



Maria Cidália Rodrigues Mendes de Oliveira

**Moluscos Bivalves em Portugal:
Composição Química e Metais
Contaminantes**

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

Orientador: Professora Doutora Ana Lúcia Leitão

Co-orientador: Mestre Susana Gonçalves

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Benilde Simões Mendes

Arguente(s): Prof. Doutora Maria Leonor Martins Braz Almeida Nunes
Prof. Doutora Isabel Maria Lopes Pereira Carlos Peres

Vogal(ais): Prof. Doutora Ana Lúcia Monteiro Durão Leitão
Mestre Susana Maria Neves Serra Gonçalves



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro 2012

Maria Cidália Rodrigues Mendes de Oliveira

**Moluscos Bivalves em Portugal:
Composição Química e Metais
Contaminantes**

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

Orientadora: Professora Doutora Ana Lúcia Leitão
Co-orientadora: Mestre Susana Gonçalves

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Benilde Simões Mendes
Arguente(s): Prof. Doutora Maria Leonor Martins Braz Almeida Nunes
Prof. Doutora Isabel Maria Lopes Pereira Carlos Peres
Vogal(ais): Prof. Doutora Ana Lúcia Monteiro Durão Leitão
Mestre Susana Maria Neves Serra Gonçalves



Setembro 2012

Copyright em nome de Maria Cidália Rodrigues Mendes de Oliveira, FCT/UNL e UNL

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa tem 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

A elaboração desta dissertação foi apenas possível com a ajuda de diversas pessoas às quais não posso deixar de exprimir a minha gratidão e apreço.

Em primeiro lugar, à Professora Doutora Ana Lúcia Leitão, gostaria de evidenciar o meu profundo agradecimento pela oportunidade, apoio, disponibilidade e incentivo contínuo, não só no decurso do estágio mas durante o meu percurso académico na FCT.

Aos dirigentes do IPMA pela oportunidade de estágio, nomeadamente à Engenheira Leonor Nunes por me ter proporcionado a possibilidade de realizar o trabalho laboratorial na unidade da qual é coordenadora.

À Doutora Susana Gonçalves, orientadora do trabalho realizado, por todo o apoio, empenho, incentivo e disponibilidade ao longo do estágio e até ao culminar deste trabalho. Não há forma de expressar a minha gratidão.

Agradeço também à Dra. Fernanda Martins, à Dra. Helena Lourenço e à Margarida Muro, pela companhia e apoio constantes e diários no laboratório, por esclarecerem todas as dúvidas e pelos seus preciosos ensinamentos.

Gostaria de agradecer ainda às várias pessoas que tive o prazer de conhecer no IPMA, à Dra. Cláudia Afonso, à Dra. Narcisa Bandarra, à Dra. Amparo Gonçalves, à Dra. Sónia Pedro, ao Manuel Pires, ao Carlos Cardoso e à Patrícia Oliveira, por toda a ajuda e disponibilidade.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório pela alegria e animação constante, nomeadamente à Mafalda, pelo seu bom humor, ao Gabriel, por todos os seus humores, à Mabel, pela presença constante dentro e fora do laboratório, à Oksana, à Maria Teresa, ao Victor e ao Ricardo por tudo o que partilhámos.

Aos meus amigos e colegas de mestrado, por fazerem parte desta caminhada, por todos os momentos, sempre muito didáticos, e por me deixarem também fazer parte da vossa caminhada. Um agradecimento em especial à Sofia Guerreiro, à Carla Martins, à Neuza Franco, à Ana Maria e ao Adriano Augusto pela presença sempre constante, essencial à minha sanidade.

E finalmente, às minhas irmãs, Rita e Sara, pela falta de paciência e por me mostrarem que cada dia é uma dádiva e aos meus pais, é a eles que dedico este trabalho. Obrigada pelo passado, pelo presente e pelo futuro!

Resumo

A cultura e consumo de moluscos bivalves em Portugal são atividades cujo início se perde no tempo e com um grande impacto na economia nacional. Contudo, o consumo destes organismos envolve problemas específicos de segurança alimentar pelo que é necessário um controlo rigoroso associado a um plano de monitorização.

A amêijoia japonesa (*Ruditapes philippinarum*), a ameijola (*Callista chione*), a lambujinha (*Scrobicularia plana*), o mexilhão (*Mytilus edulis*) e a ostra portuguesa (*Crassostrea angulata*) são espécies apreciadas e com elevado interesse socio-económico em Portugal e que podem ser encontradas ao longo da costa portuguesa, nomeadamente nos estuários do Tejo e do Sado. Possuem as partes do corpo moles encerradas num exosqueleto sob a forma de uma concha, composta por duas valvas calcárias e alimentam-se por filtração.

Os bivalves têm grande importância na dieta humana por serem fonte de nutrientes essenciais e por fornecerem proteína de elevada qualidade biológica. Contudo, os benefícios do seu consumo são contrabalançados com o perigo de exposição do consumidor a substâncias poluentes que se podem acumular nas partes edíveis, o que constitui um fator de risco para a saúde humana.

O principal objetivo deste estudo foi a determinação da composição química aproximada e a avaliação da contaminação por metais pesados na parte edível de 5 espécies de moluscos bivalves capturados em Portugal. Por conseguinte, o teor de humidade, gordura, proteína, cinza e glicogénio e as concentrações de cádmio (Cd), mercúrio (Hg) e chumbo (Pb) foram determinados nos tecidos moles (em peso húmido) da amêijoia japonesa (*Ruditapes philippinarum*), da ameijola (*Callista chione*), da lambujinha (*Scrobicularia plana*) e da ostra portuguesa (*Crassostrea angulata*) do Estuário do Sado, da amêijoia japonesa (*Ruditapes philippinarum*) e do mexilhão (*Mytilus edulis*) do estuário do Tejo e do mexilhão (*Mytilus edulis*) da zona de Cascais.

Os moluscos bivalves analisados apresentaram teores de humidade entre 79 e 85%, de proteína entre 10 e 14%, de cinza entre 2 e 4%, de gordura entre 0,3 e 1,5% e de glicogénio entre 0,5 e 2,5%. Os resultados obtidos foram semelhantes aos de outros autores.

Os níveis de metais pesados encontram-se abaixo dos limites da Comissão Europeia, com exceção da ostra portuguesa capturada no estuário do Sado, que poderá representar um risco para o consumo humano. Verificou-se que apenas o chumbo apresentou diferenças entre os dois locais de amostragem, sendo que o estuário do Tejo é o que apresenta valores mais elevados.

Palavras-chave: amêijoia japonesa; ameijola; lambujinha; mexilhão; ostra portuguesa; composição química aproximada; metais contaminantes.

Abstract

In Portugal, mollusc bivalve's production and consumption are activities whose beginning is lost in time and with a great impact on the national economy. Nevertheless, these species consumption involves specific problems of food safety which requires a strict control associated with a plan for monitoring these organisms.

The manila clam (*Ruditapes philippinarum*), the smooth calista (*Callista chione*), the peppery furrow shell (*Scrobicularia plana*), the blue mussel (*Mytilus edulis*) and the Portuguese oyster (*Crassostrea angulata*) species are appreciated and have socio-economic interest in Portugal. These mollusc bivalves can be found along the Portuguese coast, particularly in the Tagus and Sado estuaries. They are organisms whose body parts are held in a closed mole exoskeleton in the form of a shell composed of two limestone valves and feed by filtering.

The bivalves are still of great importance in the human diet as being a source of essential nutrients and providing a protein content of high biological quality. However the benefits of their use are outweighed by the hazard of consumer exposure to pollutants that can be accumulated in the edible part, which can be considered as a risk factor for human health.

The main objective of this study was to determine the proximate chemical composition and evaluate the contamination by heavy metals in the edible part of 5 of mollusc bivalves' species. Consequently, the moisture, fat, protein, ashes and glycogen content and cadmium (Cd), mercury (Hg) and lead (Pb) concentrations were determined in the soft tissue (wet weight basis) of manila clam (*Ruditapes philippinarum*), smooth calista (*Callista chione*), peppery furrow shell (*Scrobicularia plana*) and Portuguese oyster (*Crassostrea angulata*) collected in Sado estuary, of manila clam (*Ruditapes philippinarum*) and blue mussel (*Mytilus edulis*) from Tagus estuary and, once again, of blue mussel (*Mytilus edulis*) collected in Cascais.

Overall percentage values of the main components of mollusks bivalves presented moisture contents around 80 and 85%, protein ranged from 10 to 14%, ash from 2 to 4%, fat from 0.3 to 1.5% and glycogen from 0.5 to 2.5%. The results were similar to other authors.

The levels of heavy metals were all below the European Commission limits, except for Portuguese oyster collected on Sado estuary that can represent a great risk for human consumption. Finally, it was also found that only lead showed differences between the two sampling sites and that Tagus estuary is the one with higher values.

Keywords: manila clam, smooth calista, peppery furrow, blue mussel, Portuguese oyster, heavy metals, proximate chemical composition.

Índice de Matérias

Agradecimentos.....	IV
Resumo	VI
Abstract	VIII
Índice de Matérias	X
Índice de Figuras	XII
Lista de Tabelas	XIV
Lista de Acrónimos.....	XVI
Objetivos.....	1
1. Introdução.....	3
1.1. Importância dos bivalves no setor das pescas	3
1.2. Biologia das espécies.....	5
1.2.1. <i>Mytilus edulis</i> (Linnaeus, 1758).....	6
1.2.1. <i>Callista chione</i> (Linnaeus, 1758)	7
1.2.2. <i>Crassostrea angulata</i> (Lamarck, 1835)	8
1.2.3. <i>Ruditapes philippinarum</i> (Adams & Reeve, 1850)	9
1.2.4. <i>Scrobicularia plana</i> (Linnaeus, 1758).....	10
1.3. Valor nutricional e importância dos bivalves na alimentação	11
1.4. Metais contaminantes	13
1.4.1. Mercúrio.....	15
1.4.2. Cádmio	16
1.4.3. Chumbo	17
1.5. Locais de estudo	18
1.5.1. Estuário do Tejo e Baía de Cascais	18
1.5.2. Estuário do Sado	20
2. Materiais e métodos	23
2.1. Amostragem / Matéria-prima.....	23
2.2. Determinações analíticas	23
2.2.1. Composição química aproximada	23
2.2.1.1. Humidade	23
2.2.1.2. Proteína	24

2.2.1.3.	Gordura livre	25
2.2.1.4.	Cinza total.....	27
2.2.1.5.	Glicogénio.....	28
2.2.2.	Quantificação de metais contaminantes	30
2.2.2.1.	Cádmio e chumbo	30
2.2.2.2.	Merúrio total.....	33
2.3.	Valor energético	35
2.1.	Validação das técnicas analíticas	35
2.2.	Análise estatística.....	35
3.	Resultados.....	37
3.1.	Composição química aproximada	37
3.2.	Metais contaminantes	46
4.	Considerações finais	55
4.1.	Perspetivas futuras.....	56
5.	Bibliografia.....	59
	Anexos.....	66
6.	Dados	67

Índice de Figuras

Figura 1.1 - Capturas nominais anuais em toneladas por espécie em Portugal.	4
Figura 1.2- <i>Mytilus edulis</i> . Fonte: BOE, 2007.	6
Figura 1.3 - <i>Callista chione</i> . Fonte: BOE, 2007.....	8
Figura 1.4 - <i>Crassostrea angulata</i> . Fonte: ICNF, 2010.....	8
Figura 1.5 - <i>Ruditapes philippinarum</i> . Fonte: BOE, 2007.	9
Figura 1.6 - <i>Scrobicularia plana</i> . Fonte: BOE, 2007.	11
Figura 1.7 - Ciclo biogeoquímico do mercúrio no ambiente (adaptado de EPA, 1997).....	16
Figura 1.8 - Representação da localização do estuário do Tejo (adaptado de Google Earth™).	19
Figura 1.9 - Representação da localização do estuário do Sado (adaptado de Google Earth™).	21
Figura 2.1 - Unidades de extração de gordura formadas por destilador, extrator, balão e bateria de placas de aquecimento (SBS PC 6L).....	26
Figura 2.2 - Espectrofotómetro de absorção atómica de chama (VARIAN, Spectr AA 55B).	32
Figura 2.3 - Analisador de mercúrio (LECO, AMA 254).....	34
Figura 3.1 - Teor de humidade (%) nas espécies estudadas.	38
Figura 3.2 - Teor de proteína (%) nas espécies estudadas.	39
Figura 3.3 - Comparação entre os teores de proteína e de humidade nas espécies estudadas.	40
Figura 3.4 - Teor de gordura (%) nas espécies estudadas.....	41
Figura 3.5 - Teor de cinza (%) nas espécies estudadas.....	43
Figura 3.6 - Teor de glicogénio (%) nas espécies estudadas.....	44
Figura 3.7 - Valores energéticos (kcal.100 g ⁻¹) das espécies estudadas.	45
Figura 3.8 - Teor de cádmio (mg.kg ⁻¹) nas espécies estudadas (CE, 2008).	50
Figura 3.9 - Teor de chumbo (mg.kg ⁻¹) nas espécies estudadas e limite máximo permitido por lei (CE, 2006).	51
Figura 3.10 - Teor de mercúrio (mg.kg ⁻¹) nas espécies estudadas.	52

Lista de Tabelas

Tabela 1.1 - Hierarquia taxonómica do mexilhão. Adaptado de ITIS, 2012 (http://www.itis.gov/).	6
Tabela 1.2 - Hierarquia taxonómica da ameijola. Adaptado de ITIS, 2012 (http://www.itis.gov/). 7	
Tabela 1.3 - Hierarquia taxonómica da ostra portuguesa. Adaptado de ITIS, 2012 (http://www.itis.gov/).	9
Tabela 1.4 - Hierarquia taxonómica da amêijoia japonesa. Adaptado de ITIS, 2012 (http://www.itis.gov/).	10
Tabela 1.5 - Hierarquia taxonómica da lambujinha. Adaptado de ITIS, 2012 (http://www.itis.gov/).	10
Tabela 1.6 - Valores médios da composição química aproximada ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de parte edível) e do valor energético ($\text{kcal}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de parte edível) de amêijoas, mexilhões e ostras.	12
Tabela 2.1 - Concentrações dos pontos para a curva de calibração.....	29
Tabela 2.2 - Curva de calibração para o cádmio e chumbo.	32
Tabela 3.1 – Composição química aproximada (%) e valor energético ($\text{kcal}\cdot 100\text{g}^{-1}$) dos moluscos bivalves analisados (média \pm desvio padrão).	37
Tabela 3.2 - Composição química aproximada (%) de alguns moluscos bivalves referenciados na literatura.....	38
Tabela 3.3 - Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (média \pm desvio padrão), expressas em $\text{mg}\cdot \text{kg}^{-1}$, nos moluscos bivalves do estuário do Tejo.	46
Tabela 3.4 - Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (média \pm desvio padrão), expressas em $\text{mg}\cdot \text{kg}^{-1}$, nos moluscos bivalves de estuário do Sado.	48
Tabela 3.5 - Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (média \pm desvio padrão) expressas em $\text{mg}\cdot \text{kg}^{-1}$ na amêijoia japonesa dos estuários do Tejo e do Sado.	52
Tabela 3.6 - Teores de cádmio, chumbo e mercúrio ($\text{mg}\cdot \text{kg}^{-1}$) referenciados na literatura para moluscos bivalves.	53
Tabela 6.1 - Composição química aproximada (%) e valor energético ($\text{kcal}\cdot 100\text{g}^{-1}$), das amostras dos moluscos bivalves estudadas, resultado de duas réplicas de amostras constituídas por 15 a 30 organismos.	67
Tabela 6.2 - Concentração de cádmio, chumbo e mercúrio ($\text{mg}\cdot \text{kg}^{-1}$), dos molúsculos bivalves estudados, resultado de duas réplicas de amostras constituídas por 15 a 30 organismos.	68

Lista de Acrónimos

AJS – Amêijoia japonesa do estuário do Sado

AJT – Amêijoia japonesa do estuário do Tejo

ANOVA – Análise de Variância (*Analysis of Variance*)

AS – Ameijola do estuário de Sado

BOE – Boletim Oficial do Estado Espanhol (*Boletín Oficial del Estado*)

CE – Comissão Europeia

DDT - Dicloro-Difenil-Tricloroetano

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

EU - União Europeia (*European Union*)

FAO – Organização para a Alimentação e Agricultura (*Food Agriculture Organization of the United Nations*)

INE – Instituto Nacional de Estatística

IPAC – Instituto Português de Acreditação, I. P.

IPMA, I. P. – Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I. P.

ISO – Organização Internacional de Normalização (*International Organization for Standardization*)

ITIS - Sistema Integrado de Informação Taxonómica (*Integrated Taxonomic Information System*)

MC – Mexilhão da marina de Cascais

MT – Mexilhão do estuário do Tejo

OPS – Ostra Portuguesa do estuário do Sado

PCB - Bifenilpoliclorado

PUFA – Ácidos gordos polinsaturados (*polyunsaturated fatty acids*)

Objetivos

Os produtos de pesca e aquacultura têm um papel de relevo na indústria nacional, quer ao nível económico, quer ao nível social, nomeadamente na gastronomia portuguesa pela tradição e pelas suas características nutricionais e organoléticas.

Os bivalves, em particular, são bastantes apreciados, fazendo parte da gastronomia tradicional de algumas regiões e de alguns pratos nacionais emblemáticos, como a carne de porco à alentejana ou as amêijoas à Bulhão Pato.

Os objetivos do trabalho realizado consistiram na análise da composição química aproximada de algumas espécies de bivalves provenientes de diferentes localizações relativamente ao seu teor em proteína, humidade, cinza, gordura e carboidratos.

Os moluscos bivalves estudados neste trabalho foram, provenientes do estuário do Sado, a amêijoa japonesa, a ameijola, a lambujinha e a ostra portuguesa, provenientes do estuário do Tejo, a amêijoa japonesa e o mexilhão, este último também proveniente de Cascais.

Os bivalves possuem a particularidade de recorrerem à filtração de grandes quantidades de água a fim de obterem nutrientes e o oxigénio de que necessitam. Consequentemente, podem tornar-se percussores de diversos agentes nocivos, nomeadamente contaminantes químicos como o mercúrio, o cádmio e o chumbo, ou biológicos, como bactérias, vírus, parasitas e microalgas, suscetíveis de causarem diversas doenças, com agravante para os bivalves que se localizam em zonas lagunares, estuarinas e costeiras, frequentemente próximas de centros urbanos.

Considerando que o consumo de alimentos contaminados é responsável por uma importante via de exposição dos humanos a elementos tóxicos, e que os produtos da pesca e da aquicultura são um dos grupos de alimentos que apresenta maior número de registos de contaminação por metais tóxicos em Portugal, o seu controlo analítico e o acompanhamento do teor destes metais é de extrema importância na medida em que a proteção do consumidor apenas é eficiente quando estão disponíveis dados exatos desses elementos. Desta forma, torna-se imperativo a determinação e avaliação dos níveis de metais pesados em organismos marinhos considerando a sua importância nutricional, a segurança e a qualidade alimentar.

Uma vez que a qualidade terá inevitavelmente de ir ao encontro das atuais exigências dos consumidores, cada vez mais conscientes da importância dos produtos alimentares na sua saúde e bem-estar, o presente estudo insere-se ainda neste contexto. Foca, assim, alguns aspetos da qualidade dos bivalves, em particular a sua composição química aproximada e a contaminação por metais pesados, tais como o mercúrio, o cádmio e o chumbo, em função dos fatores que a podem influenciar, nomeadamente localização, espécie e a comparação dos resultados face aos limites estabelecidos na legislação vigente.

1. Introdução

1.1. Importância dos bivalves no setor das pescas

O consumo de alimentos, nomeadamente de produtos da pesca, tem sido condicionado ao longo dos tempos devido não só à sua disponibilidade, mas também a fatores culturais e religiosos. Contudo, no que diz respeito aos bivalves, são muito poucas as comunidades que colocam restrições ao seu consumo (Silva e Batista, 2008; Torres, 2011).

Em 2010, a nível mundial, a quantidade de produtos da pesca obtidos por cultura e por apanha foi cerca de 148 milhões de toneladas, com um valor total de aproximadamente 217,5 bilhões de dólares. Com o crescimento sustentado da produção de produtos da pesca e o desenvolvimento dos canais de distribuição, o abastecimento mundial destes produtos tem vindo a crescer dramaticamente nas últimas cinco décadas, com uma taxa média de crescimento de 3,2% no período 1961-2009, superando o aumento demográfico de 1,7% da população mundial. O consumo mundial anual de produtos da pesca *per capita* aumentou de uma média de 9,9 kg (peso vivo) em 1960 para 18,4 kg em 2009 (FAO, 2012).

O interesse pelos moluscos bivalves aumenta se tivermos em consideração o recurso natural que as áreas de crescimento e apanha podem representar, em especial os estuários. Os estuários são áreas de alta produtividade, cruciais na história de vida de muitos peixes, invertebrados e pássaros (Garcês e Costa; 2009). Densas camadas de bivalves (epifauna e infauna) ocorrem em estuários costeiros com elevada produtividade primária, representando uma importante fonte de alimento desde a pré-história (Silva e Batista, 2008; Oliveira *et al.*, 2010). No entanto, a sobre-exploração do ambiente aquático tem gerado impactos nos ecossistemas e consequentemente uma redução dos leitos de marisco naturais, conduzindo à necessidade de intervenção humana na sua produção.

O resultado é o desenvolvimento da produção artificial de moluscos bivalves e exploração pela indústria alimentar (Lees, 2000; Helm e Bourne, 2004; Oliveira *et al.*, 2010). Desta forma, a aquicultura tem vindo a ocupar um papel cada vez mais significativo na satisfação das necessidades alimentares da população, cumprindo ainda objetivos socio-económicos uma vez que é geradora de pequenas e médias empresas (Helm e Bourne, 2004; INE, 2012). A produção aquícola aumentou exponencialmente nos últimos 50 anos, tornando-se uma das indústrias de alimentos de mais rápido crescimento (Helm e Bourne, 2004; Silva e Batista, 2008). Em algumas regiões do mundo este sector constitui a única forma de assegurar o fornecimento de pescado às populações (Helm e Bourne, 2004).

Das 148 milhões de toneladas do aprovisionamento mundial de produtos da pesca e aquicultura, em 2010, cerca de 60 milhões de toneladas corresponderam à produção em aquicultura (FAO, 2012).

Relativo aos moluscos bivalves, comparando a produção dos mesmos por pesca e por aquicultura em 2005, a produção foi de 2,7 milhões de toneladas e 12,9 milhões de toneladas,

respetivamente (Helm e Bourne, 2004; Silva e Batista, 2008). Na Europa, em 2010, a produção de bivalves correspondeu a 26,1% da produção aquícola total (FAO, 2012).

Em Portugal, a cultura de moluscos bivalves é uma atividade cujo início se perde no tempo e, embora seu consumo *per capita* seja inferior a 5 Kg/pessoa/ano, apresentam grande interesse a nível gastronómico, integrados na gastronomia tradicional de algumas regiões e de alguns pratos emblemáticos. Além da sua importância do ponto de vista gastronómico e cultural, os bivalves apresentam ainda um papel fulcral na indústria da pesca nacional, quer pela produção, quer pelo número de pessoas que envolve e depende da sua apanha e comercialização (Silva e Batista, 2008; Torres, 2011).

A captura de moluscos no ano de 2010 registou um aumento de 17% em quantidade e 27% em valor face ao ano de 2009 (INE, 2012). Contudo, os valores da produção de moluscos bivalves são irregulares e nem sempre fáceis de estimar devido a interdições pontuais da pesca, impostas como medidas de gestão de segurança e ainda devido a índices variáveis de mortalidade que decorrem, entre outros fatores, do maneio nos viveiros, utilização de semente inadequada e alterações da qualidade da água (Silva e Batista, 2008). O gráfico que se encontra na Figura 1.1, obtido através dos valores disponibilizados pelo INE, vem corroborar as oscilações e irregularidades referidas na produção de moluscos bivalves em Portugal.

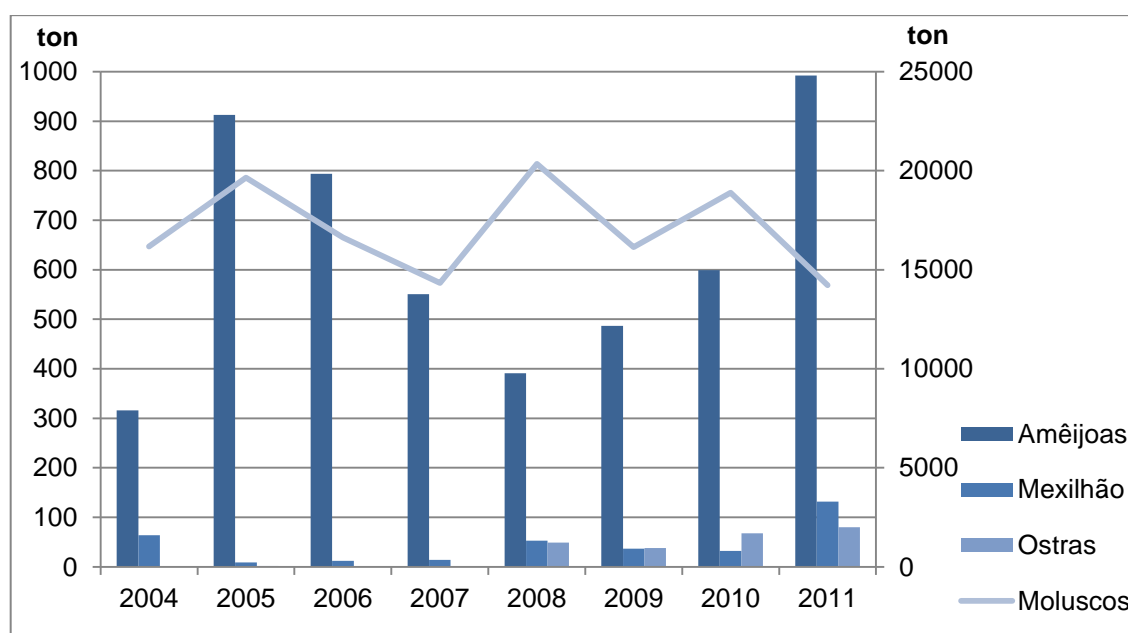


Figura 1.1 - Capturas nominais anuais em toneladas por espécie em Portugal.

Segundo o INE, no ano 2010, a produção em aquicultura foi de aproximadamente 8 toneladas, representando em valor cerca de 46 milhões de euros, o que corresponde a um aumento de 0,2% em quantidade e de 5,0% em valor face ao ano de 2009. Os moluscos bivalves representaram cerca de 48% desta produção, sendo as amêijoas a espécie mais produzida (INE, 2012).

Relativamente aos estabelecimentos licenciados em aquicultura, no final de 2010 existiam 1561 estabelecimentos, para águas doces, salgadas e salobras, incluindo unidades de reprodução e de engorda, o que significa mais 36 unidades em relação a 2009, apesar de se assistir a uma redução em cerca de 9% da área total. Destes, cerca de 89% eram viveiros para produção de moluscos bivalves, representando cerca de mais 1% relativamente a 2009 (INE, 2012).

Os moluscos bivalves comercializados em Portugal provêm de estabelecimentos de culturas marinhas (vulgo “viveiros”), da pesca e da apanha efetuada por mariscadores que tem sido praticada principalmente nas zonas entre marés do Algarve (Ria Formosa e Ria de Alvor), Aveiro (Ria de Aveiro), Lagoa de Óbidos (Foz do Arelho) e estuários dos rios Sado e Tejo. Em Portugal são comercializadas cerca de 16 espécies diferentes de bivalves vivos provenientes das várias zonas de produção (Silva e Batista, 2008).

1.2. Biologia das espécies

Os bivalves pertencem ao filo Mollusca, um grupo que inclui animais tão diversos como os gastrópodes, cefalópodes (lulas e polvos), entre outros. O filo inclui seis classes das quais uma é a Lamellibranchia ou Bivalvia. Os organismos incluídos nesta classe são caracteristicamente comprimidos lateralmente e as partes do corpo moles encontram-se completa ou parcialmente encerradas num exosqueleto sob a forma de uma concha, composta por duas valvas calcárias. As valvas são unidas por ligamentos e músculos adutores e articulam-se numa charneira, que possui, usualmente, dentes (cardinais ou laterais). O bivalve fecha a concha através da contração dos músculos adutores, que podem ser um ou dois, conforme a espécie. A geometria e distribuição das cicatrizes dos músculos adutores no interior da valva é um critério importante na classificação dos bivalves. A maior parte apresenta simetria bilateral, sendo o plano de simetria correspondente ao plano da charneira (Thorp e Covich, 1991; Lees, 2000; Helm e Bourne, 2004).

São animais maioritariamente marinhos, bênticos infaunais ou epifaunais, alimentando-se por filtração, o corpo é constituído essencialmente por um pé e uma série de lâminas branquiais e, em alguns organismos, por sífões inalantes e exalantes para a entrada e saída da água, que traz oxigénio e alimento. As brânquias dos animais incluídos nesta classe estão bem desenvolvidas, sendo órgãos especializados tanto para a alimentação, como para a respiração (Helm e Bourne, 2004). São constituídas por dois pares de lâminas que possuem pequenos filamentos, os cílios, que conduzem a corrente de água para a cavidade do manto (Silva e Batista, 2008).

Existem desde o Câmbrico, tendo sofrido uma expansão significativa a partir do Mesozoico. O grupo é atualmente muito diversificado, com cerca de 15 000 espécies. A separação das diferentes subclasses faz-se pelo tipo e estrutura das brânquias nos organismos vivos, e pelas características das valvas nos bivalves fósseis (Thorp e Covich, 1991; Helm e Bourne, 2004).

Os moluscos bivalves podem ser encontrados tanto em água salobra, como em água doce. No entanto, as espécies marinhas são as mais abundantes e distribuem-se por todo o globo e por várias profundidades. Relativamente ao tipo de alimentação, podem ser classificados como

suspensívoros ou filtradores no caso de se alimentarem de partículas em suspensão na água ou detritívoros, caso se alimentem dos detritos da matéria orgânica em decomposição sobre o sedimento (Silva e Batista, 2008).

1.2.1. *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758)

Mytilus edulis (Linnaeus, 1758), de nome comum mexilhão ou “*blue mussel*” em língua inglesa, é um bivalve da família Mytilidae (Tabela 1.1). Possui uma concha sólida, equivalve e inequilateral, cilindroide de forma aproximadamente triangular. Apresenta o umbo pontiagudo e encurvado. A superfície da concha é lisa, com grande número de finas estrias de



Figura 1.2 - *Mytilus edulis*. Fonte: BOE, 2007.

crescimento concêntricas, e a charneira desprovida de dentes. A marca do músculo adutor anterior é pequena enquanto a do posterior é larga. Possui as margens internas lisas e 3 a 12 pequenas crenulações. Não possui dentes. A cor exterior é negra, azulada ou violácea escura e internamente a concha é gris azulada nacarada. Apresenta o perióstraco opaco, castanho-escuro-esverdeado ou negro. A sua dimensão pode ser entre 30 e 140 mm (FAO, 2005; BOE, 2007; Silva e Batista, 2008).

Tabela 1.1 - Hierarquia taxonómica do mexilhão. Adaptado de ITIS, 2012 (<http://www.itis.gov/>).

Reino	Animalia
Filo	Mollusca
Classe	Bivalvia
Subclasse	Pteriomorphia
Ordem	Mytiloida
Família	Mytilidae
Género	<i>Mytilus</i>
Espécie	<i>Mytilus edulis</i>

Esta espécie é unissexual. A fecundação ocorre na água, onde são depositados os ovos e os espermatozoides. O tempo de incubação depende da temperatura podendo variar entre 1 a 2 semanas. Depois deste período nasce a larva que nada durante 20 dias, ao fim do qual começa a segregar uma concha transparente e rudimentar, fixando-se sobre as rochas ou qualquer outro objeto. O ciclo reprodutor ocorre desde março-abril até setembro-outubro com dois máximos de intensidade na primavera e outro no outono, sendo, no entanto, o primeiro mais intenso (BOE, 2007; Silva e Batista, 2008).

O crescimento do mexilhão é também sazonal, sendo quase inexistente no Inverno devido à diminuição da temperatura e da disponibilidade de alimento. Pelo contrário, durante a Primavera e

Verão, as altas temperaturas provocam o aumento da taxa de alimentação e, conseqüentemente, o aumento do crescimento (Boyden, 1972; Camacho *et al.*, 1995).

São filtradores que se alimentam de pequenas partículas orgânicas flutuantes. Podem ser confundidos com o mexilhão mediterrânico *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1818), uma vez que podem apresentar morfologias muito semelhantes (BOE, 2007; Silva e Batista, 2008).

Fixam-se às rochas ou a outro tipo de substrato através do bisso, na zona intermarés até 40 m, formando grandes colónias. Muito comum em todo o litoral atlântico e mediterrânico, bem como em águas estuarinas, tanto em zonas intertidais como subtidais. Podem viver em águas poluídas, como nas áreas portuárias. Pode ser cultivado em grande escala fixado a estacas enterradas no solo ou em cabos suspensos de jangadas. Pode também ser capturado com faca de mariscar. É comercializado em fresco, congelado ou em conserva (Silva e Batista, 2008).

1.2.1. *Callista chione* (Linnaeus, 1758)

Callista chione (Linnaeus, 1758), da família Veneridae (Tabela 1.2) de nome comum ameijola ou “smooth calista” em língua inglesa, é um bivalve relativamente grande, com o umbo proeminente e deslocado para o lado interior da concha. A superfície exterior é macia e lustrosa com numerosas linhas de crescimento concêntricas e radiais bem visíveis. Apresenta uma coloração que pode ir do creme ligeiramente esverdeado a um castanho mais forte, variando provavelmente com a cor do meio envolvente.

O interior da concha é branco levemente rosado. O tamanho máximo de referência é de 10 mm (Silva e Batista, 2008).

Tabela 1.2 - Hierarquia taxonómica da ameijola. Adaptado de ITIS, 2012 (<http://www.itis.gov/>).

Reino	Animalia
Filo	Mollusca
Classe	Bivalvia
Subclasse	Heterodonta
Ordem	Veneroida
Superfamília	Veneroidea
Família	Veneridae
Género	<i>Callista</i>
Espécie	<i>Callista chione</i>

A ameijola pode atingir os 17 anos de idade e efetua posturas unicamente a partir do 2º ano de idade, no entanto pode fazê-lo durante o ano desde que presentes condições favoráveis de temperatura e alimento.



Figura 1.3 - *Callista chione*. Fonte: BOE, 2007.

Trata-se de uma espécie bentónica que se encontra entre 0 e 100 m em fundos de areia. A sua captura é feita com ganchorra rebocada por embarcação.

1.2.2. *Crassostrea angulata* (Lamarck, 1835)

Crassostrea angulata (Lamarck, 1835), de nome comum ostra portuguesa ou “portuguese oyster” em língua inglesa, é um bivalve da família Ostreidae, de concha sólida oval, irregular e alongada (Tabela 1.3). A valva inferior apresenta pregas radiais espaçadas e o interior em forma de taça, côncava, enquanto a valva superior é mais plana e com estrias de crescimento muito lameladas. A charneira é desprovida de dentes. Apresenta cor branco-amarelada ou creme, com raios ou flâmulas castanhas ou púrpura. O interior é branco, com impressões musculares púrpuras, em forma de feijão, próximas do bordo posterior. Tem uma dimensão média de cerca de 150 mm (BOE, 2007; Silva e Batista, 2008).



Figura 1.4 - *Crassostrea angulata*. Fonte: ICNF, 2010.

É um organismo unissexual. A fecundação ocorre externamente na água. Do ovo nasce uma pequena larva cilada que durante 15 a 20 dias faz parte do plâncton. No final desta fase de metamorfose vai para o fundo onde inicia a sua vida bentónica e sedentária. O ciclo de reprodução é amplo, estendendo-se desde a primavera até ao outono, sendo a sua atividade máxima em junho (Silva e Batista, 2008).

Este bivalve adapta-se a todos os tipos de substratos e encontra-se preferencialmente nas zonas intermarés. É uma espécie própria de estuários e desembocaduras de rios (Silva e Batista, 2008).

Tabela 1.3 - Hierarquia taxonómica da ostra portuguesa. Adaptado de ITIS, 2012 (<http://www.itis.gov/>).

Reino	Animalia
Filo	Mollusca
Classe	Bivalvia
Subclasse	Pteriomorpha
Ordem	Ostreoida
Família	Ostreidae
Género	<i>Crassostrea</i>
Espécie	<i>Crassostrea angulata</i>

Esta espécie é nativa da costa portuguesa. A nível nacional distribui-se para sul da Figueira da Foz até ao Algarve com grande incidência no estuário do Sado. A maior parte da produção atual é obtida em viveiros e é comercializada em fresco. Em Portugal, no último ano têm-se registado um aumento da produção na região do rio Sado, que é exportada quase na totalidade (Silva e Batista, 2008).

1.2.3. *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850)

Ruditapes philippinarum (Adams & Reeve, 1850), de nome comum amêijoia-japonesa ou “manila clam” ou “japanese carpet shell” em língua inglesa, é um molusco bivalve da família Veneridae, de concha sólida, equívale, ovoide e quadrangular, apresentando a margem posterior quase reta (Tabela 1.4). Possui valvas simétricas, com costelas serradas concêntricas e radiais, mas com o padrão reticulado menos apertado e mais marcado do que em *Ruditapes decussatus*, a espécie congénere nativa de Portugal. A charneira tem três dentes cardinais em cada valva, mas não tem dentes laterais. O seio paleal é profundo e arredondado, sem chegar ao centro da valva. O bordo das valvas é liso. A cor da concha é muito variável, mas geralmente acastanhada, decorada com desenhos diversos, apresentando frequentemente grandes manchas ou bandas escuras concêntricas ou irregulares. O interior é esbranquiçado; ocasionalmente de cor púrpura na região próxima ao umbo. Pode atingir até 80 mm de comprimento (FAO, 2005; BOE, 2007).

Esta espécie vive enterrada a cerca de 40 mm da superfície, em sedimentos arenosos e vasosos das zonas intertidais e subtidais. É um organismo eurialino que ocorre na região inferior dos estuários (Silva e Batista, 2008).

**Figura 1.5** - *Ruditapes philippinarum*. Fonte: BOE, 2007.

O período de reprodução varia de acordo com a área geográfica, mas observa-se normalmente um período de repouso sexual desde finais do outono até ao início do inverno. A gametogénese no meio natural dura de dois a cinco meses, seguidos da reprodução. Pode haver um segundo pico de desova dois a três meses mais tarde. A temperatura e a disponibilidade alimentar são dois parâmetros que afetam a gametogénese, que ocorre mais rapidamente com o aumento da temperatura (FAO, 2005).

Tabela 1.4 - Hierarquia taxonómica da amêijoia japonesa. Adaptado de ITIS, 2012 (<http://www.itis.gov/>).

Reino	Animalia
Filo	Mollusca
Classe	Bivalvia
Subclasse	Heterodonta
Ordem	Veneroida
Superfamília	Veneroidea
Família	Veneridae
Género	<i>Venerupis</i>
Espécie	<i>Venerupis philipinarum</i> ; <i>Tapes philipinarum</i> ; <i>Tapes japónica</i> ; <i>Venerupis semidecussata</i> ; <i>Venerupis japónica</i> ; <i>Ruditapes philipinarum</i>

1.2.4. *Scrobicularia plana* (Linnaeus, 1758)

Scrobicularia plana (Linnaeus, 1758), de nome comum lambujinha ou lamejinha ou ainda “peppery furrow” em língua inglesa, é da família Scrobicularidae (Tabela 1.5). Tem uma concha quebradiça, oval e quase equilátera. As valvas são semelhantes, com linhas concêntricas finas e estrias de crescimento irregulares, charneira com dois dentes na valva esquerda e um na direita. A cor exterior é cinzenta-amarela pálida e no interior, branca. Apresenta uma dimensão média de 40 mm, mas pode atingir os 70 mm (FAO, 2005; BOE, 2007; Silva e Batista, 2008).

Tabela 1.5 - Hierarquia taxonómica da lambujinha. Adaptado de ITIS, 2012 (<http://www.itis.gov/>).

Reino	Animalia
Filo	Mollusca
Classe	Bivalvia
Subclasse	Heterodonta
Ordem	Veneroida
Superfamília	Tellinoidea
Família	Semelidae
Género	<i>Scrobicularia</i>
Espécie	<i>Scrobicularia plana</i>

Espécie bissexuada com época de reprodução no verão. As larvas nadam livremente (velígeras) e sofrem metamorfoses até adultos. Entre a fase de plâncton e o estado adulto decorrem 2-3 semanas. Esta espécie encontra-se enterrada no lodo, areia ou substratos arenosos da zona das marés e infralitorais; é frequente em águas de salinidade baixa e com detritos orgânicos dos estuários.

A lambujinha é um bivalve comum no litoral português em particular na Ria de Aveiro e rio Tejo. E a sua captura é realizada com ganchorra de mão ou rebocada ou ainda com faca de mariscar (BOE, 2007; Silva e Batista, 2008).



Figura 1.6 - *Scrobicularia plana*. Fonte: BOE, 2007.

1.3. Valor nutricional e importância dos bivalves na alimentação

Na história da humanidade, os produtos da pesca têm sido considerados como tendo atributos especiais para a saúde, especialmente em várias populações étnicas. Recentemente, a pesquisa científica confirmou certas reivindicações e controvérsias em relação a estas propriedades. O peixe e o marisco são uma parte importante de uma dieta saudável. Peixes e frutos do mar contêm proteínas de alta qualidade, são pobres em gordura saturada e contêm dois ácidos gordos ómega-3, o ácido eicosapentoico (EPA) e ácido docosahexanóico (DHA) (Hui, *et al.*, 2006). Os bivalves em particular, apresentam um elevado teor de ácidos gordos polinsaturados e a relação entre os PUFA's do tipo ómega-3 e do tipo ómega-6 é adequada a uma alimentação saudável (Fauconneau, 2001; Hui *et al.*, 2006; Silva e Batista, 2008). Desta forma, é geralmente recomendado o consumo de, pelo menos, uma refeição, por semana, que inclua produtos derivados da pesca (Fauconneau, 2001; Hui *et al.*, 2006).

Os bivalves têm ainda uma grande importância na dieta humana por serem fonte de nutrientes essenciais (Fauconneau, 2001; FAO, 2012). O consumo de moluscos bivalves fornece uma fonte de proteína de elevada qualidade biológica, que podem ser interessantes para algumas populações (jovens e idosos), que exigem uma fonte de equilíbrio de aminoácidos essenciais. Os produtos aquáticos são frequentemente a única fonte de proteína animal nos países em desenvolvimento. Os bivalves são também uma fonte de vitaminas (A e D) e minerais essenciais (Fauconneau, 2001; Hui, *et al.*, 2006; Fuentes *et al.*, 2009).

Apesar de apresentarem um baixo teor de gordura, na maioria das espécies capturadas em Portugal situa-se entre 1 e 2%, o perfil de ácidos gordos dos bivalves é bastante interessante do ponto de vista nutricional (Fauconneau, 2001; Hui, *et al.*, 2006; Silva e Batista, 2008). Os níveis de ácidos gordos polinsaturados são superiores aos saturados e, por outro lado, a relação entre o tipo ómega-3 e o tipo ómega-6 é muito adequada a uma alimentação saudável (Silva e Batista, 2008).

De acordo com o teor de gordura, os produtos da pesca são classificados em três categorias, magro, no caso de o teor ser inferior a 2%, meio-gordo, no caso do teor de gordura se encontrar entre 2 e 5%, e gordo, se o teor de gordura for superior a 5%. Os bivalves, em particular, são classificados como produtos da pesca magros (Nunes *et al.*, 2008).

Relativamente aos carboidratos, estes são constituídos na maior parte por glicogénio, verificando-se no entanto variações acentuadas ao longo do ano, relacionadas com o ciclo reprodutivo dos bivalves, registando-se o valor mínimo após a postura (Hui *et al.*, 2006; Silva e Batista, 2008).

Os macro e microminerais constituintes são componentes muito importantes na dieta alimentar e a carência de um deles pode causar graves problemas de saúde, com maior impacto na fase de desenvolvimento e crescimento (Fávaro *et al.*, 2001; Hui *et al.*, 2006). Os minerais como o ferro, o zinco e o magnésio, apresentam um papel muito importante nos sistemas biológicos, enquanto o mercúrio, o cádmio e o chumbo são tóxicos mesmo em quantidades vestigiais (Nielson 2000; Tükerman *et al.*, 2009). Nos bivalves o teor de substâncias minerais pode ser influenciada pela presença de pequenas partículas de areia, contudo, de forma genérica, apresenta uma variação entre 0,8 e 3,0% (Silva e Batista, 2008).

Os principais constituintes são a água e a proteína, tal como se verifica na Tabela 1.6.

Tabela 1.6 - Valores médios da composição química aproximada ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de parte edível) e do valor energético ($\text{kcal}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de parte edível) de amêijoas, mexilhões e ostras.

Produto (100g)	Água (g)	Proteína (g)	Gordura (g)	Minerais (g)	Carboidratos (g)	Energia (kcal/kJ)	Fonte
Amêijoas	81,8	12,8	1,0	1,9	2,6	74/310	Silva e Batista, 2008
	81,1	11,7	0,9	1,0	2,9	66/275	INSA, 2007
	79,	14.7	1,0	--	3,6	86	USDA
Mexilhões	80,6	11,9	2,2	1,6	3,7	86/360	Silva e Batista, 2008
	82,5	12,1	1,5	2,1	2,0	69/290	INSA, 2007
	80,6	11,9	2,2	--	3,7	86	USDA
Ostras	82,1	9,4	2,3	1,2	4,9	81/339	Silva e Batista, 2008
	83,0	8,6	1,7	0,9	3,9	64/269	INSA, 2007

Tal como para os produtos da pesca, a composição e qualidade dos moluscos bivalves pode ser influenciada por diversos fatores (Haard, 1992; Paterson *et al.*, 1997). Assim sendo, a composição bioquímica varia consideravelmente de espécie para espécie, e mesmo entre indivíduos da mesma espécie devido a fatores genéticos, fisiológicos, grau de maturação sexual, idade, sexo, zona geográfica, época do ano, dieta e disponibilidade alimentar, ambientais (temperatura da água, salinidade, oxigénio dissolvido), sistema de cultivo, manuseamento e condições de conservação (Haard, 1992; Paterson *et al.*, 1997; Nunes *et al.*, 2008).

1.4. Metais contaminantes

Desde sempre, a vida no planeta dependeu de três importantíssimos fatores: água, alimento e energia. Com base neles, e conjugados com uma necessidade de conquista de conhecimento e de um território, a Humanidade cresceu exercendo uma influência física em larga escala nos delicados equilíbrios dos ecossistemas. Desta forma, diversos fenómenos antropogénicos são responsáveis pelo processo de degradação dos ecossistemas aquáticos, sobretudo nas zonas costeiras mais vulneráveis e mais expostas a essa ação negligente. A verdade é que a contaminação dos sistemas hídricos é hoje uma realidade insofismável de elevada gravidade (Vasconcelos, 2002).

Os metais pesados constituem um importante grupo de contaminantes ambientais que têm vindo a adquirir uma gravidade crescente. Os metais encontram-se distribuídos naturalmente no ambiente, inseridos nos respetivos ciclos geológicos e biológicos. Contudo, a atividade humana pode ter uma importante influência na medida em que altera a sua forma de distribuição e disponibilidade. Desta forma, a contaminação do ambiente por substâncias orgânicas e inorgânicas, em especial aquelas derivadas das atividades antropogénicas, tem sido um assunto de estudo e preocupação por parte de investigadores, gestores e políticos (Mikac *et al.*, 1996; Goyer e Clarkson, 2001; Vasconcelos, 2002; Usero *et al.*, 2005; Silva e Batista, 2008).

Estes contaminantes possuem a capacidade de entrar nas cadeias alimentares marinhas e ser acumulados e, nalguns casos, bioamplificados, aumentando, assim, a sua concentração, de nível trófico para nível trófico. Deste modo, a concentração que estes poluentes podem atingir nos tecidos das espécies que se encontram no topo das cadeias tróficas, nomeadamente o Homem, são suficientemente elevados, comprometendo os benefícios decorrentes da sua ingestão e exceder os limites de toxicidade, desencadeando distúrbios que podem ser nefastos (Vasconcelos, 2002).

Os metais, como por exemplo o cádmio, chumbo e mercúrio, diferem de outros compostos tóxicos por não serem sintetizados ou destruídos pelo organismo humano, são, por isso, considerados não essenciais uma vez que não se conhece até hoje nenhuma função metabólica, (Ruiter, 1995; Fauconneau, 2001; Goyer e Clarkson, 2001; Silva e Batista, 2008; Veiga *et al.*, 2009).

As fontes antropogénicas de maior impacto destes contaminantes são a agricultura, a indústria, os sub-produtos de atividades humanas e industriais entre outras como efluentes municipais e industriais (Ruiter, 1995; Fauconneau, 2001).

No caso particular dos efluentes, estes encontram-se concentrados dado que a eficiência de remoção de metais pesados varia, por exemplo, de alguns pontos percentuais para o estrôncio até 99% para a prata. Para a maior parte dos metais pesados, a eficiência de remoção durante o tratamento de efluentes não é muito elevada ocorrendo uma libertação regular na água. Consequentemente os organismos marinhos encontram-se mais suscetíveis à contaminação por metais pesados do que outros produtos alimentares (Fauconneau, 2001).

Relativamente aos bivalves, a maioria destes organismos recorre à filtração para obter os nutrientes e o oxigénio necessários, utilizando os cílios para criar uma corrente de água a partir do qual as partículas em suspensão são retidas. Esta capacidade para filtrar grandes quantidades de água, juntamente com o fato de serem organismos sedentários e se localizarem em zonas lagunares, estuarinas e costeiras, frequentemente próximas de centros urbanos, assegura a sua oportunidade de exposição e acumulação de uma vasta gama de poluentes potencialmente tóxicos (Pipe e Coles, 1995; Silva e Batista, 2008).

Os bivalves assim conhecidos pela sua capacidade de acumular metais pesados, bem como outras substâncias nos seus tecidos, sendo, subseqüentemente transferidos para o organismo humano através da cadeia alimentar, são largamente utilizados em ambientes marinhos como bioindicadores para a monitorização da poluição por metais pesados e químicos em águas costeiras (Ruiter, 1995; Göksu *et al.*, 2005; Bigas *et al.*, 2006; Maanan 2007; Gökoğlu *et al.*, 2008; Pan e Wang, 2011). No entanto, tal como a composição e qualidade dos produtos de pesca, também a acumulação de substâncias nocivas depende de fatores endógenos da espécie, como o estado fisiológico, teor em gordura, capacidade de adaptação e as características do biótipo nomeadamente da água, zona geográfica de distribuição, dos seus organismos e da poluição (Silva e Batista, 2008).

Dos metais tóxicos que apresentam maior perigo para a saúde humana destacam-se o chumbo, cádmio e mercúrio. A toxicidade destes elementos envolve uma relação causa-efeito que está relacionada com um série de fatores, nomeadamente à dose a que o indivíduo está exposto (Ruiter, 1995; Fauconneau, 2001; Silva e Batista, 2008).

Em resumo, a qualidade para consumo dos moluscos bivalves está intimamente ligada à qualidade do ambiente onde estes se encontram. Em função da atual degradação ambiental, provocada pelo crescimento populacional, pelo aumento na descarga de efluentes, bem como, pela ausência de programas de monitorização da qualidade da água destinada ao cultivo destes organismos e considerando que a alimentação é uma das principais fontes de exposição, tornou-se imperativo o estabelecimento de normativos legais, estipulando os seus níveis máximos permitidos nos produtos da pesca (Silva e Batista, 2008).

1.4.1. Mercúrio

O mercúrio elementar é um metal pesado líquido em condições de pressão e temperatura normais. A pressão de vapor do mercúrio depende da temperatura, no entanto este evapora facilmente em condições ambientais. Assim sendo, a maior parte do mercúrio encontrado na atmosfera é vapor de mercúrio elementar, difuso no ar e não é encontrado na natureza na forma de líquido puro (EPA, 1997).

A contaminação do ambiente aquático por mercúrio é tanto direta nas águas de superfície (natural e industrial) como indiretas, proveniente da poluição atmosférica global do Hemisfério Norte (Fauconneau, 2001; Sciama 2001). Este elemento está associado à produção de cloro e soda cáustica, em equipamentos elétricos, aparelhos de controlo, tinta, fungicidas, amálgamas dentárias, lâmpadas, óleos lubrificantes e catalisadores.

O mercúrio pode existir em três estados de oxidação: Hg^0 (metálico), Hg_2^{2+} (mercuroso), e Hg^{+2} (mercúrico-Hg). As propriedades e o comportamento químico do mercúrio dependem fortemente do seu estado de oxidação. No caso de não haver oxidação, o mercúrio ocorre na sua forma metálica ou na forma de vapor. Nos seguintes estados de oxidação, em que o átomo perde um e dois eletrões, o mercúrio pode formar inúmeras ligações com outros compostos. No entanto, raramente o mercúrio mercuroso é estável sob condições normais ambientais (EPA, 1997; Goyer e Clarkson, 2001).

A maior parte do mercúrio presente na água, no solo, sedimentos e na biota (todos os meios ambientes, à exceção da atmosfera) encontra-se na forma de sais inorgânicos de mercúrio e compostos orgânicos de mercúrio. Estes últimos são definidos pela presença de uma ligação C-Hg covalente. Os compostos orgânicos de mercúrio podem apresentar-se sobre a forma de metilmercúrio, dimetilmercúrio, etilmercúrio, fenilmercúrio e metoxietilmercúrio. Dos compostos orgânicos, o metilmercúrio é o composto mais importante considerando a exposição humana (Goyer e Clarkson, 2001).

O mercúrio elementar ou inorgânico é especificamente transformado por bactérias aquáticas anaeróbias em metilmercúrio que é um composto altamente tóxico (Fauconneau, 2001; Sciama 2001). Na água, o metilmercúrio representa 1 a 10% do mercúrio total e é regularmente complexado no ambiente. Devido à sua natureza lipofílica que facilita a sua penetração nas células, e à sua afinidade com grupos tiol de certas proteínas, o metilmercúrio acumula-se nos organismos devido à baixa taxa de excreção. Uma vez produzido, o metilmercúrio entra na cadeia alimentar aquática, envolvendo o plâncton, peixes herbívoros e, finalmente, peixes carnívoros (Ruiter, 1995; Claisse *et al.*, 2001; Goyer e Clarkson, 2001).

Desta forma, o metilmercúrio é o principal responsável pela acumulação de mercúrio nos organismos (bioacumulação) e pela transferência do elemento para os seguintes níveis tróficos da cadeia (bioamplificação) (Ruiter, 1995; Claisse *et al.*, 2001).

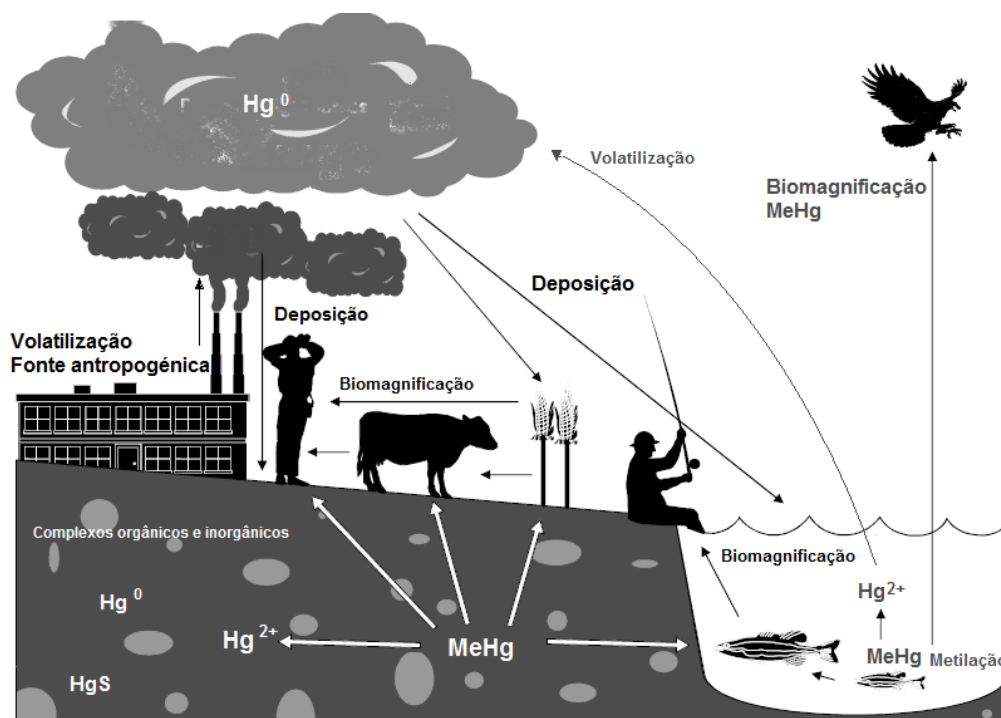


Figura 1.7 - Ciclo biogeoquímico do mercúrio no ambiente (adaptado de EPA, 1997).

A toxicologia e o comportamento ambiental do mercúrio são bastantes complexos, uma vez que a sua toxicidade, mobilidade e bioacumulação dependem da sua forma química. Ou seja, o mercúrio é o metal que apresenta maior diversidade de efeitos consequente das diversas espécies químicas que pode formar. A Figura 1.7 mostra as principais vias do ciclo biogeoquímico do mercúrio.

A exposição prolongada ao metilmercúrio tem efeitos neurotóxicos e teratogénicos, mutagénicos e cancerígenos. As manifestações do seu efeito neurotóxico incluem parestesia, dormência e sensação de formigueiro na boca, lábios e extremidades, particularmente nos dedos dos pés e das mãos, ataxia, descoordenação, dificuldade em engolir e em articular palavras, nervosismo, sensação generalizada de fraqueza e fadiga e dificuldade de concentração, perda de visão e audição, espasmos e tremores. As complicações incluem edema pulmonar, dispneia, cianose, enfisema e finalmente coma e morte (Goyer e Clarkson, 2001; Fauconneau, 2001; Sciama 2001).

1.4.2. Cádmiio

Apesar de ser um constituinte da crosta terrestre, a principal fonte de poluição por cádmio é industrial. Trata-se de uma substância com elevada aplicação industrial. Uma vez que não possui características corrosivas, é frequentemente utilizado como um revestimento de outros metais (galvanoplastia), contudo é também utilizado no fabrico de pilhas e semicondutores, na produção de pigmentos de tintas e plásticos, esmaltes, corantes têxteis, lasers, fertilizantes, fotografia e pirotecnia (Belitz, 2004; Klein, 2005).

Genericamente o cádmio encontra-se em níveis baixos, quer no ambiente, quer nos alimentos e geralmente a alimentação é a principal fonte de contaminação. Nesta medida, os moluscos bivalves são a maior fonte alimentar de cádmio, uma vez que o cádmio se liga a uma proteína (metalotionina) e conseqüentemente acumula-se nestes organismos (Goyer e Clarkson, 2001; Silva e Batista, 2008). Desta forma, o teor deste contaminante aumenta ao longo do tempo, levando a um fenómeno de bioacumulação, uma vez que a taxa de ingestão é geralmente superior à de eliminação por excreção (Silva e Batista, 2008).

O cádmio, quando presente em baixo teor é tolerado no organismo, contudo, este metal tem uma meia-vida longa no corpo (Klein, 2005; Silva e Batista, 2008). A absorção ao nível gastrointestinal é de 5 a 8% e pode aumentar com a carência de cálcio ou ferro ou com dietas baixas em proteína (Goyer e Clarkson, 2001).

A elevada exposição ao cádmio resulta numa acumulação deste no organismo e origina danos em alguns órgãos, nomeadamente no fígado e nos rins, uma vez que aproximadamente 50 a 75% da acumulação de cádmio no corpo ocorre nestes órgãos (Goyer e Clarkson, 2001; Klein, 2005; Silva e Batista, 2008).

As manifestações tóxicas da ingestão de cádmio, nomeadamente conseqüentes de toxicidade crónica, incluem doenças de obstrução pulmonar e enfisema e doenças crónicas do sistema renal, além dos efeitos nefrotóxicos, verifica-se ainda ocorrência de osteoporose e dor óssea, formação de cálculos no sistema ósseo, dor abdominal, vómitos e diarreia, enfisema pulmonar e anemia, bem como outros danos nos sistemas nervoso, imunológico, hepático e sexual (Goyer e Clarkson, 2001; Klein, 2005).

Os efeitos nefrotóxicos resultam em disfunções renais como a glicosúria e a proteinúria. No entanto, pode ainda ocorrer acumulação de cádmio nos rins sem que se verifiquem efeitos nefastos uma vez que este pode ligar-se a uma proteína, formando uma metalotionina sem que exerça características tóxicas, à exceção de se verificar uma sobreposição da concentração crítica de cádmio no organismo (Goyer e Clarkson, 2001; Klein, 2005).

A toxicidade deste metal é irreversível dado que não existe, até à data, nenhum tratamento aplicável clinicamente em humanos para a remoção do cádmio do organismo (Goyer e Clarkson, 2001; Silva e Batista, 2008).

1.4.3. Chumbo

O chumbo é um contaminante ambiental ubíquo e tóxico para a maioria dos seres vivos expostos a elevadas concentrações.

As principais vias de emissão e exposição incluem as emissões de combustíveis de escape dos automóveis, indústrias de extração petrolífera, tintas e corantes, baterias, cabos e tubulações (Klein, 2005). Uma vez contaminadas, as culturas, o chumbo é conservado por elas, especialmente vegetais de folhas verdes, são concentrados e passados através da cadeia alimentar aos peixes, aves e aos seres humanos. Além disso, o chumbo constituinte dos canos de

água soldados podem contaminar a água da torneira usada para beber ou para a produção de alimentos (Klein, 2005).

Os bivalves em particular, absorvem chumbo a partir da água contaminada, especialmente em estuários contaminados com águas residuais urbanas e industriais. O chumbo, tal como ocorre no cádmio, encontra-se geralmente em maiores concentrações nos moluscos do que nos peixes (Ruiter, 1995).

A sua absorção depende do estado do físico e químico do metal, bem como da idade e estado fisiológico e nutricional do organismo. Tal como se verifica no cádmio, indivíduos com certas deficiências de macronutrientes e micronutrientes são propensos a uma maior taxa de absorção de chumbo. Isto é, a depleção de ferro, zinco e cálcio pode promover a absorção de chumbo através do trato gastrointestinal (Goyer e Clarkson, 2001; Klein, 2005). Por sua vez, os adultos podem normalmente absorver cerca de 15% do total de chumbo ingerido, enquanto as mulheres grávidas e crianças podem absorver até 3,5 vezes esse valor. A explicação para esta diferença não é clara (Klein, 2005).

Talvez devido à sua maior absorção, as crianças parecem ser mais suscetíveis aos efeitos tóxicos do chumbo. Os efeitos da entrada de chumbo na circulação dependem da sua concentração. Os órgãos considerados críticos, considerando a toxicidade do chumbo, são os órgãos constituintes do sistema nervoso, a medula óssea e os rins (Klein, 2005). Os sintomas de encefalopatias derivadas da exposição a este elemento incluem letargia, vômitos, fadiga, dor de cabeça, irritabilidade, perda de apetite, disfunção cognitiva e tonturas que evoluem para ataxia e perda de consciência e, em situação extrema, coma e morte (Goyer e Clarkson, 2001; Klein, 2005). Verificam-se também efeitos hematológicos, como a anemia, nefropatias, imunotoxicidade, carcinogenicidade, entre outros. Destacam-se as dores musculares, proteinúria, aminoacidúria, cólicas, constipação intestinal ou diarreia, arteriosclerose precoce com alterações cerebrovasculares e hipertensão, entre outros (Goyer e Clarkson, 2001; Klein, 2005).

1.5. Locais de estudo

1.5.1. Estuário do Tejo e Baía de Cascais

O estuário do Tejo é um dos maiores estuários da Europa ocupando uma superfície aproximada de 320 km² (Freire *et al.*, 2006). Tem o seu limite a montante perto de Muge, no termo da propagação normal da maré e a jusante, de um modo menos definido, no limite da pluma de água salobra na zona costeira adjacente (Ré, 1984; Freire *et al.*, 2006).

A superfície do estuário é de cerca de 325 km² e o seu comprimento é de exatamente 50 km, medidos ao longo do eixo central. A área intertidal atinge, em média, aproximadamente 130 km², ou seja cerca de 41% da área total considerada (Ré, 1984).

O estuário apresenta uma morfologia particular, caracterizada por uma região interior extensa e pouco profunda, inferior ou igual a cinco metros (Ré, 1984). As maiores profundidades ocorrem nos troços que estabelecem a comunicação com o rio e com o mar, respetivamente a montante e a jusante. A profundidade máxima do estuário é de cerca de 32 metros, sendo a profundidade média de 10,6 metros (Ré, 1984; Freire *et al.*, 2006).

O estuário interno é caracterizado por formas de acumulação longitudinais, cortadas por canais de maré, e extensas zonas de espraçados, principalmente junto à margem esquerda, possibilitando o desenvolvimento de importantes áreas de sapal (Freire *et al.*, 2006). A jusante de Alcochete, a margem esquerda é caracterizada pela presença de enseadas (Montijo, Barreiro e Seixal), formadas em zonas terminais de afluentes, com importante sedimentação vasosa. Outro aspeto importante nesta região do estuário é a presença de praias e restingas de areia ao longo da margem esquerda, entre Alcochete e Alfeite (Freire *et al.*, 2006).

O estuário do Tejo é um sistema mesotidal sujeito a uma maré com período semi-diurno, com uma ligeira diferença entre os tempos de vazante e de enchente, sendo os de enchente mais longos (Ré, 1984). A amplitude média no Terreiro do Paço é de 3,2 metros em maré viva e 1,5 metros em maré morta, aumentando para montante, sendo 3,6 metros e 1,6 metros em Alcochete, respetivamente, em águas vivas e águas mortas (Freire *et al.*, 2006).

A amplitude térmica anual é superior nas estações a montante relativamente às estações a jusante (Ré, 1985).

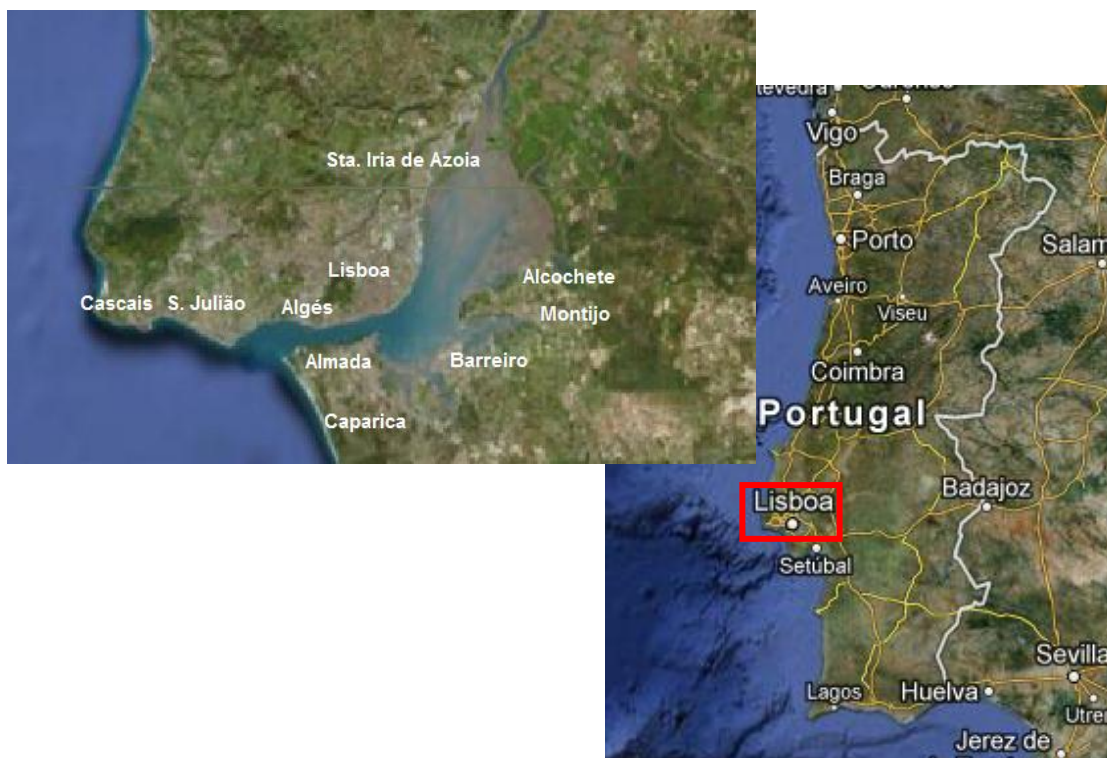


Figura 1.8 - Representação da localização do estuário do Tejo (adaptado de Google EarthTM).

A componente fluvial do sistema estuarino deve-se quase exclusivamente à contribuição do rio Tejo. Os valores de caudal variam entre $30 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ no estio e $18\,000 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ em cheias excepcionais (Freire *et al.*, 2006). No que diz respeito à circulação das águas no estuário, o sentido da corrente é nitidamente longitudinal, com ligeiras inflexões comandadas pelas linhas de maiores fundos situadas sensivelmente no eixo do canal de saída e na região de montante. No canal de saída regista-se, quer na enchente, quer na vazante, um desvio gradual da corrente para Sul (Ré, 1984).

A Baía de Cascais localiza-se a cerca de 40 km a oeste de Lisboa (este do Atlântico Norte), a sul da maior descontinuidade costeira, o Promontório da Estremadura. A hidrografia desta baía é influenciada pela morfologia costeira, a topografia dos fundos e pela descarga de água doce proveniente do rio Tejo (Ribeiro e Amorim, 2008).

A baía de Cascais representa uma importante descontinuidade na orientação Norte-Sul da linha costeira e é considerada como uma zona de sombra de afloramento (Graham e Largier, 1997).

Mais de 2,5 milhões de pessoas vivem na área de Lisboa, e ainda são drenados para o rio efluentes tratados parcialmente, contribuindo em grande parte para a quantidade de material dissolvido e particulado que atinge a zona costeira (Ribeiro e Amorim, 2008).

1.5.2. Estuário do Sado

O estuário do Sado é o segundo maior estuário de Portugal, com uma área de aproximadamente 24.000 ha (Figura 1.9). Encontra-se localizado na costa oeste de Portugal (Caeiro *et al.*, 2005; Garcês e Costa, 2009).

A maior parte do estuário é classificada como uma reserva natural, segundo o Decreto-Lei n.º 430/80, excetuando a cidade de Setúbal, o seu porto e periferia. A nível internacional o estuário encontra-se protegido pela Convenção de Ramsar, devido ao seu elevado valor ecológico e grande diversidade de espécies animais e vegetais (Caeiro *et al.*, 2005; Garcês e Costa, 2009).

No entanto, o estuário desempenha ainda um papel importante na economia local e nacional, uma vez que alberga muitas indústrias, principalmente na margem norte do estuário.

O estuário do Sado é um bom exemplo de onde a pressão humana e os valores naturais competem uns com os outros. As indústrias mais poluentes são aquelas que envolvem papel e celulose, pesticidas, fertilizantes, fermento, alimentos e estaleiros. Além disso, as atividades associadas ao porto e à cidade de Setúbal, bem como as minas de cobre sobre a bacia hidrográfica do Sado, utilizam o estuário para fins de eliminação de resíduos (Caeiro *et al.*, 2005).

Em outras áreas ao redor do estuário, a agricultura intensiva, principalmente de arroz, representa o principal uso do solo, juntamente com salinas tradicionais e as intensas atividades de exploração de recursos piscícolas (Caeiro *et al.*, 2005; Garcês e Costa, 2009). O estuário do Sado é caracterizado por um canal a norte, com tensão de cisalhamento e correntes residuais fracas.

Isto aumenta a acumulação de sedimentos permitindo que os poluentes introduzidos localmente se depositem e fixem em vez de serem transportados para fora.

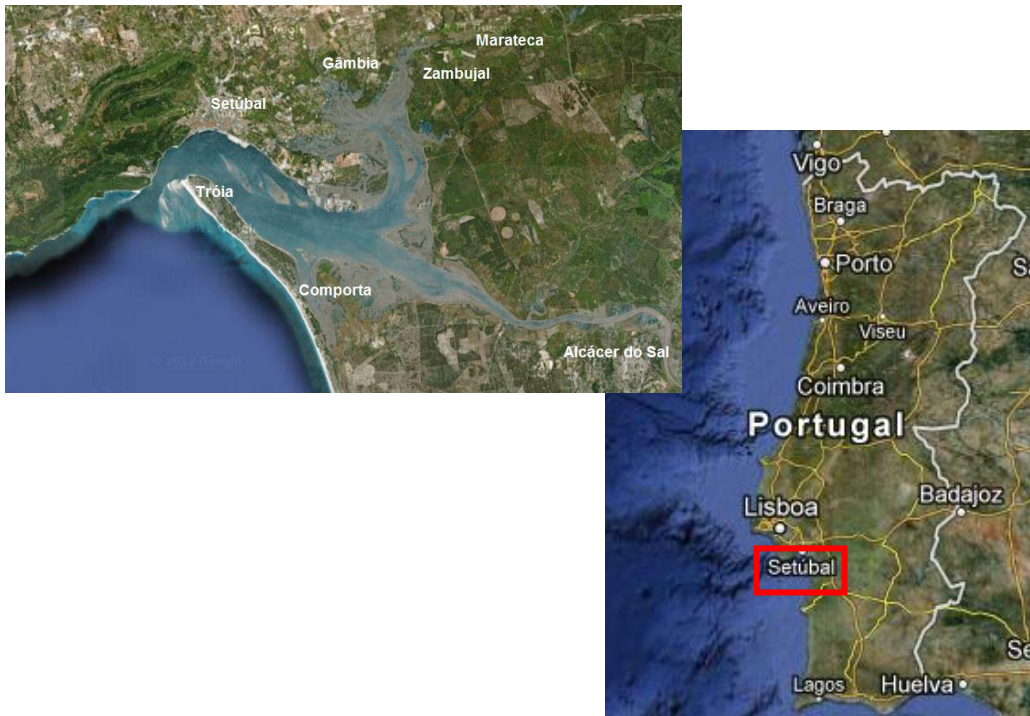


Figura 1.9 - Representação da localização do estuário do Sado (adaptado de Google EarthTM).

O canal a sul, separado do canal do Norte por bancos de areia, é altamente dinâmico, com as marés como principal causa de circulação de água. Características geomorfológicas distinguem o estuário interior, que corresponde a um canal estreito (Canal de Alcácer), do estuário exterior. A parte interna do estuário exterior, ou seja, a entrada de Águas de Moura e Canal de Alcácer, é bastante rasa e o mar liso (Caeiro, 2005).

2. Materiais e métodos

2.1. Amostragem / Matéria-prima

Para a realização deste trabalho foram utilizadas 49 amostras de bivalves provenientes de diferentes locais da costa portuguesa, nomeadamente do estuário do Sado, do estuário do Tejo e da marina de Cascais.

A amostragem é constituída por amêijoa japonesa (AJT) e mexilhão (MT) do estuário do Tejo, mexilhão da marina de Cascais (MC) e amêijoa japonesa (AJS), lambujinha (LS) e ostra portuguesa (OPS) recolhidos no estuário do Sado no período que decorreu entre março e julho de 2012 e ameijola (AS) do estuário do Sado foi colhida entre setembro de 2011 e julho de 2012. Os animais vivos foram colhidos, acondicionados e transportados para o laboratório em transporte refrigerado. Após chegada ao laboratório, os exemplares foram identificados (número e data) e procedeu-se à preparação das amostras para análise.

A composição de cada uma das 49 amostras era constituída entre 15 a 30 indivíduos de cada espécie.

A preparação das amostras consistiu na remoção da parte edível (todos os tecidos moles) dos indivíduos e na homogeneização, através da utilização de um moinho Grindomix (GM 200).

As análises químicas foram efetuadas em polpas homogéneas da parte edível dos moluscos.

As tomas de amostra para as diferentes determinações foram pesadas numa balança com resolução de 0,1 mg.

2.2. Determinações analíticas

2.2.1. Composição química aproximada

2.2.1.1. Humidade

O teor de humidade foi determinado com base no método descrito na NP 2282 (IPQ, 2009^o) e no procedimento técnico em uso na U-VPPA do IPMA, I. P.

O processo de determinação do teor de humidade consiste na dispersão da amostra e secagem à temperatura de $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e arrefecimento até peso constante.

Aparelhos e utensílios

- Material de uso corrente no laboratório
- Balança analítica de precisão (Mettler Toledo, AG 204)
- Cápsulas
- Estufa de secagem, regulável a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ (Memmert, ULE 500)
- Exsicador

Técnica / Processo analítico

Pesou-se cerca de 10 g da amostra homogeneizada, com rigor de 0,001 g, para uma cápsula previamente tarada e colocou-se na estufa a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ a secar durante 1 noite.

No dia seguinte, a cápsula foi transferida para um exsicador, onde arrefeceu durante pelo menos 30 minutos, e procedeu-se à pesagem.

O conteúdo em água do produto, expresso em grama por 100 g de amostra é dado pela expressão:

$$100 - \left(\frac{m_3 - m_1}{m_2} \times 100 \right)$$

Sendo:

m_1 : a massa, em gramas, da cápsula;

m_2 : a massa, em gramas da toma para análise;

m_3 : a massa, em gramas, do conjunto cápsula e toma para análise após secagem.

Os resultados são calculados com base na determinação de pelo menos duas réplicas para a mesma amostra e são arredondados às décimas.

2.2.1.2. Proteína

O teor de proteína bruta foi determinado de acordo com o método de Dumas (Kirsten e Hesselius, 1983) e com o procedimento técnico em usos na U-VPPA do IPMA, I. P. num aparelho de análise de azoto.

O método consiste na combustão da amostra na presença de O_2 num tubo de combustão e, consequentemente libertação de CO_2 , H_2O e N_2 . Enquanto o dióxido de carbono e a água são removidos por absorção em colunas, o teor de azoto é medido por uma célula de condutividade térmica para o azoto.

Reagentes e soluções

- EDTA (LECO)

Aparelhos e utensílios

- Material de uso corrente no laboratório
- Balança analítica de precisão (Mettler Toledo, AG 204)
- Folhas ou cápsulas de estanho
- Aparelho de análise de azoto (Leco FP 528)

Pesou-se cerca de 0,3 g da amostra homogeneizada para uma folha de estanho previamente tarada e colocou-se no auto-analisador do aparelho previamente programado. Efetuou-se a leitura de acordo com as instruções do aparelho.

Os resultados são calculados com base na determinação de pelo menos duas réplicas para a mesma amostra.

2.2.1.3. Gordura livre

O teor de gordura livre foi determinado baseado no método descrito na NP 1972 (IPQ, 2009^a) e no procedimento técnico em uso na U-VPPA do IPMA, I. P.

Para o cálculo do teor de matéria gorda livre recorreu-se à extração da matéria gorda com éter etílico e, posteriormente, eliminação por recuperação do solvente no extrator, secagem e pesagem do balão.

Reagentes e soluções

- Sulfato de sódio anidro 99,8% (m/m) (Panreac)
- Éter etílico (José M. Vaz Pereira)

Aparelhos e utensílios

- Material de uso corrente no laboratório
- Balança analítica de precisão (Mettler Toledo, AG 204)
- Papel de filtro, isento de gordura
- Cartucho de extração em papel de filtro isento de gordura
- Aparelho de extração constituído por bateria de aquecimento (SBS, PC 6L), balões de fundo plano (250 ml) e extratores de Soxhlet

- Estufa regulável a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ (Memmert, ULE 500)
- Exsiccador

Técnica / Processo analítico

Pesou-se cerca de 10 g de amostra homogeneizada, com o rigor de 0,001 g. Adicionou-se uma quantidade equivalente de sulfato de sódio anidro à toma para análise e transferiu-se quantitativamente para o cartucho de extração, arrastando todos os vestígios da toma com papel de filtro humedecido em solvente de extração, que se introduziu também no cartucho. Fechou-se o cartucho com papel de filtro isento de gordura e colocou-se no extrator. Num balão previamente seco em estufa, durante uma



Figura 2.1 - Unidades de extração de gordura formadas por destilador, extrator, balão e bateria de placas de aquecimento (SBS PC 6L).

hora, e arrefecido em exsiccador e tarado, colocou-se 80 ml de solvente, bem como no extrator, uma quantidade de solvente suficiente para cobrir o cartucho. Colocou-se o balão com o extrator no aparelho de extração durante sete horas (Figura 2.1). Após extração, retirou-se o balão e procedeu-se à recuperação do solvente no extrator. Em seguida, secou-se o balão com o extrato em estufa durante 1 hora e, após arrefecimento no exsiccador, pesou-se o balão.

As operações de aquecimento, arrefecimento e pesagem foram repetidas até que duas pesagens não diferissem entre si em mais do que 0,1% da massa da toma do ensaio.

A matéria gorda livre, expressa em gramas por 100 g de amostra é dada por:

$$(m_3 - m_2) \times \frac{100}{m_1}$$

Sendo:

m_1 : a massa, em gramas, da toma para ensaio;

m_2 : a massa, em gramas do balão de extração;

m_3 : a massa, em gramas, do balão de extração com o extrato após secagem.

Os resultados são calculados com base na determinação de pelo menos duas réplicas para a mesma amostra e são arredondadas às décimas.

2.2.1.4. Cinza total

O teor de cinza total foi determinado baseado no método descrito na NP 2032 (IPQ, 2009^b) e no procedimento técnico em uso na U-VPPA do IPMA, I. P.

O método consiste na secagem da amostra, incineração a uma temperatura de $500 \pm 25^\circ\text{C}$ e determinação da massa do resíduo.

Aparelhos e utensílios

- Material de uso corrente no laboratório
- Balança analítica de precisão (Mettler Toledo, AG 204)
- Cápsulas de porcelana
- Estufa de secagem, regulável a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ (Mettmert, ULE 500)
- Placa de aquecimento (Schott SLK2)
- Mufla, regulável a $500 \pm 25^\circ\text{C}$ (Heraeus, tipo MR 170 E)
- Exsicador

Técnica / Processo analítico

Pesou-se cerca de 5 g de amostra homogeneizada, com rigor de 0,001 g, para uma cápsula previamente tarada. Colocou-se a cápsula na estufa a pelo menos 100°C durante uma noite, para secagem da amostra. Posteriormente transferiu-se o cadinho para uma mufla e aumentou-se progressivamente a temperatura até $500 \pm 25^\circ\text{C}$. Deixou-se a cápsula na mufla durante uma noite para incineração. O cadinho foi retirado da mufla, arrefecido em exsicador e pesado. As operações de incineração, arrefecimento e pesagem foram repetidas até que duas pesagens não diferissem entre si mais do que 0,001 g.

O teor de cinza total, expresso em gramas por 100 g de amostra, é dado por:

$$\frac{(m_3 - m_1)}{(m_2 - m_1)} \times 100$$

Sendo:

m_1 : a massa, em gramas, do cadinho;

m_2 : a massa, em gramas do cadinho com a toma para análise;

m_3 : a massa, em gramas, do cadinho com o resíduo.

Os resultados foram calculados com base na determinação de pelo menos duas réplicas para a mesma amostra e foram arredondados às centésimas.

2.2.1.5. Glicogénio

O teor de glicogénio foi determinado de acordo com o método descrito por Viles e Silverman (1949) e por Seifter *et al.* (1950) e com o procedimento técnico em usos na U-VPPA do IPMA, I. P. num aparelho de análise de azoto.

O glicogénio é determinado na amostra homogeneizada e liofilizada. Assim sendo, para a determinação do glicogénio procedeu-se à hidrólise da amostra liofilizada, seguida de precipitação do glicogénio. Fez-se reagir o glicogénio precipitado em água e antrona e procedeu-se à leitura da absorvância do complexo glicogénio-antrona, num espectrofotómetro, num comprimento de onda de 620 nm.

Reagentes e soluções

- Solução de hidróxido de potássio a 30% (m/v) (Hidróxido de sódio em pastilhas (Riedel-de Häen)
- Ácido sulfúrico concentrado 95-97% (m/m) (Fluka)
- Solução saturada de sulfato de sódio (sulfato de sódio anidro 99,8% (m/m) (Panreac))
- Glicogénio tipo II (Sigma) (o padrão de glicogénio foi preparado com 10 mg de glicogénio e perfez-se o volume até 10 ml com água ultra-pura)
- Etanol absoluto (Panreac)
- Antrona (Merck) (o reagente de antrona foi preparado em 45 ml de água à qual se adicionou 114 ml de ácido sulfúrico concentrado e 0,225 g de antrona)

Aparelhos e utensílios

- Material de uso corrente no laboratório
- Liofilizador (Hetp LL3000)
- Tubos de vidro com tampa de rosca
- Agitador vórtex (Snijders)
- Balança analítica de precisão (Mettler Toledo, AG 204)
- Centrifugadora refrigerada (Sigma 2K15)
- Espectrofotómetro de absorção UV/Vis de duplo feixe (UNICAM)
- Banho termostaticado (Memmert)
- Agitador magnético (Snijders)

Técnica / Processo analítico

Distribuiu-se uma fração de amostra numa caixa de Petri e congelou-se. Posteriormente colocou-se no liofilizador durante 48 horas a uma temperatura de $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ e uma pressão de aproximadamente 10^{-1} atmosferas.

Após liofilizadas, as amostras foram novamente homogeneizadas e procedeu-se à sua hidrólise. Hidrolisou-se a amostra liofilizada (25 mg) com 15 ml hidróxido de potássio a 33% durante 15 minutos num banho de água em ebulição. Após arrefecimento, recolheu-se 0,250 ml e diluiu-se com 0,250 ml de água. Adicionou-se 50 μl de uma solução saturada de sulfato de sódio anidro, agitou-se no vórtex, adicionou-se 2 ml de etanol e colocou-se em banho de gelo, durante 30 minutos, para precipitação do glicogénio. Após centrifugação (10 minutos a 3000 rpm), decantou-se o sobrenadante e dissolveu-se novamente o precipitado em 0,5 ml de água, agitando no vórtex, e adicionou-se 1 ml de etanol. Levou-se novamente à centrífuga nas mesmas condições e decantou-se o sobrenadante.

Redissolveu-se o precipitado em 0,4 ml de água, agitando no vórtex. Em seguida, adicionou-se 3 ml de solução de antrona previamente preparada, agitou-se no vórtex e colocou-se em banho de água a 90°C durante 20 minutos. Após retirar-se do banho deixou-se arrefecer e fez-se a leitura no espectrofotómetro a 620 nm contra o branco.

Curva de calibração

Preparou-se uma curva de calibração usando a solução de glicogénio como padrão com as concentrações indicadas na Tabela 2.1.

Aos padrões adicionou-se 3 ml de solução de antrona. Seguidamente, colocou-se em banho de água a 90°C durante 20 minutos e deixou-se arrefecer antes de se fazer a leitura.

Tabela 2.1 - Concentrações dos pontos para a curva de calibração.

[$\mu\text{g/ml}$]	Solução	H_2O
25	10 μl	390 μl
50	20 μl	380 μl
100	40 μl	360 μl
150	60 μl	340 μl
200	80 μl	320 μl

Traçou-se a curva de calibração a partir das leituras obtidas para os padrões no espectrofotómetro a 620 nm contra o branco.

A concentração de glicogénio ($\mu\text{g/ml}$) foi obtida a partir da equação da curva de calibração.

O teor de glicogénio em base seca é dado por:

$$\frac{C \times 15 \times 0,4 \times 100}{0,5 \times 1000 \times m}$$

Sendo:

C : a concentração de glicogénio obtido a partir da equação da curva de calibração;

m : a massa, em gramas, da toma para ensaio.

O teor de glicogénio em base húmida é dado por:

$$\frac{GB \times (100 - H)}{100}$$

Sendo:

GB : o teor de glicogénio em base seca;

H : o teor de humidade da amostra inicial.

Os resultados são calculados com base na determinação de pelo menos duas réplicas para a mesma amostra.

2.2.2. Quantificação de metais contaminantes

2.2.2.1. Cádmio e chumbo

Os teores de cádmio e chumbo foram determinados pelo método espectrofotométrico de absorção atómica de chama, baseado na metodologia proposta por Jorhem (2000) e nos procedimentos técnicos em uso na U-VPPA do IPMA, I. P.

O método de determinação de cádmio e chumbo por absorção atómica de chama requer a secagem e incineração da amostra seguida de solubilização em ácido nítrico. Após a diluição da amostra, efetuou-se a determinação do teor do elemento no espectrofotómetro de absorção atómica de chama.

Reagentes e soluções

- Ácido nítrico a 65% (m/m) (Merck)
- Solução de ácido nítrico a 15% (v/v)
- Solução de ácido nítrico a 10% (v/v)
- Solução de ácido nítrico a 5% (v/v)

- Solução padrão de cádmio 1000 mg/l (Nitrato de cádmio em 0,5 M de ácido nítrico) (Merck)
- Solução padrão de chumbo 1000 mg/l (Nitrato de cádmio em 0,5 M de ácido nítrico) (Merck)

Preparação das soluções padrão para o cádmio e chumbo

Preparou-se 100 ml de uma solução padrão de concentração 10 µg/ml a partir da solução padrão (1000 mg/l) de cada um dos elementos, utilizando como solvente ácido nítrico a 5%. A partir desta prepararam-se as restantes soluções padrão utilizadas na reta de calibração.

Aparelhos e utensílios

- Material de uso corrente no laboratório
- Balança com precisão de 0,0001 g (Mettler Toledo, AG 204)
- Cadinhos de porcelana
- Estufa de secagem, regulável a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ (Memmert, ULE 500)
- Placa de aquecimento (Schott, SLK 2)
- Mufla, regulável a $500 \pm 25^\circ\text{C}$ (Heraeus, tipo MR 170 E)
- Exsicador
- Balões volumétricos de 10 ml em vidro
- Filtros (Macherey-Nagel 640w, $\varnothing = 70$ cm).
- Espectrofotómetro de absorção atómica de chama (Varian, Spectr AA 55B) com utilização de chama de ar-acetileno.
- Lâmpada de cátodo oco (Varian), para leitura do cádmio (comprimento de onda de 228,8 nm)
- Lâmpadas de cátodo oco (Varian), para leitura do chumbo (comprimento de onda de 217,0 nm)

Técnica / Processo analítico

Pesou-se 10 g de amostra homogeneizada com o rigor de $\pm 0,001$ g para um cadinho de porcelana. Colocou-se o cadinho na estufa a pelo menos 100°C durante uma noite, para secagem da amostra. Depois da secagem, transferiu-se o cadinho para uma mufla e fez-se aumentar progressivamente a temperatura até $500 \pm 25^\circ\text{C}$ onde permaneceu durante 1 noite (16 horas) para

incineração. A cápsula foi removida da mufla e arrefecida em exsiccador. Posteriormente, humedeceram-se as cinzas com ácido nítrico a 65% e promoveu-se a evaporação do ácido cuidadosamente, até à secura numa placa de aquecimento. Levou-se novamente a cápsula à mufla a ± 400 °C durante 30 minutos para se obter a cinza branqueada.

Adicionou-se 3 ml de ácido nítrico a 15% para dissolução da cinza e transferiu-se, com recurso a um filtro, para um balão volumétrico de 10 ml. Lavou-se ainda com 2 ml do mesmo ácido e posteriormente com água ultra pura. De seguida perfez-se o volume com água ultra pura e agitou-se de forma a homogeneizar a solução.



Figura 2.2 - Espectrofotómetro de absorção atómica de chama (VARIAN, Spectr AA 55B).

Curva de calibração

Em ambos os metais, para configurar a curva de calibração, preparou-se 100 ml de uma concentração de 10 µg/ml utilizando ácido nítrico a 5% (v/v) como solvente. A partir dessa solução, também designada por solução intermédia, preparou-se 6 soluções padronizadas no caso do cádmio e 5 no caso do chumbo, como se verifica na Tabela 2.2, para serem usadas na curva de calibração (soluções de calibração).

Tabela 2.2 - Curva de calibração para o cádmio e chumbo.

Padrão de Cádmio (µg/ml)	Padrão de Chumbo (µg/ml)
0,01	0,1
0,02	0,15
0,06	0,2
0,1	0,3
0,5	0,5
-	1,0

A curva de calibração a partir das leituras obtidas das soluções de calibração.

Ensaio em branco

A leitura do branco foi efetuada com ácido nítrico a 5%.

O cálculo do teor de cádmio ou chumbo, expresso em miligramas por quilograma, é dado por:

$$\frac{A \times V}{m}$$

Sendo:

A : leitura, em µg/ml, dada pelo analisador;

V : volume da dissolução da amostra, em ml;

m : a massa, em grama, da toma para análise.

O resultado é dado pela média aritmética de pelo menos duas determinações paralelas. No caso do chumbo o resultado é arredondado às décimas, no caso do cádmio, o resultado é arredondado às centésimas.

2.2.2.2. Mercúrio total

A determinação do teor de mercúrio foi baseada no método descrito na norma US EPA 7473 (EPA, 1998) e no procedimento técnico em uso na U-VPPA do IPMA, I. P.

Este método consiste na decomposição da amostra, oxidação e arrastamento dos produtos por fluxo de oxigénio, seguida da captação dos óxidos de halogéneos, azoto e enxofre e formação de uma amálgama com ouro a qual após aquecimento, liberta o mercúrio sob a forma de vapor. Por último, este é arrastado por uma corrente de oxigénio até à célula do espectrofotómetro procedendo-se à leitura da absorção no comprimento de onda de 253,7 nm.

Reagentes e soluções

- Óxido de alumínio 90 ativo, básico 0,063-0,200 (m/m) (Merck)
- Ácido nítrico 65% (m/m) (Merck)
- Solução padrão de mercúrio 1000 mg/l (Nitrato de mercúrio II em 0,5 M de ácido nítrico) (Merck)

Preparação da solução padrão

Preparou-se 100 ml de uma solução padrão de concentração 10 µg/ml a partir da solução padrão de mercúrio (1000 mg/l), utilizando como solvente ácido nítrico a 1%.

A partir da solução a 10 µg/ml preparou-se uma solução padrão de 0,1 µg/ml e uma de 0,005 µg/ml.

Aparelhos e utensílios

- Material de uso corrente no laboratório
- Balança analítica de precisão (Mettler Toledo, AG 204)
- Barquinha de níquel
- Analisador de mercúrio (Leco, AMA 254)

Técnica / Processo analítico

Pesou-se até 100 mg da amostra para uma barquinha e adicionou-se óxido de alumínio até cobrir a amostra. Posteriormente colocou-se a barquinha no analisador de mercúrio e efetuou-se a



Figura 2.3 - Analisador de mercúrio (LECO, AMA 254).

leitura da absorção no comprimento de onda de 253,7 nm. Retirou-se a

barquinha e limpou-se. Em cada sessão de trabalho realizou-se o ensaio em branco, que consistiu em colocar unicamente o óxido de alumínio na barquinha e efetuar a leitura no equipamento.

No fim da sessão, para proceder à descontaminação, colocou-se a barquinha a 700°C durante uma hora na mufla.

A curva de calibração utilizada foi a que se encontra introduzida no software de analisador (0,10; 0,30; 1,00; 3,00; 10,00; 20,00; 30,00; 36,00 ng de mercúrio).

Os resultados do teor de mercúrio, expressos em miligramas por quilograma, são dados pelo equipamento baseando-se na seguinte equação:

$$\frac{A}{m}$$

Sendo:

m : a massa, em miligrama, da toma para análise;

A : leitura, em nanogramas, dada pelo analisador.

Os resultados são calculados com base na determinação de pelo menos duas réplicas para a mesma amostra.

2.3. Valor energético

Para o cálculo do valor energético, expresso em kcal.100 g⁻¹, utilizou-se a fórmula descrito pela FAO (1989). Desta forma, o calor energético é dado por:

$$(G \times 9) + (P \times 4) + (CH \times 4)$$

Sendo:

G: a percentagem de gordura

P: a percentagem de proteína

CH: a percentagem de carboidratos (considerado como sendo essencialmente glicogénio).

2.1. Validação das técnicas analíticas

As técnicas realizadas na U-VPPA do IPMA, I. P., encontram-se validadas de acordo com o Guia da Relacre 2000, com Normas ISO 5725 (1994) (*Accuracy (Trueness and Precision) of measurement methods and results*) e com os Guias do IPAC (Instituto Português de Acreditação) sobre acreditação, nomeadamente o Guia para Acreditação de Laboratórios de Química).

O laboratório Físico-Químico Sensorial, área de Bromatologia, da U-VPPA, onde se realizaram as técnicas utilizadas para a determinação da humidade, cinza, gordura e mercúrio total, está acreditado pelo IPAC para a realização das mesmas.

Na análise de mercúrio, foi testado um material de referência certificado nas mesmas condições que as amostras, a fim de avaliar a precisão do método analítico (TORT-2, hepatopâncreas de lagosta), do *National Research Council of Canada*.

2.2. Análise estatística

Todos os resultados obtidos a partir do doseamento são expressos como média ± desvio padrão.

Para a realização dos referidos testes decorrentes da análise estatística utilizou-se o *software* STATISTICA 7 (*Stat-sof, Inc. USA, 2004*). O nível de significância (α), para todos os testes estáticos efetuados, foi de 0,05.

De modo a verificar se existia diferenças entre espécies no teor dos diversos parâmetros estudados utilizou-se o teste “HSD para N diferentes” para dados cuja normalidade foi confirmada. Os pressupostos destas aplicações, normalidade e homogeneidade de variâncias, foram efetuados, utilizando os testes de “Levene’s F-test” e “HSD para N diferentes”.

Foi ainda utilizado o teste não paramétrico “Kruskal-Wallis” em conjunto com o Método de comparações múltiplas nos dados onde não se verificaram aqueles pressupostos.

3. Resultados

3.1. Composição química aproximada

Nos moluscos, tal como ocorre noutros produtos da pesca, a composição química varia de espécie para espécie e, inclusive, entre indivíduos da mesma espécie (Okumuş e Sterling, 1998; Vernocchi *et al.*, 2007; Silva e Batista, 2008; Aníbal *et al.*, 2011; Orban *et al.*, 2002).

A composição química aproximada (humidade, gordura, proteína e cinza) da parte edível que compõe as espécies estudadas encontra-se descrita na Tabela 3.1. Os valores individuais de cada amostra estão expostos na Tabela I.1 em anexo, sendo que os resultados para a mesma espécie correspondem a diferentes meses.

Tabela 3.1 – Composição química aproximada (%) e valor energético ($\text{kcal}\cdot 100\text{g}^{-1}$) dos moluscos bivalves analisados (média \pm desvio padrão).

Espécie	Humidade	Proteína	Gordura	Cinza	Glicogénio	Valor energético
AJT	81,6 \pm 1,4 ^{a, b}	12,7 \pm 0,8 ^{a, b}	0,75 \pm 0,12 ^{a, b}	3,00 \pm 0,09 ^a	1,2 \pm 0,7 ^{a, b}	62,5 \pm 3,7
AJS	82,8 \pm 2,0 ^{a, b}	11,4 \pm 1,7 ^{a, b}	0,38 \pm 0,11 ^a	3,12 \pm 0,23 ^a	1,4 \pm 0,9 ^{a, b, c}	54,5 \pm 7,7
AS	79,5 \pm 1,1 ^a	14,1 \pm 0,5 ^b	0,52 \pm 0,27 ^a	3,02 \pm 0,13 ^a	2,4 \pm 0,7 ^{b, c}	70,6 \pm 2,8
LS	81,1 \pm 2,0 ^{a, b}	11,3 \pm 1,9 ^a	0,51 \pm 0,10 ^a	3,26 \pm 0,19 ^a	3,0 \pm 0,5 ^c	61,6 \pm 8,6
MC	84,2 \pm 2,4 ^b	11,4 \pm 1,5 ^{a, b}	1,00 \pm 0,14 ^b	2,82 \pm 0,17 ^a	0,6 \pm 0,6 ^a	57,2 \pm 7,0
MT	83,4 \pm 2,5 ^b	10,4 \pm 1,9 ^a	0,79 \pm 0,28 ^{a, b}	3,17 \pm 0,17 ^a	0,5 \pm 0,2 ^a	50,8 \pm 8,4
OPS	80,5 \pm 0,5 ^{a, b}	12,5 \pm 1,7 ^{a, b}	1,07 \pm 0,23 ^b	2,99 \pm 0,50 ^a	2,2 \pm 0,8 ^{b, c}	68,6 \pm 5,2

Valores com letras sobreescritas iguais para um mesmo elemento, indica que não há diferenças estatísticas entre a espécie ($p > 0,05$).

A água é o componente mais abundante e facilita as reações químicas, enzimáticas e microbianas (Cabello *et al.*, 2004).

O teor de humidade nas amostras estudadas variou entre 79,5%, para a ameijola do estuário do Sado e 84,2%, para o mexilhão de Cascais (Figura 3.1).

Os dados revelam uma diferença significativa entre a ameijola do estuário do Sado, com 79,5%, e os mexilhões de Cascais e do estuário do Tejo analisados, que contêm 84,2% e 83,4% de humidade, respetivamente.

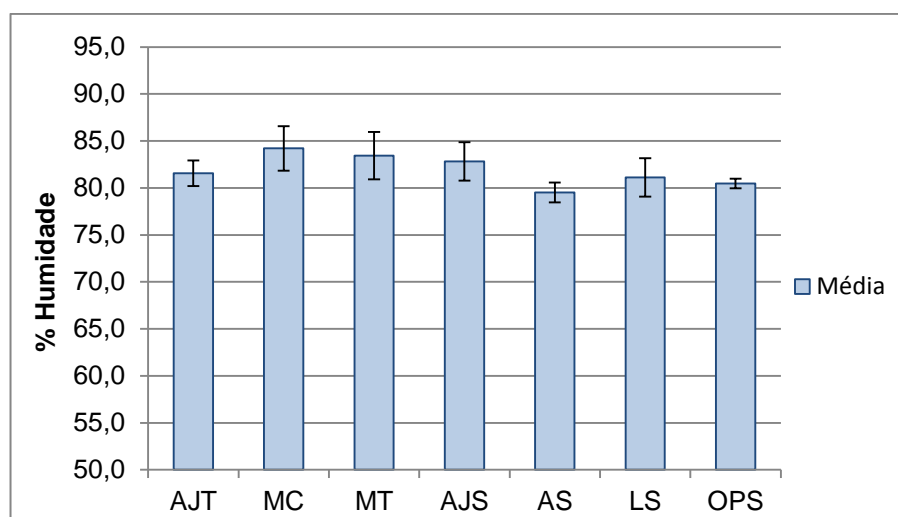


Figura 3.1 - Teor de humidade (%) nas espécies estudadas.

Genericamente, os valores do teor de humidade obtidos são similares aos registados por outros autores, para as mesmas e para outras espécies de moluscos bivalves, como se pode verificar comparando este parâmetro nas Tabelas 3.1 e 3.2.

Tabela 3.2 - Composição química aproximada (%) de alguns moluscos bivalves referenciados na literatura.

Espécie	Localização	% H	% P	% G	% C	% Glic.	Autor
<i>Mytilus edulis</i> ¹	Mar do Norte	86,5	8,7	1,10	1,49	-	Buttenberg e Noel (In Fraga, 1959)
<i>Mytilus edulis</i> ¹	Mar Báltico	86,4	8,6	1,52	1,37	-	
<i>Mytilus edulis</i> ¹	Ria de Vigo, Espanha	81,1	10,8	1,57	2,34	2,8	Fraga, 1959
<i>Mytilus edulis</i> ¹	Cushing, Maine, USA	73,0	18,5	3,07	2,30	3,1	Sabyj et al., 1978
<i>Ruditapes philippinarum</i> ¹	Hamburgo, Alemanha	84,0	9,6	0,98	3,30	1,1	Dincer, 2006
<i>Ruditapes decussatus</i> ¹	Izmir, Turquia	85,9	8,7	0,78	3,10	1,1	Dincer, 2006
<i>Ruditapes decussatus</i> ²	Ria Formosa, Portugal	82,6-86,9	5,9-8,5	0,07-1,20	3,10-3,60	0,4-2,6	Aníbal et al., 2011
<i>Ostrea edulis</i> ²	Istambul, Turquia	71,1-80,6	6,8-10,3	1,47-2,40	3,42-9,45	1,5-9,2	Erkan et al., 2011
<i>Crassostrea rizophorae</i> ²	Rio de Janeiro, Brasil	81,1-83,0	9,3-10,2	1,50-2,00	2,80-3,70	2,7-4,4	Martino e Cruz, 2004
<i>Pinctada imbricate</i> ¹	Sucre, Venezuela	81,4	12,8	1,77	2,78	-	Cabello et al., 2004)

¹ Valores médios anuais de cada parâmetro

² Valores máximos e mínimos de cada parâmetro

Dincer (2006) obteve valores de 84,0% e 85,9% para a amêijoia japonesa e para a amêijoia-boia, respetivamente, recolhidas em Hamburgo, Alemanha. Para o mexilhão recolhido na ria de Vigo, em Espanha, Fraga (1959) obteve um teor de humidade médio anual de 81,1%.

Reconhece-se a existência de alguma variabilidade entre os valores da mesma espécie, que se reflete nos valores do desvio padrão, em especial as amostras de mexilhão. Este fenómeno poderá dever-se ao fato de as amostras terem sido colhidas em diferentes alturas do ano, ou seja, a influência da sazonalidade, como explicam alguns autores (Sabyj, *et al.*, 1978; Martino e Cruz, 2004; Aníbal, 2011; Erkan *et al.*, 2011).

Além deste fator, Fraga (1956) refere que o tempo de escorrimento das amostras é também um fator de grande influência para o teor de humidade, e conseqüentemente para outros constituintes.

Para evitar este problema, alguns autores optam pela análise relativa ao produto seco, isto é, em matriz seca. No entanto, esta abordagem é também errónea na medida em que a composição química depende igualmente do líquido intervalvar escorrido. Isto é, se o tempo de escorrimento é insuficiente, encontram-se valores elevados de humidade e de cinza devido à presença de sal. No entanto, se o tempo de escorrimento for elevado, há perda de complexos proteicos que se perdem com o líquido intervalvar (Fraga, 1956).

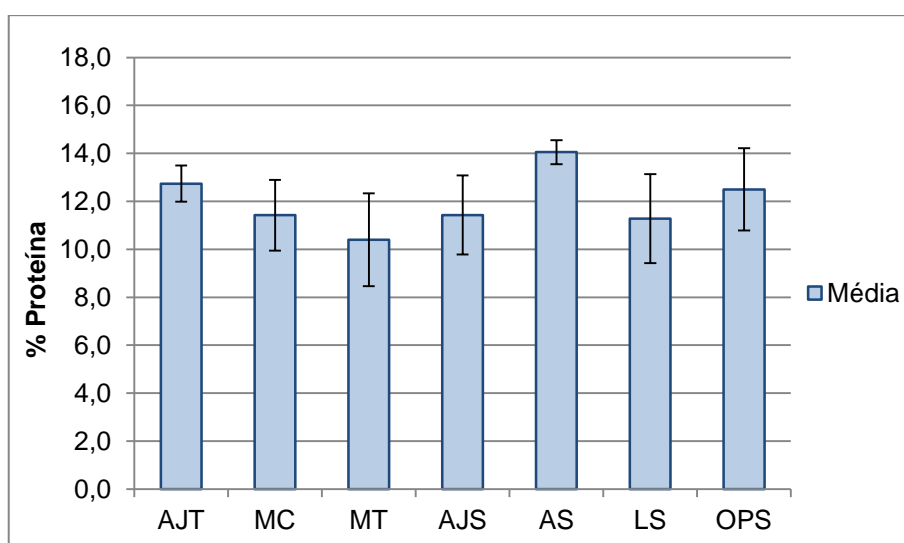


Figura 3.2 - Teor de proteína (%) nas espécies estudadas.

A proteína é o segundo maior constituinte presente nos moluscos bivalves analisados (Tabela 3.1).

As proteínas destes organismos apresentam na sua constituição todos os aminoácidos essenciais e é igualmente reconhecida a sua digestibilidade, o que faz com que estes organismos em termos nutricionais sejam importantes e devam estar presentes numa dieta equilibrada (Nunes *et al.*, 2008).

O valor mais baixo para o teor de proteína obtido corresponde ao mexilhão do estuário do Tejo, com 10,4% de proteína, e o valor mais alto corresponde à ameijola do estuário do Sado com 14,1% (Figura 3.2).

Curiosamente, uma ordem inversa de valores foi observada para os teores de humidade, em que 79,5% e 84,2% de humidade foram obtidos para a ameijola do estuário do Sado e para o mexilhão de Cascais, respetivamente.

Verifica-se ainda que esta tendência não ocorre unicamente nos valores de extremos mas sim de uma forma generalizada. Isto é, o teor de proteína varia de forma inversa ao teor de humidade, como se pode observar na Figura 3.3, o que significa que quando ocorre o aumento do teor de humidade, se verifica conseqüentemente uma diminuição do teor de proteína. Esta tendência pode decorrer do fato de os teores de humidade influenciarem significativamente o teor de proteína, em termos percentuais.

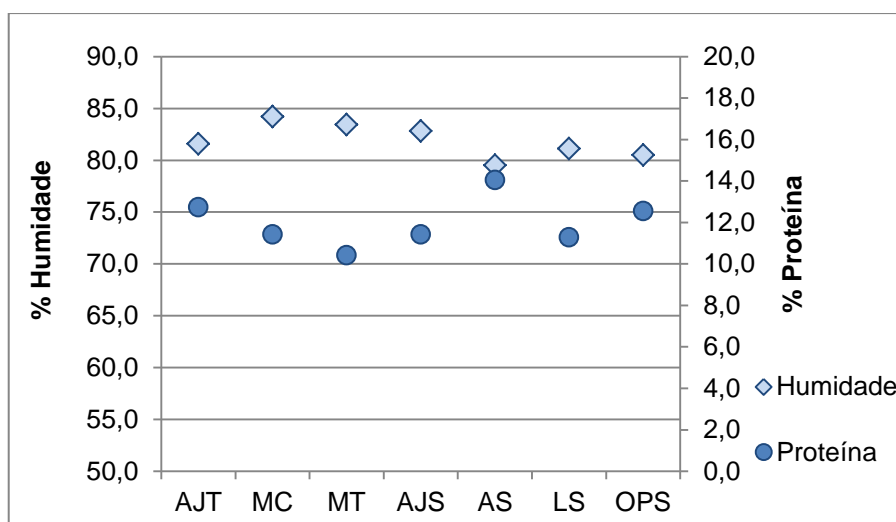


Figura 3.3 - Comparação entre os teores de proteína e de humidade (%) nas espécies estudadas.

Nunes *et al.* (2008) refere que nalgumas espécies se verifica que a maturação das gónadas ou longos períodos de privação de alimento provocam uma diminuição do teor proteico e, conseqüente aumento da água no músculo.

Aníbal *et al.* (2011), na análise da amêijoia-bona proveniente da Ria Formosa, Algarve, verificaram a existência de uma correlação negativa entre o teor de proteína e a pluviosidade e o teor de humidade. Ou seja, o aumento da pluviosidade ou do teor de humidade levaram a uma diminuição do teor de proteína.

Da leitura da Tabela 3.2 e da Figura 3.3, e tal como ocorre com a humidade, verifica-se que existe alguma variabilidade nos valores de proteína, não só entre espécies, como dentro da mesma espécie, como se pode observar pelos valores do desvio padrão. A variação que entre espécies pode ser resultado da especificidade da composição própria da espécie ou à localização

geográfica. Em relação à variação dentro da mesma espécie, esta pode resultar da variação sazonal, do ciclo de maturidade dos bivalves ou da disponibilidade de alimentos.

Silva e Batista (2008) afirmam que a percentagem média de proteína presente na maioria das espécies é inferior a 13,0%. Contudo, vários autores (Okumuş e Sterling, 1998; Vernocchi *et al.* 2007; Anibal, 2011; Orban *et al.*, 2002) referem o período correspondente ao início de verão como sendo o que apresenta o pico máximo de teor de proteína, normalmente associado com o desenvolvimento dos gâmetas, ocorrendo em seguida uma queda, maioritariamente devido à desova.

Desta forma, o elevado teor de proteína obtido pode ser consequência da variação sazonal resultante do ciclo sexual dos moluscos bivalves. O elevado teor de proteína pode ser ainda explicado pela localização geográfica e pela disponibilidade de alimentos uma vez que a privação de alimentos pode levar à diminuição ou aumento do teor de proteína em determinadas espécies (Albentosa *et al.*, 2007, Silva e Batista, 2008).

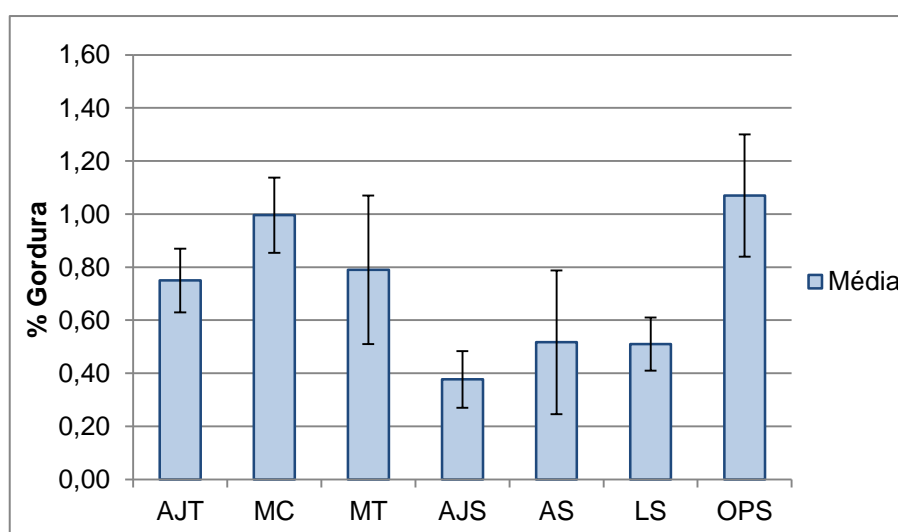


Figura 3.4 - Teor de gordura (%) nas espécies estudadas.

O teor médio em gordura dos moluscos bivalves é baixo, geralmente não excedendo os 3,00% e, na maioria das espécies capturadas em Portugal, situa-se entre 1,00% e 2,00% (Silva e Batista, 2008).

Relativamente aos resultados obtidos para o teor de gordura, a ostra portuguesa do estuário do Sado é a que apresenta o valor médio mais elevado, com 1,07%, enquanto a amêijoja japonesa do estuário do Sado é aquela que apresenta menor teor, com 0,38%, como se verifica na Figura 3.4.

Verifica-se que existem diferenças significativas entre a amêijoja japonesa, a ameijola e a lambujinha do Sado, que apresentam os valores mais baixos, bem como entre o mexilhão de Cascais e a ostra portuguesa do Sado, que apresentam os valores mais elevados.

Comparativamente aos teores de gordura indicados na literatura (Tabela 3.2), os valores obtidos e dispostos na Tabela 3.1 são genericamente mais baixos. Contudo são semelhantes aos valores obtidos por Dincer (2006), que achou um teor médio anual de gordura de 0,98% e 0,78% para a amêijoia japonesa de Hamburgo, Alemanha, e para a amêijoia-boua de Izmir, Turquia, respetivamente. Os valores encontrados no presente estudo são também semelhantes aos obtidos por Aníbal *et al.* (2011) que observaram uma grande variação no teor de gordura, reportando cerca de 0,07%, em Abril, e cerca de 1,20%, entre Outubro e Novembro, para a amêijoia boua da ria Formosa, Algarve.

As diferenças observadas entre espécies e segundo alguns autores podem dever-se à especificidade da espécie na acumulação de gordura, à localização geográfica e temperaturas de crescimento dos bivalves e ainda ao fator da variação sazonal.

Além das diferenças que se verificam entre espécies, é ainda possível observar a existência de variabilidade dentro da mesma espécie. Esta variabilidade, expressa no desvio padrão, poderá ser explicada pelas variações sazonais e pela alteração da composição deste tipo de organismos consoante o estado de maturação sexual em que se encontra. Desta forma, uma vez que os valores foram obtidos em diferentes meses, poderá daí decorrer uma variação nos teores de gordura consoante estes se encontravam em fase de desova ou de desenvolvimento dos gâmetas.

Tal como ocorre com os restantes constituintes, também o teor de gordura é influenciado por fatores intrínsecos, como a idade, o sexo, o tamanho e a forma de vida, e por fatores extrínsecos, como a salinidade, a dieta, a temperatura, a localização e a sazonalidade (Riisgård, 1985; Martino e Cruz, 2004; Aníbal *et al.*, 2011).

De fato, a gordura em alguns moluscos bivalves, é o constituinte mais influenciado pelo ciclo reprodutivo devido à sua relação com o desenvolvimento e maturação das gónadas (Aníbal *et al.*, 2001). Isto é, o teor de gordura está fortemente relacionado com a desova, que por sua vez está relacionada com a espécie e a temperatura. Okumuş e Sterling (1998) e Aníbal *et al.* (2011) verificaram teores mínimos de gordura para o mexilhão *Mytilus edulis* na Escócia, e para amêijoia-boua (*Ruditapes decussatus*) no Algarve, respetivamente, no mês de abril. Vernocchi *et al.* (2007) obtiveram os valores mínimos em maio e novamente em junho para o mexilhão *Mytilus galloprovincialis* no mar Adriático.

À exceção da amêijola, todas as amostras foram recolhidas entre março e julho, que, segundo os autores acima referidos, é o período onde ocorrem os teores mínimos de gordura. A amêijola, por seu lado, pode efetuar postura durante todo o ano, a partir do segundo ano, no caso de se encontrar em condições de temperatura e disponibilidade de alimento favoráveis. Desta forma, a desova é de fato uma possível justificação para os baixos valores obtidos para o teor de gordura e para a sua variabilidade uma vez que diferentes espécies em diferentes locais apresentam diferentes épocas de desova.

Contudo, tal como ocorre com os restantes constituintes, também o teor de gordura é influenciado por fatores além do período de maturação sexual, nomeadamente, por fatores intrínsecos, como a idade, o sexo, o tamanho e a forma de vida, e por fatores extrínsecos, como a salinidade, a dieta, a temperatura, a localização e a sazonalidade (Riisgård, 1985; Martino e Cruz, 2004; Aníbal *et al.*, 2011).

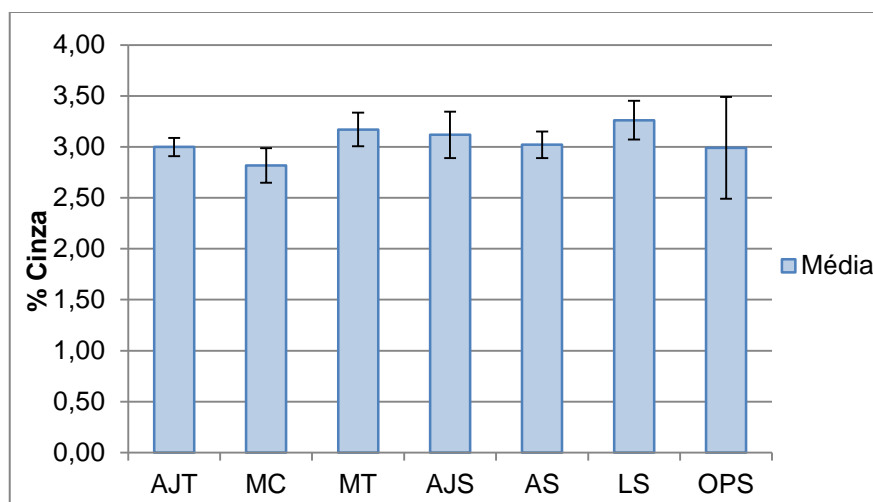


Figura 3.5 - Teor de cinza (%) nas espécies estudadas.

Inversamente ao que ocorre com o teor de humidade, no teor de cinza verifica-se um valor mínimo de 2,82% para o mexilhão de Cascais, e um valor máximo de 3,26% para a lambujinha do estuário do Sado (Figura 3.5).

No que concerne aos valores encontrados na literatura, é possível observar teores semelhantes aos obtidos nas análises realizadas, como se pode verificar por comparação entre os valores das Tabelas 3.1 e 3.2.

Dincer (2006) obteve teores médios de cinza de 3,30% e 3,10% para a amêijoia japonesa, em Hamburgo, e para a amêijoia-boia, em Izmir, respetivamente. No Brasil, nas amostras recolhidas no Rio de Janeiro, Martino e Cruz (2004) obtiveram valores para o teor de cinza que variaram entre 2,82% e 3,70% para a ostra *Crassostrea rizophorae*.

Em análise aos resultados obtidos, verificou-se que não existem diferenças significativas entre as amostras, da mesma forma como não se verifica grande variabilidade entre amostras da mesma espécie. Alguns autores referem não encontrarem diferenças significativas no teor de cinza em função da variabilidade sazonal ou de possíveis períodos de privação de alimento (Martino e Cruz, 2004; Feng *et al.*, 2010).

A espécie que apresenta maior variabilidade é a ostra portuguesa proveniente do estuário o Sado, cujos teores de cinza variam entre 2,37% e 3,62% e, segundo a análise dos valores individuais, verifica-se um aumento gradual ao longo do período de recolha de amostras.

Martino e Cruz (2004) verificaram a mesma tendência crescente no teor de cinza de 2,80% para 3,70%, correspondentes à primavera e ao verão, respetivamente, na ostra *Crassostrea rhizophorae*, proveniente da Barra de Guaratiba, no Rio de Janeiro, Brasil.

O aumento do teor de cinza no verão pode ser explicado pelo aumento da temperatura e diminuição da pluviosidade que ocorre nesta estação.

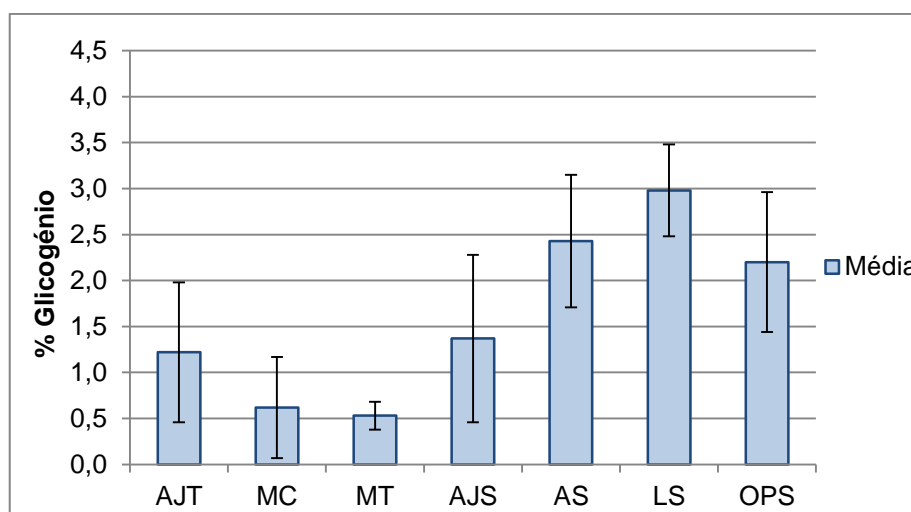


Figura 3.6 - Teor de glicogénio (%) nas espécies estudadas.

Os valores médios de glicogénio variaram entre 0,5% no caso do mexilhão do estuário do Tejo, e 3,0%, no caso da lambujinha do estuário do Sado (Figura 3.6).

Este parâmetro é o que apresenta maior variabilidade entre espécies e dentro da mesma espécie, nomeadamente o mexilhão de Cascais que apresenta valores entre 0,2 e 1,4%. Acresce ainda que não se verifica nenhuma tendência em relação à sazonalidade uma vez que há uma grande variabilidade.

Esta tendência é confirmada pela literatura onde, por exemplo, para o mexilhão com teor médio de 2,8% de glicogénio, Fraga (1959) obteve um valor máximo de 7,6% em outubro e 0,2% em fevereiro. Aníbal *et al.* (2001) também verificaram que as reservas de glicogénio na amêijoabo da Ria Formosa, Algarve, variavam significativamente, tendo obtido valores entre 0,4 e 2,6% ao longo do ano sem verificar uma tendência em relação à sazonalidade ou uma correlação com outros parâmetros analisados, como os restantes parâmetros da composição química, a temperatura, a precipitação, os índices de condição a percentagem de comestibilidade.

À semelhança da gordura livre, os valores médios obtidos para o teor de glicogénio apresentaram resultados muito baixos em relação à literatura. Contudo, é de realçar que os valores verificados na literatura referem-se a valores médios de colheitas anuais, e no caso do presente estudo são valores médios obtidos entre os meses de fevereiro e julho, à exceção da amêijola recolhida de agosto a julho.

Os valores energéticos obtidos variam entre 50,8 kcal.100 g⁻¹, para o mexilhão do estuário do Tejo, e 70,6 kcal.100 g⁻¹, para a ameijola do estuário do Sado.

Considerando que a gordura e o glicogénio são os constituintes com maior contribuição para o valor energético e que ambos os teores destes constituintes apresentam variabilidade, é de esperar que, também o conteúdo calórico apresente alguma variabilidade, quer entre espécies, quer dentro da mesma espécie.

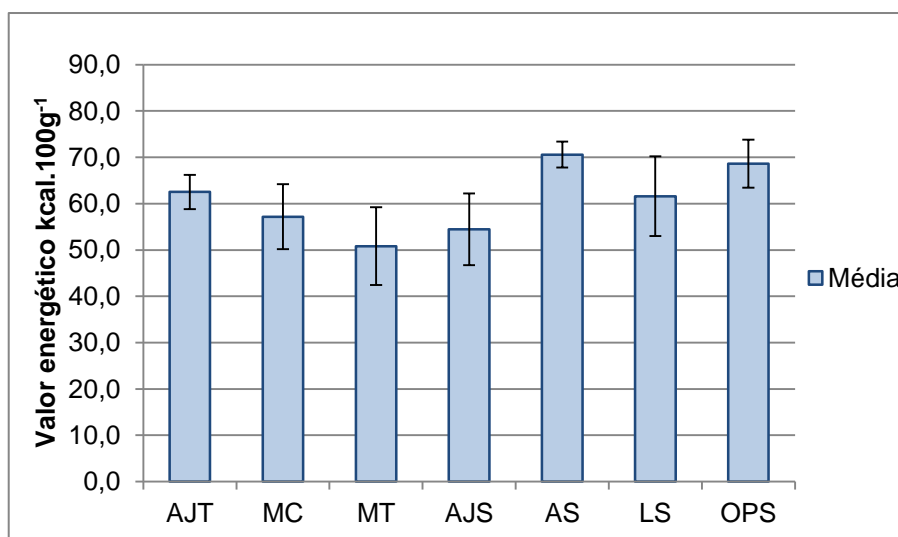


Figura 3.7 - Valores energéticos (kcal.100 g⁻¹) das espécies estudadas.

Cabello *et al.*, publicou valores para o conteúdo calórico do mexilhão verde (*Perna viridi*) e para a ostra (*Pinctada imbricata*) de 67,6 kcal.100 g⁻¹ e 67,1 kcal.100 g⁻¹, respetivamente (Figura 3.7). De igual forma os valores referidos por Silva e Batista (2008), pelo INSA (2007) e pelo USDR são genericamente superiores a 65,0 kcal.100g⁻¹.

Comparativamente aos valores obtidos, verifica-se que apenas a ameijola e a ostra portuguesa, ambas as espécies provenientes do estuário do Sado, apresentam valores superiores aos descritos anteriormente. Para estas espécies obtiveram-se valores de 68,8 kcal.100g⁻¹ para a ameijola e 70,6 kcal.100 g⁻¹ no caso da ostra portuguesa do estuário do Sado.

Os menores valores obtidos devem-se ao fato de os constituintes responsáveis pelo aporte energético, nomeadamente a gordura e o glicogénio, se encontrarem em menor quantidade, como é o caso do mexilhão do estuário do Tejo, que tem na sua constituição apenas 0,79% de gordura e 0,5% de glicogénio.

Os teores dos diferentes constituintes dos bivalves variam consideravelmente entre diferentes espécies e, inclusive, entre indivíduos da mesma espécie, dependendo da idade, sexo, tamanho, meio ambiente e altura do ano, temperatura e alimento disponível (Cabello *et al.*, 2004; Aníbal *et al.*, 2006). Estes fatores relacionam-se entre si, formando uma sucessão de ligações subordinantes em que um fator é dependente de outro direta ou indiretamente. Como exemplo, a

temperatura é um dos fatores que tem maior influência no ciclo reprodutivo dos bivalves e está relacionada com a sazonalidade, a composição bioquímica e as condições e disponibilidade de nutrientes (Aníbal *et al.*, 2006).

Nos bivalves, os principais constituintes destas matrizes que são afetados pelas variações sazonais são a humidade, a gordura e os carboidratos, mais especificamente o teor de glicogénio. Isto é, o consumo energético dos bivalves depende do tipo de metabolismo ativo no organismo num determinado momento, este depende de variações sazonais e, conseqüentemente, do ciclo reprodutivo, da maturidade, da dimensão, sexo, temperatura e da disponibilidade de alimento. Uma vez que os moluscos dependem do alimento presente nas correntes filtradas dado que são organismos sedentários, a composição aproximada depende ainda da localização geográfica uma vez que esta vai influenciar o gradiente de temperaturas, a disponibilidade de alimento e as características do habitat em que os bivalves se encontram em desenvolvimento (Karakoltsidis, *et al.*, 1995; Orban *et al.*, 2002; Cabello *et al.*, 2006; Albentosa *et al.*, 2007).

3.2. Metais contaminantes

Dos metais tóxicos que se encontram nos géneros alimentícios e apresentam maior perigo para a saúde humana, destacam-se o cádmio, o chumbo e o mercúrio, o que levou ao estabelecimento de normativos legais que estipulam os níveis máximos permitidos. Para a garantia de que os produtos comercializados e consumidos se encontram dentro dos limites estabelecidos é necessário recorrer à monitorização destes metais tóxicos.

Os teores de metais, nomeadamente, de cádmio, chumbo e mercúrio, obtidos para as sete espécies de moluscos bivalves analisadas, encontram-se descritos, respetivamente para os estuários do Tejo e do Sado, nas Tabelas 3.3 e 3.4, e representados graficamente em função do elemento nas Figuras 3.8, 3.9 e 3.10. Os valores individuais das concentrações dos elementos tóxicos analisados para cada uma das amostras podem ser encontrados na Tabela I.2, em anexo.

Na Tabela 3.3 encontram-se as concentrações dos metais analisados nos bivalves recolhidos no estuário do Tejo e na baía de Cascais.

Tabela 3.3 - Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (média \pm desvio padrão), expressas em mg.kg⁻¹, nos moluscos bivalves do estuário do Tejo.

Amostra	N	Cádmio	Chumbo	Mercúrio
AJT	9	0,16 \pm 0,05 ^a	0,70 \pm 0,15 ^b	0,05 \pm 0,02 ^a
MC	7	0,14 \pm 0,11 ^a	0,33 \pm 0,14 ^a	0,05 \pm 0,01 ^a
MT	4	0,13 \pm 0,08 ^a	0,46 \pm 0,18 ^{a, b}	0,03 \pm 0,01 ^a

Valores com letras sobreescritas iguais para um mesmo elemento, indica que não há diferenças estatísticas dentro da espécie ($p > 0,05$).

Em relação ao cádmio presente nos organismos provenientes do estuário do Tejo e Cascais, através dos valores médios obtidos neste estudo verifica-se que não existem diferenças significativas entre os valores obtidos neste estudo. Os resultados da contaminação para este elemento, em mexilhões do estuário do Tejo, descritos por Lourenço *et al.*, (2006), com $0,13 \text{ mg.kg}^{-1}$, são semelhantes aos encontrados para os mexilhões analisados, localizados no estuário do Tejo e em Cascais.

O chumbo, tal como é referido por Silva e Batista (2008), é o metal que se encontra presente em maior quantidade nos moluscos bivalves capturados no Tejo.

Pode-se observar que, relativamente aos teores de contaminação por chumbo, este é o único elemento analisado para o qual existem diferenças significativas entre as amostras do estuário do Tejo. A análise estatística indica-nos que a contaminação é inferior para o mexilhão de Cascais, em comparação com a amêijoia japonesa recolhida no estuário. O mexilhão proveniente do estuário não apresenta diferenças significativas com os outros dois organismos recolhidos neste local.

Verifica-se ainda que apesar de não existirem diferenças significativas entre os mexilhões do estuário e da baía de Cascais, pode-se observar uma tendência para a diminuição do teor de contaminação de chumbo para o mexilhão de Cascais. Este fato pode ser indicador de propensão para a diminuição do teor de contaminação à saída do estuário. Este acontecimento pode dever-se à menor recirculação de água do que nas zonas mais costeiras e mais próximas do oceano, como é o caso da baía de Cascais (Silva e Batista, 2008). Foram reportados por alguns autores padrões semelhantes na análise de sedimentos, onde a concentração diminui com o aumento do caudal ou da massa de água (Wright e Mason, 1999; Pereira *et al.*, 2008).

Em comparação com a análise feita aos mexilhões do estuário do Tejo realizada em 2006 por Lourenço *et al.*, verifica-se um acréscimo na contaminação dos mexilhões por chumbo. O aumento de $0,20 \text{ mg.kg}^{-1}$ em 2006 para o valor atual de $0,46 \text{ mg.kg}^{-1}$ no mexilhão do estuário do Tejo, pode ser consequência de uma maior contaminação ou acumulação deste metal no estuário. Pode ainda ser resultado de novos focos de contaminação ou dragagem e remoção de sedimentos que leva à libertação de metais que se encontravam acumulados e presos aos sedimentos.

A contaminação por mercúrio é baixa e muito inferior ao limite máximo regulado pela CE (2006; 2008) de $0,50 \text{ mg.kg}^{-1}$. Além de se encontrar em baixas concentrações, não se verificaram diferenças significativas entre os valores obtidos para os três organismos provenientes do estuário do Tejo. Contudo o teor, no caso dos mexilhões encontram-se ligeiramente superiores aos obtidos por Lourenço *et al.* no ano de 2006 que aponta para um valor médio de $0,02 \text{ mg.kg}^{-1}$, em comparação com $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$.

A Tabela 3.4 refere-se às concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio nas espécies recolhidas no estuário do Sado. Verifica-se que, à exceção da amostra da ostra portuguesa do estuário do Sado, a contaminação por cádmio nas diferentes espécies recolhidas no estuário do

Sado é baixa em relação ao limite admissível legislado de 1,00 mg.kg⁻¹ em peso fresco para as espécies em questão (CE, 2008).

Tabela 3.4 - Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (média ± desvio padrão), expressas em mg.kg⁻¹, nos moluscos bivalves de estuário do Sado.

Amostra	N	Cádmio	Chumbo	Mercúrio
AJS	3	0,14 ± 0,06 ^{a, b}	0,08 ± 0,04 ^{a, b}	0,03 ± 0,01 ^{b, c}
AS	6	0,10 ± 0,03 ^a	0,10 ± 0,05 ^{a, b}	0,01 ± 0,00 ^a
LS	6	0,10 ± 0,08 ^a	0,69 ± 0,15 ^b	0,03 ± 0,01 ^c
OPS	8	1,05 ± 0,42 ^b	0,04 ± 0,03 ^a	0,02 ± 0,00 ^b

Valores com letras sobresscritas iguais para um mesmo elemento, indica que não há diferenças estatísticas dentro da espécie ($p > 0,05$).

Lourenço *et al.* (2006) reportou uma diferença na contaminação por cádmio entre a ostra portuguesa (*Crassostrea angulata*) e a ameijola (*Callista chione*) do estuário do Sado. Isto é, os valores obtidos para o teor de cádmio para a ostra portuguesa e para a ameijola foram 1,05 e 0,10 mg.kg⁻¹, respetivamente, enquanto Lourenço *et al.* (2006) obteve 1,30 e 0,06 mg.kg⁻¹ para as mesmas espécies.

O valor obtido neste estudo para lambujinha é idêntico ao da ameijola. Contudo, Blasco (1999) obteve uma discrepância semelhante entre amostras na análise do teor de cádmio para a lambujinha e a ostra portuguesa no estuário de Guadalquivir, em Espanha, com valores de 1,30 e 0,24 mg.kg⁻¹, respetivamente.

Este fato pode significar uma maior apetência para a ostra na absorção e acumulação de cádmio, em relação aos restantes bivalves estudados.

A ostra é um bivalve capaz de filtrar partículas em suspensão. Assim, os altos níveis de cádmio poderão ainda ser indicadores de que os sedimentos contêm altos teores desse metal e, possivelmente, que também o fitoplâncton e zooplâncton do estuário do Sado estarão contaminados com este elemento. Este foi o único molusco bivalve que apresentou um valor médio de contaminação superior ao teor máximo legislado, assim sendo devem ser tomadas medidas de gestão relativamente a esta espécie.

Este dado vai de encontro com o que é referido por Silva e Batista (2008) que indicam que os limites máximos propostos pela UE para os diferentes metais não têm sido excedidos no estuário do Sado, à exceção de alguns casos de contaminação por cádmio na ostra capturada no estuário do Sado, sendo este, o metal de maior preocupação neste local e nos moluscos bivalves daí provenientes.

Caeiro *et al.* (2005) avaliaram a contaminação por metais em sedimentos no estuário do Sado e concluíram que o metal cujas concentrações eram mais preocupantes era o cádmio, enquanto o chumbo e, posteriormente, o mercúrio apresentaram apenas vestígios de contaminação.

Relativamente ao chumbo, verifica-se um baixo teor deste contaminante especialmente na amêijoia japonesa, na ameijola e na ostra portuguesa provenientes do estuário do Sado, cujos valores obtidos foram inferiores ou iguais a $0,10 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Em 2006 foram obtidos os mesmos valores para a ameijola colhida no estuário do Sado (Lourenço *et al.*, 2006). No entanto, verifica-se uma redução na contaminação da ostra portuguesa no local, cujo teor de contaminação passou de $0,10 \text{ mg.kg}^{-1}$ para $0,04 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Existem no estuário do Sado determinadas áreas que se encontram sob forte influência das águas residuais e de escoamento provenientes da atividade industrial e, conseqüentemente, ricas em metais pesados. No caso específico do chumbo, este é largamente utilizado na produção de tintas, pigmentos e vidro e existem pontos de contaminação por chumbo localizados perto da cidade de Setúbal e dos portos de pesca (Caeiro *et al.*, 2005)

Porém, a redução que se verifica no teor de contaminação por chumbo pode ser explicada pelo desenvolvimento e gradual incorporação que se tem verificado de efluentes nos sistemas de tratamento de água no distrito de Setúbal.

Apesar de apenas se verificarem diferenças significativas entre a lambujinha e a amêijoia ou a ameijola, verifica-se uma propensão para a contaminação da lambujinha por chumbo, em relação às restantes espécies. O mesmo fenómeno foi descrito por Blasco (1999), Lourenço *et al.* (2006), e Ruiz e Saiz-Salinas (2000), nos estuários de Guadalquivir, Tejo e Bilbao respetivamente, sendo que Blasco (1999) e Ruiz e Saiz-Salinas (2000) obtiveram valores superiores aos admissíveis, em legislação, pela União Europeia. A lambujinha é considerada uma espécie escavadora e um bivalve suspensívoro, o que pode explicar os níveis elevados de chumbo e o que traduz numa necessidade de especial atenção na monitorização deste bivalve.

Tal como ocorre no estuário do Tejo, a contaminação por mercúrio no estuário do Sado é baixa e muito inferior ao limite legislado.

Em síntese, de forma genérica, tal como se verifica na Figura 3.8, a contaminação por cádmio é baixa em ambos os estuários e para as espécies em geral. Contudo, é necessário ter em consideração que o comportamento dos metais ao longo dos estuários está relacionado com a área de deposição, fazendo com que ocorram alguns pontos críticos encontrados perto de zonas industrializadas e em áreas com sedimentos ricos em matéria orgânica na entrada de canais (Caeiro *et al.*, 2005).

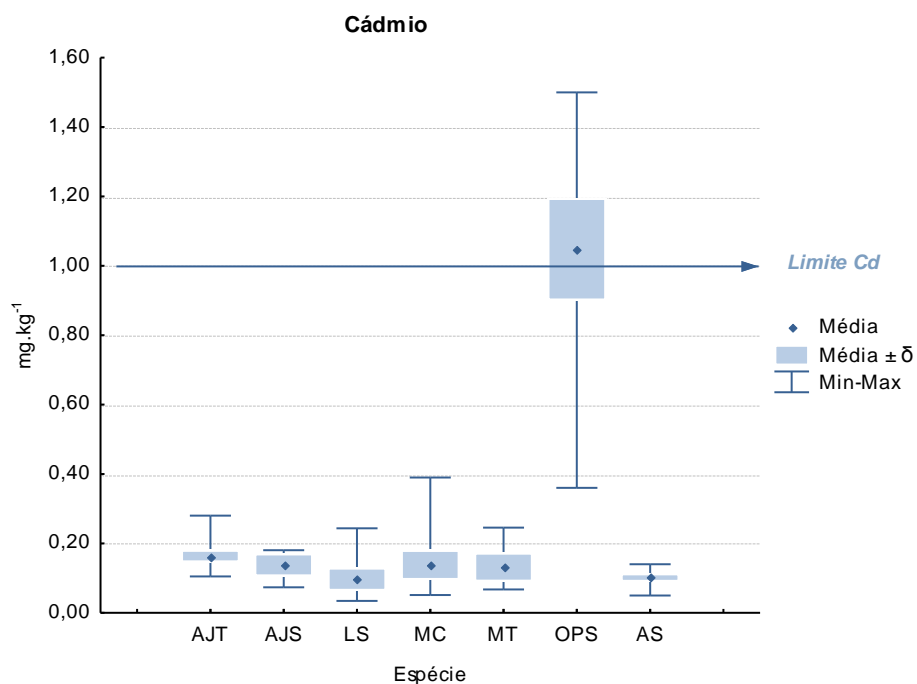


Figura 3.8 - Teor de cádmio (mg.kg^{-1}) nas espécies estudadas e limite máximo permitido por lei (CE, 2008).

Foram encontrados valores semelhantes aos obtidos, para diferentes autores, localizações e moluscos bivalves, como se pode verificar na Tabela 3.4. Destacam-se a ameijola (*Callista chione*) no Mar Adriático (Storelli e Marcotrigiano, 2010), o mexilhão (*Mytilus edulis*) no estuário do Tejo (Lourenço *et al.* 2006) e a amêijoia japonesa (*Ruditapes philippinarum*) no Mar de Bohai (Liang *et al.*, 2004).

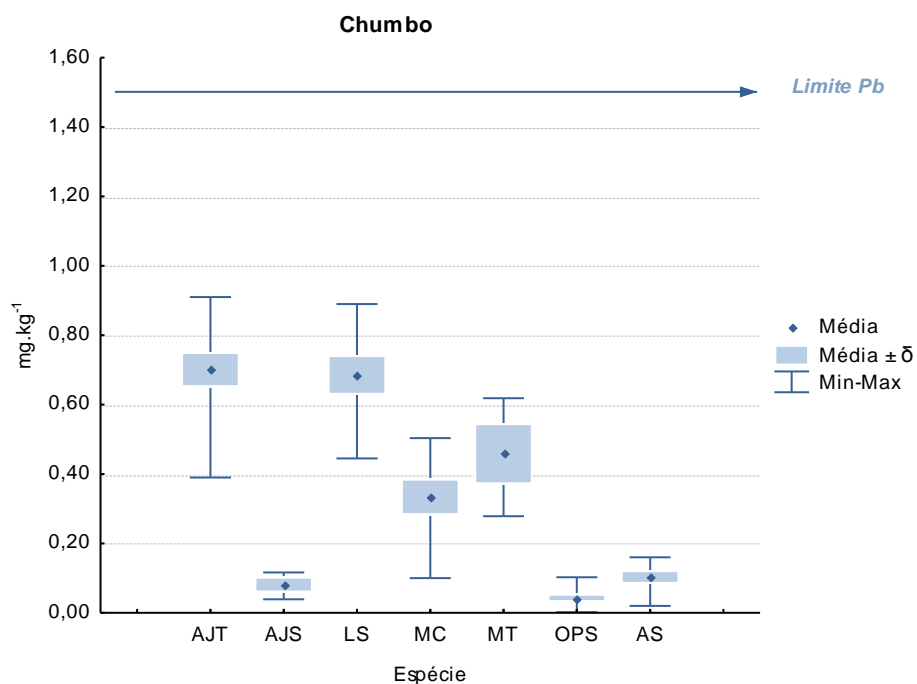


Figura 3.9 - Teor de chumbo (mg.kg^{-1}) nas espécies estudadas e limite máximo permitido por lei (CE, 2006).

Os teores de chumbo encontram-se inferiores a $1,50 \text{ mg.kg}^{-1}$, ou seja, abaixo do limite definido pela Comissão Europeia (CE, 2006) para todas as espécies em ambos os estuários, como se verifica na Figura 3.9.

A amêijoia japonesa do Tejo e a lambujinha do Sado são os moluscos bivalves que apresentam disposição para teores relativamente mais elevados, contudo, como foi já referido, todas possuem teores inferiores ao teor admissível por lei.

Valores semelhantes aos obtidos foram indicados por outros autores, em outros locais de estudo, nomeadamente para o mexilhão (*Mytilus edulis*) no Golfo do Maine (Chase *et al.*, 2001), nos estuários de Orwell e Stour (Wright e Mason, 1999), e na amêijoia japonesa (*Ruditapes philippinarum*) e para o mexilhão (*Mytilus edulis*) no mar de Bohai, China (Liang *et al.*, 2004).

Genericamente, verifica-se uma baixa contaminação das amostras por mercúrio, sendo que a ameijola do estuário do Sado é a amostra que apresenta menor concentração de mercúrio com $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ e a amêijoia japonesa do estuário do Tejo, bem como o mexilhão de Cascais, são as que apresentam maior teor de mercúrio, com $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Figura 3.10). Estes resultados são bastante inferiores ao valor legislado pelo Regulamento n.º 1881/2006 que determina como valor máximo admissível o teor de $0,50 \text{ mg.kg}^{-1}$, dez vezes superior aos valores máximos obtidos em análise.

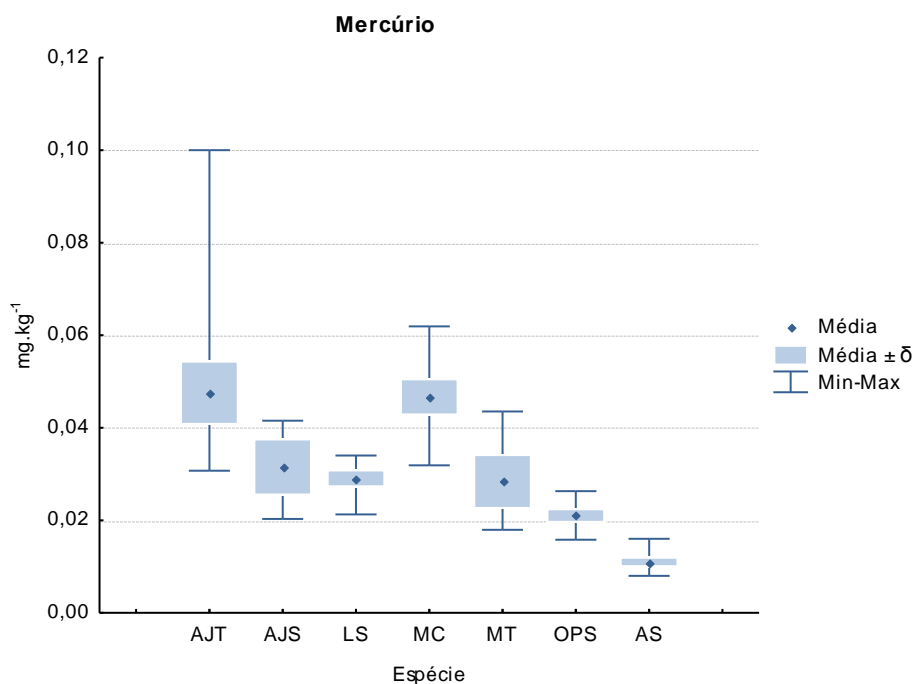


Figura 3.10 - Teor de mercúrio (mg.kg⁻¹) nas espécies estudadas.

É possível encontrar valores semelhantes referidos por vários autores, como se pode verificar na Tabela 3.4, nomeadamente, para a ameijola (*Callista chione*) e para a ostra portuguesa (*Crassostrea angulata*) nos estuário do Sado, para a lambujinha (*Scrobicularia plana*) e para o mexilhão (*Mytilus edulis*) no estuário do Tejo (Lourenço *et al.*, 2006) e ainda para o mexilhão (*Mytilus edulis*) no Golfo do Maine (Chase *et al.*, 2001) e nos estuários de Stour e Orwel (Wright e Mason, 1999) e para a lambujinha (*Scrobicularia plana*) da Ria de Aveiro (Coelho *et al.*, 2006).

Tabela 3.5 - Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (média ± desvio padrão) expressas em mg.kg⁻¹ na amêijoia japonesa dos estuários do Tejo e do Sado.

Amostra	N	Cádmio	Chumbo	Mercúrio
AJS	3	0,14 ± 0,06 ^a	0,08 ± 0,04 ^a	0,03 ± 0,01 ^a
AJT	9	0,16 ± 0,05 ^a	0,70 ± 0,15 ^b	0,05 ± 0,02 ^a

Valores com letras sobscritas iguais para um mesmo elemento, indica que não há diferenças estatísticas dentro da espécie ($p > 0,05$).

A bioacumulação e bioconcentração de metais por bivalves está diretamente dependente das concentrações dos metais no ambiente aquático (Martinić *et al.*, 1984). A comparação dos estados de contaminação nos diferentes locais foi efetuada por testes estatísticos na única espécie em comum aos dois locais, a amêijoia japonesa, como se pode verificar na Tabela 3.5.

Através da análise estatísticas dos resultados, verifica-se que não existem diferenças significativas entre os dois locais para a contaminação por cádmio e por mercúrio. Contudo, pode

ser observado que a contaminação por chumbo é superior nos bivalves colhidos no estuário do Tejo do que no estuário do Sado.

Um estudo realizado aos sedimentos localizados na plataforma continental de ambos os estuários do Tejo e do Sado demonstrou que os dois rios que alimentam as margens continentais sofrem impactos distintos resultantes da atividade antropogénica. Foram analisados três metais, um dos quais o chumbo, e verificou-se que o conteúdo de metais contaminantes apresenta um impacto claramente mais elevado no estuário do Tejo (Jouanneau *et al.*, 1998).

Tal como foi já referido, o chumbo é um dos contaminantes que merece especial atenção no estuário do Tejo uma vez que existe já um histórico relativamente à sua presença e à análise de bivalves com teores de chumbo superiores aos limites definidos pela União Europeia (Silva e Batista, 2008).

Na Tabela 3.6 refere-se aos teores de contaminação por cádmio, chumbo e mercúrio, referenciados na literatura, por diferentes autores, para alguns moluscos bivalves de diferentes origens.

Tabela 3.6 - Teores de cádmio, chumbo e mercúrio (mg.kg^{-1}) referenciados na literatura para moluscos bivalves.

Bivalve	Localização	Cd	Hg	Pb	Referência
<i>Callista chione</i>	Mar Adriático, Itália	0,09-0,3	-	0,20-0,41	Storelli e Marcotrigiano, 2010
<i>Callista chione</i>	Estuário do Sado, Portugal	0,06	0,03	0,1	Lourenço <i>et al.</i> , 2006
<i>Crassostrea angulata</i>	Estuário de Guadalquivir, Espanha	1,3	-	0,37	Blasco <i>et al.</i> , 1999
<i>Crassostrea angulata</i>	Estuário do Sado, Portugal	0,37	0,04	0,1	Lourenço <i>et al.</i> , 2006
<i>Mytilus edulis</i>	Golfo do Maine, Canadá/USA	0,29	0,08	0,47	Chase <i>et al.</i> , 2001
<i>Mytilus edulis</i>	Mar de Bohai, China	0,34-1,96	-	0,16-0,6	Liang <i>et al.</i> , 2004
<i>Mytilus edulis</i>	Estuários de Orwell e Stour, UK	0,18-0,52	0,04- 0,12	0,15- 1,5	Wright e Mason, 1999
<i>Mytilus edulis</i>	Estuário do Tejo, Portugal	0,13	0,02	0,2	Lourenço <i>et al.</i> , 2006
<i>Ruditapes philippinarum</i>	Mar de Bohai, China	0,14-0,63	-	0,13-0,33	Liang <i>et al.</i> , 2004
<i>Ruditapes philippinarum</i> ¹	Hong Kong, China	-	47,4 ± 15,3		Pan e Wang, 2011
<i>Scrobicularia plana</i>	Estuário de Guadalquivir, Espanha	0,24	-	2,28	Blasco <i>et al.</i> , 1999
<i>Scrobicularia plana</i> ¹	Estuário de Bilbao, Espanha	5-18	-	16-36	Ruiz e Saiz-Salinas, 2000
<i>Scrobicularia plana</i>	Estuário do Tejo, Portugal	0,03	0,04	1,4	Lourenço <i>et al.</i> , 2006
<i>Scrobicularia plana</i>	Ria de Aveiro, Portugal	-	0,005-0,061	-	Coelho <i>et al.</i> , 2006

¹ Valores referentes à matriz em base seca.

As concentrações dos três metais estudados neste trabalho, demonstra claramente que os diferentes organismos são diferencialmente seletivos para os diferentes metais. As diferenças entre os valores de concentrações dos elementos tóxicos estudados podem ser explicadas, em primeira instância, pelo fato de se tratar de diferentes espécies, seguido do fato de que as diferentes espécies podem apresentar diferentes hábitos de alimentação e/ou diferenças na regulação de metais filtrados (Wright e Mason, 1999; Sarkar *et al.*, 2008).

Isto é, a concentração dos metais nos tecidos dos moluscos bivalves depende da estratégia de acumulação adotada por cada espécie, para cada metal. Esta estratégia resulta da diferença entre as taxas de absorção e excreção do metal, à medida que são afetadas pelas alterações nos tecidos. As taxas de absorção e excreção são afetadas pelas características biológicas do organismo, incluindo a permeabilidade da superfície externa, a natureza do alimento e a eficiência dos sistemas de osmorregulação (Sarkar *et al.*, 2008).

Como exemplo, de acordo com a literatura, as ostras são descritas como organismos com maior capacidade de acumulação de metais quando comparadas com mexilhões (Martinić *et al.*, 1984).

Tal como ocorre na composição química aproximada, as diferenças que se encontram nos teores de metais de contaminantes dentro da mesma amostra e que influenciam os valores do desvio padrão, podem ser explicadas por diferentes estágios de maturação dos indivíduos, que refletem a idade e o tamanho do organismo, bem como variações sazonais, tal como foi observado por diferentes autores (Wright e Mason, 1999; Astorga España *et al.*, 2007).

As variações sazonais de concentrações de metal podem ser causadas por fatores tais como drenagem de solos para o estuário, disponibilidade de alimentos, a temperatura, salinidade e o seu ciclo reprodutivo e condição do organismo (Martinić *et al.*, 1984; Wright e Mason, 1999). Além disso, as alterações em variáveis físico-químicas, como o pH, a temperatura ou a salinidade, podem influenciar as proporções relativas de espécies metálicas e podem modificar a biodisponibilidade dos metais pesados para a absorção por organismos marinhos (Mantoura *et al.*, 1978; Blasco, 1999).

4. Considerações finais

É conhecido que o consumo de produtos da pesca em algumas zonas do globo apresenta valores bastante elevados, representando, em muitos desses locais, a principal fonte de proteínas de origem animal.

Os moluscos bivalves analisados apresentaram teores de humidade entre 79 e 85%, sendo este o constituinte maioritário.

Nos dados obtidos neste trabalho verificou-se que a proteína é o segundo maior constituinte dos bivalves estudados, com teores entre 10 e 14%, e que apresentaram valores relativamente elevados quando comparados com alguns autores. As proteínas destes organismos apresentam na sua constituição todos os aminoácidos essenciais e é reconhecida a sua digestibilidade, o que faz com que estes organismos apresentem uma elevada importância do ponto de vista nutricional.

A cinza foi o constituinte que apresentou menos variação, com teores entre 2 e 4%.

Em relação à gordura e ao glicogénio, estes foram os componentes com menos representatividade com teores entre 0,3 e 1,5% no caso da gordura e 0,5 e 2,5% no caso do glicogénio.

Os valores energéticos obtidos nos bivalves analisados encontram-se entre aproximadamente 50 e 70 kcal.100mg⁻¹.

Existem algumas diferenças entre as espécies analisadas no que concerne ao teor dos diferentes constituintes. Estas são reflexo das condições do meio envolvente ao longo do seu desenvolvimento e da sua maturidade. Devido aos seus hábitos sedentários, a composição química dos bivalves está igualmente relacionada com a disponibilidade de alimentos e com a época de captura. Assim sendo, observando globalmente os resultados obtidos, os bivalves apresentaram um baixo teor de glicogénio e de gordura, e um baixo valor energético podendo ser, por isso, considerado géneros alimentícios de consumo benéfico.

Sendo amplamente conhecidos os diversos benefícios do consumo destes produtos, cada vez mais divulgados por diversas organizações mundiais, é de extrema importância a investigação do grau de contaminação por metais pesados e a avaliação dos riscos em oposição aos benefícios do seu consumo como parte essencial de uma dieta saudável.

Os níveis de metais pesados analisados encontram-se abaixo dos limites da Comissão Europeia, com exceção da ostra portuguesa capturada no estuário do Sado, que poderá representar um risco para o consumo humano.

A ostra portuguesa do Sado apresentou um nível de contaminação de cádmio superior ao limite imposto na legislação, exigindo desta forma, uma ação por parte das autoridades competentes relativamente à apanha e consumo deste bivalve.

Tal como outros estuários, os estuários do Sado e do Tejo apresentam uma atividade muito intensa, recebendo múltiplos *inputs* de diversas fontes, tornando-se por isso áreas muito vulneráveis. Verificou-se que apenas o chumbo apresentou diferenças entre os dois locais de amostragem, sendo que o estuário do Tejo é o que apresenta valores mais elevados

Ainda que os resultados obtidos sejam indicadores de alguma poluição que se reflete nos bivalves que habitam esta área, esta informação necessita de ser complementada com outros parâmetros essenciais, como a frequência e quantidade que costuma ser colhida e incluída na dieta da população.

Apesar dos teores obtidos serem inferior aos limites máximos legislados, à exceção da ostra portuguesa do estuário do Sado, estes metais continuam a ser potencialmente prejudiciais, e dado possuírem a capacidade de bioacumulação, apresentam ainda um maior risco potencial para a população. Como uma medida de precaução, esforços devem ser feitos para reduzir as entradas de metais, além das medidas corretivas como a interdição da apanha de ostra no estuário do Sado. Deve ainda dar-se continuidade ao estudo da contaminação da flora macrobentónica através de uma monitorização continua destes sistemas aquáticos.

De forma genérica e considerando os restantes resultados obtidos neste estudo sugerem que num quadro de uma alimentação diversificada o consumo destas espécies não constitui um perigo para a população. São uma boa fonte de proteínas com um baixo teor de gordura e baixo valor energético, o que proporciona um elevado interesse do ponto de vista nutricional, podendo continuar a fazer parte integrante não só da gastronomia tradicional, mas também como matéria-prima da “*nouvelle cuisine*”.

4.1. Perspetivas futuras

Ao longo da realização deste trabalho foi possível detetar alguns ajustes que poderão ser feitos em futuros estudos e investigações de modo a maximizar a quantidade e qualidade dos resultados obtidos. Uma das alternativas seria a realização de um período de amostragem mais prolongado para a obtenção de um espectro de resultados mais alargado. Seria também benéfico o estudo de bivalves de outros locais dos estuários ou de outros estuários e ainda de outras espécies de importância comercial.

Em relação à composição química dos bivalves, apesar de existirem já alguns estudos nesse sentido, seria de elevado interesse o aprofundamento dos conhecimentos referentes à composição da fração lipídica ou o perfil de minerais dos bivalves, nomeadamente em função da espécie, da localização e da sazonalidade. Além deste aspeto, outra perspetiva de análise engloba as alterações sofridas na composição, consequentes de tratamentos térmicos ou de diferentes métodos de conservação.

No que respeita a contaminação por metais, realça-se a necessidade de um planeamento mais adequado da monitorização dos níveis de metais pesados nos produtos da pesca, para que os dados possam ser analisados numa perspetiva global que contemple não só os requisitos

legais mas também os aspetos da eventual exposição continuada dos consumidores a estes metais.

É ainda de interesse o estudo da relação entre a acumulação de metais contaminantes e as características do meio envolvente, bem como os dados biométricos dos bivalves em estudo. Desta forma, seria benéfico a análise de parâmetros como a temperatura, a salinidade e o pH da água e dos sedimentos, a determinação do fator de bioconcentração, isto é, a razão entre a concentração de um contaminante no organismo e a concentração no meio envolvente, e o registo de dados morfométricos e o índice de condição dos bivalves.

A experiência mostra que a constante divulgação da informação cumpre um papel essencial na preparação, estruturação e aplicação das ações de gestão de riscos. Estas ações devem ser ponderadas face ao valor nutricional dos bivalves e à sua importância económico-social. Assim sendo, qualquer ação que se pretenda realizar ou medida a implementar deverá ter em consideração a eventual contaminação dos moluscos bivalves com metais pesados em função dos parâmetros associados à captura e aos benefícios do consumo de bivalves.

As opções de desenvolvimento futuro e as diferentes formas de atuação são responsáveis pela implementação de um sistema que garanta a segurança, bem como de propostas de legislação, normas e inspeção. Assim sendo, é fundamental que o sector das pescas tenha como suporte as atividades de investigação como forma de previsão, de prevenção, de sugestões e de soluções para possíveis irregularidades.

5. Bibliografia

- Albentosa, M., Fernández-Reiriz, M. J., Labarta, U., Pérez-Camacho, A., 2007. Response of two species of clams, *Ruditapes decussatus* and *Venerupis pullastra*, to starvation: Physiological and biochemical parameters. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 146(B): 241–249.
- Aníbal, J., Esteves, E., Rocha, C., 2011. Seasonal Variations in Gross Biochemical Composition, Percent Edibility, and Condition Index of the Clam *Ruditapes decussatus* Cultivated in the Ria Formosa (South Portugal). *Journal of Shellfish Research*, 30(1):17-23.
- Astorga España, M. S., Rodríguez, E. M. R., Romero, C. D., 2007. Comparison of mineral and trace element concentrations in two molluscs from the Strait of Magellan (Chile). *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 273-279.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P., 2004. *Food Chemistry*, Fourth Edition. Springer-Verlag, Berlin, 1070 p.
- Bigas, M., Durfort, M., Poquet, M., 2006. Cytological response of hemocytes in the European flat oyster, *Ostrea edulis*, experimentally exposed to mercury. *Biometals*, 19: 659-673.
- Blasco, J., Arias, A. M., Sáenz, V., 1999. Heavy metals in organism of the river Gualquivir estuary: possible incidence of the Aznalcóllar disaster. *Science of Total Environmental*, 242: 249-259.
- BOE, 2007. Base de datos terminológicos y de identificación de especies pesqueras de las costas de Cádiz y Huelva. In: Listado de denominaciones comerciales de especies pesqueras y de acuicultura admitidas en España. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, [online]. Madrid. Atualizado em 2007. [Consultado a 31 de julho 2012]. Disponível em: <http://www.ictioterm.es/referencia_bibliografica.php?rb=23>.
- Cabello, A. M., Lezama, R. V. V., García, B. E. F., Marcano, M. C. R., Figueroa, Y. V. M., González, O. M. V., 2004. Parámetros de Frescura de moluscos (Freshness Parameters of Mollusks). *Revista Científica FCV/LUZ*, 14(5): 457- 466.
- Caeiro, S., Costa, M. H., Ramos, T. B., Fernandes, F., Silveira, N., Coimbra, A., Medeiros, G., Painho, M., 2005. Assessing heavy metal contamination in Sado Estuary sediment: An index analysis approach. *Ecological Indicators*, 5: 151-169.
- Camacho, A. P., Labarna, U., Beiras, R., 1995. Growth of mussel *Mytilus edulis galloprovincialis* on cultivation rafts: influence of seed source, cultivation site and phytoplankton availability. *Aquaculture*, 138: 349-362.
- CE, 2006. Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão de 19 de dezembro que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. JO L 364 20-12-2006 pp.5-24.

- CE, 2008. Regulamento (CE) n.º 629/2008 da Comissão de 2 de julho que altera o Regulamento (CE) n.º 1881/2006 que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. JO L 173 03-07-2008 pp. 6-9.
- CEN, 2003. European Standard EN 14084: Foodstuffs – Determinations of trace elements – Determinations of lead, cadmium, zinc, copper and iron by atomic absorption spectrometry (AAS) after microwave digestion. CEN – European Committee for standardization, 16 p.
- Chase, M. E., Jones, S. H., Henningar, P., Sowless, J., Harding, G. C. H., Freeman, K., Wells, P. G., Coombs, K., Crawford, R., Pederson, J., 2001. Gulfwatch: Monitoring spatial and temporal patterns of trace metal and organic contaminants in the gulf of Maine (1991-1997) with the blue mussel, *Mytilus edulis* L. Marine Pollution Bulletin, 42:491-505.
- Claisse, D., Cossa, D., Bretaudeau-Sanjuan, J., Touchard, G., Bombled, B., 2001. Methylmercury in Molluscs along the French coast. Marine Pollution Bulletin, 42(4): 329-332.
- Coelho, J. P., Rosa, M., Pereira, E., Duarte, A., Pardal, M. A., 2006. Pattern and annual rates of *Scrobicularia plana* Mercury bioaccumulation in a human induced Mercury gradient (Ria de Aveiro, Portugal). Estuarine, Coastal and Shelf Science, 69: 629-635.
- Decreto-Lei n.º 430/80 de 1 de Outubro de 1980 que cria a Reserva Natural do Estuário do Sado. Série I, 227/80, pp. 3066-3068.
- Deslous-Paoli, J.-M., Héral, M., 1988. Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the bay of Marennes, Oléron. Aquatic Living Resources, 1: 239-249.
- Dincer, T., 2006. Differences of Turkish clam (*Ruditapes decussates*) and Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) according to their proximate composition and heavy metal contents. Journal of Shellfish Research, 25(2):455-459.
- EPA, 1997. Mercury Study Report to Congress. Volume III: Fate and Transport of Mercury in the Environment. Environment Protection Agency, Estados Unidos da América, 376 p.
- EPA, 1998. Test method 7473: Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation and atomic absorption spectrometry, Environment Protection Agency, Estados Unidos da América, 14 p.
- Erkan, N., Özden, Ö., Ulusoy, S., 2011. Seasonal Micro- and Macro-Mineral Profile and Proximate Composition of Oyster (*Ostrea edulis*) Analyzed by ICP-MS. Food Analytical Methods, 4: 35–40.
- FAO, 1989. Yield and nutritional value of the commercially more important fish species. Vol. 309, FAO Fisheries Technical Papers, 187 p.
- FAO, 2005. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Ruditapes philippinarum*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Gouletquer, P. In: FAO Fisheries and

- Aquaculture Department [online]. Rome. Atualizado a 1 de janeiro de 2005. [Consultado a 31 de julho 2012]. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Ruditapes_philippinarum/en
- FAO, 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 209 p.
- Fauconneau, B., 2002. Health value and safety quality of aquaculture products. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 153(5): 331-336.
- Fávaro, D. I. T., Chicourel, E. L., Maihara, V. A., Zangrande, K. C., Rodrigues, M. I., Barra, L. G., Vasconcellos, M. B. A., Cozzolino, S. M. F., 2001. Evaluations of some essential and trace elements in diets from 3 nurseries from Juiz de Fora, M. G., Brazil, by neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 249: 15-19.
- Feng, Y., Tuo, Y., Zhongming, H., Yuehuan, Z., Xiwu, Y., Guofan, Z., 2010. Effects of starvation on growth, survival, and body biochemical composition among different sizes of Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Acta Ecologica Sinica*, 30: 135-140.
- Fraga, F., 1956. Variación estacional de la composición química del mejillón (*Mytilus edulis*). I. *Investigacion Pesquera*, 4: 109-125.
- Freire, P., Taborda, R., Andrade, C., 2006. Caracterização das praias estuarinas do Tejo. 8º Congresso da Água, Figueira da Foz, APRH (Associação Portuguesa dos Recursos Hídricos), 12 p.
- Garcês, J. e Costa, H., 2009. Trace metals in populations of *Marphysa sanguinea* (Montagu, 1813) from Sado estuary: effect of body size on accumulation. *Scientia Marina*, 73(3): 605-616.
- Gökoğlu, N., Yerlikaya, P., Gökoğlu, M., 2008. Trace elements in edible tissues of three shrimps species (*Penaeus semisulcatus*, *Parapenaeus longirostris* and *Paleomon serratus*). *Journal of the Science Food and Agriculture*, 88: 175-178.
- Göksu, M. Z. L., Akar, M., Çevik, F., Findik, Ö., 2005. Bioaccumulation of some heavy metals (Cd, Fe, Zn, Cu) in two bivalvia species (*Pinctada radiata* Leach, 1814 and *Brchidontes pharaonis* Fischer, 1870). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 29: 89-93.
- Goyer, R. A., Clarkson, T. W., 2001. Toxic effects of metals. In: Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons, C. D. Klaassen (Ed.), McGraw-Hill, NY USA, pp. 811-867.
- Graham, W. M., Largier, J.L., 1997. Upwelling shadows as nearshore retention sites: the example of northern Monterey Bay. *Continental Shelf Research*, 17: 509-532.
- Güner S., Dinçer, B., Alemdağ N., Çolak, A., Tüfekçi, M., 1998. Proximate composition and selected mineral content of commercially important fish species from the Black Sea. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 78: 337-342.
- Haard, N.F., 1992. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Research International*, 25: 289-307.

- Helm, M. M., Bourne, N., 2004. Hatchery culture of bivalves: a practical manual. FAO Fisheries technical paper 471. Food and Agriculture Organization, Rome, 201 p.
- Hui, Y. H., Cross, N., Kristinsson, H. G., Lim, M. H., Nip, W. K., Siow, L. F., Stanfield, P. S., 2006. 16 Biochemistry of Seafood Processing. In: Food Biochemistry and Food Processing, Hui, Y. H., Nip, W.-K., Nollet, L. M.L., Paliyath, G., Simpson, B. K. (Eds.). Blackwell Publishing, Iowa, pp. 351-378.
- ICNF, 2010. A Ostra Portuguesa – Recuperação de um património. Estudos, projectos e conservação – conservação da natureza e biodiversidade. Atualizado em 2010. [Consultado a 23 de Agosto de 2012]. Disponível em: <<http://www.icnf.pt/ICNFPortal/vPT2007-AP-EstuarioSado/A+Reserva/Estudos+Projectos+e+Accoes+de+Conservacao/Conservacao+da+Natureza+e+Biodiversidade/?res=1366x768>>
- INE, 2011. Estatísticas da Pesca 2010. Direcção Geral das Pescas e Aquicultura. Instituto Nacional de Estatística I. P., Lisboa-Portugal, 101 p.
- INE, 2012. Estatísticas da Pesca 2011. Direcção Geral das Pescas e Aquicultura. Instituto Nacional de Estatística I. P., Lisboa-Portugal, 130 p.
- IPQ, 2009^a. NP 1972 – Produtos da pesca e da aquicultura: Determinação do teor de matéria gorda livre. Instituto Português da Qualidade, Caparica, 7 p.
- IPQ, 2009^b. NP 2032 – Produtos da pesca e da aquicultura: Determinação do teor de cinza total. Instituto Português da Qualidade, Caparica, 7 p.
- IPQ, 2009^c. NP 2282 – Produtos da pesca e da aquicultura: Determinação da humidade. Instituto Português da Qualidade, Caparica, 7 p.
- INSA (2006). Tabela da composição de alimentos. Centro de Segurança Alimentar e Nutrição INSA (Eds.). Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Lisboa, 355 p.
- ITIS, 2012. Integrated Taxonomic Information System on-line database. Atualizado a 19 de julho. [Consultado a 9 de agosto de 2012] Disponível em: <<http://www.itis.gov>>
- Jorhem, L., 2000. Determination of metals in food by atomic absorption spectrometry after dry ashing: NMKL Collaborative study. JAOAC International, 83: 1204-1211.
- Jouanneau, J. M., Garcia, C., Oliveira, A., Rodrigues, A., Dias, J. A., Weber, O., 1998. Dispersal and deposition of suspended sediment on the shelf off the Tagus and Sado estuaries, S.W. Portugal. Progress in Oceanography 42: 233–257.
- Karakoltsidis, P. A., Zotos, A., Constantinides, S. M., 1995. Composition of the commercially important mediterranean finfish, crustaceans and molluscs. Journal of Food Composition and Analysis, 8: 258-273.
- Kirsten, W.J., Hesselius, G. U., 1983. Rapid automatic, high capacity Dumas determination of nitrogen. Microchemical Journal 28: 529-547.

- Klein, G. L., 2005. Heavy Metals. In: Encyclopedia of Human Nutrition. 2nd Ed. Caballero, B., Allen, L., Prentice, A. (Eds.) Elsevier Academic Press, Oxford, pp. 344-350.
- Lees, D., 2000. Viruses and bivalve shellfish. International Journal of Food Microbiology, 59: 81-116.
- Liang, L. N., He, B., Jiang, G. B., Chen, D. Y., Yao, Z. W., 2004. Evaluation of molluscs as biomonitors to investigate heavy metal contaminations along the Chinese Bohai Sea. Science of Total Environment, 324:105-113.
- Lourenço, H., Lima, C., Oliveira, A., Gonçalves, S., Afonso, C., Martins, M. F., Nunes, M. L., 2006. Concentrations of Mercury, lead and cadmium in bivalves from the Portuguese coast. In: Seafood research from fish to dish – Quality, safety and processing of wild and farmed fish. Lutten, J. B., Jacobsen, C., Beakaert, K. (Eds.) Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherland, 497-502.
- Maanan M., 2007. Biomonitoring of heavy metals using *Mytilus galloprovincialis* in Sati Coastal Waters, Morocco, Inc. Environmental Toxicology, 22: 525-531.
- Mantoura, R. F. C., Dickson A., Riley J. P., 1976. The complexation of metals with humic materials in natural waters. Estuarine Coastal Marine Science, 6: 387-408.
- Martinić, D., Niirnberg, H. W., Stoeppler, M., Branica, M., 1984. Bioaccumulation of heavy metals by bivalves from Lim Fjord (North Adriatic Sea). Marine Biology, 81: 177-188.
- Martino, R. C., Cruz, G. M., 2004. Proximate Composition and Fatty Acid Content of the Mangrove Oyster *Crassostrea rhizophorae* Along the Year Seasons. Brazilian Archives of Biology and Technology, 47(6): 955-960.
- Mikac, N., Kwokal, Z., Martincic, D., Branica, M., 1996. Uptake of mercury species by transplanted mussels *Mytilus galloprovincialis* under estuarine conditions (Krka river estuary). Science of the Total Environment, 184: 173-182.
- Nielsen, S. S., 2010. Food Analysis, Fourth Edition. Springer, London, 602 p.
- Nunes, M. L., Batista, I., Bandarra, N.M., Morais, M. G., Morais, M. G., Rodrigues, P. O., 2008. Produtos da pesca: valor nutricional e importância para a saúde e bem-estar dos consumidores. Publicações avulsas do IPIMAR 18, 77 p.
- Okumuş, İ., Stirling, H. P., 1998. Seasonal variations in the meat weight, condition index and biochemical composition of mussels (*Mytilus edulis* L.) in suspended culture in two Scottish sea lochs. Aquaculture, 159: 249-261.
- Oliveira, J., Cunha, A., Castilho, F., Romalde, J. L., Pereira, M. J., 2010. Microbial contamination and purification of bivalve shellfish: Crucial aspects in monitoring and future perspectives – A mini-review. Food Control, 22(6): 805-816.

- Orban, E., Di Lena, G., Navigato, T., Casini, I., Marzetti, A., Caproni, R., 2002. Seasonal changes in meat content condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultures in two different Italian sites. *Food Chemistry*, 77: 57-65.
- Pan, K., Wang, W. X., 2011. Mercury accumulation in marine bivalves: Influences of biodynamics and feeding niche. *Environmental Pollution*, 159: 2500-2506.
- Paterson, B., Goodrick, B., Frost, S., 1997. Controlling the quality of aquacultured food products. *Trends in Food Science and Technology*, 8: 253-257.
- Pereira, M. E., Lillebø, A. I., Pato, P., Válega, M., Coelho, J. P., Lopes, C. B., Rodrigues, S., Cachada, A., Otero, M., Pardal, M. A., Duarte, A. C., 2009. Mercury pollution in Ria de Aveiro (Portugal): a review of the system assessment. *Environmental Monitoring and Assessment*, 155(1-4): 39-49.
- Pipe, R. K., Coles, J. A., 1995. Environmental contaminants influencing immune function in marine bivalve molluscs. *Fish & Shellfish Immunology*, 5: 581-595.
- Ré, P., 1984. Ictioplâncton da região central da costa portuguesa e do estuário do Tejo. Ecologia da postura e da fase planctónica de *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) e de *Engraulis encrasicolus* (Linné, 1758). Tese, Universidade de Lisboa, 425 p.
- Ribeiro, S., Amorim, A., 2008. Environmental drivers of temporal succession in recent dinoflagellate cyst assemblages from a coastal site in the North-East Atlantic (Lisbon Bay, Portugal). *Marine Micropaleontology*, 68: 156-178.
- Riisgård, H. U., Kiørboe, T., Møhlenberg, f., Drabæk, I., Madsen, P. P., 1985. Accumulation, elimination and chemical speciation of mercury in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica*. *Marine biology*, 86: 55-62.
- Ruiter, A., 1995. Contaminants in fish. In: A. Ruiter (ed.), *Fish and fishery products composition, nutritive properties and stability*, Cab internacional, UK, pp. 261-285.
- Ruiz, J. M., Saiz-Salinas, J. I., 2000. Extreme variation in the concentration of trace metals in sediments and bivalves from the Bilbao estuary (Spain) caused by the 1989-90 drought. *Marine Environmental Research*, 49:307-317.
- Sabyj, B. M., Creamer, D. L., True, R. H., 1979. Seasonal effect on yield, proximate composition, and quality of blue mussel, *Mytilus edulis*, meats obtained from cultivated and natural stock. *Marine Fisheries Review*, 1321: 18-23.
- Sarkar, S. K., Cabral, H., Chatterjee, M., Cardoso, I., Bhattacharya, A. K., Satpathy, K. K., Alam, M. A., 2008. Biomonitoring of Heavy Metals Using the Bivalve Molluscs in Sunderban Mangrove Wetland, Northeast Coast of Bay of Bengal (India): Possible Risks to Human Health. *Clean* 36(2): 187-194.
- Seifter, S., Dayton, S., Novic, B., Muntwyler, E., 1950. The estimations of glycogen with anthrone reagent. *Archives of Biochemistry*, 25(1): 191-200.

- Silva, H.A., Batista, I. (Eds.), 2008. Produção, salubridade e comercialização dos moluscos bivalves em Portugal, Publicações avulsas do IPIMAR 20, 171 p.
- Storelli, M. M., Marcotrigiano, G. O., 2001. Consumption of bivalve mollusc in Italy: estimated intake of cadmium and lead. *Food Additives and Contaminants*, 18(4): 303-307.
- Thorp, J. H., Covich, A. P., 1991. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. Academic Press, Inc., California, 927 p.
- USDA, 2012. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25. Nutrient Data Laboratory, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, USA. Atualizado em Setembro de 2012. [Consultado em Setembro de 2012]. Disponível em: <<http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>>.
- Usero, J., Morillo, J., Garcia, I., 2005. Heavy metal concentrations in molluscs from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere*, 59: 1175-1181.
- Vasconcelos, M. S., 2002. A Condição Humana e os Oceanos. Breviário de Meditação. IPIMAR, Lisboa, 370 p.
- Veiga, A., Lopes, A., Carrilho, E., Silva, L., Dias, M. B., Seabra, M. J., Borges, M., Fernandes, P., Nunes, S., 2009. Perfil de risco dos principais alimentos consumidos em Portugal. Autoridade de Segurança Alimentar e Económica, 330 p.
- Vernocchi, P., Maffei, M., Lanciotti, R., Suzzi, G., Gardini, F., 2007. Characterization of Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) harvested in Adriatic Sea (Italy). *Food Control*, 18: 1575-1583.
- Viles, P., Silverman, J., 1949. Determination of starch and cellulose with anthrone. *Analytical Chemistry*, 21(8): 950-953.
- Wright, P., Mason, C. F., 1999. Spatial and seasonal variation in heavy metals in the sediments and biota of two adjacent estuaries, the Orwell and the Stour, in eastern England. *The Science of the Total Environment*, 226:139-156.

Anexos

I. Dados

Tabela I.1 - Composição química aproximada (%) e valor energético ($\text{kcal} \cdot 100\text{g}^{-1}$), das amostras dos moluscos bivalves estudadas, resultado de duas réplicas de amostras constituídas por 15 a 30 organismos.

Amostra	Número	Humidade	Proteína	Gordura	Cinza	Glicogénio	Valor energético
AJS	3	82,1	12,8	0,32	2,91	1,0	58,0
		85,1	9,6	0,50	3,09	0,7	45,6
		81,2	11,9	0,31	3,36	2,4	59,8
AJT	5	80,4	13,9	0,87	3,14	1,0	67,6
		82,2	12,3	0,6	2,95	1,2	59,2
		80,5	11,9	0,87	2,96	2,5	65,3
		81,2	12,6	0,74	2,91	0,9	60,5
AS	6	83,6	13,0	0,69	3,02	0,5	60,0
		78,5	13,9	0,30	3,02	3,8	73,5
		80,3	13,7	0,30	3,00	2,2	66,3
		79,4	14,3	0,30	2,8	2,4	69,5
		78,4	14,9	0,50	3,01	2,4	73,7
		79,3	14,0	0,90	3,14	1,7	70,9
LS	6	81,2	13,5	0,80	3,16	2,1	69,6
		79,3	12,7	0,59	3,32	2,7	66,6
		79,9	12,3	0,49	3,21	3,8	69,0
		84,6	8,0	0,44	3,55	2,6	46,0
		80,3	11,8	0,68	3,06	3,2	65,9
		80,0	12,7	0,42	3,36	2,5	64,7
MC	5	82,5	10,2	0,43	3,08	3,2	57,4
		82,3	13,0	0,88	2,6	0,3	61,0
		82,5	11,5	1,24	2,9	1,0	61,3
		84,4	11,6	0,98	2,81	0,2	56,0
		88,1	9,0	0,95	3,05	0,2	45,4
MT	4	83,8	12,0	0,94	2,73	1,5	62,1
		81,4	12,7	1,05	3,11	0,4	61,8
		83,6	11,3	0,46	3,41	0,7	52,1
		86,5	8,7	0,65	3,03	0,4	42,1
OPS	6	85,3	9,0	0,99	3,13	0,7	47,3
		80,4	12,8	1,38	2,37	1,2	68,3
		81,2	11,6	0,89	2,42	2,2	63,3
		79,8	13,7	1,14	3,04	2,1	73,6
		80,9	15,2	0,85	3,14	1,7	75,2
		80,5	10,7	0,87	3,32	2,9	62,4
		80,0	11,1	1,28	3,62	3,2	68,8

Tabela I.2 - Concentração de cádmio, chumbo e mercúrio ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), dos moluscos bivalves estudados, resultado de duas réplicas de amostras constituídas por 15 a 30 organismos.

Amostra	Número	Cádmio	Chumbo	Mercúrio
AJS	1	0,18	0,09	0,04
	2	0,07	0,04	0,02
	3	0,16	0,12	0,03
AJT	1	0,28	0,39	0,10
	2	0,21	0,77	0,04
	3	0,16	0,91	0,05
	4	0,18	0,80	0,05
	5	0,11	0,66	0,03
	6	0,15	0,75	0,04
	7	0,13	0,80	0,04
	8	0,13	0,61	0,03
	9	0,13	0,63	0,04
AS	1	0,12	0,09	0,01
	2	0,14	0,16	0,02
	3	0,10	0,11	0,01
	4	0,10	0,10	0,01
	5	0,10	0,02	0,01
	6	0,05	0,14	0,01
LS	1	0,09	0,76	0,03
	2	0,05	0,62	0,03
	3	-	0,56	0,02
	4	0,03	0,45	0,02
	5	0,13	0,89	0,03
	6	0,03	0,76	0,03
	7	0,24	0,76	0,03
MC	1	0,39	0,10	0,05
	2	0,10	0,32	0,05
	3	0,07	0,41	0,06
	4	0,10	0,45	0,03
	5	0,13	0,50	0,06
	6	0,05	0,23	0,04
	7	0,12	0,33	0,04
MT	1	0,25	0,62	0,04
	2	0,14	0,60	0,03
	3	0,07	0,34	0,02
	4	0,07	0,28	0,02
OPS	1	1,50	0,00	0,02
	2	0,59	0,03	0,03
	3	0,36	0,02	0,03
	4	1,40	0,02	0,02
	5	1,36	0,10	0,02
	6	1,32	0,07	0,02
	7	0,98	0,03	0,03
	8	0,87	0,07	0,02