



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 CO₂ 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 CO₂ 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 ₂ e Temperatura)	45
3.4.1. <i>P. candei</i>	45
3.4.1.1. Variação do CO ₂ e Temperatura na Caixa “Ambiente”	45
3.4.1.2. Variação do CO ₂ e Temperatura na Caixa “Refrigerada”	46
3.4.2. <i>P. aspera</i>	46
3.4.2.1. Variação do CO ₂ e Temperatura na Caixa “Ambiente”	46
3.4.2.2. Variação do CO ₂ 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 ₂ 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

<i>Figura 14 – Médias ($\pm dp$) da pontuação dos parâmetros da <i>P. candei</i> ao longo do tempo a 5 °C.....</i>	<i>32</i>
<i>Figura 15 – Resultados do parâmetro “Comestível” da <i>P. candei</i> pela ordem de avaliação dos avaliadores.</i>	<i>33</i>
<i>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.....</i>	<i>33</i>
<i>Figura 17 – Médias ($\pm dp$) da pontuação dos parâmetros da <i>P. aspera</i> ao longo do tempo à temperatura 5 °C.</i>	<i>34</i>
<i>Figura 18 – Resultados do parâmetro “Comestível” da <i>P. aspera</i> pela ordem de avaliação dos avaliadores.</i>	<i>35</i>
<i>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.....</i>	<i>35</i>
<i>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.....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 21 – Variação dos pontos de demérito QIM em cada lapa (<i>P. candei</i>) ao longo do tempo de refrigeração a 5 °C.....</i>	<i>39</i>
<i>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.....</i>	<i>39</i>
<i>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.....</i>	<i>40</i>
<i>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.</i>	<i>41</i>
<i>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.</i>	<i>41</i>
<i>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 H₂S 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 H₂S em <i>P. aspera</i>.</i>	<i>43</i>
<i>Figura 27 – Resultado da concentração de histamina obtido no HPLC para o 14º.</i>	<i>44</i>

<i>Figura 28 – Média ($\pm dp$) da variação da concentração de CO₂/ 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 ($\pm dp$) da variação da concentração de CO₂/ 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 ($\pm dp$) da variação da concentração de CO₂/ 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 ($\pm dp$) da variação da concentração de CO₂/ 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 ($\pm dp$), 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).</i>	50
<i>Figura 33 – Média da taxa de Sobrevivência/ Mortalidade das 3 réplicas e o respetivo 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).</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 CO₂ 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.