



Analdete Nelsa Boio Marvão

Bacharel em Biologia Marinha

**Fortificação e estabilidade dos ácidos gordos ómega-3
nos filetes de duas espécies de peixe de
aquacultura (*Sparus aurata* e *Cyprinus carpio*)**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientador: Doutora Ana Luísa Marques Paixão de Carvalho Maulvault
Investigadora Júnior, IPMA

Co-orientadora: Prof.^a Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte
Professora Auxiliar, FCT/UNL

Presidente: Prof. Doutora Benilde Simões Mendes, FCT/UNL

Arguente: Doutora Maria Leonor Martins Braz de Almeida Nunes, CIMAR/UPorto

Vogal: Doutora Ana Luísa Marques Paixão de Carvalho Maulvault, Investigadora
Júnior, IPMA



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro 2019



Analdete Nelsa Boio Marvão

Bacharel em Biologia Marinha

**Fortificação e estabilidade dos ácidos gordos ómega-3
nos filetes de duas espécies de pescado de
aquacultura (*Sparus aurata* e *Cyprinus carpio*)**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientador: Doutora Ana Luísa Marques Paixão de Carvalho Maulvault
Investigadora Júnior, IPMA

Co-orientadora: Prof.^a Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte
Professora Auxiliar, FCT/UNL

Copyright © Analdete Nelsa Boio Marvão, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Universidade Nova de Lisboa

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por me dar vida e saúde para poder realizar essa dissertação.

Agradeço ao meu pai pelo investimento na minha formação académica, por me apoiar e acreditar em mim. Obrigada por seres um pai presente e por gastares o que tinhas e até o que não tinhas para me manteres noutra país e para não me faltar nada. Tu és o maior e melhor pai do mundo. Agradeço também aos meus irmãos pelo amor e carinho, por tornarem os meus dias melhores.

À minha querida orientadora Doutora Ana Luísa Marques Paixão de Carvalho Maulvault, Investigadora Júnior do IPMA, faltam-me as palavras para agradecer o tanto que fez por mim. Muito obrigada pela confiança, paciência e incentivo que teve ao longo da realização deste trabalho.

À Prof.^a Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte, Professora Auxiliar, FCT/UNL por todo o acompanhamento ao longo do meu percurso académico, assim como o apoio e carinho durante toda esta etapa.

Agradeço ao meu namorado por toda paciência, carinho, compreensão e força que me deu durante essa etapa.

Agradeço, também, às Bolseiras de Investigação do IPMA do gabinete, pela simpatia e boa disposição, que facilitaram a minha integração e tornaram os dias mais divertidos.

Aos meus Amigos e colegas Edna David, Handelça Pitra, Suridia Sebastião, Verónica Simões, Carla Gonçalves, Eromise Varela, Sónia Matos, Estér Tavares, Yara Gaspar e Josceline Silva, por me terem acompanhado e apoiado em todo o meu percurso escolar e/ou pessoal, por me terem ouvido nos momentos difíceis, por partilharem comigo as minhas alegrias, por me aconselharem e, acima de tudo, pela amizade verdadeira.

Agradeço, também, às mestres Vera Barbosa e Isa Gameiro pelo apoio e ensinamento ao longo deste trabalho.

Resumo

O pescado é um alimento nutricionalmente equilibrado, rico em PUFA ω 3 e, por esta razão, o seu consumo regular tem vindo a ser amplamente recomendado, como forma de prevenção de diversas doenças.

Tendo em conta o atual estado de sobreexploração de muitos stocks selvagens, aliado ao constante crescimento da população mundial, espera-se que nos próximos anos o pescado de aquacultura venha a ter cada vez mais peso no mercado e alimentação humana. Assim, é crucial garantir não só a qualidade nutricional e segurança do pescado de aquacultura, mas também que a sua produção seja feita de modo sustentável. Neste contexto, a presente tese de mestrado pretendeu avaliar a eficiência de diferentes estratégias sustentáveis de fortificação com PUFA ω 3 (em particular, EPA e DHA) em duas espécies de aquacultura (carpa, *Cyprinus carpio*, e dourada, *Sparus aurata*), bem como, a estabilidade destes compostos nos filetes de pescado submetidos ao efeito do tratamento térmico (cozedura e congelação).

Os resultados revelaram que as estratégias de fortificação utilizadas no ensaio da carpa melhoraram substancialmente os teores de EPA+DHA (aumento >100 %), assim como, a razão PUFA ω 3:PUFA ω 6. Já na dourada, o efeito da fortificação não foi tão notório (aumento <30 %).

O tratamento térmico induziu algumas alterações nos teores de ácidos gordos das duas espécies, decorrentes da perda de humidade (com conseqüente aumento dos teores de PUFA ω 3), e oxidação lipídica e/ou escorrência/*dripping* de gordura para o exterior (ambos resultando na diminuição dos teores de PUFA ω 3).

Considerando a eficácia da fortificação, estabilidade dos PUFA ω 3 durante o tratamento térmico e os custos de produção associados, as estratégias de fortificação de espécies de água doce como a carpa (em particular aquelas que estimulam uma economia circular), parecem ser bastante promissoras. Por outro lado, a fortificação de espécies marinhas, como a dourada, parece constituir um processo mais complexo que requer estudos e otimizações adicionais.

Palavras-chave: Fortificação, aquacultura, pescado, tratamento térmico, PUFA ω 3, EPA+DHA.

Abstract

Seafood is a balanced food item from the nutritional point of view, containing high levels of PUFA ω 3 and, thus, its regular consumption has been widely recommended, in order to prevent various health hazards.

Considering the currently state of marine resources' overexploitation, alongside with the constant growth of the world population, in the future, it is expected that aquaculture's production will grow, and farmed seafood products will be even more present in human dietary habits. Hence, it is crucial to assure not only the nutritional quality and safety of these products, but also the sustainability of the aquaculture sector. Within this context, the present thesis aimed to evaluate the efficiency of different sustainable fortification strategies to increase PUFA ω 3 (particularly EPA and DHA) in two farmed fish species (common carp, *Cyprinus carpio*, and seabream, *Sparus aurata*), as well as the stability of these compounds when fish fillets are exposed to thermal treatments (cooking and freezing).

Results revealed that the strategies used to fortify carp fillets substantially improved EPA+DHA contents (increases >100 %), as well as the PUFA ω 3:PUFA ω 6 ratio. Yet, in seabream the effects of fortification were not so notorious (increases <30 %).

Thermal treatments induced changes in the fatty acid contents of both species, due to moisture loss (and thus the apparent increase of PUFA ω 3 contents), and lipid oxidation and/or fat dripping to the cooking media (both resulting in decreased PUFA ω 3 contents).

Overall, considering the fortification efficiency, PUFA ω 3 stability during thermal treatments, and the feed production costs involved, the fortification strategies developed for freshwater species like carp (particularly, those that stimulate a circular economy) seemed to be extremely promising. On the other hand, the fortification of marine aquaculture species seemed to be more complex, requiring further studies and optimization.

Keywords: Fortification, aquaculture, seafood, thermal treatment, PUFA ω 3, EPA+DHA.

Índice geral

	Página
Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vii
Índice geral	ix
Índice de figuras	xi
Índice de tabelas	xiii
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos	xv
1. Introdução	1
1.1. Importância da pesca e da aquacultura.....	1
1.2. Recursos de aquacultura mais importantes na Europa e sistemas de cultivo.....	3
1.2.1. Dourada – Uma espécie importante nos países Mediterrânicos.....	5
1.2.1.1. Identificação e morfologia.....	5
1.2.1.2. Distribuição e alimentação	5
1.2.1.3. Ciclo de Vida.....	6
1.2.1.4. Produção de dourada de aquacultura	6
1.2.2. Carpa – Uma espécie importante na Europa central	7
1.2.2.1. Identificação e morfologia.....	7
1.2.2.2. Distribuição e alimentação	8
1.2.2.3. Ciclo de Vida.....	8
1.2.2.4. Produção de carpa de aquacultura	8
1.3. Valor nutricional do pescado	9
1.3.1. Benefícios associados ao consumo de pescado.....	9
1.3.2. Importância dos PUFA ω 3 na saúde humana.....	10
1.4. Desafios futuros para a aquacultura: sustentabilidade e mitigação de carências nutricionais.....	12
1.5. Processamento térmico do pescado e implicações no seu valor nutricional	14
1.6. Objetivos do estudo	16
2. Material e métodos	17
2.1. Preparação de rações experimentais	17
2.2. Desenho experimental	21
2.2.1. Preparação das amostras de filetes de pescado fortificado.....	21
2.2.1.1. Avaliação da eficiência da fortificação do pescado (cru) e do efeito do tratamento culinário na estabilidade dos PUFA ω 3 no pescado fortificado	21
2.2.1.2. Avaliação do efeito da congelação na estabilidade dos PUFA ω 3 no pescado fortificado.....	22
2.2.2. Preparação das amostras para análise	23

Índice geral

	Página
2.3. Metodologias analíticas.....	23
2.3.1. Determinação do perfil de ácidos gordos	23
2.3.2. Determinação da peroxidação lipídica (LPO)	25
2.3.3. Determinação da gordura livre total.....	26
2.4. Análise estatística	27
3. Resultados e discussão	29
3.1. Efeito da fortificação de rações com PUFA ω 3 nos filetes de pescado de aquacultura	29
3.1.1. Carpa	29
3.1.2. Dourada	32
3.2. Efeito da confeção na estabilidade dos PUFA ω 3 nos filetes de pescado fortificado.....	36
3.2.1. Carpa	36
3.2.2. Dourada	39
3.3. Efeito da congelação na estabilidade dos PUFA ω 3 nos filetes de pescado fortificado ...	42
3.3.1. Carpa	42
3.3.2. Dourada	44
4. Conclusão e perspetivas futuras	47
5. Referências bibliográficas	49
Anexo 1 – Perfil de ácidos gordos nas rações para carpa	61
Anexo 2 – Perfil de ácidos gordos nas rações para dourada	62
Anexo 3 – Dados biométricos da carpa	63
Anexo 4 –Dados biométricos da dourada	63
Anexo 5 – Perfil de ácidos gordos nos filetes da carpa crua	64
Anexo 6 – Teor de gordura total nos filetes de carpa e dourada	65
Anexo 7 – Perfil de ácidos gordos nos filetes de dourada crua	66
Anexo 8 – Perfil de ácidos gordos nos filetes de carpa cozinhada.....	67
Anexo 9 – Perfil de ácidos gordos nos filetes de dourada cozinhada	68
Anexo 10 – Perfil de ácidos gordos nos filetes de carpa congelada (ao fim de 24h e 3 meses).....	69
Anexo 11 – Perfil de ácidos gordos nos filetes de dourada congelada (ao fim de 24h e 3 meses).....	70

Índice de figuras

	Página
Figura 1.1 - Consumo <i>per capita</i> de pescado (kg/Capita/Ano) por estado-membro em 2016	1
Figura 1.2 - Evolução da produção de pescado ao nível mundial	2
Figura 1.3 - Principais espécies produzidas em aquacultura na União Europeia	3
Figura 1.4 - Evolução da produção aquícola em Portugal entre 2000-2016	3
Figura 1.5 - Evolução da produção aquícola em Portugal por tipo de sistema: extensivo, intensivo e semi-intensivo	4
Figura 1.6 - Sistemas de cultivo inshore, onshore e offshore	5
Figura 1.7 - Dourada (<i>Sparus aurata</i>)	5
Figura 1.8 - Carpa (<i>Cyprinus carpio</i>)	7
Figura 3.1 - Peroxidação lipídica nos filetes cozinhados da carpa	38
Figura 3.2 - Peroxidação lipídica nos filetes cozinhados da dourada	41
Figura 3.3 - Peroxidação lipídica nos filetes congelados (24h e 3 meses) da carpa sem fortificação (CC_CTR) e com fortificação (CC_RF3)	43
Figura 3.4 - Peroxidação lipídica nos filetes congelados (24h e 3 meses) da dourada sem fortificação (SA_CTR) e com fortificação (SA_RF3)	45

Índice de tabelas

	Página
Tabela 1.1 - Hierarquia taxonómica da dourada	5
Tabela 1.2 - Hierarquia taxonómica da carpa.....	7
Tabela 2.1 - Principais ingredientes, composição química e teores de ácidos gordos nas rações para carpa	19
Tabela 2.2 - Principais ingredientes, composição química e teores de ácidos gordos nas rações para dourada	20
Tabela 3.1 -Teores dos principais ácidos gordos nos filetes de carpa (crua) e percentagens (%) de aumento (↑) ou diminuição (↓) nos teores de ácidos gordos das amostras fortificadas (CC_RF1, CC_RF2 e CC_RF3), relativamente aos valores obtidos no tratamento controlo (CC_CTR).	30
Tabela 3.2 - Teores dos principais ácidos gordos nos filetes de dourada (crua) e percentagens (%) de aumento (↑) ou diminuição (↓) nos teores de ácidos gordos das amostras fortificadas (SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3), relativamente aos valores obtidos no tratamento controlo (SA_CTR).....	33
Tabela 3.3 - Teores dos principais ácidos gordos nos filetes de carpa cozinhados e percentagens (%) de aumento (↑) ou diminuição (↓) nos teores de ácidos gordos após a confeção das amostras controlo (CC_CTR) e fortificadas (CC_RF1, CC_RF2 e CC_RF3), relativamente aos valores obtidos nos filetes crus de cada tratamento, respetivamente.....	37
Tabela 3.4 - Teores dos principais ácidos gordos nos filetes de dourada cozinhados e percentagens (%) de aumento (↑) ou diminuição (↓) nos teores de ácidos gordos após a confeção das amostras controlo (SA_CTR) e fortificadas (SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3), relativamente aos valores obtidos nos filetes crus de cada tratamento, respetivamente.....	40
Tabela 3.5 - Teores dos principais ácidos gordos nos filetes de carpa congelados e percentagens (%) de aumento (↑) ou diminuição (↓) nos teores de ácidos gordos após 3 meses de congelação das amostras controlo (CC_CTR) e fortificada (CC_RF3), relativamente aos valores obtidos após as primeiras 24h de congelação, em cada um dos respetivos tratamentos.....	42
Tabela 3.6 - Teores dos principais ácidos gordos nos filetes de dourada congelados e percentagens (%) de aumento (↑) ou diminuição (↓) nos teores de ácidos gordos após 3 meses de congelação das amostras controlo (SA_CTR) e fortificada (SA_RF3), relativamente aos valores obtidos após as primeiras 24h de congelação, em cada um dos respetivos tratamentos.....	44

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

AA – Ácido araquidónico

ALA – Ácido α -linolénico

CC_CTR – *Cyprinus carpio*- controlo

CC_RF1 – *Cyprinus carpio*- Ração fortificada1

CC_RF2 – *Cyprinus carpio*- Ração fortificada2

CC_RF3 – *Cyprinus carpio*- Ração fortificada3

DHA – Ácido docosahexaenóico

EPA – Ácido eicosapentaenóico

FAO – *Food and Agriculture Organization*

I – Iodo

ISSFAL – *International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids*

LA – Ácido linoleico

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

LPO – Peroxidação lipídica

m/m – Massa/massa

MDA – Malondialdeído

MUFA – Ácidos gordos monoinsaturados

PBS – Phosphate buffered saline Solução de tampão fosfato

PUFA – Ácidos gordos polinsaturados

RF1 – Ração fortificada 1

RF2 – Ração fortificada 2

RF3 - Ração fortificada 3

SA_CTR – *Sparus aurata*- Ccontrolo

SA_RF1 – *Sparus aurata*- Ração fortificada1

SA_RF2– *Sparus aurata*- Ração fortificada 2

SA_RF3 – *Sparus aurata*- Ração fortificada 3

SDS – Solução de dodecil sulfato de sódio

Se – Selênio

SFA – Ácidos gordos saturados

TBA – Solução de ácido tiobarbitúrico

TCA – Solução de ácido tricloroacético

UE – União Europeia

v/v – Volume/volume

Vitamina B9 – Ácido fólico

ω 3 – Ómega-3

ω 6 – Ómega-6

1. Introdução

1.1. Importância da pesca e da aquacultura

O pescado (incluindo peixe, crustáceos, moluscos e algas) é definido como todo o recurso proveniente dos oceanos ou águas interiores (doces ou salobras), que serve de alimento ao Homem e animais (Sidónio et al., 2012; Soares & Gonçalves, 2012).

Nos últimos anos, a procura global de pescado tem vindo a crescer rapidamente, devido não só ao aumento da população mundial, como também ao interesse em possuir uma alimentação mais nutritiva e saudável (Sidónio et al., 2012; FAO, 2016). Desde 1960 que o consumo *per capita* de pescado tem aumentado, passando de cerca de 10 kg para 20 kg em 2014 (FAO, 2016; Ribeiro et al., 2019).

Portugal possui uma grande tradição ao nível do setor da pesca devido à sua localização privilegiada e dimensão marítima (Ferraz de Arruada et al., 2011). Desde sempre que o país confia na pesca como um dos principais meios de subsistência, tanto que muitas comunidades costeiras fazem desta atividade a sua principal fonte de rendimento (Gameiro, 2018). Por conseguinte, Portugal é o país da União Europeia que consome mais pescado, tendo apresentado um consumo médio *per capita* de 57,0 kg/ano em 2016, colocando-o em terceiro lugar na lista de maiores consumidores mundiais, logo depois do Japão e da Islândia (Figura 1.1) (PROMAR, 2015; EUMOFA, 2018).

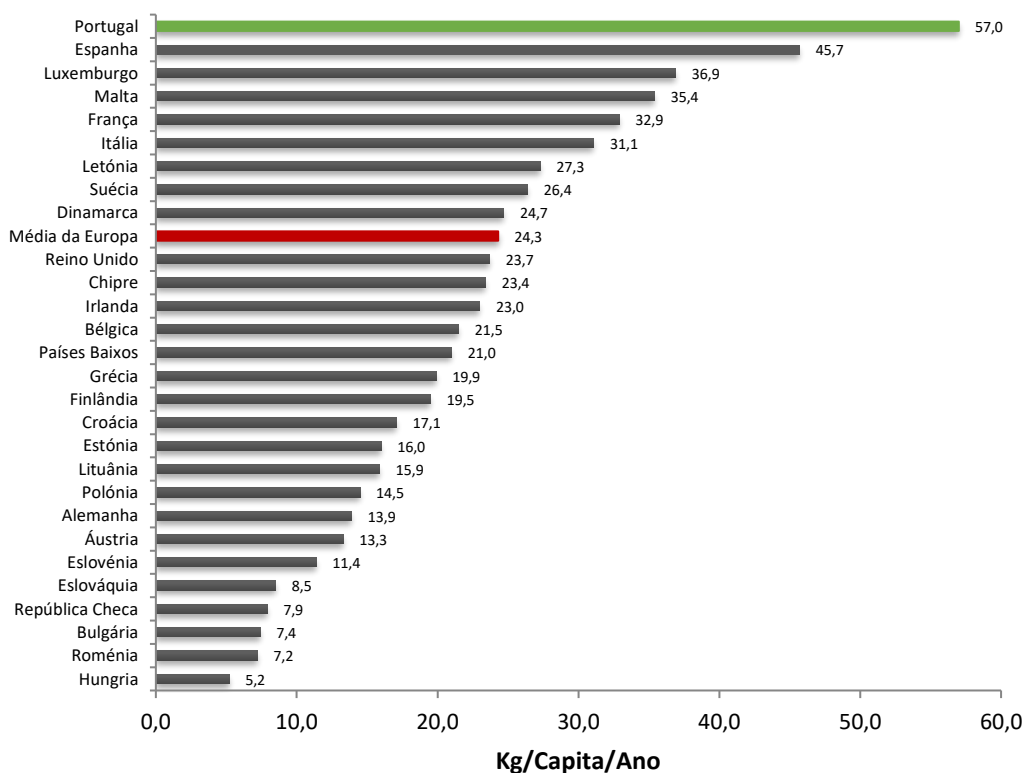


Figura 1.1 - Consumo *per capita* de pescado (kg/Capita/Ano) por estado-membro em 2016 (equivalente a peso fresco) (Fonte: adaptado de EUMOFA, 2018).

Comparando o consumo médio *per capita* de Portugal (57,0 kg/ano) com o da produção nacional que se encontra na ordem dos 23,0 kg/ano, é possível perceber que a produção nacional é insuficiente face às necessidades de consumo dos portugueses, sendo muitas vezes necessário importar produtos de pesca de outros países, como por exemplo da Espanha e dos Países Nórdicos Europeus (Ferraz de Arruda et al., 2011; PROMAR, 2015). Para além disso, a insuficiência de recursos provenientes da pesca leva, muitas vezes, a um aumento das capturas de pescado selvagem, aumentando assim a ameaça de sobreexploração dos stocks de várias espécies, como é o caso do lagostim (*Astacidea latreille*) e da pescada (*Merluccius merluccius*), espécies sobreexploradas em Portugal (Pinto, 2015). A sardinha (*Sardina pilchardus*) e o atum-patudo (*Thunnus obesus*) constituem outros dois exemplos de espécies marinhas comerciais cujos stocks nacionais se encontram atualmente ameaçados tendo em conta o decréscimo constante quer da biomassa quer do recrutamento destas espécies nos últimos anos (IPMA, 2018). Apesar da sobreexploração dos stocks de várias espécies marinhas a que assistimos atualmente, a produção global de pescado tem crescido de forma consistente (à taxa média anual de 3,2 %), em grande parte, devido ao aumento da contribuição da aquacultura (EUMOFA, 2018; FAO, 2018). De fato, a aquacultura é o setor de produção animal que tem crescido mais rapidamente nos últimos anos (Figura 1.2) (EUMOFA, 2018; FAO, 2018). Esse crescimento está fortemente relacionado com uma maior aposta no desenvolvimento de novas tecnologias de produção, utilizando diversas ferramentas inovadoras das áreas das engenharias genética e alimentar, e que visam melhorar o sucesso reprodutivo das espécies cultivadas e qualidade das rações fornecidas em aquacultura (Myhr & Dalmo, 2005; Ashour et al., 2019). Estima-se que até 2030 cerca de 63 % da produção total de pescado ao nível mundial seja proveniente da aquacultura (Lauria et al, 2018). Assim, os produtos da aquacultura assumem cada vez mais um papel determinante no desenvolvimento socioeconómico das nações e na alimentação humana, combatendo a fome e malnutrição (Fróis, 2016).

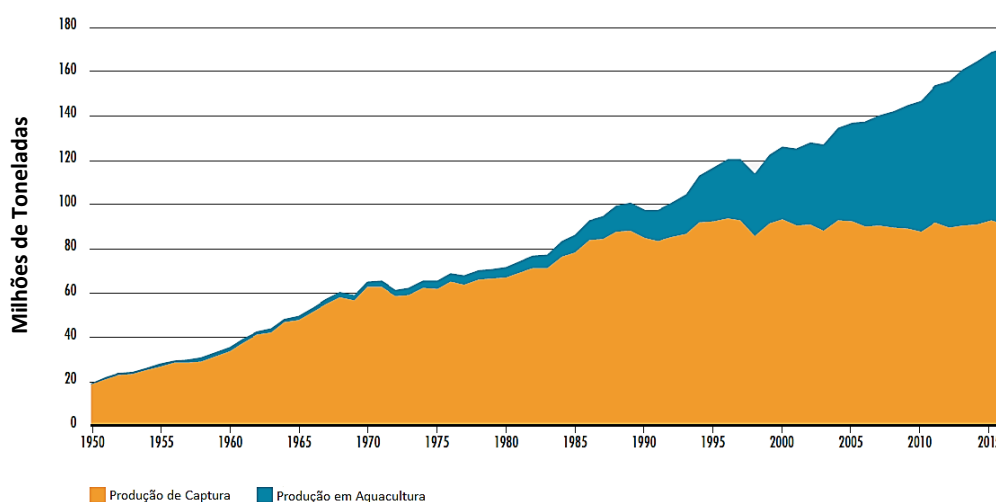


Figura 1.2 – Evolução da produção de pescado ao nível mundial (Fonte: adaptado de FAO, 2018).

1.2. Recursos de aquacultura mais importantes na Europa e sistemas de cultivo

Na Europa, a aquacultura é uma atividade economicamente muito importante, produzindo várias espécies de peixes ósseos, crustáceos e moluscos marinhos ou de água doce. As principais espécies produzidas em aquacultura na União Europeia são o mexilhão (*Mytilus* spp.), truta (*Salmo trutta*), salmão (*Salmo salar*), dourada (*Sparus aurata*), robalo (*Dicentrarchus labrax*), ostras (*Ostreidae*), carpa (*Cyprinus carpio*), entre outras espécies comerciais (Figura 1.3) (DGRM, 2015; EUMOFA, 2018).

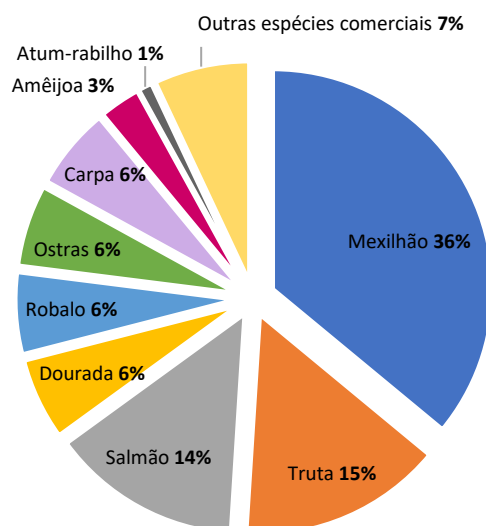


Figura 1.3 – Principais espécies produzidas em aquacultura na União Europeia (Fonte: adaptado de EUMOFA, 2018).

Em Portugal, as principais espécies marinhas produzidas em aquacultura são moluscos como por exemplo amêijoas boas (*Ruditapes decussatus*), mexilhão (*Mytilus* spp.), ostras portuguesa (*Crassostrea angulata*) e japonesa (*Crassostrea gigas*) e peixes marinhos como dourada (*Sparus aurata*), robalo (*Dicentrarchus labrax*) e pregado (*Psetta maxima*) (Figura 1.4) (DGRM, 2015; REA, 2018; DGRM, 2019).

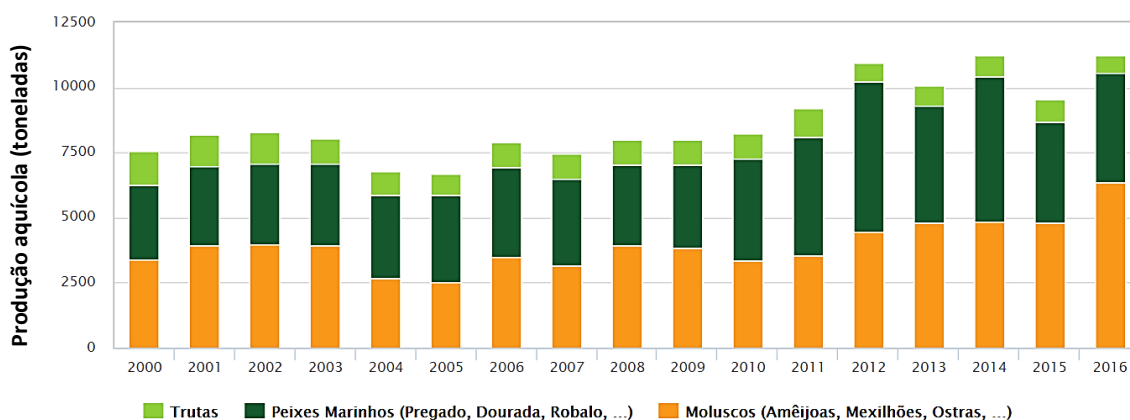


Figura 1.4 – Evolução da produção aquícola em Portugal entre 2000-2016 (Fonte: adaptado de REA, 2018).

A prática de aquacultura pode ser feita consoante três sistemas de produção: extensivo, semi-intensivo e intensivo (Figura 1.5) (Bernardo, 2017; REA, 2018). O sistema extensivo é o mais rudimentar e aproveita as condições naturais disponíveis do meio, sendo a produção das espécies feita com recurso a alimentação natural (Bernardo, 2017; REA, 2018). Neste sistema, a espécie a cultivar pode entrar de forma passiva nos tanques ou recintos de produção ou, caso tal não aconteça, é necessário capturar alguns exemplares em fase larvar ou juvenil para as unidades de reprodução (exemplo: bivalves em Portugal) (Bernardo, 2017; REA, 2018). O sistema semi-intensivo consiste numa produção planificada em tanques de terra batida implantados em locais adequados (Bernardo, 2017; REA, 2018). Apesar de ainda existir um baixo controlo na produção, a tecnologia utilizada no sistema semi-intensivo é mais evoluída, recorrendo-se muitas vezes à reprodução artificial para a obtenção de ovos e juvenis (Bernardo, 2017; REA, 2018). A alimentação é feita com o alimento disponível no meio, mas complementada com rações e/ou outros suplementos alimentares, uma vez que também é feita a monitorização da fase da engorda, de forma a otimizar o crescimento das espécies (Bernardo, 2017; REA, 2018). Por último, o sistema intensivo consiste na utilização de elevadas quantidades de peixe em tanques sintéticos feitos de fibras de vidro ou betão, no qual os parâmetros de produção são constantemente monitorizados (por exemplo parâmetros de reprodução, crescimento e qualidade da água) através de tecnologias e técnicas avançadas (Bernardo, 2017; REA, 2018). No sistema intensivo, a alimentação das espécies é feita exclusivamente através de alimento artificial, preparado especificamente para o estado de desenvolvimento de cada espécie (Bernardo, 2017; REA, 2018). Em Portugal este sistema de produção é apenas usado na produção de peixes planos, tais como o pregado e o linguado (Bernardo, 2017).

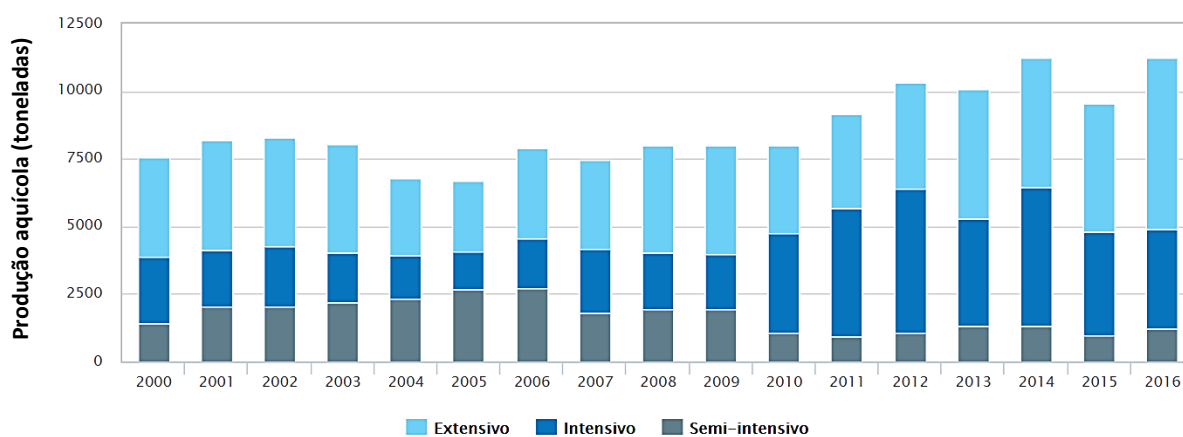


Figura 1.5 – Evolução da produção aquícola em Portugal por tipo de sistema: extensivo, intensivo e semi-intensivo (Fonte: adaptado de REA, 2018).

Relativamente ao local dos sistemas de cultivo, estes poderão localizar-se em terra (*inshore*), nas zonas costeiras (*onshore*) ou em mar aberto (*offshore*) (Figura 1.6) (Teixeira, 2016).



Figura 1.6 – Sistemas de cultivo *inshore* (A), *onshore* (B) e *offshore* (C) (Fonte: adaptado de APA, 2012).

1.2.1. A Dourada – Uma espécie importante nos países Mediterrânicos

1.2.1.1. Identificação e morfologia

Sparus aurata (Linnaeus, 1758), também designada dourada, pertence à família Sparidae (Tabela 1.1). Possui características comuns a todos os perciformes, tais como simetria bilateral e corpo oval comprimido lateralmente (FAO, 2019a). O comprimento máximo que pode atingir é de 70 cm, porém o mais comum é de 35 cm (FAO, 2019a). Apresenta cor cinzenta-metalizada no dorso e branca-prateada no abdômen, bem como uma linha lateral com manchas de cor preta e laranja (FAO, 2019a) (Figura 1.7). A cabeça é curva e apresenta uma faixa dourada. A face é escamosa, no entanto, o preopérculo apresenta-se sem escamas (Lopes, 2005). A boca possui 4 a 6 dentes caninos na parte anterior dos maxilares e 2 a 4 fiadas de dentes na parte lateral (FAO, 2019a).



Figura 1.7 – Dourada (*Sparus aurata*) (FAO, 2019a).

Tabela 1.1 – Hierarquia taxonômica da dourada (Fonte: adaptado de WoRMS, 2019).

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Superfilo	Vertebrata
Classe	Actinopterygii
Ordem	Perciformes
Família	Sparidae
Gênero	<i>Sparus</i>
Espécie	<i>Sparus aurata</i>

1.2.1.2. Distribuição e alimentação

A dourada habita zonas costeiras (de água salgada ou salobra), encontrando-se, geralmente, à profundidade média de 30 metros (os adultos podem, no entanto, percorrer até cerca de 150

metros de profundidade), nomeadamente em tapetes de ervas marinhas e fundos arenosos (FAO, 2019a). É uma espécie essencialmente carnívora (alimenta-se de pequenos peixes, crustáceos e bivalves), sedentária e geralmente solitária, podendo formar pequenos cardumes (FAO, 2019a). A distribuição geográfica da dourada estende-se pelo Oceano Atlântico Este, desde as ilhas Britânicas até ao arquipélago de Cabo Verde, incluindo as Canárias (FAO, 2019a). Pode ocorrer também em todo o mar Mediterrâneo e no mar Negro, ainda que seja menos abundante neste último (FAO, 2019a). Em Portugal ocorre apenas em território continental (Fishbase, 2019).

1.2.1.3. Ciclo de vida

A dourada é uma espécie hermafrodita protândrica, isto é, os machos alternam para fêmeas por volta dos 3 anos de idade, atingindo a maturidade sexual primeiro como machos (durante o primeiro ou segundo ano de idade) e depois como fêmeas (após o segundo ou terceiro ano de idade) (FAO, 2019a). A desova ocorre de forma sequencial, geralmente entre outubro e dezembro. A incubação dura cerca de 2 dias, e os estádios de vida larvares desenvolvem-se ao longo de cerca de 50 dias (FAO, 2019a). O tamanho do ovo de dourada pode variar entre 0,9 e 1,1 mm, ao passo que o comprimento das larvas à eclosão é de cerca de 3,0 mm (Fishbase, 2019). Os ovos são plânticos e as larvas são pelágicas durante cerca de 2 meses. Os juvenis possuem um comportamento essencialmente bentónico, podendo encontrar-se junto das praias e em lagoas costeiras (permanecem nestes locais durante os 3 primeiros anos de vida) (FAO, 2019a). No inverno os adultos abandonam estas zonas, migrando para zonas mais afastadas da costa, deslocação essa possivelmente relacionada com os eventos reprodutivos (Lopes, 2005).

1.2.1.4. Produção de dourada de aquacultura

Apesar da dourada ser cultivada em diversos países da União Europeia (UE), é na região Mediterrânica que esta espécie é mais produzida, sendo a Grécia o maior produtor, seguida da Espanha e Itália (Sousa, 2008). Segundo a FAO (2019b), em 2017 a Europa produziu cerca de 92.999 toneladas de dourada, das quais 1.200 toneladas foram produzidas em Portugal.

A dourada pode ser produzida usando diversos sistemas, desde policultura extensiva (por exemplo, na Itália), produção semi-intensiva em tanques de terra (Portugal e Sul de Espanha), a sistemas intensivos *inshore*, *onshore* (Grécia e Turquia) e *offshore* (Chipre, Itália e Espanha) (Barbeiro, 2015). O fato de a dourada ser uma espécie hermafrodita obriga a que exista uma gestão adequada dos reprodutores. Os indivíduos adultos são estimulados para a reprodução através do controlo do fotoperíodo (fotomanipulação) e da temperatura. Os ovos das fêmeas que flutuam à superfície da água são fecundados pelo esperma do macho e, uma vez fecundados, os ovos são recolhidos e introduzidos em tanques de incubação, nos quais eclodem durante as 48 h seguintes. As larvas começam a alimentar-se sozinhas três ou quatro dias após a sua eclosão, aquando da

total absorção do saco vitelino, começando por consumir fitoplâncton e zooplâncton, artémia e, por último, rações inertes de alto teor proteico (CE, 2013). Quando produzida em sistemas extensivos, a dourada atinge o primeiro tamanho comercial (350 g) ao fim de 20 meses de cultivo, ao passo que nos sistemas intensivos o tamanho mínimo comercial é atingido geralmente ao fim de um ano (FAO, 2019c).

1.2.2. Carpa – Uma espécie importante na Europa central

1.2.2.1. Identificação e morfologia

Cyprinus carpio (Linnaeus, 1758), também conhecida como carpa comum, pertence à família Cyprinidae (Tabela 1.2) e é nativa da Ásia. Só na idade média começou a ser produzida na Europa Central e Ocidental (Peres,1991). A carpa apresenta corpo alongado coberto por escamas e uma cabeça achatada lateralmente (Figura 1.8). Possui uma boca relativamente grande, com lábios grossos e dois pares de barbilhos (Peres,1991; FAO, 2019d). As suas



escamas são grandes e de aspeto metálico, distribuindo-se ao longo das regiões ventral e dorsal, bem como, sobre os flancos e junto às barbatanas. A carpa comum possui uma barbatana dorsal longa com três a quatro raios simples, o último dos quais é ósseo (Peres,1991; FAO, 2019d). A barbatana anal tem uma base curta suportada por dois a três raios simples, sendo o último denticulado no bordo posterior. A barbatana caudal é grande e apresenta os lóbulos arredondados. A coloração da carpa pode variar de acordo com as condições ambientais em que se encontra, sendo geralmente verde acastanhada no dorso e branco-amarelada no ventre (Peres,1991; FAO, 2019d).

Figura 1.8 – Carpa (*Cyprinus carpio*) (FAO, 2019d).

Tabela 1.2 – Hierarquia taxonómica da carpa (Fonte: adaptado de WoRMS, 2019).

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Superfilo	Vertebrata
Classe	Actinopterygii
Ordem	Cypriniformes
Família	Cyprinidae
Género	<i>Cyprinus</i>
Espécie	<i>Cyprinus carpio</i>

1.2.2.2. Distribuição e alimentação

A carpa é uma espécie de água doce, originária da Europa Oriental e Ásia Ocidental, que foi introduzida na Europa Ocidental nos séculos XVI e XVII. Em Portugal ocorre em quase todas as bacias hidrográficas, à exceção das que se situam mais a norte (acima da região do Douro (Geraldes, 1999). Trata-se de uma espécie bentónica, preferindo ambientes lênticos ou com correntes fracas, e com grande densidade de vegetação. A carpa é uma espécie omnívora, alimentando-se sobretudo de pequenos crustáceos e peixes, insetos e plantas aquáticas (Geraldes, 1999).

1.2.2.3. Ciclo de vida

Os machos são geralmente mais pequenos que as fêmeas e na época de postura apresentam verrugas nupciais na nuca e nos opérculos, desaparecendo depois da reprodução. Atingem a maturidade sexual entre os 3 e 4 anos de vida, e a reprodução dá-se na primavera (quando a temperatura da água sobe acima de 20 °C), período em que se deslocam para os locais de postura (geralmente, em zonas pouco profundas e com vegetação submersa). As fêmeas podem libertar de forma parcial (isto é, em vários eventos de postura) cerca de 150.000 ovos/kg de massa corporal, ovos esses que estão impregnados de muco viscoso para que se possam prender à vegetação existente no local. A eclosão dos ovos ocorre entre 3 a 15 dias após a postura, dependendo da temperatura da água, e as larvas apresentam nesta fase cerca de 5 a 8 mm de comprimento (Peres, 1991; Geraldes, 1999).

1.2.2.4. Produção de carpa de aquacultura

À escala mundial, a China é responsável pela maior parte da produção de carpas de aquacultura (cerca de 80 % da produção global) seguida da Indonésia e Vietname (CE, 2019). Ao nível da União Europeia, os maiores produtores de carpa são a República Checa, Polónia, Hungria e Alemanha (CE, 2019). Segundo a FAO (2019b), em 2017 a Europa produziu cerca de 164.755 toneladas de carpa, correspondendo a cerca de 2 % da produção mundial.

A produção de carpas é feita principalmente em sistemas extensivos (usando alimentos naturais e/ou suplementos alimentares) ou semi-intensivos (através de alimentação artificial), sendo estes últimos muito comuns na Europa (FAO, 2019e). O crescimento contínuo da carpa ocorre em zonas temperadas, de clima tropical e com uma temperatura de água adequada (entre 18 °C a 20 °C) (FAO, 2019e).

O desenvolvimento do embrião das carpas é feito em cerca de 3 dias a uma temperatura de 20-23 °C, em condições naturais. Após a eclosão das larvas, desenvolve-se a bexiga natatória e

estas começam a nadar horizontalmente e a consumir alimento a partir do meio. Durante cerca de 15 a 30 dias seguintes, os organismos passam por uma série de alterações correspondentes aos diferentes estados larvares, e ao fim de 45 a 85 dias (após eclosão) os organismos atingem o estado de peixe juvenil (alvim). Para que os peixes se desenvolvam até ao estado adulto e atinjam um peso de 1-3 kg são necessários cerca de 120 a 170 dias (FAO, 2019e).

1.3. Valor nutricional do pescado

1.3.1. Benefícios associados ao consumo de pescado

O consumo de pescado tem sido recomendado devido aos seus diversos atributos nutricionais e ao seu papel determinante na promoção do bom funcionamento do organismo e na prevenção de várias doenças, sobretudo do foro cardiovascular e oncológico (Lichtenstein et al., 2006; Afonso, 2009; Sharma & Katz, 2013; Piepoli et al., 2016). O elevado valor nutricional do pescado deve-se, sobretudo, ao facto de este constituir uma fonte muito importante de diversos nutrientes essenciais (proteínas, lípidos, vitaminas e sais minerais) que o organismo, por si só, não é capaz de sintetizar em quantidades suficientes, pelo que a ingestão inadequada dos mesmos promove o aparecimento de diversas doenças (Bandarra et al., 2004; ISSFAL, 2004).

Em geral, o pescado apresenta uma boa digestibilidade quando comparado com a carne, sendo composto por proteínas de elevado valor biológico (Andrade et al., 2009; Matos, 2014). A lisina, leucina, metionina-cistina e triptofano são alguns exemplos de aminoácidos essenciais com teores importantes no pescado e que desempenham um papel crucial em várias atividades metabólicas dos seres vivos, assegurando a manutenção do equilíbrio azotado e o crescimento somático (Bandarra et al., 2004).

O pescado apresenta ácidos gordos saturados (SFA), ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) e ácidos gordos polinsaturados (PUFA), com perfil variável consoante a espécie em questão (Nunes et al., 2011; Núñez et al., 2018). Normalmente, o pescado apresenta um baixo teor de SFA, mas possui elevados teores de PUFA, nomeadamente do tipo ómega-3 (ω 3), cujos benefícios têm sido amplamente descritos na literatura (Kolakowska & Sikorski, 2003; Hosomi et al., 2012; Küllenberg de Gaudry & Massing, 2014; Fabian et al., 2015; Lee et al., 2017). Atendendo aos objetivos específicos da presente tese, nos subcapítulos que se seguem são apresentadas em maior detalhe as propriedades físico-químicas dos PUFA, bem como os aspetos nutricionais e recomendações para ingestão destes compostos, com especial foco nos ácidos gordos eicosapentaenóico (EPA; 20:5 ω 3) e docosahexaenóico (DHA; 22:6 ω 3).

Relativamente às vitaminas que se encontram no pescado, salientam-se as lipossolúveis A e D, importantes coadjuvantes na calcificação óssea, e as hidrossolúveis do complexo B que têm um papel fundamental na digestão e absorção de outros nutrientes, nomeadamente, atuando ao nível do metabolismo dos hidratos de carbono (Sousa, 2008; Afonso, 2009).

Apesar do pescado apresentar teores adequados de vários minerais (por exemplo, cálcio, fósforo, potássio, manganês, entre outros), é importante salientar o fato de este ser também uma excelente fonte de iodo (I) e selênio (Se) cujos teores são geralmente bastante mais baixos noutros tipos de alimentos, como a carne e os vegetais (Ventura et al., 2016). O Se desempenha um papel fundamental no metabolismo, renovação celular, imunidade e fertilidade do ser humano (Rayman, 2000). Por outro lado, o iodo é essencial à síntese de hormonas da tiroide desempenhando, por isso, um papel fundamental no processo de crescimento e desenvolvimento da maioria dos órgãos dos fetos e crianças (Teixeira et al., 2014; Pal et al., 2017). Devido aos teores reduzidos de I e Se na generalidade dos produtos alimentares, sabe-se que atualmente grande parte da população mundial apresenta carências destes dois minerais, o que acarreta várias consequências para a saúde (Ventura et al., 2016). A carência de I representa um problema grave de saúde pública, sendo que mulheres grávidas/lactantes e crianças são os principais grupos de risco (Yarrington & Pearce, 2011; Xu et al., 2015).

1.3.2. Importância dos PUFA ω 3 na saúde humana

Os ácidos gordos podem ser divididos em dois grandes grupos: 1) os essenciais, que o organismo não consegue sintetizar, podendo ser adquiridos exclusivamente através da alimentação; e 2) os não essenciais, que assumem funções energéticas e são sintetizados pelo organismo (Maulvault, 2009).

Os principais ácidos gordos essenciais são o ácido α -linolénico (ALA, 18:3 ω 3) e o ácido linoleico (LA, 18:2 ω 6), a partir dos quais todos os outros ácidos gordos ω 3 (por exemplo, EPA e DHA) e ω 6 (por exemplo, ácido araquidónico, AA, 20:4 ω 6) são sintetizados no organismo, através da ação de enzimas elongases e dessaturases (Huss, 1995; Maulvault, 2009). O organismo, por si só, tem a capacidade de sintetizar alguns ácidos gordos essenciais como o EPA e o DHA, mas apenas em pequenas quantidades, pelo que estes compostos precisam de ser obtidos maioritariamente a partir da alimentação (Covington, 2004).

Em contraste, os SFA são sintetizados no organismo em quantidades suficientes, não sendo necessário obtê-los através da dieta (EFSA, 2017). Como o pescado é naturalmente rico em PUFA essenciais à saúde humana, uma alimentação saudável deverá privilegiar a inclusão destes produtos e, conseqüentemente, reduzir o consumo de carne cujos teores em PUFA de cadeia longa são, regra geral, extremamente baixos, ao passo que os de SFA são bastante mais elevados (Maulvault, 2009).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a ingestão regular de PUFA do tipo ω 3, nomeadamente de EPA e DHA, têm um papel fundamental na prevenção de doenças cardiovasculares, reduzindo os teores de triacilgliceróis e colesterol “mau” (LDL, lipoproteínas de baixa densidade) bem como na taxa de coagulação do sangue, tensão arterial, frequência cardíaca e aterosclerose (Hosomi et al., 2012; Soares & Gonçalves, 2012). Para além disso, alguns estudos

também têm relatado o efeito benéfico destes compostos na prevenção de diversas patologias decorrentes de processos inflamatórios, tais como, asma, artrite, psoríase e, até mesmo, cancro (Suárez et al., 2002; Santos & Bortolozzo, 2008; Fabian et al., 2015; Küllenberg de Gaudry & Massing, 2014; Lee et al., 2017). O DHA tem também um papel muito importante ao nível do desenvolvimento cognitivo, compondo mais de 30 % das estruturas lipídicas da retina e do cérebro (Silva et al., 2007). Por esta razão, a ingestão de níveis adequados de EPA e DHA durante a gravidez é crucial para o desenvolvimento saudável do cérebro do feto, estando também associada à redução do risco de parto prematuro e ao aumento do peso dos bebés à nascença (Ferreira et al., 2013; Lauria et al., 2018).

Com base nos benefícios nutricionais atribuídos aos PUFA ω 3 e com o intuito de prevenir doenças cardiovasculares, a *International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids* (ISSFAL) recomenda a ingestão mínima de 500 mg/dia de EPA+DHA por parte de indivíduos adultos saudáveis (ISSFAL, 2004). No caso de indivíduos com antecedentes de doenças cardiovasculares, a ingestão diária do conjunto destes dois ácidos gordos deverá ser superior, isto é, cerca de 1 g/dia (ISSFAL, 2004). É importante referir também que na prevenção de doenças cardiovasculares é recomendado uma ingestão de SFA que não exceda 10 % da energia total assimilada (EFSA, 2005). Por outro lado, ao nível Europeu, a European Food Safety Authority (EFSA) recomenda para adultos uma dose diária de EPA+DHA mais baixa, isto é, de 250 mg/dia (EFSA, 2017).

Como já foi referido, a ingestão de DHA nas doses adequadas é crucial durante a gestação e amamentação, uma vez que este PUFA está intrinsecamente envolvido no desenvolvimento do sistema nervoso (Ferreira et al., 2013). Assim, a ISSFAL recomenda que as mulheres pertencentes a este grupo mais vulnerável consumam pescado (preferencialmente espécies de peixes gordos) pelo menos duas vezes por semana, assegurando uma ingestão mínima diária de 200 mg de DHA (Koletzko et al., 2007). Já a EFSA recomenda que no caso das mulheres grávidas um acréscimo de 100 a 200 mg/dia de DHA relativamente aos 250 mg/dia de EPA+DHA que recomendados para adultos, (EFSA, 2017).

Apesar de geralmente se dever privilegiar a ingestão de ácidos gordos insaturados (sobretudo, PUFA) em detrimento dos SFA, numa dieta saudável, é também importante que exista um equilíbrio entre a proporção de PUFA do tipo ω 3 e do ω 6, uma vez que as enzimas dessaturases e elongases que participam no metabolismo destes dois grupos de PUFA são as mesmas, pelo que a síntese de EPA e DHA decorrente da dessaturação e alongamento do ALA irá depender dos níveis de LA na dieta (Martin et al., 2006). Assim, apesar dos benefícios atribuídos aos PUFA, o mecanismo de competição resultante da ingestão excessiva de compostos do tipo ω 6 tem um efeito inflamatório no organismo, promovendo o aparecimento de diversas patologias, como a aterosclerose, obesidade e diabetes (Simopoulos, 2016).

Dada a complexidade dos mecanismos biológicos envolvidos, atualmente, não existem ainda dados suficientes que permitam estabelecer um valor ótimo para a proporção entre PUFA ω 3 e ω 6 na dieta (isto é, razão ω 3: ω 6) (EFSA, 2017). Porém, atingir este equilíbrio nutricional pode ser uma tarefa bastante difícil, visto que os PUFA ω 6 predominam na maioria dos alimentos (sobretudo, os

de origem vegetal) (Simopoulos, 2016). Neste sentido, apesar do pescado ser, em regra, uma excelente fonte de PUFA $\omega 3$, podendo contribuir para uma razão $\omega 3:\omega 6$ equilibrada, é importante referir que existem diferenças substanciais entre os teores e perfis de lípidos das espécies de pescado marinhas e os das de água doce, bem como, entre espécies selvagens e de aquacultura (Bandarra et al., 2004; Maulvault, 2009), fato que deverá ser tido em conta na elaboração de uma dieta saudável. As variações interespecíficas decorrem, sobretudo, do tipo de alimento disponível e do habitat onde se inserem os organismos, sendo que, geralmente, as espécies de água doce apresentam teores mais reduzidos de PUFA (com exceção do AA) do que as marinhas, cujos teores de EPA e DHA são tipicamente mais elevados devido à abundância deste tipo de ácidos gordos no ambiente marinho (isto é, no fitoplâncton e zooplâncton) (Maulvault, 2009; Neto, 2018).

Relativamente às diferenças entre espécies selvagens e de aquacultura, os teores de $\omega 6$ também são geralmente mais elevados nos segundos (e, por oposição, os $\omega 3$ apresentam teores mais baixos), devido à inclusão de óleos vegetais (por exemplo colza, soja, linhaça, girassol ou mistura dos mesmos) que substituem parcialmente os óleos de peixe, mais caros e menos sustentáveis (Suárez et al., 2002; Maulvault, 2009; Marques, 2018).

1.4. Desafios futuros para a aquacultura: sustentabilidade e mitigação de carências nutricionais

Estimativas recentes apontam para o fato de, globalmente, uma em cada três pessoas sofrer de malnutrição, muitas vezes associada à fome e/ou acesso limitado a alimentos nutritivos (United Nations, 2018). Noutros casos, a malnutrição prende-se, não com a escassez de alimentos, mas sim com a escolha de alimentos nutricionalmente mais pobres e pouco saudáveis por parte do consumidor, o que se reflete, por vezes, em obesidade e nas diversas patologias que dela derivam (United Nations, 2018). Com o intuito de travar o aumento da fome e malnutrição que se tem observado nos últimos anos à escala mundial, as Nações Unidas lançaram recentemente o desafio de, até 2030, se desenvolverem diversas medidas de mitigação para este problema de saúde pública, tendo por base os princípios da sustentabilidade, segurança alimentar e nutrição, tanto na exploração dos recursos naturais, como nas atividades de produção animal (United Nations, 2018).

Apesar de ser amplamente recomendada a inclusão de pescado numa dieta saudável, a adoção desta recomendação depende muito dos preços que o pescado e os seus produtos derivados atingem no mercado, sendo que nos países mais pobres e/ou com pouca área costeira o acesso aos produtos do mar selvagens é extremamente limitado (ou até mesmo inexistente) (United Nations, 2018). Apesar dos produtos de aquacultura poderem constituir uma alternativa mais saudável que os produtos cárneos e mais acessível que o pescado selvagem, o papel deste setor na sustentabilidade dos oceanos, isto é, como solução para a sobreexploração dos recursos selvagens, tem levantado alguma controvérsia. Tal se deve ao fato de as rações usadas em aquacultura serem produzidas a partir de “farinhas” ricas em proteína e óleos de peixe provenientes de pequenos peixes pelágicos selvagens como o carapau (*Trachurus trachurus*), a cavala (*Scomber*

japonicus) e a sarda (*Scomber scombrus*) (Gamboa-Delgado et al., 2015). Por exemplo, só em 2012 foram utilizados cerca de 21,7 milhões de toneladas de pescado selvagem na produção de rações de aquacultura (Pahlow et al., 2015). Assim, a exploração massiva dos stocks de espécies pelágicas com o intuito de produzir rações para aquacultura levanta também questões ecológicas e de sustentabilidade, contribuindo para o aumento da pressão já exercida pelo setor da pesca sobre os stocks de espécies marinhas selvagens (Pahlow et al., 2015).

Apesar dos vários esforços para otimizar e melhorar a qualidade da produção animal global, atualmente, ainda se assiste a alguma controvérsia (tanto por parte da comunidade científica, como pelo consumidor) no que respeita ao valor nutricional dos produtos de aquacultura. A relutância que existe relativamente ao consumo destes produtos prende-se, não só com os atributos sensoriais (como textura, sabor e cheiro diferentes dos produtos selvagens) percebidos pelo consumidor, mas também com o fato de apresentarem teores de gordura e, sobretudo, de PUFA $\omega 6$ mais elevados do que os produtos selvagens (Bandarra et al., 2004; Maulvault, 2009).

Como já foi referido, uma dieta excessivamente predominada por PUFA $\omega 6$ acarreta alguns perigos para a saúde humana. Tendo em conta o problema ecológico e de sustentabilidade que levanta a utilização de farinhas e óleos de peixes (ricos em $\omega 3$) na preparação de rações, aliado às presentes carências nutricionais que se observam na maioria da população, é imperativo desenvolver estratégias de produção mais sustentáveis, economicamente viáveis (isto é, mantendo custos de produção semelhantes ou inferiores) e que, ao mesmo tempo, confirmem um maior valor nutricional aos produtos de aquacultura. Neste sentido, a utilização de microalgas poderá ser uma boa alternativa uma vez que, enquanto produtores primários, encontram-se na base da cadeia trófica, constituindo uma fonte natural de nutrientes, como é o caso dos PUFA do tipo $\omega 3$ (Guedes & Malcata, 2012).

Os benefícios associados ao uso de microalgas já se encontram bastante estudados no que respeita à produção de bivalves, crustáceos e larvas de peixe (Muller-Feuga, 2000; Becker, 2004). No entanto, o potencial das microalgas como fonte natural de EPA e/ou DHA na fase de engorda dos peixes adultos de aquacultura ainda carece de uma investigação aprofundada. Para além de se tratar de um tópico relativamente recente, parte do desconhecimento relativo à eficácia das microalgas no melhoramento do valor nutricional dos peixes de aquacultura deve-se ao fato da maioria dos estudos conduzidos até agora terem selecionado as espécies de microalgas a usar nos ensaios nutricionais com base, sobretudo, na comodidade (isto é, na facilidade e custos de produção que representam), desconsiderando o fato da composição química das espécies poder variar substancialmente entre grupos taxonómicos (Guedes & Malcata, 2012). Por exemplo, ao passo que as espécies pertencentes ao género *Schizochytrium* apresentam níveis elevados de DHA, os organismos pertencentes à classe *Eustigmatophyceae* (por exemplo, *Nannochloropsis* spp.) são tipicamente mais ricas em AA do que as restantes espécies (Krienitz & Wirth, 2006; Guedes & Malcata, 2012). Por outro lado, espécies *Chlorophyta* (como por exemplo, *Dunaliella* spp. e *Chlorella* spp.) são geralmente pobres em PUFA de cadeia longa, pelo que se considera que apresentam um baixo valor nutricional (Brown et al., 1997). Por último, as microalgas incluídas na classe

Prasinophyceae podem conter teores relativamente altos de PUFA com 20 átomos de carbono (*Tetraselmis* spp.) ou então com 22 átomos de carbono (*Micromonas* spp.), ainda que raramente se observem estes dois tipos de PUFA em simultâneo na mesma espécie (Guedes & Malcata, 2012).

1.5. Processamento térmico do pescado e implicações no seu valor nutricional

O processamento térmico do pescado, através da congelação a baixas temperaturas (geralmente a -20 °C) e/ou a confeção a altas temperaturas (acima de 100 °C) propicia a sua conservação, o que não só aumenta a vida útil dos produtos, como facilita a comercialização, manuseamento e transporte (Torrezan et al., 2013).

A congelação e o armazenamento a baixas temperaturas são procedimentos muito comuns na indústria pesqueira e na aquacultura uma vez que, diminuem a degradação biológica, química e física do pescado e aumentam o “tempo de prateleira” dos produtos comercializados e a comodidade dos consumidores (Dawson et al., 2018). No entanto, durante este processo podem ocorrer diversas alterações sensoriais (por exemplo, ao nível da cor, textura e palatabilidade) (Dawson et al., 2018), estruturais (por exemplo, formação de cristais de gelo) (Ottestad et al., 2011) e bioquímicas (como peroxidação lipídica e alteração da atividade enzimática) (Eymard et al., 2005; Strasburg et al., 2008).

O tempo de armazenamento e temperatura de congelação são as duas variáveis que mais influenciam a qualidade e “tempo de prateleira” do pescado (Whittle, 1995). Em geral, quanto maior é o tempo de armazenamento e menor é a temperatura de congelação, maiores são as alterações resultantes das reações de oxidação e hidrólise que afetam, sobretudo, as frações proteica e lipídica dos alimentos (Badii & Howell, 2001; Zymon et al., 2007).

A congelação e armazenamento a baixas temperaturas promove desnaturação proteica que se poderá refletir em alterações na textura e sabor do pescado, bem como, nos teores, composição e atividade biológica das proteínas que o constituem (Jiang & Lee, 1985; Dawson et al., 2018).

Como o pescado é naturalmente rico em PUFA de cadeia longa, é particularmente suscetível à oxidação que resulta não só na conversão destes em SFA (que possuem menor valor nutricional que os PUFA) mas também na diminuição das suas qualidades organoléticas, por vezes, conferindo-lhe um sabor a “ranço” e alterações substanciais de cor (Aydin & Gokoglu, 2014). Assim, a peroxidação lipídica constitui um fator determinante no tempo de vida útil do pescado, uma vez que afeta negativamente as suas características sensoriais e nutricionais (Dawson et al., 2018).

Relativamente à exposição a temperaturas elevadas, o pescado pode ser confeccionado com base em diferentes procedimentos sendo que, de entre as principais formas de apresentação destacam-se o pescado cozido em água ou vapor, grelhado, assado e frito. Apesar da maioria dos estudos nutricionais se focarem na avaliação das características do pescado a cru, sabe-se atualmente que os tratamentos culinários são responsáveis por promoverem diversas alterações não só ao nível sensorial, mas também físico-químico, alterando significativamente o valor

nutricional do pescado (Nomikos et al., 2006; Maulvault et al., 2011; Maulvault et al., 2012). Assim, tendo em conta que, na cultura ocidental, a generalidade dos alimentos é consumida após confeção, torna-se crucial avaliar o efeito dos tratamentos culinários para melhor estimar o valor nutricional do pescado.

Durante a confeção, a exposição a temperaturas elevadas resulta, geralmente, na perda de água que, por sua vez, se reflete num aumento aparente dos teores dos restantes constituintes do pescado, isto é, de proteína, gordura, vitaminas e sais minerais (Maulvault et al., 2011; Maulvault et al., 2012). A proteína e gordura são os constituintes mais afetados pela exposição a temperaturas elevadas, resultando em alterações nos teores totais, perfis e atividade biológica dos aminoácidos e ácidos gordos que constituem o pescado (Nomikos et al., 2006; Maulvault et al., 2011; Maulvault et al., 2012). Apesar de, regra geral, se registar um aumento do teor de proteína após a confeção do pescado (decorrente da perda de água), é comum ocorrer a perda de algumas proteínas sarcoplasmáticas e do tecido conjuntivo para o exterior, resultando muitas vezes na gelificação do meio (p.e. água) usado na confeção (Lin et al., 2009).

Relativamente aos efeitos na fração lipídica, uma vez que, tal como referido anteriormente, os PUFA de cadeia longa (p.e. EPA e o DHA) são particularmente sensíveis à oxidação, os teores deste tipo de ácidos gordos no pescado tendem a diminuir com a confeção, ainda que se possam observar variações de acordo com o tipo de procedimento culinário aplicado e espécie em causa (Gladyshev et al., 2006; Maulvault, 2009; Maulvault et al., 2011; Maulvault et al., 2012).

Neste sentido, a cozedura, em água ou a vapor, tem sido considerada a forma mais saudável de confeccionar o pescado, uma vez que a perda de água induzida por este tratamento é menor (comparativamente à fritura ou grelhagem) e que, muitas vezes, os teores de PUFA do tipo ω 3 se mantêm, preservando-se, assim, o alto valor nutricional do pescado (Gladyshev et al., 2006; Maulvault, 2009).

1.6. Objetivos do estudo

Atualmente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que mais de dois bilhões de pessoas sofram de malnutrição, que pode estar associada à fome, ao acesso limitado a determinados alimentos nutritivos ou ainda a uma escolha errada de alimentos por parte dos consumidores (United Nations, 2018). De forma a evitar possíveis patologias, é necessário ter uma alimentação correta, com a quantidade de nutrientes necessários para manter uma vida saudável e ativa (United Nations, 2018). O pescado é um alimento nutricionalmente equilibrado e muito rico em ácidos gordos essenciais do tipo ω_3 , pelo que o seu consumo regular apresenta muitos benefícios para a saúde humana, nomeadamente, prevenindo o aparecimento de doenças cardiovasculares, neurológicas e oncológicas (Lichtenstein et al., 2006; Afonso, 2009; Sharma & Katz, 2013; Piepoli et al., 2016).

Tendo em conta o atual estado de sobreexploração de muitos stocks selvagens aliado ao constante crescimento da população mundial, espera-se que nos próximos anos o pescado de aquacultura venha a ter cada vez mais peso, quer do ponto de vista comercial, quer ao nível da alimentação humana. Neste sentido, é crucial garantir não só a qualidade nutricional e segurança do pescado de aquacultura, mas também que a sua produção seja feita de modo sustentável. Desta forma, a presente tese de mestrado teve por base dois objetivos:

- 1) Avaliar o efeito de diferentes rações de aquacultura para produzir carpa e dourada de modo natural e sustentável com ácidos gordos ω_3 (em particular, EPA e DHA);
- 2) Avaliar o efeito do tratamento térmico (cozedura a vapor e congelação) na estabilidade dos ácidos gordos ω_3 no pescado fortificado.

2. Material e métodos

2.1. Preparação de rações experimentais

Os ensaios de fortificação da dourada e carpa de aquacultura descritos na presente tese inseriram-se no âmbito dos objetivos propostos no projeto Europeu H2020 SeafoodTomorrow (referência 773400; www.seafoodtomorrow.eu), tendo sido realizados com o financiamento deste projeto e suporte científico dos parceiros nele envolvidos.

Em colaboração com a empresa de produção de rações de aquacultura SPAROS Lda. (Olhão, Portugal; parceiro do projeto SeafoodTomorrow), desenvolveram-se oito rações experimentais, quatro destas destinadas ao ensaio com dourada (*S. aurata*; 1 ração controlo, SA_CTR, e 3 rações fortificadas, SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3), e quatro para serem utilizadas na experiência com a carpa (*C. carpio*; 1 ração controlo, CC_CTR, e 3 rações fortificadas, CC_RF1, CC_RF2 e CC_RF3).

As rações SA_CTR e CC_CTR foram desenvolvidas mimetizando a composição química e ingredientes geralmente utilizados na produção de rações comerciais de aquacultura, e considerando as necessidades nutricionais das duas espécies alvo neste estudo (para a engorda de peixes de aquacultura no estado adulto; Tabelas 2.1 e 2.2.). A preparação das rações SA_RF1, SA_RF2, SA_RF3, CC_RF1, CC_RF2 e CC_RF3 efetuou-se de modo semelhante (assegurando também os requisitos nutricionais específicos de cada espécie). No entanto, nestes casos, alguns “ingredientes-chave” foram introduzidos, ao passo que os teores de outros foram reduzidos/substituídos, de modo a formular rações que tivessem teores mais elevados de PUFA ω 3 e cuja produção à escala industrial fosse sustentável e economicamente viável. Cada uma das rações fortificadas foi preparada de acordo com diferentes estratégias de formulação/fortificação refletindo, no final, perfis de ácidos gordos (e, naturalmente, teores de PUFA ω 3) e custos de produção distintos (Tabelas 2.1 e 2.2). Assim, para fortificar as rações de carpa, recorreu-se a uma destas duas estratégias:

1 – Introdução de uma microalga rica em DHA, *Schizochytrium* sp. (3,2 % e 1,6 % nas rações CC_RF1 e CC_RF2, respetivamente), que correspondeu a uma alternativa mais cara para os produtores de rações e pescado de aquacultura; ou

2 – Introdução de óleo de peixe feito a partir de subprodutos de salmão (2,1 % na ração CC_RF3), que correspondeu a uma alternativa mais viável economicamente para os produtores de rações e pescado de aquacultura, simultaneamente promovendo a economia circular.

Para além disso, numa tentativa de produção de rações de aquacultura mais sustentáveis, procedeu-se também à redução de 50 % da quantidade de farinha de peixe geralmente utilizada na produção de rações de aquacultura. Esta redução foi então compensada pelo aumento da quantidade de microalgas ricas em PUFA ω 3 em todas as rações fortificadas (isto é, +1 % de *Chlorella* sp. e *Spirulina* sp. do que a quantidade geralmente utilizada na produção de rações de aquacultura). O equilíbrio entre PUFA ω 3 e PUFA ω 6 nas rações fortificadas foi também assegurado

através da redução de farinha de trigo e óleos vegetais (soja, girassol, colza e linhaça) nas rações CC_RF1 (-3,7 %) e CC_RF2 (-1,9 %; Tabelas 2.1 e 2.2).

Relativamente às rações fortificadas para dourada, estas também foram produzidas seguindo abordagens diferentes (Tabelas 2.1 e 2.2):

1 – Introdução de uma microalga rica em DHA, *Schizochytrium* sp. para aumentar os teores de PUFA ω 3 (+3,2 % em todas as rações fortificadas);

2 – Redução da quantidade de farinhas (-30 % em todas as rações) e óleo de peixe (-20 % na ração SA_RF1 e -5,5 % nas rações SA_RF2 e SA_RF3) relativamente às quantidades geralmente utilizadas na produção de rações de aquacultura, de modo a tornar a produção destas mais sustentável, sendo esta redução compensada pelo aumento da quantidade de microalgas *Chlorella* sp. e *Tetraselmis* sp. (+30 % em todas as rações);

3 - Redução de farinha de trigo e óleos vegetais (soja, girassol, colza e linhaça; -12,4 %, -16,6 % e -18,2 % nas rações SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3, respetivamente) para assegurar o equilíbrio entre PUFA ω 3 e PUFA ω 6 nas rações fortificadas.

Como se pode observar nas Tabelas 2.1. e 2.2. (e no Anexo 1 e 2), as 4 rações experimentais desenvolvidas para cada uma das espécies em estudo apresentaram perfis de ácidos gordos diferentes. Nas rações para carpa, a CC_RF1 foi aquela que apresentou teores mais elevados de PUFA ω 3 e EPA+DHA, seguida da ração CC_RF2. Nas rações para dourada, apesar da SA_RF1 apresentar teores mais elevados de PUFA ω 3, os teores de EPA+DHA nesta ração foram semelhantes aos da SA_RF3 (sendo ligeiramente mais elevados do que os da SA_RF2).

Considerando que as diferentes abordagens para a fortificação das rações foram bem sucedidas, apesar das diferenças entre elas (isto é, todas as rações fortificadas apresentaram teores mais elevados de PUFA ω 3 e EPA+DHA), e atendendo aos custos associados à produção de cada ração fortificada, considerou-se que as rações CC_RF3 (para a carpa) e SA_RF3 (para a dourada) representavam neste estudo as alternativas mais viáveis do ponto de vista industrial (estima-se em menor investimento por parte dos aquacultores). Por outro lado, tendo em conta que a produção das rações CC_RF1 e SA_RF1 à escala industrial implicava um investimento maior, considerou-se que estas teriam menor viabilidade comercial, ainda que apresentassem níveis mais elevados de PUFA ω 3, nomeadamente de EPA+DHA.

Tabela 2.1 – Principais ingredientes, composição química e teores de ácidos gordos nas rações para carpa (dados fornecidos pela empresa de produção de rações de aquacultura SPAROS Lda.). **Abreviaturas:** CC– *Cyprinus carpio*; CTR – Controlo; RF1 – Ração fortificada 1; RF 2- Ração fortificada 2; RF3 – Ração fortificada 3; Σ SFA – Somatório dos ácidos gordos saturados; Σ MUFA– Somatório dos ácidos gordos monoinsaturados; Σ PUFA – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados; Σ PUFA ω 3 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados ω 3; Σ PUFA ω 6 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados ω 6; DHA – Ácido gordo docosahexaenóico; EPA – Ácido gordo eicosapentaenóico.

		CC_CTR	CC_RF1	CC_RF2	CC_RF3
Principais ingredientes (%)	Microalga rica em DHA (<i>Schizochytrium</i> sp.)	-	+3,2 % do que CC_CTR	+1,6 % do que CC_CTR	-
	Microalgas ricas em ácidos gordos PUFA ω 3 (<i>Chlorella</i> sp. e <i>Spirulina</i> sp.)	-	+1,0 % do que CC_CTR	+1,0 % do que CC_CTR	+1,0 % do que CC_CTR
	Farinha peixe	5,0	-50,0 % do que CC_CTR	-50,0 % do que CC_CTR	-50,0 % do que CC_CTR
	Óleo de salmão (feito a partir de desperdícios)	-	-	-	+2,1 % do que CC_CTR
	Farinha de trigo e óleos vegetais	87,0	-3,7 % do que CC_CTR	-1,9 % do que CC_CTR	Semelhante a CC_CTR
Composição química (%)	Humidade	5,3	Semelhante a CC_CTR	Semelhante a CC_CTR	Semelhante a CC_CTR
	Proteína	4,4	Semelhante a CC_CTR	Semelhante a CC_CTR	Semelhante a CC_CTR
	Gordura	30,2	Semelhante a CC_CTR	Semelhante a CC_CTR	Semelhante a CC_CTR
	Fibra	8,1	Semelhante a CC_CTR	Semelhante a CC_CTR	Semelhante a CC_CTR
	Cinza	2,9	Semelhante a CC_CTR	Semelhante a CC_CTR	Semelhante a CC_CTR
Teores de ácidos gordos (mg/100 g)	Σ SFA	2044,1 \pm 18,3	1862,8 \pm 20,0	3170,3 \pm 42,0	1977,5 \pm 31,6
	Σ MUFA	2831,3 \pm 31,6	2758,0 \pm 18,4	2286,6 \pm 53,7	2731,8 \pm 31,0
	Σ PUFA	2603,3 \pm 13,4	2761,7 \pm 22,3	1864,1 \pm 36,9	2737,1 \pm 68,6
	Σ PUFA ω 3	330,1 \pm 3,1	858,4 \pm 7,2	409,9 \pm 17,2	512,1 \pm 36,0
	Σ PUFA ω 6	2273,2 \pm 10,3	1903,3 \pm 15,1	1454,2 \pm 19,8	2225,1 \pm 32,6
	EPA+DHA	67,0 \pm 1,1	553,1 \pm 2,7	254,0 \pm 12,9	238,0 \pm 3,5

Tabela 2.2 – Principais ingredientes, composição química e teores de ácidos gordos nas rações para dourada (dados fornecidos pela empresa de produção de rações de aquacultura SPAROS Lda.). **Abreviaturas:** SA– *Sparus aurata*; CTR – Controlo; RF1 – Ração fortificada 1; RF 2- Ração fortificada 2; RF3 – Ração fortificada 3; Σ SFA – Somatório dos ácidos gordos saturados; Σ MUFA– Somatório dos ácidos gordos monoinsaturados, Σ PUFA – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados, Σ PUFA ω 3 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados ω 3, Σ PUFA ω 6 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados ω 6, DHA – Ácido gordo docosahexaenóico, EPA – Ácido gordo eicosapentaenóico.

		SA_CTR	SA_RF1	SA_RF2	SA_RF3
Principais ingredientes (%)	Microalga rica em DHA (<i>Schizochytrium</i> sp.)	-	+3,2 % do que SA_CTR	+3,2 % do que SA_CTR	+3,2 % do que SA_CTR
	Microalgas ricas em ácidos gordos PUFA ω 3 (<i>Chlorella</i> sp. e <i>Tetraselmis</i> sp.)	-	+30,0 % do que SA_CTR	+30,0 % do que SA_CTR	+30,0 % do que SA_CTR
	Farinha peixe	15,0 %	-30,0 % do que SA_CTR	-30,0 % do que SA_CTR	-30,0 % do que SA_CTR
	Óleo de peixe	5,5 %	-20,0 % do que SA_CTR	5,5 % (semelhante a SA_CTR)	5,5 % (semelhante a SA_CTR)
	Farinha de trigo e óleos vegetais	26,0 %	-12,4 % do que SA_CTR	-16,6 % do que SA_CTR	-18,2 % do que SA_CTR
Composição química (%)	Humidade	8,0 %	Semelhante a SA_CTR	Semelhante a SA_CTR	Semelhante a SA_CTR
	Proteína	47,4 %	Semelhante a SA_CTR	Semelhante a SA_CTR	Semelhante a SA_CTR
	Gordura	17,5 %	Semelhante a SA_CTR	Semelhante a SA_CTR	Semelhante a SA_CTR
	Fibra	1,5 %	Semelhante a SA_CTR	Semelhante a SA_CTR	Semelhante a SA_CTR
	Cinza	5,2 %	Semelhante a SA_CTR	Semelhante a SA_CTR	Semelhante a SA_CTR
Teores de ácidos gordos (mg/100 g)	Σ SFA	3122,2 \pm 25,6	4066,1 \pm 73,5	5474,1 \pm 20,0	5441,7 \pm 67,6
	Σ MUFA	6100,2 \pm 35,4	5377,6 \pm 41,8	4967,3 \pm 46,9	5123,0 \pm 69,3
	Σ PUFA	6682,2 \pm 60,4	6554,1 \pm 91,5	5369,9 \pm 56,6	5433,2 \pm 37,5
	Σ PUFA ω 3	2725,5 \pm 19,8	2700,4 \pm 15,1	2313,7 \pm 15,9	2376,3 \pm 29,4
	Σ PUFA ω 6	3956,7 \pm 40,7	3853,8 \pm 76,4	3056,2 \pm 40,7	3056,9 \pm 8,1
	EPA+DHA	1448,1 \pm 18,0	1517,0 \pm 13,0	1460,5 \pm 13,4	1516,6 \pm 27,4

2.2. Desenho experimental

Uma vez preparadas as rações, procedeu-se aos dois ensaios de fortificação das espécies alvo. O ensaio focado na dourada foi realizado nas instalações da Estação Piloto de Piscicultura de Olhão do Instituto Português do Mar e da Atmosfera (EPPO-IPMA, I.P.), e o de fortificação da carpa realizou-se na estação experimental de aquacultura da West Pomeranian University of Technology (ZUT; Nowe Czarnowo, Polónia), ambas as instituições parceiras do projeto H2020 SeafoodTomorrow.

Em ambos os ensaios, realizaram-se quatro tratamentos, nos quais se alimentaram os peixes adultos com as diferentes rações experimentais (uma ração por cada tratamento) durante um período de 10 (dourada) e 15 (carpa) semanas, correspondente à fase final de engorda dos animais de aquacultura antes do abate, vulgarmente designada por “período de afinação do produto”. No final do período de fortificação dos peixes com as respetivas rações experimentais, procedeu-se ao abate dos animais, 120 peixes por espécie, correspondentes a 60 peixes por espécie para o estudo da eficiência da ração e efeito da confeção a vapor (15 peixes por cada um dos 4 tratamentos), e 60 peixes de cada espécie para o estudo do efeito da congelação (30 do tratamento controlo e 30 do tratamento considerado como mais viável economicamente, isto é, CC_RF3 ou SA_RF3). Os animais abatidos foram imediatamente transportados (em ambiente refrigerado; aproximadamente 24 h de transporte) para as instalações do IPMA, I.P. de Algés, nas quais se realizou a preparação das amostras de filetes de pescado fortificado.

2.2.1. Preparação das amostras de filetes de pescado fortificado

2.2.1.1. Avaliação da eficiência da fortificação do pescado (cru) e do efeito do tratamento culinário na estabilidade dos PUFA ω 3 no pescado fortificado

Para avaliar a eficiência do processo de fortificação do pescado, bem como o efeito do tratamento culinário na estabilidade dos PUFA ω 3 do pescado fortificado, utilizaram-se 15 peixes de cada espécie alvo e de cada um dos diferentes tratamentos (dourada, *S. aurata*: SA_CTRL, SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3; e carpa, *C. carpio*: CC_CTRL, CC_RF1, CC_RF2 e CC_RF3). Uma vez no laboratório, todos os peixes foram medidos e pesados (dados biométricos apresentados no Anexo 3 e 4). Seguidamente, os peixes foram eviscerados e filetados, isto é, obtiveram-se 2 filetes por peixe, obtidos a partir da mesma região do peixe e com massa semelhante. Um dos filetes de cada peixe foi reservado para análise em cru (isto é, sem qualquer tipo de processamento) do perfil de ácidos gordos, peroxidação lipídica e teor de gordura. Neste caso, agruparam-se aleatoriamente os filetes de cada tratamento, de modo a obter-se 3 amostras compostas (*pools*) ou replicados (cada um composto por 5 filetes de peixes diferentes) por tratamento. Cada *pool* de filetes foi imediatamente homogeneizada numa máquina trituradora (Grindomix; Restech GM200), tendo-se separado uma porção para posterior análise do perfil de ácidos gordos (~20 g), outra para determinação da peroxidação lipídica (~1 g) e outra para o teor de gordura (~20 g).

O segundo filete de cada peixe foi reservado para se avaliar o efeito do tratamento culinário. Neste caso, os filetes foram cozidos a vapor a 105 °C durante 10 minutos (Rational, Combi-Master CM6, Alemanha). Depois de arrefecidos, agruparam-se aleatoriamente os filetes cozidos de cada tratamento, de modo a obter-se 3 amostras compostas (*pools*) ou replicados (cada um composto por 5 filetes de peixes diferentes) por tratamento. Cada *pool* de filetes foi imediatamente homogeneizada no Grindomix, tendo-se separado uma porção para posterior análise do perfil de ácidos gordos (~20 g), outra para determinação da peroxidação lipídica (~1 g) e outra para o teor de gordura (~20 g).

2.2.1.2. Avaliação do efeito da congelação na estabilidade dos PUFA ω 3 no pescado fortificado

Para avaliar o efeito da congelação ao longo do tempo na estabilidade dos PUFA ω 3 do pescado fortificado, após o período experimental de fortificação descrito no subcapítulo 2.2, recolheram-se 30 peixes do tratamento controlo (CC_CTR para a carpa ou SA_CTR para dourada) e 30 do tratamento fortificado que representava a melhor relação entre a eficiência da fortificação e o custo de produção da ração associado (CC_RF3 para a carpa ou SA_RF3 para a dourada), uma vez que esta ração fortificada representa a alternativa mais viável e interessante para a indústria. Para além disso, no caso da carpa, outro critério de seleção da ração CC_RF3 foi o facto de esta ter sido fortificada com base num subproduto de aquacultura (isto é, óleo de salmão extraído a partir de desperdícios) promovendo, assim, uma economia circular.

Cada peixe foi medido pesado, eviscerado e filetado (dados biométricos apresentados no Anexo 3 e 4). No caso da dourada, em colaboração com a empresa GelPeixe, procedeu-se à congelação rápida dos filetes, por passagem por túnel de ar a -50 °C e, em seguida, por água de vidragem (conforme o procedimento efetuado usualmente pelas empresas que comercializam produtos congelados). Os filetes foram acondicionados em sacos de plástico, e congelados a -20 °C, tendo-se recolhido amostras de filetes dos dois tratamentos estudados (para cada espécie) ao fim de 24 horas de congelação (T1) e de 3 meses de congelação (T2). No caso da carpa, não foi possível utilizar-se as instalações (e protocolos implementados) da GelPeixe no ensaio de estabilidade ao longo da congelação, por se tratar de uma espécie de água doce não comercializada pela empresa. Assim, este ensaio decorreu nas instalações do IPMA, I.P., tendo-se acondicionado os filetes em sacos de plástico, tal como para a dourada. No entanto, para simular a congelação rápida, os filetes foram armazenados a -80 °C por um período de 24 horas e, em seguida, efetuou-se a passagem por água de vidragem. Por fim, os filetes foram armazenados a -20 °C durante diferentes períodos de tempo, recolhendo-se amostras ao fim de 24 horas de congelação (T1) e de 3 meses de congelação (T2). Os filetes de peixe amostrados foram agrupados aleatoriamente de modo a obter-se 3 amostras compostas (*pools*) ou replicados (cada um composto por 5 filetes de peixes diferentes) por espécie, tratamento e ponto de amostragem. Cada *pool* de filetes foi imediatamente homogeneizada numa máquina trituradora (Grindomix), tendo-se separado uma

porção para posterior análise do perfil de ácidos gordos (~20 g), outra para determinação da peroxidação lipídica (~1 g) e outra para teor de gordura (~20 g).

2.2.2. Preparação das amostras para análise

As diferentes porções de amostras (cruas, cozidas e submetidas à congelação; ver subcapítulo 2.2.1.) reservadas para análise do perfil de ácidos gordos foram colocadas em placas de petri e liofilizadas (após congelação a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$), durante 48 h a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 10^{-1} atm (liofilizador Heto PowerDryLL 3000). Após liofilização, as amostras foram armazenadas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até serem analisadas. As porções das amostras reservadas para a determinação da peroxidação lipídica foram colocadas em tubos eppendorf de 2 mL, tendo-se adicionado 1 mL de solução de tampão fosfato contendo 140 mM de NaCl (99,9 %; Merck), 3 mM de KCl (99,9 %; Merck) e 10 mM de KH_2PO_4 (99 %; Merck), com pH ajustado para $7,40 \pm 0,02$ e homogeneizado com um equipamento Ultra-Turrax® (T25 digital, Ika, Alemanha). As amostras foram depois centrifugadas 15 minutos a 10.000 g e $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (centrífuga Kubota Corporation 6800, Japão); e os sobrenadantes foram transferidos para novos tubos de eppendorf. Estes extratos foram congelados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e armazenados nestas condições até serem analisados. As amostras reservadas para a determinação do teor de gordura foram colocadas em frascos de vidro e imediatamente congeladas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, tendo sido mantidas nestas condições até serem analisadas.

2.3. Metodologias analíticas

2.3.1. Determinação do perfil de ácidos gordos

O perfil de ácidos gordos foi determinado de acordo com o método descrito por Lepage e Roy (1986), modificado por Cohen et al. (1988) e respeitando o procedimento técnico em uso na Divisão de Aquacultura e Valorização (DivAV) do IPMA, I.P. Este método consiste na transesterificação dos ácidos gordos em ésteres metílicos (FAME – *Fatty Acid Methyl Esters*) através de catálise ácida.

Material

- ✓ Vórtex (HeiDolph Reax 2000, Alemanha);
- ✓ Banho-maria;
- ✓ Centrífuga (Kubota Corporation 6800, Japão);
- ✓ Pipetas de Pasteur;
- ✓ Algodão cardado e pontas de micropipeta de 5 mL para filtração da solução;
- ✓ Viais de vidro de 1,5 mL (LLG, Alemanha);
- ✓ Cromatógrafo de fase gasosa (Varian, CP-3800, Estados Unidos da América);
- ✓ Balança de precisão (Mettler Toledo, Alemanha);
- ✓ Material de uso corrente em laboratório.

Reagentes

- ✓ n-Heptano (pureza > 99,3 % v/v; Merck);
- ✓ Cloreto de acetilo para síntese (pureza > 98 % v/v; Merck);
- ✓ Metanol (pureza = 99,8 % v/v; Merck);
- ✓ Água ultrapura (sistema Milli-Q Plus Millipore);
- ✓ Sulfato de sódio anidro (pureza = 99,9 % m/m; Panreac).

Preparação da solução de Cloreto de Acetilo: Metanol a 5 % (1:19)

Sendo uma reação exotérmica, esta solução foi preparada na hotte e em tina com gelo. Primeiramente adicionou-se o metanol num copo de precipitação e depois, com uma pipeta de Pasteur, adicionou-se o cloreto de acetilo gota a gota, na proporção de 1:19 (metanol: cloreto de acetilo).

Extração

Pesou-se cerca de 300 mg de cada amostra (previamente liofilizada) para tubos de centrífuga de vidro (15 mL), e adicionou-se 5 mL da solução metanólica de cloreto de acetilo a 5 %. Agitaram-se os tubos no vórtex durante 60 segundos e colocaram-se os tubos em banho-maria a 80 °C por 1 h. Após o banho, adicionou-se a cada tubo, 1 mL de água milli-Q e 2 mL de n-heptano, agitou-se novamente cada tubo no vórtex (60 segundos) e centrifugou-se a 3.000 g durante 5 minutos a 4°C. Após centrifugação, fez-se a recolha da fase orgânica (sobrenadante, onde se encontravam os ésteres metílicos) com a ajuda de pipetas de Pasteur e transferiu-se cada amostra para viais de vidro, filtrando previamente o sobrenadante através de uma coluna de algodão cardado e sulfato de sódio anidro.

Análise cromatográfica

A análise dos ésteres metílicos dos ácidos gordos foi efetuada pela injeção de 2 µL de amostra num cromatógrafo de fase gasosa com detetor de ionização de chama (FID). A separação foi efetuada numa coluna capilar de sílica fundida DB wax (0,25 mm d.i × 30 m × 0,25 µm), utilizando hélio como gás de arraste. Cada corrida (análise cromatográfica de uma amostra) teve a duração de 40 minutos, sendo que, durante esse tempo, a coluna foi aquecida a 180 °C, aumentando cerca de 4 °C durante 25 minutos, até se atingir os 220 °C. Terminada a análise das amostras, obtiveram-se cromatogramas discriminando a percentagem relativa de cada ácido gordo presente na amostra (% AG).

Cada amostra foi analisada em duplicado e a identificação dos diferentes ácidos gordos fez-se por comparação dos tempos de retenção de cada composto identificado nos cromatogramas com os tempos de retenção obtidos no padrão também injetado (PUFA 3 analytical standard from Menhaden Oil, Sigma-Aldrich, Estados Unidos da América). Os valores percentuais obtidos para

cada ácido gordo presente nas amostras analisadas foram, posteriormente, convertidos em valor absoluto ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) com base nas seguintes equações:

$$\text{Factor Correctivo (FC)} = \frac{(0,933 - 0,143)}{\text{Teor de gordura da amostra (g)}}$$

$$\text{Teor de ácido gordo (mg } 100 \text{ g}^{-1}) = \% \text{ ácido gordo} \times \text{FC} \times \text{Teor de gordura} \times 10$$

2.3.2. Determinação da peroxidação lipídica (LPO)

A peroxidação lipídica foi determinada utilizando um protocolo para microplacas de 96 poços adaptado do método de Uchiyama e Mihara (1978) para determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Material

- ✓ Vortex (HeiDolph Reax 2000, Alemanha);
- ✓ Banho-maria;
- ✓ Agulhas de seringa;
- ✓ Balança de precisão (Mettler Toledo, Alemanha);
- ✓ Centrífuga (Eppendorf 5804R, Alemanha);
- ✓ Homogeneizador (Ultra-Turrax T, Alemanha);
- ✓ Micropipetas (2-20 μL e 20-200 μL , Sartorius; 100-1000 μL e 1000-5000 μL , Orange Scientific) e respectivas pontas;
- ✓ Tubos de eppendorf de 2 mL;
- ✓ Microplacas de 96 poços (Elisa-Plate Microlon,96w, Estados Unidos da América);
- ✓ Espectrofotómetro (Thermo Scientific Multiskan GO, Estados Unidos da América);
- ✓ Material de uso corrente em laboratório.

Reagentes

- ✓ Solução padrão de malondialdeído bis (dimetil-acetal) (solução de MDA/TPM, Merck, Estados Unidos da América)
- ✓ Tampão fosfato a 50 Mm (Sigma-Aldrich) a pH 7,0-7,4
- ✓ Solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) a 1 % (98 %, Sigma-Aldrich, Estados Unidos da América);
- ✓ Solução de ácido tricloroacético (TCA) a 20 % (98 %, Merck, Estados Unidos da América);
- ✓ Soluçã de n-butanol:piridina 15:1 v/v (99,8 % butanol e 99 % piridina; Merck, Estados Unidos da América);
- ✓ Água ultrapura (sistema Milli-Q Plus Millipore);
- ✓ Solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) a 8.1 % (98 %; Sigma Aldrich, Alemanha).

Preparação das soluções de reagentes e padrões

Preparou-se uma solução de mistura de reagentes contendo SDS, TCA, TBA e água ultrapura. Para tal, considerou-se que para cada amostra seria necessário adicionar 12,5 µL de SDS, 93,5 µL de TCA, 93,5 µL de TBA e 50,5 µL de água ultrapura. Preparou-se também uma solução de n-butanol: piridina na proporção de 15:1. Para elaborar uma reta de calibração, preparam-se soluções padrão de MDA/TPM diluído em água milli-Q de modo a obter-se diferentes concentrações deste composto (0, 0,001, 0,002, 0,003, 0,004, 0,005, 0,01, 0,02, 0,05, 0,1, 0,2 e 0,3 µM).

Reação

Para cada tubo eppendorf, pipetaram-se 30 µL de solução de tampão fosfato e 20 µL de extrato de amostra (isto é, amostra previamente homogeneizada em solução de tampão fosfato) ou padrão. A seguir juntou-se 250 µL da solução de mistura de SDS + TCA + TBA + água ultrapura e agitou-se cada tubo no vórtex durante cerca de 30 segundos. Após agitação, furaram-se as tampas dos tubos com agulhas e colocaram-se os tubos em banho-maria a 100 °C durante 10 minutos. Retiraram-se os tubos do banho e deixou-se arrefecer alguns minutos em gelo. Uma vez os tubos arrefecidos, juntou-se 62,5 µL de água ultrapura e 312,5 µL de solução de n-butanol: piridina (15:1, v/v, Merck, EUA). Centrifugaram-se as amostras durante 5 minutos a 12.000 g, e no final transferiu-se 150 µL do sobrenadante para cada poço da microplaca. Mediu-se a absorvância das amostras/padrões a um comprimento de onda de 532 nm.

Em cada análise, realizaram-se sempre ensaios brancos (isto é, 50 µL solução de PBS), bem como uma reta de calibração com soluções de MDA/TPM a diferentes concentrações. Todas as amostras foram analisadas em duplicado e os resultados foram apresentados em nmol mg⁻¹ gordura.

2.3.3. Determinação da gordura livre total

O teor de gordura livre total foi determinado de acordo com a norma NP 1972 (1992), recorrendo-se a utilização de um aparelho de *shoxlet*. Este método de quantificação de gordura baseia-se na extração da matéria gorda de uma amostra húmida, efetuando-se várias lavagens sob refluxo com éter etílico. Posteriormente, o solvente é eliminado por evaporação e secagem. Cada amostra foi analisada em triplicado.

Material

- ✓ Aparelho de *shoxlet* (bateria de placas de aquecimento P Seleta, Espanha);
- ✓ Balões volumétricos;
- ✓ Pilão;
- ✓ Exsicador;
- ✓ Estufa elétrica (Universal ULE 500, Espanha);
- ✓ Placa de aquecimento (P selecta, Espanha);

- ✓ Almofariz;
- ✓ Proveta;
- ✓ Funil;
- ✓ Balança de precisão (Mettler Toledo, Alemanha);
- ✓ Papel de filtro.

Reagentes

- ✓ Éter etílico (98 %, Alfa Aesar, Alemanha);
- ✓ Sulfato de sódio anidro (pureza = 99,9 %, Panreac, EUA).

Extração

Para determinar o teor em gordura, pesaram-se 5 g de cada amostra húmida para um almofariz, previamente identificado e tarado, e adicionou-se igual quantidade de sulfato de sódio anidro, triturando e homogeneizando com o auxílio de um pilão. Depois, transferiu-se cada amostra para dois papéis de filtro e fez-se um cartucho bem apertado de forma a envolver todo o material biológico, colocando-se em seguida dentro de tubos extratores. Adicionaram-se 80 mL de éter etílico em balões volumétricos de fundo raso, previamente secos em estufa a 105 °C durante 1h, arrefecidos em exsiccador, pesados e identificados. Montaram-se os tubos que continham os cartuchos juntamente com os balões e fez-se o volume com éter etílico até o cartucho estar completamente submerso neste solvente. Cada conjunto extrator com cartucho + balão foi colocado num aparelho de *soxhlet*, no qual permaneceu em placa de aquecimento durante um período de 7 h. No final deste tempo, extraiu-se o éter por evaporação em placa quente e secaram-se os balões numa estufa a 105 °C durante 30 minutos. Transferiram-se os balões com gordura para um exsiccador onde se deixou arrefecer até à temperatura ambiente e pesou-se registando o valor. Repetiu-se este passo até se atingir peso constante e calculou-se o teor de gordura com base na fórmula:

$$\text{Teor de gordura} = \frac{(\text{massa do balão com gordura (g)} - \text{massa do balão (g)})}{\text{massa da amostra húmida (g)}} \times 100$$

2.4. Análise estatística

Os resultados obtidos foram tratados e analisados estatisticamente utilizando os *software* Excel © e Statística 8.0 ©. Para comparar os teores dos diferentes ácidos gordos bem como o teor de MDA (peroxidação lipídica) entre os diferentes tratamentos estudados nas duas espécies, realizou-se uma análise de variâncias ANOVA de um fator (análise efetuada para cada espécie individualmente). Para tal, inicialmente, verificou-se se os dados obtidos obedeciam aos pressupostos em que se baseia a ANOVA, isto é, a normalidade dos dados (aplicando o teste de Kolmogorov-Smirnov) e a homogeneidade de variâncias (usando o teste de Levene). Sempre que

pelo menos um dos pressupostos não se verificou, procedeu-se à transformação dos dados através dos métodos da logaritmização ou da raiz-quadrada. Após a realização da ANOVA, aplicou-se o teste Tukey que permitiu identificar efetivamente entre quais tratamentos existiam as diferenças significativas. O nível de significância (α) foi estabelecido em 0,05, pelo que se considerou que os tratamentos apresentavam valores significativamente diferentes sempre que o valor de p (*p-value*) calculado a partir do *software* Statistica 8.0 © foi menor que 0,05.

3. Resultados e discussão

3.1. Efeito da fortificação de rações com PUFA ω 3 nos filetes de pescado de aquacultura

3.1.1. Carpa

Os teores de ácidos gordos obtidos nos filetes de carpa crua estão representados na Tabela 3.1 (os valores percentuais de cada ácido gordo detetado nestas amostras também podem ser consultados no Anexo 5).

No tratamento controlo (CC_CTR), o perfil de ácidos gordos da carpa foi predominado pelos MUFA ($1131,2 \pm 32,4$ mg/100 g), seguido dos SFA ($563,2 \pm 27,0$ mg/100 g) e PUFA ($542,9 \pm 10,4$ mg/100 g). Os principais SFA detetados no músculo da carpa foram o ácido palmítico (16:0; $406,1 \pm 25,2$ mg/100 g) e o ácido esteárico (18:0; $81,6 \pm 2,4$ mg/100 g). No grupo dos MUFA, detetaram-se teores elevados de ácidos oleico+vacénico (18:1 ω 7+18:1 ω 9; $938,9 \pm 30,7$ mg/100 g) e de ácido palmitoleico (Σ 16:1, 16:1 ω 7+16:1 ω 9; $144,4 \pm 5,3$ mg/100 g). De entre os PUFA, verificou-se uma predominância dos compostos do tipo ω 6 ($456,2 \pm 12,6$ mg/100 g), isto é, de LA (18:2 ω 6; $350,9 \pm 7,9$ mg/100 g) e de AA (20:4 ω 6; $67,3 \pm 4,4$ mg/100 g), relativamente aos ácidos gordos do tipo ω 3 ($82,1 \pm 2,6$ mg/100 g), tais como o DHA (22:6 ω 3; $38,7 \pm 1,7$ mg/100 g), ALA (18:3 ω 3; $31,2 \pm 1,2$ mg/100 g) e EPA (20:5 ω 3; $5,0 \pm 0,7$ mg/100 g). Este padrão vai de encontro aos resultados obtidos em dois estudos também focados na carpa, que pretenderam avaliar o efeito da sazonalidade no perfil de ácidos gordos no músculo desta espécie, nos quais se observou que os SFA predominantes foram os ácidos palmítico e esteárico, ao passo que os principais MUFA foram os ácidos oleico e palmitoleico (Karaçalı et al., 2011; Bulut et al., 2012). Nestes dois estudos, verificou-se também que os PUFA predominantes eram do tipo ω 6 (isto é, LA e AA), sendo que os principais compostos do tipo ω 3 eram o ALA, EPA e DHA (Karaçalı et al., 2011; Bulut et al., 2012).

À semelhança de outras espécies de pescado de aquacultura, os teores elevados de ácido oleico, LA e ALA no músculo da carpa estão relacionados com o fato das rações fornecidas apresentarem na sua constituição elevadas percentagens de óleos e farinhas de origem vegetal (como por exemplo, de colza, linhaça, girassol e soja; Tabela 2.1) (Suárez et al., 2002; Marques, 2018). Por outro lado, o teor elevado de ácido araquidónico (comparativamente ao que geralmente é encontrado em espécies marinhas, selvagens e de aquacultura, como é o caso da dourada) constitui uma característica típica das espécies de água doce, certamente relacionada com o metabolismo da espécie e tipo de alimentação disponível (Jabeen & Chaudhry, 2011; Simopoulos, 2016; Woodcock et al, 2018).

Tabela 3.1 - Teores dos principais ácidos gordos (mg/100 g; média \pm desvio-padrão; $n = 3$) nos filetes de carpa (crua) e percentagens (%) de aumento (\uparrow) ou diminuição (\downarrow) nos teores de ácidos gordos das amostras fortificadas (CC_RF1, CC_RF2 e CC_RF3), relativamente aos valores obtidos no tratamento controlo (CC_CTR).

Em cada linha (correspondente a cada ácido gordo), letras diferentes representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre tratamentos.

Abreviaturas: ns – Não significativo; 16:0 – Ácido palmítico; 18:0 – Ácido esteárico; Σ SFA – Somatório dos ácidos gordos saturados; Σ 16:1 – Somatório dos ácidos gordos 16:1 ω 9 e 16:1 ω 7; Σ 18:1 - Somatório dos ácidos gordos 18:1 ω 9 e 18:1 ω 7; Σ MUFA – Somatório dos ácidos gordos monoinsaturados; 18:2 ω 6 – Ácido linoleico; 18:3 ω 3 - Ácido α -linolénico; 20:4 ω 6 - Ácido araquidónico; 20:5 ω 3 - Ácido eicosapentaenóico (EPA); 22:6 ω 3 – Ácido docosahexaenóico (DHA); Σ PUFA – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados; Σ PUFA ω 3 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados do tipo ω 3; Σ PUFA ω 6 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados do tipo ω 6.

Ácido gordo	CC_CTR	CC_RF1		CC_RF2		CC_RF3	
	mg/100 g	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)
16:0	406,1 \pm 25,2 ^d	463,9 \pm 6,5 ^c	\uparrow 14,2%	598,0 \pm 4,9 ^b	\uparrow 47,3%	641,8 \pm 11,9 ^a	\uparrow 58,0%
18:0	81,6 \pm 2,4 ^d	100,3 \pm 3,2 ^c	\uparrow 22,9%	129,0 \pm 2,5 ^b	\uparrow 58,1%	129,3 \pm 5,9 ^a	\uparrow 58,4%
Σ SFA	563,2 \pm 27,0^d	689,3 \pm 3,7^c	\uparrow22,4%	866,8 \pm 5,5^b	\uparrow53,9%	908,7 \pm 7,8^a	\uparrow61,3%
Σ 16:1	144,4 \pm 5,3 ^c	156,4 \pm 8,8 ^c	ns	239,2 \pm 11,5 ^a	\uparrow 65,7%	209,5 \pm 21,6 ^b	\uparrow 45,1%
Σ 18:1	938,9 \pm 30,7 ^c	928,8 \pm 36,8 ^c	ns	1438,9 \pm 16,3 ^a	\uparrow 53,3%	1537,4 \pm 75,3 ^b	\uparrow 63,8%
Σ MUFA	1131,2 \pm 32,4^c	1170,1 \pm 17,5^c	ns	1789,5 \pm 35,0^a	\uparrow58,2%	1847,0 \pm 99,8^b	\uparrow63,3%
18:2 ω 6	350,9 \pm 7,9 ^d	435,4 \pm 11,1 ^c	\uparrow 24,1%	574,4 \pm 22,8 ^b	\uparrow 63,7%	629,6 \pm 23,9 ^a	\uparrow 79,4%
18:3 ω 3	31,2 \pm 1,2 ^c	57,4 \pm 2,0 ^b	\uparrow 83,9%	62,8 \pm 2,3 ^b	\uparrow >100,0%	71,8 \pm 2,8 ^a	\uparrow >100,0%
20:4 ω 6	67,3 \pm 4,4 ^a	40,0 \pm 3,3 ^b	\downarrow 40,5%	51,0 \pm 4,6 ^{ab}	ns	73,6 \pm 15,3 ^a	ns
20:5 ω 3	5,0 \pm 0,7 ^d	34,2 \pm 1,7 ^a	\uparrow >100,0%	29,3 \pm 0,7 ^b	\uparrow >100,0%	24,7 \pm 2,0 ^c	\uparrow >100,0%
22:6 ω 3	38,7 \pm 1,7 ^c	166,5 \pm 5,8 ^a	\uparrow >100,0%	126,5 \pm 6,1 ^b	\uparrow >100,0%	125,0 \pm 25,8 ^b	\uparrow >100,0%
Σ PUFA	542,9 \pm 10,4^c	798,9 \pm 16,6^b	\uparrow47,2%	920,1 \pm 25,0^a	\uparrow69,5%	997,4 \pm 81,4^a	\uparrow83,7%
Σ PUFA ω 3	82,1 \pm 2,6 ^b	287,2 \pm 5,6 ^a	\uparrow >100,0%	251,2 \pm 4,7 ^a	\uparrow >100,0%	250,1 \pm 31,6 ^a	\uparrow >100,0%
Σ PUFA ω 6	456,2 \pm 12,6 ^c	503,2 \pm 13,6 ^c	ns	656,4 \pm 26,0 ^b	\uparrow 43,9%	736,1 \pm 49,9 ^a	\uparrow 61,3%
EPA+DHA	43,7 \pm 0,9 ^c	200,6 \pm 5,2 ^a	\uparrow >100,0%	155,8 \pm 6,8 ^b	\uparrow >100,0%	149,7 \pm 27,7 ^b	\uparrow >100,0%

Em geral, a alimentação com três dietas fortificadas (CC_RF1, CC_RF2 e CC_RF3) resultou no aumento significativo ($p < 0,05$) dos teores dos vários ácidos gordos, naturalmente relacionado com o aumento dos teores totais de gordura no músculo dos peixes (Anexo 6). Este aumento dos teores gordura nos filetes fortificados de carpa pode estar relacionado com a incorporação de microalgas ricas em PUFA (*Schizochytrium* sp., *Chlorella* sp. e *Spirulina* sp.), assim como de óleo de salmão (em RF3) na formulação das rações. Assim, verificou-se um aumento significativo dos SFA nos três tratamentos fortificados, relativamente ao tratamento CC_CTRL, provavelmente devido aos teores mais elevados de 18:0 nestas rações, aumento esse que foi mais significativo nas rações CC_RF2 (+53,9%; $p < 0,0001$) e CC_RF3 (+61,3% $p < 0,0001$) do que na ração CC_RF1 (22,4%; $p = 0,005$). Estas diferenças poderão estar relacionadas com a diminuição substancial da quantidade de farinhas e óleos de origem vegetal utilizada na formulação da ração RF1 (isto é, -3,7% do que CC_CTRL; Tabela 2.1), bem como, com os teores de gordura menores encontrados nos filetes de carpa dos tratamentos CC_CTRL (2,6 g/100 g) e CC_RF1 (3,1 g/100 g), relativamente aos de CC_RF2 (4,0 g/100 g) e CC_RF3 (4,2 g/100 g; Anexo 3).

Nos tratamentos CC_RF2 e CC_RF3 os teores de MUFA aumentaram significativamente relativamente ao CC_CTRL (CC_RF2: +58,2% e $p < 0,05$; CC_RF3: +63,3% e $p < 0,05$) devido aos níveis mais elevados de $\Sigma 18:1$ nestas amostras, mas o mesmo não se observou no tratamento CC_RF1, sendo que os teores de $\Sigma 18:1$ obtidos neste tratamento não foram significativamente diferentes dos de CC_CTRL ($p > 0,05$; Tabela 3.1). Mais uma vez, o teor de gordura mais baixo dos filetes dos tratamentos CC_CTRL e CC_RF1 poderão justificar esta ausência de diferenças significativas entre estes dois tratamentos (Anexo 6).

Como seria expectável, todos os tratamentos fortificados revelaram teores mais elevados de PUFA do que o CC_CTRL (+47,2%, +69,5% e +83,7% em CC_RF1, CC_RF2 e CC_RF3, respetivamente; $p < 0,05$), em particular de PUFA $\omega 3$ (aumento $>100\%$ em todos os casos; $p < 0,05$), confirmando a eficiência das três estratégias de fortificação usadas na preparação das diferentes rações (Tabela 2.1). No entanto, os tratamentos fortificados revelaram teores de PUFA $\omega 3$ (particularmente de EPA+DHA) significativamente diferentes entre eles, tendo o tratamento CC_RF1 resultado em teores significativamente mais elevados ($200,6 \pm 5,2$ mg/100 g; $p < 0,05$) do que os outros dois (ambos à volta de 150 mg/100 g; Tabela 3.1), apesar do teor de gordura ter sido inferior nestes filetes (Anexo 6). Isto significa que, apesar das três estratégias de fortificação terem sido bem-sucedidas, a estratégia utilizada na ração CC_RF1 parece ter sido a mais eficiente. A maior eficiência da incorporação de PUFA $\omega 3$ na ração CC_RF1 está fortemente relacionada com dois fatores: 1) neste caso, adicionou-se uma percentagem maior de microalga *Schizochytrium* sp. (rica em DHA; ~3,2 %) do que na ração CC_RF2 (~1,6 %; Tabela 2.1); e 2) na ração CC_RF3, a fortificação em PUFA $\omega 3$ foi feita através da adição de óleo de salmão (para promover a economia circular e baixar o custo de produção da ração), estratégia essa que parece ter sido menos eficiente do que a adição de microalga *Schizochytrium* sp. No estudo feito por Yıldız et al. (2018) em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), os teores de PUFA $\omega 3$ também aumentaram após um período de fortificação com 100 % de óleo de peixe, com a duração de 9 semanas. Gümüş & Aydin (2013)

também obtiveram um padrão semelhante, tendo registado um aumento de 30,15 % em filetes de carpa (*C. carpio*) alimentada com uma ração fortificada com farinha de peixe.

Tal como nos SFA, os tratamentos fortificados CC_RF2 (+53,9 %; $p < 0,05$) e CC_RF3 (+61,3 %; $p < 0,05$) promoveram valores mais elevados de PUFA $\omega 6$ que o tratamento CC_CTR, ao passo que o tratamento CC_RF1 não foi significativamente diferente deste último ($p > 0,05$; Tabela 3.1). Os resultados observados nos tratamentos CC_RF2 e CC_RF3 estão de acordo com os obtidos no estudo feito por Gümüş & Aydın (2013), no qual se verificou um aumento de 53,56 % de PUFA $\omega 6$ nos filetes de carpa fortificada com farelo de soja. Já a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos CC_RF1 e CC_CTR deveu-se, sobretudo, à diminuição do teor de AA em cerca de 40 % ($p < 0,05$) no tratamento CC_RF1, que contrabalançou os teores mais elevados de LA (+24,1 %) e outros PUFA $\omega 6$ nesta ração.

Tendo em conta a competição que ocorre entre as enzimas que participam na síntese dos PUFA $\omega 3$ e dos PUFA $\omega 6$ no corpo humano, a proporção ou razão entre os teores destes dois tipos de compostos nos alimentos e na dieta em geral tem vindo a ser apontada como um critério de qualidade nutricional de extrema importância (Martin et al., 2006; Simopoulos, 2008). Assim, os resultados obtidos neste trabalho permitiram verificar que qualquer uma das estratégias escolhidas para a fortificação dos filetes de carpa melhorou a qualidade nutricional deste produto de aquacultura, uma vez que a razão PUFA $\omega 3$:PUFA $\omega 6$ passou de 0,2 no tratamento não fortificado (CC_CTR) para 0,6 no tratamento CC_RF1 e 0,4 nos tratamentos CC_RF2 e CC_RF3.

3.1.2. Dourada

Os teores de ácidos gordos obtidos nos filetes de dourada crua estão representados na Tabela 3.2 (os valores percentuais de cada ácido gordo detetado nestas amostras também podem ser consultados no Anexo 7).

No tratamento controlo (SA_CTR), o perfil de ácidos gordos da dourada foi predominado pelos MUFA (3276,0 \pm 27,2 mg/100 g), seguido dos PUFA (2373,1 \pm 56,0 mg/100 g) e SFA (1999,0 \pm 36,5 mg/100 g). Embora as espécies de pescado selvagens também possam apresentar teores consideráveis de MUFA, nomeadamente, de ácido oleico, os teores deste tipo de ácidos gordos são geralmente superiores no pescado de aquacultura, uma vez que as rações comerciais utilizadas em aquacultura apresentam quantidades elevadas de farinhas e óleos de origem vegetal (Alasalvar et al., 2002; Busetto et al., 2008), tal como se pode observar na Tabela 2.2.

Os principais SFA detetados no músculo da dourada foram o ácido palmítico (16:0; 1388,7 \pm 28,8 mg/100 g), seguido do ácido esteárico (18:0; 342,7 \pm 13,6 mg/100 g). No grupo dos MUFA, detetaram-se teores elevados de ácidos oleico+vacénico (18:1 ω 7+18:1 ω 9; 2749,4 \pm 27,1 mg/100 g) e de ácido palmitoleico (Σ 16:1; 16:1 ω 7+16:1 ω 9; 338,8 \pm 6,3 mg/100 g). No estudo feito por Nasopoulou et al. (2011), sobre os efeitos do óleo feito a partir da polpa de azeitona no crescimento e perfil de ácidos gordos da dourada também se verificou que os principais SFA eram os ácidos palmítico e esteárico, ao passo que o principal MUFA era o ácido oleico.

Tabela 3.2 - Teores dos principais ácidos gordos (mg/100 g; média \pm desvio-padrão; $n = 3$) nos filetes de dourada (crua) e percentagens (%) de aumento (\uparrow) ou diminuição (\downarrow) nos teores de ácidos gordos das amostras fortificadas (SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3), relativamente aos valores obtidos no tratamento controlo (SA_CTR).

Em cada linha (correspondente a cada ácido gordo), letras diferentes representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre tratamentos.

Abreviaturas: ns – Não significativo; 16:0 – Ácido palmítico; 18:0 – Ácido esteárico; Σ SFA – Somatório dos ácidos gordos saturados; Σ 16:1 – Somatório dos ácidos gordos 16:1 ω 9 e 16:1 ω 7; Σ 18:1 - Somatório dos ácidos gordos 18:1 ω 9 e 18:1 ω 7; Σ MUFA – Somatório dos ácidos gordos monoinsaturados; 18:2 ω 6 – Ácido linoleico; 18:3 ω 3 - Ácido α -linolénico; 20:4 ω 6 -Ácido araquidónico; 20:5 ω 3 - Ácido eicosapentaenóico (EPA); 22:6 ω 3 – Ácido docosahexaenóico (DHA); Σ PUFA – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados; Σ PUFA ω 3 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados do tipo ω 3; Σ PUFA ω 6 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados do tipo ω 6.

Ácido gordo	SA_CTR	SA_RF1		SA_RF2		SA_RF3	
	mg/100 g	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)
16:0	1388,7 \pm 28,8 ^b	1506,2 \pm 93,2 ^b	ns	1631,5 \pm 65,6 ^a	\uparrow 17,5%	1694,7 \pm 57,2 ^a	\uparrow 22,0%
18:0	342,7 \pm 13,6	342,7 \pm 18,0	ns	363,3 \pm 25,4	ns	371,5 \pm 19,7	ns
ΣSFA	1999,0 \pm 36,5^c	2123,5 \pm 103,6^c	ns	2304,5 \pm 94,7^{ab}	\uparrow15,3%	2386,8 \pm 71,3^a	\uparrow19,4%
Σ 16:1	338,8 \pm 6,3 ^{ab}	323,9 \pm 5,6 ^b	ns	347,8 \pm 14,6 ^{ab}	ns	369,5 \pm 17,1 ^a	ns
Σ 18:1	2749,4 \pm 27,1 ^{ab}	2672,3 \pm 68,8 ^b	ns	2673 \pm 26,8 ^b	ns	2853,6 \pm 34,8 ^a	ns
ΣMUFA	3276,0 \pm 27,2^{ab}	3181,9 \pm 78,4^b	ns	3214,1 \pm 24,0^b	ns	3393,0 \pm 39,7^a	ns
18:2 ω 6	1409,1 \pm 29,9 ^{ab}	1329,3 \pm 61,0 ^b	ns	1303,9 \pm 41,6 ^b	ns	1475,0 \pm 32,7 ^a	ns
18:3 ω 3	333,2 \pm 28,4	293 \pm 19	ns	284,2 \pm 17,2	ns	332 \pm 28,7	ns
20:4 ω 6	19,7 \pm 1,1	17,7 \pm 1,2	ns	18,6 \pm 0,5	ns	19,7 \pm 1,3	ns
20:5 ω 3	201,4 \pm 13,4 ^{ab}	165,0 \pm 16,5 ^b	\downarrow 18,1%	181,9 \pm 12,3 ^{ab}	ns	207,3 \pm 22,0 ^a	ns
22:6 ω 3	329,6 \pm 18,2 ^c	381,1 \pm 33,3 ^{bc}	ns	438,4 \pm 30,4 ^{ab}	\uparrow 33,0%	474,4 \pm 28,5 ^a	\uparrow 43,9%
ΣPUFA	2373,1 \pm 56,0^b	2266,4 \pm 85,4^b	ns	2316,1 \pm 92,0^b	ns	2599,9 \pm 85,8^a	\uparrow9,6%
Σ PUFA ω 3	869,5 \pm 23,6 ^b	843,8 \pm 24,2 ^b	ns	910,6 \pm 54,6 ^{ab}	ns	1019,0 \pm 77,2 ^a	\uparrow 17,2%
Σ PUFA ω 6	1503,6 \pm 32,5 ^{ab}	1422,6 \pm 66,4 ^b	ns	1405,5 \pm 38,1 ^b	ns	1580,9 \pm 33,1 ^a	ns
EPA+DHA	531,0 \pm 8,9 ^b	546,0 \pm 17,3 ^b	ns	620,4 \pm 41,0 ^a	\uparrow 16,8%	681,7 \pm 50,6 ^a	\uparrow 28,4%

De entre os PUFA, verificou-se uma predominância dos compostos do tipo $\omega 6$ ($1503,6 \pm 32,5$ mg/100 g), isto é, de LA ($18:2\omega 6$; $1409,1 \pm 29,9$ mg/100 g) e de AA ($20:4\omega 6$; mg/100 g), relativamente aos ácidos gordos do tipo $\omega 3$ ($869,5 \pm 23,6$ mg/100 g), tais como o DHA ($22:6\omega 3$; $329,6 \pm 18,2$ mg/100 g), ALA ($18:3\omega 3$; $333,2 \pm 28,4$ mg/100 g) e EPA ($20:5\omega 3$; $201,4 \pm 13,4$ mg/100 g). Tal como referido anteriormente, o perfil de ácidos gordos do pescado reflete em grande parte o tipo de alimento disponível ou que lhe é fornecido ao longo da sua vida (Mnari Bhourri et al., 2010). Assim, outra característica típica do pescado de aquacultura é o elevado teor de LA, decorrente dos óleos vegetais incorporados nas rações (como se pode conferir na Tabela 2.2), característica essa que muitas vezes é utilizada para distinguir espécies selvagens das de aquacultura (Fountoulaki et al, 2009). O fato de o pescado de aquacultura apresentar frequentemente um desequilíbrio entre os teores de PUFA $\omega 6$ e PUFA $\omega 3$, isto é, na razão PUFA $\omega 3$:PUFA $\omega 6$, é uma das principais razões pelas quais o valor nutricional do pescado de aquacultura é muitas vezes posto em causa (Simopoulos, 2004). Neste sentido, como se verá mais à frente, foi importante perceber se a fortificação das rações com PUFA $\omega 3$ através da incorporação de microalgas ricas em EPA e DHA contribuiu para uma a razão mais equilibrada entre estes dois tipos de PUFA.

Em geral, a alimentação com as três dietas fortificadas (isto é, nos tratamentos SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3) não alterou significativamente os teores de ácidos gordos da dourada ($p > 0,05$; Tabela 3.2). No entanto, houve algumas exceções: as RF2 e RF3 apresentaram teores mais elevados de SFA (+15,3 % e 19,4 %, respetivamente), devido ao aumento significativo do teor de ácido palmítico nestas rações ($p < 0,05$; Tabela 3.2 e Anexo 2). Esse aumento pode estar relacionado com a quantidade de óleo de peixe usada na formulação das quatro rações para dourada, isto é, na ração RF1 reduziu-se cerca de 20,0 % da quantidade de óleo de peixe utilizada nas rações CTR, RF2 e RF3 (Tabela 2.2). Benedito-Palos et al. (2008) obteve resultados semelhantes ao substituir 66 % dos óleos de peixe utilizados na ração para dourada, por uma mistura de óleo vegetais (óleo de colza, óleo de linhaça e óleo de palma).

Nos MUFA, verificou-se que os teores da dourada do tratamento SA_RF3 ($3393,0 \pm 39,7$ mg/100 g) eram significativamente maiores que as douradas dos tratamentos SA_RF1 ($3181,9 \pm 78,4$ mg/100 g; $p < 0,05$) e SA_RF2 ($3214,1 \pm 24,0$ mg/100 g; $p < 0,05$; Tabela 3.2), apesar da percentagem de ácido oleico e palmitoleico nas três rações fortificadas ser semelhante (Anexo 2). Assim, as diferenças encontradas deverão estar relacionadas com os teores de gordura obtidos nos filetes de dourada destes três tratamentos (8,3 g/100 g, 8,6 g/100 g e 9,2 g/100 g em SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3, respetivamente; Anexo 6).

Relativamente aos PUFA, verificou-se que os peixes do tratamento SA_RF3 apresentaram teores mais elevados deste tipo de ácidos gordos ($2599,9 \pm 85,8$ mg/100 g; +9,6 % do que SA_CTR), sendo estes significativamente mais elevados do que os tratamentos SA_CTR, SA_RF1 e SA_RF2 ($2373,1 \pm 56,0$ mg/100 g, $2266,4 \pm 85,4$ mg/100 g, $2316,1 \pm 92,0$ mg/100 g; $p < 0,05$; Tabela 3.2). Este resultado é sobretudo decorrente do aumento significativo dos teores de DHA da dourada do tratamentos SA_RF3 ($474,4 \pm 28,5$ mg/100 g; +43,9 % do que SA_CTR; $p < 0,05$) e SA_RF2 ($438,4 \pm 30,4$ mg/100 g; +33,0 % do que SA_CTR; $p < 0,05$), bem como, da diminuição dos teores de EPA no tratamento SA_RF1 ($165,0 \pm 16,5$ mg/100g; -18,1 % do que SA_CTR; $p < 0,05$; Tabela 3.2). Por

outras palavras, seguindo o padrão encontrado nas quatro rações, os teores de EPA+DHA nos tratamentos SA_RF2 ($620,4 \pm 41,0$ mg/100 g; +16,8 % do que SA_CTRL) e SA_RF3 ($681,7 \pm 50,6$ mg/100 g; +28,4 % do que SA_CTRL) foram significativamente maiores do que o do SA_CTRL ($531,0 \pm 8,9$ mg/100 g; $p < 0,05$; Tabela 3.2). No entanto, o mesmo não se verificou no tratamento RF1 ($546,0 \pm 17,3$ mg/100 g; $p > 0,05$), apesar das três rações terem sido fortificadas com a mesma percentagem de microalgas *Schizochytrium* sp., *Tetraselmis* sp. e *Chlorella* sp. (ricas em PUFA $\omega 3$; Tabela 2.2). A ausência de diferenças significativas entre os teores de DHA dos tratamentos SA_CTRL e SA_RF1, assim como o teor mais baixo de EPA neste último tratamento, estão certamente relacionados com o facto de se ter diminuído a percentagem de óleo de peixe usada na ração SA_RF1 (Tabela 2.2). Tal como referido anteriormente, esta diminuição de óleo de peixe foi feita com o objetivo de tentar desenvolver uma ração mais ecologicamente sustentável, isto é, requerendo menores quantidades de óleo de peixe vulgarmente utilizados na produção de rações, óleos esses que são extraídos a partir de espécies de pequenos peixes pelágicos capturadas em meio selvagem. Ora, os resultados obtidos demonstraram o seguinte:

- 1) Através da incorporação de 3,2 % *Schizochytrium* sp. e do aumento da quantidade de microalgas *Tetraselmis* sp. e *Chlorella* sp. (+30 % do que em SA_CTRL), conseguiu-se reduzir a percentagem de óleo de peixe usada na ração para dourada, sem que a qualidade nutricional (em termos de PUFA $\omega 3$) dos filetes de dourada fosse alterada (isto é, teores de PUFA $\omega 3$, nomeadamente de EPA+DHA nos tratamentos SA_CTRL e SA_RF1 não foram significativamente diferentes um do outro), o que constitui um resultado positivo do ponto de vista da sustentabilidade;
- 2) As estratégias de fortificação utilizadas nas rações para dourada não permitiram alcançar uma razão PUFA $\omega 3$:PUFA $\omega 6$ mais equilibrada do que a que existia nos filetes de dourada do tratamento controlo/sem fortificação (isto é, razão PUFA $\omega 3$:PUFA $\omega 6$ ao redor de 0,6 em todos os tratamentos);
- 3) Para se fortificar os filetes de dourada de forma mais eficaz (melhorando a razão PUFA $\omega 3$:PUFA $\omega 6$) e sustentável (isto é, usando uma menor quantidade de óleo de peixe) seria necessário utilizar-se uma quantidade maior de microalgas, nomeadamente de *Schizochytrium* sp., solução que certamente ficaria bastante mais dispendiosa (e, logo, menos interessante) para os produtores de pescado de aquacultura. Isto revela então que é necessário explorar outras estratégias de fortificação para a dourada, usando outros ingredientes como fonte alternativa de PUFA $\omega 3$ (como por exemplo, óleo de salmão feito a partir de desperdícios, como se fez no ensaio da carpa), em substituição ou em conjunto com a microalga *Schizochytrium* sp.

É também importante referir que nenhuma das estratégias de fortificação estudadas na dourada aumentou o teor de EPA+DHA com tanta eficácia como se viu no ensaio da carpa, isto é, no ensaio de fortificação da dourada o incremento máximo de EPA+DHA foi de 28,4 % (em SA_RF3), ao passo que no ensaio da carpa todos os tratamentos de fortificação resultaram em incrementos de EPA+DHA superiores a 100 %. Este resultado terá a ver com o facto da dourada, selvagem ou de aquacultura, ser uma espécie marinha e, por isso, apresentar, à partida, níveis mais elevados de PUFA

ω_3 do que as espécies de água doce, como a carpa. Assim, os resultados obtidos neste estudo revelaram que o processo de fortificação com PUFA ω_3 nas espécies de aquacultura marinha é mais complexo, dispendioso e menos promissor do que o das espécies de aquacultura de água doce (Almeida & Franco, 2006).

3.2. Efeito da cozedura a vapor na estabilidade dos PUFA ω_3 nos filetes de pescado fortificado

3.2.1. Carpa

Os teores de ácidos gordos obtidos nos filetes de carpa cozidos a vapor estão representados na Tabela 3.3 (os valores percentuais de cada ácido gordo detetado nestas amostras também podem ser consultados no Anexo 8).

Em geral, a cozedura a vapor alterou significativamente os teores de ácidos gordos nos filetes de carpa independentemente do tratamento ($p < 0,05$), com exceção do $\Sigma 16:1$ (nos tratamentos CC_RF1 e CC_RF3) e do 20:4 ω_6 (tratamento CC_RF1), cujos teores não apresentaram diferenças significativas relativamente aos observados em cru ($p > 0,05$; Tabela 3.3).

Começando pelo tratamento controlo (CC_CTR), verificou-se que a cozedura a vapor, em regra, promoveu o aumento dos teores de todos os ácidos gordos, o que está certamente relacionado com o aumento dos teores totais de gordura após a confeção. Como tem sido referido na literatura, esse aumento decorreu provavelmente da perda de humidade nos filetes durante a confeção, devido à exposição a temperaturas elevadas que, por sua vez, se refletiu num aumento aparente dos teores dos restantes constituintes do pescado, isto é, de proteína, gordura, vitaminas e sais minerais (Maulvault et al., 2011; Maulvault et al., 2012). Estes resultados vão de encontro ao reportado por Moradi et al. (2011) que descreveu um aumento de 32 % de teores de ácidos gordos em filetes cozidos de uma espécie de peixe de água doce, a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).

No tratamento CC_CTR, os PUFA foram o grupo de ácidos gordos que revelou o maior aumento após a cozedura a vapor (+50,3 %; $p < 0,05$), ao passo que os SFA e MUFA refletiram aumentos ao redor de 40 % (Tabela 3.3). No estudo feito por Amira et al. (2009) sobre o efeito da fritura na composição dos ácidos gordos da dourada (*Sparus aurata*), obtiveram-se resultados semelhantes, isto é, a fritura em óleo de soja resultou num aumento de teores de PUFA (47,18 %) e de SFA (19,08 %).

Apesar dos teores de gordura serem, à partida (isto é, em cru), mais elevados nos tratamentos fortificados, verificou-se que a percentagem de aumento de SFA, MUFA e PUFA (ω_3 e ω_6) após a confeção, geralmente, foi menor do que no tratamento CC_CTR ($p < 0,05$; Tabela 3.3). Este padrão sugere que, apesar de ter havido um aumento aparente do teor de ácidos gordos promovido pela perda de humidade e conseqüente aumento da gordura nos filetes cozidos, durante a confeção, também terão ocorrido algumas perdas ou conversão de uns compostos noutros devido à exposição

ao calor (Mnari Bhourri et al., 2010), perdas essas que parecem ter sido maiores nos filetes fortificados, sobretudo nos pertencentes ao tratamento CC_RF3.

Tabela 3.3 - Teores dos principais ácidos gordos (mg/100 g; média \pm desvio-padrão; $n = 3$) nos filetes de carpa cozinhados e percentagens (%) de aumento (\uparrow) ou diminuição (\downarrow) nos teores de ácidos gordos após a confeção das amostras controlo (CC_CTRL) e fortificadas (CC_RF1, CC_RF2 e CC_RF3), relativamente aos valores obtidos nos filetes crus de cada tratamento, respetivamente.

Em cada linha (correspondente a cada ácido gordo), letras diferentes representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre tratamentos.

Abreviaturas: ns – Não significativo; 16:0 – Ácido palmítico; 18:0 – Ácido esteárico; Σ SFA – Somatório dos ácidos gordos saturados; Σ 16:1 – Somatório dos ácidos gordos 16:1 ω 9 e 16:1 ω 7; Σ 18:1 – Somatório dos ácidos gordos 18:1 ω 9 e 18:1 ω 7; Σ MUFA – Somatório dos ácidos gordos monoinsaturados; 18:2 ω 6 – Ácido linoleico; 18:3 ω 3 – Ácido α -linolénico; 20:4 ω 6 – Ácido araquidónico; 20:5 ω 3 – Ácido eicosapentaenóico (EPA); 22:6 ω 3 – Ácido docosahexaenóico (DHA); Σ PUFA – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados; Σ PUFA ω 3 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados do tipo ω 3; Σ PUFA ω 6 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados do tipo ω 6.

Ácido gordo	CC_CTRL		CC_RF1		CC_RF2		CC_RF3	
	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)
16:0	569,7 \pm 18 ^b	\uparrow 40,3%	541,8 \pm 8,6 ^b	\uparrow 16,8%	745,3 \pm 7,7 ^a	\uparrow 24,6%	737,5 \pm 15,8 ^a	\uparrow 14,9%
18:0	124,8 \pm 1,7 ^c	\uparrow 52,9%	125,2 \pm 2,4 ^c	\uparrow 24,8%	174,4 \pm 7,6 ^a	\uparrow 35,2%	160,1 \pm 3,3 ^b	\uparrow 23,8%
Σ SFA	799,8 \pm 19,9^b	\uparrow42,0%	780,9 \pm 6,1^b	\uparrow13,3%	1072,1 \pm 22,2^a	\uparrow23,7%	1033,9 \pm 22,0^a	\uparrow13,8%
Σ 16:1	189,2 \pm 8,4 ^b	\uparrow 31,0%	164,8 \pm 14,7 ^b	ns	292,6 \pm 11,2 ^a	\uparrow 22,3%	229,7 \pm 23,8 ^b	ns
Σ 18:1	1324,6 \pm 32,5 ^b	\uparrow 41,1%	1195,7 \pm 74,0 ^b	\uparrow 28,7%	1828,7 \pm 66,0 ^a	\uparrow 27,1%	1816,0 \pm 98,3 ^a	\uparrow 18,1%
Σ MUFA	1589,9 \pm 41,5^b	\uparrow40,6%	1472,4 \pm 105,8^b	\uparrow25,8%	2286,3 \pm 90,4^a	\uparrow27,8%	2178,6 \pm 135,1^a	\uparrow18,0%
18:2 ω 6	497,1 \pm 20,3 ^b	\uparrow 41,7%	528,4 \pm 14,7 ^b	\uparrow 21,4%	748,3 \pm 21,0 ^a	\uparrow 30,3%	746,5 \pm 41,2 ^a	\uparrow 18,6%
18:3 ω 3	42,8 \pm 2,6 ^b	\uparrow 37,0%	86,9 \pm 24,9 ^a	\uparrow 51,4%	84,7 \pm 1,3 ^a	\uparrow 34,9%	97,4 \pm 11,6 ^a	\uparrow 35,7%
20:4 ω 6	113,4 \pm 9,0 ^a	\uparrow 68,5%	42,7 \pm 17,0 ^c	ns	83,5 \pm 18,3 ^b	\uparrow 63,8%	92,0 \pm 13,7 ^b	\uparrow 25,0%
20:5 ω 3	9,1 \pm 0,5 ^b	\uparrow 79,9%	52,3 \pm 19,7 ^a	\uparrow 53,0%	46,4 \pm 4,4 ^a	\uparrow 58,4%	31,1 \pm 1,8 ^a	\uparrow 25,7%
22:6 ω 3	64,2 \pm 3,9 ^c	\uparrow 66,0%	209,0 \pm 6,6 ^a	\uparrow 25,5%	227,6 \pm 39,2 ^a	\uparrow 80,0%	161,4 \pm 16,5 ^a	\uparrow 29,2%
Σ PUFA	815,7 \pm 40,8^c	\uparrow50,3%	1026,9 \pm 71,9^b	\uparrow28,6%	1298,1 \pm 80,9^a	\uparrow41,1%	1223,0 \pm 90,8^a	\uparrow22,6%
Σ PUFA ω 3	134,0 \pm 7,2 ^b	\uparrow 63,3%	411,2 \pm 71,9 ^a	\uparrow 43,2%	410,3 \pm 46,3 ^a	\uparrow 63,4%	328,8 \pm 27,6 ^a	\uparrow 31,5%
Σ PUFA ω 6	674,8 \pm 34,8 ^b	\uparrow 47,9%	609,8 \pm 8,8 ^c	\uparrow 21,2%	879,1 \pm 34,8 ^a	\uparrow 33,9%	889,7 \pm 61,9 ^a	\uparrow 20,9%
EPA+DHA	73,2 \pm 4,3 ^c	\uparrow 67,6%	261,3 \pm 26,3 ^a	\uparrow 30,2%	274,0 \pm 43,6 ^a	\uparrow 75,9%	192,5 \pm 18,1 ^b	\uparrow 28,6%

Por exemplo, com a cozedura a vapor, ocorreu uma retenção de gordura que resultou no aumentoem 47,9% do teor de PUFA ω 6 no tratamento CC_CTR, ao passo que nos tratamentos CC_RF1, CC_RF2 e CC_RF3 os teores aumentaram 21,2%, 33,9% e 20,9%, respetivamente (Tabela 3.3). No que respeita aos PUFA ω 3, o tratamento CC_RF2 pareceu constituir uma exceção, apresentando percentagens de ganho deste tipo de ácidos gordos, em particular de EPA+DHA, mais elevadas não só relativamente aos outros tratamentos fortificados, mas também em relação ao tratamento CC_CTR (Tabela 3.3). Assim, apesar de se ter obtido teores mais elevados (em cru) nos três tratamentos de fortificação estudados, os resultados obtidos sugerem que os PUFA ω 3, nomeadamente o EPA e DHA, incorporados no músculo da carpa apresentaram maior estabilidade, face à exposição a altas temperaturas, nos tratamentos CC_RF2 e CC_CTR do que nos tratamentos CC_RF1 e CC_RF3. Tais resultados poderão dever-se, por um lado, às diferentes quantidades de microalga *Schizochytrium* sp. usadas nas rações CC_RF1 (3,2%) e CC_RF2 (1,6%) e, por outro lado, ao fato da fortificação em PUFA ω 3 na ração CC_RF3 ter sido feita através da adição de óleo de salmão, em vez de *Schizochytrium* sp. (Tabela 2.1).

A oxidação dos lípidos, decorrente da exposição ao ar, luz e diferenças de temperatura constitui uma das maiores preocupações do setor de produção e processamento de pescado, uma vez que esta reação pode levar à deterioração da qualidade do pescado (particularmente, nas espécies com elevado teor de PUFA) e, no limite, inviabilizar a comercialização do mesmo (Secci & Parisi, 2016). Para além da diminuição dos teores de PUFA e da qualidade nutricional em geral, a peroxidação lipídica pode traduzir-se também na formação de compostos que, não só conferem um sabor e odor desagradável ao pescado, mas também representam riscos para a saúde humana (Secci & Parisi, 2016). A Figura 3.1 apresenta os valores de peroxidação lipídica (expressos em teor de MDA) obtidos nos filetes de carpa após confeção.

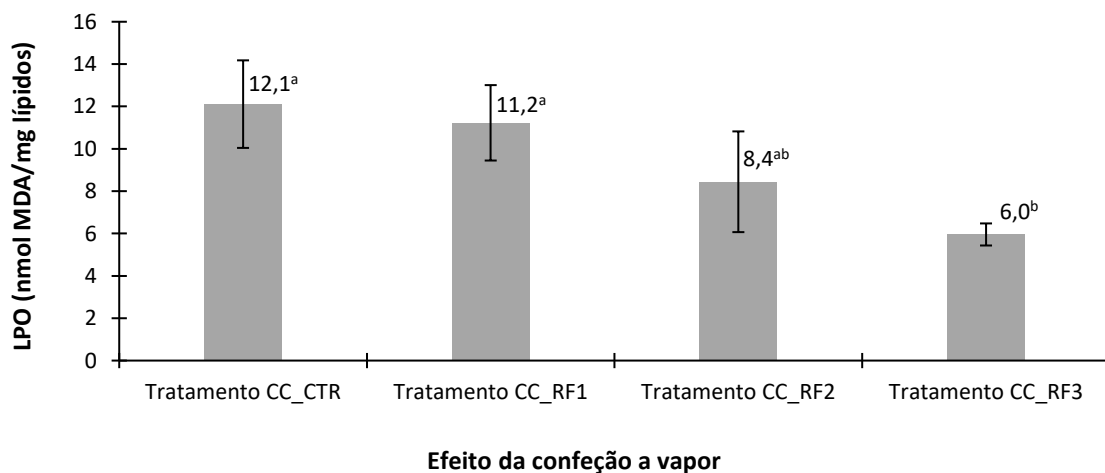


Figura 3.1 - Peroxidação lipídica (LPO; média \pm desvio padrão; nmolMDA/mg lípidos) nos filetes cozinhados da carpa (CC_RF1, CC_RF2 e CC_RF3).

Letras diferentes são indicativas das diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tratamentos.

Abreviaturas: CC – *Cyprinus carpio*; CTR - Controlo; RF1 – Ração fortificada 1; RF2 – Ração fortificada2; RF3 – Ração fortificada 3.

Apesar da potencial menor estabilidade, face à cozedura, dos PUFA ω 3 no tratamento CC_RF3, os valores de LPO, isto é, os teores médios de MDA obtidos nos tratamentos CC_CTR e CC_RF1 foram significativamente maiores que o do tratamento CC_RF3 ($p < 0,05$), respetivamente (Figura 3.1). Isto sugere que a cozedura a vapor terá dado origem a uma maior formação de radicais livres nos filetes de carpa provenientes dos tratamentos CC_CTR e CC_RF1, alterando a permeabilidade, fluidez e integridade das membranas celulares do músculo do pescado, e danificando os lípidos estruturais (nomeadamente, os PUFA) que as constituem (Yin et al., 2011; Secci & Parisi, 2016). A menor LPO observada nos filetes cozinhados do tratamento CC_RF3 poderá estar relacionada com o facto da fortificação em PUFA ω 3 neste tratamento ter sido feito, em grande parte, através da adição de óleo de salmão, que geralmente apresenta níveis elevados de compostos antioxidantes, como o α -tocoferol (vitamina E) e carotenóides (astaxantina, por exemplo), capazes de prevenir a formação de radicais livres e consequente oxidação dos lípidos do músculo do pescado (Chitchumroonchokchai & Failla, 2017). É também importante referir que, tal como descrito por Secci & Parisi (2016), este resultado pode também estar relacionado com o facto dos filetes de carpa do tratamento CC_RF3 apresentarem teores de gordura mais elevados (4,2% nos filetes crus e 5,0 % nos filetes cozidos) dos que os dos tratamentos CC_CTR e CC_RF1 (à volta de 3 % nos filetes crus e 3,7 % nos cozidos; Anexo 6), isto porque a atividade e concentração dos compostos antioxidantes será tanto maior quanto maior for o teor de gordura do pescado (Secci & Parisi, 2016).

3.2.2. Dourada

Os teores de ácidos gordos obtidos nos filetes de dourada cozidos a vapor estão representados na Tabela 3.4 (os valores percentuais de cada ácido gordo detetado nestas amostras também podem ser consultados no Anexo 9).

Na maioria dos casos, a cozedura a vapor alterou significativamente os teores da maioria dos ácidos gordos nos filetes de dourada ($p < 0,05$). No entanto, houve algumas exceções, isto é, após a confeção, os somatórios dos ácidos gordos 16:1 (todos os tratamentos), PUFA (SA_RF2 e SA_RF3), PUFA ω 3 (SA_CTR), PUFA ω 6 (SA_FR1) e EPA+DHA (todos os tratamentos), bem como os ácidos gordos ALA (SA_RF1 e SA_RF2), EPA (todos os tratamentos) e DHA (SA_CTR, SA_RF2 e SA_RF3) não revelaram teores significativamente diferentes dos observados nos filetes crus ($p > 0,05$).

Começando pelo tratamento controlo (SA_CTR), verificou-se que a cozedura a vapor, em geral, promoveu a diminuição dos teores de todos os ácidos gordos exceto, AA. Essa diminuição de teores de ácidos gordos pode ser devida a perda de gordura para o exterior (*dripping*) ou oxidação dos compostos insaturados (PUFA) durante a cozedura. Segundo Nasopoulou et al, (2013) durante a confeção dos alimentos ocorrem reações físicas e químicas, que resultam na desnaturação de proteínas e na perda (por oxidação ou *dripping*) de gordura que ocorre, sobretudo, nas espécies mais gordas.

Tabela 3.4 - Teores dos principais ácidos gordos (mg/100 g; média \pm desvio-padrão; $n = 3$) nos filetes de dourada cozinhados e percentagens (%) de aumento (\uparrow) ou diminuição (\downarrow) nos teores de ácidos gordos após a confeção das amostras controlo (SA_CTR) e fortificadas (SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3), relativamente aos valores obtidos nos filetes crus de cada tratamento, respetivamente.

Em cada linha (correspondente a cada ácido gordo), letras diferentes representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre tratamentos.

Abreviaturas: ns – Não significativo; 16:0 – Ácido palmítico; 18:0 – Ácido esteárico; Σ SFA – Somatório dos ácidos gordos saturados; Σ 16:1 – Somatório dos ácidos gordos 16:1 ω 9 e 16:1 ω 7; Σ 18:1 – Somatório dos ácidos gordos 18:1 ω 9 e 18:1 ω 7; Σ MUFA – Somatório dos ácidos gordos monoinsaturados; 18:2 ω 6 – Ácido linoleico; 18:3 ω 3 – Ácido α -linolénico; 20:4 ω 6 – Ácido araquidónico; 20:5 ω 3 – Ácido eicosapentaenóico (EPA); 22:6 ω 3 – Ácido docosahexaenóico (DHA); Σ PUFA – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados; Σ PUFA ω 3 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados do tipo ω 3; Σ PUFA ω 6 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados do tipo ω 6.

Ácido gordo	SA_CTR		SA_RF1		SA_RF2		SA_RF3	
	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)	mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)
16:0	1001,0 \pm 29,1 ^b	\downarrow 27,9%	1180,7 \pm 6,1 ^a	\downarrow 21,6%	1156,7 \pm 40,0 ^a	\downarrow 29,1%	1184,8 \pm 19,4 ^a	\downarrow 30,1%
18:0	243,3 \pm 4,1 ^b	\downarrow 29,0%	272,4 \pm 9,1 ^a	\downarrow 20,5%	267,2 \pm 14,6 ^{ab}	\downarrow 26,4%	267,6 \pm 10,8 ^{ab}	\downarrow 27,9%
Σ SFA	1496,6 \pm 31,9^b	\downarrow25,1%	1736,8 \pm 7,3^a	\downarrow18,2%	1714,8 \pm 48,6^a	\downarrow25,6%	1751,9 \pm 31,2^a	\downarrow26,6%
Σ 16:1	298,5 \pm 13,7 ^b	ns	351,0 \pm 17,2 ^a	ns	344,9 \pm 25,5 ^a	ns	343,9 \pm 9,9 ^a	ns
Σ 18:1	2164,3 \pm 18,9 ^c	\downarrow 21,3%	2460,0 \pm 41,6 ^a	\downarrow 7,9%	2297,3 \pm 20,8 ^b	\downarrow 14,1%	2365,7 \pm 57,7 ^{ab}	\downarrow 17,1%
Σ MUFA	2615,4 \pm 7,5^d	\downarrow20,2%	2966,8 \pm 17,5^a	\downarrow6,8%	2807,3 \pm 18,8^c	\downarrow12,7%	2887,4 \pm 50,8^b	\downarrow14,9%
18:2 ω 6	1072,8 \pm 5,9 ^c	\downarrow 23,9%	1233,9 \pm 58,6 ^a	\downarrow 7,2%	1124,9 \pm 15,4 ^b	\downarrow 13,7%	1180,0 \pm 32,8 ^a	\downarrow 20,0%
18:3 ω 3	243,7 \pm 5,6 ^b	\downarrow 26,9%	267,6 \pm 17,8 ^a	ns	247,2 \pm 7,1 ^b	ns	267,0 \pm 4,8 ^a	\downarrow 19,6%
20:4 ω 6	38,1 \pm 4,0 ^b	\uparrow 93,3%	47,3 \pm 3,8 ^{ab}	\uparrow >100,0%	48,2 \pm 4,6 ^a	\uparrow >100,0%	45,8 \pm 1,9 ^{ab}	\uparrow >100,0%
20:5 ω 3	168,3 \pm 1,4 ^b	ns	166,4 \pm 3,0 ^b	ns	185,9 \pm 10,4 ^a	ns	196,8 \pm 7,0 ^a	ns
22:6 ω 3	321,5 \pm 24,4 ^b	ns	467,0 \pm 4,4 ^a	\uparrow 22,6%	477,8 \pm 25,9 ^a	ns	490,5 \pm 19,7 ^a	ns
Σ PUFA	2140,3 \pm 39,8^b	\downarrow9,8%	2511,2 \pm 34,8^a	\uparrow10,8%	2442,5 \pm 81,4^a	ns	2524,8 \pm 12,2^a	ns
Σ PUFA ω 3	924,0 \pm 29,8 ^b	ns	1104,3 \pm 23,7 ^a	\uparrow 30,9%	1126,4 \pm 52,6 ^a	\uparrow 23,7%	1172,2 \pm 17,5 ^a	\uparrow 15,0%
Σ PUFA ω 6	1174,3 \pm 2,8 ^c	\downarrow 21,9%	1351,8 \pm 28,8 ^a	ns	1266,2 \pm 17,1 ^b	\downarrow 9,9%	1304,7 \pm 28,8 ^{ab}	\downarrow 17,5%
EPA+DHA	489,8 \pm 25,6 ^b	ns	633,4 \pm 7,2 ^a	ns	663,7 \pm 34,9 ^a	ns	687,3 \pm 23,4 ^a	ns

Nos tratamentos fortificados (SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3) a cozedura teve um efeito ligeiramente diferente do observado no SA_CTR, isto é, houve uma diminuição dos SFA e MUFA (no caso dos MUFA as perdas nos tratamentos fortificados foram sempre menores que as do tratamento SA_CTR; - 20,2 %, -6,8 %, -12,7 % e -14,9 % nos tratamentos SA_CTR, SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3, respetivamente; $p < 0,05$; Tabela 3.4). Por outro, verificou-se ao mesmo tempo, uma retenção significativa de alguns PUFA, como por exemplo, de AA (em todos os tratamentos, sendo superior nos fortificados, isto é, >100 %), DHA (+22,6 % no tratamento SA_RF1) e PUFA $\omega 3$ (+30,9 %, +23,7 % e +15,0 % nos tratamentos SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3, respetivamente; Tabela 3.4). Nasopoulou et al. (2013) também observou no seu estudo com sardinha (*Sardina pilchardus*) um aumento significativo nos teores de PUFA $\omega 3$, especialmente de EPA após a grelhagem. Este aumento dos teores de PUFA, sobretudo, no tratamento SA_RF1, levam a crer, mais uma vez, que as perdas que ocorreram durante a confeção terão sido maioritariamente devido à escorrência/*dripping* para o exterior, e não à oxidação lipídica (que ocorre, essencialmente, ao nível dos PUFA), como confirmam os resultados da análise de LPO apresentados na Figura 3.2, que não revelou diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0,05$).

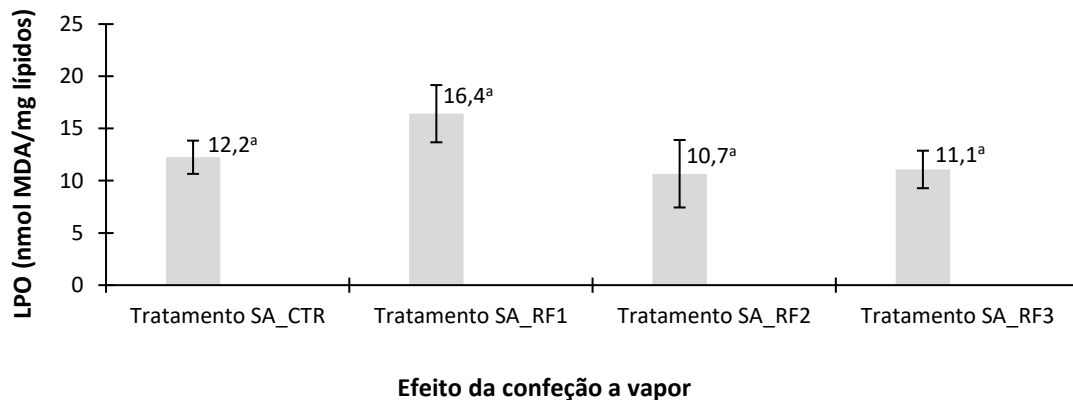


Figura 3.2 - Peroxidação lipídica (LPO; média \pm desvio padrão; nmol MDA/mg lípidos) nos filetes cozinhados da dourada (SA_RF1, SA_RF2 e SA_RF3).

Letras diferentes são indicativas das diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tratamentos.

Abreviaturas: SA – *Sparus aurata*; CTR - Controlo; RF1 - Ração fortificada 1; RF2 – Ração fortificada 2 RF3 – Ração fortificada 3.

Apesar da análise estatística não ter revelado ganhos ou perdas significativas no que respeita aos teores de EPA+DHA (os principais compostos abordados neste trabalho) nos 3 tratamentos fortificados, é de salientar que a estabilidade durante a confeção dos restantes compostos do tipo PUFA $\omega 3$ parece ter sido maior no tratamento SA_RF1, tendo em conta a percentagem de aumento que se observou neste tratamento no somatório dos teores de todos os PUFA $\omega 3$ (Tabela 3.4). Costa et al. (2013) também não observou diferenças significativas nos teores de EPA+DHA do músculo de corvina (*Argyrosomus regius*) após a cozedura.

3.3. Efeito da congelação e armazenagem em congelado na estabilidade dos PUFA ω 3 nos filetes de pescado fortificado

3.3.1. Carpa

Os teores dos principais ácidos gordos detetados nos filetes de carpa ao fim de 24 horas e 3 meses de congelação estão representados na Tabela 3.5 (os valores percentuais de cada ácido gordo detectado nestas amostras também podem ser consultados no Anexo 10).

Tabela 3.5 - Teores dos principais ácidos gordos (mg/100 g; média \pm desvio-padrão; $n = 3$) nos filetes de carpa congelados e percentagens (%) de aumento (\uparrow) ou diminuição (\downarrow) nos teores de ácidos gordos após 3 meses de congelação das amostras controlo (CC_CTR) e fortificada (CC_RF3), relativamente aos valores obtidos após as primeiras 24h de congelação, em cada um dos respetivos tratamentos.

Em cada linha (correspondente a cada ácido gordo), letras diferentes representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre tratamentos.

Abreviaturas: ns – Não significativo; 16:0 – Ácido palmítico; 18:0 – Ácido esteárico; Σ SFA – Somatório dos ácidos gordos saturados; Σ 16:1 – Somatório dos ácidos gordos 16:1 ω 9 e 16:1 ω 7; Σ 18:1 - Somatório dos ácidos gordos 18:1 ω 9 e 18:1 ω 7; Σ MUFA – Somatório dos ácidos gordos monoinsaturados; 18:2 ω 6 – Ácido linoleico; 18:3 ω 3 - Ácido α -linolénico; 20:4 ω 6 - Ácido araquidónico; 20:5 ω 3 - Ácido eicosapentaenóico (EPA); 22:6 ω 3 – Ácido docosahexaenóico (DHA); Σ PUFA – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados; Σ PUFA ω 3 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados do tipo ω 3; Σ PUFA ω 6 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados do tipo ω 6.

Ácido Gordo	CC_CTR			CC_RF3		
	24 h mg/100 g	3 meses mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)	24 h mg/100 g	3 meses mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)
16:0	791,2 \pm 70,9 ^{ab}	671,6 \pm 60,4 ^b	\downarrow 15,1%	933,4 \pm 73,4 ^a	799,4 \pm 119,4 ^b	\downarrow 14,4%
18:0	231,9 \pm 65,6 ^a	142,3 \pm 9,1	ns	187,5 \pm 19,2	165,8 \pm 21,2	ns
Σ SFA	1138,6 \pm 126,4 ^{ab}	903,8 \pm 75,8 ^b	ns	1264,0 \pm 83,5 ^a	1086,3 \pm 146,8 ^{ab}	ns
Σ 16:1	149,4 \pm 75,5 ^{ab}	110,7 \pm 8,5 ^b	ns	166,4 \pm 18,1 ^a	145,6 \pm 32,3 ^{ab}	ns
Σ 18:1	1670,6 \pm 47,7 ^a	1200,7 \pm 78,5 ^c	\downarrow 28,1%	1573,4 \pm 110,8 ^a	1366,6 \pm 33,9 ^b	\downarrow 13,1%
Σ MUFA	2039,6 \pm 102,3 ^a	1454,9 \pm 64,3 ^c	\downarrow 28,7%	1950,6 \pm 68,2 ^a	1676,7 \pm 68,0 ^b	\downarrow 14,0%
18:2 ω 6	641,0 \pm 25,9 ^a	467,8 \pm 21,6 ^b	\downarrow 27,0%	671,9 \pm 64,2 ^a	640,6 \pm 92,6 ^a	\downarrow 4,7%
18:3 ω 3	70,3 \pm 10,8 ^a	43,6 \pm 2,6 ^b	\downarrow 38,0%	76,9 \pm 7,3 ^a	70,3 \pm 11,8 ^a	ns
20:4 ω 6	4,0 \pm 0,5	3,0 \pm 1,1	ns	5,3 \pm 1,2	5,6 \pm 1,5	ns
20:5 ω 3	10,2 \pm 1,3 ^b	5,2 \pm 0,3 ^c	\downarrow 48,6%	24,9 \pm 8,5 ^a	20,7 \pm 4,0 ^a	ns
22:6 ω 3	92,3 \pm 4,9 ^a	37,6 \pm 5,6 ^b	\downarrow 59,3%	147,4 \pm 74,8 ^a	112,4 \pm 21,9 ^a	ns
Σ PUFA	846,0 \pm 33,8 ^a	576,5 \pm 19,1 ^b	\downarrow 31,9%	965,6 \pm 143,2 ^a	883,3 \pm 111,8 ^a	ns
Σ PUFA ω 3	173,5 \pm 16,1 ^a	86,9 \pm 4,0 ^b	\downarrow 49,9%	251,5 \pm 89,9 ^a	208,0 \pm 32,4 ^a	ns
Σ PUFA ω 6	672,6 \pm 24,1 ^a	489,6 \pm 21,4 ^b	\downarrow 27,2%	714,1 \pm 67,1 ^a	675,3 \pm 91,9 ^a	ns
EPA+DHA	102,5 \pm 4,4 ^a	42,8 \pm 5,8 ^b	\downarrow 58,3%	172,3 \pm 83,2 ^a	133,1 \pm 25,9 ^a	ns

Em geral, no tratamento CC_CTR verificaram-se diminuições significativas ($p < 0,05$) dos teores de quase todos os ácidos gordos (exceto nos teores dos ácidos oleico, palmitoleico, AA e no teor total de SFA; $p > 0,05$) após 3 meses de congelação, relativamente aos valores inicialmente observados (ao fim de 24 h de congelação; Tabela 3.5). Para além disso, as perdas ao fim de 3 meses de congelação foram mais notórias nos teores de PUFA (-31,9 % relativamente ao teor total de PUFA observado ao fim de 24 h; $p < 0,05$) do que nos de MUFA (-28,7 % relativamente ao teor total de MUFA observado ao fim de 24 h; $p < 0,05$). De entre os PUFA, é também de referir que as perdas derivadas da congelação foram maiores nos PUFA ω 3 (principalmente, no EPA e DHA; EPA:

-48,6 %, $p < 0,05$; DHA: -59,3 %; $p < 0,05$) do que nos PUFA $\omega 6$ (-27,2 % no Σ PUFA $\omega 6$; $p < 0,05$), o que está relacionado com facto do AA não ter sofrido alterações significativas após os 3 meses de congelação ($p > 0,05$). Segundo Aydin & Gokoglu (2014), ao longo da congelação ocorre oxidação lipídica do pescado, devido à exposição à luz e ao ar (oxigénio), o que por vezes pode resultar na conversão de PUFA em SFA. Para além disso, observou-se uma diminuição significativa nos teores de PUFA após 3 meses congelação (-31,9 %; $p < 0,05$), mas não nos teores de SFA ($p > 0,05$), o que se deve ao alto grau de insaturação destes primeiros compostos nos tecidos de peixes, que os torna particularmente suscetíveis à oxidação e deterioração (Nazemroaya et al., 2009).

Contrariamente a CC_CTRL, no tratamento CC_RF3, a maioria dos ácidos gordos não apresentou uma diminuição significativa ao fim dos 3 meses de congelação, relativamente às primeiras 24 h de congelação, com exceção do ácido palmítico (-14,4 %; $p < 0,05$), oleico (-13,1 %; $p < 0,05$), LA (-4,7 %; $p < 0,05$) e do teor total de MUFA (-14,0 %; $p < 0,05$; Tabela 3.5). A ausência de diferenças significativas no tratamento CC_RF3 poderá, mais uma vez, estar relacionada com o fato de se ter fornecido aos peixes deste tratamento uma ração suplementada com óleo de salmão (para fortificar os filetes com PUFA $\omega 3$), naturalmente rico em antioxidantes (por exemplo, vitamina E e carotenóides) capazes de prevenir a oxidação lipídica e, conseqüentemente, a degradação da qualidade nutricional do produto (Chitchumroonchokchai & Failla, 2017). Este padrão confirmou-se também através da determinação dos teores de MDA (isto é, da LPO) nos filetes de carpa congelados, que revelou um aumento significativo entre as primeiras 24 h de congelação e os 3 meses de congelação dos filetes do tratamento CC_CTRL ($p < 0,05$), mas não revelou diferenças significativas no tratamento CC_RF3 em relação às primeiras 24h de congelação dos filetes quer desse tratamento, quer do tratamento CC_CTRL ($p > 0,05$; Figura 3.3).

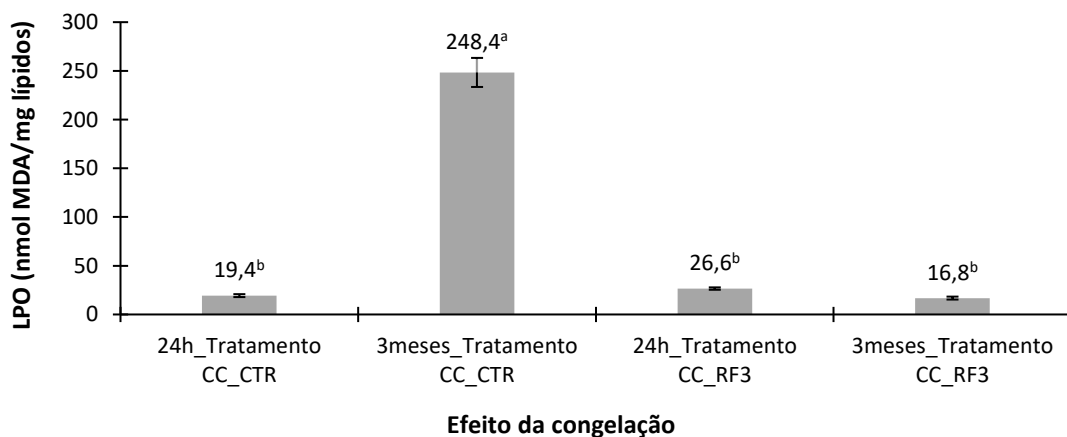


Figura 3.3 - Peroxidação lipídica (LPO; média \pm desvio padrão; nmol MDA/mg lípidos) nos filetes congelados (24 h e 3 meses) da carpa sem fortificação (CC_CTRL) e com fortificação (CC_RF3).

As letras diferentes são indicativas das diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tratamentos.

Abreviaturas: CC – *Cyprinus carpio*; CTRL - Controlo; RF3 – Ração fortificada 3.

De modo semelhante, Raeisi et al. (2014) também verificou no seu estudo com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) uma menor oxidação lipídica nos filetes dos peixes alimentados com uma

ração enriquecida com extrato de uva e óleo essencial de *Zataria multiflora*, conhecidos pelos seus efeitos antioxidantes.

3.3.2. Dourada

Os teores dos principais ácidos gordos detetados nos filetes de dourada ao fim 24 h e três meses de congelação estão representados na Tabela 3.6 (os valores percentuais de cada ácido gordo detectado nestas amostras também podem ser consultados no Anexo 11).

Tabela 3.6 -Teores dos principais ácidos gordos (mg/100 g; média \pm desvio-padrão; $n = 3$) nos filetes de dourada congelados e percentagens (%) de aumento (\uparrow) ou diminuição (\downarrow) nos teores de ácidos gordos após 3 meses de congelação das amostras controlo (SA_CTR) e fortificada (SA_RF3), relativamente aos valores obtidos após as primeiras 24h de congelação, em cada um dos respetivos tratamentos. Em cada linha (correspondente a cada ácido gordo), letras diferentes representam diferenças significativas ($p > 0,05$) entre tratamentos.

Abreviaturas: ns – Não significativo; 16:0 – Ácido palmítico; 18:0 – Ácido esteárico; Σ SFA – Somatório dos ácidos gordos saturados; Σ 16:1 – Somatório dos ácidos gordos 16:1 ω 9 e 16:1 ω 7; Σ 18:1 - Somatório dos ácidos gordos 18:1 ω 9 e 18:1 ω 7; Σ MUFA – Somatório dos ácidos gordos monoinsaturados; 18:2 ω 6 – Ácido linoleico; 18:3 ω 3 - Ácido α -linolénico; 20:4 ω 6 - Ácido araquidónico; 20:5 ω 3 - Ácido eicosapentaenóico (EPA); 22:6 ω 3 – Ácido docosahexaenóico (DHA); Σ PUFA – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados; Σ PUFA ω 3 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados do tipo ω 3; Σ PUFA ω 6 – Somatório dos ácidos gordos polinsaturados do tipo ω 6.

Ácido Gordo	SA_CTR			SA_RF3		
	24 h mg/100 g	3 meses mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)	24 h mg/100 g	3 meses mg/100 g	% (\uparrow / \downarrow)
16:0	1204,2 \pm 14,3 ^b	1818,7 \pm 90,3 ^a	\uparrow 51,0%	955,8 \pm 24,7 ^c	1846,8 \pm 49,8 ^a	\uparrow 93,2%
18:0	262,6 \pm 6,2 ^b	436,7 \pm 23,6 ^a	\uparrow 66,3%	212,5 \pm 8,9 ^c	404,9 \pm 23,5 ^a	\uparrow 90,6%
Σ SFA	1711,1 \pm 16,1 ^b	2615,6 \pm 128,7 ^a	\uparrow 52,9%	1368,2 \pm 38,8 ^c	2625,9 \pm 47,4 ^a	\uparrow 91,9%
Σ 16:1	303,5 \pm 6,2 ^b	378,9 \pm 49,5 ^a	\uparrow 24,9%	237,2 \pm 18,2 ^c	401,5 \pm 24,5 ^a	\uparrow 69,2%
Σ 18:1	2137,7 \pm 40,8 ^c	3132,6 \pm 90,1 ^a	\uparrow 46,5%	1550,7 \pm 15,1 ^d	2917,4 \pm 69,5 ^b	\uparrow 88,1%
Σ MUFA	2557,9 \pm 29,1 ^b	3685,5 \pm 125,5 ^a	\uparrow 44,1%	1872,9 \pm 30,7 ^c	3493,6 \pm 74,1 ^a	\uparrow 86,5%
18:2 ω 6	1291,4 \pm 41,2 ^b	1532,4 \pm 42,1 ^a	\uparrow 18,7%	899,2 \pm 15,3 ^c	1619,6 \pm 56,1 ^a	\uparrow 80,1%
18:3 ω 3	317,5 \pm 6,7 ^b	336,6 \pm 22,9 ^{ab}	ns	213,4 \pm 17,0 ^c	376,8 \pm 26,3 ^a	\uparrow 76,5%
20:4 ω 6	21,8 \pm 1,1 ^b	28,5 \pm 0,5 ^a	\uparrow 30,6%	14,1 \pm 0,7 ^c	30,7 \pm 1,4 ^a	\uparrow >100,0%
20:5 ω 3	167,2 \pm 10,3 ^c	219,2 \pm 6,2 ^b	\uparrow 31,1%	119,8 \pm 4,2 ^d	244,3 \pm 7,3 ^a	\uparrow >100,0%
22:6 ω 3	263,4 \pm 23,6 ^c	417,3 \pm 33,5 ^b	\uparrow 58,4%	255,6 \pm 13,1 ^c	639,0 \pm 63,7 ^a	\uparrow >100,0%
Σ PUFA	1780,9 \pm 87,4 ^c	2646,6 \pm 51,5 ^b	\uparrow 48,6%	1689,7 \pm 69,2 ^c	3032,3 \pm 29,5 ^a	\uparrow 79,5%
Σ PUFA ω 3	659,4 \pm 38,0 ^c	992,5 \pm 12,5 ^b	\uparrow 50,5%	679,7 \pm 13,8 ^c	1279,1 \pm 47,8 ^a	\uparrow 88,2%
Σ PUFA ω 6	1121,5 \pm 52,1 ^c	1654,1 \pm 40,4 ^b	\uparrow 47,5%	1010,0 \pm 58,8 ^c	1753,2 \pm 44,1 ^a	\uparrow 73,6%
EPA+DHA	407,0 \pm 24,1 ^c	636,5 \pm 33,5 ^b	\uparrow 56,4%	445,0 \pm 12,9 ^c	883,3 \pm 70,8 ^a	\uparrow 98,5%

Em geral, no tratamento SA_CTR e SA_RF3 verificaram-se aumentos significativos ($p > 0,05$) dos teores de quase todos os ácidos gordos após três meses de congelação, relativamente aos valores inicialmente observados (ao fim de 24 h de congelação), com exceção do ALA do tratamento SA_CTR ($p > 0,05$; Tabela 3.6). Este aumento tem certamente a ver com alguma formação de cristais de gelo e desidratação (perda de humidade) dos filetes ao longo da congelação, que depois se refletiu no aumento dos teores de gordura (e, conseqüentemente, de ácidos gordos) ao fim de 3

meses (Aydin & Gokoglu, 2014). O aumento dos teores de ácidos gordos foi superior nos filetes fortificados, sendo que as diferenças entre os tratamentos SA_CTR e SA_RF3 foram particularmente evidentes no que respeita aos teores AA, EPA e DHA (isto é, em SA_CTR os incrementos foram de 30,6 %, 31,1 % e 58,4 %, respetivamente, ao passo que em SA_RF3 o aumento foi sempre superior a 100% nestes três PUFA; Tabela 3.6). A Figura 3.4 apresenta os resultados obtidos a partir da análise da LPO nas amostras de dourada congelada.

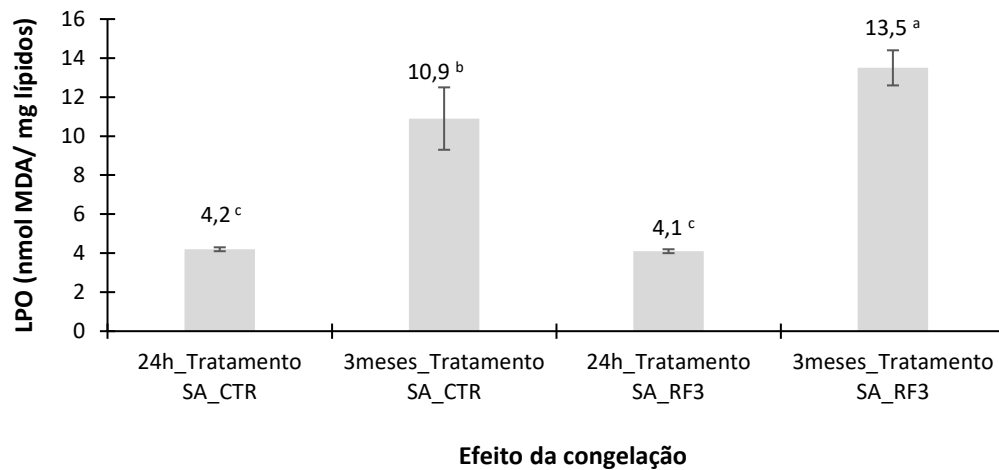


Figura 3.4 - Peroxidação lipídica (LPO; média \pm desvio padrão; nmol MDA/mg lípidos) nos filetes congelados (24h e 3 meses) da dourada sem fortificação (SA_CTR) e com fortificação (SA_RF3).

As letras diferentes são indicativas das diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tratamentos.

Abreviaturas: SA – *Sparus aurata*; CTR - Controlo; RF3 – Ração fortificada.

Apesar de se verificar um aumento dos teores de PUFA, os resultados apresentados na Figura 3.4 indicam que ocorreu oxidação lipídica (com a conseqüente degradação da qualidade dos filetes) durante os 3 meses de congelação, tanto no tratamento SA_CTR ($10,9 \pm 1,6$ nmol MDA/mg lípidos) como no SA_RF3 ($13,5 \pm 0,9$ nmol MDA/mg lípidos; $p < 0,054$). Por outras palavras, observaram-se diferenças significativas nos teores de MDA ao longo do tempo de congelação ($p < 0,05$), mas não entre os tratamentos controlo e fortificado ($p > 0,05$). Estes resultados indicam que, ao contrário dos filetes de carpa fortificada com a ração CC_RF3 (no qual se realizou a fortificação através da adição de óleo de salmão), a estratégia de fortificação usada na preparação das rações para dourada (que consistiu apenas na adição de 3,2 % de microalga) não pareceu ter acrescentado nenhum valor ao produto no que respeita à introdução de compostos potencialmente antioxidantes (como por exemplo, as vitaminas e carotenóides naturalmente presentes no óleo de salmão). De qualquer modo, é importante referir que, apesar dos teores elevados de PUFA, os valores de LPO nos filetes de dourada foram muito menores que os obtidos nos filetes de carpa, o que sugere uma maior resistência à LPO na dourada, mesmo sem a adição de óleo de salmão. .

4. Conclusão e perspectivas futuras

Este estudo permitiu concluir que as três estratégias de fortificação escolhidas para a carpa permitiram melhorar substancialmente os teores de PUFA ω 3, em particular de EPA+DHA (aumentos superiores a 100 %), nos filetes desta espécie. Por outras palavras, se o consumo de 150 g de filetes de carpa sem fortificação apenas fornecia 13 % da dose diária recomendada pela ISSFAL para a ingestão de EPA+DHA, com a fortificação é possível alcançar-se entre 45 % (tratamentos CC_RF2 e CC_RF3) e 60 % (tratamento CC_RF1) do valor diário recomendado para estes ácidos gordos através do consumo de filetes de carpa. Seguindo a recomendação (menos conservadora) da EFSA, o consumo de filetes de carpa fortificados fornece (em qualquer dos casos) mais de 90% da dose diária recomendada de EPA+DHA. Para além disso, as estratégias de fortificação permitiram também melhorar a relação PUFA ω 3:PUFA ω 6 nos filetes de carpa (de 0,2 em CC_CTR, para 0,4 em CC_RF2 e CC_RF3 ou 0,6 em CC_RF1), valorizando assim a qualidade nutricional deste produto.

Apesar do tratamento CC_RF3 ter evidenciado, à partida, uma menor qualidade nutricional (tendo em conta os teores de EPA+DHA e a razão PUFA ω 3:PUFA ω 6) quando comparado com o CC_RF1, é importante reforçar o facto deste tratamento constituir também uma estratégia de fortificação eficaz e que, ao mesmo tempo, valoriza a economia circular (aproveitando os desperdícios decorrentes do processamento de uma espécie de aquacultura, o salmão, para extrair óleo de peixe naturalmente rico em PUFA ω 3). Outro benefício associado a esta estratégia de fortificação é o facto do óleo de salmão ser uma fonte natural de antioxidantes (vitamina E e carotenóides) que previnem a degradação dos filetes de carpa, quer durante a confeção, quer ao longo da congelação. Assim, dada a eficácia e custos associados à produção das diferentes rações, a ração CC_RF3 parece ser a estratégia de fortificação mais interessante para os produtores de pescado de aquacultura e, por isso, a mais promissora.

Relativamente à fortificação dos filetes de dourada, este estudo permitiu concluir que a incorporação de 3,2 % *Schizochytrium* sp. e o aumento da quantidade de microalgas *Tetraselmis* sp. e *Chlorella* sp. (+30 % do que em SA_CTR) representam uma alternativa muito interessante sob o ponto de vista da sustentabilidade dos sectores da pesca e aquacultura, uma vez que esta estratégia permite reduzir a percentagem de óleo de peixe usada na ração para dourada sem que a qualidade nutricional (em termos de PUFA ω 3) final deste produto seja alterada. No entanto, do ponto de vista da fortificação, as estratégias utilizadas na formulação das rações para dourada não permitiram aumentar os teores de EPA+DHA com a mesma eficácia que se observou nos ensaios da carpa (apenas +17 % e +28 % nos tratamentos SA_RF2 e SA_RF3, respetivamente, do que no controlo), nem alcançar uma razão PUFA ω 3:PUFA ω 6 mais equilibrada do que a que existia originalmente (isto é, razão PUFA ω 3:PUFA ω 6 ao redor de 0,6 em todos os tratamentos). Tal se deveu ao facto da dourada ser uma espécie marinha e que, por isso, apresenta, à partida, níveis muito elevados de PUFA ω 3. Assim, pode-se concluir que a fortificação sustentável de PUFA ω 3 nas espécies marinhas de aquacultura deverá ser um processo mais complexo, dispendioso e menos promissor do que a fortificação das espécies de aquacultura de água doce, uma vez que

envolverá certamente utilização de maiores quantidades de microalgas e/ou de outros ingredientes como fonte alternativa de PUFA ω_3 , como é o caso de óleo de salmão feito a partir de desperdícios. Mais, à semelhança do ensaio realizado na carpa, a utilização de óleo de salmão na ração para dourada poderia inclusive ter um efeito benéfico, prevenindo a degradação da qualidade nutricional dos filetes desta espécie que se observou após três meses de congelação. Por último, apesar das estratégias de fortificação utilizadas na dourada não terem sido tão notoriamente eficazes quanto as utilizadas na carpa, é importante referir que, de acordo com os resultados obtidos neste estudo, o consumo de 150 g de dourada (com ou sem fortificação) fornece mais de 100 % das doses recomendadas tanto pela EFSA e como pela ISSFAL para o consumo diário de EPA+DHA, , resultados estes que valorizam os atributos nutricionais deste produto.

5. Referências bibliográficas

Afonso, C. (2009). *Produtos da Pesca capturados na costa portuguesa: Benefícios e Perigos associados ao seu consumo* (Doutoramento em Farmácia). Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa. 243 pp.

Amira, M., Hanene, J., Madiha, D., Imen, B., Mohamed, H., & Abdelhamid, C. (2009). Effects of frying on the fatty acid composition in farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *International Journal of Food Science & Technology*, 45(1), 113-123. doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.02110.x.

Andrade, G., Bispo, E., & Druzian, J. (2009). Avaliação da qualidade nutricional em espécies de pescado mais produzidas no Estado da Bahia. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29(4), 721-726. doi: 10.1590/s0101-20612009000400004.

Alasalvar, C., Taylor, K.D.A., Zubcov, 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 Chemistry* 79: 145-150.

APA, (2012). Sistemas de produção. Consultado a 24 de Maio de 2019. Disponível em app.parlamento.pt/webutils/docs/doc.

Ashour, M., Elshobary, M., El-Shenody, R., Kamil, A., & Abomohra, A. (2019). Evaluation of a native oleaginous marine microalga *Nannochloropsis oceanica* for dual use in biodiesel production and aquaculture feed. *Biomass and Bioenergy*, 120, 439-447. doi: 10.1016/j.biombioe.2018.12.009.

Aydin, I., & Gokoglu, N. (2014). Effects of temperature and time of freezing on lipid oxidation in anchovy (*Engraulis encrasicolus*) during frozen storage. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(8), 996-1001. doi: 10.1002/ejlt.201300450.

Badii, F., & Howell, N. (2001). A comparison of biochemical changes in cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) fillets during frozen storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(1), 87-97. doi: 10.1002/jsfa.998.

Bandarra, N., Calhau, M., Oliveira, L., Ramos, M., Dias, M., Bártolo, H., Faria, M., Fonseca, M., Gonçalves, J., Batista, I., & Nunes, M. (2004). *Composição e valor nutricional dos produtos da pesca mais consumidos em Portugal*. Publicações Avulsas do IPIMAR, Lisboa. Consultado a 03/06/2019, Disponível em <https://www.ipma.pt/resources.www/docs/publicacoes.site/pescado/inicio.htm>.

Barbeiro, M. (2015). *Inclusão da microalga (Phaedactylum tricornutum) em rações de acabamento para dourada: efeito na pigmentação e outros atributos da qualidade* (Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Aquacultura). Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologias. 77 pp.

- Becker, W. (2004). Microalgae for aquaculture. The nutritional value of microalgae for aquaculture. In: Richmond, A., *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing Ltd (Oxford), 380–391. doi: 10.1002/9780470995280.ch21.
- Benedito-Palos, L., Navarro, J., Sitjà-Bobadilla, A., Gordon Bell, J., Kaushik, S., & Pérez-Sánchez, J. (2008). High levels of vegetable oils in plant protein-rich diets fed to gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.): growth performance, muscle fatty acid profiles and histological alterations of target tissues. *British Journal of Nutrition*, 100(5), 992-1003. doi: 10.1017/s0007114508966071.
- Bernardo, L. (2017). *A percepção do consumidor face ao pescado de aquacultura* (Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar). Instituto Politécnico de Leiria, Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar. 95 pp.
- Brown, M., Jeffrey, S., Volkman, J., & Dunstan, G. (1997). Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151(1-4), 315-331. doi: 10.1016/s0044-8486(96)01501-3.
- Bulut, S., Uysal, K., Cemek, M., Gok, V., Kuş, S., & Karaçalı, M. (2012). Nutritional evaluation of seasonal changes in muscle fatty acid composition of Common Carp (*Cyprinus carpio*) in Karamik Lake, Turkey. *International Journal of Food Properties*, 15(4), 717-724. doi: 10.1080/10942911003664891.
- Busetto, M.L., Moretti, M.V., Moreno-Rojas, J.M., Caprino, F., Giani, I., Malandra, R., Bellagamba, F., Guillou, C., (2008). Authentication of Farmed and Wild Turbot (*Psetta maxima*) by Fatty Acid and Isotopic Analyses Combined with Chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 2742-2750.
- CE. (2013). *A pesca e a aquicultura na Europa nº 59: A Dourada (Sparus aurata)*. Direção-Geral dos Assuntos Marítimos e das Pescas (Comissão Europeia). Consultado a 31/05/2019, disponível em <https://publications.europa.eu/pt/publication-detail/-/publication/9fb313a5-c391-4574-9c86-90cf6139c50b/language-pt/format-PDF/source-98409695>.
- CE. (2019). *Carp – Fisheries*. European Commission. Consultado a 03/06/2019, disponível em https://ec.europa.eu/fisheries/marine_species/farmed_fish_and_shellfish/carp_en.
- Chitchumroonchokchai, C., & Failla, M. (2017). Bioaccessibility and intestinal cell uptake of astaxanthin from salmon and commercial supplements. *Food Research International*, 99, 936-943. doi: 10.1016/j.foodres.2016.10.010.
- Costa, S., Afonso, C., Bandarra, N., Gueifão, S., Castanheira, I., & Carvalho, M. et al. (2013). The emerging farmed fish species meagre (*Argyrosomus regius*): How culinary treatment affects nutrients and contaminants concentration and associated benefit-risk balance. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 277-285. doi: 10.1016/j.fct.2013.07.050.
- Covington, M. (2004). Omega-3 Fatty acids. *American Academy of Family Physicians*, 70(1), 133-140.

- Cohen, Z., Vonshak, A., & Richmond, A., 1988. Effect of environmental conditions on fatty acid composition of the red algae *Porphyridium cruentum*: correlation to growth rate. *Journal of Phycology*24: 328-332.
- Dawson, P., Al-Jeddawi, W., & Remington, N. (2018). Effect of Freezing on the Shelf Life of Salmon. *International Journal of Food Science*, 1-12. doi: 10.1155/2018/1686121.
- DGRM. (2015). *Plano Estratégico para a Aquicultura Portuguesa 2014-2020*. Consultado a 27/05/2019, Disponível em http://www.mar2020.pt/wp-content/uploads/2016/10/Plano_Estrategico_Aquicultura.pdf.
- DGRM. (2019). *Plano para a aquicultura em águas de transição (PAqAT)*. Consultado a 27/05/2019, Disponível em https://www.dgrm.mm.gov.pt/documents/20143/43774/PAqAT_Consulta+Publica.pdf/d5a4c976-3792-cf55-c2b8-342c6becf45d.
- EFSA. (2005). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic products, nutrition and allergies [NDA] related to nutrition claims concerning omega-3 fatty acids, monounsaturated fat, polyunsaturated fat and unsaturated fat. *EFSA Journal*, 3(8), 253. doi: 10.2903/j.efsa.2005.253.
- EFSA. (2017). Dietary Reference Values for nutrients - Summary report. *EFSA Supporting Publications*, 14(12). doi: 10.2903/sp.efsa.2017.e15121.
- EFSA.(2017). Overview on Dietary Reference Values for the EU population as derived by the EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Consultado a 26/08/2019, disponível em www.efsa.europa.eu/sites/default/files/assets/DRV_Summary_tables_jan_17.pdf.
- EUMOFA. (2018). *The EU Fish Market*. EUMOFA, European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products. Consultado a 27/05/2019, Disponível em https://www.eumofa.eu/documents/20178/132648/EN_The+EU+fish+market+2018.pdf.
- Eymard, S., Carcouët, E., Rochet, M., Dumay, J., Chopin, C., & Genot, C. (2005). Development of lipid oxidation during manufacturing of horse mackerel surimi. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(10), 1750-1756. doi: 10.1002/jsfa.2145.
- Fabian, C., Kimler, B., & Hursting, S. (2015). Omega-3 fatty acids for breast cancer prevention and survivorship. *Breast Cancer Research*, 17(1). doi: 10.1186/s13058-015-0571-6.
- FAO. (2016). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2016 – Contributing to food security and nutrition for all*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consultado a 27/05/2019, Disponível em <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>.
- FAO. (2018). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 – Meeting the sustainable development goals*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consultado a 27/05/2019, Disponível em <http://www.fao.org/3/i9540en/i9540en.pdf>.
- FAO. (2019a). *FAO Fisheries & Aquaculture - Aquatic species – Species Fact Sheets: Sparus aurata*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consultado a 31/05/2019, Disponível em <http://www.fao.org/fishery/species/2384/en>.

- FAO. (2019b). Global aquaculture production 1950-2017. Consultado a 31/05/2019, disponível em <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/query/en>.
- FAO. (2019c). *FAO Fisheries & Aquaculture - Cultured Aquatic Species Information Programme: Sparus aurata (Linnaeus, 1758)*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consultado a 31/05/2019, disponível em http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en.
- FAO. (2019d). *FAO Fisheries & Aquaculture - Aquatic species – Species Fact Sheets: Cyprinus carpio*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consultado a 31/05/2019, Disponível em <http://www.fao.org/fishery/species/2957/en>.
- FAO. (2019e). *Aquaculture Feed and Fertilizer Resources Information System: Common carp - Cyprinus carpio*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consultado a 31/05/2019, Disponível em <http://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/common-carp/common-carp-home/en/>.
- Ferraz de Arruda, L., Martins, P., Silva, A., Moraes, J., Vaz-Pires, P., Ozório, R., & Oetterer, M. (2011). O Setor Pesqueiro em Portugal - Relato de Caso. *Boletim do Instituto de Pesca*, 37(2), 199-207.
- Ferreira, S., Souza-Soares, L., & Costa, J. (2013). Revisão: microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais. *Revista de Ciências Agrárias*, 36(3), 275-287.
- Fishbase. (2019). *Sparus aurata Linnaeus, 1758*. Consultado a 06/06/2019, Disponível em <http://fishbase.org/summary/Sparus-aurata.html>.
- Fountoulaki, E., Vasilaki, A., Hurtado, R., Grigorakis, K., Karacostas, I., & Nengas, I. et al. (2009). Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile. *Aquaculture*, 289(3-4), 317-326. doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.01.023.
- Fróis, F. (2016). *Aquacultura Multi-trófica Integrada em Tanques de Terra* (Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Zootécnica – Produção Animal). Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa. 75 pp.
- Gamboa-Delgado, J., Fernández-Díaz, B., Nieto-López, M., & Cruz-Suárez, L. (2015). Nutritional contribution of torula yeast and fish meal to the growth of shrimp *Litopenaeus vannamei* as indicated by natural nitrogen stable isotopes. *Aquaculture*, 453, 116-121. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.11.026.
- Gameiro, I. (2018). *Influência de ingredientes usados na confeção de refeições à base de pescado na bioacessibilidade de elementos tóxicos* (Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar). Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa. 87 pp.

- Geraldes, A. (1999). Peixes de água doce. Em *Património Natural Transmontano*. João Azevedo Editores (Mirandela).
- Gladyshev, M., Sushchik, N., Gubanenko, G., Demirchieva, S., & Kalachova, G. (2006). Effect of way of cooking on content of essential polyunsaturated fatty acids in muscle tissue of humpback salmon (*Oncorhynchus gorbusha*). *Food Chemistry*, 96(3), 446-451. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.02.034.
- Guedes, A., & Malcata, F. (2012). Nutritional Value and Uses of Microalgae in Aquaculture. *Aquaculture*. doi: 10.5772/30576.
- Gümüş, E., & Aydin, B. (2013). Effect of Poultry By-Product Meal on Growth Performance and Fatty Acid Composition of Carp (*Cyprinus carpio*) Fry. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(5). doi: 10.4194/1303-2712-v13_5_06.
- Hosomi, R., Yoshida, M., & Fukunaga, K. (2012). Seafood Consumption and Components for Health. *Global Journal of Health Science*, 4(3). doi: 10.5539/gjhs.v4n3p72.
- Huss, H. (1995). *Quality and quality changes in fresh fish*. Rome: FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consultado a 03/06/2019, Disponível em <http://www.fao.org/docrep/V7180E/V718-0E00.HTM>.
- IPMA. (2018). *Estado dos stocks em 2018 e aconselhamento científico para a sua gestão em 2019*. Lisboa: Departamento do Mar e dos Recursos Marinhos do Instituto Português do Mar e da Atmosfera - Divisão de Modelação e Gestão dos Recursos da Pesca. Consultado a 28/05/2019, Disponível em <https://www.ipma.pt/pt/pescas/recursos/estado.recursos/index.jsp?print=true>.
- ISSFAL. (2004). *Recommendations for intake of polyunsaturated fatty acids in healthy adults*. Report on Dietary Intake of Essential Fatty Acids. International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids. Consultado a 03/06/2019, Disponível em <https://www.issfal.org>.
- Jabeen, F., & Chaudhry, A. (2011). Chemical compositions and fatty acid profiles of three freshwater fish species. *Food Chemistry*, 125(3), 991-996. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.09.103.
- Jiang, S., & Lee, T. (1985). Changes in free amino acids and protein denaturation of fish muscle during frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(5), 839-844. doi: 10.1021/jf00065a018.
- Karaçalı, M., Bulut, S., Konuk, M., & Solak, K. (2011). Seasonal Variations in Fatty Acid Composition of Different Tissues of Mirror Carp, *Cyprinus Carpio*, in Orenler Dam Lake, Afyonkarahisar, Turkey. *International Journal of Food Properties*, 14(5), 1007-1017. doi: 10.1080/10942910903556454.
- Kolakowska, A., & Sikorski, Z. (2003). The Role of Lipids in Food Quality. In: Sikorski, Z., & Kolakowska, A., *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*. CRC Press (Florida).
- Koletzko, B., Cetin, I., & Thomas Brenna, J. (2007). Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. *British Journal of Nutrition*, 98(5), 873-877. doi: 10.1017/s0007114507764747.

- Krienitz, L., & Wirth, M. (2006). The high content of polyunsaturated fatty acids in *Nannochloropsis limnetica* (*Eustigmatophyceae*) and its implication for food web interactions, freshwater aquaculture and biotechnology. *Limnologia*, 36(3), 204-210. doi: 10.1016/j.limno.2006.05.002.
- Küllenberg de Gaudry, D., & Massing, U. (2014). Stellenwert von langkettigen Omega-3-Fettsäuren bei Prostatakrebs. *Der Urologe*, 53(11), 1620-1624. doi: 10.1007/s00120-014-3612-3.
- Lauria, V., Das, I., Hazra, S., Cazcarro, I., Arto, I., & Kay, S. et al. (2018). Importance of fisheries for food security across three climate change vulnerable deltas. *Science of the Total Environment*, 640-641, 1566-1577. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.011.
- Lee, J., Sim, T., Lee, J., & Na, H. (2017). Chemopreventive and chemotherapeutic effects of fish oil derived Omega-3 polyunsaturated fatty acids on colon carcinogenesis. *Clinical Nutrition Research*, 6(3), 147. doi: 10.7762/cnr.2017.6.3.147.
- Lichtenstein, A., Appel, L., Brands, M., Carnethon, M., Daniels, S., & Franch, H. et al. (2006). Diet and Lifestyle Recommendations Revision 2006: A Scientific Statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation*, 114(1), 82-96. doi: 10.1161/circulationaha.106.176158.
- Lin, W., Zeng, Q., & Zhu, Z. (2009). Different changes in mastication between crisp grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* C.et V) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) after heating: The relationship between texture and ultrastructure in muscle tissue. *Food Research International*, 42(2), 271-278. doi: 10.1016/j.foodres.2008.11.005.
- Lopes, J. (2005). *Criação de uma aplicação para modelar o crescimento da dourada (Sparus aurata) em aquacultura* (Relatório de estágio conducente ao grau de licenciado em Biologia). Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. 160 pp.
- Lepage, G., & Roy, C.C., 1986. Direct transesterification of all classes of lipids in one-step reaction. *Journal of Lipid Research*. 27: 114–119.
- Marques, A. (2018). *Estudo comparativo entre composição nutricional de peixe selvagem e de peixe de aquacultura* (Trabalho complementar para obtenção do grau de Licenciado em Ciências da Nutrição). Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde. 20 pp.
- Martin, C., Almeida, V., Ruiz, M., Visentainer, J., Matshushita, M., Souza, N., & Visentainer, J. (2006). Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Revista de Nutrição*. 19(6): 761-770. doi: 10.1590/S1415-52732006000600011.
- Matos, J. (2014). *Influência da bioacessibilidade do selênio, mercúrio e metilmercúrio na identificação do benefício/perigo associado ao consumo de Tintureira crua e cozinhada* (Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar). Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa. 61 pp.
- Maulvault, A. (2009). *Valor nutricional de algumas espécies consumidas em Portugal* (Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Marinha - Especialização em Aquacultura e Pescas). Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente, Universidade do Algarve. 84 pp.

- Maulvault, A., Anacleto, P., Lourenço, H., Carvalho, M., Nunes, M., & Marques, A. (2012). Nutritional quality and safety of cooked edible crab (*Cancer pagurus*). *Food Chemistry*, 133(2), 277-283. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.01.023.
- Maulvault, A., Machado, R., Afonso, C., Lourenço, H., Nunes, M., & Coelho, I. et al. (2011). Bioaccessibility of Hg, Cd and As in cooked black scabbard fish and edible crab. *Food and Chemical Toxicology*, 49(11), 2808-2815. doi: 10.1016/j.fct.2011.07.059.
- Mnari Bhourri, A., Jrah Harzallah, H., Dhibi, M., Bouhleb, I., Hammami, M., & Chaouch, A. (2010). Nutritional Fatty Acid Quality of Raw and Cooked Farmed and Wild Sea Bream (*Sparus aurata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 507-512. doi: 10.1021/jf902096w.
- Moradi, Y., Bakar, J., Motalebi, A., Syed Muhamad, S., & Che Man, Y. (2011). A Review on Fish Lipid: Composition and Changes During Cooking Methods. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 20(4), 379-390. doi: 10.1080/10498850.2011.576449.
- Muller-Feuga, A. (2000). The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *Journal of Applied Phycology*, 12, 527-534. doi: 10.1023/a:1008106304417.
- Myhr, A., & Dalmo, R. (2005). Introduction of genetic engineering in aquaculture: Ecological and ethical implications for science and governance. *Aquaculture*, 250(3-4), 542-554. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.12.032.
- Almeida, N., & Franco, M. (2006). Influência da dieta alimentar na composição de ácidos graxos em pescado: aspectos nutricionais e benefícios à saúde humana. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 65(1), 7-14.
- Nasopoulou, C., Psani, E., Sioriki, E., Demopoulos, C., & Zabetakis, I. (2013). Evaluation of Sensory and in Vitro Cardio Protective Properties of Sardine (*Sardina pilchardus*): The Effect of Grilling and Brining. *Food and Nutrition Sciences*, 04(09), 940-949. doi: 10.4236/fns.2013.49122.
- Nasopoulou, C., Stamatakis, G., Demopoulos, C., & Zabetakis, I. (2011). Effects of olive pomace and olive pomace oil on growth performance, fatty acid composition and cardio protective properties of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Food Chemistry*, 129(3), 1108-1113. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.05.086.
- Nazemroaya, S., Sahari, M., & Rezaei, M. (2009). Effect of frozen storage on fatty acid composition and changes in lipid content of *Scomberomorus commersoni* and *Carcharhinus dussumieri*. *Journal of Applied Ichthyology*, 25(1), 91-95. doi: 10.1111/j.1439-0426.2008.01176.x.
- Neto, W. (2018). *Um breve levantamento bibliográfico sobre ácidos graxos ômega- 3 e suas características*. (Trabalho de Conclusão de Curso para obtenção do grau de bacharel em Química Industrial apresentado ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia). 39 pp.
- Nomikos, T., Karantonis, H., Skarvelis, C., Demopoulos, C., & Zabetakis, I. (2006). Antiatherogenic properties of lipid fractions of raw and fried fish. *Food Chemistry*, 96(1), 29-35. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.01.060.

- Nunes, M., Bandarra, N., & Batista, I. (2011). Health benefits associated with seafood consumption. In: Alasalvar, C., Shahidi, F., Miyashita, K., & Wanasundara, U., *Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications*. Blackwell Publishing Ltd (Oxford), 367-379. doi:10.1002/9781444325546.ch29.
- Núñez, R., García, M., Alonso, J., & Melgar, M. (2018). Arsenic, cadmium and lead in fresh and processed tuna marketed in Galicia (NW Spain): Risk assessment of dietary exposure. *Science of the Total Environment*, 627, 322-331. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.253.
- Ottestad, S., Enersen, G., & Wold, J. (2011). Effect of freezing temperature on the color of frozen Salmon. *Journal of Food Science*, 76(7), 423-427. doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02313.x.
- Pahlow, M., van Oel, P., Mekonnen, M., & Hoekstra, A. (2015). Increasing pressure on freshwater resources due to terrestrial feed ingredients for aquaculture production. *Science of the Total Environment*, 536, 847-857. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.07.124.
- Pal, N., Samanta, S., Chakraborty, A., Chandra, N., & Chandra, A. (2017). Interrelationship between iodine nutritional status of lactating mothers and their absolutely breast-fed infants in coastal districts of Gangetic West Bengal in India. *European Journal of Pediatrics*, 177(1), 39-45. doi: 10.1007/s00431-017-3025-6.
- Peres, I. (1991). *Contribuição para o estudo ecotoxicológico e histopatológico dos efeitos do cobre na carpa (Cyprinus carpio L.)* (Dissertação para obtenção do grau de Doutor em Ciências do Ambiente). Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa. 228 pp.
- Piepoli, M., Hoes, A., Agewall, S., Albus, C., Brotons, C., & Catapano, A. et al. (2016). 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *European Heart Journal*, 37(29), 2315-2381. doi: 10.1093/eurheartj/ehw106.
- Pinto, B. (2015). A sobre-exploração de espécies. *Jornal Visão*. Consultado a 28/05/2019, Disponível em <http://visao.sapo.pt/ambiente/opiniaoverde/brunopinto/a-sobre-exploracao-de-especies=f816015>.
- PROMAR. (2015). *Programa Operacional Pescas 2007-2013*. Consultado a 27/05/2019, disponível em http://www.promar.gov.pt/Download/PROMAR/PO_janeiro2015.pdf.
- Raeisi, M., Tajik, H., Aliakbarlu, J., & Valipour, S. (2014). Effect of carboxymethyl cellulose edible coating containing *Zataria multiflora* essential oil and grape seed extract on chemical attributes of rainbow trout meat. In *Veterinary research forum: an international quarterly journal* (Vol. 5, No. 2, p. 89). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
- Rayman, M. (2000). The importance of selenium to human health. *The Lancet*, 356(9225), 233-241. doi: 10.1016/s0140-6736(00)02490-9.
- REA. (2018). *Solo e Biodiversidade - Produção em aquicultura*. Consultado a 27/05/2019, Disponível em <https://rea.apambiente.pt/content/produ%C3%A7%C3%A3o-em-aquicultura>.

- Ribeiro, A., Altintzoglou, T., Mendes, J., Nunes, M., Dinis, M., & Dias, J. (2019). Farmed fish as a functional food: Perception of fish fortification and the influence of origin – Insights from Portugal. *Aquaculture*, 501, 22-31. doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.11.002.
- Santos, L., & Bortolozzo, E. (2008). Ingestão de ômega-3: considerações sobre potenciais benefícios no metabolismo lipídico. *Publicatio UEPG - Ciências Exatas e da Terra, Agrarias e Engenharias*, 14(2), 161-170. doi: 10.5212/publ.exatas.v.14i2.161170.
- Secci, G., & Parisi, G. (2016). From farm to fork: lipid oxidation in fish products. A review. *Italian Journal of Animal Science*, 15(1), 124-136. doi: 10.1080/1828051x.2015.1128687.
- Sharma, R., & Katz, J. (2013). Fish Proteins in Coronary Artery Disease Prevention: Amino Acid–Fatty Acid Concept. In: Watson, R., & Preedy, V., *Bioactive Food as Dietary Interventions for Cardiovascular Disease*. Elsevier (San Diego), 525–549. doi: 10.1016/B978-0-12-396485-4.00029-3.
- Sidónio, L., Cavalcanti, I., Capanema, L., Morch, R., Magalhães, G., Lima, J., & Mungioli, R. (2012). Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. *BNDES setorial*, 35, 421-463.
- Silva, D., Miranda Júnior, P., & Soares, E. (2007). A importância dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa na gestação e lactação. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, 7(2), 123-133. doi: 10.1590/s1519-38292007000200002.
- Simopoulos, A. (2004). Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acid Ratio and Chronic Diseases. *Food Reviews International*, 20(1), 77-90. doi: 10.1081/fri-120028831.
- Simopoulos, A. (2016). An Increase in the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Increases the Risk for Obesity. *Nutrients*, 8(3), 128. doi: 10.3390/nu8030128.
- Simopoulos, A. (2008). The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. The center of genetics, nutrition and health. *Experimental Biology and Medicine*. 233: 674-688.
- Soares, K., & Gonçalves, A. (2012). Qualidade e segurança do pescado. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 71(1), 1-10.
- Sousa, A. (2008). *Fatores que afetam a qualidade dos produtos de aquicultura: efeito da dieta na qualidade final de dourada (Sparus aurata Linnaeus, 1758)* (Relatório de estágio no âmbito da licenciatura em Biologia Marinha). Universidade dos Açores. 59 pp.
- Strasburg, G., Xiong, Y., & Chiang, W. (2008). Physiology and chemistry of edible muscle tissues. In: Damodaran, S., & Parkin, K., *Fennema's Food Chemistry*. CRC Press (Boca Raton), 958-959.
- Suárez, H., Francisco, A., Beirão, L., Block, J., Saccol, A., & Pardo-Carrasco, S. (2002). Importância de ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes de cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, 28(1), 101-110.

- Teixeira, D. (2016). *Sistemas de produção de peixes e bivalves em aquacultura: crescimento e indicadores de qualidade* (Relatório de estágio no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária). Universidade de Évora, Escola de Ciências e Tecnologia. 108 pp.
- Teixeira, D., Calhau, C., Pestana, D., Vicente, L., & Graça, P. (2014). *Iodo - Importância para a saúde e o papel da alimentação*. Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável – Direção-Geral da Saúde. Consultado a 03/06/2019, Disponível em https://www.alimentacao.saudavel.dgs.pt/activeapp/wp-content/files_mf/1444899433Iodo_Import%C3%A2nciaparaasa%C3%BAdeopapeldaalimenta%C3%A7%C3%A3o.pdf.
- Torrezan, R., Lobo, C., Pontes, S., Furtado, A., Penteado, A., Freitas, S., & Mársico, E. (2013). Processamento de Filé de cachapinta em Conserva. *Embrapa Agroindústria de Alimentos - Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*. Consultado a 04/06/2019, Disponível em <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/973265/1/2013CTE0193.pdf>.
- United Nations. (2018). *The Sustainable Development Goals Report – 2018*. New York: United Nations. Consultado a 04/06/2019, Disponível em <https://unstats.un.org/sdgs/files/report/2018/TheSustainableDevelopmentGoalsReport2018-EN.pdf>.
- Uchiyama, M., & Mihara, M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*, 86(1), 271-278. doi: 10.1016/0003-2697(78)90342-1.
- Ventura, M., Gueifão, S., Coelho, I., Delgado, I., Rego, A., & Castanheira, I. (2016). *Identificação de alimentos ricos em selénio e iodo consumidos pela população portuguesa*. Artigos breves nº2. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Consultado a 03/06/2019, Disponível em http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/4123/3/observacoesNEspecia8-2016_artigo2.pdf.
- Whittle K. J. (1995). Sea food from producer to consumer, Integrated approach to quality. In: Luten J., Borrosen T., Oehlenschlager J., *Sea Food from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality. Proceedings of The International Seafood Conference on the 25th Anniversary of WEFTA*. Elsevier (Netherlands, Amsterdam).
- Woodcock, S., Strohmeier, T., Strand, Ø., Olsen, S., & Bannister, R. (2018). Mobile epibenthic fauna consume organic waste from coastal fin-fish aquaculture. *Marine Environmental Research*, 137, 16-23. doi: 10.1016/j.marenvres.2018.02.017.
- WoRMS. (2019). *WoRMS - World Register of Marine. WoRMS - World Register of Marine Species*. Consultado a 31/05/2019, Disponível em <http://www.marinespecies.org/>.
- Xu, C., Guo, X., Tang, J., Guo, X., Lu, Z., Zhang, J., & Bi, Z. (2015). Iodine nutritional status in the adult population of Shandong Province (China) prior to salt reduction program. *European Journal of Nutrition*, 55(5), 1933-1941. doi: 10.1007/s00394-015-1009-8.

Yarrington, C., & Pearce, E. (2011). Iodine and Pregnancy. *Journal of Thyroid Research*, 1-8. doi: 10.4061/2011/934104.

Yıldız, M., Eroldoğan, T., Ofori-Mensah, S., Engin, K., & Baltacı, M. (2018). The effects of fish oil replacement by vegetable oils on growth performance and fatty acid profile of rainbow trout: Re-feeding with fish oil finishing diet improved the fatty acid composition. *Aquaculture*, 488, 123-133. doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.12.030.

Yin, H., Xu, L., & Porter, N. (2011). Free Radical Lipid Peroxidation: Mechanisms and Analysis. *Chemical Reviews*, 111(10), 5944-5972. doi: 10.1021/cr200084z.

Zymon M., Strzetelski J., Pustkowiak H., Sosin E. (2007). Effect of freezing and frozen storage on fatty acid profile of calves' meat. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(4), 647–650.

ANEXOS

Anexo 1 – Perfil de ácidos gordos (média ± desvio padrão; %) nas rações para carpa.

Ácido gordo	Ração CC_CTR	Ração CC_RF1	Ração CC_RF2	Ração CC_RF3
14:0	0,8 ± 0,0	1,6 ± 0,0	2,3 ± 0,1	0,8 ± 0,1
15:0	0,1 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0
16:0	23,9 ± 0,1	18,9 ± 0,2	31,5 ± 0,3	21,2 ± 0,3
17:0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,1 ± 0,0
18:0	2,2 ± 0,1	4,2 ± 0,0	8,0 ± 0,1	4,0 ± 0,0
20:0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
21:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,5 ± 0,1	0,2 ± 0,0
23:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
24:0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0
∑16:1	2,4 ± 0,0	2,9 ± 0,0	1,5 ± 0,1	1,4 ± 0,0
∑17:1	0,9 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,4 ± 0,0
∑18:1	34 ± 0,4	31,4 ± 0,1	27,3 ± 0,6	33,6 ± 0,3
∑20:1	0,6 ± 0,0	1,8 ± 0,0	1,7 ± 0,0	1,2 ± 0,1
∑22:1	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,0 ± 0,0
∑24:1	0,1 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0
18:2ω6	29,9 ± 0,1	25,3 ± 0,1	18,3 ± 0,2	29,3 ± 0,4
18:3ω3	3,5 ± 0,0	4,2 ± 0,1	2,1 ± 0,1	3,7 ± 0,4
18:3ω6	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,3 ± 0,0
20:2ω6	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
20:3ω6	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,9 ± 0,0	0,4 ± 0,0
20:4ω6	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0
20:5ω3	0,3 ± 0,0	2,2 ± 0,0	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,0
22:6ω3	0,6 ± 0,0	5,3 ± 0,0	2,3 ± 0,1	2,0 ± 0,0

Abreviaturas: CC – *Cyprinus carpio*; CTR – Controlo; RF1 – Ração fortificada 1; RF 2- Ração fortificada 2; RF3 – Ração fortificada 3.

Anexo 2 – Perfil de ácidos gordos (média ± desvio padrão; %) nas rações para dourada.

Ácido gordo	Ração SA_CTR	Ração SA_RF1	Ração SA_RF2	Ração SA_RF3
14:0	2,8 ± 0,0	3,0 ± 0,0	4,5 ± 0,0	4,5 ± 0,2
15:0	0,2 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
16:0	13,1 ± 0,1	18,5 ± 0,2	24,5 ± 0,0	24 ± 0,1
17:0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,5 ± 0,1
18:0	3,2 ± 0,0	3,0 ± 0,1	4,2 ± 0,1	4,2 ± 0,0
20:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
21:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:0	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
23:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
24:0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0
∑16:1	3,0 ± 0,0	2,4 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,3 ± 0,1
∑17:1	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
∑18:1	33,2 ± 0,1	29,6 ± 0,1	27,1 ± 0,2	27,6 ± 0,2
∑20:1	1,4 ± 0,1	1,1 ± 0,0	1,3 ± 0,0	1,4 ± 0,1
∑22:1	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
∑24:1	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0
18:2ω6	24,1 ± 0,2	22,3 ± 0,4	18,1 ± 0,1	17,9 ± 0,0
18:3ω3	8,0 ± 0,0	7,4 ± 0,0	5,4 ± 0,0	5,4 ± 0,0
18:3ω6	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
20:2ω6	0,0 ± 0,0	1,0 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
20:3ω6	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,0
20:4ω6	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
20:5ω3	5,4 ± 0,0	4,2 ± 0,0	4,1 ± 0,0	4,1 ± 0,0
22:6ω3	3,7 ± 0,1	5,3 ± 0,0	5,1 ± 0,0	5,4 ± 0,2

Abreviaturas: SA– *Sparus aurata*; CTR – Controlo; RF1 – Ração fortificada 1; RF 2- Ração fortificada 2; RF3 – Ração fortificada 3.

Anexo 3 – Dados biométricos da carpa (média ± desvio padrão).

Peso total (g)	Tratamento CC_CTRL	890,3 ± 148,5
	Tratamento CC_RF1	1031,3 ± 216,8
	Tratamento CC_RF2	1161,8 ± 135,6
	Tratamento CC_RF3	1158,8 ± 161,9
Comprimento total (cm)	Tratamento CC_CTRL	36,5 ± 2,1
	Tratamento CC_RF1	38,1 ± 2,5
	Tratamento CC_RF2	39,5 ± 1,3
	Tratamento CC_RF3	40,1 ± 1,8

Abreviaturas: CC – *Cyprinus carpio*; CTRL – Controlo; RF1 – Ração fortificada 1; RF 2- Ração fortificada 2; RF3 – Ração fortificada 3.

Anexo 4 – Dados biométricos da dourada (média ± desvio padrão).

Peso total (g)	Tratamento SA_CTRL	616,4 ± 59,5
	Tratamento SA_RF1	586,5 ± 98,1
	Tratamento SA_RF2	573,2 ± 72
	Tratamento SA_RF3	537,8 ± 49,6
Comprimento total (cm)	Tratamento SA_CTRL	32,9 ± 1,4
	Tratamento SA_RF1	32,7 ± 1,5
	Tratamento SA_RF2	32,3 ± 1,1
	Tratamento SA_RF3	32,1 ± 1,2

Abreviaturas: SA– *Sparus aurata*; CTRL – Controlo; RF1 – Ração fortificada 1; RF 2- Ração fortificada 2; RF3 – Ração fortificada 3.

Anexo 5 – Perfil de ácidos gordos (média ± desvio padrão; %) nos filetes de carpa (crua).

Ácido gordo	Tratamento CC_CTR	Tratamento CC_RF1	Tratamento CC_RF2	Tratamento CC_RF3
14:0	0,8 ± 0,1	1,3 ± 0,0	1,1 ± 0,0	0,9 ± 0,1
15:0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0
16:0	17,9 ± 1,1	16,9 ± 0,2	16,5 ± 0,1	16,8 ± 0,3
17:0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0
18:0	3,6 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,6 ± 0,1	3,4 ± 0,2
19:0	0,9 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,6 ± 0,1
20:0	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
21:0	1,0 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,9 ± 0,1
22:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
23:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
24:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
∑16:1	6,4 ± 0,2	5,7 ± 0,3	6,6 ± 0,3	5,5 ± 0,6
∑17:1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
∑18:1	41,4 ± 1,4	33,8 ± 1,3	39,8 ± 0,5	40,3 ± 2
∑20:1	2,1 ± 0,3	2,8 ± 0,4	2,6 ± 0,3	2,4 ± 0,1
∑22:1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
∑24:1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
16:2ω4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
16:3ω4	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
16:4ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
18:2ω6	15,5 ± 0,3	15,9 ± 0,4	15,9 ± 0,6	16,5 ± 0,6
18:3ω3	1,4 ± 0,1	2,1 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1
18:4ω3	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0
20:2ω6	0,3 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0
20:4ω6	3,0 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,4
20:3ω3	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
20:4ω3	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0
20:5ω3	0,2 ± 0,0	1,2 ± 0,1	0,8 ± 0,0	0,6 ± 0,1
21:5ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:4ω6	0,4 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,2
22:5ω6	1,0 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,2
22:5ω3	0,1 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0
22:6ω3	1,7 ± 0,1	6,1 ± 0,2	3,5 ± 0,2	3,3 ± 0,7

Abreviaturas: CC– *Cyprinus carpio*; CTR – Controlo; RF1 – Ração fortificada 1; RF 2- Ração fortificada 2; RF3 – Ração fortificada 3.

Anexo 6 – Teor de gordura total nos filetes de carpa e dourada (média ± desvio padrão; g/100g).

CC_CTR (cru)	2,6 ± 0,0
CC_RF1 (cru)	3,1 ± 0,3
CC_RF2 (cru)	4,0 ± 0,5
CC_RF3 (cru)	4,2 ± 0,3
CC_CTR cozido a vapor	3,7 ± 0,1
CC_RF1 cozido a vapor	3,7 ± 0,4
CC_RF2 cozido a vapor	5,3 ± 0,4
CC_RF3 cozido a vapor	5,0 ± 0,2
CC_CTR congelado (24 h)	4,5 ± 0,5
CC_RF3 congelado (24 h)	4,6 ± 0,4
CC_CTR congelado (3 meses)	3,3 ± 0,2
CC_RF3 congelado (3 meses)	4,1 ± 0,7
SA_CTR (cru)	8,4 ± 0,3
SA_RF1 (cru)	8,3 ± 0,1
SA_RF2 (cru)	8,6 ± 0,6
SA_RF3 (cru)	9,2 ± 0,2
SA_CTR cozido a vapor	7,0 ± 0,3
SA_RF1 cozido a vapor	8,0 ± 0,3
SA_RF2 cozido a vapor	7,8 ± 0,2
SA_RF3 cozido a vapor	8,0 ± 0,1
SA_CTR congelado (24 h)	7,1 ± 0,3
SA_RF3 congelado (24 h)	5,3 ± 0,5
SA_CTR congelado (3 meses)	9,8 ± 0,6
SA_RF3 congelado (3 meses)	10 ± 0,9

Abreviaturas: CC – *Cyprinus carpio* (carpa); SA– *Sparus aurata* (dourada); CTR – Controlo; RF1 – Ração fortificada 1; RF 2- Ração fortificada 2; RF3 – Ração fortificada 3.

Anexo 7 – Perfil de ácidos gordos (média ± desvio padrão; %) nos filetes de dourada (crua).

Ácido gordo	Tratamento SA_CTR	Tratamento SA_RF1	Tratamento SA_RF2	Tratamento SA_RF3
14:0	2,5 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,8 ± 0,2	2,7 ± 0,1
15:0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
16:0	18,1 ± 0,4	19,9 ± 1,2	20,8 ± 0,8	20,1 ± 0,7
17:0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
18:0	4,5 ± 0,2	4,5 ± 0,2	4,6 ± 0,3	4,4 ± 0,2
20:0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
21:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:0	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
23:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
24:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
∑16:1	4,4 ± 0,1	4,3 ± 0,1	4,4 ± 0,2	4,4 ± 0,2
∑17:1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
∑18:1	35,9 ± 0,4	35,3 ± 0,9	34,1 ± 0,3	33,9 ± 0,4
∑20:1	1,4 ± 0,0	1,4 ± 0,0	1,4 ± 0,0	1,4 ± 0,1
∑22:1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,0 ± 0,0
∑24:1	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0
16:2ω4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
16:3ω4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
16:4ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
18:2ω6	18,4 ± 0,4	17,6 ± 0,8	16,6 ± 0,5	17,5 ± 0,4
18:3ω3	4,4 ± 0,4	3,9 ± 0,3	3,6 ± 0,2	3,9 ± 0,3
18:4ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
20:2ω6	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
20:4ω6	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
20:3ω3	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
20:4ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
20:5ω3	2,6 ± 0,2	2,2 ± 0,2	2,3 ± 0,2	2,5 ± 0,3
21:5ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:4ω6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:5ω6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:5ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:6ω3	4,3 ± 0,2	5,0 ± 0,4	5,6 ± 0,4	5,6 ± 0,3

Abreviaturas: SA– *Sparus aurata*; CTR – Controlo; RF1 – Ração fortificada 1; RF 2- Ração fortificada 2; RF3 – Ração fortificada 3.

Anexo 8 – Perfil de ácidos gordos (média ± desvio padrão; %) nos filetes de carpa cozinhada.

Ácido gordo	Tratamento CC_CTR	Tratamento CC_RF1	Tratamento CC_RF2	Tratamento CC_RF3
14:0	0,7 ± 0,1	1,4 ± 0,5	1,0 ± 0,1	0,8 ± 0,0
15:0	0,1 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
16:0	17,3 ± 0,5	16,2 ± 0,3	15,7 ± 0,2	16,3 ± 0,3
17:0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0
18:0	3,8 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,7 ± 0,2	3,5 ± 0,1
19:0	0,9 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,7 ± 0,0
20:0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0
21:0	1,2 ± 0,0	0,7 ± 0,3	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,0
22:0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
23:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
24:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
∑16:1	5,7 ± 0,3	4,9 ± 0,4	6,1 ± 0,2	5,1 ± 0,5
∑17:1	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,0
∑18:1	40,2 ± 1,0	35,7 ± 2,2	38,4 ± 1,4	40,1 ± 2,2
∑20:1	2,2 ± 0,2	2,5 ± 0,7	2,8 ± 0,3	2,5 ± 0,3
∑22:1	0,2 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,1
∑24:1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
16:2ω4	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
16:3ω4	0,2 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0
16:4ω3	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0
18:2ω6	15,1 ± 0,6	15,8 ± 0,4	15,7 ± 0,4	16,5 ± 0,9
18:3ω3	1,3 ± 0,1	2,6 ± 0,7	1,8 ± 0,0	2,2 ± 0,3
18:4ω3	0,1 ± 0,0	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
20:2ω6	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,0
20:4ω6	3,4 ± 0,3	1,3 ± 0,5	1,8 ± 0,4	2,0 ± 0,3
20:3ω3	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
20:4ω3	0,1 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,1
20:5ω3	0,3 ± 0,0	1,6 ± 0,6	1,0 ± 0,1	0,7 ± 0,0
21:5ω3	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:4ω6	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1
22:5ω6	1,1 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1
22:5ω3	0,3 ± 0,0	0,8 ± 0,5	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,0
22:6ω3	1,9 ± 0,1	6,2 ± 0,2	4,8 ± 0,8	3,6 ± 0,4

Abreviaturas: CC – *Cyprinus carpio*; CTR – Controlo; RF1 – Ração fortificada 1; RF 2- Ração fortificada 2; RF3 – Ração fortificada 3.

Anexo 9 – Perfil de ácidos gordos (média ± desvio padrão; %) nos filetes de dourada cozinhada.

Ácido gordo	Tratamento SA_CTR	Tratamento SA_RF1	Tratamento SA_RF2	Tratamento SA_RF3
14:0	2,2 ± 0,2	2,1 ± 0,0	2,3 ± 0,2	2,3 ± 0,2
15:0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,1
16:0	15,7 ± 0,5	16,2 ± 0,1	16,3 ± 0,6	16,3 ± 0,3
17:0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0
18:0	3,8 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,8 ± 0,2	3,7 ± 0,1
19:0	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0
20:0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
21:0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
22:0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1
23:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
24:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
∑16:1	4,7 ± 0,2	4,8 ± 0,2	4,9 ± 0,4	4,7 ± 0,1
∑17:1	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0
∑18:1	34 ± 0,3	33,8 ± 0,6	32,3 ± 0,3	32,5 ± 0,8
∑20:1	1,6 ± 0,0	1,6 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,6 ± 0,0
∑22:1	0,8 ± 0,0	0,5 ± 0,5	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,0
∑24:1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
16:2ω4	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,1
16:3ω4	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
16:4ω3	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
18:2ω6	16,9 ± 0,1	17 ± 0,8	15,8 ± 0,2	16,2 ± 0,5
18:3ω3	3,8 ± 0,1	3,7 ± 0,2	3,5 ± 0,1	3,7 ± 0,1
18:4ω3	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
20:2ω6	0,5 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
20:4ω6	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,0
20:3ω3	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
20:4ω3	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
20:5ω3	2,6 ± 0,0	2,3 ± 0,0	2,6 ± 0,1	2,7 ± 0,1
21:5ω3	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1
22:4ω6	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,1
22:5ω6	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,3	0,5 ± 0,0	0,3 ± 0,3
22:5ω3	1,4 ± 0,0	1,3 ± 0,0	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,0
22:6ω3	5,1 ± 0,4	6,4 ± 0,1	6,7 ± 0,4	6,7 ± 0,3

Abreviaturas: SA– *Sparus aurata*; CTR – Controlo; RF1 – Ração fortificada 1; RF 2- Ração fortificada 2; RF3 – Ração fortificada 3.

Anexo 10 – Perfil de ácidos gordos (média ± desvio padrão; %) nos filetes de carpa congelada (ao fim de 24 h e 3 meses).

Ácido gordo	24h_Tratamento CC-CTR	24h_Tratamento CC-RF3	3meses_Tratamento CC-CTR	3meses_Tratamento CC-RF3
14:0	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,2	0,8 ± 0,0	1,0 ± 0,1
15:0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
16:0	19,7 ± 1,8	22,3 ± 1,8	22,9 ± 2,1	21,9 ± 3,3
17:0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
18:0	5,8 ± 1,6	4,5 ± 0,5	4,9 ± 0,3	4,5 ± 0,6
19:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
20:0	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
21:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:0	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,4	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,1
23:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
24:0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
∑16:1	3,7 ± 1,9	4,0 ± 0,4	3,8 ± 0,3	4,0 ± 0,9
∑17:1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
∑18:1	41,5 ± 1,2	37,6 ± 2,6	41 ± 2,7	37,5 ± 0,9
∑20:1	5,3 ± 0,5	4,9 ± 1,1	4,8 ± 0,8	4,3 ± 0,3
∑22:1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
∑24:1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
16:2ω4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
16:3ω4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
16:4ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
18:2ω6	15,9 ± 0,6	16,1 ± 1,5	16 ± 0,7	17,6 ± 2,5
18:3ω3	1,7 ± 0,3	1,8 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,9 ± 0,3
18:4ω3	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
20:2ω6	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0
20:3ω3	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0
20:4ω6	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0
20:4ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
20:5ω3	0,3 ± 0,0	0,6 ± 0,2	0,2 ± 0,0	0,6 ± 0,1
21:5ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:4ω6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:5ω6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:5ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:6ω3	2,3 ± 0,1	3,5 ± 1,8	1,3 ± 0,2	3,1 ± 0,6

Abreviaturas: CC–*Cyprinus carpio*; CTR – Controlo; RF3 – Ração fortificada 3.

Anexo 11 – Perfil de ácidos gordos (média ± desvio padrão; %) nos filetes de dourada congelada (ao fim de 24 h e 3 meses).

Ácido gordo	24h_Tratamento SA-CTR	24h_Tratamento SA-RF3	3meses_Tratamento SA-CTR	3meses_Tratamento SA-RF3
14:0	2,6 ± 0,0	2,8 ± 0,1	2,7 ± 0,2	2,6 ± 0,2
15:0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
16:0	18,7 ± 0,2	19,8 ± 0,5	20,2 ± 1,0	20,1 ± 0,5
17:0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
18:0	4,1 ± 0,1	4,4 ± 0,2	4,9 ± 0,3	4,4 ± 0,3
19:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
20:0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
21:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:0	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,1
23:0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
24:0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
∑16:1	4,7 ± 0,1	4,9 ± 0,4	4,2 ± 0,6	4,4 ± 0,3
∑17:1	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
∑18:1	33,1 ± 0,6	32,1 ± 0,3	34,8 ± 1,0	31,7 ± 0,8
∑20:1	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,0
∑22:1	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
∑24:1	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0
16:2ω4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
16:3ω4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
16:4ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
18:2ω6	20 ± 0,6	18,6 ± 0,3	17 ± 0,5	17,6 ± 0,6
18:3ω3	4,9 ± 0,1	4,4 ± 0,4	3,7 ± 0,3	4,1 ± 0,3
18:4ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
20:2ω6	0,6 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,0
20:3ω3	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
20:4ω6	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
20:4ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
20:5ω3	2,6 ± 0,2	2,5 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,7 ± 0,1
21:5ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:4ω6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:5ω6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:5ω3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
22:6ω3	4,1 ± 0,4	5,3 ± 0,3	4,6 ± 0,4	6,9 ± 0,7

Abreviaturas: SA– *Sparus aurata*; CTR – Controlo; RF3 – Ração fortificada 3.