

Caracterização Biológica e Comercial do Ouriço-do-mar *Sphaerechinus granularis* (Lamarck, 1816) nos Açores.

Dissertação de Mestrado

Celso de Sousa Aguiar

Mestrado em

Tecnologia e Segurança Alimentar



Angra do Heroísmo
2019

Caracterização Biológica e Comercial do Ouriço-do-mar *Sphaerechinus granularis* (Lamarck, 1816) nos Açores

Dissertação de Mestrado

Celso de Sousa Aguiar

Orientadores

Professor Doutor Alfredo Borba

Professor Doutor João Pedro Barreiros

Dissertação de Mestrado submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em
Tecnologia e Segurança Alimentar



À Minha Família

Agradecimentos

A realização deste trabalho não seria possível sem a colaboração de algumas pessoas e instituições, às quais gostaria de manifestar o meu sincero agradecimento.

À Universidade dos Açores, na pessoa do Magnífico Reitor, e à Faculdade de Ciências Agrárias e do Ambiente, na pessoa do seu Presidente.

Ao Professor Doutor Alfredo Emílio Silveira de Borba, orientador deste trabalho, pela transmissão de conhecimentos, pela inspiração, amizade e dedicação e pela total disponibilidade que sempre demonstrou ao longo deste trabalho e pela enorme persistência e apoio incondicional.

Ao Professor Doutor João Pedro Barreiros, orientador deste trabalho, pela transmissão de conhecimentos, pela inspiração, amizade e dedicação e pela total disponibilidade que sempre demonstrou ao longo deste trabalho e pela enorme persistência e apoio incondicional.

Ao Professor Doutor Oldemiro Aguiar do Rego pela ajuda na interpretação dos perfis de ácidos gordos.

À Mestre Cristiana Sofia Alves Mesquita Rodrigues Maduro Dias pela sua preciosa colaboração na execução das análises químicas das amostras.

À Professora Doutora Susana Alves e ao Professor Doutor Rui Bessa, ambos da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, pela colaboração fundamental nas análises nutricionais das amostras, pela disponibilidade e apoio prestados, amizade e dedicação.

À Professora Doutora Célia Silva, Diretora do Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar, pelo apoio, pela transmissão de conhecimentos e pela total disponibilidade que sempre demonstrou ao longo deste trabalho.

Ao Mestre Marco António Linhares Rosa pelo apoio e total disponibilidade.

À todos os professores e funcionários deste departamento, ao longo destes três anos, que me apoiaram e acolheram com muita amizade.

À empresa Asinus Atlanticus, Lda, pela colaboração na Liofilização das amostras.

A toda a minha família, que sempre me apoiou, e sem eles, este trabalho não era possível.

À senhora Teresa Soares pelo incansável apoio e dedicação.

À minha esposa que sempre me apoiou incondicionalmente.

A todos os meus amigos, que de uma forma ou outra, estiveram presentes durante este percurso e prestaram o seu apoio.

De um modo geral, a todas as pessoas que de algum modo contribuíram para que este trabalho se realizasse.

Resumo

Os ouriços-do-mar apresentam uma dispersão espacial que se estende praticamente a todos os oceanos, desde o Atlântico Norte, ao sul do Oceano Pacífico, ilhas da Macaronésia, Mar Mediterrâneo, oceano Índico e Ártico. Os equinoides são muito valorizados em certas zonas, e mercados, como no Chile, Japão, Estados Unidos da América e França. As suas gónadas são consideradas uma iguaria na maioria dos locais onde são comercializados. Os mercados internacionais exercem cada vez mais pressão sobre as suas exigências ao nível da qualidade das gónadas dos equinoides, em termos organoléticos e nutricionais. Ao longo dos anos a sobrepesca destes organismos tem-se intensificado, surgindo a necessidade de adotar medidas preventivas e reguladoras para que os *stocks* naturais dos equinoides sejam sustentavelmente comercializáveis, e para que se mantenha o equilíbrio do ecossistema marinho, pois os equinoides são grandes consumidores de macroalgas e tem um papel preponderante na preservação da biodiversidade das algas marinhas. Este estudo analisa, nutricionalmente, a composição das gónadas do ouriço-do-mar de espinhos curtos dos Açores *Sphaerechinus granularis* (Lamarck, 1816) ao redor da zona costeira da ilha Terceira, constituído por uma amostra de sete lotes, em que cada lote compreende vinte indivíduos da mesma espécie, capturados através de mergulho em apneia em seis locais diferentes. Foram retiradas e analisadas as gónadas destes, assim como, efetuadas análises á Proteína Bruta, Matéria Seca, Cinza Bruta, Extrato Etéreo e Ácidos Gordos Totais. Em comparação com outros estudos efetuados as gónadas de, *Sphaerechinus granularis* apresentam índices de proteína média superiores aos estudos anteriores, uma média de Matéria Seca ligeiramente inferior a *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) e um perfil de ácidos gordos semelhante aos estudos realizados às gónadas de espécies como *P. lividus* e *Spatangus purpureus* (Mortensen, 1907). Verificou-se uma percentagem de proteína e uma fração lipídica especialmente polinsaturada elevadas, salientando que as gónadas deste equinoide apresentam concentrações em ácidos gordos semelhantes aos óleos de peixe.

Palavras-Chave: Equinoides, Ácidos Gordos, Gónadas, *S. granularis*, Aquacultura.

Abstract

Sea urchins have a spatial dispersion that extends to all oceans, from the North Atlantic, the southern Pacific Ocean, the Macaronesian Islands, the Mediterranean Sea, the Indian Ocean and the Arctic. Equinoids are highly valued in certain areas and markets such as Chile, Japan, the United States, and France. Their gonads are considered a delicacy in most places where they are marketed. International markets are increasing the pressure on their organoleptic and nutritional quality of gonads. Over the years, the overfishing of these organisms has intensified, and there is a need for prevent and regulate measures to ensure that equinoid stocks are sustainably traded, and to maintain the balance of the marine ecosystem as equinoids are major consumers. macroalgae and has a major role in preserving seaweed biodiversity. This study analyzes nutritionally the composition of the gonads of sea urchins *Sphaerechinus granularis* (Lamarck, 1816) in Azores around the coastal zone of Terceira Island, consisting of a sample of seven lots, each lot comprising twenty individuals of the same species, captured by snorkeling in six different locations. Their gonads were removed and analyzed, as well as Crude Protein, Dry Matter, Crude Ash, Ethereal Extract and total Fatty Acids analyzes. Compared to other studies the gonads of *Sphaerechinus granularis*, they have higher average protein indexes than previous studies, an average Dry Matter slightly lower than *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) and a fatty acid profile similar to studies of the gonads of other species such as *P. lividus* and *Spatangus purpureus* (Mortensen, 1907). A high protein percentage and especially polyunsaturated lipid fraction were found, noting that the gonads of this equinoid have similar fatty acid concentrations as fish oils.

Key-Words: echinoids, fatty Acids, gonads, *S. granularis*, Aquaculture.

Índice

1 - Introdução	21
2 - Revisão Bibliográfica	23
2.1 - Filo Echinodermata - Classe Echinoidea.....	23
2.2 - Breve resumo da história-natural dos ouriços-do-mar.....	24
2.3 - <i>Sphaerechinus granularis</i> (Lamarck, 1816)	25
2.4 - Desenvolvimento das gónadas	26
2.5 - Gametogénese	28
2.6 - Os ouriços como alimento humano e sua produção	29
2.7 - Ouriços-do-mar e a aquacultura	31
3 - Metodologia	33
3.1 - Metodologia Analítica	35
3.1.1 - Determinação da Matéria seca	35
3.1.2 - Determinação da Matéria Seca Corrigida a 105°C AOAC (1990)	35
3.1.3 - Determinação de Proteína bruta AOAC (1990).....	36
3.1.4 - Determinação do Extrato Etéreo AOAC (1990).....	38
3.1.5 - Determinação da Cinza bruta AOAC (1990)	39
3.1.6 - Determinação dos Ácidos Gordos AOAC (1990)	40
3.2 - Prova de degustação	41
4 - Resultados.....	42
5 - Discussão.....	46
6 - Conclusão.....	48
7 - Referências Bibliográficas.....	49

Índice de Figuras

Figura 1 - Imagem explicativa das zonas de captura de cada lote ao redor da ilha Terceira	2
Figura 2 - Captura, preparação e tratamento da amostra	2
Figura 3 - Acondicionamento e trituração de cada lote liofilizado	2
Figura 4 - Separação de fases para análise aos ácidos gordos.....	2
Figura 5 - Prova de degustação de ouriços-do-mar da espécie <i>Sphaerechinus granularis</i>	2

Índice de Quadros

Quadro 1 - Resultados das análises nutricionais às gónadas de ouriço-do-mar *Sphaerechinus granularis* 43

Quadro 2 - Resultados da análise aos ácidos gordos presentes nas gónadas de *S. granularis* 44

Índice de abreviaturas

ARA – Ácido Araquidónico

AG – Ácidos gordos

CB – Cinza bruta

DHA – Ácido Docosahexaenoico

EE – Extrato Etéreo

EPA – Ácido polinsaturado Eicosapentaenoico

EUA – Estados Unidos da América

MS – Matéria seca

NT – Azoto total

PB – Proteína bruta

P. lividus – espécie equinoide *Paracentroutus lividus* (Lamarck, 1816)

S. granularis – espécies equinoide *Sphaerechinus granularis* (Lamarck, 1816)

1 - Introdução

Os ouriços-do-mar têm tido uma importância crescente nas últimas décadas como recurso importante na indústria piscatória e na aquacultura, bem como na alimentação humana. Diversas espécies foram amplamente estudadas ao longo do tempo entre as quais se destacam: *P. lividus* (Lamarck, 1816) e *Strongylocentrotus* sp. (Brandt, 1835). Estes apresentam o corpo coberto de espinhos e uma ampla variedade de cores e são invertebrados marinhos que habitam em zonas rochosas a partir de um metro de profundidade. Algumas espécies são muito comuns na zona inter-mareal rochosa ficando retidos em poças durante a maré-baixa. A espécie mais conhecida e estudada é *Paracentrotus lividus* que habita em toda a bacia do Mediterrâneo, Atlântico Este a partir das ilhas Britânicas até Marrocos, incluindo as ilhas da Macaronésia (Açores, Canárias, Madeira e Cabo Verde). *P. lividus* é uma espécie comum em bacias rochosas e recifes rasos submareais que, quando juvenis, são confundidos com *Sphaerechinus granularis* (Lamarck, 1816) (Elmasry *et al.*, 2013; Cárcamo, 2015; Domínguez *et al.*, 2015).

Os ouriços-do-mar são um produto de crescente relevância na alimentação humana e nutrição, nomeadamente como matérias-primas para a produção de géneros alimentícios. As gónadas, em particular, são o produto conhecido como "ovas de ouriço-do-mar", que é considerado uma iguaria apreciada na Ásia, países da Bacia Mediterrânea e ocidentais. Desde a dinastia Ming (1368 a 1644) que o molho de ouriço-do-mar tem sido utilizado para alimento e, atualmente, o ouriço-do-mar mantém-se um alimento apreciado na China, Coreias e Japão. As gónadas de ouriços-do-mar têm sido muito utilizadas como um alimento luxuoso no Japão, quer como ovas frescas, quer como alimentos processados. São, também, utilizadas em Sabah (Malásia) por uma tribo indígena conhecida como "Bajau Laut" que come ovas de ouriço-do-mar com arroz. O corpo do ouriço-do-mar, conhecido como testa, é então cheio de arroz, ovas e especiarias, sendo as misturas cozinhadas e posteriormente servidas aos convidados e clientes (Matisiori *et al.*, 2012; Shang *et al.*, 2014; Parvéz *et al.*, 2016).

As gónadas de ouriço-do-mar são intensamente colhidas em muitas partes do mundo sendo reconhecidas como uma iguaria. A pesca do ouriço-do-mar era conduzida por pescadores artesanais e o produto era vendido localmente. No entanto, a existência mais recente de importantes mercados do mundo, principalmente do Japão, que hoje absorvem grandes quantidades de ouriços, aumentaram a pressão da pesca. Nos últimos anos, as capturas mundiais de ouriços-do-mar têm-se expandido muito, de forma que o consumo natural da população do Japão, França, Chile, nordeste dos Estados Unidos da América, das províncias marítimas do Canadá, da costa oeste da América do Norte, da Califórnia até à Columbia Britânica, ter sido superada para satisfazer a grande procura. A pesca mundial de ouriços-do-mar atingiu um pico de 120.000 toneladas em 1995 tendo sido reportadas 82.000 toneladas em 2012. Mais de metade desta captura vem da recente pesca do Chile, que se expandiu para a captura da espécie *Loxechinus albus* (Molina, 1782).

Os maiores produtores de ouriço-do-mar são o Chile, o Japão, os EUA (essencialmente em cultura), Canadá, Rússia e China (Miyata, 2010). Chile é considerado o maior produtor, contribuindo com cerca de 45% da produção mundial em volume. Na Europa, os stocks de ouriço-do-mar *P. lividus*, nomeadamente em França e na Irlanda, foram objeto de sobrepesca na década de 1980 para suprir a mercado francês. *P. lividus* é valorizado pelas suas gónadas pelo sector da restauração ao longo do sul de Espanha, principalmente na Província de Cádiz, no Atlântico e ao longo das costas mediterrânicas

de França e da Irlanda. Tem grande importância comercial e alta procura do mercado, particularmente na bacia Mediterrânea. Hoje, em vários países, *P. lividus* é sujeito a pesca comercial intensiva e é uma das mais intensamente colhidas espécies de invertebrados bentônicos, devido ao seu valor nutritivo e à delicadeza organolética presente nas suas gónadas.

Três fatores são universalmente citados como importantes para o ciclo reprodutivo: dieta, fotoperíodo e temperatura. Vários trabalhos, repetidamente, têm sido levados a cabo, com a modificação do ciclo gametogénico, através de ensaios experimentais, e manipulação ao criar os ouriços-do-mar em ambiente controlado, para obter gónadas com características que aumentem o seu valor comercial. Vários estudos mostraram que os ouriços-do-mar alimentados com rações de alta qualidade melhoram a sua capacidade reprodutiva. Portanto, um dos aspetos críticos na manutenção de indivíduos produtivos no laboratório é a determinação de um regime de alimentação eficiente (Guettaf *et al.*, 2000; Cirino *et al.*, 2017).

Como consequência, os *stocks* de equinóides tiveram de ser rigorosamente controlados de modo a ser protegidos, tendo sido dado início a este processo com a espécie *Pseudocentrotus depressus* (A. Agassiz, 1864) (Yamabe, 1962). Foram testadas várias soluções possíveis, a criação de juvenis em habitats naturais, a maricultura em gaiolas imersas, isoladamente ou em policultura e sistemas fechados sustentados em terra, que permitem o controlo de cada fase do ciclo biológico (Sánchez-España *et al.*, 2004; Tomsic *et al.*, 2010; Matsiori *et al.*, 2012; Brundu *et al.*, 2016; Parvéz *et al.*, 2016).

No que diz respeito a factos nutricionais, em cada 100 g de gónadas de ouriço-do-mar, estão contidas 172 calorias e muito pouca gordura, quase toda gordura insaturada. O consumo destas gorduras ajuda na redução do nível de colesterol total. Os ouriços-do-mar, também, contêm ómega-3 e AG, que podem ajudar na redução da pressão arterial e reduzir o risco de um batimento cardíaco anormal (Sánchez-España *et al.*, 2004; Tomsic *et al.*, 2010; Matsiori *et al.*, 2012; Brundu *et al.*, 2016; Parvéz *et al.*, 2016).

Nas últimas décadas, *P. lividus* do Mediterrâneo tem sido amplamente utilizado para estudar os efeitos antioxidantes (incluindo aldeídos polinsaturados, hidroxiácidos, oxoácidos epoxialcoois), metabólitos secundários citotóxicos derivados da oxidação de AG em diatomáceas. Entre os antioxidantes, os aldeídos polinsaturados derivados de diatomáceas (PUAs) e os hidroxiácidos (HEPEs) têm sido os mais estudados a partir dos aspetos morfológicos e pontos de vista moleculares (Ruoco *et al.*, 2017).

S. granularis, sendo uma espécie pouco estudada, apresenta características físicas e organoléticas semelhantes a outras espécies, embora as ovas desta espécie sejam menos apreciadas que as de *P. lividus*. *S. granularis* é um equinoide grande que atinge um diâmetro de testa de até 140 milímetros. As gónadas grandes estão presentes de outubro a abril. Tem uma taxa de crescimento rápida comparada com a de outros equinóides, o que pode ser manipulado ao melhorar a sua dieta (Guillou & Lumingas, 1998). Existe interesse no seu estudo nutricional e comercial, sendo um alimento extremamente apreciado e até mesmo considerado uma iguaria em alguns países (Afonso *et al.*, 2015). Desta forma, esta dissertação tem como objetivo estudar e analisar as características biológicas e nutricionais de *S. grannularis*.

2 - Revisão Bibliográfica

2.1 - Filo Echinodermata - Classe Echinoidea

O filo Echinodermata é caracterizado pelo seu policromismo e polimorfismo, que são exibidos nas suas várias classes: Holothuroidea, Asteroidea, Ophiuroidea e Equinoidea (Soliman *et al.*, 2015). Presume-se que não foram capazes de invadir o ambiente terrestre e de água doce devido à sua respiração cutânea e pela falta de estruturas excretoras e osmorreguladoras. Por outro lado, estão amplamente distribuídos em todos os oceanos e profundidades, onde alguns equinoides desempenham um importante papel nos ecossistemas marinhos, como predadores de topo de cadeia (algumas estrelas), consumidores de algas (muitos ouriços) e detritívoros (holotúrias).

O ouriço-do-mar é um invertebrado marinho herbívoro, dioico, no entanto como não apresentam dimorfismo sexual, apenas durante a emissão dos gametas é possível diferenciar os sexos (Mendes *et al.*, 2018). Realiza fecundação externa e pertence à classe Echinoidea do filo Echinodermata. Apresentam variadas cores desde o verde, roxo, branco e castanho, sendo que estas características não estão relacionadas com a profundidade em que habitam, sexo, tipo de alimentação, nem com o respetivo tamanho (Silva, 2017). São animais deuterostômios e possuem um celoma bem desenvolvido, apresentam um esqueleto duro formado por placas calcárias (teca), onde estão dispostos os espinhos duros e móveis, enquanto na porção inferior, no centro, encontra-se o aparelho bucal constituído por cinco lâminas, equivalentes a dentes e denominado de Lanterna de Aristóteles (Silva, 2017). Possuem um endosqueleto peculiar composto por ossículos calcários e são os únicos com simetria radial pentâmera (Steinbeck, 1945). A taxonomia e filogenia dos equinoides sempre foi baseada em dados de morfologia comparada e paleontologia, o que devido à falta de uma identificação fiável, suscitou alguns problemas na classificação e filogenia de muitos géneros (Elmasry *et al.*, 2013).

Os equinoides representam uma ligação evolutiva entre invertebrados e vertebrados e desempenham um papel fundamental na manutenção da integridade do ecossistema. Entre os equinoides, os ouriços-do-mar representam um organismo modelo útil para diferentes tipos de estudos científicos porque produzem, graças à sua alta fecundidade, grandes números de embriões síncronos e transparentes adequados para observações microscópicas (Ruoco *et al.*, 2017). São um grupo muito importante devido à função desempenhada na manutenção dos ambientes bênticos. Possuem um corpo, chamado de “testa” calcária, redonda, achatada e por vezes globular. Habitam em áreas rochosas e variam a sua distribuição a partir de 1 até 130 metros de profundidade. Apesar da sua grande importância, foi-lhes dedicada pouca atenção, em relação às suas características biológicas, ecológicas e reprodutivas (Elmasry *et al.*, 2013). Alguns autores descrevem dificuldades para identificar diferentes espécies que pertencem ao mesmo género, tais como: *Echinometra sp.* (Gray, 1825), *Diadema sp.* (Gray, 1825) e *Strongylocentrotus sp.* (Manchenko e Yakovlev, 2000) (Elmasry *et al.*, 2013).

2.2 - Breve resumo da história-natural dos ouriços-do-mar

Ebert (1975) *in* Lawrence (2013) foi o primeiro a vincular explicitamente a taxa de crescimento e sobrevivência em ouriços-do-mar. Ele encontrou uma correlação positiva entre a constante de crescimento de Brody-Bertalanffy K e a taxa de mortalidade natural instantânea M . Ebert (1982) combinou a alocação de recursos, energia e material para morfologia, fisiologia e comportamento que aumentam a probabilidade do tempo de vida de t para $t + 1$ como manutenção. Ele propôs que as diferenças na taxa de sobrevivência entre as espécies estão relacionadas com diferenças na probabilidade de deixar descendentes em cada episódio reprodutivo. Pouca variabilidade na probabilidade de deixar descendentes resultaria na estratégia de alocar mais recursos para crescimento e reprodução e menos para manutenção, resultando num curto período de vida. Grande variabilidade na probabilidade de deixar descendentes resultaria na estratégia de alocar mais recursos à manutenção e menos ao crescimento e reprodução, resultando num longo período de vida útil. A probabilidade de deixar descendentes pode ser afetada pela fecundidade, sobrevivência e pela colonização bem-sucedida das larvas. A principal força seletiva para a evolução de larvas não-alimentadas foi a limitação de energia para a produção de gametas. Lawrence e Herrera (2000) propuseram o desenvolvimento lecitotrófico, os metabólitos secundários dos embriões de ovos de equinóides foram associados à diminuição da qualidade dos alimentos ou capacidade de obtê-los o que levaria à estratégia tolerante ao stresse. Embora os recursos, em termos de energia, para os equinóides tenham sido considerados (Lawrence, 1985), a proteína é um recurso para produção que pode igualar ou exceder a exigência de energia. Lowe e Lawrence (1976) sugeriram que a produção de ouriços-do-mar pode ser mais dependente de proteína do que de energia. Onde estudos nutricionais demonstraram a importância da proteína em produção de ouriços-do-mar, em que a relação proteína versus energia dos alimentos afeta a sua produção. Isso indica a importância da qualidade dos alimentos além da quantidade de energia. Stearns (1992) apontou que a razão entre a biomassa reprodutiva ou a energia da matriz é uma medida estática que não representa a proporção de massa ou energia que flui através do organismo que é atribuído à reprodução. Hirshfield e Tinkle (1975) observaram que indivíduos de duas espécies poderiam alocar a mesma quantidade de massa ou energia para reprodução em corpos com tamanhos equivalentes, mas diferem muito na quantidade absoluta de massa ou energia consumida, bem como no tempo durante o qual foi consumida. Nesse caso, a verdadeira alocação proporcional à reprodução (esforço reprodutivo) seria desigual, enquanto a razão do peso reprodutivo ou energia do peso corporal seria equivalente.

Considera-se que o mar profundo começa na extremidade da plataforma continental, geralmente a uma profundidade de 200 metros, num ambiente fisicamente estável. A maioria dos relatos da distribuição de profundidade dos grupos marinhos enfatiza o grau de capacidade de suportar o potencial de predação e não considerar o potencial de produção. O maior stresse enfrentado pelos organismos no fundo do mar é a baixa disponibilidade de alimentos, assim como a sua baixa qualidade, tendo como consequência a baixa capacidade de produção. Espécies que tendem em direção à estratégia tolerante ao stresse, com crescimento lento e grande longevidade, seriam previsíveis no mar profundo. Os ouriços-do-mar tendo baixa capacidade de alimentação, baixa taxa de crescimento, alta taxa de sobrevivência e desenvolvimento não alimentar, seria previsto a sua existência neste habitat. Cidaróides e equinoturídeos são predominantemente grupos de águas profundas. A biologia e a ecologia dos ouriços-do-mar no oceano profundo são pouco conhecidas. Gage e Tyler (1985) *in* Lawrence (2013)

estimaram que *Echinus affinus* (Mortensen, 1903) vive a partir do leito rochoso até a uma profundidade de 2.200 metros, até aos 28 anos e amadurece após cerca de cinco anos. *Echinus esculentus* (Linnaeus, 1758) vive apenas até aos 12 anos e amadurece após cerca de 1,5 a 2,5 anos. *E. affinus* tem um ovo pequeno e uma larva planctotrófica, o que não seria previsto para uma espécie com uma estratégia tolerante ao stresse. No entanto, isso pode ser uma restrição filogenética, pois todas as espécies da família *Echinoidae* têm essa característica. Todas as cinco espécies de equinoturídeos e uma espécie de cidárida do fundo do mar estudada por Gage e Tyler (1984) produziram ovos grandes característicos de espécies tolerantes ao stresse. Uma segunda espécie de cidárida produziu ovos pequenos. Os cidaróides têm uma taxa lenta de alimentação, crescimento lento, atraso na maturidade e seria esperado que ocorressem num ambiente de águas profundas. Smith & Stockly (2005) caracterizaram os ouriços-do-mar como onívoros generalistas que haviam migrado para maiores profundidades e em pequeno número nos últimos 200 milhões de anos.

Populações densas de ouriços-do-mar expostos indicam que a pressão de predação é baixa. As características do histórico de vida sob esta circunstância podem ser muito diferentes quando a pressão de predação é alta. O habitat também pode mudar no futuro, devido ao aquecimento global. Na existência de mudanças no habitat a resposta dos ouriços-do-mar, que têm traços e história de vida apropriados para um habitat particular, que podem variar de acordo com o tipo de estratégia do histórico de vida. Essas espécies com estratégias rudimentares primárias extremas podem apresentar mais dificuldades de adaptação em relação aqueles com estratégias primárias tolerantes ao stresse (Lawrence, 2013).

2.3 - *Sphaerechinus granularis* (Lamarck, 1816)

A espécie *S. granularis* ocorre a partir da costa francesa, do canal inglês ocidental, norte do Golfo da Guiné até ao Mar Mediterrâneo. Este equinoide pode ser encontrado desde a zona intermareal até cerca de 130 metros de profundidade, ocorre em diferentes habitats e a sua densidade é variável. Apresenta em geral uma coloração de castanho a castanho avermelhado, os picos da coluna por vezes são brancos e as gónadas deste ouriço-do-mar são menores em tamanho que as de *P. lividus* (Elmasry *et al.*, 2013). A sua densidade populacional é muito inferior às densidades populacionais de *P. lividus* e *Arbacia lixula* (Linnaeus, 1758) (Trenzado *et al.*, 2012). *S. granularis* é um produto valioso para a indústria pesqueira do Mediterrâneo, de modo que o conhecimento do seu ciclo reprodutivo será útil para a gestão das pescas deste ouriço-do-mar, bem como o estabelecimento de medidas regulamentares. É caracterizada por um crescimento sazonal rápido do Verão até ao Outono e um défice de crescimento durante o Inverno. Martinez-Pita *et al.* (2008) estudaram e concluíram que o ciclo reprodutivo anual de *S. granularis* apresenta uma única desova durante a Primavera na costa Mediterrânica Espanhola, com resultados similares na costa da Bretanha. O comportamento alimentar deste ouriço-do-mar tem sido estudado ao longo das costas europeias do Mediterrâneo, onde *S. granularis* se alimenta essencialmente à base de algas calcárias, folhas de ervas marinhas mortas e algas epífitas, rizomas e raízes de *Posidonia oceanica* (L. Delile), quando estes recursos se encontram disponíveis (Jordana *et al.*, 1997; Martinez-Pita *et al.*, 2008; Trenzado *et al.*, 2012; Cárcamo, 2015). O maior número de espécies de macrófitas e quantidades de material inorgânico na dieta é maior em *S. granularis* do que em *P. lividus*, que

evidenciam um comportamento alimentar mais generalista (Ruitton *et al.* 2006). Nos equinoides, a duração do desenvolvimento e condições gerais do estado larvar são fortemente influenciados pelo meio envolvente, como a acidificação da água do mar, que influência de forma negativa a fase larvar, mas não influencia a fertilização e formação de embriões. Em condições favoráveis, onde o tempo de desenvolvimento é mais curto, é minimizada a duração da fase vulnerável, a fase planctônica que usualmente apresenta grandes taxas de mortalidade. O tamanho, crescimento e sobrevivência dos primeiros ouriços-do-mar juvenis é fortemente afetada pela quantidade de nutrientes acumulados e utilizados durante a fase larvar (Carboni *et al.*, 2013; Mos *et al.*, 2016). A nível individual acredita-se que geralmente os organismos mais pequenos tenham menos capacidade de se proteger da radiação ultravioleta induzida do que organismos maiores. Os organismos bentônicos vivem em águas rasas onde o seu meio ambiente evoluiu de forma a criar estratégias para proteção contra a radiação ultravioleta, com o intuito de proteger os seus gametas e fecundação. *S. granularis* é uma das três espécies de ouriços-do-mar mais abundantes, e devido à sua alta sensibilidade, ubiquidade, ecologia e aspetos económicos, foi escolhida para o monitoramento do ambiente marinho. Foram testadas as suas capacidades foto protetoras dos ovos e foi utilizada uma abordagem multi-terminal para avaliar a sensibilidade do esperma, óvulos e embriões juvenis que foram expostos a níveis de radiação ecologicamente relevantes. No entanto, foram negativamente afetados pela radiação submetida (Nahon *et al.*, 2008).

2.4 - Desenvolvimento das gónadas

Os principais processos metabólicos que consomem grandes quantidades de energia celular são os mesmos em amplas distâncias filogenéticas. A avaliação dessas necessidades gerais de energia é de grande interesse para entender o crescimento e o desenvolvimento em diferentes organismos, tem surgido uma consideração substancial de como os recursos alimentares ingeridos são divididos entre os grupos metabólicos concorrentes, particularmente entre crescimento e reprodução (Adam *et al.*, 2013). A equivalência na eficiência do crescimento em diversas taxas, resulta da similaridade dos processos metabólicos usados para a produção e utilização de energia celular. O próprio metabolismo celular compreende uma ampla gama de atividades bioquímicas em qualquer célula. No entanto, em metazoários, o consumo total de energia de uma célula é dominado por apenas algumas atividades. Em linhas celulares de mamíferos, o consumo de energia é dominado por dois processos: *turnover* de proteína e a atividade da bomba do ião sódio. O principal processo de consumo de energia na maioria das células eucarióticas é o *turnover* de proteína, representando 35% do metabolismo celular total. Para todas as células, a manutenção da função fisiológica dá origem a uma necessidade constante de substituir as proteínas à medida que elas se tornam danificadas ou não funcionais. A atividade da bomba de iões de sódio (Na^+ , K^+ , ATP) é o segundo maior consumidor de energia celular. Os gradientes iónicos estabelecidos pela bomba de sódio são fundamentais para manter o equilíbrio osmótico e o potencial de membrana em repouso, bem como fornecer os gradientes eletroquímicos necessários para a captação de outros iões, açúcares, aminoácidos e neurotransmissora via Na^+ acoplado a co-transportadores. A síntese de DNA e RNA são os outros processos dominantes de consumo de energia sendo que, cada um deles, representa 8 a 9% do metabolismo celular (Adam *et al.*, 2013).

Embriões de equinoides têm sido usados como um sistema modelo para estudos bioquímicos desde o início deste século. Os embriões apresentam um sistema relativamente simples para avaliar a bioquímica celular, porque o consumo e crescimento reprodutivo não confunde as suas atividades metabólicas. Os estudos de síntese proteica em embriões têm utilizado diferentes aminoácidos como marcadores para incorporação em proteínas. Durante a embriogénese precoce (da fertilização à gastrulação), o conteúdo proteico destes embriões equinoides mantém-se inalterado em que toda a atividade de degradação proteica é equilibrada por uma quantidade equivalente de atividade sintética da proteína. Assim, as taxas de síntese medidas são equivalentes às taxas totais de renovação de proteínas (catabolismo e anabolismo) (Adam *et al.*, 2013).

O ciclo gametogénico sazonal dos equinoides têm sido um fenómeno muito estudado nos últimos 70 anos. A conveniência de usar um índice de gónadas para avaliar as mudanças sazonais no ciclo gametogénico tem produzido numerosos estudos na literatura para documentar mudanças relativas no tamanho das gónadas durante a gametogénese. Adam *et al.*, 2013 na tentativa de extrair dados de crescimento de gónadas de estudos anteriores de gametogénese em ouriços-do-mar, calculou um $\Delta\%$ GI índice de crescimento de uma variedade de ouriços-do-mar em diferentes condições experimentais (regimes de alimento, luz e temperatura). Estes incluem *Strongylocentrotus droebachiensis* (Müller, 1776), *Parechinus angulosus* (Leske, 1778) (Greenwood, 1980); *Echinometra mathaei* (Blainville, 1825) e *Diadema savignyi* (Audouin, 1829) (Drummond, 1995); *Evechinus chloroticus* (Valenciennes, 1846) (Barker *et al.*, 1998); *Strongylocentrotus franciscanus* (Agassiz, 1863) (McBride *et al.*, 1997); *Paracentrotus lividus* (Spirlet *et al.*, 1998).

A dificuldade de compilar um quadro de atividades metabólicas em gónadas de ouriço-do-mar de todos os estudos reprodutivos da literatura, consiste que muitas espécies diferentes foram usadas para medir variáveis diferentes. Não há uma única espécie usada como modelo sistema que tenha recebido um perfil metabólico completo em ambos os níveis fisiológico e bioquímico. No entanto, a relação entre as taxas de Δ [% GI] d⁻¹ para taxas absolutas de aumento de massa no peso seco das gónadas, sugerem a possibilidade de existir um processo fisiológico entre esses conjuntos de dados díspares em relação às taxas de crescimento das gónadas. Consequentemente, comparações cruzadas entre diferentes estudos fornecem uma imagem mais ampla do padrão geral dos processos metabólicos envolvidos no desenvolvimento das gónadas. A composição macro e micronutriente de uma dieta tem um efeito pronunciado no crescimento e na composição bioquímica do fagócito nutritivo durante o seu crescimento sazonal. Existe uma relação direta entre o teor de proteína de uma dieta e o conteúdo de proteína dos fagócitos nutritivos em desenvolvimento. À medida que o teor de proteína da dieta de um ouriço-do-mar aumenta, a atividade de biossíntese de proteína na gónada aumenta, mas esse aumento na atividade anabólica requer a entrada de mais energia celular. Embora menos disponível, a energia assimilada de uma dieta pode ser armazenada nos fagócitos nutritivos como glicogénio. A produção de gónadas com alto teor de proteína e glicogénio pode não ser possível devido às compensações de energia mutuamente exclusivas que eles representam. A otimização de uma alimentação para a produção máxima de gónadas em um ouriço-do-mar requer uma consideração de como equilibrar a energia resultante do aumento do metabolismo proteico com a disponibilidade de energia na dieta. A dificuldade em fornecer energia metabólica em um alimento é que o conteúdo calórico de uma dieta deve ser considerado em termos do seu rendimento energético sob condições hipóxicas. É possível que uma dieta suplementada com substratos metabolizados via anaerobiose possa fornecer mais substratos energéticos eficientes, sob condições fisiológicas, do que monossacarídeos que requerem oxidação aeróbica. Alimentando um

ouriço-do-mar com uma dieta que tem uma composição de aminoácidos aproximando-se da proteína MYP poderia reduzir os requisitos de síntese de alguns novos aminoácidos, bem como fornecer quantidades suficientes de aminoácidos essenciais que podem não ser prontamente capazes de sintetizar. Novamente, as condições hipóxicas das gónadas podem alterar as atividades metabólicas padrão nas gónadas e impedir ou limitar a síntese de alguns metabolitos (açúcares e ácidos aminados). Apesar da atenção que a aquacultura de ouriços-do-mar recebeu nos últimos anos, ainda há muito a entender em relação à atividade metabólica dos fagócitos nutritivos e à produção equinoide de alto rendimento (Adam *et al.*, 2013).

2.5 - Gametogénese

As cinco gónadas de todos os ouriços-do-mar estão dispostas entre a ambulacra. São anexadas aboralmente e estendem-se pela via oral a partir do ponto de saída de cada um dos cinco gonodutos até um comprimento que depende do estágio da gametogénese. Os canais tubulares nos seios celómicos e celímicos genitais conectam as cinco gónadas. Estes seios projetam-se a partir do complexo situado por baixo da madreporita onde ambos os seios penetram nos tecidos conjuntivos aborais e inserem-se em cada uma das cinco gónadas. Um único gonoduto emerge de cada gónada. Cada um deles estende-se dentro da célula celulósica aboral do seio antes de sair da testa através de um arranjo pentagonal dos gonodutos das cinco placas genitais em torno do ânus. Em ambos os sexos, a estrutura da parede gonadal dos ouriços-do-mar é semelhante, mas não é idêntica à estrutura da parede gonadal observada em estrelas-do-mar e estrelas frágeis. Duas cavidades de tecidos (externo e interno) compõem a parede celular das gónadas. Cada um consiste em várias camadas ao longo da gónada, em que o seio celómico genital separa a cavidade externa da cavidade interna. O revestimento externo inclui um peritónio visceral que está voltado para o celoma perivisceral e que está anexado a uma camada de tecido conjuntivo. As células epiteliais não musculares também revestem a superfície do tecido conjuntivo na direção oposta ao seio celómico genital. O revestimento interior é o seio hemal genital, que tem células mioepiteliais ciliadas na sua membrana basal externa, como as gónadas das estrelas-do-mar (Walker *et al.*, 2013).

Em resposta à porção de hidrato de carbono de uma glicoproteína produzida no intestino e armazenada no tecido hemal aboral, estes músculos contraem ritmicamente durante a liberação dos gametas. Os nervos interconectados sincronizam as atividades das gónadas durante a desova. Na face luminal, o seio hemal genital suporta o epitélio germinativo e as principais funções do revestimento interno são a gametogénese, o armazenamento muito limitado de nutrientes no seio hemal genital e o armazenamento extensivo de nutrientes em células somáticas chamadas fagócitos nutritivos. O conteúdo do seio hemal genital varia ligeiramente em quantidade durante a gametogénese. Antes e durante a gametogénese, o seio hemal genital contém glicoproteínas PAS-positivas, mas nunca é ingurgitado como nas estrelas-do-mar em um estágio similar de gametogénese (Walker *et al.*, 2013).

2.6 - Os ouriços como alimento humano e sua produção

O ouriço-do-mar tem sido considerado como o mais importante equinoide da pesca no mundo, especialmente na Ásia, Mediterrâneo e países insulares das Caraíbas. Na Ásia, o Arquipélago Indo-Malaio é uma zona com um grande número de espécies de ouriço-do-mar. Até à data, doze espécies têm sido documentadas nas comunidades de recifes de coral da Malásia, tais como: *Astropyga radiata*, *Diadema setosum* (Leske, 1778), *D. savignyi*, *Echinometra mathaei*, *Echinothrix calamaris* (Pallas, 1774), *E. diadema* (Linnaeus, 1758), *Tripneustes gratillae*, *Salmaciella dussumieri* (L. Agassiz in L. Agassiz & Desor, 1846), *Toxopneustes pileolus* (Lamarck, 1816), *Parasalenia gratiosa* (Agassiz, 1863). Entre eles, o alto valor do ouriço-do-mar tropical, *Tripneustes gratilla* é considerado como um dos equinoides regulares comercialmente mais importantes na Malásia, e tem uma distribuição que se estende a regiões subtropicais (Parvéz *et al.*, 2016).

Os principais países exportadores são Chile, Canadá, EUA e Coreia. O Japão é o maior importador e consumidor de ouriços-do-mar (FAO-Commodities, 2000-2006). O mercado do ouriço-do-mar está estimado em cerca de 70.000 toneladas por ano, e as gónadas, que são denominadas “ovas” ou “uni” no comércio, são consideradas uma iguaria altamente valorizada pelos seus critérios de qualidade, sendo um negócio muito rentável com um preço médio que varia de 60 € / Kg a 221 € / Kg no mercado japonês, que representam cerca de os 90% da comercialização mundial (Prato *et al.*, 2018).

Do ponto de vista ecológico, os ouriços-do-mar são herbívoros importantes que determinam a estrutura das comunidades de algas marinhas. A sobrepopulação de ouriços-do-mar provoca barreiras e um aumento dos mesmos sem valor após esgotar as algas disponíveis. Além disso, a desertificação dos ouriços-do-mar resultou na perda de criadouros e viveiros de peixes e mariscos. A captura de ouriços-do-mar permite que os leitos de algas marinhas recuperem, mas a produtividade comercial dos ouriços-do-mar permanece baixa, porque os pescadores precisam melhorar as suas gónadas quando coletadas. A situação é contraditória: um excesso de ouriços-do-mar prejudica as áreas de pesca, e os pescadores esperam a diminuição da sua população, enquanto os ouriços-do-mar não podem ser colhidos e consumidos (Miyata, 2010).

Miyata (2010) encontrou três razões para justificar a prevalência importadora do Japão em ouriços-do-mar. A razão é o alto preço no mercado interno, o preço dos ouriços-do-mar importados no Japão foi 2,7 vezes maior do que nos EUA em 2006. Este preço é devido aos altos salários nas indústrias pesqueiras e de processamento, e devido à natureza intensiva da mão-de-obra dos ouriços-do-mar, que consiste em quebrar a casca, escolher as gónadas, lavar, remover contaminantes com pinças e exibir as gónadas em placas de madeira. Todo o processo precisa da capacidade da mão-de-obra para não danificar as gónadas, e desvalorizar o valor de mercado. Em segundo lugar, os consumidores japoneses esperam a disponibilidade deste alimento durante o ano, embora a produção de ouriços-do-mar domésticos seja limitada no Verão. Assim, a indústria depende das importações de matérias-primas fora da estação. Finalmente, os ouriços-do-mar são consumidos não apenas como *sushi* e *sashimi*, de preço elevado, mas também como produtos enlatados, engarrafados e embalados, como *sushi* de baixo preço. Essas mercadorias de inferior são feitas de ouriços-do-mar congelados importados principalmente do Chile.

Entrevistas realizadas aos pescadores revelaram que vários fatores inibem a colheita abundante de ouriços-do-mar. A sobrepesca pode esgotar os *stocks* naturais de ouriços-do-mar, como em algumas partes de Hokkaido, a região mais produtiva do Japão. Alguns pescadores consideram que a persistência de ouriços-do-mar com gónadas de baixa qualidade é preferível à exaustão de recursos (Miyata, 2010).

As espécies-alvo em Hokkaido são principalmente *Strongylocentrotus nudus* (A. Agassiz, 1864) (kita-murasakiuni) e *S. intermedius* (Agassiz, 1863) (ezo-bafununi) que são simpátricos na maioria dos habitats. Os produtos de qualidade são muito procurados pelos consumidores, mas não são necessários em quantidade. A distribuição de grandes quantidades de ouriços-do-mar de qualidade reduz o preço no mercado e alivia a escassez, de modo que algumas cooperativas pesqueiras hesitam em aumentar a captura. Assim sendo, a manutenção da qualidade pode perpetuar o foco de ouriços-do-mar. À medida que os esforços e os trabalhos de pesca diminuam, o trabalho necessário é insuficiente em áreas onde os pescadores processam os ouriços-do-mar por conta própria. Esse declínio na mão-de-obra permitiu que as populações de ouriços-do-mar se expandissem e assim ampliassem e mantivessem os seus focos (Miyata, 2010).

Após os ouriços-do-mar terem ingerido todas as algas, eles estão à beira da falta de alimento, sendo de pouco valor comercial. Esses ouriços-do-mar podem ser criados com o fornecimento de algas, mas os habitats das algas, geralmente, são bastante limitados ou longe dos focos de ouriços, portanto, o custo para obter algas (transporte ou cultura) é um obstáculo (Miyata, 2010).

Os ouriços-do-mar são comercialmente lucrativos em toda a Europa. O aumento da procura pelo consumidor das gónadas dos ouriços estará relacionado, em grande parte, com a sobre-exploração de recursos naturais e a procura de novos produtos. O declínio provocado nos recursos naturais provocou um súbito interesse mundial quer no desenvolvimento de métodos para a aquacultura de ouriços-do-mar, quer para o aumento da qualidade e rendimento das gónadas dos mesmos (Gonçalves *et al.*, 2015). No entanto, as tentativas de desenvolvimento de um mercado de exploração específica para este produto não evidenciaram muito sucesso, uma vez que as gónadas são variáveis em tamanho, cor e sabor. As gónadas de ouriço-do-mar apresentam um aspeto similar ao caviar e um sabor único sendo, por isso, bastante apreciadas e valorizadas em termos alimentares e consideradas, em diversos lugares do mundo, como uma iguaria. A qualidade das gónadas do ouriço-do-mar é influenciada pela combinação da variedade de atributos como a cor, tamanho, textura e granularidade (Gonçalves *et al.*, 2015; Tomsic *et al.*, 2010). São tradicionalmente consumidos em muitas culturas, particularmente na Ásia, Polinésia, Chile e a bacia do Mediterrâneo. Nos últimos anos, a produção mundial atingiu 73.000 toneladas com um valor estimado de 208 milhões de dólares (FAO, 2016). Mas, mais de 80% desta produção é absorvida pelo mercado japonês, onde as ovas de ouriço-do-mar são um alimento *premium*, usado em *sashimi* ou *sushi*. A França, onde a pesca do ouriço-do-mar é uma tradição antiga, é o segundo maior consumidor de ouriços-do-mar no mundo com cerca de 1.000 toneladas métricas por ano e o terceiro grande importador com cerca de 200 toneladas métricas em 2015 (FAO, 2016) (Castilla-Gavilán *et al.*, 2018).

Como resultado da procura excessiva, a pesca mundial do ouriço-do-mar apresenta-se em declínio, devido à sobrepesca desde 1995 (Castilla-Gavilán *et al.*, 2018). A aquacultura é, provavelmente, a melhor forma de satisfazer a crescente procura e consumo, como, por exemplo, o caso do salmão e do camarão. A produção de ouriço-do-mar em aquacultura foi desenvolvida com sucesso no Japão, China, Nova Zelândia, Austrália, Escócia,

América do Norte e Chile. Na Europa, a aquacultura de ouriços-do-mar permanece baixa, por outro lado, é largamente dominada pela produção de mariscos, principalmente mexilhões e ostras (FAO, 2016). Mas esta atividade tem enfrentado uma crise desde 2008 devido a eventos de mortalidade (até 90% das ostras jovens) em todos os locais de cultivo. Para lidar com as consequências económicas desta crise e atender à crescente procura por frutos do mar na Europa, uma solução possível seria a diversificação das atividades em aquacultura com a identificação de espécies nativas, tendo em conta as expectativas do mercado (Castilla-Gavilán *et al.*, 2018).

2.7 - Ouriços-do-mar e a aquacultura

Os ouriços-do-mar são especialmente vulneráveis à sobrepesca, uma vez que formam aglomerados populacionais isolados e de elevada densidade, resultando em populações selvagens com menor capacidade de recuperação após uma exploração intensa. Estes fatores conduziram ao colapso das reservas naturais de equinoides do Japão, Chile, costa Norte Americana e em muitas áreas costeiras europeias, em particular nas zonas costeiras atlânticas e mediterrânicas da França e da costa Irlandesa (Luís, 2018).

A produção de ouriços-do-mar em cativeiro iniciou-se na década de 60, no Japão, com a espécie *Pseudocentrotus depressus* (A. Agassiz, 1864). Esta produção iniciou-se ao abrigo de programas de melhoramento dos recursos pesqueiros, que contribuíram para o desenvolvimento de metodologias de produção em massa, de ovos fertilizados e cultivo de juvenis. O sucesso da aquacultura de ouriços-do-mar está diretamente associado à otimização da sobrevivência de todas as fases do ciclo de vida destes organismos, visando uma produção totalmente independente das populações naturais (Luís, 2018). Segundo o estudo efetuado Instituto Português do Mar e Atmosfera por Mendes *et al.* (2018), sobre a reprodução de *P. lividus* em cativeiro, concluiu que é possível obter-se um elevado número de larvas viáveis, com a utilização de um reduzido *stock* de reprodutores de ouriço-do-mar selvagens, e que a taxa de sobrevivência durante o período larvar pode ser superior a 30%, e após 7 meses de cultivo a uma temperatura média de 18°C, 35% dos indivíduos apresentaram diâmetro da carapaça superior a 2 centímetros. Valores que na literatura se encontram descritos para indivíduos com 2 a 3 anos, o que representa o elevado potencial desta espécie para a sua produção em aquacultura.

A investigação científica, aliada à aquacultura comercial, é crucial para compensar o desequilíbrio entre a procura e oferta, permitindo a recuperação dos *stocks* (Prato *et al.*, 2018). Tem sido estudado o uso de rações artificiais para a nutrição dos ouriços-do-mar, de forma a obter gónadas de qualidade, com aceitação de mercado ao longo de todo o ano e de forma rentável. Devido aos constrangimentos ambientais e económicos relativos ao uso de farinha e óleo de peixe em rações, existe a necessidade de encontrar produtos alternativos, nomeadamente produtos ou subprodutos hortícolas (Santos, 2017). Nos últimos 15 a 20 anos, o interesse comercial aumentou em vários países, como Japão, Canadá, Chile, Austrália, China, Nova Zelândia, Irlanda, Noruega, Itália e Escócia. Segundo a FAO (2013), a produção de *P. lividus* em sistemas de aquacultura corresponde a 10 toneladas por ano na Europa, em contraste com uma captura aos *stocks* naturais de 108 toneladas por ano (Santos, 2017; Sartori *et al.*, 2016). A produção de *P. lividus* com alimentos alternativos formulados traz algumas vantagens. Em primeira instância, a substituição do farelo e do óleo de peixe por hortaliças terrestres é mais viável para as espécies herbívoras ou onívoras, quando comparadas às espécies carnívoras. Embora os

valores elevados da taxa de crescimento e tamanho das gónadas, normalmente, resultem da presença de proteínas animais na dieta. O herbívoro *P. lividus* não beneficia de altos níveis de proteína na dieta, o que afeta negativamente o crescimento proporcional e o sabor das gónadas (Santos, 2017). Os métodos de aprimoramento de gónadas através de crescimento de juvenis ou melhoramento de ouriços-do-mar adultos, é mais rápido e menos dispendioso. Muitos projetos desta melhoria conduzidos na Nova Zelândia são realizados em laboratório, pois permitem maior controlo dos parâmetros físicos e medição das taxas de alimentação. No entanto, os sistemas de exploração marítima para o aprimoramento das gónadas tendem a ser mais económicos do que as instalações terrestres devido a menores custos de investimento, operação e manutenção (Phillips *et al.*, 2010).

Na Noruega, Mortensen *et al.* (2013) referem que foram realizadas várias tentativas de iniciar empreendimentos de pesca e aquacultura de ouriços-do-mar. Mas estes não foram bem-sucedidos devido ao grande investimento de arranque necessário para manter os custos operacionais até a produção atingir o seu máximo potencial. Não existem estudos de viabilidade económica publicados sobre a criação de ouriços-do-mar, embora várias empresas provavelmente tenham feito a sua própria análise económica antes de investir. Um dos principais constrangimentos para o desenvolvimento tanto da pesca de ouriço-do-mar, como das indústrias de aquacultura na Noruega, tem sido a falta de mercado interno. Ao contrário dos países que têm um mercado interno e fiável, os produtos de ouriço-do-mar colhidos ou produzidos na Noruega deveriam ser exportados o que requer um investimento substancial em conhecimento e apoio logístico.

A aquacultura de equinoides é uma prática ainda muito recente, estando ainda longe de se conseguir uma produção eficiente. Uma das principais dificuldades reside ainda na falta de informação relativamente à nutrição ideal para o crescimento somático destes organismos. Não obstante o crescente investimento na investigação e produção das mais diversas espécies de ouriços-do-mar, têm sido insuficiente a sua produção desde a fecundação até atingirem um índice de gónadas comercializável. A reprodução para repovoamento têm-se mostrado uma opção alternativa. Todavia, têm-se deparado com algumas barreiras para o sucesso total. O crescimento lento destes organismos torna-se um obstáculo para a realização de todo o ciclo de vida em cativeiro (Ramos, 2017).

3 - Metodologia

O estudo efetuado na presente dissertação foi dividido em duas partes distintas: a coleta dos lotes de indivíduos no seu habitat natural e a sua posterior preparação para as análises nutricionais e AG. A amostra é composta por sete lotes, cada um compreendendo 20 exemplares capturados por meio de mergulho em apneia, em oito zonas distintas ao redor da ilha Terceira, no Arquipélago dos Açores. O primeiro lote foi capturado no dia 06/02/2018, o segundo foi capturado no dia 27/03/2018, o terceiro lote foi capturado no dia 08/05/2018, o quarto lote foi capturado no dia 12/06/2018, o quinto lote foi capturado no dia 04/07/2018, o sexto lote foi capturado no dia 10/08/2018, e o sétimo lote foi capturado no dia 18/10/2018. Entre oito tentativas, sete produziram efeitos devido às condições climáticas e do mar.

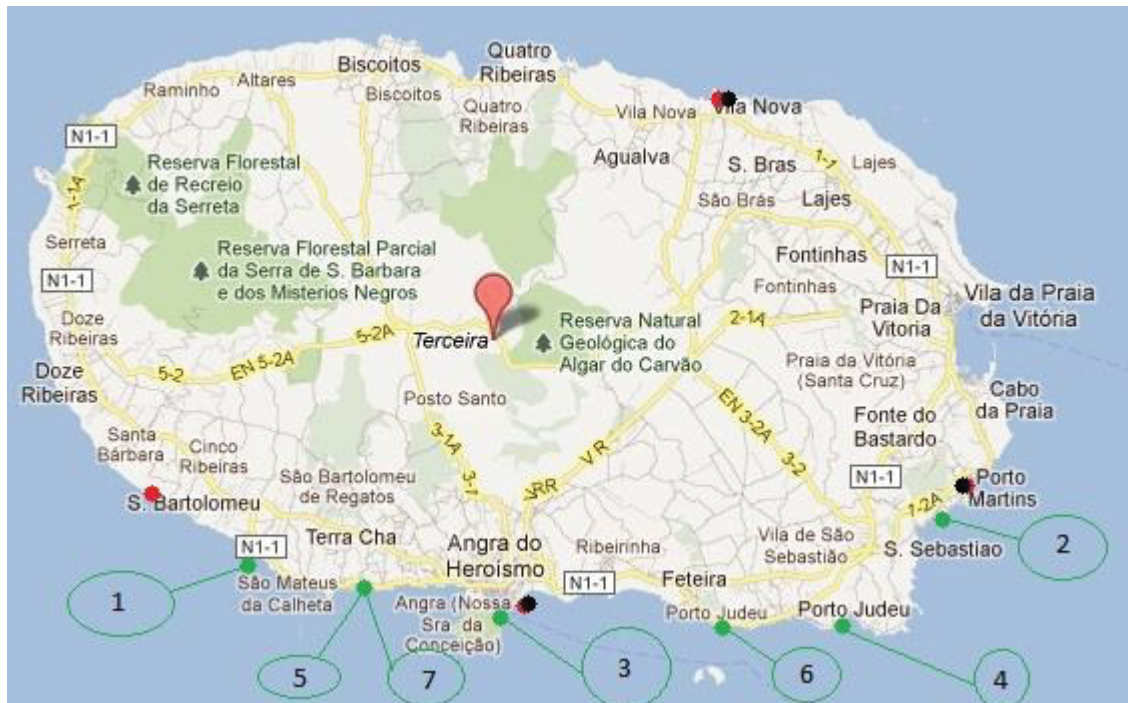


Figura 1 - Imagem explicativa das zonas de captura de cada lote ao redor da ilha Terceira

Cada lote foi capturado com a maior brevidade possível, em estado vivo, no próprio dia ou sem ultrapassar as 24h (armazenados em ambiente refrigerado o mínimo tempo possível até ao seu processamento) foram encaminhados para o laboratório de nutrição animal da Faculdade de Ciências Agrárias e do Ambiente da Universidade dos Açores, onde todas as pesagens e medições necessárias foram concretizadas assim como das gonadas retiradas dos indivíduos de cada lote, de seguida parte das gonadas totais removidas foram acondicionadas e devidamente identificadas para serem congeladas, aguardando a recolha de todos os lotes para que em conjunto fosse procedida a análise aos AG das mesmas. Em simultâneo, a restante porção de gonadas seguiu diretamente para a estufa a 60°C onde permaneceu até apresentar valores de massa constante, seguindo-se a sua trituração e análises à Matéria seca (MS), Proteína bruta (PB), Extrato Etéreo (EE) e Cinza bruta (CB), pelos métodos descritos de seguida.

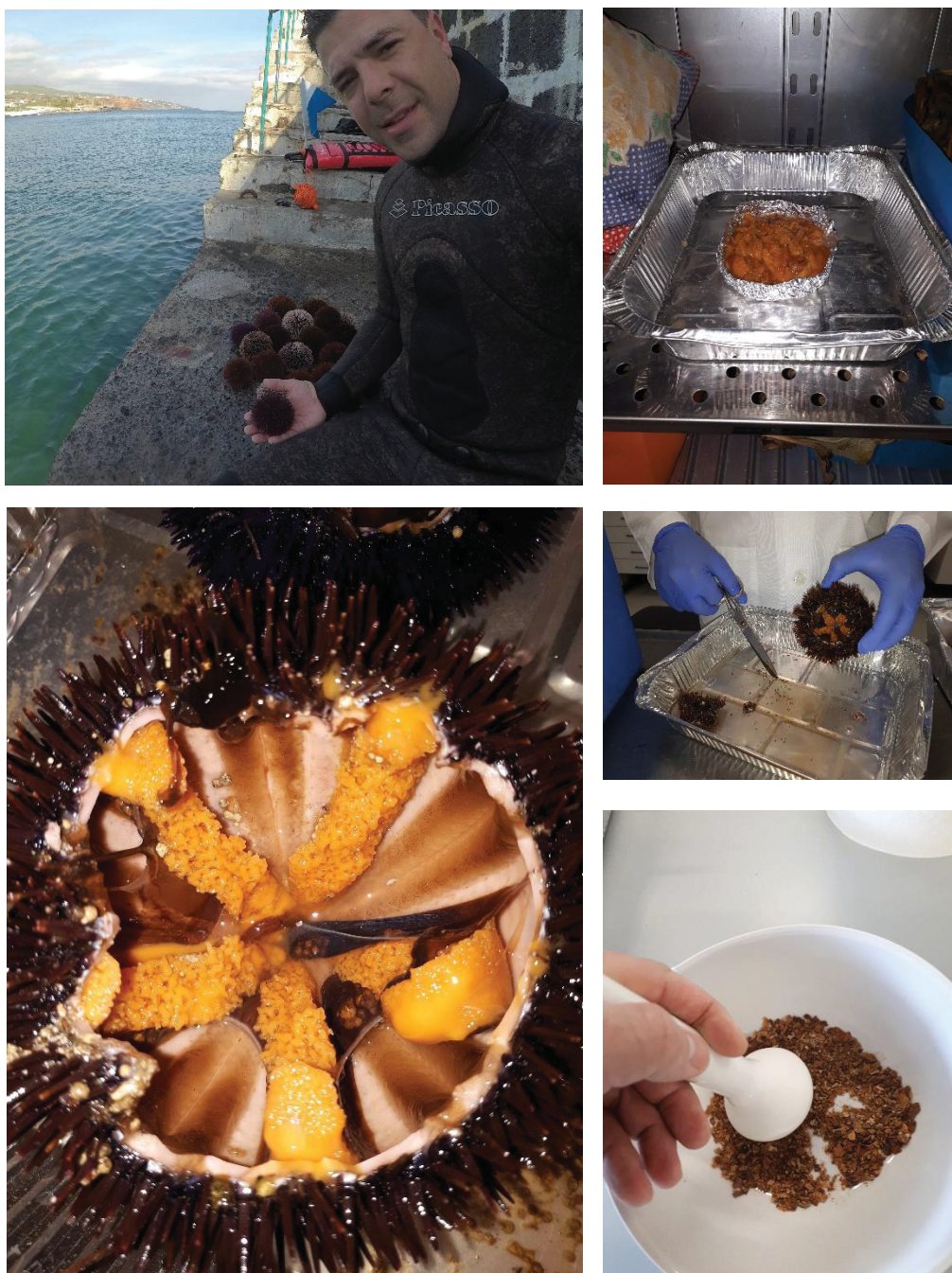


Figura 2 - Captura, preparação e tratamento da amostra

3.1 - Metodologia Analítica

3.1.1 - Determinação da Matéria seca

Segundo o sistema analítico de Weende a MS de uma amostra é determinada a 103-105°C.

Nos laboratórios, as amostras são secas, regra geral, a uma temperatura inferior a 70°C, normalmente 60-65°C, para que a temperatura não interfira com a composição do alimento, nomeadamente com as suas proteínas.

Aparelhos e material

- Estufa a 60-65°C;
- Tabuleiros;
- Balança.

Procedimento

Primeiro, pesa-se o tabuleiro; segundo, pesa-se a amostra verde; terceiro, colocar numa estufa a 60-65°C, até peso constante; quarto, pesa-se o Tabuleiro + amostra seca.

Cálculo da Matéria Seca (%)

$$\% \text{ MSC} = ((P2 - P0)/M) \times 100 =$$

P2 – Peso do Tabuleiro + amostra seca;

P0 – Peso do Tabuleiro;

M – Peso da amostra verde.

Como a MS foi determinada a 60°C, precedeu-se á sua correção para 105°C.

3.1.2 - Determinação da Matéria Seca Corrigida a 105°C AOAC (1990)

Segundo o sistema analítico de Weende a MS de uma amostra é determinada a 103-105°C (AOAC, 1990).

Nos laboratórios, as amostras são secas, regra geral, a uma temperatura inferior a 70°C, normalmente 60-65°C, para que a temperatura não interfira com a composição do alimento, nomeadamente com as suas proteínas.

A determinação da MS Corrigida serve para corrigir a MS inicial, para os 105°C.

Aparelhos e material

- Estufa a 103-105°C;
- Pesa Filtros;
- Exsicador;
- Balança.

Procedimento

Primeiro, pesar os pesa filtros; segundo pesar 5 g de amostra (3 g em amostras pequenas); terceiro, colocar numa estufa a 105°C, até peso constante; quarto, pesar o Pesa Filtro + resíduo.

Cálculo da Matéria Seca Corrigida (%)

$$\% \text{ MSC} = ((P2 - P0)/M) \times 100 =$$

P2 – Peso do Pesa Filtros + resíduo,

P0 – Pesa Filtros,

M – Peso da amostra

3.1.3 - Determinação de Proteína bruta AOAC (1990)

Método de Kjeldahl

O método de determinação da PB foi proposto pelo dinamarquês Johan Kjeldahl em 1883 e ainda é utilizado por ser uma técnica fiável. O método consiste numa digestão, destilação e titulação. Neste método quantifica-se o azoto total, convertendo-se este valor, posteriormente, em PB (AOAC, 1990).

O conceito de PB envolve um grande número de substâncias, todas as formas de azoto contidas na amostra, exceto nitratos e nitritos.

Ao calcular-se o conteúdo em proteína de um alimento a partir do seu azoto total (NT), parte-se de dois pressupostos: primeiro que todas as proteínas do alimento contem 16% de azoto; segundo que todo o azoto está na forma de proteína. A percentagem de azoto expressa-se em termos de PB e calcula-se pela fórmula:

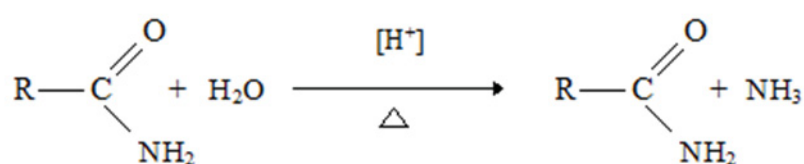
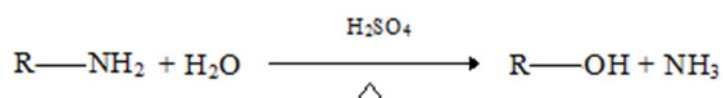
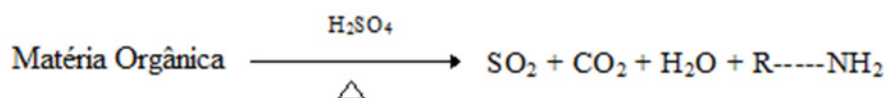
$$\% \text{ P.B.} = \% \text{ de NT} \times 100/16$$

Este fator de conversão (6,25) não é igual para todos os alimentos. Nos casos em que a diferença seja significativa, como no leite, utilizam-se outros fatores de conversão (ex: leite 6,38).

O método de Kjeldahl baseia-se na decomposição da matéria orgânica através da digestão da amostra com ácido concentrado, na presença de um catalisador, que acelera a oxidação

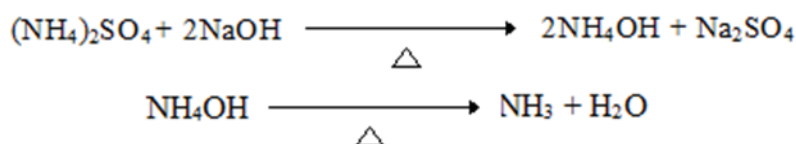
da matéria orgânica. O azoto presente na solução ácida é determinado por destilação, por arrastamento pelo vapor, seguindo-se uma titulação com ácido diluído.

Durante a digestão ocorrem as seguintes reações:

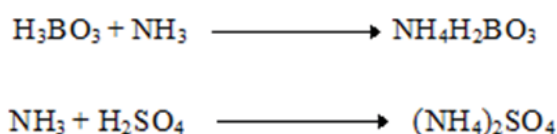


O carbono da matéria orgânica é oxidado e o CO₂ liberta-se. O azoto que está na forma de amina é transformado em NH₃, que reage com o H₂SO₄ e forma o sulfato de amónia ((NH₄)₂SO₄), formando-se cristais quando a solução arrefece.

Na destilação o sulfato de amónia é tratado com hidróxido de sódio (NaOH), em excesso, e ocorre a libertação do amoníaco, conforme as reações seguintes:



O amoníaco que se liberta na reação é recolhido em ácido bórico (H₃BO₃), como indicador:



Na titulação o borato de amónio é titulado com uma solução padrão de ácido clorídrico (HCl), até virar o indicador:



O NT é determinado pela seguinte equação: $\text{NT} = ((\text{Va}-\text{Vb}) \times \text{N} \times 0,014 \times 100)/\text{P1}$ Em que: NT – teor em azoto total da amostra em percentagem da MS; Va – volume da solução de HCl gastos na titulação, em mililitros; Vb – volume da solução de HCl gastos na

titulação em branco, em mililitros; N – concentração da solução de ácido utilizado na titulação, expressa em normalidade; P1 – massa, tomada em gramas, da toma da amostra para o ensaio.

Sendo a PB determinada pela expressão: $PB = NT \times 6,25$

Para o bom desempenho da análise, é necessário fazer testes em branco com o objetivo de eliminar a interferência e contaminação dos reagentes.

Procedimento

- Digestão

Primeiro, pesar 0,5 g de amostra, que deve ser corrigida para a MS aos 105°C; segundo, adicionar duas pastilhas de catalisador (K_2SO_4 e Se) e 10 ml de H_2SO_4 ; terceiro colocar no digestor a 420°C, durante 1 hora; quarto arrefecer 30 minutos; quinto, adicionar 2,5 ml de peróxido de hidrogênio; sexto, colocar no digestor mais uma hora; sétimo, deixar arrefecer.

- Destilação

Primeiro, adicionar 75 ml H_2O destilada aos tubos; segundo adicionar 50 ml de NaOH a 40%; terceiro, no frasco recetor adicionar 25 ml de uma solução de ácido bórico com indicadores; quarto, destilar durante 5 minutos.

- Titulação

Titular com HCl a 0,1N.

3.1.4 - Determinação do Extrato Etéreo AOAC (1990)

O EE ou gordura bruta compreende na fração do alimento que é insolúvel em água, mas solúvel em solventes orgânicos (éter, clorofórmio, benzeno). A determinação do EE consiste em submeter o material (na forma de amostra seca) à extração com éter de petróleo (AOAC, 1990).

O EE faz parte dos compostos não-azotados presentes na matéria orgânica da MS dos alimentos, juntamente com os hidratos de carbono.

Gordura, óleos, pigmentos e outras substâncias gordurosas solúveis no éter e em outros solventes orgânicos chamados de extratores contidos em uma amostra seca serão dissolvidos através da extração com éter, o qual é então, evaporado desta solução gordurosa. O resíduo resultante é pesado, sendo chamado de EE.

Método de Soxhlet

1. Utiliza refluxo de solvente para extração;
2. Processo de extração contínuo;
3. Pode ser utilizado somente com amostras sólidas;

4. O éter utilizado no processo é aquecido até se tornar volátil e, ao condensar-se, circula sobre a amostra em análise. Arrastando toda a fração gordurosa e demais substâncias solúveis em éter. Este é recuperado em outro recipiente, enquanto a gordura extraída é calculada por diferença de pesagem.

O método está baseado em 3 etapas:

- Extração da gordura da amostra com solvente;
- Eliminação do solvente por evaporação;
- A gordura extraída é quantificada.

Procedimentos

Primeiro, pesar 1 g da amostra; segundo, colocar a amostra em papel de filtro embrulhado em formato de canudo; terceiro, colocar o canudo no extrator para posterior extração; quarto, adicionar o éter de petróleo numa cápsula, devidamente tarada; quinto, colocar a cápsula no extrator; sexto, após ter começado a ebulição do éter, verificar se não há fugas durante sua ebulição e condensação; sétimo, manter, sob aquecimento em chapa elétrica, em extração contínua; oitavo, destilar o éter e transferir a cápsula com o resíduo extraído para a estufa a 105°C; nono, arrefecer num dessecador até a temperatura ambiente, após estar frio pesar para calcular o EE.

Cálculo do EE

$$\%EE = PR / M \times 100$$

PR – Peso do Resíduo,

M – Peso da amostra corrigida para a MS aos 105°C

3.1.5 - Determinação da Cinza bruta AOAC (1990)

Inceneração da amostra a 550°C e determinação da massa de resíduo obtido (AOAC, 1990).

Aparelhos e material

- Mufla;
- Cadinhos;
- Exsicador;
- Balança.

Procedimento

Primeiro, pesar os cadinhos de porcelana; segundo, pesar 3 g de amostra, que deve ser corrigida para a MS aos 105°C; terceiro, colocar numa mufla a 550°C (+ 50), durante 6 horas; quarto, colocar na estufa a 105°C; quinto, pesar o cadinho + resíduo;

Cálculo da Cinza Bruta (CB) como % da MS

$$\% \text{ CB} = (P2 - P0)/M \times 100 =$$

P2 – Peso do cadinho + resíduo,

P0 – Peso do cadinho,

M – Peso da amostra corrigida para a MS aos 105°C

3.1.6 - Determinação dos Ácidos Gordos AOAC (1990)

Procedeu-se á liofilização da fração de gónadas, armazenada por congelação, cada uma na sua respetiva embalagem com fecho-zipe e embaladas em vácuo. Foram trituradas para a uniformização da sua textura, para a análise aos AG efetuada na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, onde por cromatografia gasosa foi corrida a amostra pelo seguinte método:



Figura 3 - Acondicionamento e trituração de cada lote liofilizado

Os AG, na forma de ésteres metílicos, foram analisados por cromatografia gasosa. Utilizou-se um cromatógrafo Shimadzu 2010-Plus (Shimadzu, Kyoto, Japão) com detetor de ionização de chama (GC-FID) e equipado com uma coluna capilar de sílica-fundida, SP-2560 (100 m x 0,25 mm x 0,20 µm, Supelco, Bellefonte, PA, EUA).

A temperatura do injetor e o detetor foram mantidos a 220°C e 250°C, respetivamente. Utilizou-se hélio como gás de arraste a um fluxo constante de 1.0 mL/min e foi injetada 1 µL de amostra com um split ratio de 1:50. O forno foi programado para iniciar a uma temperatura de 50°C que foi mantida durante 1 minuto, de seguida a temperatura subiu até aos 150°C a uma velocidade de 50°C/min, e esta temperatura foi mantida durante 20 minutos, posteriormente a temperatura subiu até aos 190°C a uma velocidade de 1°C/min, e por fim a temperatura subiu até aos 220°C a uma velocidade de 2°C/min onde foi mantida durante 118 minutos, perfazendo um tempo total de 118 minutos. Os AG foram identificados por comparação dos tempos de retenção com misturas de padrões disponíveis comercialmente e por espectrometria de massa utilizando-se o equipamento GC-MS QP2010-plus (Shimadzu, Shimadzu, Kyoto, Japão) com as condições cromatográficas idênticas às utilizadas no GC-FID. Os AG foram expressos em proporção do total de AG identificados em cada lote.

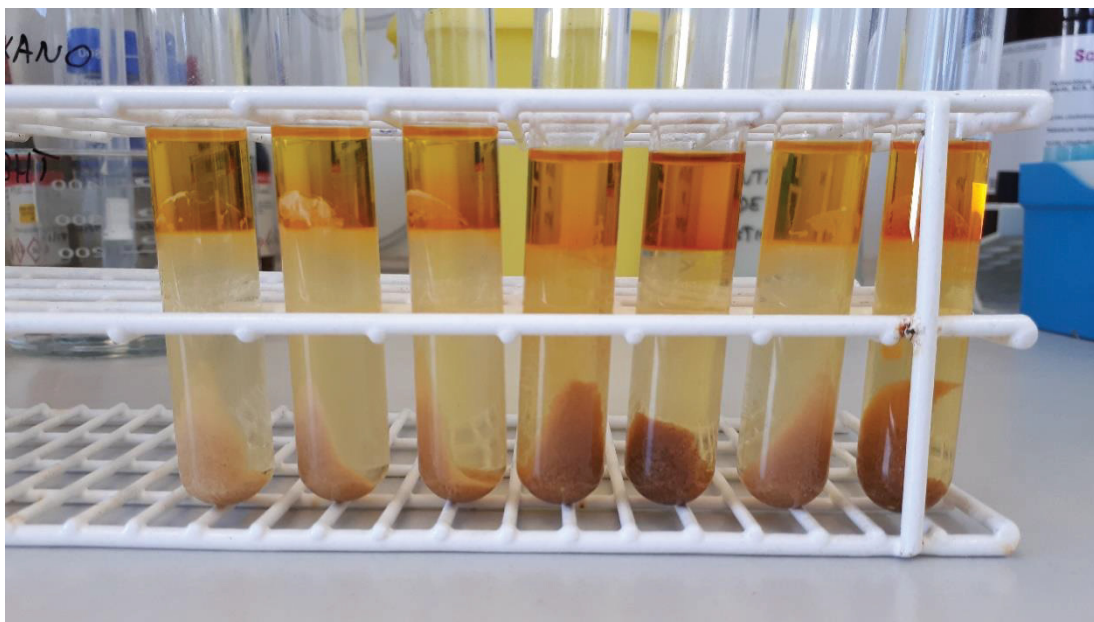


Figura 4 - Separação de fases para análise aos ácidos gordos

3.2 - Prova de degustação

Aquando da captura do lote 5 no dia 03/07/2018, foram capturados 9 indivíduos da mesma espécie, para a realização de uma prova de degustação a decorrer algumas horas mais tarde.

A degustação foi composta por 9 indivíduos *S. granularis* e o painel que a compôs era constituído por 12 pessoas com idades compreendidas entre os 24 e os 62 anos de idade. Os ouriços-do-mar foram preparados de igual forma e dados a provar em cru e ao natural. De seguida, foi preenchida a folha de apreciação da prova, para recolha dos resultados.

4 - Resultados

Da degustação resultou incidência de 7 em 12 pessoas, que classificaram as gónadas com “Muito Bom”, sendo incidente o comentário “diferente, sabor surpresa, sabor a marisco”, outras 2 de 12 pessoas classificaram como “Bom”, sendo referido “um sabor diferente, e uma textura esponjosa”, 1 de 12 pessoas classificou como “suficiente” e referiu que “o sabor intenso a marisco não era o preferido” e por fim 2 de 12 pessoas do painel classificaram as gónadas como “excelente” referindo: “ideal para uma ocasião especial” e “Sabor suave, fresco e rico”.



Figura 5 - Prova de degustação de ouriços-do-mar da espécie *Sphaerechinus granularis*

As análises nutricionais efetuadas na Faculdade de Ciências Agrárias e do Ambiente, apresentaram uma percentagem média de MS de 12.11%. Em relação á PB, a média obtida é de 54.02g por 100g de MS. A média do EE é de 10,58g por cada 100g de MS. A média obtida de CB é de 16,73g por cada 100g de MS (Quadro1).

Quadro 1 - Resultados das análises nutricionais às gónadas de ouriço-do-mar S. granularis.

Amostra	Matéria Seca%	Em 100g de M.S.		
		PB	E.E.	Cinza
Lote 1	15,45	59,95	8,98	19,10
Lote 2	15,44	51,90	10,57	19,05
Lote 3	7,78	54,93	12,14	16,16
Lote 4	9,08	54,97	9,65	13,07
Lote 5	11,87	50,42	10,79	13,05
Lote 6	12,26	52,90	12,32	21,54
Lote 7	12,88	53,08	9,58	15,11

As gónadas desta espécie apresentam uma percentagem média do teor de humidade em cerca de 87%.

Embora fosse esperado que de outubro a abril não houvessem gónadas bem desenvolvidas nesta espécie (Guillou & Lumingas, 1998). As capturas de fevereiro, março, abril e outubro apresentaram um índice de gónadas positivo mas inferior aos índices das restantes capturas. A determinação do EE poderá ser repetida utilizando o método da digestão ácida o que provocará o arrastamento dos fosfolípidos e um aumento considerável do valor total de EE em relação ao obtido com a técnica utilizada.

O resultado das análises ao teor em AG presentes nas gónadas de *S. granularis* efetuadas na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa estão representados no Quadro 2.

Quadro 2 - Resultados da análise aos ácidos gordos presentes nas gónadas de *S. granularis*.

	Resultados (mg/g de amostra liofilizada)													
	Lote 1		Lote 2		Lote 3		Lote 4		Lote 5		Lote 6		Lote 7	
Ácidos gordos	Media	dp	Media	dp	Media	dp	Media	dp	Media	dp	Media	dp	Media	dp
C13:0	0,14	0,01	0,11	0,01	0,10	0,00	0,08	0,00	0,10	0,02	0,08	0,01	0,10	0,00
C14:0	6,72	0,037	6,49	0,000	6,45	0,031	5,29	0,013	6,88	0,055	6,45	0,011	6,66	0,443
C15:0	1,64	0,019	1,62	0,021	1,19	0,018	1,33	0,001	1,16	0,009	1,22	0,009	1,29	0,035
C16:0	19,42	0,006	18,33	0,152	16,37	0,028	14,52	0,102	17,34	0,072	17,23	0,056	17,08	0,277
Total C16:1	2,43	0,066	2,98	0,020	4,81	0,016	3,57	0,038	5,41	0,064	4,72	0,042	5,44	0,022
Outros C16	0,57	0,051	0,70	0,016	1,13	0,047	1,05	0,009	1,31	0,001	1,17	0,011	1,32	0,023
C17:0	0,47	0,004	0,50	0,024	0,42	0,021	0,48	0,001	0,45	0,013	0,48	0,004	0,50	0,001
C17:1c9	0,09	0,032	0,15	0,008	0,08	0,006	0,13	0,012	0,07	0,002	0,07	0,006	0,06	0,045
C18:0	3,45	0,081	2,79	0,007	3,27	0,095	3,12	0,011	3,48	0,020	3,64	0,009	3,67	0,048
C18:1c9	1,80	0,009	1,75	0,028	1,70	0,011	2,79	0,023	1,77	0,004	2,70	0,003	2,09	0,008
C18:1c11	2,15	0,016	1,96	0,047	3,20	0,036	2,69	0,004	3,44	0,012	3,09	0,011	3,45	0,004
C18:2n-6	0,99	0,012	1,04	0,030	1,17	0,008	1,52	0,018	1,09	0,011	1,59	0,000	1,23	0,020
C18:3n-6	0,25	0,016	0,23	0,005	0,27	0,012	0,27	0,016	0,32	0,001	0,32	0,002	0,34	0,054
C18:3n-3	0,40	0,091	0,36	0,004	0,63	0,023	0,86	0,023	0,50	0,096	1,01	0,008	0,46	0,037
C18:4n-3	0,74	0,006	0,55	0,011	1,17	0,002	1,55	0,014	1,30	0,045	1,40	0,030	1,18	0,015
Total C19:1	0,27	0,081	0,34	0,002	0,22	0,039	0,31	0,029	0,23	0,018	0,23	0,007	0,22	0,061
C20:0	0,68	0,011	0,74	0,005	0,63	0,002	0,65	0,014	0,55	0,016	0,57	0,007	0,63	0,065
Total C20:1	9,43	0,011	9,08	0,106	8,42	0,041	9,42	0,006	7,25	0,135	6,82	0,012	8,29	0,255
C20:2n-6	2,40	0,038	1,90	0,022	1,67	0,002	2,22	0,044	1,55	0,013	1,68	0,012	1,81	0,012
C20:3n-6	0,71	0,019	1,01	0,017	0,60	0,003	0,58	0,018	0,58	0,004	0,62	0,010	0,54	0,014
C20:4n-6	19,17	0,259	16,90	0,111	14,22	0,006	15,53	0,093	12,36	0,074	14,42	0,042	13,57	0,084
C20:4n-3	0,15	0,018	0,13	0,009	0,25	0,005	0,26	0,022	0,30	0,017	0,25	0,008	0,24	0,002
C20:5n-3	12,46	0,145	14,54	0,077	15,55	0,113	13,50	0,021	17,00	0,087	15,36	0,053	14,51	0,006
C22:0	0,05	0,012	0,14	0,018	0,11	0,006	0,08	0,008	0,11	0,008	0,09	0,015	0,11	0,003
C22:1	3,89	0,008	4,42	0,052	3,17	0,008	3,75	0,026	2,78	0,038	2,98	0,012	2,60	0,057
C22:5n-6	0,30	0,032	0,17	0,012	0,29	0,014	0,42	0,009	0,33	0,020	0,30	0,026	0,36	0,013
C22:5n-3	0,37	0,036	0,29	0,004	0,57	0,011	0,50	0,012	0,59	0,019	0,48	0,006	0,60	0,005
C22:6n-3	1,00	0,021	0,81	0,040	3,54	0,049	4,87	0,081	3,56	0,027	3,59	0,018	3,16	0,186
Total C24:1	0,40	0,092	0,75	0,008	0,45	0,056	0,41	0,031	0,44	0,049	0,41	0,002	0,44	0,047
Outros não identificados	7,47	0,184	9,22	0,022	8,35	0,104	8,25	0,068	7,74	0,084	7,03	0,067	8,06	0,215
Somatórios de AG														
Saturados	32,57	0,127	30,72	0,220	28,55	0,059	25,54	0,125	30,06	0,021	29,77	0,061	30,03	0,573
Monoinsaturados	20,46	0,299	21,43	0,117	22,04	0,007	23,07	0,032	21,38	0,101	21,02	0,053	22,59	0,229
Polinsaturados	38,93	0,407	37,93	0,108	39,93	0,099	42,08	0,080	39,49	0,164	41,01	0,063	38,00	0,152
Omega-3	15,11	0,088	16,68	0,049	21,72	0,131	21,54	0,173	23,25	0,109	22,08	0,056	20,15	0,177
Omega-6	23,82	0,319	21,25	0,059	18,21	0,032	20,54	0,092	16,25	0,055	18,93	0,008	17,85	0,025
Outros AG	8,04	0,236	9,92	0,005	9,48	0,151	9,31	0,076	9,06	0,085	8,21	0,056	9,37	0,192
	Resultados (mg/g de amostra liofilizada)													
Total de AG	191,88	7,348	279,09	1,972	386,02	130,808	290,86	3,585	296,56	5,151	365,05	6,085	344,60	15,186

Os resultados no Quadro 2 mostram que a composição de AG das gónadas de *S. granularis* dividem-se em 32,57% de AG saturados, 20,46% de AG monoinsaturados, 38,93% de AG polinsaturados que se dividem em 15,11% de Omega-3 e 23,82% de Omega-6, e por fim, 8,04% de outros AG não identificados. Os AG identificados com maiores concentrações, são o ácido Mirístico (C14:0), o ácido Palmítico (C16:0), o ácido Gadoléico (C20:1), o ácido Araquidónico (ARA) (C20:4n-6) e o ácido Eicosapentaenoico (EPA) (C20:5n-3). Em todos os lotes analisados repetem-se os AG com maiores concentrações. O lote 3 apresenta um total de AG demasiado elevado devido a um erro de medição da solução padrão durante a preparação dos lotes para análise, daí o desvio padrão também apresentar valores anormais. O que não afeta a composição da amostra a nível percentual.

5 - Discussão

Nos equinoides as exigências metabólicas destinadas à atividade reprodutiva são tão intensas que os organismos despendem grande parte do ano em preparação nutricional e fisiológica para este evento. A reprodução tem um custo que significa risco para os indivíduos, exigindo que os recursos disponíveis para outras atividades metabólicas sejam investidos na atividade reprodutiva (Mariante *et al.*, 2009).

Em termos de benefícios nutricionais, as gónadas de ouriço-do-mar são consideradas uma boa fonte de proteína, lípidos, AG (particularmente polinsaturados), hidratos de carbono, carotenoides e minerais (Rocha *et al.*, 2018). Afonso *et al.*, (2015) constataram que o ouriço-do-mar, *P. lividus*, apresenta um teor moderado em gordura e cinzas (1.90% e 2.69%, respetivamente). Mostraram ainda que o ouriço-do-mar possui um elevado teor de humidade (76.29%) e um teor proteico de 10.60%. Confirmaram o interesse nutricional das gónadas do ouriço-do-mar, *P. lividus*, pelo que a promoção do seu consumo nas zonas costeiras onde o ouriço é normalmente colhido, poderá ser uma forma de dinamizar as economias locais. Rocha *et al.* (2018) estudaram a composição nutricional das gónadas de *P. lividus* na costa norte de Portugal e indicaram a existência de uma variação similar entre duas populações destes ouriços na Praia do norte e no Carreço. Durante a Primavera as gónadas capturadas em ambos os locais, atingiram os índices mais baixos de proteína ($13 \pm 1\%$), de lípidos ($3,1\%$), mas atingiram o valor de humidade mais alto ($81 \pm 2\%$). Pelo contrário, no Outono encontraram em ambos os locais as concentrações máximas de proteína ($16 \pm 2\%$) e lípidos ($6 \pm 1\%$), já a humidade desceu para $70 \pm 3\%$. O valor da CB foi de $2 \pm 1\%$. Contudo, a qualidade nutricional das gónadas aumentou durante o Verão, atingiu o pico máximo no Outono e decresceu até à Primavera seguinte. Estas variações nutricionais são provavelmente devidas ao ciclo anual de maturação das gónadas (armazenamento de nutrientes e gametogénese). Durante Outono, verificou-se o crescimento das gónadas, sendo caracterizado pelo reabastecimento das reservas de nutrientes nos fagócitos nutritivos, o que explica o pico de proteína, lípidos e níveis de energia. Em termos de AG, a população da Praia do norte apresentou valores mais altos em AG saturados, monoinsaturados e polinsaturados, assim como também em EPA e ARA, durante o Outono, enquanto a população de Carreço apresentou diferenças estatísticas destes AG ao longo do tempo. Foi demonstrado o domínio dos AG polinsaturados no total de AG, particularmente de EPA na família n-3 e ARA na família n-6, nas gónadas desta espécie. É reconhecido que o perfil de AG em gónadas de ouriço-do-mar reflete a composição da sua dieta. O nível alto de EPA nas gónadas pode refletir o consumo preferencial de algas marinhas, uma vez que o EPA pode ser encontrado em concentrações de 50% do teor total de AG em algumas espécies de macroalgas. Por outro lado, os indivíduos da Praia do norte apresentaram valores variáveis de EPA e ARA comparados com a população de Carreço, provavelmente relacionado com a variabilidade de macroalgas e das espécies presentes em cada local.

Estudos anteriores como, Kalogeropoulos *et al.* (2012) analisaram o perfil de AG em ovas de peixe (*Cyclopterus lumpus* (Linnaeus, 1758), *Salmo salar* (Linnaeus, 1758), *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792), *Clupea harengus* (Linnaeus, 1758) e *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758)) e em ovas de *P. lividus* e resultou que, os AG de ouriços-do-mar apresentam concentrações de Docosahexaenoico (DHA) de 0,6 a 1,2g/100g enquanto as ovas de peixe, apresentam concentrações entre 7,6 a 18,4g/100g, o que resulta num rácio de EPA/DHA mais elevado nas ovas de peixe. Por outro lado, os lípidos de ouriços-do-mar contêm concentrações elevadas de ácido araquidónico e linoleico, entre 1,4 a

2,5g/100g enquanto as ovas de peixe contêm 0,1 a 0,7g/100g, resultando num rácio de Omega6/Omega3 mais elevado.

O estudo realizado por Siliani *et al.* (2016) sugere que os AG essenciais (EPA e ARA) tem um papel importante na diferenciação das áreas onde foram capturados os ouriços-do-mar *P. lividus*. O resultado deste trabalho confirma que o conteúdo em AG das gónadas, em particular EPA e ARA, são marcadamente modulados pela estação do ano e pelos fatores ambientais envolventes. Isto sugere que os AG como dietéticos possam ter impacto na composição dos AG das gónadas, de modo a conectar a qualidade lipídica das gónadas do ouriço-do-mar à área de crescimento. Foi encontrado em grandes quantidades ARA, 20:4n-6 e EPA, 20:5n-3, em espécies de macroalgas como, *Porphyridium*, *Ascophyllum* e *Laminaria*. O ácido Esteárico, 20:4n-6 e ácido Linoleico, 18:3n-3 são importantes indicadores de microalgas na dieta. A alimentação dos herbívoros está associada à presença destes AG, já o AG DHA 22:6n-3, está associado à alimentação de carnívoros, contudo este AG está presente em algumas classes de microalgas flageladas (Cook *et al.*, 2000). Barberá *et al.*, (2011) definiram o perfil de AG das gónadas de *Spatangus purpureus* (Mortensen, 1907), e evidenciaram uma quantidade significativa de ácido Palmítico (C16:00), ARA (C20:4n-6), EPA (C20:5n-3) e de ácido Vacénico (C16:1n-7).

Deveriam ser desenvolvidas novas fórmulas artificiais de dietas, para substituir a apanha de macroalgas, para que a produção de *P. lividus* seja comercial e ambientalmente sustentável. Estudos anteriores investigaram dietas ricas em proteína, lípidos e energia através da inclusão de proteínas de peixe, plantas e óleos de peixe na sua dieta. Estas dietas são capazes de promover um bom crescimento somático e um desenvolvimento eficaz das gónadas. No entanto, não há dados disponíveis que comprovem os efeitos das dietas nos perfis de AG durante os diferentes níveis gametogénicos das gónadas de *P. lividus* e durante o fornecimento materno de AG aos ovos e embriões (Carboni *et al.*, 2013). Ao aumentar os níveis de proteína na dieta do ouriço-do-mar, promove a produção de certos AG polinsaturados, que são cruciais no desempenho reprodutivo e desenvolvimento de tecidos específicos, sendo um fator a ter em consideração quando estão a ser formuladas dietas para equinocultura (Cook *et al.*, 2007).

A composição em AG das gónadas de *S. granularis*, assemelham-se à composição dos óleos de peixe, este é a fração lipídica extraída do peixe e seus derivados. A necessidade de óleos de peixe de alta qualidade, está a aumentar, devido ao crescimento do mercado nutracêutico, e ao aumento da sua aplicação na indústria da aquacultura. O óleo de peixe tem tido um enorme ênfase devido aos benefícios à saúde associados a elevadas concentrações em AG polinsaturados, nomeadamente ómega-3, EPA e DHA (Okpara, 2018). É comumente referido que o aumento do seu consumo é benéfico para o coração, e existe a possibilidade destes óleos também participarem na prevenção da depressão, embora não seja uma hipótese suportada por evidências, permanece plausível (Young, 2008). AG ómega-3 derivados de óleo de peixe; EPA e DHA são suplementos alimentares valiosos comercializados mundialmente com inúmeros benefícios para a saúde de crianças e adultos (Kocatepe, 2019).

6 - Conclusão

S. granularis apresenta uma concentração elevada de proteína e AG polinsaturados. Tratando-se de gónadas seria espectável que nutricionalmente, seja um alimento rico em AG e que estes valores traduzissem a realidade da alimentação destes equinoides. O facto de apresentar elevadas concentrações de EPA, e relativamente baixas concentrações de DHA, pode resultar da sua alimentação ser essencialmente á base de algas calcárias, folhas de ervas marinhas mortas e algas epífitas, rizomas e raízes de *Posidonia oceânica*, quando estes recursos se encontram disponíveis. O teor proteico resultante deste estudo mostra-se elevado comparativamente com os estudos anteriormente revistos, às gónadas de ouriços-do-mar de outras espécies, o que poderá ter origem na biomassa de alimento que estes equinoides dispõem na sua localização geográfica. O facto de estas gónadas terem um rácio EPA/DHA elevado sugere que, este equinoide se alimente essencialmente de macroalgas. As concentrações elevadas, principalmente, de ARA e EPA indicam que as gónadas de *S. granularis* são potencialmente importantes na indústria alimentar e consumo humano como fonte rica em AG polinsaturados.

7 - Referências Bibliográficas

- Adam G. Marsha, Mickie L. Powellb, Stephen A., Wattsb. 2013. Biochemical and Energy Requirements of Gonad Development, Chapter 4, *Sea Urchins: Biology and Ecology*. John Miller Lawrence 2013 Elsevier B.V. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-396491-5.00004-6>.
- Afonso I. M., Gonçalves A. R., Sá, P., Ferreira V., Vale A.P., Oliveira E.C. Lopes J.C. 2015. Caracterização Nutricional das Gónadas de Ouriço-do-mar *Paracentrotus lividus* da Costa Norte de Portugal. *XIX Congresso de Zootecnia Diversidade na Produção*.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists (1990). Official Methods of Analysis. Washington, DC, USA.
- Barberá C., Fernández-Jover D., J.A. López Jiménez L.A.J., Silvera G.D.J, H. Hinz H., Moranta J. 2011. Trophic ecology of the sea urchin *Spatangus purpureus* elucidated from gonad fatty acids composition analysis. *Marine Environmental Research*, 71, 235-246.
- Brundu G., Monle'on. V. L., Carboni S.V.D. 2016. Effects of larval diet and metamorphosis cue on survival and growth of sea urchin post-larvae (*Paracentrotus lividus*; Lamarck, 1816). *Aquaculture*, 8486, 30468-9. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.09.014.
- Carboni S., Hughes A.D., Attack T., Tocher D.R., Migaud H., 2013. Fatty acid profiles during gametogenesis in sea urchin (*Paracentrotus lividus*): Effects of dietary inputs on gonad, egg and embryo profiles. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 164, 376-382, DOI: 10.1016/j.cbpa.2012.11.010.
- Cárcamo P.F., 2015. Effects of food type and feeding frequency on the performance of early juveniles of the sea urchin *Loxechinus albus* (Echinodermata: Echinoidea): Implications for aquaculture and restocking. *Aquaculture* 436, 172-178. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.10.045.
- Castilla-Gavilán M., Buzin F., Cognie B., Dumay J., Turpin V., Decottignies P. 2018. Optimising microalgae diets in sea urchin *Paracentrotus lividus* larviculture to promote aquaculture diversification. *Aquaculture*, S0044-8486, 30684-1 DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.02.003.
- Cirino P., Ciaravolo M., Paglialonga A., Toscano A. 2017. Long-term maintenance of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in culture. *Aquaculture Reports*, 7, 27-33. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.04.003>
- Cook J.E., Bellb V.M., Black D.K., Kellya S.M. 2000. Fatty acid compositions of gonadal material and diets of the sea urchin, *Psammechinus miliaris*: trophic and nutritional implications. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 255, 261-274.
- Cook J.E., Hughes D.A., Orr H., Kelly S.M., Black D.K. 2007. Influence of dietary protein on essential fatty acids in the gonadal tissue of the sea urchins *Psammechinus miliaris* and *Paracentrotus lividus* (Echinodermata). *Aquaculture*, 273, 586-594.
- Domínguez R., Domínguez Godino J., Freitas C., Machado I., Bertocci I. 2015. Habitat traits and patterns of abundance of the purple sea urchin, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), at multiple scales along the north Portuguese coast. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 155, 47-55, DOI: 10.1016/j.ecss.2014.12.048.

- Elmasry E., Omar H.A., Abdel Razek F.A., El-Magd M.A. 2013. Preliminary studies on habitat and diversity of some sea urchin species (Echinodermata: Echinoidea) on the southern Levantine basin of Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 39, 303-311. DOI:10.1016/j.ejar.2013.12.009.
- Guettaf M., Martin S.A.G., Francour P. 2000. Interpopulation variability of the reproductive cycle of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in the south-western Mediterranean. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 80, 899-907. DOI: 10.1017/S0025315400002885.
- Guillou M., Lumingas L.J.L. 1998. The reproductive cycle of the 'blunt' sea urchin. *Aquaculture International*, 6, 147-160.
- Mortensen A., James P., and Siikavuopio S. I. 2013. Sea Urchin Aquaculture in Norway. *Eduinoderm Aquaculture*. <https://doi.org/10.1002/9781119005810.ch7>.
- Jordana E., Guillou M., Lumingas L.J.L., 1997. Age and grow of the sea urchin *Sphaerechinus granularis* in Southern Brittany. *Journal of the Marine Biological Association U.K.*, 77, 1199-1212. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0025315400038716>
- Kalogeropoulos N., Mikellidi A., Nomikos T., Chiou A. 2012. Screening of macro- and bioactive microconstituents of commercial finfish and sea urchin eggs. *LWT - Food Science and Technology*, 46, 525-531. DOI: 10.1016/j.lwt.2011.11.014
- Kocatepe M. 2019. Importance of Fish Oil Consumption. Department of Fish Processing Technology, Sinop University, Sinop, Turkey. *EC Nutrition*, 14.2, 120-121. <https://www.researchgate.net/publication/330779966>
- Lawrence M.J. 2013. Sea Urchin Life History Strategies. Department of Integrative Biology, University of South Florida, *In Sea Urchins: Biology and Ecology*. John Miller Lawrence, 23-31. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-396491-5.00002-2>.
- Luis C.N.R. 2018. Avaliação dos métodos de indução de desova e desenvolvimento larvar do ouriço-do-mar comum, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, Peniche-Instituto Politécnico de Leiria.
- Mariante F.L.F., Lemos B.G., Eutrópio J.F., & Gomes C.L. 2009. Biologia reprodutiva de *Echinometra lacunata* (Echinodermata: Echinoidea) na Praia da Costa, Vila Velha, Espírito Santo. *Zoologia*, 26, 641-646. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-46702009000400008>
- Martínez-Pita I., Sánchez-España A.I., García F.J. 2008. Gonadal growth and reproduction in the sea urchin *Sphaerechinus granularis* (Lamarck, 1816) (Echinodermata: Echinoidea) in southern Spain. *Scientia Marina* 72, 603-611. DOI: 10.3989/scimar.2008.72n3603
- Matisiori S., Aggelopoulos S., Tsoutsou A., Neofitou CH., Soutas K., Vafidis D. 2012. Economic Value of conservation. The Case of the Edible Sea Urchin *Paracentrotus lividus*. *Journal of Environment Protection and Ecology*. 13, 269-274.
- Mendes C.A., Araújo J., Soares F., Pousão-Ferreira P. 2018. Produção de Larvas e Juvenis de Ouriços-do-mar (*Paracentrotus lividus*) na Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (eppo). *Relatórios Científicos e Técnicos do IPMA – Série Digital*, 20, 22.

- Miyata T. 2010. Reducing overgrazing by sea urchins by market development. National Research Institute of fishery Science, *Fisheries Research Agency*, 32, 103-107.
- Mos B., Byrne M., Dworjanyn S.A. 2016. Biogenic acidification reduces sea urchin gonad growth and increases susceptibility of aquaculture to ocean acidification. *Marine Environmental Research*, 113, 39-48. DOI: 10.1016/j.marenvres.2015.11.001
- Nahon S., Castro Porras V.A., Pruski A.M., Charles F. 2008. Sensitivity to UV radiation in early life stages of the Mediterranean Sea urchin *Sphaerechinus granularis* (Lamarck). *Science of the Total Environment*, 407, 1892-1900. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.11.044.
- Okpara M. 2018. A Review on fish oil for healthy living. *International Journal of Comprehensive Research in Biological Sciences*, 4, 6-13. DOI: 10.22192/ijcrbs.2018.05.04.002.
- Parvéz S.Md., Rahmen A.M., and Yusoff F.Md. 2016. Sea Urchin Fisheries in Malaysia: Status, potencial and benefits. *International Journal of Chemical, Environmental & Biology Sciences*, 4, 2320-4087.
- Phillips K., Hamid N., Silcock P., Sewell M.A., Barker M., Weaver A., Then S.C., Delahunty C., Bremer P. 2010. Effect of manufactured diets on the yield, biochemical composition and sensory quality of *Evechinus chloroticus* sea urchin gonads. *Aquaculture*, 308, 49-59. DOI:10.1016/j.aquaculture.2010.07.030
- Prato E., Fanellia G., Angionib A., Biantolino F., Parlapiano I., Papaa L., Dentia G., Marco Seccib, Chiantorec M., Kellye S.M., Ferrantic P.M., Addisb P. 2018. Influence of a prepared diet and a macroalga (*Ulva* sp.) on the growth, nutritional and sensory qualities of gonads of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquaculture*, 493, 240-250.
- Ramos M.M.R. 2017. Otimiza  o de técnicas reprodutivas do ouriço-do-mar *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) em aquacultura. Disserta  o de Mestrado. Escola Superior de Turismo e Tecnologias do Mar, Instituto Politécnico de Leiria.
- Rocha F., Cristina Rocha A., Baião F.L., Gadelha J., Camacho C., Carvalho L. M., Arenas F., Oliveira A., Maia G.R.M., Cabrita R.A., Pintado M., Nunes L.M., Almeida R.C.M., Valente P.M.L. 2018. Seasonal effect in nutritional quality and safety of the wild sea urchin *Paracentrotus lividus* harvested in the European Atlantic shores. *Food Chemistry*, S0308-8146, 30006-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.097>.
- Ruiton S., Velaque M., Aubin G., Boudouresque C.F. 2006. Grazing on *Caulerpa racemosa* Var. *cylindracea* (Caulerpales, Chlorophyta) in the Mediterranean Sea by herbivorous fishes and sea urchins. *Vie Et Milleu*, 56, 33-41.
- Ruocco N., Fedelea M. A., Costantinid S., Romanoe Ianorae A., Maria Costantinia M. A. 2017. New inter-correlated genes targeted by diatom-derived polyunsaturated aldehydes in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 142, 355-362. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.04.022
- Sánchez-España A.I., Martínez-Pita I., Garcia F.J. 2004. Gonadal growth and reproduction in the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata: Echinoidea) from Southern Spain. *Hidrobiologia*, 519, 61-72.

- Santos M.F.C.P. 2017. Effect of three artificial diets on the gonadal development of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, Peniche - Instituto Politécnico de Leiria.
- Sartori D., Pellegrin D., Macchia S., Gaion A. 2016. Can echinoculture be a feasible and effective activity? Analysis of fast reliable breeding conditions to promote gonadal growth and sexual maturation in *Paracentrotus lividus*. *Aquaculture*, 451, 39-46. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.08.037
- Shang X., Zhang J., Gao Y., Jiao B., Zheng H., and Lu X. 2014. Traditional Chinese Medicine – Sea Urchin. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 14, 537-542. DOI: 10.2174/1389557514666140529224147.
- Siliani S., Melis R., Loi B., Guala I., Baroli M., Sanna R., Uzzau S., Roggio T., Maria Addis F., Anedda R. 2016. Influence of seasonal and environmental patterns on the lipid content and fatty acid profiles in gonads of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus* from Sardinia. *Marine Environmental Research*, 113, 124-133.
- Silva C.R.C. 2017. Avaliação da qualidade e da segurança microbiológica da ostra-do-Pacífico (*Crassostrea gigas*) e do ouriço-do-mar (*Paracentrotus lividus*). Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto.
- Soliman T., Omar H., Abdel Razek F.A., El-Sayed A.F.M., Elmasry E., Reimer J.D. 2015. Phylogenetic characterization of two echinoid species of the southeastern Mediterranean, off Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 41, 359-365, DOI:10.1016/j.ejar.2015.11.008.
- Spirlet C., Philippe Grosjean P., Jangoux M. 1998. Reproductive cycle of the echinoid *Paracentrotus lividus*: analysis by means of the maturity index. *Invertebrate Reproduction & Development*, 34:1, 69-81, DOI: 10.1080/07924259.1998.9652355.
- Steinbeck J. 1945. *Filo Echinodermata*. Cannery Row, 22.
- Tomsic S., Conides A., Duoric Radic I., Glamuzina B. 2010. Growth, size class frequency and reproduction of purple sea urchin, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) in Bistrina Bay (Adriatic Sea, Croatia). *Acta Adriatica*. 51, 67-77. orcid.org/0000-0001-9881-5475
- Trenzado C.E., Hidalgo F., Villanueva D., Furné M., Díaz-Casado M.E., Merino R., Sanz A. 2012. Study of the enzymatic digestive profile in three species of Mediterranean sea urchins. *Aquaculture*, 344-349, 174-180. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.03.027.
- Walker W.C.M.P. & Lessera Tatsuya Unumab. 2013. Sea Urchin Gametogenesis – Structural, Functional and Molecular/Genomic Biology. in *Sea Urchins: Biology and Ecology*. John Miller Lawrence. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-396491-5.00003-4>.
- Young N.S. 2008. Fish oils for depression? *Psychopharmacology for the Clinician Psychopharmacologie pratique*, Department of Psychiatry, McGill University Montréal, Quebec.

UNIVERSIDADE DOS AÇORES
Faculdade de Ciências Agrárias e
do Ambiente

Rua Capitão João d'Ávila
9700-042 Angra do Heroísmo
Açores, Portugal