).

### 2.2.3.3. Nomenclatura dos ácidos gordos

A numeração dos carbonos dos ácidos gordos faz-se a partir do carboxilo terminal (carbono 1) para o grupo CH<sub>3</sub> (carbono n) (Figura 6a). Os átomos de carbono adjacentes ao carboxilo (números 2, 3 e 4) são também designados como α, β e γ, respetivamente, e o carbono terminal do grupo metilo, para além de carbono n, é também denominado de ω (Campos, 2009; Murray *et al.*, 2003).

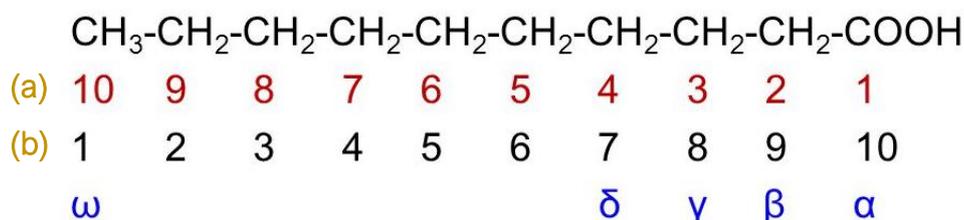


Figura 6 – Exemplos de métodos de numeração dos ácidos gordos: (a) – numeração a partir do grupo carboxilo, utilizando as letras α, β e γ; (b) – numeração a partir do grupo metilo (CH<sub>3</sub>) utilizando as letras n ou ω. Adaptado de Carr, (s.d.).

Uma forma de representar a dupla ligação consiste em indicar o número total de átomos de carbono, seguido de “dois pontos”, do número de duplas ligações e, seguidamente, entre parêntesis, o(s) algarismo(s) correspondente(s) ao primeiro átomo de carbono de cada dupla ligação. A título de exemplo, o ácido linoleico pode ser representado como 18:2 (9,12), i.e., dezoito átomos de carbono e duas duplas ligações, entre C-9 e C-10 e entre C-12 e C-13. Porém, é vantajoso indicar a posição das duplas ligações referindo-as, não em relação ao grupo carboxilo, mas à extremidade da cadeia mais distanciada do carboxilo, ou seja, o grupo metilo terminal (Figura 6b). Assim, recorrendo novamente ao exemplo do ácido linoleico, este pode ser representado como 18:2 n 6,9 ou, usando a letra “ômega” –  $\omega$  – em vez da letra “n”, 18:2 $\omega$ 6,9, a significar ácido gordo com dezoito átomos de carbono e duas duplas ligações, encontrando-se a mais próxima do grupo metilo à distância de seis átomos de carbono (Figura 7) (Campos, 2009).

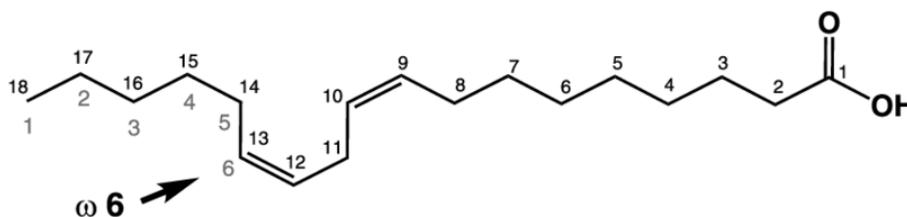


Figura 7 - Representação do ácido linoleico (C18:2 $\omega$ 6) com destaque para a posição da ligação dupla  $\omega$ 6. Adaptado de Cañas & Braibante (2019).

Nos animais, duplas ligações adicionais são apenas introduzidas entre duplas ligações já existentes ( $\omega$ 9,  $\omega$ 6 ou  $\omega$ 3) e o carbono carboxila, levando a três séries de ácidos gordos conhecidas como as famílias  $\omega$ 9,  $\omega$ 6 e  $\omega$ 3 (Figura 8) (Murray *et al.*, 2003). Devido à existência destas três famílias, torna-se vantajoso utilizar a nomenclatura que recorre ao uso da letra  $\omega$  pois facilita o reconhecimento dos diferentes ácidos gordos em cada família.

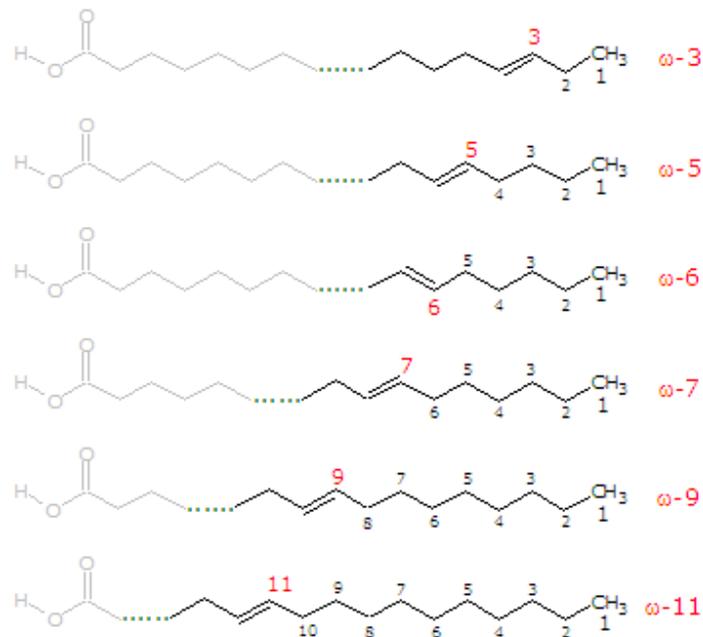


Figura 8 - Famílias de ácidos gordos ω3, ω5, ω6, ω7, ω9 e ω11. Adaptado de Tazzini (2012).

#### 2.2.3.4. Tipos de ácidos gordos

A natureza das ligações presentes divide os ácidos gordos em ácidos gordos saturados (sem ligações duplas) ou insaturados (contêm uma ou mais ligações duplas), que por sua vez podem ser divididos em monoinsaturados, caso só tenham uma ligação dupla, ou polinsaturados, no caso de terem duas ou mais ligações duplas (Murray *et al.*, 2003). Para além destas três categorias, podemos ainda considerar os ácidos gordos altamente insaturados (high unsaturated fatty acid – HUFA). No caso dos peixes, HUFA com quatro a seis ligações duplas estão presentes com uma percentagem relativamente alta superior a 40% (Jorge, 2018).

Os ácidos gordos saturados (saturated fatty acid – SFA) têm o número máximo de átomos de hidrogénio (Hossain, 2011) e podem ser previstos com base no ácido acético ( $\text{CH}_3\text{-COOH}$ ) como o primeiro membro da série em que  $\text{-CH}_2\text{-}$  é progressivamente adicionado entre os grupos terminais  $\text{CH}_3\text{-}$  e  $\text{-COOH}$  (Murray *et al.*, 2003), pelo que a sua forma geral é  $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{COOH}$  (Ventura, 2014). Segundo Tocher (2003), é possível encontrar SFA com comprimentos de cadeia compreendidos entre C12 e C24 nos animais. Contudo, de acordo com o mesmo

autor, os que ocorrem mais comumente nos peixes são o C16:0 (ácido palmítico) e o C18:0 (ácido esteárico) (Nunes *et al.*, 2003; Tocher, 2003; Ventura, 2014).

Já os ácidos gordos monoinsaturados (monounsaturated fatty acid – MUFA), encontrados naturalmente nos animais, têm cadeias com comprimentos compreendidos entre C14 e C24 (Tocher, 2003). No entanto, devido à capacidade da ligação etilénica na cadeia variar mesmo numa cadeia de comprimento específico, existem muitos mais ácidos gordos monoinsaturados que saturados (Tocher, 2003). Os MUFA podem ser sintetizados a partir do SFA correspondente, por desidrogenação oxidante, num grande número de organismos (Campos, 2009). Os mais comuns são aqueles que apresentam cadeia com número par de átomos de carbono e configuração *cis*, sendo os predominantes o C18:1 $\omega$ 9 (ácido oleico) e o C16:1 $\omega$ 7 (ácido palmitoleico), e os mais abundantes nos triacilgliceróis dos peixes são o C20:1 $\omega$ 9 e o C22:1 $\omega$ 11 (Tocher, 2003). No estudo de Nunes *et al.* (2003) o MUFA predominante foi o ácido oleico em todas as espécies. Há ainda a possibilidade de surgirem MUFA com configuração *trans* nos peixes, como é o caso do ácido eláidico (*trans*-C18:1 $\omega$ 9), embora a sua ocorrência seja rara.

Fatores como a migração e a reprodução podem ainda levar a elevados dispêndios energéticos. Nestas situações, são os MUFA, com especial ênfase para o ácido oleico, os principais ácidos gordos a serem catabolizados para o fornecimento de energia aos peixes (Jorge, 2018).

Tal como referido anteriormente, consideram-se ácidos gordos polinsaturados (polyunsaturated fatty acid – PUFA) todos aqueles que possuem mais de uma ligação covalente dupla (Ventura, 2014). Alguns destes ácidos gordos não são sintetizados pelos animais, ou seja, os animais não dispõem de sistemas enzimáticos capazes de sintetizar estes ácidos (Campos, 2009) que têm duplas ligações mais próximas do grupo metilo que o átomo de carbono 9 (McDonald *et al.*, 2002). Porém, os mesmos são indispensáveis para o normal funcionamento do organismo, já que as membranas celulares requerem fosfolípidos com esses ácidos gordos, pelo que será necessário fornecê-los através da dieta (Campos, 2009; Guiné & Henriques, 2011; McDonald *et al.*, 2002). A este tipo de ácidos gordos polinsaturados dá-se o nome de ácidos gordos essenciais (essential fatty acid –

EFA), como são exemplo os ácidos linoleico (LA, C18:2 $\omega$ 6) e  $\alpha$ -linolénico (ALA, C18:3 $\omega$ 3) (Campos, 2009). Atualmente, para além do LA, presente em grandes concentrações em óleos vegetais e principal fonte de ácidos gordos  $\omega$ 6 (Guiné & Henriques, 2011; Vanek & Connor, 2007), e do ALA, outros três ácidos também muito referenciados são o araquidónico (AA, C20:4 $\omega$ 6), sintetizado a partir do LA (Vanek & Connor, 2007), o eicosapentaenóico (EPA, C20:5 $\omega$ 3) e o decosahexaenóico (DHA, C22:6 $\omega$ 3), ambos sintetizados a partir do ALA (Holub, 2002). Os EFA linoleico e  $\alpha$ -linolénico são, assim, os precursores das famílias  $\omega$ 6 e  $\omega$ 3 respetivamente (Ventura, 2014). Estes três ácidos essenciais (AA, EPA e DHA) são as principais variedades de ácidos polinsaturados (Hossain, 2011), pensando-se que o DHA desempenha um papel importante no cérebro e na função retiniana, principalmente em recém nascidos (Hossain, 2011), e que o EPA tem um efeito modelador na produção de eicosanóides a partir de AA (McDonald *et al.*, 2002), estando também ambos presentes no pescado e nos óleos afins (Vanek & Connor, 2007).

Os ácidos gordos das famílias  $\omega$ 3 e  $\omega$ 6 são incorporados nas membranas celulares fosfolipídicas e atuam como precursores para a produção de eicosanóides, tais como as prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos (Vanek & Connor, 2007). Os eicosanóides são substâncias fisiologicamente ativas, sintetizadas a partir de AA presente nos fosfolípidos das membranas celulares, e em menor extensão a partir do EPA (Ventura, 2014). A razão AA/EPA influencia a produção de eicosanóides e tem uma grande relevância, pois uma alteração neste equilíbrio tem consequências ao nível da estrutura e função dos tecidos (Ventura, 2014). De facto, é recomendado que o rácio de ingestão  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 seja inferior a 4:1 permitindo reduzir a influência competitiva da ingestão de grandes quantidades de LA no metabolismo do ALA nos produtos da sua cadeia mais longa (Holub, 2002). Tal como referido anteriormente, o desenvolvimento tecnológico e industrial tem levado a um aumento do consumo de gordura total e de ácidos gordos  $\omega$ 6, com uma redução na ingestão de  $\omega$ 3. Esta situação alterou o rácio  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 de forma dramática, o que terá consequências ao nível de processos fisiológicos influenciados ou regulados por eicosanóides (Broughton & Wade, 2002). Para além

disso, o excesso de PUFA  $\omega 6$  na dieta poderá ainda inibir a biossíntese de EFA  $\omega 3$  no organismo (Ventura, 2014).

Os metabolitos eicosanóides de  $\omega 3$  são menos aterogénicos, pró-inflamatórios e vasoconstritores que os de  $\omega 6$ , pelo que uma dieta rica em ácidos gordos  $\omega 3$  favorece a produção de eicosanóides e citoquinas com um papel deletério em doenças cardíacas, cancro e doenças autoimunes (Vanek & Connor, 2007). Por outro lado, um estado desequilibrado da síntese de eicosanóides poderá ser promotor de aterosclerose, trombose, doenças cardíacas, crescimentos tumorais e patofisiologias relacionadas com o sistema imunitário (Broughton & Wade, 2002). Deste modo, à ingestão de ácidos gordos  $\omega 3$  são ainda apontados outros benefícios para a saúde como a diminuição de ocorrência de outras doenças coronárias, asma, diabetes tipo I, esclerose múltipla, doença intestinal inflamatória, cancro, artrite reumatoide e psoríase (Vanek & Connor, 2007).

Por estas razões e pelo alto conteúdo em ácidos gordos  $\omega 3$ , nomeadamente EPA e DHA, e baixas concentrações de  $\omega 6$  no pescado, torna-se interessante estudar a composição em ácidos gordos do mesmo (Holub, 2002; Hossain, 2011). Esta varia de espécie para espécie e até mesmo dentro da própria espécie. Hossain (2011) refere que fatores como temperatura, salinidade, época do ano, tamanho, idade, habitat, fase de vida, tipo e abundância de alimento, irão afetar o perfil lipídico dos peixes. Efetivamente, estes fatores poderão influenciar significativamente o metabolismo e a necessidade em determinados ácidos gordos por parte dos peixes. A título de exemplo, os animais poiquilotérmicos, por não conseguirem regular a sua temperatura corporal independentemente da do meio que os rodeia, encontraram outros mecanismos como defesa a possíveis oscilações da mesma. Assim, estes têm a capacidade de alterar o perfil em ácidos gordos das suas membranas celulares (Jorge, 2018), conseguindo aumentar a concentração de PUFA de modo a manter a fluidez e integridade das mesmas. Quanto à influência da alimentação no perfil lipídico dos peixes, constata-se o efeito da riqueza em PUFA, nomeadamente com cadeias de comprimento em C16, C18, C20 e C22, que certos organismos característicos das bases de cadeia trófica dos peixes, como as algas, apresentam (Ventura, 2014).

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. Estratégia e captura

O local de captura dos animais amostrados consistiu na Albufeira de Póvoa e Meadas (X: 7° 32' 34,9" Y: 39° 28' 4,5"), localizada no concelho de Castelo de Vide e pertencente à bacia hidrográfica do rio Tejo. Esta albufeira caracteriza-se por uma área total de 225,8 ha, distanciando 25,9 km da nascente e 261 km da foz. Possui 7 afluentes e a temperatura média ronda os 16,1 °C. Da aplicação do IAAPR (Índice de Adequabilidade das Albufeiras para a Pesca Recreativa), Póvoa e Meadas obteve a classificação de "Muito Bom" em termos de adequabilidade da massa de água e do meio envolvente para a prática de pesca recreativa (Almeida *et al.*, 2017).

Foram capturados 41 animais, 21 exemplares na época de inverno e 20 na época de verão. O método de pesca realizado foi o de pesca elétrica realizada por membros do MARE com licença para exercer este tipo de procedimento. Os animais foram sempre transportados vivos para o laboratório num tanque em polietileno com cerca de 0,4 m<sup>3</sup> de capacidade, ao qual foi acoplada uma bomba oxigenadora (AIR MAX, modelo DB-30A), permitindo a circulação de 32 L de ar por minuto. No laboratório foram colocados em tanques de fibra de vidro com 2 m<sup>3</sup> e 4 m<sup>3</sup> de capacidade, equipados com sistemas de suporte de vida apropriados (i.e., filtros biológicos, refrigeradores e sistemas de oxigenação).

O método de eutanásia utilizado foi o de ocisão, autorizado pelo DL113/2013 com o apoio do parecer favorável emitido pelo Organismo Responsável pelo Bem-Estar dos Animais da Universidade de Évora (ORBEA-UÉ) N.º do Processo: GD/13426/2019/P1.

#### 3.2. Recolha de dados biométricos, tecido muscular e determinação do sexo

No que toca à recolha de dados biométricos, para cada exemplar, efetuou-se a determinação da massa corporal (g), do comprimento total (mm) medido entre a extremidade bucal e a extremidade da barbatana caudal, da massa do fígado (g) e da massa corporal eviscerada (g). Além destes dados, foram ainda recolhidas

amostras de músculo do flanco esquerdo, e também as gónadas a fim de determinar, por observação, o sexo dos indivíduos amostrados.

Após a sua recolha, as amostras foram pesadas e armazenadas em sacos de plásticos devidamente etiquetados. Uma vez nos sacos, foram organizadas em caixas e colocadas em arca ultracongeladora a -80 °C até posterior utilização.

### **3.3. Procedimento experimental**

#### **3.3.1. Determinação do teor de Humidade**

Geralmente, a determinação do teor de humidade efetua-se de acordo com Norma Portuguesa 2282 (IPQ, 1991), contudo este método implica a destruição da matriz para outras metodologias. Assim, atendendo à reduzida disponibilidade de amostra, a determinação do teor de humidade neste estudo foi feita através da liofilização já que a preparação das amostras de músculo tinha de passar por este processo para a aplicação das metodologias propostas.

O teor de humidade das amostras foi assim averiguado com base na diferença de pesos das amostras em fresco e depois de liofilizadas, i.e., as amostras foram pesadas em fresco (antes de serem congeladas) e após a sua liofilização. A diferença de pesos resulta da perda de água sofrida, o que traduz uma percentagem de humidade anteriormente presente em cada amostra.

As amostras de músculo destinadas a análise, ainda congeladas, foram colocadas no liofilizador (Edwards Modulyo benchtop freeze dryer). Aqui, as amostras sofreram um processo de liofilização, que consiste numa sublimação requerente de condições de temperatura e pressão específicas. Neste caso, as amostras foram liofilizadas a uma temperatura de -40 °C e pressão de  $10^{-1}$  Mbar durante 48h. Uma vez completo o processo de liofilização, as amostras foram colocadas em exsicadores de forma a estabilizar a perda de água.

Para determinar a percentagem de água perdida utilizou-se a seguinte equação:

$$\text{Teor de humidade (\%)} = \frac{(M_f - M_s) \times 100}{M_f}$$

Na qual:

$M_f$  – massa da amostra fresca (g)

$M_s$  – massa da amostra seca (g)

### 3.3.2. Determinação do teor Proteína Bruta

Grande parte do azoto (N) requerido pelos animais tem como fim a síntese proteica, sendo que a maioria daquele presente nos alimentos encontra-se sob a forma de proteína. Deste modo, é conveniente e universalmente aceite que os requerimentos em azoto pelos animais sejam declarados em termos proteicos (McDonald *et al.*, 2002).

Tendo em conta a forma como o azoto se encontra nos alimentos, ou seja, sob a forma de proteína, o cálculo do conteúdo proteico de um dado alimento tem como base o conteúdo em azoto do mesmo (McDonald *et al.*, 2002). Assim, por uma modificação da técnica clássica de Kjeldahl ou do método Dumas, o conteúdo proteico é calculado (McDonald *et al.*, 2002). Ao realizar este cálculo, são feitas duas suposições: (1) que todo o azoto (N) do alimento está presente sob a forma de proteína; e (2) que toda a proteína dos alimentos contem 160 g N/kg (McDonald *et al.*, 2002). O conteúdo em azoto é expresso em Proteína Bruta (PB) e calculado através de uma das seguintes equações (McDonald *et al.*, 2002):

$$\text{PB (g/kg)} = \text{g N/kg} \times 1000/160 \quad \text{ou} \quad \text{PB (g/kg)} = \text{g N/kg} \times 6,25$$

Porém, é importante referir que as proteínas são diferentes consoante os alimentos e que, como tal, diferentes alimentos têm diferentes conteúdos azotados. Por esta razão, diferentes fatores devem ser utilizados na conversão de azoto em proteína para cada tipo de alimento (McDonald *et al.*, 2002). No caso do pescado,

por ser um produto de origem animal, o fator utilizado é 6,25 (Mariotti *et al.*, 2008). Quanto ao conteúdo proteico, em geral o pescado terá 17-25% de proteína bruta com uma média de 19 g/100g (Nunes *et al.*, 2003).

Para a determinação da percentagem de azoto total presente nas amostras de músculo de ambas as épocas, procedeu-se à moagem das mesmas com auxílio de uma picadora (FLAMA 1705FL), permitindo a homogeneização da amostra. Após este passo, pesaram-se 0,1000 g de amostra, em duplicado, para uma folha de estanho. A determinação da proteína foi efetuada no Analisador Automático LECO FP-528. Esta determinação foi feita através de um processo de combustão a alta temperatura (900 °C) de acordo com o método de Dumas, onde a amostra é incinerada no forno em atmosfera enriquecida em oxigénio. O teor de azoto (na forma gasosa) presente em cada amostra é quantificado pela sua condutividade térmica.

O teor de proteína bruta é calculado a partir do valor de azoto total multiplicado pelo fator de conversão 6,25, conforme a equação:

$$\text{Teor de proteína (g/100 g MS)} = \frac{\%NT \times 6,25}{100}$$

O coeficiente de variação utilizado foi inferior a 5 %.

### **3.3.3. Determinação dos Lípidos Totais e análise da composição em Ácidos Gordos**

Os lípidos totais, bem como a composição em ácidos gordos, foram determinados para as amostras de músculo. A determinação destes valores para as amostras de músculo justifica-se pelo interesse nutricional das mesmas, já que constituem a fração edível.

A determinação dos lípidos totais presentes no músculo foi feita de acordo com o método de Folch *et al.* (1957), e adaptada tal como descrito em Lança *et al.*

(2015), mediante extração acelerada por solvente (Accelerated Solvent Extraction – ASE). Esta técnica, baseada no processo de extração líquida pressurizada (Pressurized Liquid Extraction – PLE), faz uso de temperatura e pressão elevadas (Dodds *et al.*, 2004) que, ao atuarem de forma simultânea, promovem a solubilidade dos lípidos no solvente utilizado, aumentando a quantidade de amostra extraída (Jorge, 2018). Este método é ideal para quando existe pouca quantidade de amostra (Lança *et al.*, 2015), apresentando vantagens como a sua rapidez, os baixos custos de operação e a utilização de pequenas quantidades de solvente (Dodds *et al.*, 2004; Jorge, 2018).

Para a determinação pretendida, no caso das amostras de músculo, foram utilizadas células de extração de 33 mL de volume onde se colocaram 0,800 g ( $\pm 0,005$  g) de amostra e 5,500 g ( $\pm 0,005$  g) de agente inerte (terra de diatomáceas). Em todas as células foram ainda colocados filtros celulósicos em ambas as extremidades. Uma vez completado o enchimento, cada célula de extração foi colocada no ASE (Figura 9), tendo-se procedido à extração dos lípidos totais com uma mistura de 60% de



Figura 9 - Extrator de PLE em funcionamento. (Autoria própria)

clorofórmio e 40% de metanol, segundo as condições descritas na Tabela 1. À mistura de clorofórmio e de metanol, foram ainda adicionados 0,1 g/L de BHT devido ao seu poder antioxidante (McDonald *et al.*, 2002). O método de extração utilizado consistiu na realização de dois ciclos estáticos de extração, i.e., dois momentos em que a matriz e o solvente são aquecidos, colocados a alta pressão (e assim permanecendo durante um determinado período de tempo), sendo o extrato arrastado por uma corrente de azoto (Jorge, 2018).

Tabela 1 - Parâmetros de extração e respetivas condições do método utilizado no ASE.

Parâmetros de extração	Condições
Temperatura	100 °C
Pressão	13,8 MPa
Solvente de extração	CHCl <sub>3</sub> /MeOH (3:2) + BHT (0,1 g/L)
N.º de ciclos estáticos de extração	2
Tempo de cada ciclo estático	5 min
Purga das células	Azoto durante 60 s

Finalizado o processo de extração, o volume recolhido foi transferido para balões de evaporação de 50 e 25 mL, previamente tarados e identificados. Recorrendo a um evaporador rotativo e a um banho de água ( $40\text{ °C} \leq T \leq 50\text{ °C}$ ), sob uma pressão de aproximadamente 300 Mbar/hPa, evaporou-se o solvente até à secura (Figura 10). Já secos, os extratos foram colocados em exsiccadores durante 12 horas, com o objetivo de estabilizar a sua massa (por perda de água ou de restante solvente) (Jorge, 2018). De modo a respeitar as 12 horas referidas, a pesagem e determinação da percentagem de lípidos totais deu-se no dia seguinte. Para o cálculo do teor de lípidos totais recorreu-se à seguinte equação:

$$\text{Lípidos Totais (\%)} = \frac{\text{Massa de resíduo seco (g)}}{\text{Massa de amostra (g)}} \times 100$$

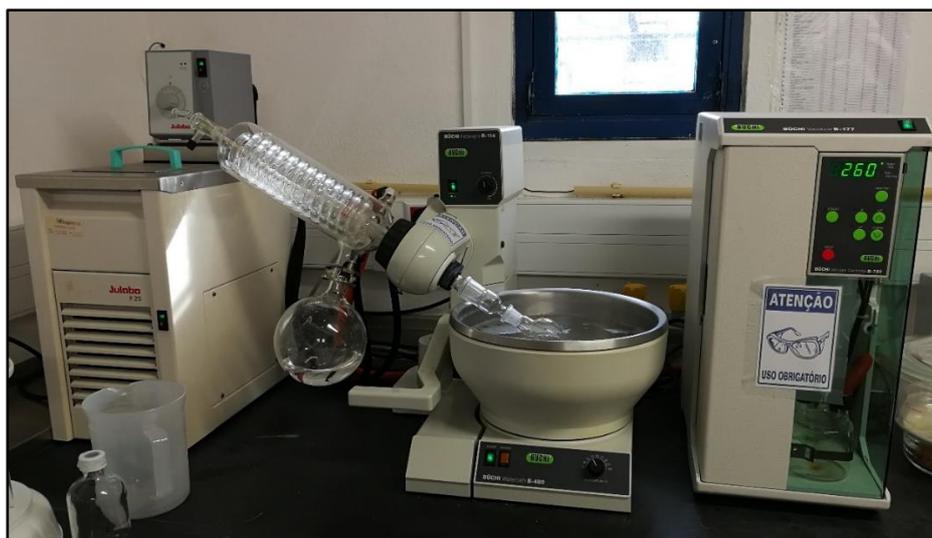


Figura 10 – Evaporação do solvente recorrendo a um evaporador rotativo e a banho de água sob temperatura e pressão controladas. (Autoria própria)

Para a derivatização dos extratos, foi necessário transferir os lípidos para tubos de metilação utilizando 1,5 mL da solução de  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (3:2). Uma vez concluída a transferência, os tubos foram submetidos a uma corrente de azoto (Figura 11) a fim de evaporar o solvente de transferência, constituindo deste modo o extrato seco a saponificar e metilar.

A hidrólise dos glicéridos, ou seja, a saponificação consiste num processo que dá origem aos sais de ácidos carbólicos e ao glicerol (Morrison & Boyd, 1996). Assim, de acordo com o método de Morrison & Smith (1964), a cada tubo foi adicionado 1 mL de solução metanólica de NaOH 0.5 N (2 g de NaOH / 100 mL de metanol). Depois desta adição, os frascos foram a saponificar (Figura 12) durante 15 min a 70 °C. Deixou-se arrefecer ( $\approx$  1 min) e adicionou-se 1 mL de  $\text{BF}_3$  em metanol. Mais uma vez, os tubos foram aquecidos a 70 °C durante 10 min. Completa a metilação, a solução presente nos tubos arrefeceu à temperatura ambiente e adicionaram-se 2 mL de água destilada e 2 mL de éter de petróleo, agitando vigorosamente. Após esta etapa, os tubos foram deixados a repousar no frigorífico, a 2 °C, durante 12 horas. Uma vez verificada a separação de fases, recolheu-se o sobrenadante (1,5 mL), onde se encontravam os ésteres metílicos

dos ácidos gordos, para vials de 2 mL, que foram hermeticamente selados e etiquetados, acondicionando-os no frigorífico até nova utilização.



Figura 11 - Secura do solvente por meio de corrente de azoto. (Autoria própria)



Figura 12 - Frascos em banho-maria de forma a promover o processo de saponificação. (Autoria própria)

A análise cromatográfica dos ésteres metílicos decorreu como descrito por Jorge (2018). Esta deu-se por um sistema de cromatografia gasosa com espetrómetro de massa acoplado (GC/MS), nomeadamente, um cromatógrafo Bruker Scion TQ 456 GC-MS, no laboratório de química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa. A coluna capilar utilizada foi a DB-WAX (60 m x d.i. 0,32 mm x df 1,0  $\mu$ m) e o gás de arraste foi hélio (He), a pressão constante (35,0 psi) com um fluxo de 2,0 mL/min. A temperatura inicial programada foi de 120 °C durante 5 minutos, seguida de um aumento de 5 °C/min até alcançar 250 °C, onde se manteve por 59 minutos.

A corrida cromatográfica decorreu durante 90 minutos, com uma temperatura do injetor de 250 °C, e a temperatura da fonte de ionização e da interface de 260 °C. Os iões detetados de cada pico foram obtidos por impacto eletrónico a 70 eV, com varrimento de  $m/z= 40$  a 450 Da, sendo os cromatogramas de TIC analisados utilizando o software MSWS 8.2.

### 3.4. Parâmetros nutricionais

#### 3.4.1. Índice polinsaturados/saturados

A relação entre ácidos gordos polinsaturados e saturados é um índice largamente usado para avaliar a qualidade nutricional de uma gordura (Afonso, 2009). Esta foi calculada pela razão entre o somatório de ácidos gordos polinsaturados ( $\Sigma$ PUFA) e ácidos gordos saturados ( $\Sigma$ SFA). Para efetuar o índice e os somatórios referidos utilizaram-se as seguintes fórmulas presentes na Tabela 2:

**Tabela 2** - Fórmulas dos somatórios de ácidos gordos polinsaturados, saturados e da razão entre eles.

	Fórmula
Índice polinsaturados/saturados	$\frac{\Sigma PUFA}{\Sigma SFA}$
$\Sigma$ PUFA	C18:2 $\omega$ 6 + C18:3 $\omega$ 6 + C18:3 $\omega$ 3 + C18:4 $\omega$ 3 + C20:2 $\omega$ 6 + C20:3 $\omega$ 6 + C20:4 $\omega$ 6 + C20:3 $\omega$ 3 + C20:4 $\omega$ 3 + C20:5 $\omega$ 3 + C22:2 $\omega$ 6 + C22:4 $\omega$ 6 + C22:5 $\omega$ 6 + C22:5 $\omega$ 3 + C22:6 $\omega$ 3
$\Sigma$ SFA	C6:0 + C7:0 + C8:0 + C9:0 + C10:0 + C11:0 + C12:0 + C13:0 + C14:0 + C15:0 + C16:0 + C16:0m2,6,10,14 + C17:0 + C18:0 + C19:0 + C20:0 + C22:0 + C23:0 + C24:0

#### 3.4.2. Índice $\omega$ 3/ $\omega$ 6

O índice  $\omega$ 3/ $\omega$ 6 é considerado como o melhor para a avaliação relativa do valor nutricional de diferentes espécies (Hossain, 2011). Tal como referido anteriormente, pelo elevado conteúdo em ácidos gordos da família  $\omega$ 3, principalmente em EPA e DHA, e baixas concentrações da família  $\omega$ 6 no pescado, torna-se interessante averiguar o valor deste índice nas amostras em causa. Este foi calculado pela razão

entre o somatório de ácidos gordos da família  $\omega 3$  e o somatório referente à família  $\omega 6$ . O cálculo dos somatórios referidos encontra-se de seguida (Tabela 3).

**Tabela 3** - Fórmulas dos somatórios de ácidos gordos das famílias  $\omega 3$  e  $\omega 6$ .

	Fórmula
$\Sigma\omega 3$	C18:3 $\omega 3$ + C18:4 $\omega 3$ + C20:3 $\omega 3$ + C20:4 $\omega 3$ + C20:5 $\omega 3$ + C22:5 $\omega 3$ + C22:6 $\omega 3$
$\Sigma\omega 6$	C18:2 $\omega 6$ + C18:3 $\omega 6$ + C20:2 $\omega 6$ + C20:3 $\omega 6$ + C20:4 $\omega 6$ + C22:2 $\omega 6$ + C22:4 $\omega 6$ + C22:5 $\omega 6$

Pela sua grande importância nutricional enquanto EFA, também se efetuou o cálculo do quociente EPA/DHA. De facto, a proporção entre EPA e DHA tem um impacto vantajoso na saúde do consumidor na medida em que o DHA é mais eficiente que o EPA na redução do risco de doenças coronárias (Hossain, 2011; Whalen, 2009).

### 3.4.3. Índice de trombogenicidade

Devido à limitação dos índices polinsaturados/saturados e  $\omega 3/ \omega 6$  na análise da qualidade dos ácidos gordos presentes em termos de benefícios para a saúde humana, muitos autores recorrem à utilização de índices baseados nos efeitos funcionais dos ácidos gordos (Ventura, 2014).

O índice de trombogenicidade (IT) foi proposto por Ulbricht & Southgate (1991) no sentido de não se considerar apenas a família de ácidos gordos, mas também o seu efeito biológico (Afonso, 2009). Assim, este índice foi calculado pela fórmula proposta por Ulbricht & Southgate (1991), de acordo com a expressão seguinte:

$$IT = \frac{[14:0 + 16:0 + 18:0]}{[(0,5 \times \sum MUFA) + (0,5 \times \sum PUFA\omega6) + (3 \times \sum PUFA\omega3) + \left(\frac{\sum PUFA\omega3}{\sum PUFA\omega6}\right)]}$$

Na expressão descrita  $\sum MUFA$  representa o somatório dos ácidos gordos monoinsaturados, e  $\sum PUFA\omega3$  e  $\sum PUFA\omega6$  representam o somatório dos ácidos gordos polinsaturados das famílias  $\omega3$  e  $\omega6$ , respetivamente.

A utilização de ácidos gordos saturados de cadeia mais longa (superior a 14 carbonos) justifica-se pelas propriedades trombogénicas dos mesmos. Já os valores das constantes empíricas de 0,5 e 3 relacionam-se com o facto de os ácidos gordos monoinsaturados e polinsaturados da família  $\omega6$  serem menos antitrombogénicos que os da família  $\omega3$  (Ulbritch & Southgate, 1991; Ventura, 2014). Deste modo, tem-se em conta o efeito individual de cada ácido gordo e não de uma família de ácidos gordos, relacionando os teores dos ácidos saturados C14:0, C16:0 e C18:0 (ácidos gordos pró-trombóticos) com teores de ácidos monoinsaturados e polinsaturados com propriedades anti trombóticas, assinalando a contribuição que o produto alimentar pode ter na formação de coágulos nos vasos sanguíneos (Afonso, 2009; Ventura, 2014). Com isto, assume-se que quanto menor for o valor do índice, melhor será a qualidade da fração lipídica do alimento (Ulbritch & Southgate, 1991; Ventura, 2014).

#### 3.4.4. Índice de aterogenicidade

No caso do índice de aterogenicidade (IA), este foi calculado com o mesmo objetivo do IT e de acordo com o proposto por Ulbritch & Southgate (1991), utilizando a expressão seguinte:

$$IA = \frac{[12:0 + (4 \times 14:0) + 16:0]}{[\sum MUFA + \sum PUFA\omega3 + \sum PUFA\omega6]}$$

De forma a refletir os diferentes graus de aterogenicidade, foram atribuídos um fator de 1 aos ácidos gordos C12:0 e C16:0, e outro de 4 ao C14:0. No que toca

aos ácidos gordos monoinsaturados e polinsaturados das famílias  $\omega_3$  e  $\omega_6$ , já se considerou que são igualmente eficientes na redução da aterogenicidade (Ventura, 2014). Ou seja, o índice de aterogenicidade considera o efeito que os ácidos gordos exercem no colesterol plasmático ao nível da formação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e/ou lipoproteínas de alta densidade (HDL) (Senso *et al.*, 2007; Ventura, 2014). Tal como para o IT, admite-se que quanto menor for o valor do IA, melhor será a qualidade da fração lipídica do alimento (Ventura, 2014).

#### 3.4.5. Índice hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos

Para o último índice a ser calculado, i.e., o índice hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos (h/H), recorreu-se à fórmula descrita por Santos-Silva *et al.* (2002):

$$h/H = \frac{[18:1\omega_9 + 18:2\omega_6 + 20:4\omega_6 + 18:3\omega_3 + 20:5\omega_3 + 22:5\omega_3 + 22:6\omega_3]}{[14:0 + 16:0]}$$

Aqui, foi calculada a razão entre o valor nutricional dos ácidos gordos com propriedades hipocolesterolémicas e o valor nutricional dos ácidos gordos com propriedades hipercolesterolémicas, admitindo que quanto maior o valor do índice, menor será o risco de desenvolvimento de colesterolémia (Santos-Silva *et al.*, 2002; Ventura, 2014), um dos principais fatores de aterosclerose.

### 3.5. Análise estatística

O tratamento de dados e análise estatística foi possível pela utilização do programa *IBM SPSS Statistics* versão 24.0, um pacote estatístico para sistema Windows.

Os parâmetros químicos (humidade, proteína, lípidos e ácidos gordos), bem como os índices gerais do músculo, foram submetidos a uma análise de modelo

geral linear, usualmente designada por GLM em programas estatísticos, por forma a aferir se existiam diferenças para estes parâmetros quer entre animais de diferentes épocas (inverno e verão) quer entre sexos. Este método permitiu a análise de variância para as variáveis dependentes por uso de dois fatores fixos (época e sexo) e uma covariável (comprimento total). Para o caso da captura dos exemplares foram selecionados indivíduos com tamanhos semelhantes de maneira a que todos tivessem idades próximas, e já na fase adulta.

O nível de significância adotado para os testes estatísticos efetuados foi de 5%.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Parâmetros biométricos

Os dados biométricos obtidos nos indivíduos analisados, tanto no inverno como no verão, encontram-se na Tabela 4.

**Tabela 4** - Parâmetros biométricos do achigã em duas épocas distintas (inverno e verão): Peso Eviscerado (PE), Comprimento Total (CT), Peso do Fígado (PF) e Sexo (M – machos; F – fêmeas).

Inverno (n=21)				Verão (n=20)			
PE / g	CT / mm	PF / g	Sexo	PE / g	CT / mm	PF / g	Sexo
76,00	197	1	M	92,00	208	1	F
81,40	202	1,2	F	108,80	214	1,2	F
90,60	220	1,4	F	91,00	210	1,3	M
73,00	193	1	F	95,40	207	2	F
90,20	260	1,6	F	104,20	216	0,8	M
107,80	220	1,4	F	109,60	220	1,4	F
87,40	260	1,2	F	150,40	230	1,2	M
82,20	220	1	F	153,00	234	2,2	M
207,20	255	3	M	107,00	216	2	F
85,80	200	1,2	M	88,00	202	1,2	M
74,60	195	-	M	98,20	216	1,2	F
76,20	190	1	M	81,60	207	1,08	F
185,40	250	3	F	120,20	223	1,4	F
168,60	240	2,8	M	100,40	210	1,6	M
109,20	220	1,6	M	131,20	230	2	M
90,00	204	1,2	M	80,80	203	0,6	M
76,40	200	1,2	F	113,40	217	1	F
90,00	208	1,4	F	108,90	215	2	F
98,00	210	1,8	M	103,60	207	1,6	M
75,00	195	1,2	M	109,40	215	1,4	M
85,80	210	1,2	M	-	-	-	-
Média ± desvio padrão			M/F	Média ± desvio padrão			M/F
100,51 ± 38,04	216,62 ± 23,04	1,52 ± 0,65	1,1	106,33 ± 19,56	214,76 ± 8,92	1,40 ± 0,44	1

Pela análise estatística efetuada verificou-se que nenhum dos fatores utilizados, época ( $p=0,081$ ), sexo ( $p=0,063$ ) e interação época\*sexo ( $p=0,264$ ), exerceram efeito significativo nos dados biométricos.

Posto isto, constatou-se que o peso eviscerado (PE) variou globalmente entre 73,0 g e 207,20 g (Tabela 4), com uma média de  $103,85 \pm 30,29$  g. Os resultados estão de acordo com os valores (100 e 2000 g) usualmente referenciados (Jorge, 2018; Sanches & Rodrigues, 2011). Constatou-se também que os machos apresentavam valores superiores aos das fêmeas.

Já para o peso do fígado (PF), o valor mínimo observado foi de 0,60 g e o máximo de 3,0 g, apresentando uma média de  $1,46 \pm 0,55$  g. Também neste parâmetro se verificou que os valores dos machos eram superiores aos das fêmeas, embora as diferenças não sejam significativas.

Relativamente ao comprimento total (CT), os indivíduos analisados tinham, em média, 215,83 mm de comprimento, sendo que o indivíduo mais pequeno media 190 mm e o maior 260 mm (Tabela 4). Mais uma vez, estes valores vão de encontro aos referidos por Jorge (2018) que variavam entre 120 mm e 311 mm. Pelos valores obtidos, pode-se depreender que muitos dos exemplares já tinham atingido a maturidade sexual, que ocorre entre os 250 e os 300 mm (Sanches & Rodrigues, 2011).

#### **4.2. Composição química do músculo de achigã em teor de humidade, lípidos totais e proteína**

Na Tabela 5 são apresentados os valores obtidos para a composição química geral, i.e., humidade (em percentagem), proteína e lípidos totais (expressos em g/100 g de matéria seca, MS), do músculo de achigã em duas épocas distintas.

**Tabela 5** - Composição química por 100 g de matéria seca de músculo de achigã em duas épocas distintas (inverno e verão).

Inverno (n=21)			Verão (n=20)		
Humidade / %	Proteína / g/100g MS	Lípidos Totais / g/100g MS	Humidade / %	Proteína / g/100g MS	Lípidos Totais / g/100g MS
79,30	17,546	43,7477	80,20	18,772	12,1862
80,30	16,978	13,0648	77,90	20,708	13,5384
79,10	18,105	39,0785	78,50	20,218	12,6630
78,40	18,892	19,4105	78,20	20,313	12,8828
78,00	19,363	36,9221	78,60	20,395	11,3794
79,00	18,190	16,3632	77,80	20,395	15,6752
78,60	18,356	10,4824	77,90	20,762	16,9496
79,60	17,538	10,5205	78,80	20,081	29,7005
80,00	17,236	22,7067	79,80	19,022	11,1646
79,40	17,462	16,0557	77,30	20,424	23,9684
80,40	17,001	12,4442	78,20	20,764	23,0474
80,40	16,992	10,4470	78,50	20,259	22,9989
79,70	17,466	12,5092	78,30	20,429	12,8793
77,60	18,925	27,2135	78,40	20,571	11,6574
79,50	16,998	8,1615	78,10	20,414	13,2865
79,40	17,700	59,0986	81,20	18,026	12,0310
78,90	18,020	62,3950	78,50	20,223	22,6735
79,70	17,584	60,5321	78,30	20,462	25,3257
78,30	18,727	47,0885	77,70	20,260	24,0663
78,90	18,209	62,5109	78,60	20,043	17,2609
80,70	16,853	60,9640	-	-	-
Média ± desvio padrão			Média ± desvio padrão		
79,3 ± 0,8267	17,816 ± 0,7337	31,034 ± 20,6241	78,54 ± 0,9081	20,127 ± 0,7045	17,267 ± 5,8706

Pela análise estatística dos valores apresentados, verificou-se que o fator época exerceu um efeito significativo ( $p=0,000$ ) sobre a humidade ( $p=0,007$ ,  $\eta^2=18,3\%$ ), a proteína ( $p=0,000$ ,  $\eta^2=75,5\%$ ) e os lípidos totais ( $p=0,007$ ,  $\eta^2=18,7\%$ ). Já o fator sexo ( $p=0,406$ ) e a interação época\*sexo ( $p=0,799$ ) não exerceram efeitos significativos nas variáveis analisadas.

Os valores de humidade para ambas as épocas oscilaram entre 77,30% e 81,20%, com um valor médio de 79,3% para as amostras de inverno e de 78,54% para as de verão. Isto revela que o teor de água é influenciado pela estação do ano

em que o animal é capturado. Estes valores vão de encontro àqueles obtidos por Jorge (2018), que para cinco albufeiras diferentes, verificou valores de humidade entre 78,28% (Albufeira de Vareta) e 79,67% (Albufeira de Agolada) mas apenas na época de inverno. De acordo com Afonso (2009) e Huss (1995), o teor de humidade no músculo dos peixes variará entre 60 a 80%, pelo que os valores obtidos para o achigã se encontram bem dentro deste intervalo.

No que diz respeito aos lípidos totais, como referido, encontraram-se diferenças significativas entre inverno e verão. Na primeira época, os valores são mais altos com uma média de 31,034 g/100 g MS e, no segundo caso, os valores de lípidos totais rondavam os 17,267 g/100 g MS. De forma global, as amostras apresentaram, em média, 24,32 g de lípidos totais por 100 g de MS, oscilando entre 8,16 e 62,51 g/100 g MS. A diferença de valores entre as duas épocas poderá estar associada a gastos energéticos superiores do verão, possivelmente devido às exigências fisiológicas da época reprodutiva que ocorre entre março e junho (Sanches & Rodrigues, 2011), comparativamente à acumulação de lípidos no inverno.

Quanto à proteína, verificaram-se também diferenças significativas entre inverno e verão. Todavia, em oposição à humidade e aos lípidos totais, constatou-se que os valores de verão eram superiores aos de inverno. Com uma diferença de aproximadamente 2,3 g, os valores médios de inverno rondavam os 17,8 g/100 g MS e os de verão aproximavam-se de 20,1g/100 g MS. Globalmente, o menor valor registado foi de 16,85 g/100 g MS e o maior foi de 20,76 g/100 g MS, sendo 18,94g/100 g MS a média global.

Na Figura 13 é possível observar as oscilações de valores referidas para os três parâmetros analisados, entre o inverno e o verão.

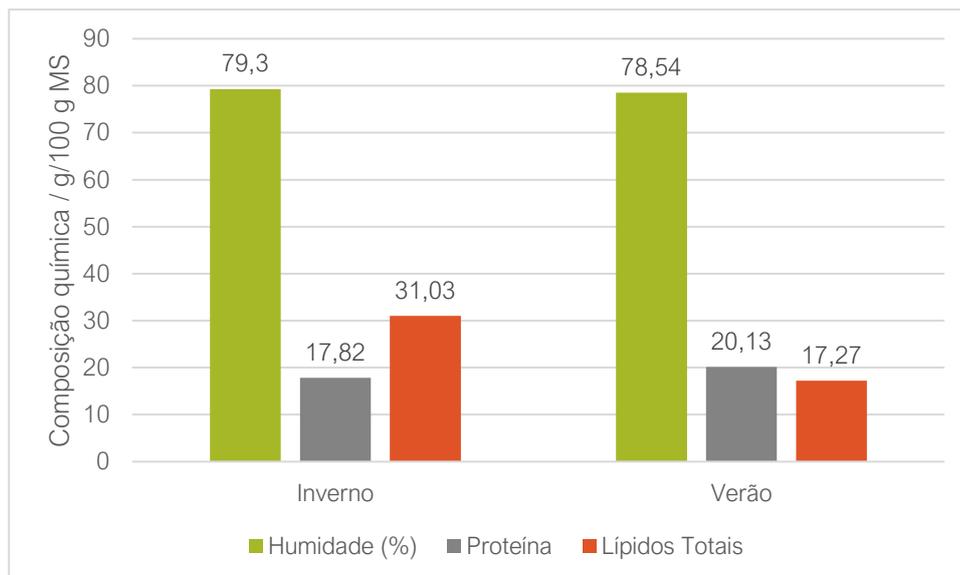


Figura 13 - Composição química média em g/100 g de matéria seca (MS) de músculo de achigã em duas épocas do ano (inverno e verão).

#### 4.3. Perfil de ácidos gordos do músculo

A Tabela 6 apresenta o perfil em ácidos gordos totais do músculo dos exemplares de achigã analisados nas épocas de inverno e de verão.

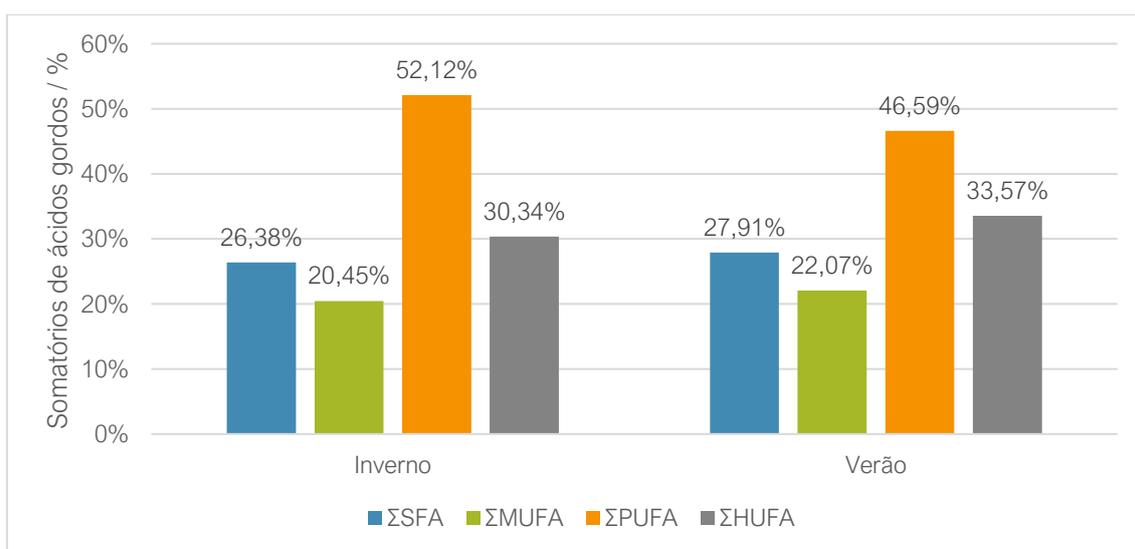
Tabela 6 - Perfil em ácidos gordos (média  $\pm$  desvio padrão) expresso em percentagem (%) relativa ao total de ácidos gordos identificados do músculo de achigã em duas épocas distintas (inverno e verão).

Ácidos gordos	Inverno (n=21)	Verão (n=20)
C6:0	0,003 $\pm$ 0,003	0,022 $\pm$ 0,003
C7:0	0,000 $\pm$ 0,000	0,008 $\pm$ 0,002
C8:0	0,001 $\pm$ 0,001	0,011 $\pm$ 0,004
C9:0	0,013 $\pm$ 0,004	0,029 $\pm$ 0,009
C10:0	0,001 $\pm$ 0,000	0,036 $\pm$ 0,012
C11:0	0,020 $\pm$ 0,016	0,016 $\pm$ 0,011
C12:0	0,065 $\pm$ 0,033	0,134 $\pm$ 0,095
C13:0	0,007 $\pm$ 0,005	0,025 $\pm$ 0,016
C14:0	0,745 $\pm$ 0,214	1,052 $\pm$ 0,486
C15:0i	0,155 $\pm$ 0,129	0,395 $\pm$ 0,174
C15:0a	0,004 $\pm$ 0,004	0,054 $\pm$ 0,020
C15:0	0,259 $\pm$ 0,082	0,593 $\pm$ 0,116

C16:0i	0,136 ± 0,121	0,214 ± 0,060
C16:0	14,914 ± 1,480	13,972 ± 1,427
C16:0 m2,6,10,14	0,009 ± 0,008	0,096 ± 0,042
C17:0i	0,515 ± 0,229	0,900 ± 0,219
C17:0a	0,050 ± 0,038	0,324 ± 0,078
C17:0	1,052 ± 0,128	1,315 ± 0,159
C18:0i	0,029 ± 0,012	0,068 ± 0,022
C18:0-a	0,023 ± 0,021	0,418 ± 0,303
C18:0	8,493 ± 0,422	10,051 ± 0,689
C19:0i	0,054 ± 0,021	0,051 ± 0,019
C19:0	0,364 ± 0,056	0,370 ± 0,075
C20:0	0,280 ± 0,249	0,374 ± 0,064
C22:0	0,048 ± 0,007	0,055 ± 0,017
C23:0	0,063 ± 0,018	0,061 ± 0,025
C24:0	0,049 ± 0,020	0,073 ± 0,031
<b>ΣSFA</b>	<b>26,38 ± 1,05</b>	<b>27,91 ± 1,49</b>
C16:1 ω9c	0,459 ± 0,123	0,714 ± 0,217
C16:1 ω7c	2,952 ± 0,541	2,989 ± 1,290
C16:1 ω7t	0,255 ± 0,055	0,484 ± 0,123
C17:1 ω7c	0,778 ± 0,139	0,646 ± 0,276
C17:1 ω7t	0,080 ± 0,012	0,124 ± 0,043
C18:1 ω9t	0,051 ± 0,025	0,105 ± 0,048
C18:1 ω9c	11,138 ± 0,899	11,564 ± 1,388
C18:1 ω7c	3,625 ± 0,374	4,342 ± 0,388
C18:1 ω5c	0,096 ± 0,019	0,167 ± 0,038
C19:1 ω9t	0,045 ± 0,010	0,057 ± 0,019
C19:1 ω9c	0,104 ± 0,076	0,213 ± 0,106
C20:1 ω9c	0,761 ± 0,099	0,709 ± 0,118
C22:1 ω9c	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000
C24:1 ω9c	0,105 ± 0,046	0,112 ± 0,060
<b>ΣMUFA</b>	<b>20,45 ± 1,59</b>	<b>22,07 ± 2,60</b>
C18:2 ω6c	8,830 ± 1,491	6,521 ± 1,063
C18:3 ω6c	0,103 ± 0,031	0,205 ± 0,073
C18:3 ω3c	9,590 ± 1,300	3,771 ± 1,075
C18:4 ω3c	0,378 ± 0,138	0,373 ± 0,237
C20:2 ω6c	0,773 ± 0,492	0,878 ± 0,137
C20:3 ω6c	0,585 ± 0,105	0,521 ± 0,062
C20:4 ω6c	7,115 ± 0,944	8,726 ± 1,302
C20:3 ω3c	1,835 ± 0,221	1,009 ± 0,624
C20:4 ω3c	0,972 ± 0,122	0,580 ± 0,142
C20:5 ω3c	3,463 ± 0,526	3,780 ± 0,753
C22:2 ω6c	0,062 ± 0,016	0,000 ± 0,000
C22:4 ω6c	0,926 ± 0,253	1,101 ± 0,180
C22:5 ω6c	1,451 ± 0,263	1,831 ± 0,346
C22:5 ω3c	3,043 ± 0,590	3,373 ± 0,369
C22:6 ω3c	12,992 ± 1,631	13,926 ± 2,195

$\Sigma$ PUFA	52,12 ± 1,92	46,59 ± 2,63
$\Sigma$ HUFA	30,34 ± 2,61	33,57 ± 3,28
$\Sigma\omega 3$	32,27 ± 1,44	26,86 ± 1,96
$\Sigma\omega 6$	19,85 ± 1,05	19,73 ± 1,92
$\Sigma\omega 9$	12,66 ± 0,97	13,33 ± 1,59
$\Sigma cis$	72,14 ± 0,79	68,06 ± 0,83
$\Sigma trans$	0,43 ± 0,07	0,77 ± 0,15

Foi verificado que apenas o fator época ( $p=0,000$ ) exerceu um efeito significativo sobre os principais índices gerais de ácidos gordos em análise. O fator sexo e a interação entre estes dois fatores – época\*sexo – não tiveram efeito significativo ( $p=0,087$  e  $p=0,209$  respectivamente) sobre os parâmetros em estudo. Assim, o fator época do ano exerceu efeito significativo ao nível dos ácidos gordos PUFA ( $p=0,000$  e  $\eta^2=62,8\%$ ), seguido dos SFA ( $p=0,001$  e  $\eta^2=28,0\%$ ) e dos HUFA ( $p=0,002$  e  $\eta^2=23,7\%$ ), sendo os MUFA ( $p=0,016$  e  $\eta^2=15,1\%$ ) aqueles que sofreram menor efeito. Pela Figura 14, é possível verificar que, à exceção dos PUFA, todos os outros três índices mostraram valores superiores na época de verão relativamente à de inverno.



**Figura 14** - Caracterização do músculo de achigã quanto ao grau de saturação dos seus ácidos gordos nas duas épocas analisadas, inverno e verão. Os valores encontram-se em percentagem (%) de ácidos gordos totais.

Interpretando a Figura 14, constata-se que, para ambas as épocas, os músculos de achigãs apresentavam percentagens superiores de PUFA, seguidos dos HUFA e SFA. Os MUFA são sem dúvida aqueles que estão representados em menor quantidade. Esta situação contrasta com a observada por Ventura (2014), em que no caso da lampreia-marinha (*Petromyzon marinus*, L) os MUFA eram os ácidos gordos predominantes em relação aos SFA e PUFA, senda esta distribuição do perfil de ácidos gordos característica de diversos peixes gordos (Ventura, 2014). Assim, é possível afirmar que o achigã não é de todo um peixe gordo, sendo que uma melhor forma de classificar o achigã (gordo, semi-gordo ou magro) será verificar o órgão (células adiposas, tecidos corporais ou fígado) em que este armazena os seus lípidos (Ventura, 2014).

Analisando a composição em SFA, percebe-se que os ácidos palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0) são os mais abundantes na carne de achigã em ambas as épocas (Tabela 6). Esta situação vai de encontro ao referido por Nunes *et al.* (2003) e Tocher (2003) que afirmaram serem estes os ácidos gordos saturados mais comuns em peixes. De facto, o C16:0 é um ácido facilmente sintetizado pela maior parte dos organismos incluindo todos os grupos de algas e como tal, é sempre de grande expressão no perfil de SFA. Ao mesmo tempo, uma das razões indicadas para a abundância de ácido palmítico nos peixes tem a ver com o seu potencial enquanto fonte energética, sendo muito utilizado durante migrações e no desenvolvimento das gónadas das fêmeas (Henderson *et al.*, 1984; Ventura, 2014). Resultados similares foram referenciados para a sardinha (*Sardina pilchardus*) e o carapau (*Trachurus trachurus*) (Bandarra, *et al.*, 2001; Zlatanov & Laskaridis, 2007), onde o ácido palmítico foi o SFA de maior percentagem no perfil de ácidos gordos do músculo. O valor dos SFA oscilou entre 26,38% e 27,91% registando-se diferença significativa no perfil de SFA entre as duas épocas em estudo ( $p=0,001$  e  $\eta^2=28,0\%$ ).

No que toca aos MUFA dos lípidos totais do músculo, verificou-se que o mais representativo foi o ácido oleico (C18:1 $\omega$ 9c), seguido dos ácidos C16:1 $\omega$ 7c e C18:1 $\omega$ 7c (Tabela 6). A abundância de ácido oleico na carne de achigã, aproximadamente 11%, é inferior ao referido na literatura, na qual os valores

elevados de C18:1 $\omega$ 9 se justificam por constituírem uma fonte de energia metabólica para os peixes migradores, sobretudo durante o período de desenvolvimento das gónadas (Henderson *et al.*, 1984), sendo o ácido oleico o predominante nos lípidos de diversas espécies de peixes marinhos, correspondendo normalmente a 60 a 75% do total de MUFA (Özogul *et al.*, 2007). Todavia, quando se analisa a totalidade de MUFA verifica-se que, também no achigã, é o ácido oleico o maior representante desta classe de ácidos gordos, tal como ocorre na maioria dos peixes marinhos. A presença de C16:1 $\omega$ 7c também é comum na medida em que este ácido resulta da atividade da  $\Delta$ 9 desaturase nas vias metabólicas quer de plantas quer de animais (Napolitano, 1999). O valor dos MUFA oscilou entre 20,54% e 22,07%, registando-se diferença significativa no perfil de MUFA entre as duas épocas em estudo ( $p=0,016$  e  $\eta^2=15,1\%$ ).

O músculo de achigã apresentou como PUFA predominantes os ácidos gordos C18:2 $\omega$ 6c e C18:3 $\omega$ 3c, ambos EFA e, portanto, unicamente adquiridos mediante a alimentação. Da leitura da Tabela 6, verifica-se que a maior expressão destes ácidos gordos foi encontrada no músculo de inverno. Em relação aos HUFA ( $p=0,002$  e  $\eta^2=23,7\%$ ), o ácido gordo mais representativo foi o DHA com valores entre 12,99% e 13,92%, seguido pelo AA com valores entre 7,12% e 8,83%. Ainda bem representativos, mas com menor expressão, encontraram-se os ácidos gordos EPA e docosapentaenóico (DPA, C22:5 $\omega$ 3). Constatou-se que o fator época do ano se revelou significativo para o total de PUFA do músculo com valores significativamente superiores no inverno (52,12%) contra os valores de verão (46,59%) (Figura 14). Por outro lado, não se verificaram diferenças significativas para EPA e DHA entre as duas épocas do ano ( $p=0,147$  e  $p=0,145$  respetivamente). Isto permite referir que estes dois ácidos gordos são preservados durante o ano e que o pool de PUFA sofre oscilações com base nos restantes ácidos gordos.

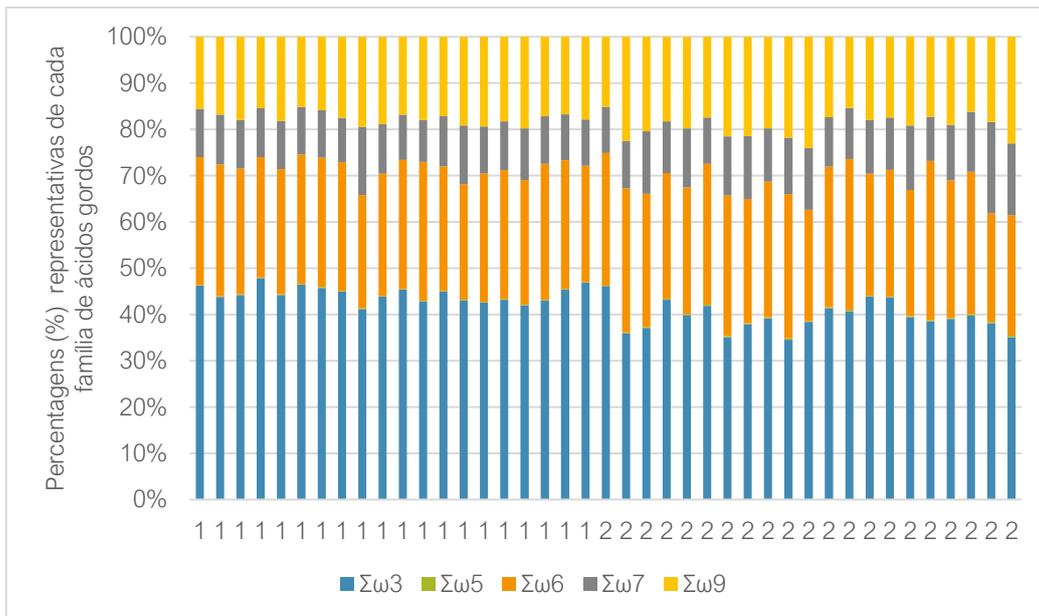
Atendendo a que existem poucos estudos sobre a composição nutricional da carne de achigã, procurou-se compará-los com os resultados referenciados para algumas espécies que são regularmente consumidas pelos portugueses.

Existem várias espécies piscícolas, tradicionais da gastronomia portuguesa, que já se encontram largamente estudadas, e devido à sua composição nutricional é

recomendado o consumo das mesmas. Duas destas espécies são a sardinha (*Sardina pilchardus*) e o carapau (*Trachurus trachurus*). Na sardinha, a percentagem de SFA é de 34,59% (Zlatanov & Laskaridis, 2007), enquanto no carapau o seu conteúdo em SFA variava entre 26,89 e 30,51% de ácidos gordos totais (Bandarra *et al.*, 2001). Se atendermos a estes dois estudos, quando comparamos estes resultados com os obtidos, verifica-se que o achigã apresenta teores de SFA (26,38 e 27,91%) mais próximos dos valores referenciados para o carapau (Bandarra *et al.*, 2001).

Quanto aos MUFA, com base nos estudos referenciados, a sardinha apresentou valores de 18,03% (Zlatanov & Laskaridis, 2007), e o carapau teores entre 23,81 e 32,38%, e valores de PUFA entre 34,63 e 43,38% (Bandarra *et al.*, 2001). Verifica-se que o achigã possui percentagens de MUFA (20,45 e 22,07%) intermédias quanto às obtidas para a sardinha e o carapau, embora o conteúdo em PUFA (52,12 e 46,59%) seja bastante superior ao do carapau.

No que diz respeito às famílias de ácidos gordos, a época do ano não exerceu qualquer efeito significativo sobre a família  $\omega 6$  ( $p=0,687$ ),  $\omega 9$  ( $p=0,115$ ) e MUFA ímpares ( $p=0,633$ ). A família  $\omega 3$  ( $p=0,000$  e  $\eta^2=72,9\%$ ) revelou-se a mais representativa oscilando entre 32% e 27%, para o inverno e verão respetivamente (Tabela 6), seguida pelas famílias  $\omega 6$ ,  $\omega 9$  e  $\omega 7$  (Figura 15).



**Figura 15** - Comparação dos somatórios das famílias de ácidos gordos  $\omega_3$ ,  $\omega_5$ ,  $\omega_6$ ,  $\omega_7$  e  $\omega_9$  nas duas épocas analisadas, inverno (1) e verão (2).

Sabendo que a composição, a distribuição e a relação entre as famílias  $\omega_3$  e  $\omega_6$  nos peixes são influenciadas principalmente por fatores genéticos, ambientais e dieta (Ackman, 1982; Ventura, 2014), é possível extrapolar as razões para as diferenças encontradas. Nas épocas reprodutivas os PUFA são mobilizados para as gónadas e reprodução, existindo mais do dobro do teor de PUFA nestas do que no músculo, estando o DHA a contribuir para a maior proporção de ácidos gordos (Ventura, 2014). Por esta razão, estas fases são um fator condicionante do teor de PUFA nos peixes (Ventura, 2014). Aliado a este fator, encontra-se ainda a perda substancial de lípidos, relacionada com os gastos energéticos que ocorrem nesta fase reprodutiva. Para além dos MUFA que são catabolizados durante a migração reprodutiva (especialmente o ácido oleico), também os PUFA  $\omega_3$  contidos no músculo diminuem em consequência da sua mobilização para as gónadas (Ventura, 2014). De facto, a época de captura no verão coincidiu com a época reprodutiva do achigã (Sanches & Rodrigues, 2011), justificando a diminuição do teor de ácidos gordos  $\omega_3$  do inverno para o verão.

Mais ainda, certos fatores ambientais como a temperatura e a salinidade, influenciam também o metabolismo dos peixes, afetando as suas exigências em ácidos gordos (Ventura, 2014) e encontra-se relacionado com características poiquilotérmicas que caracterizam este grupo de vertebrados. Espécies aquáticas de águas frias apresentam um maior teor em PUFA, onde se incluem os ácidos gordos da família  $\omega 3$ , que outras de regiões mais quentes (Ventura, 2014). Assim, é coerente a observação da diminuição do conteúdo em ácidos gordos  $\omega 3$  no músculo de achigã quando as temperaturas da água aumentam no verão.

Em termos dos ácidos gordos mais representativos em cada família, verificou-se que na família  $\omega 3$  o DHA foi o predominante (12,99 e 13,93%), seguido do ALA (9,59 e 3,77%), do EPA (3,46 e 3,78%) e do DPA (3,04 e 3,37%). Tal como referido anteriormente, as percentagens elevadas de EPA e DHA são esperadas, já que estes se encontram relacionados com processos fisiológicos de crescimento e desenvolvimento (Cejas *et al.*, 2004; Ventura, 2014), sendo que os valores superiores de DHA podem ser devidos a oxidações seletivas de EPA pelos músculos natatórios, levando a uma retenção seletiva de DHA (Tocher, 2003; Ventura, 2014). O DPA resulta de um processo de alongação a partir do EPA e dará origem ao DHA (Holub, 2002), pelo que é natural que apresente valores semelhantes aos do EPA. No que toca ao ALA, este tem de ser fornecido obrigatoriamente pela dieta (Holub, 2002), pelo que a sua alta percentagem revela que a dieta do achigã se baseia em boas fontes de ALA.

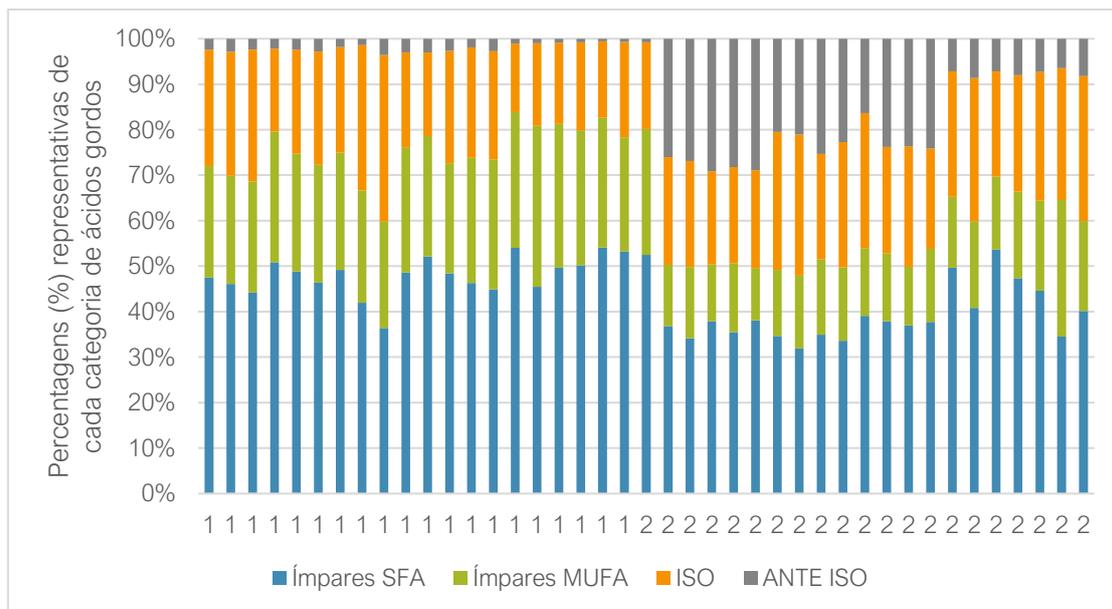
Quanto à família  $\omega 6$ , os ácidos gordos mais representativos foram o LA (8,83 e 6,52%) e o AA (7,12 e 8,73%), seguidos do ácido gordo C22:5 $\omega 6$  (1,45 e 1,83%). A percentagem em LA vem reforçar a dieta rica em EFA do achigã, já que também este ácido tem de ser proporcionado exclusivamente pela dieta do animal (Holub, 2002). No que refere aos ácidos AA e C22:5 $\omega 6$  também estes são obtidos por processos de dessaturação e alongação a partir de LA e ALA, sendo que a menor percentagem de C22:5 $\omega 6$  comparativamente ao AA reforça o facto de o achigã privilegiar a acumulação de ácidos gordos mais nobres.

Foi calculado o total de ácidos gordos *cis* e *trans* para ambas as épocas, devido ao potencial dos ácidos gordos *trans* em despoletar determinadas patologias

(Graça, 2015). No inverno verificou-se um total de 72,14% de ácidos gordos de isomeria *cis* contra 0,43% de ácidos gordos *trans*. Já no verão, para os ácidos gordos *cis* obteve-se um total de 68,05% e para os *trans* o total foi de 0,77%. A época do ano foi significativa para as diferenças registadas para ambos estes tipos de ácidos gordos (*cis*:  $p=0,000$  e  $\eta^2=87,6\%$ ; *trans*:  $p=0,000$  e  $\eta^2=74,2\%$ ).

A análise da Figura 16 mostra que no verão existem, significativamente, mais ácidos gordos *anteiso* que no inverno, o que indica a presença de ácidos gordos de origem microbiana (Diomandé *et al.*, 2015; Sen, 2015). Esta situação poderá estar associada a uma maior presença de coliformes na água da albufeira nesta altura do ano, que foi constatada aquando da análise da qualidade da água de Póvoas e Meadas no contexto da Ação 4 do Projeto GAMEFISH.

Como referido anteriormente, os ácidos gordos *iso*-C15:0, *iso*-C17:0, *anteiso*-C15:0 e *anteiso*-C17:0 podem ser utilizados como indicadores de ácidos gordos bacterianos (Kaneda, 1991), sendo que a presença dos mesmos é justificada pelo facto de ocorrerem biofilmes bacterianos na superfície dos sedimentos, que podem entrar em suspensão quando a superfície dos mesmos sofre processos físicos, e também por estarem associados a detritos animais e de plantas (Dalsgaard, *et al.*, 2003). Ora, sendo o achigã uma espécie de carácter oportunista, não é de espantar que, pelo seu comportamento e regime alimentar, este acabe por ingerir outras espécies portadoras deste tipo de ácidos gordos.



**Figura 16** - Comparação dos somatórios de ácidos gordos ímpares saturados (Ímpares SFA), ácidos gordos ímpares monoinsaturados (Ímpares MUFA), ácidos gordos *iso* (ISO) e *anteiso* (ANTEISO), nas duas épocas analisadas, inverno (1) e verão (2).

Relativamente aos índices nutricionais determinados, na Tabela 7 apresentam-se os valores obtidos para índice de polinsaturados/saturados, índice  $\omega 3/ \omega 6$  e índice EPA/DHA.

**Tabela 7** - Valores obtidos para os índices de avaliação nutricional – índice de polinsaturados/saturados, índice  $\omega 3/\omega 6$  e índice EPA/DHA – nas duas épocas analisadas, inverno e verão.

	Inverno n=21	Verão n=20
Índice polinsaturados/saturados	1,33	1,05
Índice $\omega 3/\omega 6$	1,63	1,37
Índice EPA/DHA	0,27	0,28

Para o índice de polinsaturados/saturados a época teve um efeito significativo ( $p=0,012$  e  $\eta^2=15,7\%$ ). Efetivamente, para a época de inverno obteve-se um índice de polinsaturados/saturados de 1,33 e para o verão este índice foi de 1,05. Os resultados obtidos enquadram-se na gama de valores usualmente obtidos em espécies de peixes marinhos que oscilam em média entre 0,64 e 1,92 (Özogul *et al.*, 2011).

As recomendações da proporção de ácidos gordos polinsaturados e saturados para uma dieta equilibrada oscilam entre 0,45 e 1 (Afonso, 2009), sendo que o achigã apresentou valores superiores ao recomendado quando capturado em qualquer uma das épocas.

Os índices obtidos resultam ainda da existência de mais ácidos gordos saturados em situação de verão que de inverno e/ou de mais polinsaturados em situação de inverno, o que é confirmado pelos valores discriminados na Tabela 6, onde se obteve uma percentagem média de 26,38% de SFA no inverno e de 27,91% no verão, aliada a PUFA com valores maiores na época de inverno e menores na de verão, i.e., 52,12% e 46,59% respetivamente, os quais foram significativamente diferentes.

A razão para as diferenças encontradas pode estar associada quer ao regime alimentar/disponibilidade de presas nas duas épocas do ano quer com necessidades fisiológicas de adaptação às condições do meio. Neste último caso, convém lembrar que muitas vezes as diferenças entre ácidos gordos saturados e polinsaturados que caracterizam os tecidos entre épocas do ano, podem ser justificadas por características fisiológicas das membranas celulares que constituem as células do tecido muscular. O interior da camada dupla lipídica das membranas celulares pode ser mais rígido ou mais fluido de acordo com a natureza dos ácidos gordos (Campos, 2009), tendo consequências na capacidade de adaptação às alterações de temperatura do meio por parte dos organismos. No caso do achigã, sendo um animal poiquilotérmico, as proporções de SFA e PUFA têm uma grande importância ao nível adaptativo. Teores elevados de SFA na região interior da camada dupla das membranas celulares traduzem-se numa estrutura mais compacta e, conseqüentemente, mais rígida. Por outro lado, a predominância

de ácidos gordos insaturados requer uma estrutura menos organizada e mais espaçada, pelo que essa desorganização aparente leva a uma maior fluidez da membrana (Campos, 2009). Sabe-se também que perante diminuições de temperatura há um aumento do teor de ácidos insaturados na membrana, e que a fluidez da mesma poderá aumentar por ação do calor (Campos, 2009). Tendo também em conta que uma maior fluidez da membrana está associada a uma diminuição da espessura da mesma (Azevedo & Sunkel, 2012), é natural que com o aumento das temperaturas na época de verão haja um aumento do teor de SFA por forma a manter a integridade das membranas celulares.

No que diz respeito ao índice  $\omega 3/\omega 6$  ( $p=0,000$  e  $\eta=49,2\%$ ), este foi superior no inverno, com um valor de 1,63, contra o valor de 1,37 obtido no verão (Tabela 7), sendo que os valores de ambas as épocas estão próximos daqueles obtidos por Jorge (2018). Os valores obtidos neste estudo foram superiores ao valor de 0,2 referido por Hossain (2011) como rácio acima do qual o organismo terá mais facilidade em utilizar ácidos gordos polinsaturados  $\omega 3$ . Os valores obtidos resultam da dominância de ácidos  $\omega 3$  em relação aos  $\omega 6$ , o que, *per si*, traduz uma boa qualidade do músculo de achigã ao nível da proporção de ácidos gordos das famílias  $\omega 3$  e  $\omega 6$ . Contudo, quando comparado com a sardinha e o carapau, o índice  $\omega 3/\omega 6$  do achigã é muito inferior. Das três espécies referidas, o carapau é o que apresenta um maior índice (19,3) de acordo com Bandarra *et al.* (2004), sendo que a sardinha se caracteriza por um índice menor (13) (Zlatanov & Laskaridis, 2007) mas ainda assim maior que o obtido para o achigã. Esta constatação reforça a proporção equilibrada de ácidos gordos das famílias  $\omega 3$  e  $\omega 6$  no achigã, e a dominância de ácidos gordos  $\omega 3$  na sardinha e no carapau relativamente à família  $\omega 6$ . De facto, os valores destes índices para peixes marinhos oscilam entre 4,7 e 14,4 sendo muito inferiores em espécies dulçaquícolas (Tocher, 2003).

Por ser o fator que mais contribui para o perfil de ácidos gordos dos triacilgliceróis nos peixes (Ventura, 2014), é natural que a alimentação traga diferenças entre espécies marinhas e dulçaquícolas uma vez que os produtores das cadeias tróficas marinhas e dulçaquícolas são diferenciados no que toca ao perfil de ácidos gordos (Ventura, 2014). Nas cadeias alimentares marinhas encontramos

produtores ricos em PUFA principalmente da família  $\omega 3$  como as algas unicelulares, já nas cadeias dulçaquícolas os seus produtores são caracterizados por teores superiores em PUFA da família  $\omega 6$  (Ventura, 2014).

A razão EPA/DHA no achigã foi de 0,27 no inverno e 0,28 no verão, não se tendo verificado diferenças significativas para este rácio entre as duas épocas de captura ( $p=0,865$ ). Esta proporção reforça a prevalência de DHA comparativamente ao EPA. Mais uma vez, estando os ácidos EPA e DHA envolvidos no crescimento e desenvolvimento, incluindo a reprodução (Ventura, 2014), verifica-se que é frequente a preservação do DHA em detrimento do EPA (Dalsgaard *et al.*, 2003). Ao mesmo tempo, este índice EPA/DHA é frequentemente indicador de carnívoria em estudos com marcadores tróficos, diminuindo com o aumento dos níveis tróficos na medida em que o DHA é preservado (Dalsgaard *et al.*, 2003). Acontece que atendendo ao regime alimentar do achigã não é de surpreender que um marcador de carnívoria esteja presente de forma tão marcada. Este resultado também é corroborado pela expressão marcada de C18:1 $\omega 9$ , na medida em que também é um ácido gordo usado como marcador trófico de carnívoria.

Quanto aos valores obtidos para os índices nutricionais de trombogenicidade (IT), aterogenicidade (IA) e hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos (h/H), estes são apresentados na Tabela 8.

**Tabela 8** - Valores obtidos para os índices de avaliação nutricional – índice de trombogenicidade (IT), índice de aterogenicidade (IA) e índice de hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos (h/H) – nas duas épocas analisadas, inverno e verão.

	Inverno n=21	Verão n=20
IT	0,06	0,08
IA	0,29	0,30
h/H	3,61	3,46

A época do ano não exerceu qualquer efeito significativo sobre os índices IA ( $p=0,106$ ) e h/H ( $p=0,080$ ). Já os valores de IT para o achigã oscilaram entre 0,06 e 0,08 para inverno e verão respetivamente, sendo as diferenças significativas para o fator época ( $p=0,000$  e  $\eta^2=70,1\%$ ). Quando comparados com os valores obtidos para outras espécies como o peixe-espada-branco (*Lepidopus caudatus*) e areeiro (*Lepidorhombus whiffiagonis*) que no estudo de Afonso (2009) apresentaram valores de 0,21 e 0,41 respetivamente, ou com a lampreia-marinha com 0,81 em Ventura (2014), constata-se que o IT do achigã é bastante inferior o que pressupõe uma qualidade da fração lipídica da carne de achigã superior à das espécies referidas, devido a um maior conteúdo anti trombótico. Na realidade, tal como referido anteriormente, este índice resulta da contribuição do efeito individual de cada ácido gordo e não de uma família de ácidos gordos, relacionando os teores dos ácidos saturados C14:0, C16:0 e C18:0 (ácidos gordos pró-trombóticos) com teores de ácidos monoinsaturados e polinsaturados com propriedades anti trombóticas, assinalando a contribuição que o produto alimentar pode ter na formação de coágulos nos vasos sanguíneos (Afonso, 2009; Ventura, 2014). Assume-se assim que quanto menor for o valor do índice, melhor será a qualidade da fração lipídica do alimento (Ulbricht & Southgate, 1991; Ventura, 2014).

Em relação ao IA ( $p=0,106$ ), não se obteve diferença significativa entre inverno e verão (valores de 0,29 e 0,30 respetivamente) (Tabela 8). Afonso (2009) obteve valores para este índice a variarem entre 0,26 no peixe-espada-preto (*Aphanopus carbo*) e 0,51 na pescada europeia (*Merluccius merluccius*), pelo que o valor obtido para o achigã se encontra bastante próximo. Comparando com a lampreia-marinha (Ventura, 2014), por exemplo, o achigã apresenta um IA bastante menor, sugerindo uma boa qualidade da fração lipídica a nível aterogénico. Como referido anteriormente, de forma a refletir os diferentes graus de aterogenicidade, aquando do cálculo do IA, foram atribuídos um fator de 1 aos ácidos gordos C12:0 e C16:0, e outro de 4 ao C14:0, sendo que aos ácidos gordos monoinsaturados e polinsaturados das famílias  $\omega 3$  e  $\omega 6$ , já se considerou que são igualmente eficientes na redução da aterogenicidade (Ventura, 2014). Assim, o índice de aterogenicidade considera o efeito que os ácidos gordos exercem no colesterol plasmático ao nível da formação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e/ou lipoproteínas de alta

densidade (HDL) (Senso *et al.*, 2007; Ventura, 2014). Tal como para o IT, admite-se que quanto menor for o valor do IA, melhor será a qualidade da fração lipídica do alimento (Ventura, 2014).

Obtiveram-se valores de índice h/H de 3,61 no inverno e 3,46 no verão (Tabela 8), porém, a época do ano não exerceu efeito significativo ( $p=0,080$ ) sobre este índice. Este entra em linha de conta com a razão entre o valor nutricional dos ácidos gordos com propriedades hipocolesterolémicas e o valor nutricional dos ácidos gordos com propriedades hipercolesterolémicas, admitindo que quanto maior o valor do índice, menor será o risco de desenvolvimento de colesterolémia (Santos-Silva *et al.*, 2002; Ventura, 2014), um dos principais fatores de aterosclerose. Não sendo a época do ano um fator determinante para as diferenças neste índice, não se poderá afirmar se a carne de achigã é mais ou menos hipocolesterolémicas de acordo com a época de captura dos animais. Todavia, comparando com outras espécies como peixe-espada preto, aquele que mostrou maior índice de h/H no trabalho de Afonso (2009) ( $h/H=2,82$ ), verifica-se que o achigã apresenta valores superiores, caracterizando-se pela predominância de ácidos gordos de carácter hipocolesterolémicos, e, como tal representando um menor de risco de desenvolvimento de colesterolémia.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pela análise da composição química do músculo de achigãs provenientes da Albufeira de Póvoas e Meadas constatou-se que os indivíduos capturados no inverno apresentavam um perfil nutricional distinto dos animais capturados no verão, verificando-se que a época do ano influencia significativamente a composição química e o perfil de ácidos gordos da parte edível de achigã.

O tecido muscular dos animais de inverno revelou valores significativamente maiores de humidade e lípidos totais comparativamente aos de verão, os quais apresentaram valores superiores de proteína bruta.

Relativamente ao perfil de ácidos gordos do músculo de achigã, verificou-se uma predominância de ácidos gordos polinsaturados comparativamente aos saturados, monoinsaturados e altamente insaturados. Pelas diferenças observadas entre os teores dos ácidos gordos de diferentes graus de insaturação e pelo quociente entre ácidos gordos polinsaturados e saturados, constatou-se também que o inverno era a época que apresentava melhores valores destes parâmetros.

No que concerne aos índices nutricionais, pode-se afirmar que a carne de achigã se caracteriza por uma relação  $\omega 3/\omega 6$  acima do recomendado; índices de trombogenicidade e de aterogenicidade inferiores aos encontrados noutras espécies de pescado, aliados a uma razão hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos superior; e uma relação polinsaturados/saturados bastante satisfatória com, a já referida, predominância de ácidos gordos polinsaturados relativamente aos saturados. Os valores obtidos para os índices referidos sugerem uma boa qualidade da fração lipídica, apresentando valores bastante satisfatórios do ponto de vista do consumo humano de carne de achigã.

Em termos das vantagens e desvantagens entre consumir carne de achigã no inverno ou no verão, verificou-se que se por um lado o teor de proteína bruta é melhor no verão; por outro lado, no inverno verificam-se teores de lípidos totais superiores, bem como de ácidos gordos polinsaturados, nomeadamente da família  $\omega 3$ , aliados a valores de índice de trombogenicidade inferiores. Já os índices de

aterogenicidade e de hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos não apresentavam diferenças significativas entre épocas. Deste modo, torna-se difícil concluir ao certo em qual das épocas será mais interessante, do ponto de vista nutricional, consumir achigã. Se no verão existe uma maior disponibilidade proteica, no inverno há maior disponibilidade de ácidos gordos polinsaturados e de cariz anti trombótico. Para além disso, dever-se-á também ter em conta o menor teor de ácidos gordos *trans* no inverno, relativamente ao verão.

Um aspeto que poderá, para já, ajudar a concluir se o consumo de carne de achigã, oriundo da Albufeira de Póvoas e Meadas, é mais vantajoso no inverno ou no verão, centra-se na concentração de ácidos gordos *anteiso* em época de verão. Estando estes ácidos gordos associados à presença de bactérias, o seu aparecimento no verão deverá ser acautelado, já que o consumo de carne de achigã com estas características poderá trazer consequências na saúde de quem a ingere na medida em que este tipo de ácidos gordos fica acumulado no pool de ácidos gordos da sua carne.

Posto isto, de um ponto de vista da qualidade do perfil lipídico da parte edível poder-se-á dizer que esta é superior na época de inverno quando comparada com a de verão.

Este trabalho vem complementar outro já realizado (Jorge, 2018), sobre a qualidade da carne desta espécie invasiva e muito utilizada na pesca recreativa nas albufeiras da região do Alentejo. Seria também interessante alargar o estudo da composição química, incluindo o valor energético, e do perfil em ácidos gordos entre diferentes épocas a outras albufeiras alentejanas, de forma a aferir se a persistência de ácidos gordos bacterianos no verão é apenas característica da Albufeira de Póvoas e Meadas ou se também é um fator com influência na qualidade nutricional da carne de achigã noutras albufeiras, e se este fator se encontra relacionado com a qualidade da água das mesmas ou com alguma das espécies consumidas pelo achigã. Paralelamente, também seria relevante converter os resultados obtidos para os ácidos gordos em mg de ácido gordo por 100 g de músculo de peso húmido (mg/100 g), já que é a forma mais adequada de apresentar resultados em estudos nutricionais (Afonso, 2009; Ventura, 2014).

## 6. REFERÊNCIAS

- Ackman, R. G. (1982). Fatty Acid Composition in Fish Oil. In: Barlow, S. M. & Stansby, M. E. (eds.) *Nutritional Evaluation of Long-Chain Fatty Acids in Fish Oil*. New York, Academic Press: 25-28.
- Afonso, C. (2009). *Produtos da pesca capturados na costa portuguesa: Benefícios e perigos associados ao seu consumo*. Tese de Doutoramento em Farmácia (Bromatologia) Universidade de Lisboa - Faculdade de Farmácia, Lisboa.
- Alasalvar, C., Taylor, K.D.A., Zubcoba, E., Shahidi, F., & Alexis, M. (2002). Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Total lipid content fatty acid and trace mineral composition. *Food Chem.*, 79: 145-150.
- Almeida, P. R., Alexandre, C. M., Quintella, B. R., Almeida, M. J. L., Mateus, C. S., Pereira, E., ... Oliveira, I. (2017). *GAMEFISH - Gestão e Promoção da Pesca Recreativa em Albufeiras da Região Mediterrânica (1º Relatório de Progresso)*.
- Anastácio, P. M., Ribeiro, F., Capinha, C., Banha, F., Gama, M., Filipe, A.F., ... Sousa, R. (2019). Non-native freshwater fauna in Portugal: A review. *Science of the Total Environment*, 650, 1923–1934.
- Aslan, S.S., Guven, K.C., Gezgin, T., Alpaslan, M., & Tekinay, A. (2007). Comparison of fatty acid contents of wild and cultured rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* in Turkey. *Fish. Sci.*, 73: 1195-1198.
- Azevedo, C. & Sunkel, C.E. (2012). *Biologia Celular e Molecular*. 5.ª Edição, Lisboa, LIDEL – Edições Técnicas, Lda.
- Bae, M. J., Murphy, C. A., & García-Berthou, E. (2018). Temperature and hydrologic alteration predict the spread of invasive Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*). *Science of the Total Environment*, 639, 58–66.
- Bandarra, N. M., Batista, I., Nunes, M. L., & Empis, J. M. (2001). Seasonal variation in the chemical composition of horse-mackerel (*Trachurus trachurus*). *Eur Food Res Technol*, 212, 535–539.

- Bandarra, N., Calhau, M.A., Oliveira, L., Ramos, M., Dias, M.G., Bártolo, H., Faria, M.R., Fonsesa, M.C., Gonçalves, J., Batista, I., & Nunes, M.L. (2004). Composição e Valor Nutricional do Pescado Consumido em Portugal. INIAP/IPIMAR, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.
- Banha, F., Diniz, A., & Anastácio, P. M. (2017). The role of anglers' perceptions and habits in biological invasions: perspectives from the Iberian Peninsula. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 27(1), 51–64.
- Broughton, K. S., & Wade, J. W. (2002). Total fat and (n-3):(n-6) fat ratios influence eicosanoid production in mice. *The Journal of Nutrition*, 132(1), 88–94.
- Brown, T. G., Runciman, B., Pollard, S., & Grant, A. D. A. (2009). Biological synopsis of Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*). *Canadian Manuscript Report of Fisheries and Aquatic Sciences* 2884, v+27 p.
- Campos, L. (2009). *Entender a Bioquímica*. 5.<sup>a</sup> Edição, Lisboa, Escolar Editora.
- Cañas, G., & Braibante, M. (2019). A Química dos Alimentos Funcionais. *Quím. nova esc*, 41(3), 216-223.
- Carr, O. (s.d.) Fatty Acids. Long-chain carboxylic acids that have an even number (usually 12-18) of carbon atoms. Long-chain carboxylic acids that have an even number. [Em linha] *SlidePlayer*. Disponível em: <https://slideplayer.com/slide/5781394/> [Consult. 4 outubro 2019].
- Cejas, J.R., Almansas, E., Jérez, S., Bolaños, A., Samper, M., & Lorenzo, A. (2004). Lipid and fatty acid composition of muscle and liver from wild and captive mature female brood stocks of White Sea bream, *Diplodus sargus*. *Comp. Biochem. Physiol. Part B*, 138: 91-102.
- Charles, C. C. (1975). *Responses of bass to natural and artificial temperature regimes*. For presentation and possible publication at the National Symposium on the Biology and Management of Centrarchid Basses, Tulsa, Oklahoma, 3-6 February 1975.

- Dalsgaard, J., St John, M., Kattner, G., Muller-Navarra, D., & Hagen, W. (2003). Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Advances Mar. Biol.*, 46: 225-340.
- Diomandé, S. E., Nguyen-The, C., Guinebretière, M.H., Broussolle, V., & Brillard, J. (2015). Role of fatty acids in Bacillus environmental adaptation. *Front. Microbiol.*, 6:813. doi: 10.3389/fmicb.2015.00813
- Dodds, E. D., McCoy, M. R., Geldenhuys, A., Rea, L. D., & Kennish, J. M. (2004). Microscale Recovery of Total Lipids from Fish Tissue by a Accelerated Solvent Extraction. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(9), 835–840.
- Egnew, N., Renukdas, N., Ramena, Y., Yadav, A. K., Kelly, A. M., Lochmann, R. T., & Sinha, A. K. (2019). Physiological insights into largemouth bass (*Micropterus salmoides*) survival during long-term exposure to high environmental ammonia. *Aquatic Toxicology*, 207, 72–82.
- Fuentes, A., Fernandez-Segovia, I., Serraand, J.A., & Barat, J.M. (2010). Comparison of wild cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) quality. *Food Chem.*, 119: 1514-1518.
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*.
- García-Berthou, E. (2002). Ontogenetic Diet Shifts and Interrupted Piscivory in Introduced Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*). *International Review of Hydrobiology*, 87(4), 353–363.
- Godinho, F. N., Ferreira, M. T., & Cortes, R. V. (1997). The environmental basis of diet variation in pumpkinseed sunfish,. *Environmental Biology of Fishes*, (1986), 105–115.

- Graça, A. (2015). *Efeito da pressurização da semente de soja no metabolismo ruminal dos ácidos gordos*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica - Produção Animal. Universidade de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária / Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- Grigorakis, K., Alexis, M.N., Taylor, K.D.A., & Hole, M. (2002). Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*); composition, appearance and seasonal variation. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 37: 477-484.
- Guiné, R. P. F., & Henriques, F. (2011). O papel dos ácidos gordos na nutrição humana e desenvolvimentos sobre o modo como influenciam a saúde. *Millenium*, 40, 7–21.
- Han, J.H., Paek, W. K., & An, K.-G. (2016). Exotic species, *Micropterus salmoides*, as a key bioindicator influencing the reservoir health and fish community structure. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 9(4), 403–411.
- Henderson, R. J., Sargent, J. R., & Hopkins, C. C. E. (1984). Changes in the content and fatty acid composition of lipid in an isolated population of the capelin *Mallotus villosus* during sexual maturation and spawning. *Marine Biology*, 78, 255–263.
- Holub, B. J. (2002). Clinical nutrition: 4. Omega-3 fatty acids in cardiovascular care. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal*, 166(5), 608–615.
- Hossain, M. A. (2011). Fish as Source of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFAs), Which One is Better-Farmed or Wild? *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(6), 455–466.
- Hossain, M.A., Almatar, S.M., Al-Abdul-Elah, K.M., & Yaseen, S.B. (2012). Proximate composition and fatty acid profiles of some popular cultured and wild fishes in Kuwait. *J. Appl. Aquacult.*, (In Press).
- Huss, H.H. (1995). *Quality and quality changes in fresh fish*. Rome, FAO, Fisheries Technical paper number: 348.
- IPQ. (1991). Norma Portuguesa 2282 – Pescado: Determinação do teor de humidade. Lisboa, Instituto Português da Qualidade.

- Jorge, A. (2018). *Determinação do perfil de ácidos gordos do músculo de achigã (Micropterus salmoides)*. Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Química Bioorgânica. Universidade Nova de Lisboa - Faculdade de Ciências e Tecnologias, Lisboa.
- Kaneda, T. (1977). Fatty Acids of the Genus Bacillus: an Example of Branched-Chain Preference. *Bacteriol. Rev.*, 41(2), 391–418.
- Kaneda, T. (1991). Iso- and Anteiso-Fatty Acids in Bacteria: Biosynthesis, Function, and Taxonomic Significance. *Microbiol. Rev.*, 55(2), 288–302.
- Lança, M. J., Machado, M., Ferreira, A. F., Quintella, B. R., & Almeida, P. R. (2015). Structural lipid changes and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity of gill cells' basolateral membranes during saltwater acclimation in sea lamprey (*Petromyzon marinus*, L.) juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 189, 67–75.
- Lança, M. J., Rosado, C., Machado, M., Ferreira, R., Alves-Pereira, I., Quintella, B. R., & Almeida, P. R. (2011). Can muscle fatty acid signature be used to distinguish diets during the marine trophic phase of sea lamprey (*Petromyzon marinus*, L.)? *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 159, 26–39.
- Long, J. M., Allen, M. S., Porak, W. F., & Suski, C. D. (2015). A Historical perspective of black bass management in the United States. *American Fisheries Society Symposium*, 82, 99–122.
- Maezono, Y., Kobayashi, R., Kusahara, M., & Miyashita, T. (2005). Direct and indirect effects of exotic bass and bluegill on exotic and native organism in farm ponds. *Journal of Applied Ecology*, 15, 638-650.
- Mariotti, F., Tomé, D., & Mirand, P. (2008). Converting Nitrogen into Protein – Beyond 6.25 and Jones' Factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Taylor*, 48(2), 177–184.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A., & Wilkinson, R. G. (2002). *ANIMAL NUTRITION, Seventh Edition*. Pearson (Seventh Ed).

- Mnari, A., Bouhlel, I., Chraief, I., Hammami, M., Romdhane, M.S., El Cafsi, M., & Chaouch, A. (2007). Fatty acids in muscles and liver of Tunisian wild and farmed gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Food Chem.*, 100: 1393-1397.
- Morrisson, W. R., & Smith, L. M. (1964). Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *Journal of Lipid Research*, 5, 600–608.
- Morrison, R., & Boyd, R. (1996). *Química Orgânica*. 13.<sup>a</sup> Edição, Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., & Rodwell, V. W. (2003). *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26<sup>th</sup> Edition. McGraw-Hill Companies.
- Napolitano, G.E. (1999). Fatty acid as trophic and chemical markers in freshwater ecosystems. In: Arts MT and Wainman BC (eds.), *Lipids in Freshwater Ecosystems*, Springer-Verlag, N.Y., 21-44.
- Nunes, M. L., Bandarra, N. M., & Batista, I. (2003). Fish products: contribution for a healthy food. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.*, 2(4), 453–457.
- Orban, E., Navigato, T., Di Lena, G., Casini, I., & Marzetti, A. (2006). Differentiation in the lipid quality of wild and framed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *J. Food Sci.*, 68(1): 128-132.
- Özogul, Y., Özogul, F. & Alagoz, S. (2007). Fatty acid profiles and contents of commercially important seawater and freshwater fish species of Turkey: A comparative study. *Food Chemistry*, 103, 217-223.
- Özogul, Y., Polat, A., Uçak, İ. & Özogul, F. (2011). Seasonal fat and fatty acids variations of seven marine fish species from the Mediterranean Sea. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 1491–1498.
- Ran-Ressler, R. R., Bae, S., Lawrence, P., Wang, D. H., & Brenna, J. T. (2014). Branched-chain fatty acid content of foods and estimated intake in the USA. *British Journal of Nutrition*, 112, 565–572.

- Raver, D. (s.d.). Largemouth bass. [Em linha] *U. S. Fish & Wildlife Service, Fish and Aquatic Conservation*. Disponível em: [https://www.fws.gov/fisheries/freshwater-fish-of-america/largemouth\\_bass.html](https://www.fws.gov/fisheries/freshwater-fish-of-america/largemouth_bass.html) [Consult. 4 outubro 2019].
- Rueda, F.M., López, J.A., Martínez, F.J., Zamora, S., Divanach, P., & Kentouri, M. (2003). Fatty acids in muscles of wild and farmed red porgy, *Pagrus pagrus*. *Aquacult. Nutr.*, 3: 161-165.
- Sağglik, S., Alpaslan, M., Gezgin, T., Çetintürkc, K., Tekinay, A., & Güven, A.C. (2003). Fatty acid composition of wild and cultivated gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 105: 104-107.
- Sanches, J. C., & Rodrigues, A. M. (2011). O Achigã (*Micropterus salmoides*), uma espécie com interesse para a pesca desportiva. *Agroforum*.
- Santos-Silva, J., Bessa, R. J. B., & Santos-Silva, F. (2002). Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs II . Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science*, 77, 187–194.
- Sen, S. (2015). Biophysical Properties of Cellular Membranes in Gram-Positive Bacterial Pathogens and Their Impact on Major Physiological Attributes and Virulence Determinants. *Thesis and Dissertations*. 635. doi: 10.30707/ETD2015.Sen.S
- Senso, L., Suárez, M. D., Ruiz-Cara, T., & García-Gallego, M. (2007). On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Food Chemistry*, 101, 298–307.
- Sérot, T., Gandemer, G., & Demaimay, M. (1998). Lipid and fatty acid compositions of muscle from farmed and wild adult turbot. *Aquacult. Int.*, 6: 331-343.
- Sharma, P., Kumar, V., Sinha, A.K., Rajan, J., Kithsiri, H.M.P., & Venkateshwarlu, G. (2010). Comparative fatty acid profiles of wild and farmed tropical freshwater fish rohu (*Labeo rohita*). *Fish Physiol. Biochem.*, 36: 411-417.

- Sheikh-Eldin, M., De Silva, S.S., Anderson, T.A., & Gooley, G. (1996). Comparison of fatty acid composition of muscle, liver, mature oocytes and diets of wild and captive Macquarie perch, *Macquaria australasica*, brood fish. *Aquaculture*, 144: 201-216.
- Shi, L., Yang, T., Xiong, G., Li, X., Wang, X., Ding, A., ... Wang, L. (2018). Influence of frozen storage temperature on the microstructures and physicochemical properties of pre-frozen perch (*Micropterus salmoides*). *LWT*, 92, 471–476.
- Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 56(8), 365–379.
- Tazzini, N. (2012). Omega-6 polyunsaturated fatty acids. [Em linha] *Tuscany Diet*. Disponível em: <https://www.tuscany-diet.net/2012/10/06/omega-6-polyunsaturated-fatty-acids/> [Consult. 5 outubro 2019].
- Tocher, D. R. (2003). Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2), 107–184.
- Tocher, D. R. (2009). Issues surrounding fish as a source of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Lipid Technology*, 21(1), 13–16.
- Ulbricht, T. L., & Southgate, D. (1991) Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338 (8773), 985–992.
- van Vliet, T., & Katan, M.B. (1990). Lower ratio of n-3/n-6 fatty acids in cultured than in wild fish. *Am. J. Clin. Nutr.*, 51: 1-2.
- Vanek, C., & Connor, W. E. (2007). Do n-3 fatty acids prevent osteoporosis? *Am J Clin Nutr*, 85, 647–648.
- Ventura, H. (2014). *Qualidade nutricional do perfil lipídico da carne de lampreia-marinha (*Petromyzon marinus*, L.) utilizada em consumo humano*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica. Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia, Departamento de Zootécnia, Évora.
- Whalen, J. (2009). Fishy business: Aquaculture, Omega-3 Fatty Acids and Health. Presented at Aquaculture America. Seattle, Washington.

Wikibooks. (s.d.). Comparação entre isômeros trans e cis. [Em linha] *Bioquímica/Ácidos gordos*. Disponível em: [https://pt.wikibooks.org/wiki/Bioqu%C3%ADmica/%C3%81cidos\\_gordos](https://pt.wikibooks.org/wiki/Bioqu%C3%ADmica/%C3%81cidos_gordos) [Consult. 4 outubro 2019].

Zlatanov, S., & Laskaridis, K. (2007). Food Chemistry Seasonal variation in the fatty acid composition of three Mediterranean fish – sardine (*Sardina pilchardus*), anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and picarel (*Spicara smaris*). *Food Chemistry*, 103, 725–728.