



**UNIVERSIDADE DOS AÇORES**

**DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA E PESCAS**

**Desenvolvimento do Método de Índice de  
Qualidade (“QIM – Quality Index Method”) para as  
lapas (*Patella candei* e *Patella aspera*) e estudo das  
suas condições de transporte**

Mestrado Estudo Integrado dos Oceanos

Manuel José da Silveira Enes

outubro 2015



**UNIVERSIDADE DOS AÇORES**

DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA E PESCAS

**Desenvolvimento do Método de Índice de  
Qualidade (“QIM – Quality Index Method”) para as  
lapas (*Patella candei* e *Patella aspera*) e estudo das  
suas condições de transporte**

Dissertação de Mestrado Estudo Integrado dos Oceanos

8º Edição

Manuel José da Silveira Enes

Orientador: Prof. Dr. João Gonçalves

outubro 2015

## Agradecimentos

Gostaria, assim, de expressar os meus mais sinceros agradecimentos:

À minha família: aos meus pais e irmãos pelo apoio e incentivo constante, indispensável ao longo deste percurso que desempenharam um papel importante nas alturas de desespero e menor motivação.

Um agradecimento em especial ao Professor Doutor João Gonçalves, por ter aceite o papel de meu orientador, por se mostrar sempre disponível para conversar e esclarecer dúvidas, pelos seus constantes conselhos e transmissão de conhecimentos e inclusive pela sua disponibilidade em colaborar nas amostragens.

Ao Paulo Vaz-Pires, professor do ICBAS, pela sua atenção e total disponibilidade para conversar comigo e responder às questões colocadas em relação ao desenvolvimento do QIM.

Aos técnicos do Laboratório de Química Luís Pires e Valentina Costa pela sua paciência, disponibilidade e colaboração na parte Laboratorial.

À Inês Barros e à Joana Goulart pela sua disponibilidade e partilha do seu conhecimento numa área a qual me era alheia – Microbiologia.

Ao painel de provadores e avaliadores Ana Rodrigo, Aurora Ribeiro Hélder Silva, Helena Krug, Maria Aguiar, Maria Viveiros, Patrícia Simões, Rita Carriço, Luís Pereira, Ricardo Santos, Ricardo Serrão Santos.

A todos os meus amigos que, de algum modo, me apoiaram.

Enfim, a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para que esta etapa da minha vida fosse completada.

Um GRANDE... **Obrigado!**

Manuel Enes

## Resumo

A análise da frescura do pescado é um procedimento utilizado diariamente, para que o pescado chegue ao consumidor nas melhores condições possíveis. O Método do Índice de qualidade (QIM – “Quality Index Method”) é um processo que permite aferir a frescura do pescado baseado numa tabela de demérito. Apesar de existirem vários QIMs propostos para diferentes espécies, nunca foi desenvolvido para as lapas. Assim, o principal objetivo deste trabalho consistiu no desenvolvimento de uma tabela QIM para as diferentes espécies de lapas existentes no Arquipélago dos Açores (*Patella candei* e *Patella aspera*).

Para se desenvolver a tabela QIM, foi necessário primeiro determinar os parâmetros a considerar no mesmo (atributos que sofrem alterações significativas ao longo do tempo) (*e.g.* cheiro, aspeto geral, textura do pé). Para o efeito realizou-se uma prova organolética por um painel de 6 avaliadores que forneceu os dados para o desenvolvimento da primeira versão da tabela QIM. Posteriormente foram realizadas mais duas sessões de provas de avaliação para afinar a metodologia. De forma a corroborar os valores obtidos no QIM foram analisadas a variação bacteriológica e a concentração de histaminas ao longo do tempo de refrigeração. Assim, desenvolveu-se uma tabela QIM com pontuação máxima de 15 pontos de demérito em *P. candei* com o tempo de rejeição entre os 12-14 dias e num QIM com a pontuação máxima de 19 para um tempo de rejeição localizado entre os 6-7 dias para *P. aspera*.

Foram realizados simulações de transporte das lapas com o objetivo de verificar o impacto da temperatura e da concentração de CO<sub>2</sub> na sobrevivência das lapas. Após terminada as experiências foram utilizadas para calcular as relações peso total-comprimento máximas da concha e peso edível-comprimento máximo da concha.

## **Abstract**

The freshness assessment of the seafood is used on daily base, so that the seafood gets to the consumer at its best possible condition. The Quality Index Method (QIM) is a freshness grading system method using a score system of demerit points. There's already many QIM schemes made for different species, but there's still none developed for limpets. Therefore, the main objective of this work is the development of a QIM table for the both existing species of limpets in the Azores (*Patella candei* e *Patella aspera*).

For the development of the QIM table, a first trial was developed by a group of 6 assessors to find the characteristics that changed clearly during time. From this data a first QIM table was developed. Another two trials were made to confirm and clarify points. At the same time microbiological counts and histamine concentration were calculated so support the QIM values. In the end, two QIM tables were proposed, for the *P. candei* a maximum of 15 demerit points and a rejection time of 12-14 days, and for *P. aspera* a maximum of 19 demerit points and a rejection time of 6-7 days.

Transportation simulations with limpets were made to determine the impact of temperature and CO<sub>2</sub> concentrations have in the survivability of limpets. After which, the limpets were used to calculate the relation between the total weight-maximum shell length and biomass weight-maximum shell length.

# Índice Geral

Agradecimentos .....	iii
Resumo.....	iv
Abstract .....	v
Índice de Figuras .....	viii
Índice de Tabelas.....	xi
1.Introdução.....	1
1.1. Lapas.....	1
1.1.1. Importância Histórica .....	1
1.1.2. Anatomia Externa.....	3
1.2.Taxonomia e Biologia .....	5
1.2.1. <i>Patella candei</i> d'Orbigny, 1839 – (Lapa-mansa).....	5
1.2.2. <i>Patella aspera</i> Röding, 1798 – (Lapa-brava) .....	7
1.3 Método de Índice de Qualidade (QIM) .....	8
1.3.1 Análises Bacteriológicas e Químicas .....	11
1.3.1.1. Microbiologia .....	11
1.3.1.2. Histamina .....	11
1.3.2 Análise Organolética/ Sensorial .....	12
1.4 Objetivos .....	12
2.Material e Métodos.....	13
2.1. Recolha.....	13
2.2.Biometria.....	13
2.3.Desenvolvimento do QIM .....	13
2.3.1.Análise Organolética/ Sensorial .....	13
2.3.1.1.Prova Organolética.....	14
2.3.2.Desenvolvimento do Método de Índice de Qualidade (QIM).....	16
2.3.3.Análises Bacteriológicas e Químicas .....	17
2.3.3.1.Análise Bacteriológica .....	17
2.3.3.1.1.Preparação dos Meios de Cultura .....	17
2.3.3.1.2.Preparação das Amostras para Microbiologia.....	19
2.3.3.2.Análise de Histaminas .....	20
2.3.3.2.1.Preparação das Amostras .....	21
2.3.3.2.2.Derivatização .....	22

2.4. Simulação de condições de transporte .....	23
2.5. Variação da cor ao longo do tempo .....	26
3. Resultados .....	27
3.1. Relações Peso-Comprimento .....	27
3.2. Prova Organolética .....	30
3.2.1. Análise Sensorial – <i>P. candei</i> .....	32
3.2.2. Análise Sensorial – <i>P. aspera</i> .....	34
3.3. Desenvolvimento do Método de Índice de Qualidade (QIM) .....	36
3.3.1. QIM – <i>P. candei</i> .....	38
3.3.2. QIM – <i>P. aspera</i> .....	40
3.3.3. Análise Bacteriológica .....	42
3.3.4. Histamina .....	44
3.4. Transporte de Lapas Vivas (Variação de CO <sub>2</sub> e Temperatura) .....	45
3.4.1. <i>P. candei</i> .....	45
3.4.1.1. Variação do CO <sub>2</sub> e Temperatura na Caixa “Ambiente” .....	45
3.4.1.2. Variação do CO <sub>2</sub> e Temperatura na Caixa “Refrigerada” .....	46
3.4.2. <i>P. aspera</i> .....	46
3.4.2.1. Variação do CO <sub>2</sub> e Temperatura na Caixa “Ambiente” .....	46
3.4.2.2. Variação do CO <sub>2</sub> e Temperatura na Caixa “Refrigerada” .....	47
3.5. Taxa de Sobrevivência e Mortalidade .....	48
3.6. Variação da Cor ao Longo do Tempo .....	51
4. Discussão .....	52
4.1. Relações Peso-Comprimento .....	52
4.2. Método de Índice de Qualidade (QIM) .....	52
4.3. Transporte de Lapas Vivas (Variação de CO <sub>2</sub> e Temperatura) .....	55
5. Bibliografia .....	57
6. Anexos .....	62
6.1 Anexo I .....	63
6.2 Anexo II .....	63
6.3 Anexo III .....	64
6.4 Anexo IV .....	66
6.5 Anexo V .....	68
6.6 Anexo VI .....	70
6.7 Anexo VII .....	71

## Índice de Figuras

<i>Figura 1 – Diagrama da zona ventral de uma lapa. A - concha; B – Pé; C – manto; D – tentáculos cefálicos; E – boca. (adaptado de Gallagher et al., 2006).</i> .....	4
<i>Figura 2— Foto de uma concha de P. aspera onde é possível observar várias cracas (A) do de uma lapa (B), provavelmente de um juvenil da mesma espécie (foto do autor).</i> .....	4
<i>Figura 3 – À esquerda exemplos de plasticidade morfológica observada em conchas de P. candei e à direita vista ventral de um indivíduo de P. candei (fotos do autor).</i> .....	6
<i>Figura 4 – À esquerda vista do interior da concha de P. aspera e à direita vista ventral de um indivíduo de P. aspera (Foto do autor).</i> .....	8
<i>Figura 5 – Condições e utensílios fornecidos a cada assessor durante a prova sensorial.</i> .....	15
<i>Figura 6 – Lapas identificadas com a sua letra em espera para serem entregues aos provadores, tapados de forma a permitir uma melhor avaliação sensorial em relação ao cheiro.</i> .....	16
<i>Figura 7 – À esquerda os meios nas placas de aquecimento (Esquerda: IA; Direita: PAB) onde serão levadas ao ponto de ebulição para permitir a dissolução completa dos meios. Do lado direito podemos observar o meio PAB já distribuído em placas.</i> .....	19
<i>Figura 8 – Stomacher® 400 circulator utilizado para a homogeneização</i> .....	20
<i>Figura 9 – Homogenizador YSTRAL DIAX 600 utilizado para homogeneizar as amostras</i> .....	22
<i>Figura 10 – Os tubos cobertos de papel de alumínio para impedir que a luz afete a derivatização</i> .....	23
<i>Figura 11 – Processo que ocorre após a derivatização, a colocação do extrato num tubo através de um filtro.</i> .....	23
<i>Figura 12 – À esquerda caixa utilizadas durante a experiência com o sensor Wöhler® CDL 210 no seu interior. À direita, acumulador térmico utilizado na experiência de forma a diminuir a temperatura no interior da caixa à temperatura “Refrigerada”.</i> .....	25
<i>Figura 13 - Relação entre peso total-comprimento máximo da concha e o peso edível -comprimento máximo: A) Relação peso total-comprimento máximo da concha P. candei; B) Relação peso total-comprimento máximo da concha para P. aspera; C) Relação peso edível -comprimento máximo da concha para P. candei; D) Relação peso edível -comprimento máximo da concha para P. aspera. P. candei (n=498) e P. aspera (n=389).</i> .....	29

Figura 14 – Médias ( $\pm dp$ ) da pontuação dos parâmetros da <i>P. candei</i> ao longo do tempo a 5 °C.....	32
Figura 15 – Resultados do parâmetro “Comestível” da <i>P. candei</i> pela ordem de avaliação dos avaliadores.....	33
Figura 16 - Soma das médias ( $\pm dp$ ) de todos os parâmetros da <i>P. candei</i> e a sua variação ao longo do tempo de refrigeração a 5 °C.....	33
Figura 17 – Médias ( $\pm dp$ ) da pontuação dos parâmetros da <i>P. aspera</i> ao longo do tempo à temperatura 5 °C.....	34
Figura 18 – Resultados do parâmetro “Comestível” da <i>P. aspera</i> pela ordem de avaliação dos avaliadores.....	35
Figura 19 – Soma das médias ( $\pm dp$ ) de todos os parâmetros da <i>P. aspera</i> e a sua variação ao longo do tempo de refrigeração a 5 °C.....	35
Figura 20 – Variação dos pontos de demérito QIM por dia de cada parâmetro em <i>P. candei</i> ao longo do tempo mantidas em refrigeração a 5 °C.....	38
Figura 21 – Variação dos pontos de demérito QIM em cada lapa ( <i>P. candei</i> ) ao longo do tempo de refrigeração a 5 °C.....	39
Figura 22 - Variação do somatório das médias ( $\pm dp$ ) dos pontos de demérito QIM em <i>P. candei</i> ao longo do tempo de refrigeração a 5 °C (n=5) pelos 5 avaliadores.....	39
Figura 23 – Variação dos pontos de demérito QIM por dia de cada parâmetro em <i>P. aspera</i> ao longo do tempo mantidas em refrigeração a 5 °C.....	40
Figura 24 – Variação dos pontos de demérito QIM em cada lapa ( <i>P. aspera</i> ) ao longo do tempo do tempo de refrigeração a 5 °C.....	41
Figura 25 – Variação do somatório das médias ( $\pm dp$ ) dos pontos de demérito QIM em <i>P. aspera</i> ao longo do tempo do tempo de refrigeração a 5 °C (n=5) pelos 5 avaliadores.....	41
Figura 26 – Variação do número de colónias de bactérias ao longo do tempo de refrigeração. A) Variação do número de <i>Pseudomonas</i> em <i>P. candei</i> ; B) Variação do número de bactérias produtoras de H <sub>2</sub> S em <i>P. candei</i> ; C) Variação do número de <i>Pseudomonas</i> em <i>P. aspera</i> ; D) Variação do número de bactérias produtoras de H <sub>2</sub> S em <i>P. aspera</i> .....	43
Figura 27 – Resultado da concentração de histamina obtido no HPLC para o 14º.....	44

<i>Figura 28 – Média (<math>\pm dp</math>) da variação da concentração de CO<sub>2</sub>/ 100 g e da temperatura, dentro das caixas, durante as três réplicas da P. candei à temperatura “Ambiente” ao longo de um período de 48h.</i>	45
<i>Figura 29 – Média (<math>\pm dp</math>) da variação da concentração de CO<sub>2</sub>/ 100 g e da temperatura, dentro das caixas, durante as três réplicas da P. candei à temperatura “Refrigerada” ao longo de um período de 48h.</i>	46
<i>Figura 30 – Média (<math>\pm dp</math>) da variação da concentração de CO<sub>2</sub>/ 100 g, dentro das caixas, durante as três réplicas da P. aspera à temperatura “ambiente” ao longo de um período de 48h.</i>	47
<i>Figura 31 – Média (<math>\pm dp</math>) da variação da concentração de CO<sub>2</sub>/ 100 g e da temperatura, dentro das caixas, durante as três réplicas da P. aspera à temperatura “Refrigerada” ao longo de um período de 48h.</i>	47
<i>Figura 32 – Média da taxa de Sobrevivência/ Mortalidade das 3 réplicas e o respetivo desvio padrão (<math>\pm dp</math>), na P. candei durante as primeiras 48h de transporte em caixa fechada à temperatura “ambiente” e “refrigerada” (V – vivas; MB – moribundas; M – Mortas; F – feridas).</i>	50
<i>Figura 33 – Média da taxa de Sobrevivência/ Mortalidade das 3 réplicas e o respetivo desvio padrão (<math>\pm dp</math>), na P. aspera durante as primeiras 48h de transporte em caixa fechada à temperatura “ambiente” e “refrigerada” (V – vivas; MB – moribundas; M – Mortas; F – feridas).</i>	50

## **Índice de Tabelas**

<i>Tabela 1 – Informações adicionais em relação às amostragens das lapas. ....</i>	<i>25</i>
<i>Tabela 2 – Parâmetros das características da amostra de P. candei (n=498). ....</i>	<i>28</i>
<i>Tabela 3 – Parâmetros das características da amostra de P. aspera (n=389). ....</i>	<i>28</i>
<i>Tabela 4 – Parâmetros do teste T de ambas as espécies. ....</i>	<i>28</i>
<i>Tabela 5 – Variação da concentração de Histamina (ppm) na P. candei e P. aspera ao longo do tempo. ....</i>	<i>44</i>
<i>Tabela 6 – Produção de CO<sub>2</sub> por cada 100 g/ h de cada espécie a diferentes temperaturas. ....</i>	<i>48</i>
<i>Tabela 7 - Diferentes dias de rejeição obtidos nas diferentes análises para a P. candei e P. aspera. ....</i>	<i>54</i>
<i>Tabela 8 - Relação entre os pontos de demérito do QIM e a escala UE (categorias E, A e B). ....</i>	<i>54</i>

# **1. Introdução**

## **1.1. Lapas**

### **1.1.1. Importância Histórica**

Desde do início da colonização dos Açores, no século XV, que os seus habitantes exploram os recursos marinhos como fonte de alimento e/ ou subsistência (Martins *et al.*, 1987; Santos *et al.* 1995). As lapas (*Patella* spp.) fazem parte dos recursos vivos marinhos explorados artesanalmente pela população dos Açores (Ferraz *et al.*, 2001; Martins *et al.*, 2008a; 2009), constituindo um dos mariscos mais apreciados na gastronomia açoriana (Martins *et al.*, 1987; Hawkins *et al.*, 2000; Martins *et al.*, 2009). Para além do interesse económico, que têm no comércio local, no qual são vendidas vivas, constituem um produto de exportação para os imigrantes açorianos na costa este dos Estados Unidos (Martins *et al.*, 1987; Hawkins *et al.*, 2000; Martins *et al.*, 2008b; 2009).

Ao longo da costa Açoriana é possível distinguir duas espécies de lapas: *Patella aspera* Röding 1798 e *Patella candei* d'Orbigny 1839 (Corte-Real *et al.*, 1992; Martins *et al.*, 2008a; Borges *et al.*, 2010; Carreira, 2010). Até 1980 a sua exploração era moderada, mas com a introdução de equipamento de mergulho (*e.g.* “snorkelling”), em conjunto com a melhoria dos métodos de refrigeração o valor comercial aumentou e como consequência a sua exploração também, aumentando assim a pressão sobre os stocks (Martins *et al.*, 1987; Ferraz *et al.*, 2001).

Em 1985 as lapas ocuparam o 6º lugar na lista dos recursos pesqueiros mais importantes a nível económico na ilha de São Miguel (Martins *et al.*, 1987; Ferraz *et al.*, 2001; Martins *et al.*, 2008a; 2009). Segundo Santos *et al.* (2010) as lapas

representavam 15% do valor económico de todo o pescado dos Açores entre os anos de 1984-1985. O esforço exercido sobre este recurso sofreu um aumento drástico a partir de 1980, o que levou a que entre os anos 1983-1984 os stocks diminuíssem consideravelmente no grupo central. Segundo Ferraz *et al.* (2001) este decréscimo também está associado a uma hipotética doença que nunca foi confirmada. Como consequência foi decretada a proibição de capturas no grupo central durante um ano (1985) o que levou a um aumento do esforço sobre os stocks de outras ilhas, nomeadamente São Miguel, e como resultado o colapso do mesmo em 1988. Como consequência foi também declarada a proibição de capturas durante um ano em todo o Arquipélago em 1989 (Ferraz *et al.*, 2001). Posteriormente, em setembro de 1990, foi permitida a apanha não comercial no grupo ocidental, mas segundo Ferraz *et al.* (2001) era visível que as medidas adotadas não eram suficientes para controlar e impedir a captura ilegal de lapas.

Para proteger este recurso foi publicada regulamentação em julho de 1993 (Decreto Regulamentar Regional Nº 14/1993/A de 31 de julho). Esta legislação apresentava as seguintes medidas: obrigatoriedade de licenciamento para apanhadores comerciais e da declaração das capturas efetuadas; estabelecimento de um período de defeso; estabelecimento de tamanhos mínimos (55 mm para *P. aspera* e 30 mm para *P. candei*); ao mesmo tempo foram criadas zonas de reserva e zonas de capturas reguladas em cada uma das ilhas.

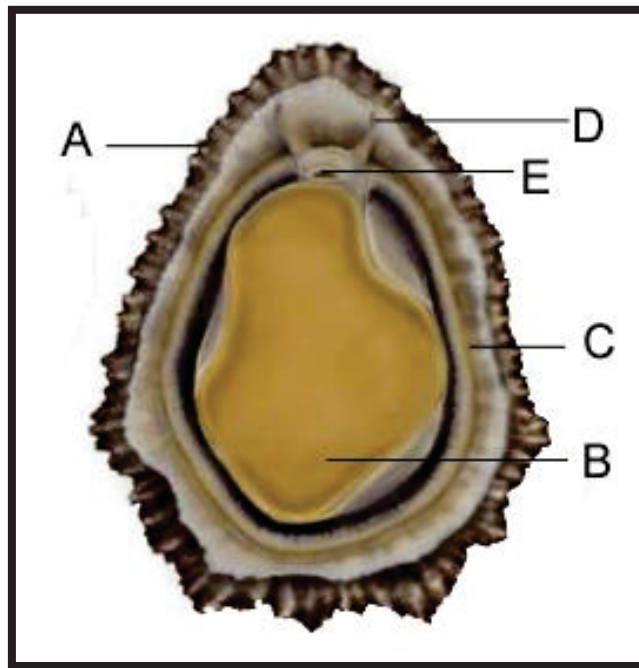
Entre os anos de 1980-1989 capturou-se no total 566 ton (média: 56 ton/ ano). Mais recentemente, entre os anos 2005-2014 capturou-se 126 ton (média: 12 ton/ ano) de lapas (dados Lotaçor). Apesar de se verificar uma diminuição de descargas, num

estudo efetuado por Pham *et al.* (2013) determinou que estas descargas estavam longe do valor real, que estimava em de 60 vezes superiores ao declarado cada ano.

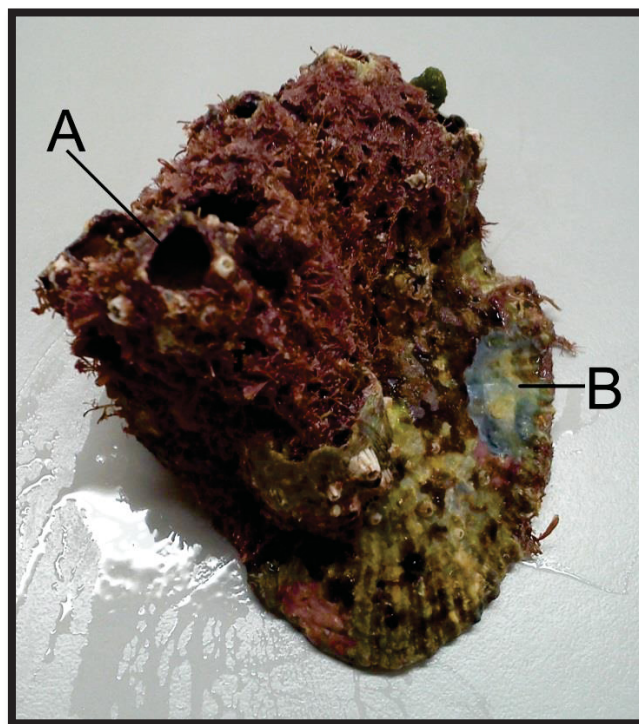
### **1.1.2. Anatomia Externa**

A lapa (Figura 1) é um molusco pertencente à Classe Gastropoda, que é caracterizado por possuir uma concha exterior dura (Figura 1– A) de forma cônica que apresenta diversas cores e texturas, consoante a espécie e a zona de origem, a qual muitas vezes está associada colonização por outros seres vivos (*e.g.* cracas e algas - Figura 2). Ao observarmos a zona ventral a primeira estrutura que observamos é o pé (Figura 1 – B) que compõe a maior parte da área visível da lapa. Este é extremamente musculoso e responsável pelo movimento e fixação da lapa ao substrato. Em volta do pé é possível observar o manto que estende-se até à extremidade da concha e possui capacidade de retração e extensão (Figura 1 – C). Ao longo das suas margens situam-se os tentáculos paleais que têm funções sensoriais.

Na parte ventral, é também possível observar a cabeça onde se localizam os tentáculos cefálicos (Figura 1 – D) e também a boca e a rádula (espécie de língua com dentes) no seu interior (Figura 1 – E). Recentemente a rádula foi considerada o material natural mais forte, superando a teia de aranha que até agora ocupava o 1º lugar dessa lista (Barber *et al.*, 2015). Entre a cabeça e a concha é possível observar uma cavidade – cavidade do manto – onde se localizam as brânquias responsáveis pela respiração/ trocas de gases. A circulação da água dá-se em forma de “U” que permite assim também limpar os produtos resultantes do metabolismo, visto que o ânus se situa por cima da cabeça.



**Figura 1** – Diagrama da zona ventral de uma lapa. A - concha; B – Pé; C – manto; D – tentáculos cefálicos; E – boca. (adaptado de Gallagher *et al.*, 2006).



**Figura 2**— Foto de uma concha de *P. aspera* onde é possível observar várias cracas (A) do de uma lapa (B), provavelmente de um juvenil da mesma espécie (foto do autor).

## 1.2. Taxonomia e Biologia

- **Reino:** Animalia
  - **Filo:** Mollusca
    - **Classe:** Gastropoda
      - **Família:** Patellidae
        - **Género:** *Patella*
          - **Espécie:** *Patella aspera* Röding, 1798

*Patella candei* d'Orbigny, 1839

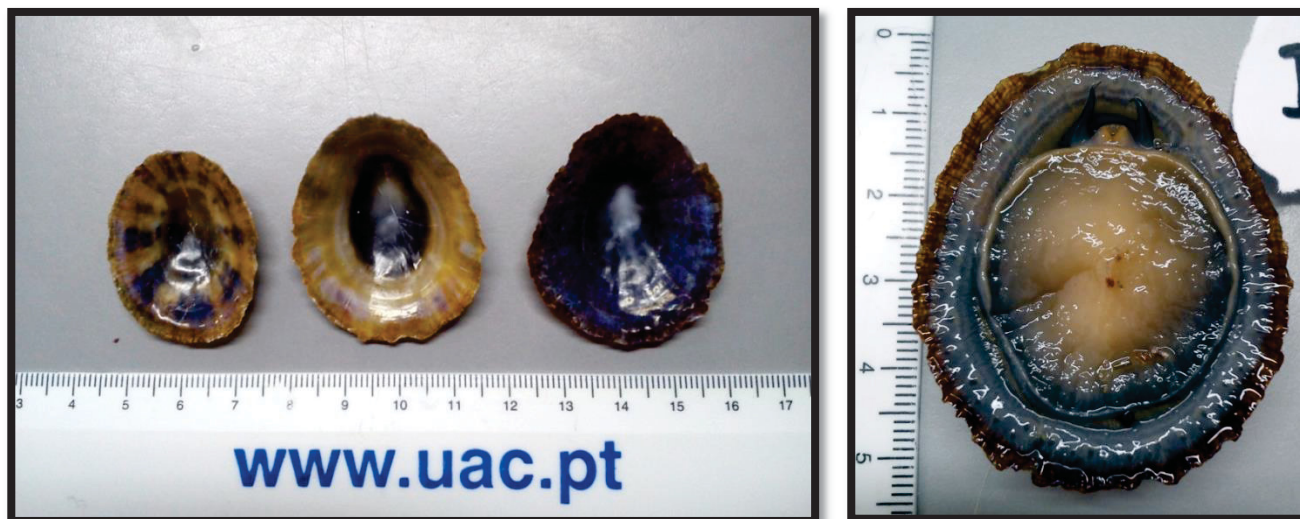
*Patella candei gomesii* Drouët, 1858

### 1.2.1. *Patella candei* d'Orbigny, 1839 – (Lapa-mansa)

*Patella candei* d'Orbigny, 1839 é uma espécie geograficamente restrita ao Arquipélago dos Açores, Madeira, Selvagens e Canárias (Carreira, 2010). Christiaens (1973) descreveu para a Macaronésia 4 subespécies de *P. candei* tendo em conta polimorfismos morfológicos *Patella candei ordinaria*, para a Madeira, *Patella candei crenata* para as Selvagens e *Patella candei candei* para as Canárias. Nos Açores podemos encontrar a subespécie *Patella candei gomesii* Drouët, 1858 que é chamada localmente de lapa-mansa. Por motivos práticos irei referir-me neste trabalho à *Patella candei gomesii* apenas por *Patella candei*.

A *P. candei* apresenta uma elevada plasticidade adaptativa podendo encontrar-se diferentes formas e colorações (Figura 3), consoante as características do substrato ou do habitat. A concha apresenta como morfologia externa típica de cor acastanhada, por vezes bastante escura e a superfície externa é estriada ou pouco rugosa. No seu interior a concha pode ser azulada, acinzentada ou avermelhada. O pé, tentáculos

paleais/ manto e tentáculos cefálicos são normalmente de cor cinzenta (adaptado de Menezes, 1991) (Figura 3).



**Figura 3** – À esquerda exemplos de plasticidade morfológica observada em conchas de *P. candei* e à direita vista ventral de um indivíduo de *P. candei* (fotos do autor).

*P. candei* é encontrada abundantemente no intertidal, fixa ao substrato rochoso, ocorrendo também no subtidal, embora não ultrapassando os 3 m de profundidade. Os juvenis são comuns na zona superior do intertidal (Menezes, 1991; Carreira, 2010). *P. candei* possui um crescimento rápido e é uma espécie oportunista, mas apresenta tamanhos máximos inferiores à *P. aspera* (Martins *et al.*, 1987). Alimenta-se através da rádula que raspa lentamente o substrato deixando uma marca clara na rocha, ingerindo essencialmente micro e macroalgas (Hill & Hawkins, 1991).

A nível reprodutivo, *P. candei* é uma espécie dióica (sexos são separados) e atinge a sua maturidade sexual entre os 16-20 mm (Martins *et al.*, 1987; Menezes, 1991). Apresenta um período de desova contínuo entre os meses de agosto a abril, não possuindo um período reprodutivo distinto e a sua fertilização é externa, ou seja, os óvulos e o esperma são libertados para água onde ocorre a fertilização (Martins *et*

*al.*, 1987; Menezes, 1991; Carreira, 2010). Esta espécie não aparenta sofrer alterações de sexo durante o seu desenvolvimento (Martins *et al.*, 1987).

### **1.2.2. *Patella aspera* Röding, 1798 – (Lapa-brava)**

*P. aspera* criou inicialmente algumas dificuldades a nível taxonómico. Inicialmente era classificada como *Patella ulyssiponensis* Gmelin, 1791, mas posteriormente, com os estudos genéticos determinou-se que os indivíduos europeus e os da Macaronésia possuíam diferenças genéticas significativas para se poderem considerar duas espécies distintas, e que a população continental deveria manter o nome *P. ulyssiponensis* e a população da macaronésia a nome *P. aspera* (Koufopanou *et al.*, 1999; Hawkins *et al.*, 2000).

Morfologicamente *P. aspera* apresenta uma concha mais espessa com abertura (perímetro) extremamente irregular devido à terminação desigual dos raios. A superfície externa é extremamente rugosa e de cor esbranquiçada. Interiormente a cor varia mas normalmente é cinzento arroxeadado com o centro branco (Figura 4). O seu pé apresenta a cor laranja, característica da espécie, o manto, os tentáculos cefálicos e a cabeça apresentam um tom alaranjado transparente baço, meio acinzentado (Figura 4) (adaptado de Menezes, 1991).

*P. aspera* é encontrada comumente na zona subtidal fixada ao substrato rochoso até aos 10 m de profundidade podendo habitar também na parte inferior do intertidal. À semelhança da *P. candei*, alimenta-se de micro e macroalgas (Hill & Hawkins, 1991). Apresenta comportamento de “homing”, ou seja, após alimentar-se regressa ao local original, o que lhe permite a manutenção de espaços livres de algas e

possibilita um lugar permanente de fixação (Menezes, 1991). Por esta razão a *P. aspera* é considerada um elemento importante na estruturação do subtidal.

*P. aspera* é uma espécie hermafrodita protândrica (Martins *et al.*, 1987), ou seja, os órgãos masculinos são os primeiros a atingir a maturidade e posteriormente vão sofrendo regressão enquanto os femininos vão maturando. Contudo, esta forma de maturação nem sempre ocorre, o que permite que se verifiquem situações em que a lapa seja fêmea ou macho toda a sua vida. A maturidade sexual é alcançada entre os 41-45 mm e à semelhança da *P. candei* são ativas reprodutivamente entre os meses de agosto a abril, não possuindo um período reprodutivo distinto e a sua fertilização é também externa (Martins *et al.*, 1987; Menezes, 1991).



**Figura 4** – À esquerda vista do interior da concha de *P. aspera* e à direita vista ventral de um indivíduo de *P. aspera* (Foto do autor).

### **1.3 Método de Índice de Qualidade (QIM)**

Atualmente o método utilizado e recomendado pela União Europeia, para análise de qualidade do pescado cru, está estabelecido no Regulamento do Conselho

(EC) n.º2406/96 de 26 de novembro. Este método baseia-se em três categorias de frescura de pescado: E (Extra) – corresponde à melhor qualidade possível (o pescado pertencente a esta categoria deve apresentar parcialmente ou totalmente em *rigor mortis*; sem marcas de pressão, cortes, parasitas, descoloração decorrente do manuseamento e do tempo a bordo); A – corresponde a uma boa qualidade (lotes com pescado que já não se encontram em *rigor mortis*; proporção reduzida de exemplares com marcas de pressão; sem descoloração); B – corresponde a uma qualidade aceitável (é admitido uma pequena proporção de pescado com marcas de pressão e escoriações ligeiras e com descoloração pouco acentuada). Abaixo desta categoria (B) o pescado não é admitido para o consumo humano. A perda de frescura está associada a processos bioquímicos, físico-químicos e microbiológicos característicos de cada espécie e é influenciado também pelas condições de transporte e de processamento (Gram & Huss, 1996; Huidobro *et al.*, 2000).

Posteriormente surgiram novos métodos/ esquemas (*e.g.* QIM) para analisar o estado do pescado, e específicos para cada espécie (Barbosa & Vaz-Pires, 2004).

O Método de Índice de Qualidade (QIM) é um método descritivo rápido e simples para avaliação da frescura do pescado e foi inicialmente criado na década de 1980 pela Unidade de Investigação Alimentar da Tasmânia. Ao longo do tempo foi evoluindo e adaptado a diferentes espécies (Huidobro *et al.*, 2000; Sveinsdottir & Martinsdottir, 2002; Sant’Ana *et al.*, 2011).

O QIM baseia-se numa avaliação de certos atributos sensoriais pré-determinados para cada espécie, utilizando um sistema de pontos por demérito. A soma dessas classificações quantifica a (falta) de qualidade sensorial até um valor

máximo, específico de cada espécie/género, que corresponde à total falta de qualidade (impróprio/rejeitado para produção humano). Quanto maiores forem as alterações em determinada característica, maior será a classificação atribuída. A desvantagem deste método é que necessita de ser desenvolvido para cada espécie (Barbosa & Vaz-Pires, 2004).

Há vários trabalhos já realizados com diferentes espécies, principalmente peixes, como o bacalhau (Jónsdóttir *et al.*, 1999), alabote do Atlântico (Guillerm-Regost *et al.*, 2006) e o goraz (Sant’Ana *et al.*, 2011). Há também alguns trabalhos realizados para moluscos como o polvo (Barbosa & Vaz-Pires, 2004) e o choco (Vaz-Pires & Seixas, 2006).

Realizou-se inclusive um projeto internacional “Introduction of the quality index method (QIM) in the european fishery chain (QIMCHAIN)” (2003-2004), que contou com a participação de vários países (Islândia, Holanda, Dinamarca, Alemanha, Noruega, Portugal e Espanha), financiado pela União Europeia, cujo objetivo principal era promover e implementar o uso de QIM na indústria pesqueira, e ao mesmo tempo desenvolver novos QIMs e melhorar os esquemas já existentes para avaliação da frescura do pescado. No final os resultados foram compilados num manual que pode ser acedido no website oficial do projeto – [www.qim-eurofish.com](http://www.qim-eurofish.com).

Pode-se constatar que ainda não existe nenhum QIM específico para as lapas.

## **1.3.1. Análises Bacteriológicas e Químicas**

### **1.3.1.1 Microbiologia**

A atividade microbiológica desempenha um papel importante na deterioração do pescado diminuindo assim a sua frescura/ qualidade (Sanguandeeikul *et al.*, 2008). As bactérias responsáveis por estes processos que são encontradas em peixes, pertencem maioritariamente ao género *Pseudomonas* (Lerke *et al.*, 1965; Chai *et al.*, 1968) não descartando o papel das bactérias produtoras de sulfato de hidrogénio (H<sub>2</sub>S).

As *Pseudomonas* possui vantagens competitivas sobre outros microrganismos (Gram *et al.*, 2002). Algumas espécies deste género são capazes de produzir substâncias antibacterianas e antifúngicas (Ellis *et al.*, 2000) e possuem sideróforos, que são canais que possuem uma grande afinidade por ferro e que apenas são ativados quando a concentração de ferro no meio é baixa (Gram, 1993; Gram *et al.*, 2002). Como é um nutriente limitante no desenvolvimento das bactérias, esta adaptação apresenta uma vantagem importante na competição com outras bactérias.

Na prática a contagem de microrganismos pode ser utilizada tanto para determinar o estado de frescura como o tempo restante de prateleira (Gram & Dalgaard, 2002; Sanguandeeikul *et al.*, 2008).

### **1.3.1.2 Histamina**

A intoxicação alimentar por histamina está normalmente está associado a peixes migratórios de “carne vermelha” da família Scombridae e Scomberesocidae (*e.g.* atuns, cavalas, chicharro, entre outros). Esta substância forma-se através da

descarboxilação do aminoácido histidina que algumas bactérias são capazes de realizar. Este processo está associado à má refrigeração e apresenta sintomas semelhantes a reações alérgicas como náuseas, vômitos, comichão, etc. (Taylor *et al.*, 1989).

### **1.3.2. Análise Organolética/ Sensorial**

Na análise do pescado são vários os parâmetros que se podem utilizar. Sendo os sensoriais, como o cheiro e aspeto, os mais importantes (Bonilla *et al.*, 2007).

## **1.4 Objetivos**

O objetivo principal deste trabalho foi desenvolver um QIM específico para as lapas, de forma a obter-se um método rápido de avaliação da frescura das mesmas. Para ter uma perceção da avaliação do grau de frescura das lapas foi feita uma prova organolética com um grupo de apreciadores.

As lapas são principalmente consumidas frescas e cruas, daí o interesse de se criar um método de transporte eficaz que mantenha as características pela qual são tão apreciadas. Pela importância económica que este recurso possui para a nossa região, estudamos também as condições de transporte destes organismos vivos, de modo a que cheguem ao consumidor no seu melhor estado de conservação.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Recolha**

A amostragem decorreu em várias zonas da ilha do Faial (Feteira, Castelo Branco e Salão) durante a maré baixa. A recolha foi realizada com uma faca que serviu para arrancar os organismos do substrato rochoso, tendo sido colocados numa saca de rede até se chegar ao laboratório. No caso das *P. aspera* (lapa-brava) utilizou-se também equipamento de apneia (máscara de mergulho, fato isotérmico, cinto de chumbos e barbatanas), uma vez que estas se encontraram maioritariamente no subtidal.

### **2.2. Biometria**

O comprimento máximo das lapas foi efetuado com uma craveira (DialMax – precisão 0,1 mm). O peso total (concha + animal) foi também registado bem como o peso da concha (após se separar o corpo da concha) utilizando uma balança digital (Mettler Toledo® modelo PB3002- S/ FACT). Pela diferença entre estes valores calculou-se o peso edível.

Estes dados serviram para calcular as relações alométricas entre as variáveis (peso-comprimento e peso edível-comprimento) utilizando o “software” Microsoft® Excel e a função de linha de tendência (escolhendo a regressão com valores de correlação mais elevados).

### **2.3. Desenvolvimento do QIM**

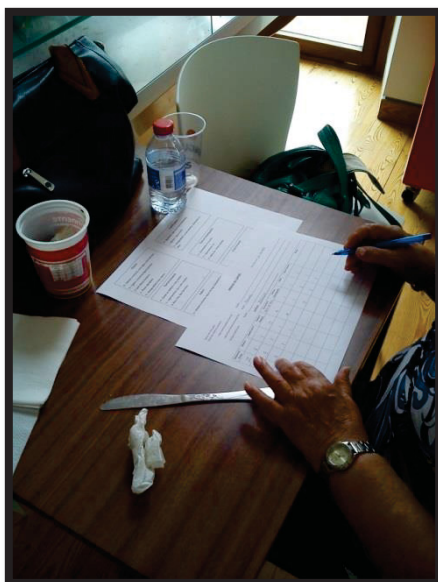
#### **2.3.1. Análise Organolética/ Sensorial**

A análise sensorial consistiu na análise físico-sensorial das propriedades organolética das lapas, nomeadamente: aspeto físico, cheiro, textura e sabor por parte

de um painel de 6 avaliadores. Estes foram escolhidos com base no fator de serem apreciadores de lapas cruas e que mostraram disponibilidade de participar na análise. Para esta análise foram recolhidas diariamente de lapas de ambas as espécies durante 10 dias consecutivos. Estas foram mantidas em refrigeração à temperatura de 5°C (no interior de uma câmara frigorífica) dentro de sacos plásticos com fecho zip separados consoante os dias de recolha. Cada avaliador analisou 11 lapas (1 para cada dia de refrigeração, mais 1 fresca previamente congelada), para cada espécie, resultando num total de 22 lapas por avaliador.

### **2.3.1.1. Prova Organolética**

A prova decorreu no dia 16/08/2015 no refeitório do DOP. As mesas foram colocadas separadas e de costas voltadas, de forma a evitar contacto visual e impedir que a análise de um assessor afetasse a de outro. Em cada umas destas mesas foram fornecidas uma folha de registo de apreciações (anexo I), outra com os parâmetros descritos (os quais foram previamente explicados aos avaliadores) (anexo II) e uma garrafa de água para lavarem da boca entre provas e um recipiente para colocar as lapas provadas (Figura 5).



**Figura 5** – Condições e utensílios fornecidos a cada assessor durante a prova sensorial.

As lapas a servir de prova foram retiradas do frigorífico cerca de 15m antes da prova e colocadas com pé virado para cima em formas de alumínio, de forma a estarem a temperatura ambiente na altura da prova. As lapas foram identificadas com uma letra (anexo III), e fornecidas numa ordem aleatória relativamente ao tempo que estavam em refrigeração (Figura 6), mas na mesma ordem a todos os avaliadores. Isto teve como objetivo evitar que os avaliadores dessem uma menor pontuação às lapas no final da prova simplesmente por terem mais tempo de refrigeração e não pela sua degradação. Os avaliadores iniciavam a avaliação cheirando a lapa e dando a pontuação que achavam mais adequada (entre 0-4 pontos). Tendo em conta que quanto maior o valor melhor a qualidade, de seguida pontuavam o aspeto geral da lapa (0-2 pontos), depois a textura ao toque (0-2 pontos).

De seguida era perguntado a sua opinião sobre se a lapa era comestível ou não (“S” – sim ou “N” – não), caso respondessem “não” os parâmetros relacionados com a prova (textura e sabor) recebiam automaticamente 0. Caso respondessem “Sim” era

pedido que provassem a lapa e pontuassem em relação à textura (mastigação) (0-2 pontos) e ao seu sabor no geral (0-3 pontos) e terminavam ao dar uma pontuação ao grau de frescura geral (0-3 pontos).



**Figura 6** – Lapas identificadas com a sua letra em espera para serem entregues aos provadores, tapados de forma a permitir uma melhor avaliação sensorial em relação ao cheiro.

### **2.3.2. Desenvolvimento do Método de Índice de Qualidade**

#### **(QIM)**

Para se proceder ao desenvolvimento do QIM adaptou-se em parte a metodologia utilizada por Sant’Ana *et al.* (2011). Esta abrangeu duas séries consecutivas de sessões de avaliação. A primeira série foi realizada em reunião de trabalho, por mim e pelo meu orientador, na qual analisamos 5 lapas por dia por espécie com dias de refrigeração entre 0-10 dias, de forma a determinar e testar os parâmetros a serem futuramente utilizados. Uma segunda série foi realizada por um novo grupo de 5 avaliadores, e consistiu na avaliação de 5 lapas de cada espécie

(sempre as mesmas) mantidas em refrigeração à temperatura de 5 °C durante o período de 15 dias, sendo as sessões em todos os dias ímpares. Esta análise serviu para afinar os parâmetros analisados e propor a lista final de parâmetros de análises que se encontram nos anexos I e II.

### **2.3.3. Análises Bacteriológicas e Químicas**

As análises foram realizadas no Laboratório de Química do Departamento de Oceanografia e Pescas.

#### **2.3.3.1. Análise Bacteriológica**

##### **2.3.3.1.1. Preparação dos Meios de Cultura**

Para a contagem microbiológica foram utilizados dois meios de culturas distintos: “IA” - “Iron Agar (Lyngby) s/ L-cisteína” (OXOID código: CM0964) e “PAB” - “Pseudomonas Agar Base” (OXOID código: CM0559). Estes meios foram preparados segundo as instruções indicadas pelos fabricantes adaptando apenas as quantidades de meio ao volume desejado, tendo em conta que cada placa Petri levava cerca de 20 ml de meio.

Cada meio foi preparado da seguinte forma:

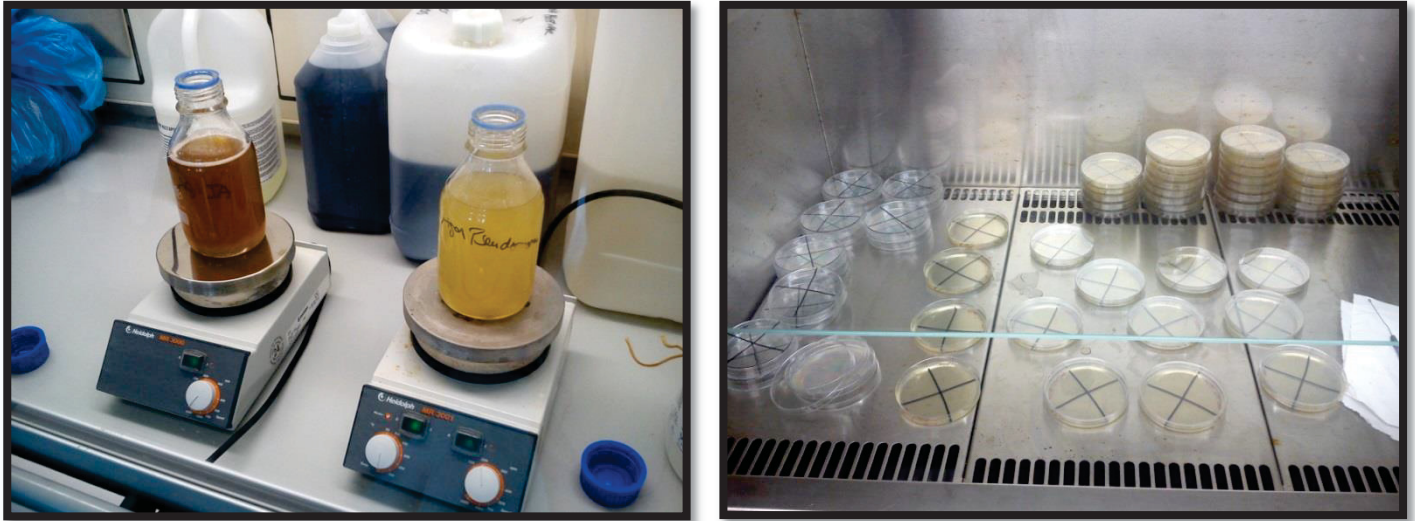
Pesou-se numa balança digital (Mettler® modelo PM1200) a quantidade desejada de meio desidratado. Era tido como referência para IA 43,6 g/ L e para PAB 24,2 g/ 498ml (medidas retiradas do rótulo do frasco).

Posteriormente foi adicionado a quantidade de água desionizada (tipo II) adequada. Após se misturar e dissolver os meios, recorrendo a movimentos circulares, os meios eram colocados numa placa de aquecimento com agitador magnético e levados a ferver de forma a dissolver completamente (Figura 7).

Depois de os meios estarem preparados foram levados à autoclave a 120 °C durante cerca de 20 minutos, de seguida eram colocados a arrefecer até aos  $\pm 50$  °C e colocados na câmara de fluxo laminar onde os respetivos suplementos foram adicionados.

Ao IA adicionou-se L-cisteína a 4% w/ v (por cada 100 ml coloca-se 4 g de L-cisteína), isto porque a L-cisteína é um aminoácido que com altas temperaturas sofre desnaturação pelo que não pode ser adicionado antes de ir à autoclave. Ao PAB é adicionado o suplemento seletivo de bactérias do género *Pseudomonas* “Pseudomonas CFC Selective Agar Supplement” (OXOID código: SR0103). Este suplemento é adicionado após ir a autoclave porque o principal componente é a cefalosporina (antibiótico) que com temperaturas elevadas sofre deterioração. Após os suplementos serem adicionados os meios estavam prontos para serem distribuídos pelas placas de Petri. Foram adicionados  $\pm 20$  ml de meio por placa (esterilizadas) e colocadas de parte até o meio solidificar (Figura 7).

O meio isotónico utilizado para as diluições e inoculação foi solução de Ringer  $\frac{1}{4}$  (cloreto de sódio 2,25 g/ L; cloreto de potássio 0,105 g/ L; cloreto de cálcio 0,12 g / L; bicarbonato de sódio 0,05 g/ L) foi preparada e autoclavado a 120°C durante 20 min.

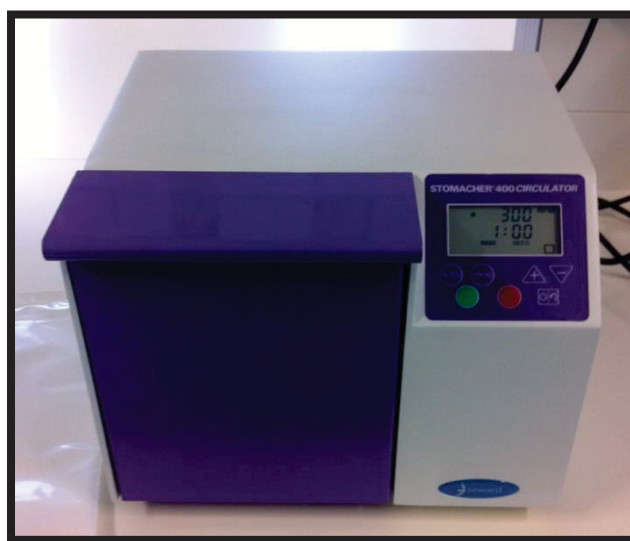


**Figura 7** – À esquerda os meios nas placas de aquecimento (Esquerda: IA; Direita: PAB) onde serão levadas ao ponto de ebulição para permitir a dissolução completa dos meios. Do lado direito podemos observar o meio PAB já distribuído em placas.

#### **2.3.3.1.2. Preparação das Amostras para Microbiologia**

Por cada 10 g de lapa foi adicionado 90 ml de solução. As lapas foram separadas da concha e pesadas, para se calcular o volume da solução de Ringer  $\frac{1}{4}$  a ser adicionado. Os indivíduos foram seccionados (6-10 partes, consoante o tamanho) e colocada dentro de um saco de Stomacher® esterilizado no qual era adicionado de seguida o volume de solução adequado e levado a homogeneizar no Stomacher® (Figura 8) durante 1 min a 300 rpm. Todo este processo era realizado perto de uma lamparina acesa de forma a minimizar o risco de contaminação. A solução retirada deste processo era considerada a solução -1 (ou  $10^1$ ) da qual era retirado 1 ml para se realizar a série de diluições decimais, que consiste na transferência, com ajuda de um micropipeta, de 1 ml da solução anterior para 9 ml de solução isotónica (Ringer  $\frac{1}{4}$ ) e assim sucessivamente até se obter o número de diluições desejado. Destas diluições foi retirado 0,1 ml (100  $\mu$ L) com ajuda de uma micropipeta e colocado no centro da

placa, o qual era espalhado, utilizando para isso uma pipeta de Pasteur (anteriormente aquecida e deformada de modo obter a forma de um “L”) e colocados na incubadora (Stuart Scientific, Orbital Incubator SI 50) durante 48 h a cerca de 20°C. Após a incubação realizaram-se contagens seletivas *Pseudomonas* e de bactérias produtoras de enxofre (H<sub>2</sub>S), que ao degradar ao degradar L-cisteína produzem colónias pretas (Gram *et al.*, 1987).



**Figura 8** — Stomacher® 400 circulator utilizado para a homogeneização.

### **2.3.3.2. Análise de Histaminas**

Realizou-se uma amostragem de cerca de 200 lapas de cada espécie e foram mantidas em refrigeração (5°C) durante 16 dias. Ao longo deste período retiraram-se lapas em dias alternados, as quais foram separadas da concha e pesadas até perfazer uma amostra composta de 50 g. Estas amostras foram congeladas e mantidas a -20°C de forma a evitar degradação até ao dia da análise. Foram realizados 2 duplicados em cada análise para se calcular o desvio padrão. As análises foram realizadas no Laboratório de Química do Departamento de Oceanografia e Pescas utilizando o

método de cromatografia líquida de alta eficiência (“High Performance Liquid Chromatography – HPLC”) de acordo com o protocolo utilizado nestas instalações para realizar controlo alimentar de atum enlatado entre outros (Pozo & Saitua, 1988).

#### **2.3.3.2.1. Preparação das Amostras**

Antes da análise as amostras tinham que ser preparadas para a derivatização. Estas foram trituradas utilizando uma trituradora doméstica (o “1, 2, 3”). Deste homogeneizado, foram pesados 20 g, diretamente num erlenmeyer de 100 ml, onde foi adicionado de seguida 100 ml de ácido tricloroacético a 10%, previamente preparado (100 g/ 1000 ml). Esta mistura foi homogeneizada num homogenizador YSTRAL DIAX 600 (Figura 9), (velocidade de 8000 rpm/min<sup>-1</sup>) com sonda 20M, durante 2 min, limpando-se a sonda entre amostras com água desionizada (tipo II). O extrato foi depois transferido para uma proveta graduada de 100 ml com ajuda de um funil e utilizando um filtro de 0,45 µm.

Após a filtração o volume de 100 ml foi completado com ácido tricloroacético e de seguida transferido para um frasco plástico de 100 ml que foi guardado no frigorífico para no dia seguinte se realizar a análise. Este passo não é obrigatório mas como o processo é demorado e pode ser necessário alguma repetição, pelo que é preferível ser realizado em dias diferentes.



**Figura 9** – Homogenizador YSTRAL DIAX 600 utilizado para homogeneizar as amostras.

#### **2.3.3.2.2. Derivatização**

Inicia-se o processo ao pipetar 150  $\mu\text{l}$  de amostra, preparadas no dia anterior, num tubo revestido com papel de alumínio e fechado com uma tampa preta para proteger da luz (Figura 10). De seguida foi adicionado 1,9 ml de água Millipore (tipo I) e foi levado a homogeneizar durante 30 seg. Após ser homogeneizado foi adicionado 400  $\mu\text{l}$  de hidróxido de sódio (NaOH, pH  $\pm$  12) e deixado em repouso durante 1 min para estabilizar a solução. Posteriormente foi adicionado 100  $\mu\text{l}$  de OPA – “orthophthaldialdehyde” (0,1 g/ 10 ml metanol) e levado a homogeneizar durante 30 seg no vortex, iniciando assim a derivatização. Após 4 min foi adicionado 200  $\mu\text{l}$  de ácido clorídrico (HCl 3 N), e levado novamente a homogeneizar durante 30 seg. Para parar a derivatização foi deixado a repousar durante 4 min. Após terminado o tempo de espera o conteúdo dos tubos foi retirado usando uma seringa e filtrado (0,45  $\mu\text{m}$ ) para dentro de um tubo que foi tapado e introduzido no amostrador do HPLC (Figura 11).



**Figura 10** – Os tubos cobertos de papel de alumínio para impedir que a luz afete a derivatização



**Figura 11** – Processo que ocorre após a derivatização, a colocação do extrato num tubo através de um filtro.

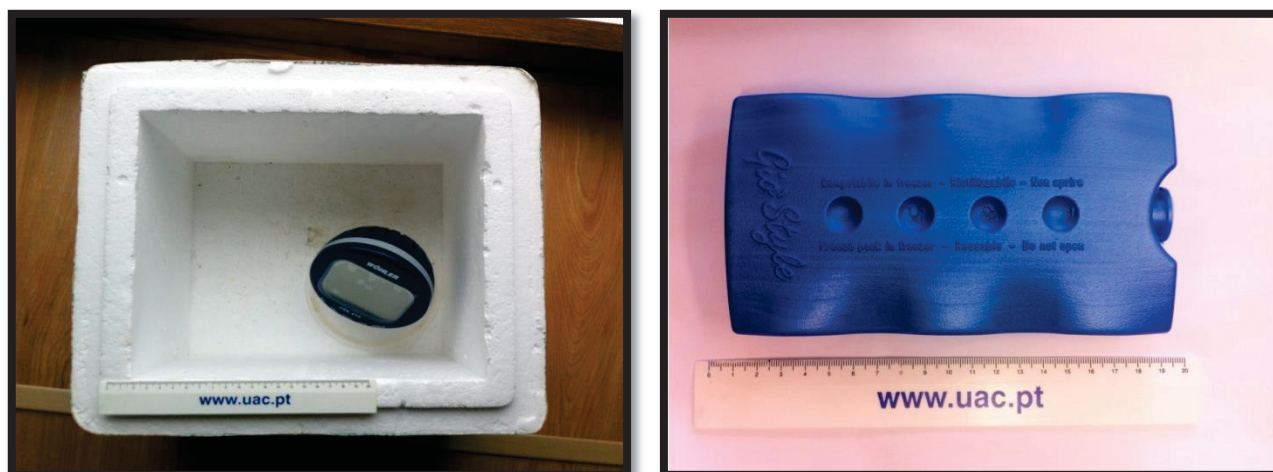
## **2.4. Simulação de condições de transporte**

Para se estudar as condições de transporte foram colocados cerca de 65 lapas vivas numa saca húmida de serapilheira (informação adicional sobre a amostragem na Tabela 1) em duas caixas isotérmicas de esferovite (Dimensão interior das caixas: 27,5 cm x 23,5 cm x 20,8 cm; volume: 13.442 cm<sup>3</sup>) (Figura 12) e expostas a duas temperaturas “Ambiente” (Caixa A) temperatura ambiente e “Refrigerada” (Caixa B)

contendo dois acumuladores térmico (17 cm x 9 cm x 3 cm) (Figura 12), colocados previamente no congelador num período superior a 24h.

As caixas foram mantidas seladas (com ajuda de fita-cola) durante 48h e mantidas no laboratório de forma a simular o período de transporte. Ao longo deste período foram registadas as variações da temperatura e da concentração de CO<sub>2</sub> resultante da respiração, recorrendo a um sensor/ data logger (Wöhler® CDL 210) previamente programado para registar informações a cada minuto. Os sensores são capazes de medir quantidade de CO<sub>2</sub> apenas nas concentrações entre 0-10.000 ppm pelo que quando esse valor é ultrapassado o sensor para de registar dados.

Após o período de 48h foi analisado o estado das lapas, e por sua vez classificadas em 4 categorias: “Vivas” – movimentos ativos do pé e dos tentáculos cefálicos e reação rápida ao toque; “Moribundas” – movimento do pé e tentáculos cefálicos ausente ou reduzido e reação lenta ao toque; “Mortas” – não existindo qualquer reação antes e após contacto; e por fim “Feridas” – cuja causa da morte estaria associada a uma ferida visível, provavelmente durante a captura. Esta metodologia foi utilizada para ambas as espécies (*Patella candei* e *Patella aspera*) e repetida três vezes para cada espécie.



**Figura 12** – À esquerda caixa utilizadas durante a experiência com o sensor Wöhler® CDL 210 no seu interior. À direita, acumulador térmico utilizado na experiência de forma a diminuir a temperatura no interior da caixa à temperatura “Refrigerada”.

**Tabela 1** – Informações adicionais em relação às amostragens das lapas.

	<i>P. candei</i>			<i>P. aspera</i>		
	1º Réplica	2º Réplica	3º Réplica	1º Réplica	2º Réplica	3º Réplica
Local	Castelo Branco	Feteira	Feteira	Castelo Branco	Salão	Salão
Temperatura (Ar)	21,5°C	22,5 °C	22,5 °C	23 °C	24 °C	24 °C
Temperatura (Mar)	-	-	-	21 °C	22 °C	22 °C
Data	11/06/2015	19/06/2015	23/06/2015	08/07/2015	14/07/2015	22/07/2015
Hora	±16h00	±11h00	±14h30	±11h00	±11h00	±17h00

Para se comparar a acumulação de CO<sub>2</sub> dentro das caixas ao longo do tempo foi necessário uniformizar os dados obtidos. Para isso transformou-se os dados obtidos em CO<sub>2</sub>/ 100 g de biomassa.

Os dados originais da temperatura e CO<sub>2</sub> foram registadas minuto-a-minuto calcularam-se as médias horárias. Os dados das três réplicas, foram utilizados para calcular os desvio padrão.

## **2.5. Variação da cor ao longo do tempo**

Analisou-se a variação da cor ao longo do tempo com o objetivo de determinar-se se a cor poderia ser um parâmetro a ser utilizado na avaliação de frescura das lapas. Através de uma fotografia digital diária (durante 16 dias) foi possível observar se existia ou não, variação da cor ao longo do tempo, nos mesmos indivíduos.

### 3. Resultados

#### 3.1. Relações Peso-Comprimento

Os valores de peso e tamanho das amostras de lapas recolhidas podem ser observados na Tabela 2 (*P. candei*) e Tabela 3 (*P. aspera*). Quando comparadas verificamos que as médias de *P. candei* são bastante inferiores às de *P. aspera* em todos os parâmetros. O que era esperado tendo em conta que a *P. aspera* atinge maiores dimensões do que a *P. candei*.

A relação peso total-comprimento máximo da concha (Figura 13 – A e B) obteve as seguintes equações potenciais:

$$P. \text{ candei: } P \text{ (g)} = 0,0016 \times C \text{ (mm)}^{2,1547}$$

$$P. \text{ aspera: } P \text{ (g)} = 0,00005 \times C \text{ (mm)}^{3,2033}$$

Ambas as equações apresentaram uma boa correlação, embora menor em *P. candei* ( $R^2=0,6602$ ) quando comparada com *P. aspera* ( $R^2=0,8642$ ) (Figura 13 – A e B).

A relação peso edível-comprimento (Figura 13 – C e D) obteve as seguintes equações potenciais:

$$P. \text{ candei: } P \text{ (g)} = 0,0006 \times C \text{ (mm)}^{2,2137}$$

$$P. \text{ aspera: } P \text{ (g)} = 0,00005 \times C \text{ (mm)}^{2,8946}$$

Os resultados da relação peso edível-comprimento (Figura 13 – C e D), apresentaram uma correlação elevada, apesar de serem ligeiramente inferiores quando comparados com os valores da correlação na relação peso total-comprimento máximo, tanto para *P. candei* ( $R^2=0,554$ ) como para *P. aspera* ( $R^2=0,8342$ ).

**Tabela 2** – Parâmetros das características da amostra de *P. candei* (n=498).

Parâmetros	Peso total (g)	Peso da concha (g)	Peso da biomassa (g)	Comprimento máximo (mm)
Máximo	11,4	6,27	5,13	46,1
Mínimo	1,26	0,71	0,46	23,5
Moda	2,44	1,59	0,93	31,8
Média	2,73	1,49	1,25	30,93
Desvio Padrão	1,05	0.59	0,50	3,76

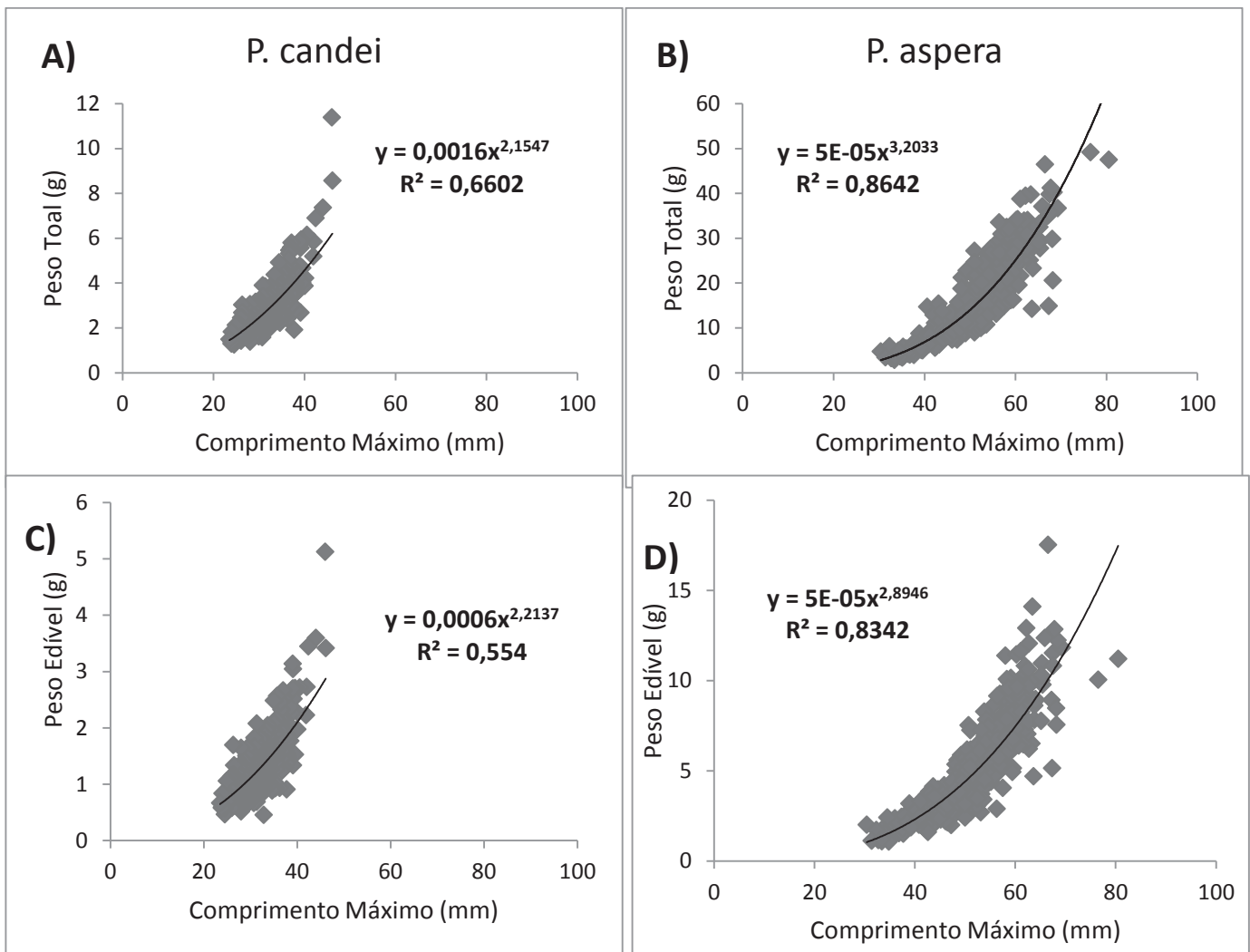
**Tabela 3** – Parâmetros das características da amostra de *P. aspera* (n=389).

Parâmetros	Peso total (g)	Peso da concha (g)	Peso da biomassa (g)	Comprimento máximo (mm)
Máximo	49,23	39,17	17,55	80,50
Mínimo	2,90	1,79	1,09	30,40
Moda	29,67	19,27	2,75	58,00
Média	17,55	12,15	5,40	51,69
Desvio Padrão	9,31	6,69	2,83	8,72

Comparou-se as retas (Tabela 4) das duas espécies para as diferentes relações, e em ambos os casos (peso total-comprimento máximo da concha e peso edível-comprimento máximo da concha) obteve-se para um grau de confiança de 95 % um p-value extremamente baixo 0,000(0). O que nos leva a rejeitar a  $H_0$ : Reta *P. candei* = Reta de *P. aspera*.

**Tabela 4** – Parâmetros do teste T de ambas as espécies.

	Peso total-comprimento máximo		Peso edível-comprimento máximo	
	<i>P. candei</i>	<i>P. aspera</i>	<i>P. candei</i> <i>mmnn</i>	<i>P. aspera</i>
<b>n</b>	498	389	489	389
<b>b</b>	2.1547	3.2033	2.2137	2.8946
<b>S<sub>y-x</sub></b>	0.179910276	0.227028	0.231149127	0.230663
<b>S<sub>x</sub></b>	0.116254283	0.178534	0.116254283	0.178534
<b>S<sub>b</sub></b>	0.069417475	0.064557	0.089187728	0.06559
<b>S<sub>b1-b2</sub></b>	0.094796536		0.110709336	
<b>t</b>	-215.7265971		-28.85287925	
<b>df</b>	883		883	
<b>alpha</b>	0.05		0.05	
<b>p-value</b>	0.00000000		0.00000000	
<b>t-crit</b>	1.962654212		1.962654212	



**Figura 13** - Relação entre peso total-comprimento máximo da concha e o peso edível - comprimento máximo: **A)** Relação peso total-comprimento máximo da concha *P. candei*; **B)** Relação peso total-comprimento máximo da concha para *P. aspera*; **C)** Relação peso edível -comprimento máximo da concha para *P. candei*; **D)** Relação peso edível -comprimento máximo da concha para *P. aspera*. *P. candei* (n=498) e *P. aspera* (n=389).

## **3.2. Prova Organolética**

No geral, a pontuação de todos os parâmetros possui uma tendência clara para diminuir ao longo do tempo, tanto em *P. candei* (Figura 14 – A, B, C, D, E, F e G) como em *P. aspera* (Figura 17 – A, B, C, D, E, F e G), sendo esta uma tendência mais visível na última espécie. Isto indica que os parâmetros selecionados são bons representantes da qualidade/ frescura e da sua degradação ao longo do tempo como podemos observar na Figura 16 (*P. candei*) e na Figura 19 (*P. aspera*).

Não houve uma rejeição clara em função do tempo de refrigeração, com exceção das lapas com 6 dias e da lapa pré-congelada (Figura 14 – D), que foram os dois casos em que o número de “Nãos” superou o número de “Sins” no parâmetro “Comestível”. Curiosamente, as lapas com 6 dias de refrigeração, tiveram um número elevado de “Nãos”, provavelmente por terem sido as últimas a ser analisadas (Figura 15), o que induziu os avaliadores a dar uma pior pontuação. Nas lapas que foram congeladas frescas durante 24h e descongeladas antes da prova também obtiveram número elevado de rejeições, provavelmente por não apresentarem movimentos.

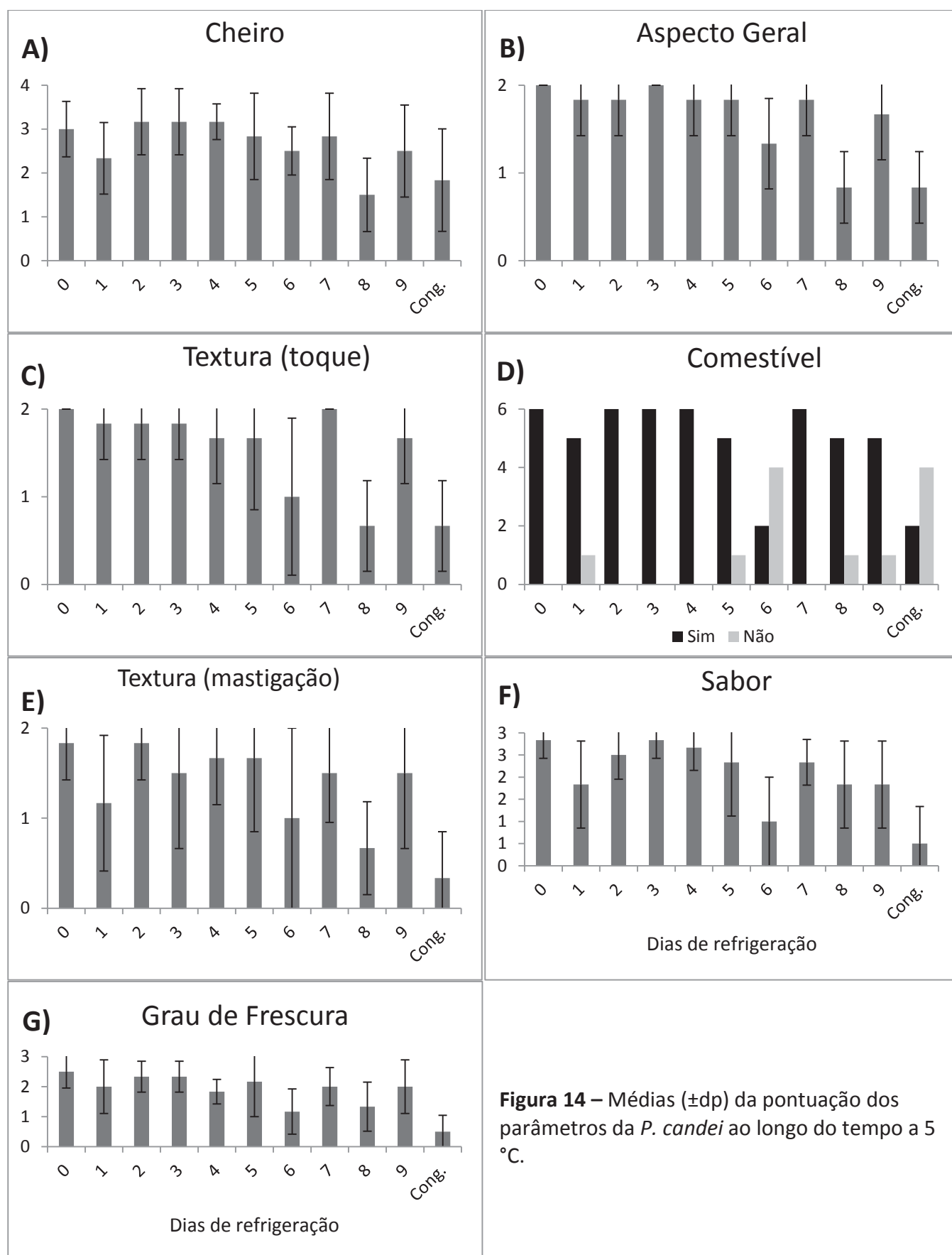
Outro aspeto interessante foi o elevado número de “Sins” no parâmetro “Comestível” para as lapas com mais de 8 dias de refrigeração (Figura 14 – D). A razão para este valor pode estar relacionada com o fato de terem sido avaliadas no início da prova (2º e 4º lugar) (Figura 15), podendo ter induzido os avaliadores a provar mas depois a dar uma má pontuação nos restantes parâmetros, o que reforça a ideia de que a escolha dos parâmetros ter sido correta (Figura 16).

Em relação à prova da *P. aspera* (Figura 17 – A, B, C, D, E, F e G), verificou-se um possível dia de rejeição. Sendo que a partir do 5º dia de refrigeração o número de “Nãos” já, no mínimo, igualou o número de “Sins” no parâmetro “Comestível” (Figura

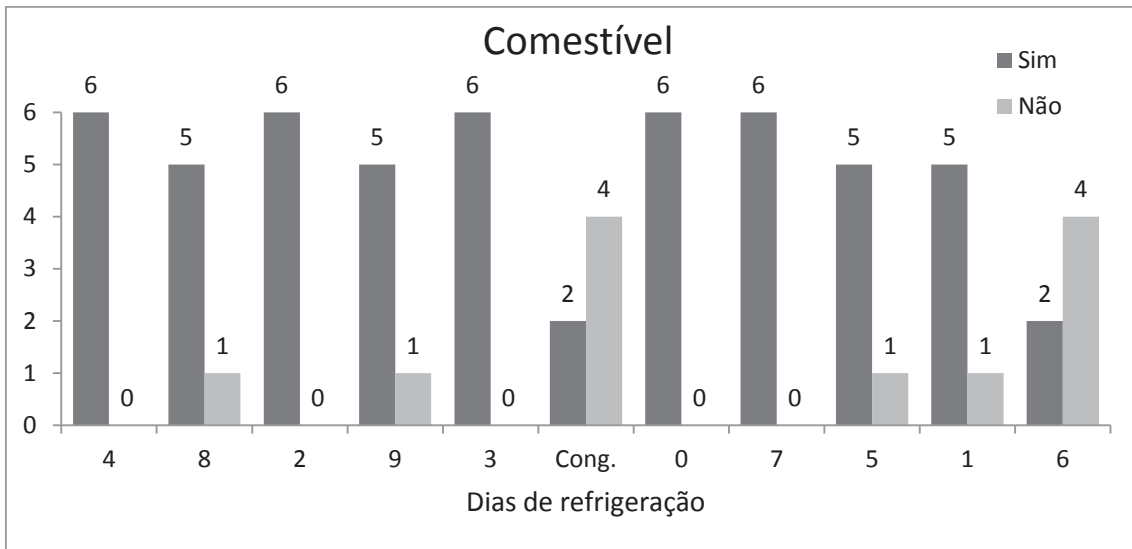
17 – D) (devido a falta de dados de um assessor não foi possível saber se o número é igual ou já superior). Curiosamente as lapa com 3 dias também apresentam o número de “Nãos” e “Sins” igual mas isto poderá estar relacionado com o fato deste dia ser analisado logo a seguir às lapa com 9 dias de refrigeração (Figura 18) o que poderá ter condicionado a sua avaliação. A lapa congelada antes da avaliação apesar de se encontrar em boas condições para alimentação foi mal classificada, provavelmente por não apresentar movimentos.

Em vários parâmetros (*e.g.* frescura, aspeto geral, cheiro) notou-se variabilidade nas classificações não relacionadas com os dias de refrigeração (Figura 16 e Figura 19), o que demonstra que estas características são geralmente consideradas de forma intuitiva e que por isso há a necessidade de se estabelecer parâmetros claros para definir estes aspetos.

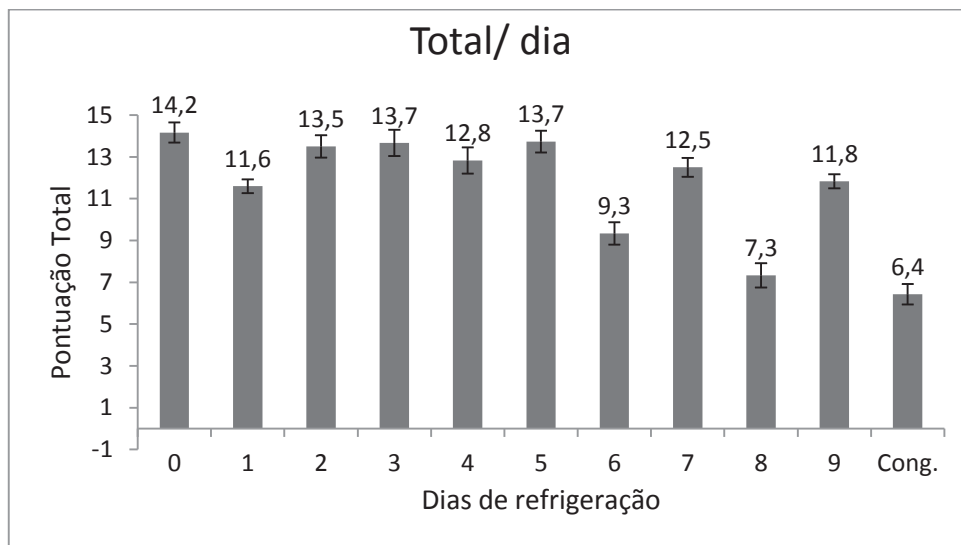
### 3.2.1. Análise Sensorial – *P. candei*



**Figura 14** – Médias ( $\pm$ dp) da pontuação dos parâmetros da *P. candei* ao longo do tempo a 5 °C.

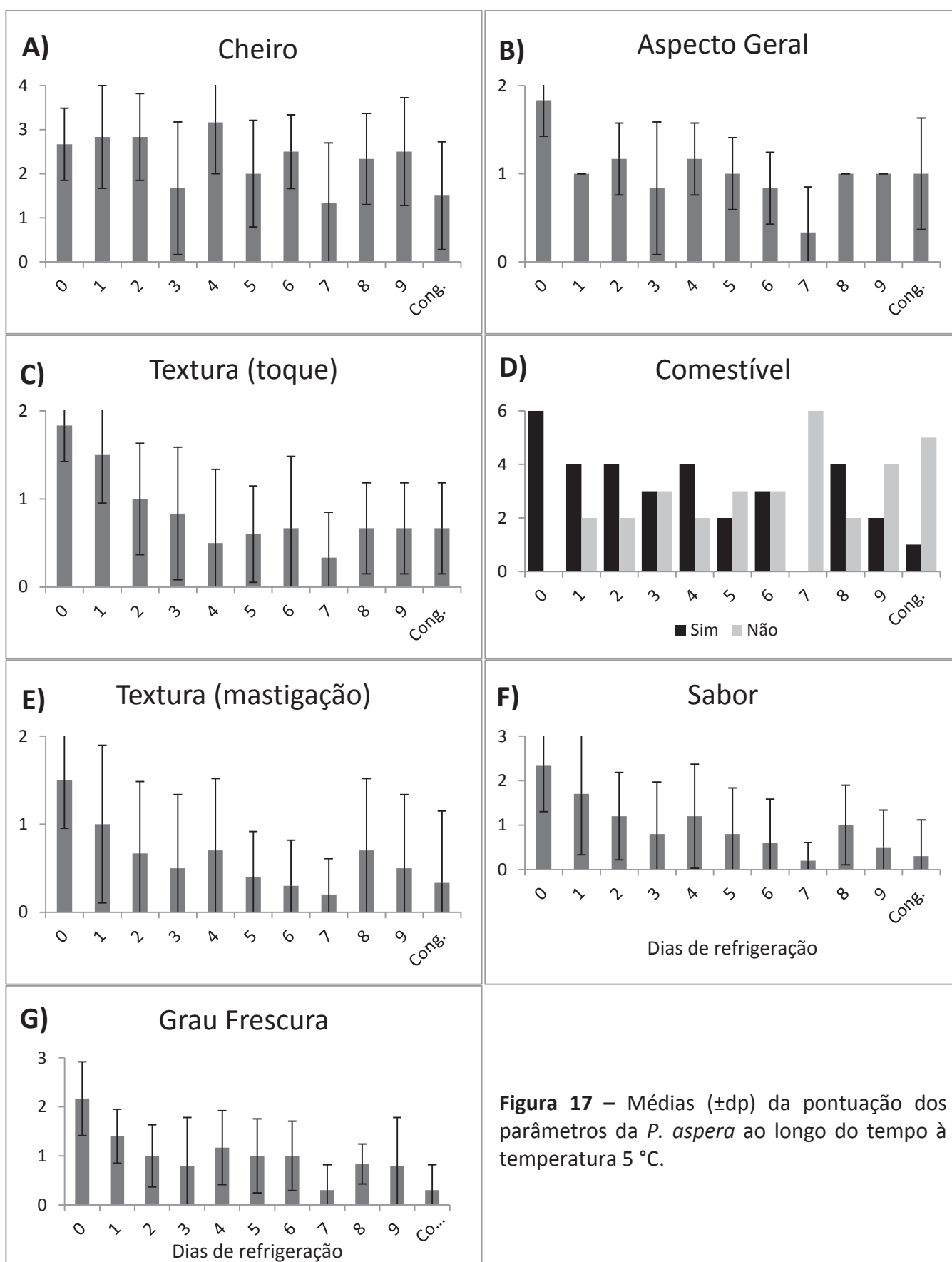


**Figura 15** – Resultados do parâmetro “Comestível” da *P. candei* pela ordem de avaliação dos avaliadores.

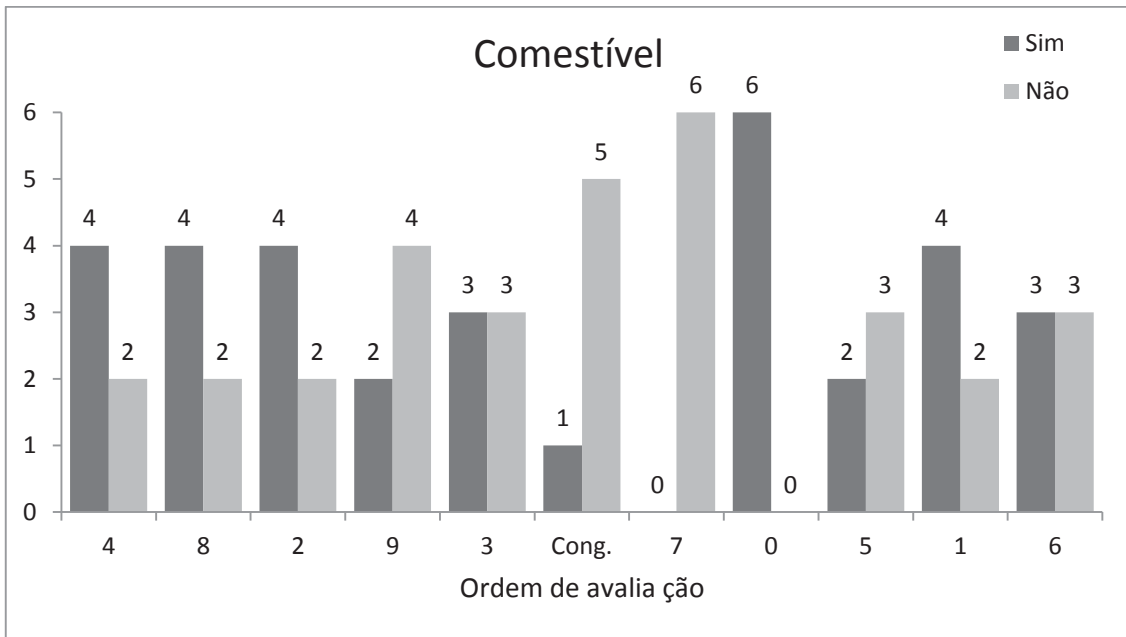


**Figura 16** - Soma das médias ( $\pm dp$ ) de todos os parâmetros da *P. candei* e a sua variação ao longo do tempo de refrigeração a 5 °C.

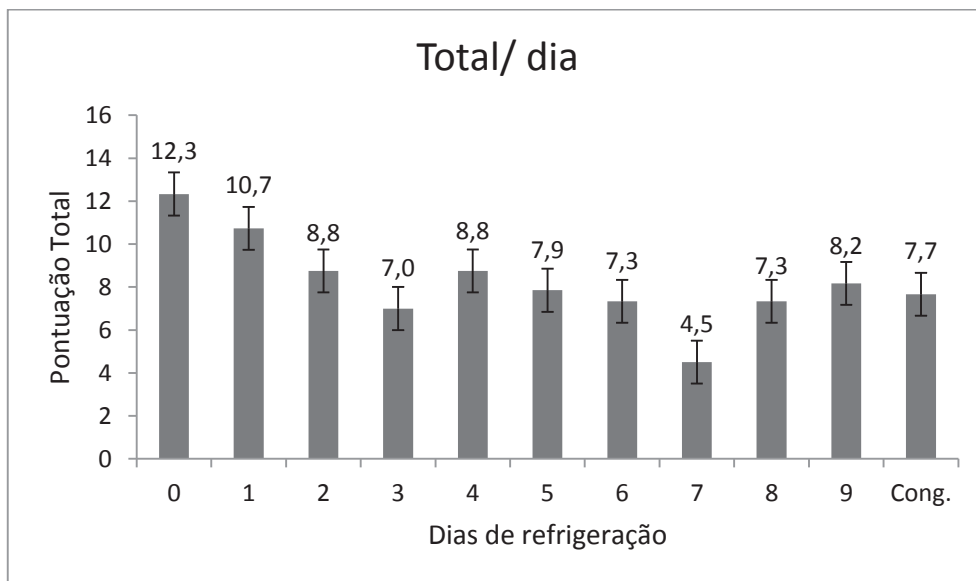
### 3.2.2. Análise Sensorial – *P. aspera*



**Figura 17** – Médias ( $\pm dp$ ) da pontuação dos parâmetros da *P. aspera* ao longo do tempo à temperatura 5 °C.



**Figura 18** – Resultados do parâmetro “Comestível” da *P. aspera* pela ordem de avaliação dos avaliadores.



**Figura 19** – Soma das médias ( $\pm dp$ ) de todos os parâmetros da *P. aspera* e a sua variação ao longo do tempo de refrigeração a 5 °C.

### **3.3. Desenvolvimento do Método de Índice de Qualidade (QIM)**

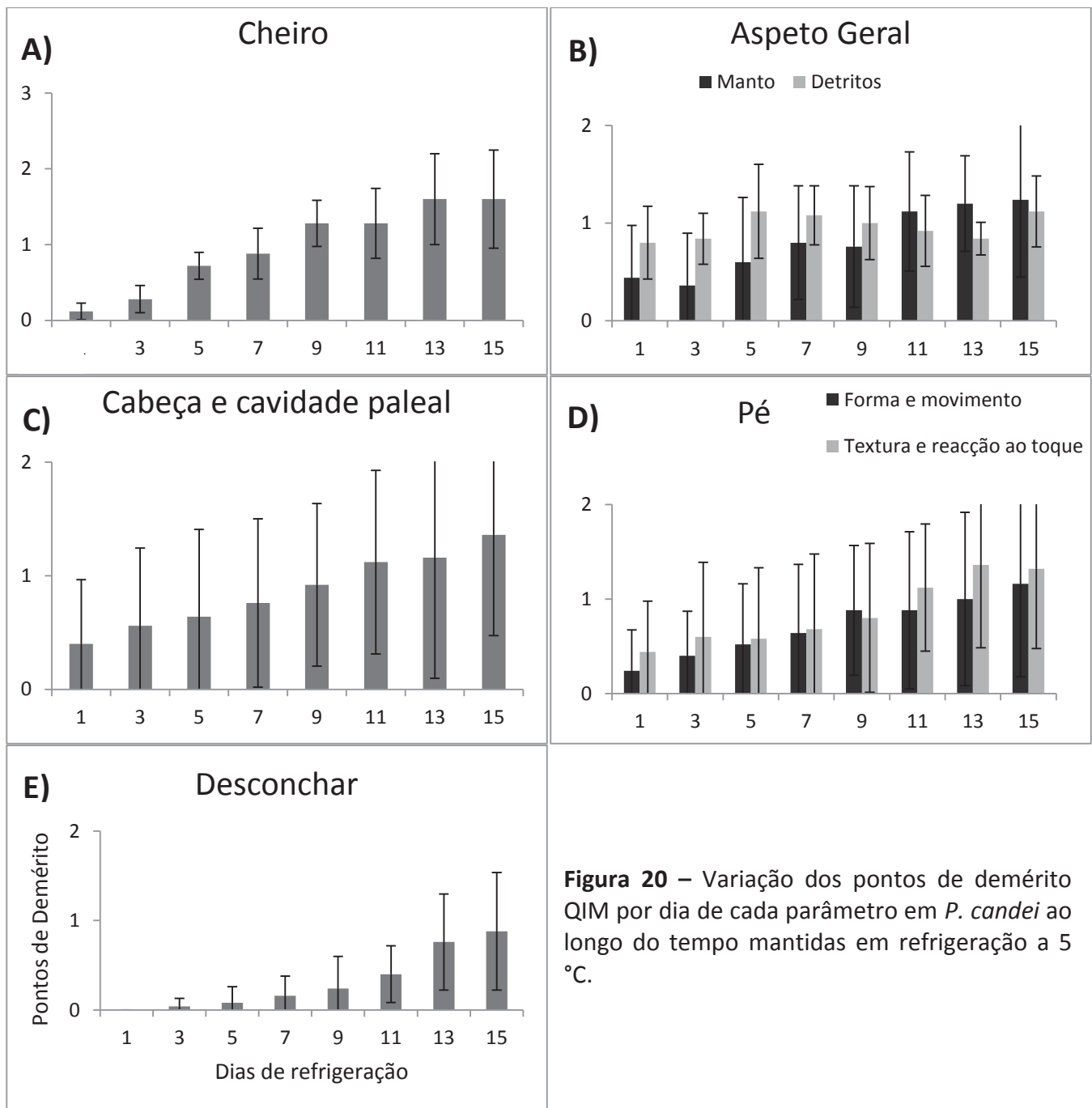
Em relação aos resultados obtidos para *P. candei* é visível o aumento constante dos pontos de demérito para cada parâmetro (Figura 20 – A, B, C, D e E). O único parâmetro que não aumenta constantemente foi o “Detritos” (Figura 20 – B), provavelmente pela remoção dos mesmos, devido ao constante manuseamento das lapas. Mesmo assim o valor volta a subir nos últimos dias. Em *P. candei* o somatório dos pontos de demérito correlacionam-se bem com o tempo de refrigeração através de uma regressão linear, o que é demonstrado no elevado valor de correlação obtido ( $R^2= 0,997$ ) (Figura 22), pelo que nenhum parâmetro foi considerado dispensável. O QIM coloca o tempo de rejeição de *P. candei* refrigerada a partir dos 15 dias visto que o valor do parâmetro “Cheiro” está próximo mas ainda não alcançou a categoria “Pouco Agradável” (2 pontos de demérito) (Figura 20 – A).

*P. aspera*, quando comparada com *P. candei*, apresenta uma subida mais rápida dos pontos de demérito em cada parâmetro (Figura 23 - A, B, C, D e E). Novamente o parâmetro “Detritos” (Figura 23 – B) apresenta uma descida na parte final do período de avaliação, provavelmente pela mesma razão dada anteriormente. Ao contrário de *P. candei* é possível determinar o tempo de rejeição, que se estabelece após 7 dias de refrigeração, isto porque o parâmetro “Cheiro” atinge a categoria “Pouco agradável” (3 pontos de demérito) (Figura 23 – A). Em *P. aspera* o somatório dos pontos de demérito correlacionam-se bem com o tempo de refrigeração através de uma regressão logarítmica, o que é demonstrado no elevado valor de correlação obtido ( $R^2 = 0,9801$ ) (Figura 25), pelo que nenhum parâmetro foi considerado dispensável.

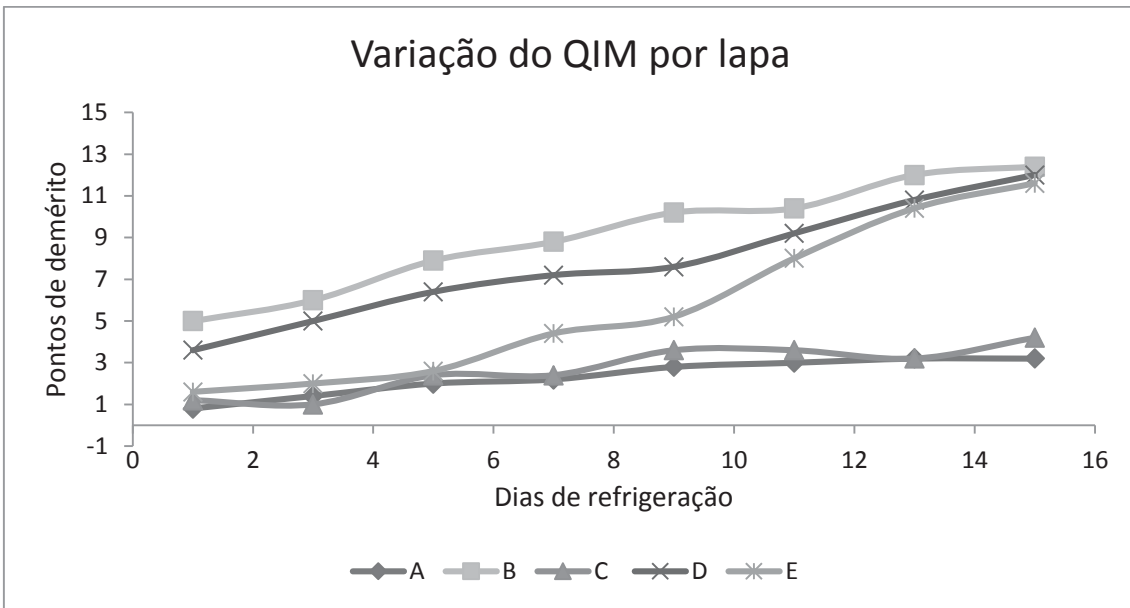
*P. candei* apresenta grande variabilidade individual (Figura 21), porque há duas lapas (A e C) cujo os valores só apresentaram subidas nos últimos dias. Apesar de serem lapas capturadas no mesmo dia, mesmo local e sujeitas as mesmas condições, demonstraram respostas diferentes ao tempo de refrigeração, que acaba por condicionar a média dos parâmetros. Em *P. aspera* (Figura 24) não se verifica esta variação (Figura 23).

Verificou-se que o parâmetro cheiro parecer ser mais fácil de aplicar a *P. aspera* comparativamente a *P. candei*, normalmente por serem lapas de maior tamanho e terem algas associadas à concha, tornando-se mais fácil classificar esse parâmetros nas categorias pré-estabelecidas, por este motivo esta categoria apresenta mais categorias em *P. aspera*.

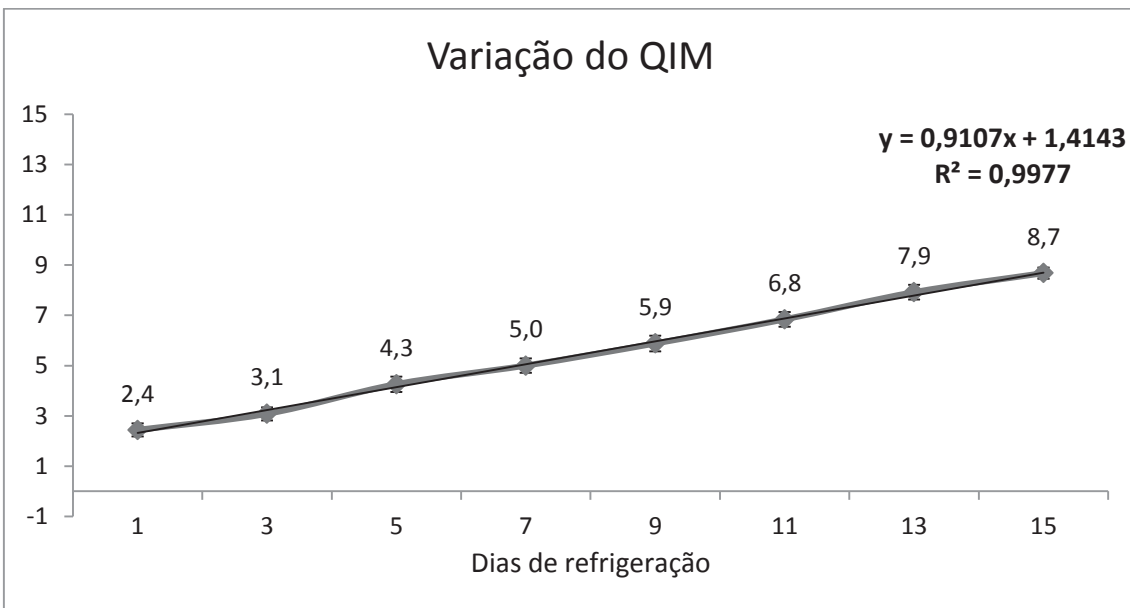
### 3.3.1. QIM - *P. candei*



**Figura 20** – Variação dos pontos de demérito QIM por dia de cada parâmetro em *P. candei* ao longo do tempo mantidas em refrigeração a 5 °C.

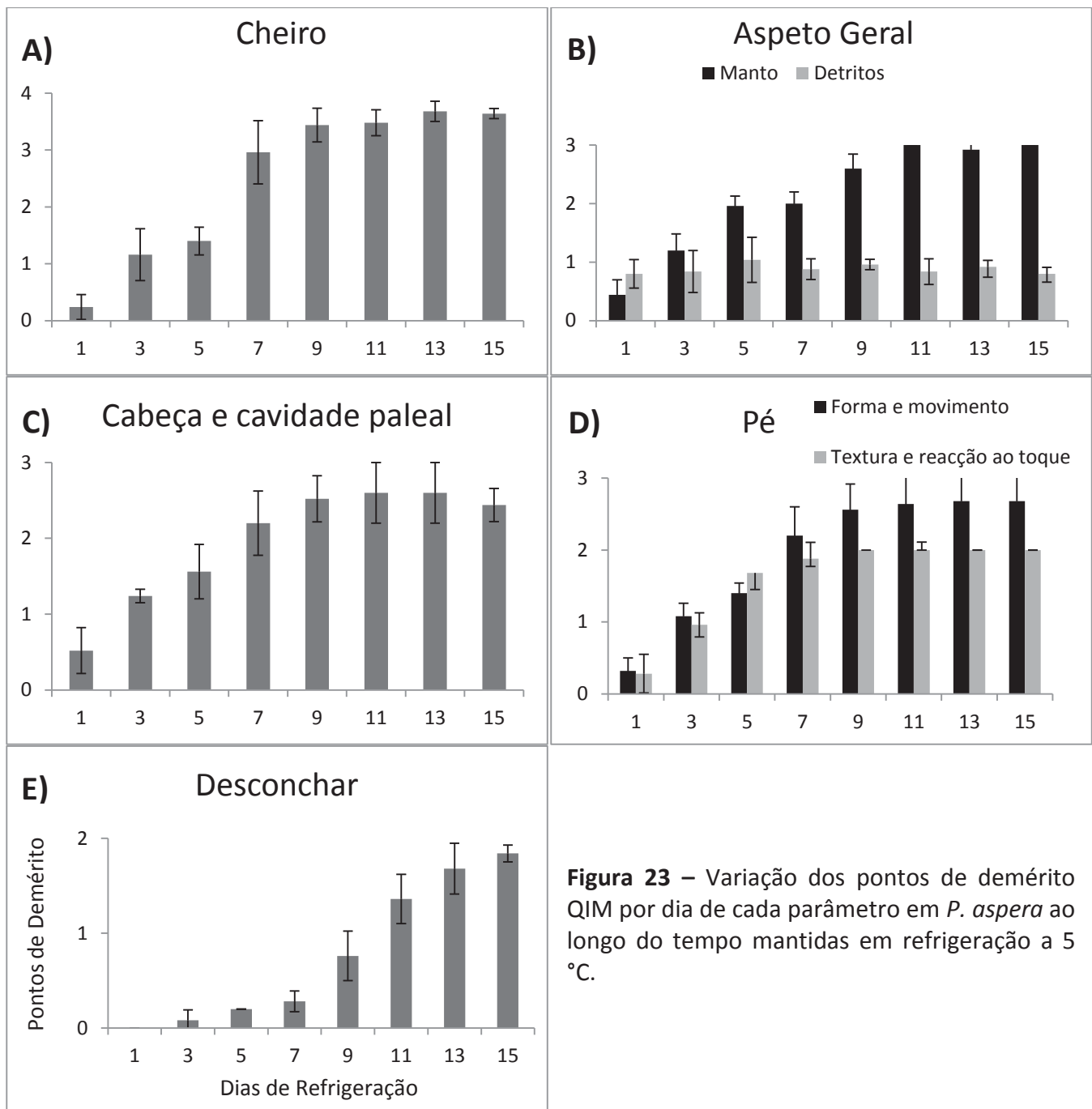


**Figura 21** – Variação dos pontos de demérito QIM em cada lapa (*P. candei*) ao longo do tempo de refrigeração a 5 °C.

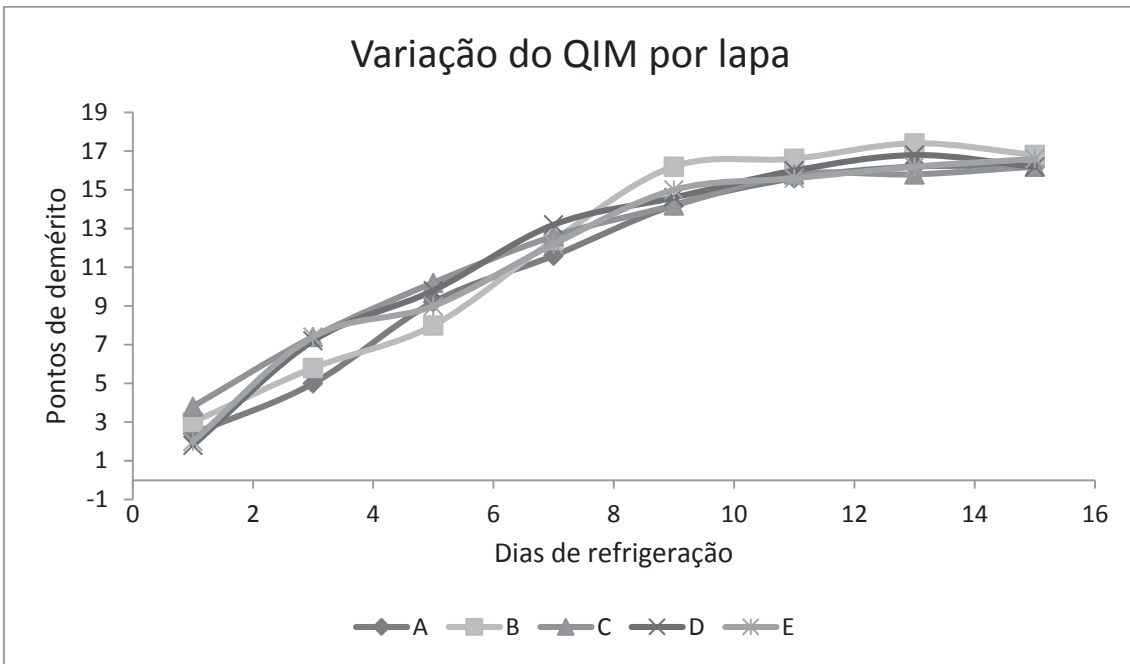


**Figura 22** - Variação do somatório das médias ( $\pm dp$ ) dos pontos de demérito QIM em *P. candei* ao longo do tempo de refrigeração a 5 °C (n=5) pelos 5 avaliadores.

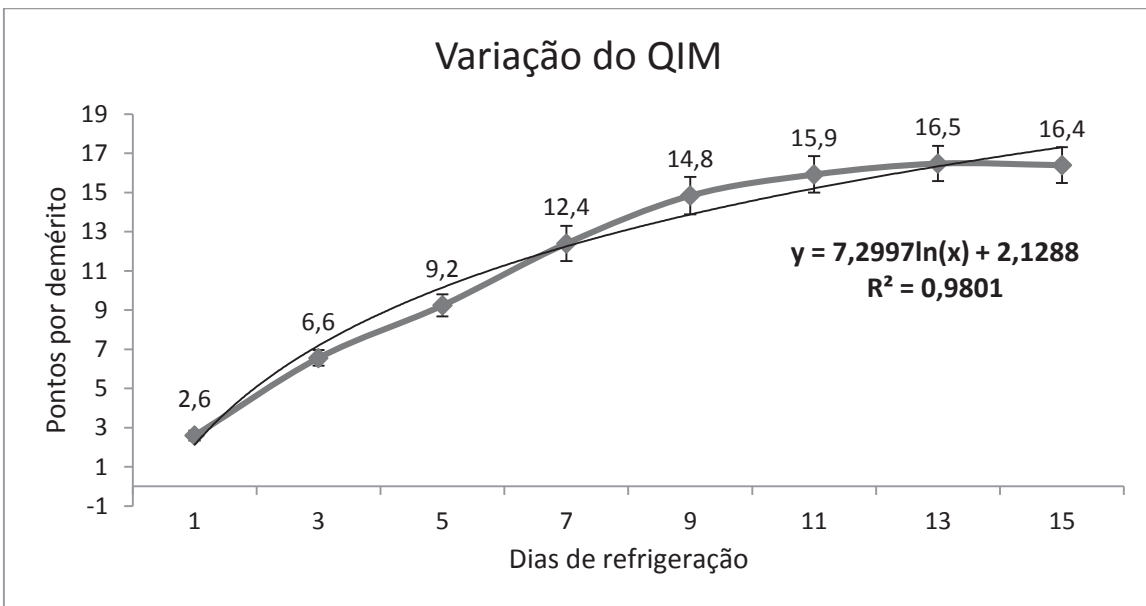
### 3.3.2. QIM - *P. aspera*



**Figura 23** – Variação dos pontos de demérito QIM por dia de cada parâmetro em *P. aspera* ao longo do tempo mantidas em refrigeração a 5 °C.



**Figura 24** – Variação dos pontos de demérito QIM em cada lapa (*P. aspera*) ao longo do tempo do tempo de refrigeração a 5 °C.



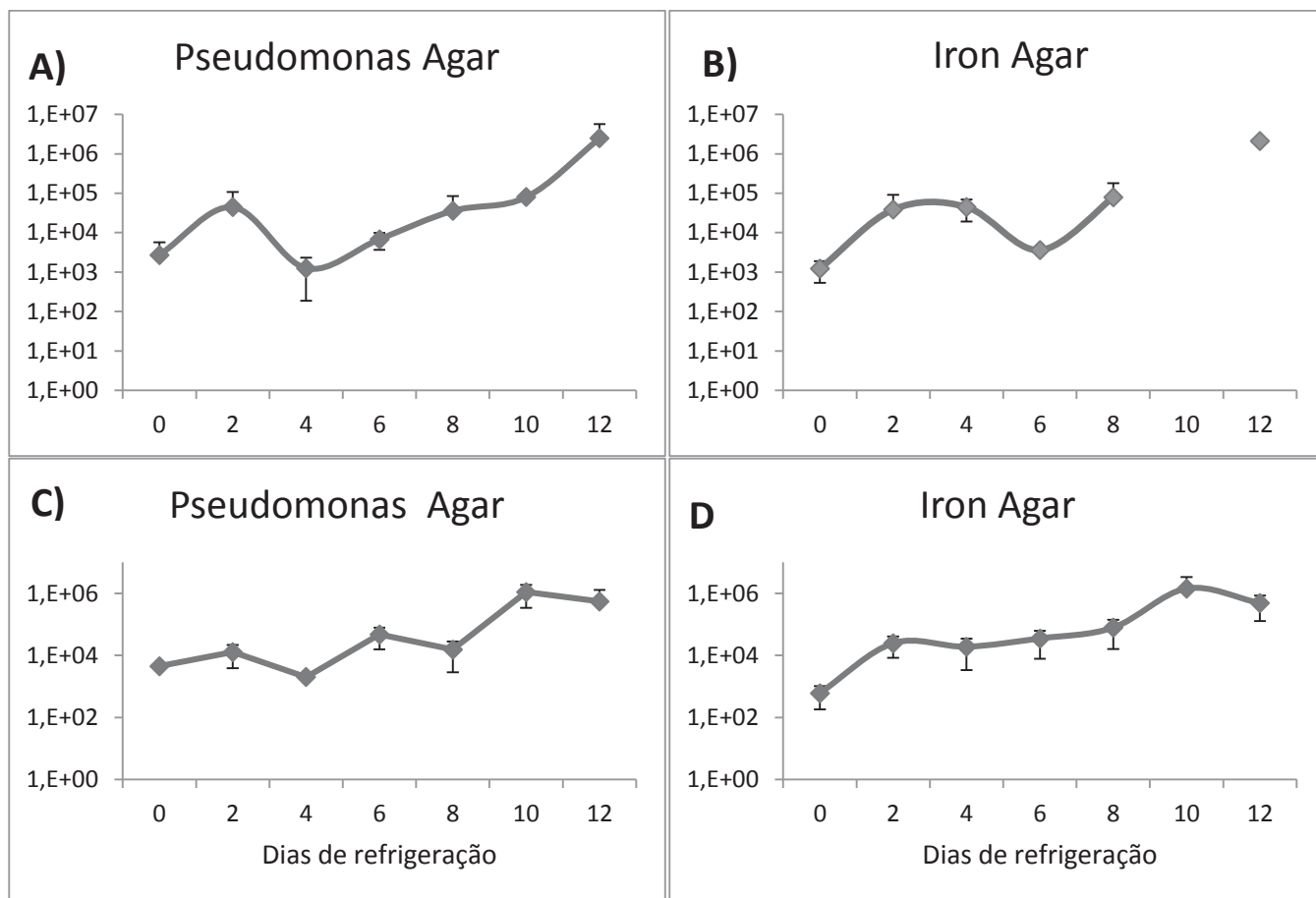
**Figura 25** – Variação do somatório das médias ( $\pm dp$ ) dos pontos de demérito QIM em *P. aspera* ao longo do tempo do tempo de refrigeração a 5 °C (n=5) pelos 5 avaliadores.

### **3.3.3. Análise Bacteriológica**

As contagens de microrganismos mostram uma tendência geral para aumentar em número ao longo do tempo, tanto de *Pseudomonas* (Figura 26 – A e C) como de bactéria produtoras de H<sub>2</sub>S (Figura 26 – B e D).

Em *P. candei* o número inicial para *Pseudomonas* (Figura 26 – A) está ligeiramente acima dos 10<sup>3</sup> UFC/ ml alcançando o seu máximo no final do período de experiência (12 dias) com um valor de 10<sup>6</sup> UFC/ ml. A contagem de bactérias produtoras de H<sub>2</sub>S (Figura 26 – B) apresenta o mesmo perfil, sendo o valor inicial de 10<sup>3</sup> UFC/ ml e o final também de 10<sup>6</sup> UFC/ ml. No entanto, no dia 10 do IA em *P. candei* (Figura 26 – B) não houve formação de colônias, provavelmente em consequência de algum problema na inoculação ou do meio em si, porque ao observamos o dia anterior e posterior, mostra uma tendência de subida do número.

Em *P. aspera* o número de *Pseudomonas* (Figura 26— C) encontra-se bem acima do 10<sup>3</sup> UFC/ ml e alcança o seu máximo de 10<sup>6</sup> UFC/ ml ao 10º dia, diminui no último dia para 10<sup>5</sup> UFC/ ml. A contagem de bactérias produtoras de H<sub>2</sub>S (Figura 26 – D) apresenta um comportamento semelhante iniciando com um valor ligeiramente abaixo dos 10<sup>3</sup> UFC/ ml, atingindo o máximo de 10<sup>6</sup> UFC/ ml ao 10º dia, sofrendo também uma descida para 10<sup>5</sup> UFC/ ml no 12º dia.



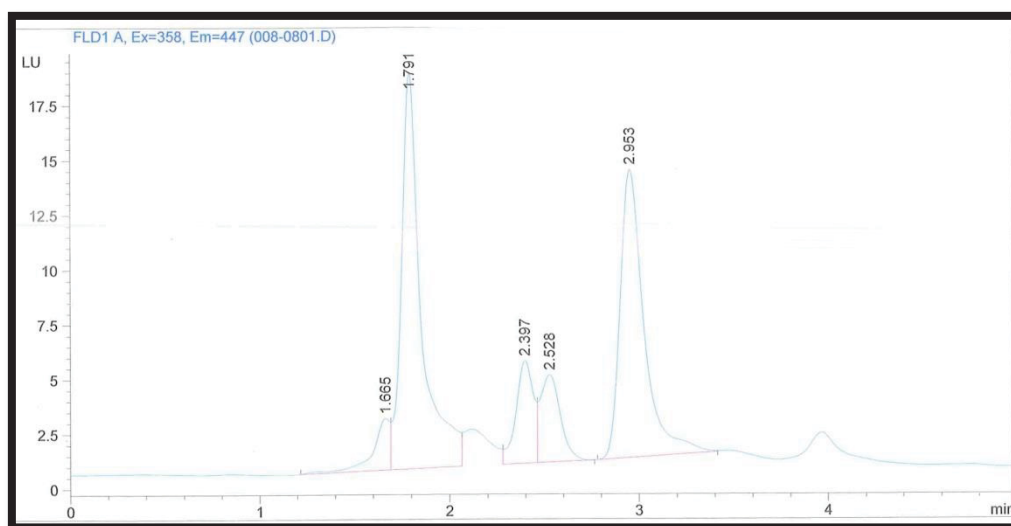
**Figura 26** – Variação do número de colônias de bactérias ao longo do tempo de refrigeração. A) Variação do número de *Pseudomonas* em *P. candei*; B) Variação do número de bactérias produtoras de H<sub>2</sub>S em *P. candei*; C) Variação do número de *Pseudomonas* em *P. aspera*; D) Variação do número de bactérias produtoras de H<sub>2</sub>S em *P. aspera*.

### 3.3.4. Histamina

Os resultados obtidos no HPLC são fornecidos em forma de gráfico (Figura 27). Sendo necessário utilizar a área do pico de absorção de histamina que se localiza aos  $\pm 3$  min, recorrendo à seguinte equação:

$$\text{Teor de histamina em ppm} = 0,1716 + 0,0256 \times (\text{área do pico})$$

Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 5. Só se obteve um resultado positivo ao 14º dia e na *P. candei* com uma média de 3 ppm.



**Figura 27** – Resultado da concentração de histamina obtido no HPLC para o 14º.

**Tabela 5** – Variação da concentração de Histamina (ppm) na *P. candei* e *P. aspera* ao longo do tempo.

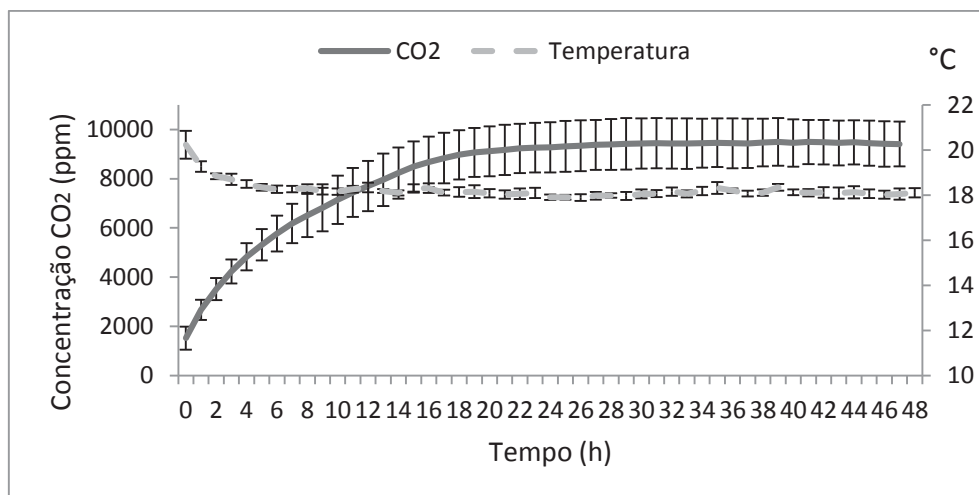
	Dias		0	2	4	6	8	10	12	14
	<i>P. candei</i>	Concentração de Histamina (ppm)	Média	0	0	0	0	0	0	0
Desvio Padrão			0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. aspera</i>	Dias		0	2	4	6	8	10	12	14
	Concentração de Histamina (ppm)	Média	0	0	0	0	0	0	0	0
Desvio Padrão		0	0	0	0	0	0	0	0	0

### 3.4. Transporte de Lapas Vivas (Variação de CO<sub>2</sub> e Temperatura)

#### 3.4.1. P. candei

##### 3.4.1.1. Variação do CO<sub>2</sub> e Temperatura na Caixa “Ambiente”

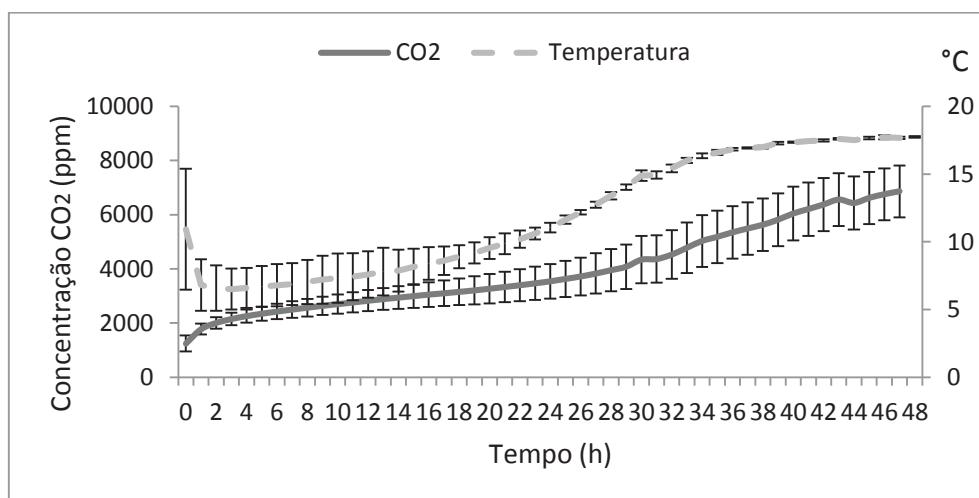
Ao analisarmos a variação da concentração de CO<sub>2</sub> e da temperatura ao longo do tempo de transporte em *P. candei* à temperatura “Ambiente” (Figura 28) verificamos que a concentração de CO<sub>2</sub> na primeira hora atinge os 700 ppm e sobe lentamente até que a partir das 18h começa a estabilizar atingindo o máximo às 39h de 9495 ppm. A temperatura começa a 20 °C mas vai descendo até estabilizar aos 18 °C às 5h, mantendo-se assim até ao final da experiência.



**Figura 28** – Média ( $\pm$  dp) da variação da concentração de CO<sub>2</sub>/ 100 g e da temperatura, dentro das caixas, durante as três réplicas da *P. candei* à temperatura “Ambiente” ao longo de um período de 48h.

### 3.3.1.2. Variação do CO<sub>2</sub> e Temperatura na Caixa “Refrigerada”

Na caixa “Refrigerada” (Figura 29) a subida é mais lenta, começando nos 700 ppm atingindo o máximo de 6967 ppm apenas às 48h mas com um valor bem menor do que à temperatura ambiente. A temperatura na primeira hora desce dos 20 °C até aos 7 °C, começando a subir lentamente ao longo do tempo até chegar aos 18 °C no final da experiência., que é a temperatura onde se manteve as caixas.

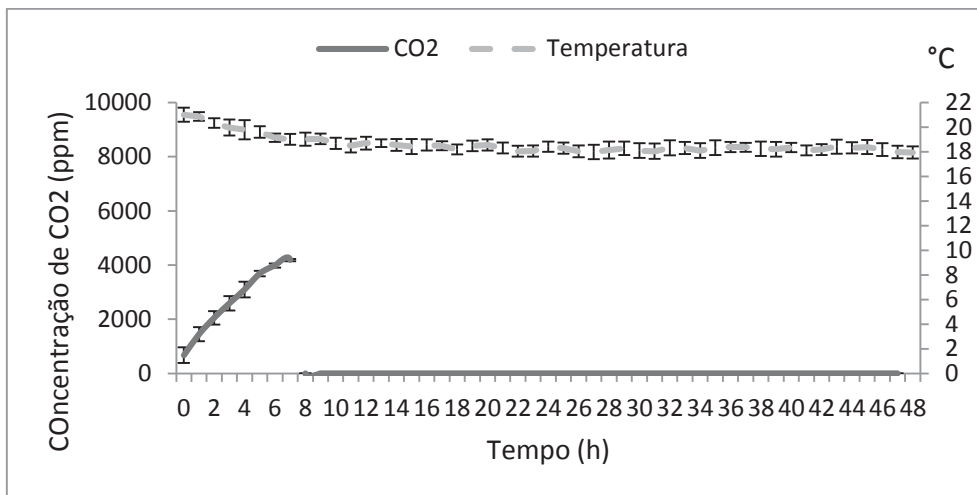


**Figura 29** – Média ( $\pm$  dp) da variação da concentração de CO<sub>2</sub>/ 100 g e da temperatura, dentro das caixas, durante as três réplicas da *P. candei* à temperatura “Refrigerada” ao longo de um período de 48h.

### 3.4.2. *P. aspera*

#### 3.4.2.1. Variação do CO<sub>2</sub> e Temperatura na Caixa “Ambiente”

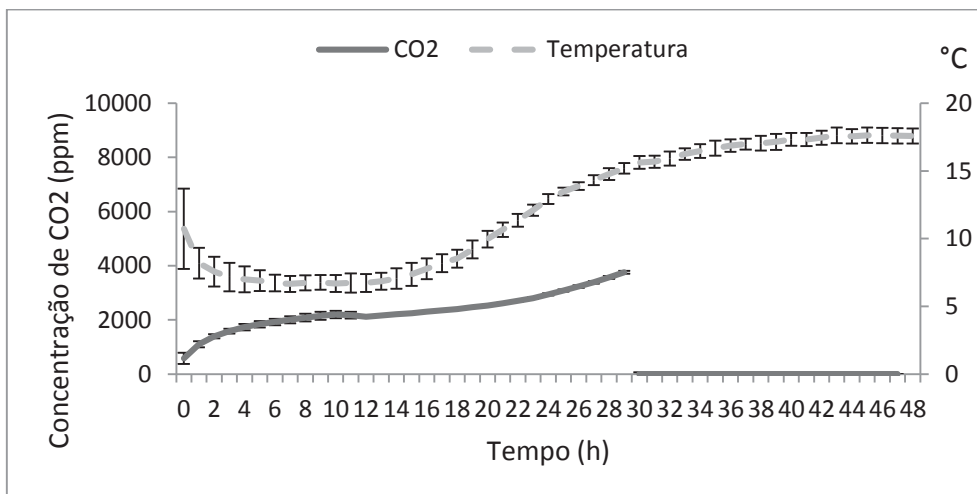
Em *P. aspera* a variação de CO<sub>2</sub> à temperatura “Ambiente” (Figura 30) atinge o seu máximo de 4189 ppm 7h após o início da experiência, hora a partir da qual não temos mais dados pela razão anteriormente descrita (ver Material e Métodos). A temperatura começa nos 21°C mas à semelhança do que aconteceu na *P. candei* vai descendo até atingir os 18 °C às 18h mantendo-se assim até ao final.



**Figura 30** – Média ( $\pm dp$ ) da variação da concentração de CO<sub>2</sub>/ 100 g, dentro das caixas, durante as três réplicas da *P. aspera* à temperatura “ambiente” ao longo de um período de 48h.

### 3.4.2.2. Variação do CO<sub>2</sub> e Temperatura na Caixa “Refrigerada”

Na temperatura “Refrigerada” (Figura 31), à semelhança do que se passou na outra espécie, apresentou também uma curva de acumulação de CO<sub>2</sub>, embora com menor declive levando a que atinge-se um valor máximo de apenas 3752 ppm às 30h.



**Figura 31** – Média ( $\pm dp$ ) da variação da concentração de CO<sub>2</sub>/ 100 g e da temperatura, dentro das caixas, durante as três réplicas da *P. aspera* à temperatura “Refrigerada” ao longo de um período de 48h.

Ao compararmos a acumulação de CO<sub>2</sub> das lapas a primeira suposição é que a *P. aspera* tem uma produção bem superior do que a *P. candei* porque os valores ultrapassam os 10.000 ppm logo após 7h na temperatura “Ambiente” e após 30h na temperatura “Refrigerada”. Contudo, ao observarmos os dados com pormenor, uniformizando os dados (CO<sub>2</sub>/ 100 g) e fazendo a média da produção/ hora (subtraiu-se o valor da concentração de CO<sub>2</sub> da hora anterior) para as primeiras 7h (para se poder comparar todas as temperaturas). Observou-se que para a temperatura “Ambiente” a *P. candei* apresenta uma maior produção, mas na temperatura “Refrigerada” é a *P. aspera* (Tabela 6). Como o volume interno da caixa é pequeno (13.442 cm<sup>3</sup>) o CO<sub>2</sub> resultante do metabolismo acumula-se rapidamente.

**Tabela 6** – Produção de CO<sub>2</sub> por cada 100 g/ h de cada espécie a diferentes temperaturas.

		<i>P. candei</i> ppm/ h	<i>P. aspera</i> ppm/ h
“Ambiente”	Média	665	503
	Desvio Padrão	580	184
“Refrigerada”	Média	179	204
	Desvio Padrão	248	109

### **3.5. Taxa de Sobrevivência e Mortalidade**

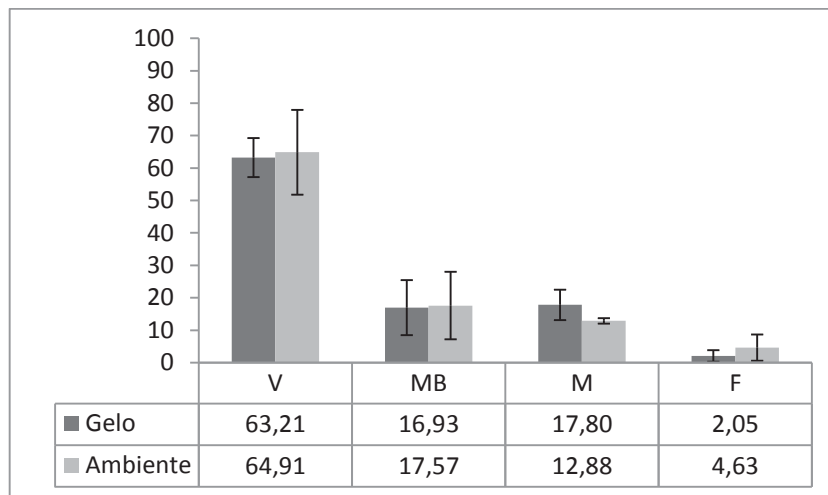
Em relação à taxa de sobrevivência de *P. candei* (Figura 32) podemos observar um valor elevado para ambas as condições de transporte, havendo apenas diferença

de 1 % entre a temperatura “Refrigerada” (86,7 %) e a temperatura “Ambiente” (85,7 %).

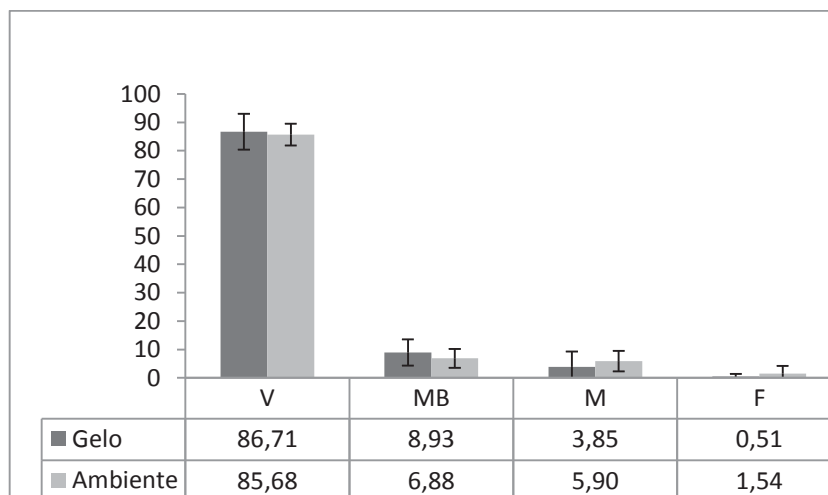
Ao analisarmos a sobrevivência da *P. aspera* durante o período de transporte observamos que os valores não são tão altos (Figura 33) como os da *P. candei* (cerca de menos 23 %) tendo-se obtido valores de 63,2 % para a temperatura “Refrigerada” e 64,9 % para temperatura “Ambiente” (diferença de apenas 1,3 %).

Observamos que existe uma maior taxa de lapas consideradas “Feridas” em *P. aspera* (Figura 33) do que em *P. candei* (Figura 32). Contudo, este fato é apenas devido à maior dificuldade de captura que a primeira apresenta quando comparada com a segunda. Para além do tamanho superior e da maior força de fixação à rocha, é também mais difícil de apanhar (apneia em zonas associadas a corrente e ondulação) resultando em número maior de feridas.

O maior número de “Moribundas” e “Mortas” observado na *P. aspera* (Figura 33) quando comparado com a *P. candei* (Figura 32), as razões que levam a estas diferenças provavelmente se devem a diferenças metabólicas intrínsecas destas, sendo *P. candei* mais resistente.



**Figura 32** – Média da taxa de Sobrevivência/ Mortalidade das 3 réplicas e o respectivo desvio padrão ( $\pm dp$ ), na *P. candei* durante as primeiras 48h de transporte em caixa fechada à temperatura “ambiente” e “refrigerada” (V – vivas; MB – moribundas; M – Mortas; F – feridas).



**Figura 33** – Média da taxa de Sobrevivência/ Mortalidade das 3 réplicas e o respectivo desvio padrão ( $\pm dp$ ), na *P. aspera* durante as primeiras 48h de transporte em caixa fechada à temperatura “ambiente” e “refrigerada” (V – vivas; MB – moribundas; M – Mortas; F – feridas)

### **3.6. Variação da Cor ao Longo do Tempo**

Não se verificou variação de cor (Anexo IV e V), ou pelo menos não se verificou uma alteração que fosse suficientemente significativa ao longo do tempo de refrigeração para ser utilizada como parâmetro de avaliação.

## **4. Discussão**

### **4.1. Relações Peso-Comprimento**

Ferraz (1998) apresenta as seguintes equações para as diferentes espécies de lapas dos Açores:

$$P. \textit{candei}: P \text{ (g)} = 0,0002 \times C \text{ (mm)}^{2,8065}; (R^2= 0.8142) (n=77)$$

$$P. \textit{aspera}: P \text{ (g)} = 0,0003 C \text{ (mm)}^{2,6774}; (R^2=0,9447) (n=924)$$

Comparando estas equações com as obtidas neste trabalho, verifica-se que as deste trabalho apresentam uma maior correlação para a equação peso-comprimento em *P. candei* mas menor para *P. aspera*. Este fato pode estar relacionado com as diferenças entre as estruturas das amostras dos dois trabalhos (número de amostras). Visto que ele possui um n maior para a *P. aspera*, enquanto que, em *P. candei* verifica-se o inverso. Como não se teve acesso aos dados de Ferraz (1998), não foi possível realizar um teste estatístico de forma a comparar estas equações com as obtidas neste trabalho.

### **4.2 Método de Índice de Qualidade (QIM)**

Para desenvolver o QIM foi escolhido o maior número de parâmetros possível que resultou num QIM para *Patella aspera* o máximo de 19 pontos (anexo VI) e para a *Patella candei* com o máximo de 15 pontos (anexo VII). O único parâmetro que suscita alguma dúvida em relação à sua utilização é o “Detritos” mas foi decidido incorporá-lo no QIM na mesma, visto que desempenha um papel complementar e não exclusivo. Apesar de ser a primeira vez que se desenvolvem tabelas QIM para estas espécies de lapas, não deveram ser considerados como definitivos e imutáveis, pelo que poderão

sofrer alterações e adaptações à medida que se for desenvolvendo trabalhos nesta área com estas espécies e com a própria utilização destas tabelas.

Os resultados obtidos neste trabalho para a microbiologia são comparáveis aos obtidos por Sant'Ana *et al.* (2011) para o goraz (*Pagellus bogaraveo*) em que no início os valores variavam entre  $10^2$ - $10^4$  UFC, mas aquando do tempo de rejeição estavam entre  $10^6$ - $10^8$  UFC, estando em concordância com os obtidos neste trabalho. No entanto, nesse mesmo trabalho os valores são apresentados em UFC/ cm<sup>2</sup>, visto que os microrganismos são raspados da superfície da pele do peixe. Neste caso, como são consumidas inteiras não se realizou raspagem mas sim homogeneizado todo o organismo todo resultando numa contagem de UFC/ ml.

Em relação às histaminas, obteve-se um resultado surpreendente porque não era esperado ter resultados positivos, dado que acumulação de histaminas está mais associada a peixes migratórios “carne vermelha” da família Scombridae e Scomberesocidae (*e.g.* atuns, cavalas, chicharro, entre outros) (Taylor *et al.*, 1989). Para o atum o valor limite da concentração de histamina é de 1 ppm e obteve-se 3 ppm para a *P. candei* ao fim de 14 dias de refrigeração. Sendo este um resultado único é impossível tirar mais conclusões. Em *P. aspera* não se detetou acumulação de histaminas mesmo ao fim de 14 dias. Como estas possuem um tempo de rejeição mais curto que *P. candei* não há necessidade de considerar esta variável para esta espécie. No entanto para *P. candei* é uma variável interessante e necessita de ser mais aprofundada, visto que só se obteve resultado positivo no final da experiência.

Em resumo, através da análise dos resultados obtidos para o tempo de rejeição no QIM, na avaliação sensorial, histamina e contagens bacterianas (Tabela 7) determinou-se

que *P. candei* possuía um tempo de prateleira entre 12-14 dias. Em *P. aspera* este era menor, apenas de 6-7 dias. O fator cor foi descartado do QIM visto não apresentar alterações significativas ao longo do tempo. Na Tabela 8 observa-se a relação entre o valor dos pontos de deméritos e a escala EU.

**Tabela 7** - Diferentes dias de rejeição obtidos nas diferentes análises para a *P. candei* e *P. aspera*.

	Dias de Rejeição de lapas refrigeradas a 5 °C	
	<i>P. candei</i>	<i>P. aspera</i>
<b>QIM</b>	>15	7
<b>Análise sensorial</b>	--	5
<b>Histamina</b>	14	--
<b>Análise Bacteriana</b>	12	10

**Tabela 8** - Relação entre os pontos de demérito do QIM e a escala UE (categorias E, A e B).

	<i>P. candei</i>	<i>P. aspera</i>
<b>Extra</b>	0-3	0-3
<b>A</b>	4-5	4-8
<b>B</b>	5-6	9-11
<b>Rejeição</b>	≥7	≥12

Um fator que não foi considerado neste trabalho e que poderá ter influência nos parâmetros avaliados e no seu desenvolvimento ao longo do tempo é o local de captura. Segundo Martins *et al.* (2013) não parecem existir diferenças ao nível da morfometria das conchas das lapas tanto da *P. candei* como da *P. aspera* dentro do nosso arquipélago. As diferenças existentes são apenas ao nível dos indivíduos, ou seja, nível local, provavelmente devido aos microhabitats. A morfometria da concha,

nomeadamente a sua largura e altura em relação a um certo comprimento, é influenciada pela exposição ao movimento da água e, conseqüentemente, à sua capacidade de suportar o impacto das ondas (Moore, 1934; Graham & Fretter, 1947; Warburton, 1976) que por sua vez irá afetar a resistência geral das lapas.

#### **4.12. Transporte de Lapas Vivas (Variação de CO<sub>2</sub> e Temperatura)**

Ao analisarmos a sobrevivência observamos que ambas espécies obtiveram uma sobrevivência elevada durante a simulação de transporte, mas que a *P. aspera* apresentou valores inferiores à *P. candei* (cerca de menos 23 %). As razões que levam a pensarem que estas diferenças provavelmente devem-se às características de cada espécie.

*P. candei* é uma espécie que habita o intertidal rochoso está sujeita a condições ambientais particularmente adversas. É o caso do forte hidrodinamismo derivado da força das ondas, que embatem na roncha levando ao desgaste das conchas podendo inclusive as arrancar das rochas. A exposição aos ciclos de maré que resulta em longos períodos de imersão e de emersão, faz com as lapas fiquem expostas a variações térmicas, baixas, durante baixa-mar (principalmente nas noite de inverno) e a temperaturas elevadas durante a baixa-mar (particularmente nos dias de verão). Estes fatores contribuem fortemente para a plasticidade observada nesta espécie e para a seleção natural das mais aptas a sobreviver nestas condições (Branch, 1975; Lowell, 1984; Denny *et al.* 1985; Denny & Blanchette, 2000; Harley, 2003; Cabral, 2007).

*P. aspera* habita o subtidal, que significa que está quase sempre, senão sempre submersa estando assim menos exposta ao forte hidrodinamismo e a menores variações térmicas ao longo do dia como a *P. candei*, isto pode tornar esta espécie

mais frágil e suscetível às variações ambientais daí obter uma menor sobrevivência. Apesar disso a razão *para* a diferença não é clara.

Ao analisar os dados obtidos, tende-se a concluir que tanto a concentração de CO<sub>2</sub> como a temperatura no interior da caixa não afetam a sobrevivência das lapas. Visto que, apesar de se verificar o impacto da temperatura na produção de CO<sub>2</sub> (desceu de cerca de 4 vezes para *P. candei* e 2,5 vezes para *P. aspera*, na temperatura “Refrigerada” comparativamente com as concentrações na temperatura “Ambiente”), estas diferenças não se refletem nas taxas de sobrevivência. Ao compararmos a diferença das taxas de sobrevivência dentro da mesma espécie, entre temperaturas, a diferença é pequena (em *P. candei*: 1 %; em *P. aspera*: 1,3 %). Apesar de deixar em aberto a possibilidade de existir uma temperatura capaz de melhorar a sobrevivência de *P. aspera*, visto que apresenta uma taxa de sobrevivência mais baixa que *P. candei* o que deverá ser aprofundado em trabalhos futuros.

Relativamente à produção de CO<sub>2</sub>, os resultados foram um pouco diferentes do esperado visto que à temperatura “Ambiente” a *P. candei* apresenta uma produção superior à *P. aspera* e era esperado que devido à sua distribuição vertical do habitat deveria se observar o inverso. Sendo que as lapas localizadas na parte superior do intertidal têm tendência para apresentar um ritmo respiratório inferior aos indivíduos que se localizam na parte inferior (Tagliarolo *et al.*, 2013). Este resultado pode estar relacionado com o fato de serem espécies distintas e como consequência apresentarem metabolismos diferentes. Contudo, será aconselhável transportar as lapas em caixas com maior volume para que a acumulação de CO<sub>2</sub> seja mais lenta. A refrigeração é também importante pois diminui o metabolismo e consequentemente diminuição do consumo de O<sub>2</sub>.

## 5. Bibliografia

Barber A. H., Lu D., Pugno N. M., 2015. Extreme strength observed in limpet teeth. *Journal of the Royal Society Interface*. (doi.org/10.1098/rsif.2014.1326).

Barbosa, A., & Vaz-Pires, P., 2004. Quality index method (QIM): development of a sensorial scheme for common octopus (*Octopus vulgaris*). *Food Control*, 15 (3), 161–168. (doi:10.1016/S0956-7135(03)00027-6).

Bonilla, A. C., Sveinsdóttir, K., Martinsdóttir, E., 2007. Development of quality index method (QIM) scheme for fresh cod (*Gadus morhua*) fillets and application in shelf life study. *Food Control*. 18, 352-358.

Borges, P. A. V., Costa A., Cunha, R., Gabriel, R., Gonçalves, V., Martins, A. F., Melo, I., Parente, M., Raposeiro, P., Rodrigues, P., Santos, R. S., Silva, L., Vieira, P., Vieira, V. (Eds), 2010. *A List of the Terrestrial and Marine Biota from the Azores*. Princípiã, Cascais. 433 pp.

Branch, G. M., 1975. Ecology of *Patella* Species from the Cape Peninsula, South Africa. IV. Desiccation. *Marine Biology*. 32, 179–188.

Branch, G. M., 1981. The Biology of Limpets: Physical Factors, Energy Flow and Ecological Interactions. *Oceanography Marine Biology Annual Review*. 19, 235–380

Cabral, J. P., 2007. Shape and growth in European Atlantic *Patella* limpets (Gastropoda, Mollusca). Ecological implications for survival. Ecological implications for survival. – *Web Ecology*. 7: 11–21.

Carreira, G. M. P., 2010. Molecular genetic diversity and shell shape variation in *Patella* limpets (Mollusca: Patellogastropoda): Evolutionary inferences and tools for species conservation in the North East Atlantic Ocean Archipelagos, *PhD Thesis*. Universidade dos Açores. Horta, Portugal.

Chai, T., Chen, C., Rosen, A., Levin, R. E., 1968. Detection and incidence of specific species of spoilage bacteria on fish. II. Relative Incidence of *Pseudomonas putrefaciens* and Fluorescent *Pseudomonads* on Haddock Fillets. *Journal Applied Microbiology*. 16, 1734-1737.

Christiaens, J., 1973. Revision de genre *Patella* (Mollusca: Gastropoda). *Bulletin du Museum National d'Histoire Naturelle*. Paris 182, 1305-1392.

Connell, J. H., 1972. Community Interactions on Marine Rocky Intertidal Shores. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 3, 169-192.

Corte-Real, H. S. M., Hawkins S. J., Thorpe, J. P., 1992. Genetic Confirmation that Intertidal and Subtidal Morphs of *Patella ulyssiponensis aspera* Röding (Mollusca: Gastropoda: Patellidae) are conspecific. *Arquipélago. Life and Earth Sciences* 10, 55-66. Angra do Heróismo. ISSN 0870-6581.

Denny, M. W., Blanchette, C. A., 2000. Hydrodynamics, Shell Shape, Behavior and Survivorship in The Owl Limpet *Lottia gigantea*. *The Journal of Experimental Biology*. 203, 2623–263.

Denny, M. W., Daniel, T. L. Koehl, M. A. R., 1985. Mechanical Limits to Size in Wave-Swept Organisms. *Ecological Monographs*, 55 (1), 69-102.

Ellis, R. J., Timms-Wilson, T. M., Bailey, M. J., 2000. Identification of conserved traits in fluorescent pseudomonads with antifungal activity. *Environmental Microbiology*. 2, 274–284.

Ferraz R. R., 1998. Avaliação do recurso de lapas – *Patella ulyssiponensis aspera* (Christiaens, 1973) e *Patella candei candei* (Röding, 1798) – no Arquipélago dos Açores. *Relatório de estágio do curso de Licenciatura em Biologia Marinha e Pescas, Universidade do Algarve*.

Ferraz, R. R., Menezes, G. M., Santos, R. S., 2001. Limpet (*Patella spp.*) (MOLLUSCA: GASTROPODA) exploitation in the Azores, During the Period 1993-1998. *Arquipélago Life and Marine Sciences (Part B)*, 59-65. Ponta Delgada. ISSN 0873-4704.

Gallagher, L., Porteiro, F., Dâmaso, C., Santos, R. S., 2012. Guia do Consumidor do Pescado dos Açores. Departamento de Oceanografia e Pescas, Universidade dos Açores

Graham, A., V. Fretter, 1947. The Life History of *Patina pellucida* (L.). *Journal of Marine Biology Association*. U.K., 26, 590-601.

Gram, L., 1993. Inhibitory Effect Against Pathogenic and Spoilage Bacteria of Pseudomonas Strains Isolated from Spoiled and Fresh Fish. *Applied Environmental Microbiology*. 59, 2197–2203.

Gram, L., Dalgaard, P., 2002. Fish Spoilage Bacteria – Problems and Solutions. *Current opinion in biotechnology*. 13, 262-266.

Gram, L., Huss, H. H., 1996. Microbiological Spoilage of Fish and Fish Products. *International Journal of Food Microbiology*. 33, 121-137.

Gram, L., Trolle, G., Huss, H. H., 1987. Detection of Specific Spoilage Bacteria from Fish Stored at Low (0°C) and High (20°C) Temperatures. *International Journal of Food Microbiology*. 4, 65 – 72.

Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B., Givskov, M., 2002. Food Spoilage - Interactions Between Food Spoilage Bacteria. *International journal of food microbiology*. 78, 79-97.

Guillerm-Regost, C., Haugen, T., Nortvedt, R., Carlehög, M., Lunestad, B.T., Kiessling, A., 2006. Quality Characterization of Farmed Atlantic Halibut During Ice Storage. *Journal of Food Science*. 71, 83–90.

Harley, C. D. G., 2003. Abiotic Stress and Herbivory Interact to Set Range Limits Across a Two-Dimensional Stress Gradient. *Ecology*. 84(6), 1477–1488

Hawkins, S.J., Côte-Real, H.B.S.M., Pannacciulli, F.G., Weber, L.C., Bishop, J.D.D., 2000. Thoughts on the Ecology and Evolution of the intertidal Biota of the Azores and Other Atlantic Islands. *Hydrobiologia*. 440, 3–17.

Hill, A.S. & Hawkins, S.J., 1991. Seasonal and spatial variation of aphilitic microalgal distribution and abundance and its ingestion by *Patella vulgata* on a moderately exposed rocky shore. *Journal of Marine Biology Association*. UK 71, 403-423.

Huidobro, A., Pastor, A., & Tejada, M., 2000. Quality Index Method Developed for Raw Gilthead Seabream (*Sparus aurata*). *Journal of Food Science*, 65, 1202-1205.

Jónsdóttir S. M., Hyldig, G., Nielsen, J., Bleechmore, T., Silberg, S., 1999. Rapid PC Based Sensory Method. *Infofish International*. 2, 54–56.

Koufopanou, V., Reid, D. G., Ridgway, S. A. & Thomas, R. H., 1999. A Molecular Phylogeny of the Patellid Limpets (Gastropoda: Patellidae) and its Implications for the Origins of their Antitropical distribution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 11 (1), 138-156.

- Lerke, P., Adams, R., Farber, L., 1965. Bacteriology of Spoilage of Fish Muscle. III. Characterization of spoilers. *Journal of Applied Microbiology*. 13, 625-630.
- Lowell, R. B., 1984. Desiccation of Intertidal Limpets: Effects of Shell Size, Fit to Substratum, and Shape. *Journal Experimental Marine Biology Ecology*. 11, 197-207.
- Martins, G. M., Neto, A. I. Thompson, R. C., Hawkins, S. J., Jenkins, S. R., 2008a. Rocky Intertidal Community Structure in Oceanic islands: Scales of Spatial Variability. *Marine Ecology Progress Series*. 356,15-24.
- Martins, G. M., Jenkins, S. R., Hawkins, S. J., Neto, A. I., Thompson, R. C., 2008b. Exploitation of Rocky Intertidal Grazers: Population Status and Potential Impacts on Community Structure and Functioning. *Aquatic Biology*. 3, 1–10.
- Martins, G. M., Thompson, R. C. Neto, A. I. Hawkins, S. J. Jenkins, S. R., 2009. Enhancing Stocks of the Exploited Limpet *Patella candei* d'Orbigny Via Modifications in Coastal Engineering. *Biological Conservation*. 143 (1), 203–211. (Doi:10.1016/j.biocon.2009.10.004).
- Martins, H., Santos, R., Hawkins, S. J., 1987. Exploitation of Limpets (*Patella spp.*) in the Azores With a Preliminary Analysis of the Stocks. *ICES Report*, C.M. 53, 18.
- Menezes, G. M. M., 1991. Aspectos da biologia e ecologia de *Patella ulyssiponensis aspera* e *P. candei candei* (Mollusca, Gastropoda, Patellidae), dos Açores. Potencial da sua Exploração. *Relatório de Estágio da Licenciatura de Recursos Faunísticos e Ambiente da Faculdade de Ciências de Lisboa da Universidade de Lisboa*.
- Moore, H. B., 1934. The Relation of Shell Growth to Environment in *Patella vulgata*. *Proceedings of the Malacological Society of London*. 21, 217-222.
- Morton, B., Britton, J. C., Martins, A. M. F., 1998. Coastal Ecology of the Açores. *Sociedade Afonso Chaves*, Ponta Delgada.
- Pham, C. K., Canha, A., Diogo, H., Pereira, J. G., Prieto, R., Morato, T., 2013. Total marine fishery catch for the Azores (1950-2010). – *ICES Journal of Marine Science*. 70, 564-577.
- Pozo, R. G., Saitua, E. S., 1988. Determinação de histamina em pescado e seus derivados por HPLC com detenção de fluorescência.

Sanguandeeikul, R., Siripatrawan U., Narakaew, V., 2008. Changes in the Quality of Abalone (*Haliotis asinina* Linnaeus) Packaged under Atmospheric Air, Vacuum and Modified Atmosphere. *Packaging Technology and Science*. 21, 159–164. (DOI: 10.1002/pts.790).

Sant'Ana, L. S., Soares, S., Vaz-Pires, P., 2011. Development of a Quality Index Method (QIM) Sensory Scheme and Study of Shelf-Life of Ice-Stored Blackspot Seabream (*Pagellus bogaraveo*). *LWT - Food Science and Technology*. 44 (10), 2253–2259. (doi:10.1016/j.lwt.2011.07.004).

Santos, R. S., Hawkins, S., Monteiro, L. R., Alves, M., and Isidro, E. J., 1995. Marine research, resources and conservation in the Azores. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 5, 311–354.

Santos, R. S., Delgado, R., Ferraz, R., 2010. Background document for the Azorean limpet *Patella aspera*. *OSPAR commission* ISBN 978-1-907389-29-6.

Sveinsdottir, K., Martinsdottir, E., 2002. Application of Quality Index Method (QIM) Scheme in Shelflife Study of Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*. 67 (4), 1570-1579.

Tagliarolo, M., Grall, J. Chauvaud, L., Clavier, J., 2013. Aerial and Underwater Metabolism of *Patella vulgata* L.: Comparison of Three Intertidal Levels. *Hydrobiologia*. 702, 241–253 (DOI 10.1007/s10750-012-1328-1)

Taylor S. L., Stratton J. E., Nordlee, J. A., 1989. Histamine poisoning (scombroid fish poisoning): an allergy-like intoxication. *Journal of Toxicology Clinical Toxicology*. 27 (4-5), 225-40.

Vaz-Pires, P., & Seixas, P. (2006). Development of New Quality Index Method (QIM) Schemes for Cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail Shortfin Squid (*Illex coindetii*). *Food Control*. 17, 942-949.

Warburton, K., 1976. Shell Form, Behavior, and Tolerance to Water Movement in the Limpet *Patina pellucida* (L.) (Gastropoda: Prosobranchia). *Journal of Experimental Marine Biology Ecology*. 23, 307-325.

## 6. Anexos

**Anexo I** – Folha auxiliar dos avaliadores onde se encontra as categorias analisadas descritas sucintamente.

**Anexo II** – Ficha de preenchimento utilizado na análise organoléptica.

**Anexo III** – Ordem aleatória das lapas utilizada na análise organoléptica

**Anexo IV** – Análise da variação da cor ao longo de 16 dias na *P. candei*.

**Anexo V** – Análise da variação da cor ao longo de 16 dias na *P. aspera*.

**Anexo VI** – Esquema QIM para *Patella aspera*.

**Anexo VII** – Esquema QIM para *Patella candei*.

## 6.1 Anexo I

<p><b>Cheiro:</b></p> <p>4 – Intenso a maresia, e/ou algas, e/ou marisco;</p> <p>3 – Ligeiro a maresia/algas/marisco;</p> <p>2- Sem cheiro/inodoro;</p> <p>1 - Pouco agradável;</p>	<p><b>Aspeto geral:</b></p> <p>2 – Agradável, lapa viva e com movimento;</p> <p>1 - Neutro – lapa imóvel;</p> <p>0 – Desagradável e pouco atrativa, ressequida, ou baça.</p>
<p><b>Textura (toque)</b></p> <p>2 – Suave ou sedoso e com reação;</p> <p>1 – Ligeiramente rijo e sem reação;</p> <p>0- Rija e lisa, tipo borracha</p>	<p><b>Sabor:</b></p> <p>3 – Intenso a marisco, típico de lapa (salgadinho e adocicado);</p> <p>2- Pouco intenso a marisco - envelhecido</p> <p>1 – Sem sabor ou Insípido (metálico)</p>
<p><b>Textura (mastigação):</b></p> <p>2 – Consistente e muscular;</p> <p>1 – Ligeiramente rijo;</p> <p>0 – Mais rijo - emborrachado</p>	<p><b>Grau Frescura:</b></p> <p>3 – Muito fresco;</p> <p>2- Fresco;</p> <p>1; Pouco Fresco;</p>

6.4

PROVA

Nome do Proveedor:

Data da prova: 16 / 08 / 20015

Qual das espécies prefere:

- Lapa-mansa (preta/cinzenta) Razão: \_\_\_\_\_

- Lapa-brava (amarela/mergulho) Razão: \_\_\_\_\_

- Ambas/Indiferente Razão: \_\_\_\_\_

ESPÉCIE: \_\_\_\_\_

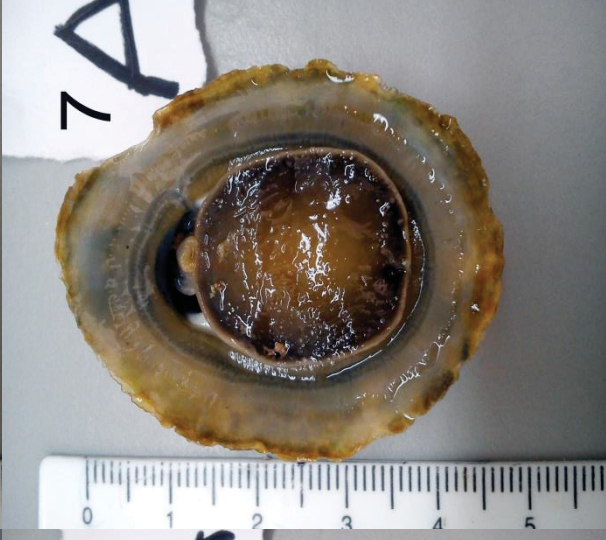
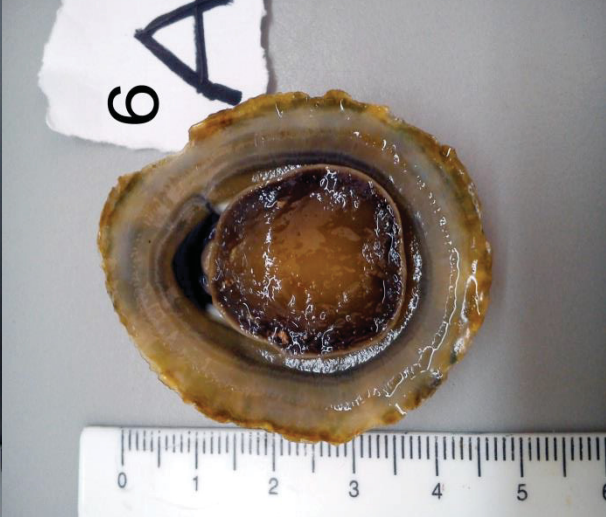
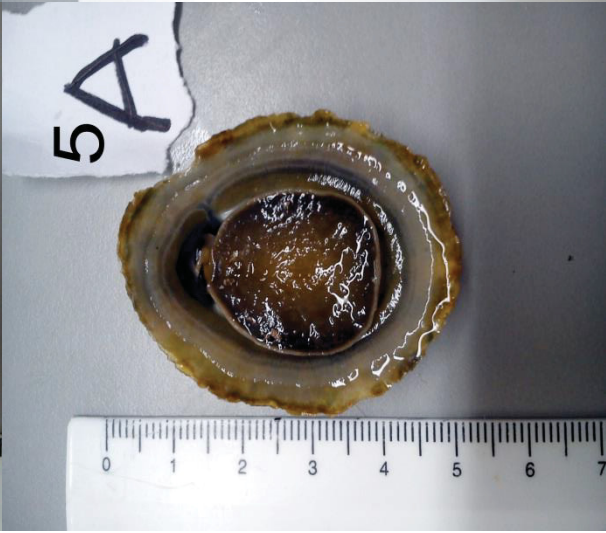
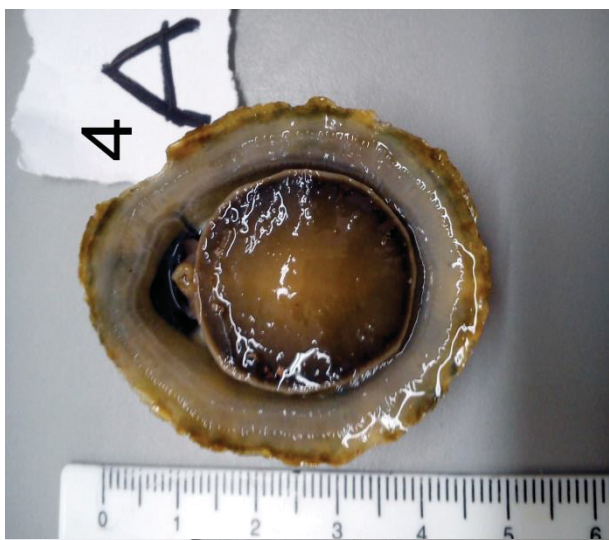
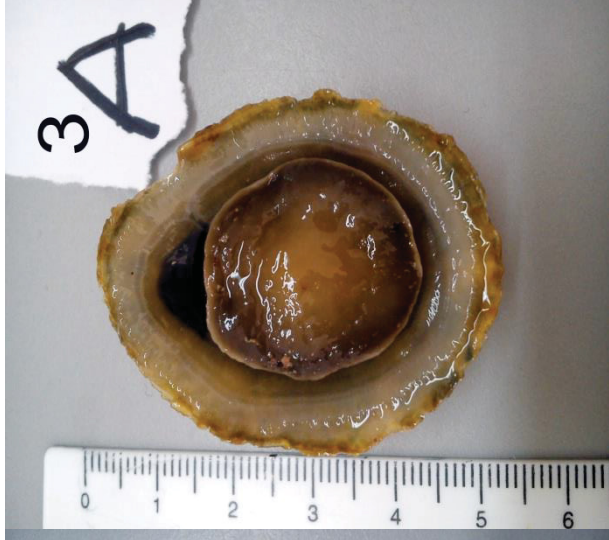
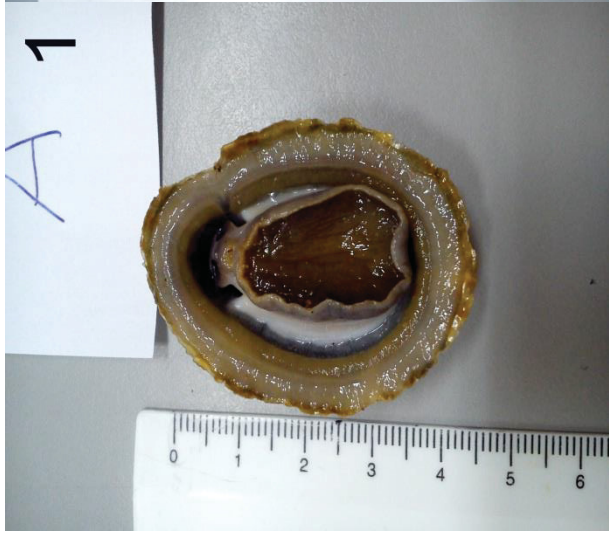
Amostra / Prova	Cheiro:	Aspetto geral	Textura (toque)	Comestível (S-Sim, N-Não)	Textura (mastigação)	Sabor	Grau	Notas
							Frescura	

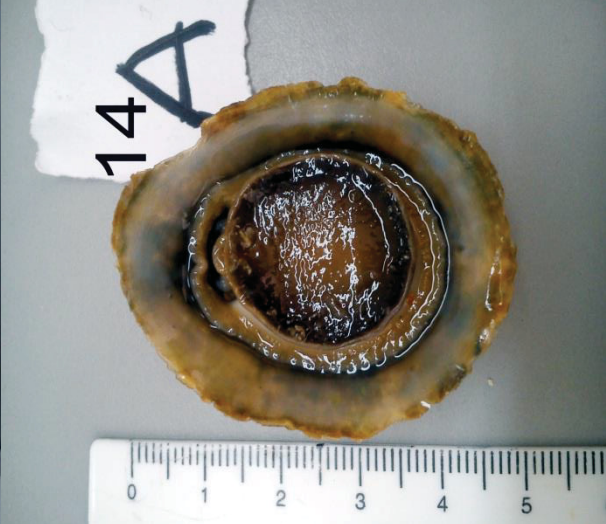
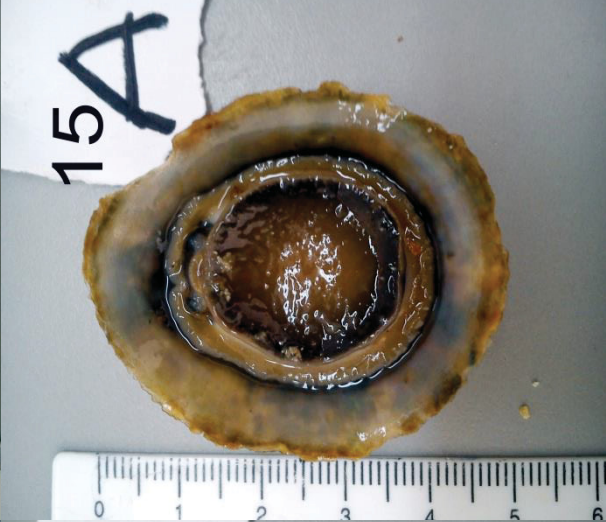
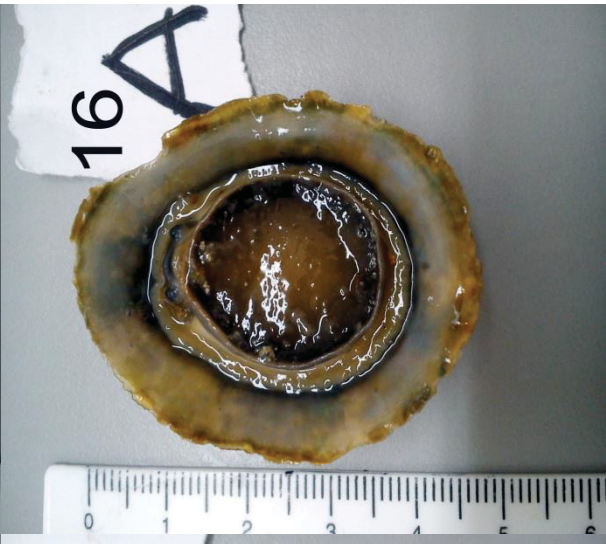
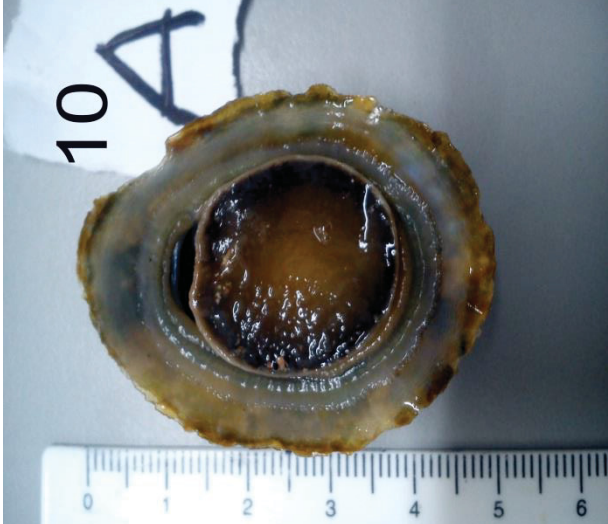
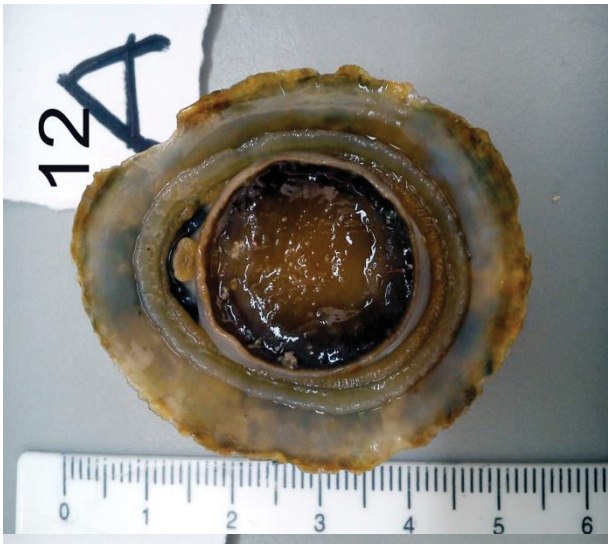
### 6.3 Anexo III

Dias	Código	Ordem
O -	P dia 16	7º
1	D dia 15	10º
2	M dia 14	3º
3	C dia 13	5º
4	Z dia 12	1º
5	B dia 11	8ºº
6	G dia 10	11
7	L dia 9	9º
8	E dia 8	2º
9	K dia 7	4º
10 – Congelada -	A dia 14	6º

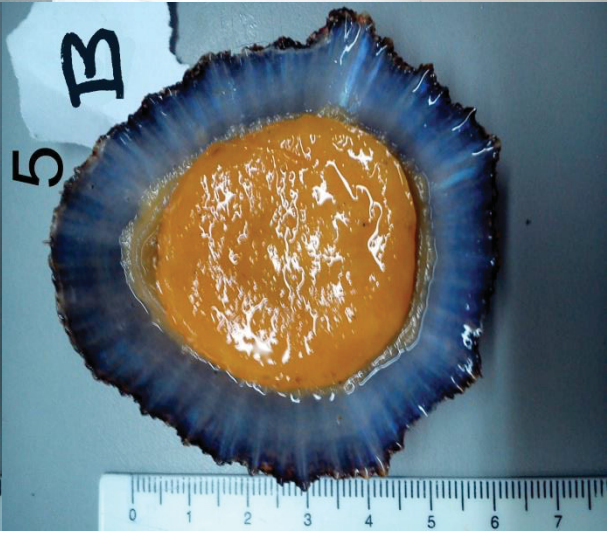
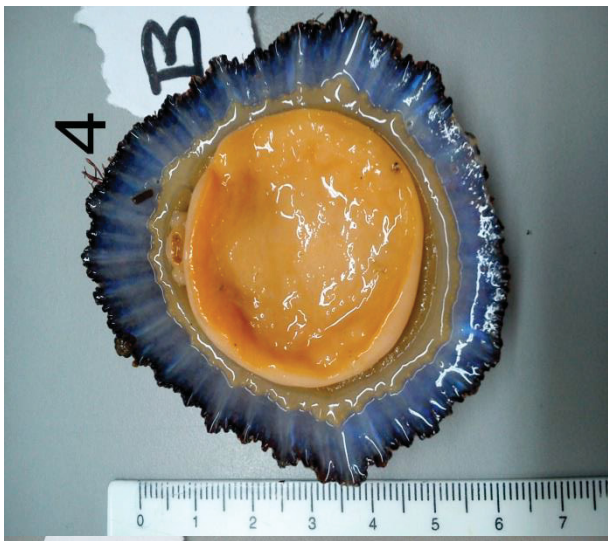
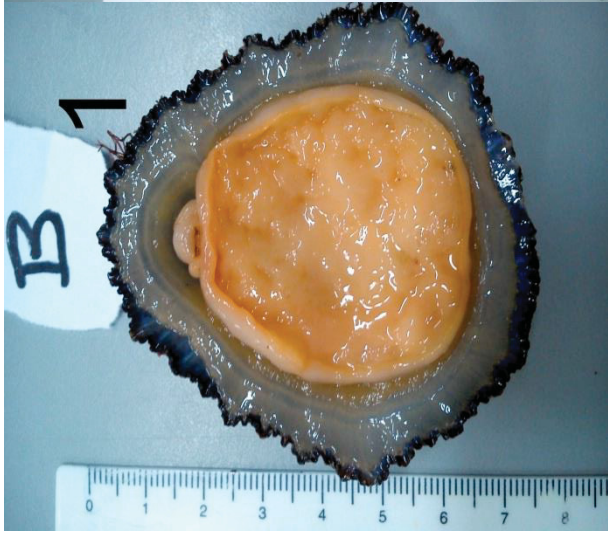
Tipo de prova de degustação: Prova de ordenação requer provadores pouco treinados – p. 36/ provas descritivas – perfil convencional – p. 49

**6.4 Anexo IV**





6.5 Anexo V





## 6.6 Anexo VI

### Esquema QIM para *Patella aspera*

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_ Dias de fresco: \_\_\_\_\_

Circule o número que na sua opinião descreve o estado da lapa

Pontuação QIM

Parâmetros de frescura:		Descrição	Nº	Nº:	Nº:	Nº:	Nº:
<b>Cheiro</b>		Cheiro intenso a maresia/ algas /marisco	0	0	0	0	0
		Cheiro ligeiro a maresia /algas/marisco	1	1	1	1	1
		Sem cheiro ou neutro	2	2	2	2	2
		Cheiro pouco agradável	3	3	3	3	3
		Cheiro desagradável ou putrefacto	4	4	4	4	4
<b>Aspeto geral (ventral)</b>	Manto	Manto forra a maior parte da concha entre o bordo do pé e da concha, deixando pouca concha visível (<1/2).	0	0	0	0	0
		Manto contraído deixando cerca de metade da concha visível.	1	1	1	1	1
		Manto muito contraído deixando grande parte da concha visível (>1/2).	2	2	2	2	2
		Manto extremamente recolhido estando ao nível do pé.	3	3	3	3	3
	Detritos	Sem detritos (exceção para restos de cracas / algas)	0	0	0	0	0
		Com poucos detritos (resto de fezes/filme bacteriano)	1	1	1	1	1
		Com bastantes detritos (resto de fezes/filme bacteriano)	2	2	2	2	2
<b>Cabeça e cavidade paleal</b>		- Cabeça e tentáculos paleais activos. - Reação rápida ao toque e com cavidade paleal normalmente escondida.	0	0	0	0	0
		- Cabeça com reacção lenta ao toque.	1	1	1	1	1
		- Cabeça retraída (pequena) boca predominante (aberta) e rádula visível. - Não reage ao toque.	2	2	2	2	2
		- Cabeça volumosa (inchada) boca predominante (aberta). - Não reage ao toque. - Abertura paleal bem visível.	3	3	3	3	3
<b>Pé</b>	Forma e movimento	Pé normalmente activo, com o bordo irregular e zona central enrugada (não plana)	0	0	0	0	0
		Pé imóvel ou pouco activo, bordo pouco ondulado zona central pouco irregular.	1	1	1	1	1
		Pé imóvel ressequido, bordo oval e zona central lisa e ligeiramente côncava (emborrachada e/ ou encovada)	2	2	2	2	2
		Pé imóvel ressequido, bordo oval e zona central lisa e extremamente côncava (emborrachada e/ ou encovada)	3	3	3	3	3
	Textura e reação ao toque	Ao pressionar o pé da lapa este comprime e reage. Sedoso/Macio/Viscoso ao toque.	0	0	0	0	0
		- Rijo nas extremidades e ligeiramente mole no centro. - Zona central lisa. - Reage lentamente ao toque, voltando lentamente à posição inicial.	1	1	1	1	1
		- Rijo, liso e duro (tipo borracha). - Não reage ao toque. - Podendo estar seca ou não.	2	2	2	2	2
<b>Desconchar</b>		Não	0	0	0	0	0
		Sim, embora com dificuldade.	1	1	1	1	1
		Sim, facilmente.	2	2	2	2	2

Total 0-19

## 6.7 Anexo VII

### Esquema QIM para *Patella candei*

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_ Dias de  
fresco: \_\_\_\_\_

Circule o número que na sua opinião descreve o estado da lapa

#### Pontuação QIM

Parâmetros de frescura:		Descrição	Nº	Nº:	Nº:	Nº:	Nº:
<b>Cheiro</b>		Cheiro ligeiro a maresia /algas/marisco	0	0	0	0	0
		Sem cheiro ou neutro	1	1	1	1	1
		Cheiro pouco agradável	2	2	2	2	2
		Cheiro desagradável ou putrefacto	3	3	3	3	3
<b>Aspeto geral (ventral)</b>	Concha e manto	Manto forra a maior parte da concha entre o bordo do pé e da concha, deixando pouca concha visível (<1/2).	0	0	0	0	0
		Manto contraído deixando cerca de metade da concha visível	1	1	1	1	1
		Manto muito contraído deixando grande parte da concha visível (>1/2).	2	2	2	2	2
	Detritos	Sem detritos (exceção para restos de cracas / algas)	0	0	0	0	0
		Com poucos detritos (resto de fezes/filme bacteriano)	1	1	1	1	1
		Com detritos em todo o pé (resto de fezes/filme bacteriano)	2	2	2	2	2
<b>Cabeça e cavidade paleal</b>		- Cabeça e tentáculos paleias extremamente activos e com reacção rápida ao toque (recolhem-se).	0	0	0	0	0
		- Cabeça e tentáculos cefálicos normalmente retraída e reage lentamente ao toque.	1	1	1	1	1
		- Cabeça retraída com o boca predominante (inchada).	2	2	2	2	2
		- Não reage ao toque.	2	2	2	2	2
<b>Pé</b>	Forma e movimento	- Viva, com movimentos, bordo muito irregular e zona central enrugada (não plana).	0	0	0	0	0
		- Pé imóvel, bordo pouco ondulado zona central pouco enrugada.	1	1	1	1	1
		- Pé imóvel ressequido com o bordo geralmente oval e zona central lisa (emborrachada) e por vezes inchada.	2	2	2	2	2
	Textura e reacção ao toque	- Ao pressionar o pé da lapa este comprime e reage rapidamente.	0	0	0	0	0
		- Sedoso e húmido ao toque.	0	0	0	0	0
		- Reage lentamente ao toque.	1	1	1	1	1
		- Ligeiramente sedoso e húmido ao toque	1	1	1	1	1
		- Não reage ao toque.	2	2	2	2	2
	- Rijo, liso e duro (tipo borracha).	2	2	2	2	2	
<b>Desconchar</b>		Não.	0	0	0	0	0
		Sim, embora com dificuldade.	1	1	1	1	1
		Sim, facilmente.	2	2	2	2	2

Total 0-15