

Aquacultura de *Chondrus crispus* e extração de carragenanas

João Rui de Azevedo Godinho Pereira Tanoeiro

2021/22

Aquacultura de *Chondrus crispus* e extração de carragenanas

João Rui de Azevedo Godinho Pereira Tanoeiro

Relatório de Estágio para obtenção do Grau de Mestre em Biotecnologia dos Recursos
Marinhos

Relatório de Estágio realizado sob a orientação do Professor Doutor Leonel Pereira, coorientação da Professora Doutora Clélia Afonso e supervisão do Mestre Tiago Morais

2021/22

Título: Aquacultura de *Chondrus crispus* e extração de carragenanas

Copyright © João Rui de Azevedo Godinho Pereira Tanoeiro

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche

Instituto Politécnico de Leiria

2022

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação/trabalho de projeto/relatório de estágio através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Depois de 5 anos de estudos na Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, acredito que o primeiro agradecimento neste documento deva ser à mesma e a todo o pessoal docente e não docente que enriqueceu a minha experiência enquanto aluno e membro da comunidade académica. Um prazer ter feito parte desta casa do Politécnico de Leiria, um nome que levarei para onde for na vida.

Um obrigado à minha família que sempre me apoiou. Posso afirmar sem dúvida nenhuma que nasci com sorte por ter nascido no meio do vosso amor e carinho. Mãe, Pai, Irmão, Avô e Avó: sem vocês nenhuma conquista teria o mesmo valor!

Aos meus orientadores, Professor Doutor Leonel Pereira e Professora Doutora Clélia Afonso, por toda a paciência ao longo deste processo. Duas referências marcantes nesta etapa: não só por uma simples ajuda num relatório de estágio, mas por toda a simpatia e disponibilidade na mesma. Neste sentido devo também agradecer ao João Cotas, que esteve sempre a um telefonema de distância.

À Praxe de Peniche, em especial à Comissão de Praxe. Esta aventura proporcionou-me algumas das minhas memórias preferidas. Estarei eternamente grato!

A todos os meus colegas, em especial aos que chamo de Padrinhos e Afilhados. Que a amizade e companheirismo continuem depois da conclusão de mais uma etapa.

Ao grupo de Microinfluenciadores e à força da natureza que é a Elisa Bento.

À Fórum Estudante pelas várias oportunidades de trabalho enquanto monitor e todas as amizades que tive o prazer de criar com a equipa e participantes de semanas temáticas.

À aliança europeia Regional University Network pelas oportunidades que a mesma proporcionou.

Já no contexto da empresa onde estagiei, tenho a agradecer ao Duarte Fortunato, João Carecho e Joana Tavares. Facilitaram imenso estes meses de estágio e foram apoios imprescindíveis!

A Deus.

Trabalho realizado no âmbito do mestrado de Biotecnologia dos Recursos Marinhos, na UC de Estágio, que conduziu aos seguintes outputs:

- 1 Comunicação no 4th Seaweed for Health, Ourense, Spain, 24-26 August.
- 1 Capítulo em Livro na Elsevier Publishers, Amsterdam (Netherlands).

Resumo

Sabe-se que as algas, no seu geral, são consumidas pelos seres humanos há milhares de anos. A procura deste alimento funcional, rico em compostos bioativos, continua a ser claramente superior nos países asiáticos (sendo parte da cultura culinária asiática), no entanto nos países ocidentais já se nota um crescimento na sua popularidade. A aquacultura de macroalgas poderá ser a solução para aumentar disponibilidade de biomassa algal e reduzir o seu custo drasticamente. A macroalga vermelha *Chondrus crispus* (conhecida comumente por Musgo Irlandês) é já reconhecida há séculos pelo seu uso alimentar e pelo seu teor em compostos de interesse para o Ser Humano. Com a visível diminuição deste recurso na nossa costa (nomeadamente devido à colheita excessiva para exploração e venda) e o seu elevado interesse biotecnológico, devido a compostos tais como as carragenanas, este estudo foca-se no desenvolvimento de técnicas de aquacultura desta espécie, de forma a mitigar os efeitos da sua colheita e verificar o teor em carragenanas. Foram comparadas quatro metodologias: *Free Floating*, Tentativa de fixação a Rocha, Gaiolas (*cages*) e linhas fixas semelhantes a *Long Line*. Visivelmente, o melhor método em termos de crescimento foi o Berçário 0, de tipologia *Free Floating*, em que ao 24º dia de cultivo obtivemos uma taxa específica de crescimento (SGR) de 2,08%/dia \pm 0,47. O pior método em termos de crescimento foi o Berçário 2 (com tentativa falhada de fixação da alga à rocha), onde a SGR a 28 dias foi de 0,33%/dia \pm 0,69. Já na extração de carragenanas da macroalga, toda a biomassa derivada dos métodos de aquacultura testados (Berçário 1- *Free Floating*; Berçário 2- Tentativa de fixação a rocha; e *cages*) demonstrou um menor teor de carragenanas quando comparada com a biomassa selvagem obtida por colheita (50,95%/dia \pm 4,10). No entanto, o método *Free Floating* do Berçário 1 apresentou um teor de carragenanas aceitável de 31,43% \pm 7,00. Após análise de valores de SGR semanais e redução de nutrientes na água dos berçários, foi visível uma correlação positiva. Devemos então investir na aquacultura desta espécie de forma a impedir a redução da mesma nas nossas costas de forma irreversível.

Palavras-Chave: Macroalga; Aquacultura; *Chondrus crispus*; Ecosustentabilidade; Carragenanas.

Abstract

It is known that algae in general have been consumed by humans for thousands of years. The demand for this functional food rich in bioactive compounds is still clearly higher in Asian countries (being embedded in Asian culinary culture), but its popularity is growing in Western countries. The aquaculture of macroalgae may be the key to increase the availability of algal biomass and reduce its cost drastically. The red macroalgae *Chondrus crispus* (commonly known as Irish Moss) has been recognized for centuries for its use as food and for its content of compounds of interest to humans. With the visible decline of this resource on our coast (notably due to over-harvesting for exploitation and sale) and its deepened interest due to compounds such as carrageenan, this study focuses on aquaculture of the species in order to mitigate the effects of its harvest and verify its carrageenan content. Four methods were compared: Free Floating, Attempted Rock Fixation, Cages and Long Line. The best method in terms of growth was Nursery 0, Free Floating, where at day 24 we obtained a Specific Growth Rate (SGR) of 2.08%/day \pm 0.47. The worst method in terms of growth was Nursery 2 (with failed attempt to attach the alga to the rock), where the SGR at 28 days was 0.33%/day \pm 0.69. As for the extraction of carrageenan from the macroalgae, all biomass derived from the aquaculture methods tested (Nursery 1- Free Floating; Nursery 2- Attempted Attachment to Rock; and Cages) showed a lower carrageenan content when compared to the wild biomass obtained by harvesting (50.95%/day \pm 4.10). However, the Free Floating method in Nursery 1 showed an acceptable Carrageenan content of 31.43% \pm 7.00. After analysing weekly SGR values and nutrient reduction in the nursery water, a positive correlation was apparent. Therefore, we must invest in the aquaculture of this species in order to prevent its irreversible reduction on our shores.

Keywords: Macroalgae; Aquaculture; *Chondrus crispus*; Ecosustainability; Carrageenans.

Índice de Conteúdo

1. Introdução	1
1.1. Lusalgae.....	1
1.2. Algas marinhas: Macroalgas e Microalgas.....	2
1.3. O interesse na aquacultura de algas.....	3
1.4. Rhodophyta	3
1.5. <i>Chondrus crispus</i>	4
1.6. Contexto histórico: O porquê da aquacultura de <i>C. crispus</i> fora da Ásia.....	4
1.6.1. Anos 1800-1900.....	5
1.6.2. Anos 1901-1950.....	6
1.6.3. 1951-1980.....	7
1.7. Objetivo	7
2. Metodologia	8
2.1. Berçário 0 (N0) – Teste de método <i>Free Floating</i> (Laboratório).....	8
2.2. Berçário 1 (N1) – <i>Free Floating</i> (Laboratório).....	10
2.3. Berçário 2 (N2) - Tentativa de fixar em Rocha (Laboratório).....	11
2.4. Berçário 3 (N3) – Linha Fixa (Laboratório)	12
2.5. Linhas de Berçário 3 em Tordos (N3 in Tordos) – Linhas de Laboratório transferidas para tanque exterior (Tanque industrial).....	13
2.6. Linhas Fixas Finais (FFL) (Tanque industrial).....	14
2.7. <i>Cages</i> (Tanque industrial).....	15
2.8. Extração de carragenanas	15
2.9. Análise estatística.....	16
3. Resultados.....	17
3.1. Berçário 0.....	17
3.2. Berçário 1.....	18
3.3. Berçário 2.....	19
3.4. Berçário 3.....	20
3.5. Berçário 3 em Tordos.....	22
3.6. Linhas Fixas Finais.....	23
3.7. <i>Cages</i>	25
3.8. Água Nova – Trocas de água	27
3.9. Nutrientes – Nitrato, Nitrito, Fosfato e Amônia	28
3.10. Visualização Geral dos dados de Crescimento	31

3.11. Extração de Carragenanas	33
4. Discussão de Resultados	34
4.1. Interpretação de valores SGR	34
4.2. Rendimento em Carragenanas	36
4.3. Dados Físico-químicos	36
4.4. Dados de Nutrientes.....	37
5. Conclusões	39
6. Bibliografia	41

Índice de figuras

Figura 1.1. Logótipo da empresa Lusalgae.....	1
Figura 1.2. Representação da disposição de tanques nas instalações da Lusalgae, na ilha da Morraceira.....	1
Figura 2.1. Localização da Praia da Tamargueira (Figueira da Foz) - Zona de colheita de Biomassa	8
Figura 2.2. Biomassa de <i>C. crispus</i> recolhida para estudos de crescimento.....	9
Figura 2.3. Berçário 0 em laboratório, um método Free Floating.	9
Figura 2.4. Berçário 1 em laboratório, um método Free Floating.	10
Figura 2.5. Um dos tanques usados para o método do berçário 2, com tentativa de fixação da alga à rocha.....	11
Figura 2.6. Réplicas A, B e C do método do Berçário 3, semelhante a Long Line.	13
Figura 2.7. Linha do Berçário 3 após transporte para Tanque Tordos.	14
Figura 2.8. Réplica de Linha Fixa Final, submergida.	14
Figura 2.9. Método por Cages em Tanque exterior.....	15
Figura 2.10. Película fina de carragenanas extraída da biomassa do Berçário 1.....	16
Figura 3.1. Crescimento da alga em cada método, à quarta semana, em percentagem.....	31
Figura 3.2. SGR semanal para todos os métodos efetuados.	31
Figura 3.3. SGR máximo para cada método testado.	32
Figura 3.4. Rendimento de carragenanas de cada método testado, em percentagem.	33

Índice de tabelas

Tabela 3.1. Resultado, em g, das pesagens semanais do Berçário 0.	17
Tabela 3.2. Resultados semanais de SGR para o Berçário 0.....	17
Tabela 3.3. Resultados de pesagens semanais, em g, para o Berçário 1.	18
Tabela 3.4. Resultados de SGR semanais para o Berçário 1.....	18
Tabela 3.5. Parâmetros Físico-químicos da água, medidos no Berçário 1, ao longo do tempo de ensaio.....	19
Tabela 3.6. Resultados da pesagem final e pesagem inicial no Berçário 2.	19
Tabela 3.7. Parâmetros físico-químicos da água do berçário 2, no decurso do ensaio.	20
Tabela 3.8. Resultados das pesagens semanais para o Berçário 3.	20
Tabela 3.9. Resultados de SGR semanal para o Berçário 3.	21
Tabela 3.10. Parâmetros físico-químicos da água do berçário 3, ao longo do tempo de ensaio.	21
Tabela 3.11. Resultados das pesagens semanais no decorrer dos ensaios do método Berçário 3 em Tordos.....	22
Tabela 3.12. Resultados de SGR semanais para o Berçário 3 em Tordos.....	22
Tabela 3.13. Parâmetros físico-químicos da água ao longo do Berçário 3 em Tordos.	23
Tabela 3.14. Resultado das pesagens semanais ao decorrer do método de Linhas Finais Fixas.	23
Tabela 3.15. Resultados semanais de SGR para o método de Linhas Finais Fixas.....	24
Tabela 3.16. Parâmetros físico-químicos da água ao longo do tempo no método de Linhas Finais Fixas.	24
Tabela 3.17. Resultado das pesagens semanais ao decorrer do método de Cages.	25
Tabela 3.18. Resultados semanais de SGR para o método Cages.....	25
Tabela 3.19. Parâmetros físico-químicos da água ao longo do tempo, no método Cages. ...	26
Tabela 3.20. Parâmetros físico-químicos da água Nova.	27
Tabela 3.21. Visão global das medições de Nitrito ($\mu\text{g/L}$), Nitrato (ppm), Fosfato ($\mu\text{g/L}$) e Amónia (mg/L) ao longo do Berçário 1, Berçário 2 e Berçário 3.	28
Tabela 3.22. Valores calculados para níveis de nutrientes após troca parcial de água - com as unidades de Nitrito em $\mu\text{g/L}$, Nitrato em ppm, Fosfato em $\mu\text{g/L}$ e Amónia em mg/L.....	29
Tabela 3.23. Percentagem de redução de nutrientes para cada dia de medição.	30
Tabela 3.24. Análise global de valores de SGR semanais.	32
Tabela 3.25. Resultados da extração de carragenanas em g e percentagem (relativamente ao peso seco da biomassa).....	33
Tabela 4.1. Comparação dos dados de crescimento (SGR) do Berçário 1 com a percentagem média de redução de nutrientes na água.....	38

Tabela 4.2. Comparação dos dados de crescimento (SGR) do Berçário 3 com a percentagem média de redução de nutrientes na água.....	38
--	----

Listas de abreviaturas, siglas e símbolos

N0 - Berçário 0

N1 - Berçário 1

N2 - Berçário 2

N3 - Berçário 3

N3 in Tordos - Linhas de Berçário 3 em Tordos

FFL - Linhas Fixas Finais

L - Litros

g - Gramas

h - Horas

SGR – Taxa Específica de Crescimento

pH – Potencial de Hidrogénio

%DO – Percentagem de Oxigénio Dissolvido

ppt TDS – Total de Sólidos Dissolvidos

PSU – Unidade Prática de Salinidade

°C – Graus Celsius

1. Introdução

1.1. Lusalgae

A Lusalgae (Figura 1.1.) é uma empresa estabelecida na Figueira da Foz cuja principal atividade é a aquacultura de macroalgas e comercialização das mesmas para vários setores.



Figura 1.1. Logótipo da empresa Lusalgae.

A empresa efetua exploração numa antiga aquacultura de robalo e dourada situada na Ilha da Morraceira. Foi fundada em 2016 por Tiago Morais e João Cotas com o auxílio da Incubadora do Mar & Indústria da Figueira da Foz e do MARE (maioritariamente do Laboratório de Algas Marinhas). Após diversos estudos e publicações no âmbito de biotecnologia e aquacultura de macroalgas, a empresa adquiriu instalações na Ilha da Morraceira, em 2021. Estas instalações são compostas por um adeiro (Adeiro 2) de 18 tanques de aquacultura, um tanque central (C) e um laboratório (Figura 1.2.). Associado às suas instalações, a Lusalgae tem acesso direto ao canal de entrada acessório, o Adeiro 1 – denominado Tordos (T).

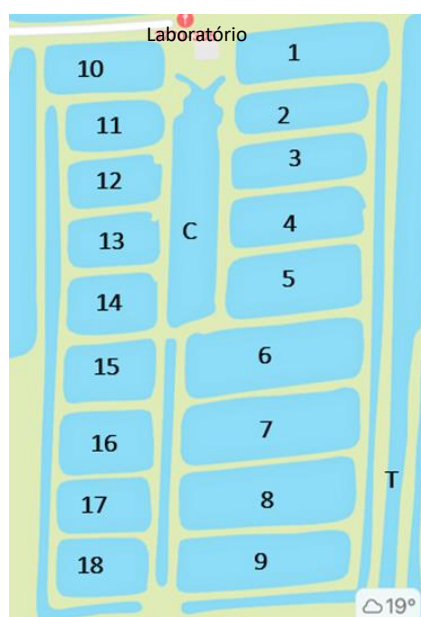


Figura 1.2. Representação da disposição de tanques nas instalações da Lusalgae, na ilha da Morraceira.

O meu estágio foi realizado, na sua maioria, nesta empresa, em tarefas associadas à produção de macroalgas. Entre as tarefas realizadas, destaca-se a montagem de gaiolas semirrígidas, a recolha e translocação de biomassa nos tanques de aquacultura, a recolha de biomassa de praias da Figueira da Foz e a montagem dos sistemas de linhas. Outras tarefas efetuadas no âmbito do mesmo foram relacionadas com a reabilitação dos espaços da empresa, tal como a recolha de lixo dos tanques e terreno, arrumação dos antigos espaços para renovação e montagem de material de laboratório, para além de todas as tarefas associadas aos ensaios realizados e cujos resultados são aqui apresentados.

1.2. Algas marinhas: Macroalgas e Microalgas

As algas marinhas fazem parte da dieta humana no hemisfério ocidental há bastante tempo. Foram até descobertas algas parcialmente consumidas no sul do Chile, cuja idade foi estimada em cerca de 14.000 anos (Dillehay et al., 2008). Apesar disto, uma grande parte da população mundial ainda não tem conhecimento dos benefícios associados ao consumo das algas marinhas e existe uma variedade de mal-entendidos sobre as mesmas. As algas marinhas são uma das fontes alimentares mais completa em nutrientes do planeta, servindo tanto de alimento como de habitat a uma grande variedade de formas de vida marinha (Nehal, 2014).

Estão divididas em dois grandes grupos, sendo eles as **Microalgas** e as **Macroalgas**:

As **Microalgas** são um grupo diverso de microrganismos que pode ser encontrado na água, no ar (Sahu & Tangutur, 2015), no solo (Subashchandrabose et al., 2011), em micro-habitats em cascas de árvores (Wicker & Bhatnagar, 2020) e, nalguns casos, até em animais (Pauli et al., 2014). As microalgas são classificadas como microrganismos eucarióticos contendo clorofila a, e podem ser observadas tanto em pequenas colónias, como em células individuais (Phwan et al., 2018).

Já as **Macroalgas** são organismos multicelulares, macroscópicos, eucarióticos e autotróficos. Apresentam-se como organismos simples divididos em três grandes grupos taxonómicos através das suas características, tal como a composição química da sua parede celular. Porém, a característica mais utilizada na agregação de grupos e classificação dos mesmos é a presença de pigmentos específicos que identificam claramente as macroalgas (Pereira, 2021). A presença de diferentes fitopigmentos é

diretamente relacionada com os diferentes habitats das espécies, visto que nem todas as macroalgas precisam da mesma intensidade de luz para realizar fotossíntese (Lordan et al., 2011). Indo ao encontro desta classificação, podemos observar uma divisão tricolor em macroalgas castanhas (Ochrophyta - Phaeophyceae), macroalgas vermelhas (Rhodophyta) e macroalgas verdes (Chlorophyta) (Pereira, 2021).

1.3. O interesse na aquacultura de algas

As macroalgas marinhas são consideradas como o alimento de origem vegetal do futuro, tendo merecido até o estatuto de “superalimento” – um termo do mercado alimentar em reconhecimento dos seus benefícios na saúde resultado de um perfil nutricional superior e da abundância em compostos bioativos (Circuncisão et al., 2018).

Apesar de existir já todo um mercado e conseqüente exploração por parte da indústria alimentar asiática, o mesmo não se verifica nos países ocidentais. Aqui as macroalgas são exploradas fundamentalmente como fonte de polissacarídeos funcionais (carragenanas, ágar e alginatos) utilizados como aditivos biológicos para conferir textura e estabilizar os alimentos, por exemplo (Harnedy & Fitzgerald, 2011; Roohinejad et al., 2017).

A aquacultura de macroalgas é um método eficiente de obtenção de biomassa algal necessária para uma grande variedade de produtos, de forma sustentável. Estes produtos podem enquadrar-se em várias indústrias tais como a alimentar (Holdt & Kraan, 2011), cosmética (Álvarez-Viñas et al., 2022), farmacêutica (Torres et al., 2021), biocombustíveis (Fasahati et al., 2015) e biopolímeros para uso em painéis solares (Bella et al., 2015).

1.4. Rhodophyta

O Filo Rhodophyta (macroalgas vermelhas) tem potencial para, futuramente, ser um dos principais cultivos para obtenção de compostos naturais, como ficocolóides, polímeros algais como substitutos da gelatina de natureza animal e até pigmentos naturais para a indústria têxtil (Cotas et al., 2020; Yoon et al., 2017).

Os polissacarídeos existentes no grupo Rhodophyta, agar e carragenanas, são dos biocompostos algais mais estudados e comercialmente aplicados, e cujos métodos de

extração e purificação estão mais avançados em termos de custo/eficácia e viabilidade econômica, devido a uma elevada pressão comercial. O ágar e as carragenanas são aplicados, por exemplo, nas indústrias alimentar e farmacêutica como ingredientes multifuncionais, tais como estabilizantes, emulsionantes e homogeneizadores, tendo estas aplicações promovido o crescimento da aquacultura de algas marinhas (Genicot et al., 2018; Mostafavi & Zaeim, 2020).

1.5. *Chondrus crispus*

Dentro deste filo de algas marinhas podemos observar a espécie *Chondrus crispus*, também conhecida como “Musgo Irlandês”. Esta macroalga vermelha cresce abundantemente nas costas rochosas do norte e centro do Oceano Atlântico (Sangha et al., 2013). É já muito usada para extração de carragenanas para uso alimentar (Collén et al., 2014) e exploração de propriedades bioativas (Holdt & Kraan, 2011). *C. crispus* também se destaca como uma das algas marinhas com maior concentração de fibras solúveis (15-22%) (Abreu et al., 2014).

Apesar da grande maioria da biomassa de *C. crispus* ser obtida por recolha, no seu habitat natural, já existe um esforço de produção no sudoeste asiático (ainda que insuficiente para satisfazer o mercado ocidental) desta macroalga vermelha em sistemas de aquacultura, com objetivo de inserção em mercados de elevado valor, nomeadamente o mercado alimentar com consumo direto da alga (Pereira, 2011).

1.6. Contexto histórico: O porquê da aquacultura de *C. crispus* fora da Ásia

Os componentes mucilaginosos do musgo irlandês e a sua comercialização têm uma história longa e amplamente documentada (Collén et al., 2014; Genicot et al., 2018; Humm, 1951; Lewis et al., 1986; McHugh, 1987; Nussinovitch, 1997; Stortz, 2005; Witt, 1985).

1.6.1. Anos 1800-1900

A utilidade do musgo irlandês estava bem estabelecida na Europa no início do século XIX. Dawson Turner, um banqueiro britânico que se tornou botânico, registou observações sobre certas algas marinhas vermelhas e a sua composição, salientando que “*Fucus crispus*” seria uma planta extremamente mutável quanto ao seu estado físico, sendo que após cozida fixava-se numa gelatina forte, e voltando a ser exposta ao calor retornava ao estado líquido. Turner também afirmou que a alga já era consumida tanto pelo Homem escocês como pelo irlandês (Turner, 1819).

O *F. crispus* de Turner é atualmente reconhecido como o *Chondrus crispus* Stackhouse, ou musgo irlandês. Esta alga vermelha, no entanto, não é um musgo, nem tem como zona exclusiva a Irlanda. É usada há séculos por irlandeses e outros europeus sob uma ampla variedade de nomes populares (Mitchell & Guiry, 1983).

A possibilidade de aprofundamento na utilização comercial adicional de musgo irlandês foi reconhecida ainda em meados do século XIX (Stanford, 1861).

Determinados aspetos da história de *C. crispus* e das suas utilizações foram analisados (Taylor & Chen, 1994) e a espécie tornou-se um organismo modelo para a investigação molecular e genética em algas vermelhas (Genicot et al., 2018).

O interesse pelo musgo irlandês na América do Norte parece ter crescido com as várias vagas de imigrantes irlandeses para a área de Boston nos séculos XVIII e início do XIX. A necessidade desta alga justificava um custo considerável através de importações da Irlanda (Humm, 1951; Smith, 1905).

Em 1835 já se reconhecia um crescimento abundante da alga na costa de Massachusetts e a sua primeira produção americana iniciou-se, nessa mesma costa, entre 1845 e 1848. Um extrato de água quente da alga marinha era tipicamente utilizado como gelatina vegetal em preparações alimentares como o manjar branco, e pelos seus benefícios medicinais e sanitários perceptíveis (William, 1864).

Embora a gelatina de origem animal fosse conhecida desde o final da Idade Média, era utilizada principalmente por aristocratas para ocasiões especiais, uma vez que a sua produção era lenta e trabalhosa. A introdução da gelatina granulada pela Knox em 1894 afetou drasticamente o preço recebido pelo musgo irlandês seco, e a colheita comercial das algas marinhas tornou-se relativamente pouco económica nas primeiras décadas do

século XX. As fontes baratas de mucilagens hidrocolóides de algas marinhas foram prontamente obtidas na Ásia nessa altura (Craigie et al., 2019).

1.6.2. Anos 1901-1950

A reduzida procura de musgo irlandês persistiu até à Segunda Guerra Mundial, quando o ágar japonês se tornou indisponível em 1941. Devido à importância crítica dos ficocolóides na bacteriologia, e como aditivos alimentares, foram urgentemente procuradas fontes alternativas tanto na Europa como na América do Norte. O governo britânico iniciou um grande estudo sobre algas marinhas que poderiam produzir quantidades comerciais de uma mucilagem com as propriedades físicas e químicas necessárias (Marshall & Newton, 1949).

O extrato (carragenanas) de Musgo irlandês (*C. crispus*) junto com o falso musgo irlandês, *Mastocarpus stellatus* (Stackhouse), anteriormente conhecido como *Gigartina stellata* ou *G. mammilosa*, foi considerado um substituto satisfatório do ágar, e, conseqüentemente, foi comercializado como "ágar britânico" (Bixler & Porse, 2011; Chopin, 1986; Collén et al., 2014; Ffrench, 1971; Genicot et al., 2018; Humm, 1951; MacFarlane, 1966; Pringle, 1989; Stoloff, 1949).

Ainda devido à Segunda Guerra Mundial a investigação sobre algas marinhas sofreu desenvolvimentos significativos no Canadá, na Escócia e na Noruega (Indergaard, 2017).

O Japão tinha entrado em guerra, impedindo os fornecimentos de ficocolóides provenientes da Ásia para usos alimentares e biotecnológicos (Craigie et al., 2019).

Apesar de o musgo irlandês ser branqueado e seco para exportação, a partir de meados da década de 1920 na Nova Escócia, as exportações significativas de musgo irlandês do Canadá começaram em 1940 e cresceram rapidamente, aumentando a oferta limitada disponível da Nova Inglaterra (Chopin, 2014; Humm, 1951; MacFarlane, 1966; Pringle, 1989; Snaith et al., 1969; Stoloff, 1949; Tseng, 1947)

1.6.3. 1951-1980

Ao longo da década de 1960 e início da década de 1970, a colheita de musgo irlandês aumentou drasticamente para satisfazer a crescente procura industrial de carragenanas (Chopin, 2014).

Estava a tornar-se evidente que a colheita de musgo irlandês seria insustentável a longo prazo se a procura de carragenanas continuasse a aumentar. Do mesmo modo, a oferta global de carragenófitas foi considerada insuficiente para apoiar a indústria em expansão (Doty, 1972). A procura global de carragenanas e a oferta limitada de carragenófitas também tinham interessado o Professor Dr. Maxwell S. Doty da Universidade do Hawaii (Doty, 1986). “Poderia a população em declínio de algas (para extração hidrocolóide de carragenanas) ser aumentada pela agricultura marinha ou agronomia marinha?”

A partir deste momento existiu um maior interesse na aquacultura de *C. crispus* e outras carragenófitas. No entanto, a informação sobre o cultivo de *C. crispus* Stackhouse é relativamente escassa, uma vez que os principais detalhes foram mantidos como propriedade das empresas que desenvolvem os seus métodos de crescimento (Pereira et al., 2013).

1.7. Objetivo

O foco deste estudo é a produção sustentável de *C. crispus* por meio de aquacultura da mesma. Nesse seguimento foram testados e comparados vários métodos. Estes métodos foram descritos de forma a existir possibilidade de serem replicados. Outro objetivo foi a quantificação de carragenanas nos indivíduos crescidos por diferentes métodos, quando comparados entre si e comparados com indivíduos selvagens. O estudo de nutrientes na água de aquacultura e seus efeitos no crescimento da macroalga foi também um foco.

2. Metodologia

2.1. Berçário 0 (N0) – Teste de método *Free Floating* (Laboratório)

Este berçário foi realizado a fim de testar o crescimento de *C. crispus* através do método de crescimento *Free Floating* em balão. Para tal, a biomassa da espécie foi recolhida a 6 de dezembro de 2021, na Praia da Tamargueira, Figueira da Foz, Portugal (Figura 2.1.). Os espécimes foram escolhidos pelo seu tamanho pequeno e aparência saudável (Figura 2.2.).

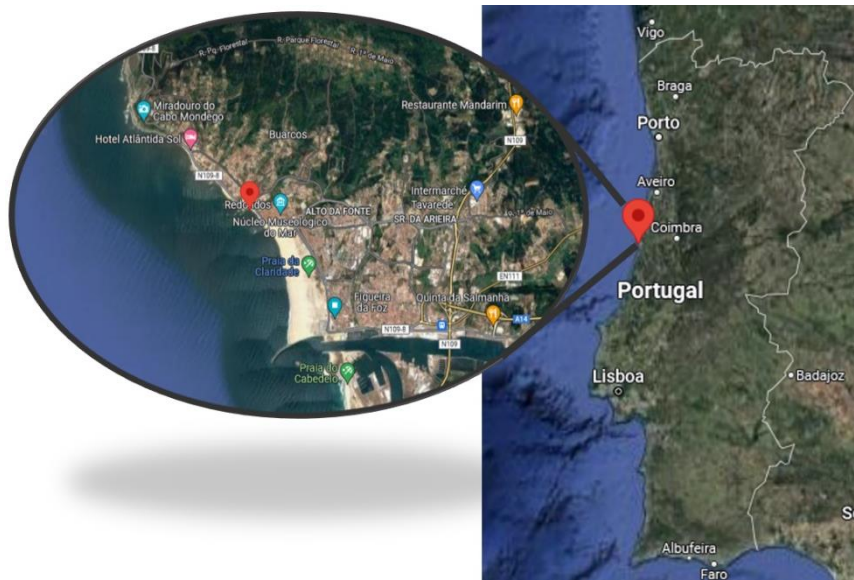


Figura 2.1. Localização da Praia da Tamargueira (Figueira da Foz) - Zona de colheita de Biomassa

Para cada balão inicial, foram pesadas cerca de 4 g de biomassa (peso fresco), a fim de se obter uma proporção aproximada de 2 g para cada litro de água salobra. A água utilizada no berçário foi recolhida do tanque 1 (devido à sua cristalinidade) e filtrada com o auxílio de meia de vidro e filtro de café.

Os balões, contendo 2L de água salobra e 4 g de biomassa cada um, foram colocados de modo a obter uma luminosidade entre 4000 e 4500 lux, com arejamento fraco (Figura 2.3.). Ambos os sistemas de luz e arejamento foram ligados a uma ficha de cronometragem de modo a estarem ligados das 18 h de um dia, até às 10 h do dia seguinte (16 h de luz:8 h de escuridão). Todos os berçários laboratoriais foram efetuados de acordo com o estudo de Souza Araujo et al., 2020, com a espécie *Calliblepharis jubata*, outra alga comestível vermelha produtora de carragenanas.



Figura 2.2. Biomassa de *C. crispus* recolhida para estudos de crescimento.



Figura 2.3. Berçário 0 em laboratório, um método *Free Floating*.

Foram feitas, semanalmente, trocas de água parciais (30% da água sendo substituída com água salobra do tanque 1 filtrada) e pesagens (às quartas-feiras) a fim de registar os dados de variação da biomassa.

Uma vez que se tratava apenas de um berçário de ensaio, não foram efetuadas medições dos parâmetros da água, e, por conseguinte, os únicos resultados obtidos estavam relacionados com o peso da biomassa.

2.2. Berçário 1 (N1) – *Free Floating* (Laboratório)

Para o Berçário 1, foram recolhidas algas na Praia da Tamargueira, Figueira da Foz, Portugal, a 19 de janeiro de 2022. Os indivíduos foram separados por tamanho e distribuídos de forma que os balões A, B e C apresentem os indivíduos mais pequenos (juvenis) e os balões D, E e F os indivíduos maiores (adultos).



Figura 2.4. Berçário 1 em laboratório, um método *Free Floating*.

Foram colocados aproximadamente 4 g de biomassa em cada balão, de modo a obter uma proporção de cerca de 2 g de biomassa por litro de água salobra (Figura 2.4.). Assim, cada balão continha 2 L de água salobra. A partir deste berçário, toda a água utilizada nos restantes métodos em laboratório foi recolhida do tanque tordos e filtrada apenas com meia de vidro. Esta escolha foi feita com base no aspeto limpo da água e na segurança nos seus parâmetros físico-químicos (nomeadamente pH, TDS e PSU). Os balões foram colocados de modo a obter uma luminosidade entre 4000 e 4500 lux, com arejamento fraco. Ambos os sistemas de luz e arejamento foram ligados a uma ficha de cronometragem de modo a estarem ligados das 18 h de um dia, até às 10 h do dia seguinte (16 h de luz:8 h de escuridão).

Ao longo deste ensaio as pesagens eram feitas todas as semanas (às quartas-feiras) e as mudanças de água foram feitas 3 vezes por semana (às segundas, quartas e sextas-feiras). Nestas mudanças de água, a proporção final seria de 70% de água velha para 30% de água nova. As águas (novas e velhas) seriam armazenadas para análise de nutrientes (nitratos, nitritos, fosfatos e amónia) com a ajuda de um fotómetro (HANNA Muliparameter Photometer HI83300) e mini checker (HANNA Marine Nitrate Checker

HI781). Todos os dias (possíveis) medições de parâmetros físico-químicos foram feitas com a ajuda de Sonda Multiparamétrica (HANNA Multiparameter WP pH/EC/OPDo/ORP HI98494).

No final do ensaio no berçário (16 de fevereiro de 2022), os indivíduos foram retirados, foi feita uma pesagem final, e estes foram embalados e congelados a vácuo para posterior análise do conteúdo em carragenanas.

2.3. Berçário 2 (N2) - Tentativa de fixar em Rocha (Laboratório)

Para o início do berçário 2, foram recolhidos espécimes de *C. crispus* na praia de Tamargueira a 16 de fevereiro de 2022. Estes espécimes foram pesados de modo a obter cerca de 6 g de biomassa para cada réplica. Cada réplica foi ligada a uma rocha calcária pesando entre 620 e 750 g, num esforço para se observar fixação da alga à rocha (Figura 2.5.). Após este procedimento, 3 réplicas (rocha e algas) foram distribuídas em cada tanque juntamente com 35 L de água salobra (de Tordos, filtrados através de uma meia de vidro). Os tanques foram colocados de modo a obter uma luminosidade entre 4000 e 4500 lux, com arejamento fraco. Ambos os sistemas de luz e arejamento foram ligados a uma ficha de cronometragem de modo a estarem ligados das 18 h de um dia, até às 10 h do dia seguinte (16 h de luz:8 h de escuridão).



Figura 2.5. Um dos tanques usados para o método do berçário 2, com tentativa de fixação da alga à rocha.

A troca de água foi parcial (troca de 10,5 L, 30% da quantidade total de água no tanque) realizada às segundas, quartas e sextas-feiras.

Todos os dias foram medidos os parâmetros físicos (com a ajuda da sonda multiparamétrica *Multiparameter* WP pH/EC/OPDo/ORP HI98494) e nos dias de mudança de água eram feitas as medições de amónia, fosfatos, nitritos e nitratos (com a ajuda do Fotómetro *Multiparameter* HI83300 e do *Mini Checker* de Nitratos Marinhos HI781).

Apenas os valores referentes à pesagem inicial e final do berçário são apresentados devido às fortes variações causadas pelo peso da rocha. Assim, apenas os valores sem rocha foram considerados fiáveis.

No final do ensaio no berçário (16 de março de 2022), os indivíduos foram retirados, foi feita uma pesagem final, e estes foram embalados a vácuo e congelados de forma a posteriormente ser feita uma extração e quantificação de carragenanas nesta biomassa.

2.4. Berçário 3 (N3) – Linha Fixa (Laboratório)

Para o berçário 3, a biomassa de *C. crispus* foi recolhida a 8 de março de 2022. Seis espécimes foram pesados com o seu órgão de fixação fixado no seu substrato natural. Estes foram pendurados num sistema semelhante a *Long Line* por um cordel à superfície da água do tanque, submergindo a alga com o seu órgão de fixação e substrato natural para cima (Figura 2.6.). Os tanques foram colocados de modo a obter uma luminosidade entre 4000 e 4500 lux, com arejamento fraco. Tanto a luz como o sistema de arejamento

foram ligados a uma ficha de cronometragem de modo a estarem ligados das 18 h de um dia, até às 10 h do dia seguinte (16 h de luz:8 h de escuridão).

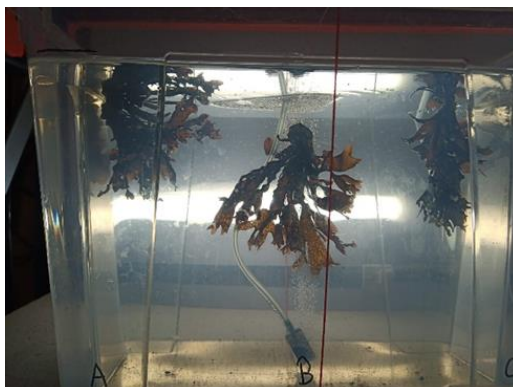


Figura 2.6. Réplicas A, B e C do método do Berçário 3, semelhante a *Long Line*.

Mudanças parciais de água (30%) foram realizadas todas as segundas, quartas e sextas-feiras, com medição diária dos parâmetros físicos da água com a ajuda de uma sonda multiparamétrica (*Multiparameter WP pH/EC/OPDo/ORP HI98494*). Nos dias de troca de água, as águas antigas e novas foram analisadas com a ajuda de um fotómetro de bancada (*Multiparameter Photometer HI83300*) e de um mini *checker* de nitrato marinho HI781 para obter o seu conteúdo de amónia, nitratos, nitritos e fosfatos.

2.5. Linhas de Berçário 3 em Tordos (N3 in Tordos) – Linhas de Laboratório transferidas para tanque exterior (Tanque industrial)

Posteriormente ao Berçário 3, os espécimes foram transferidos para uma linha ao ar livre no Tanque Tordos (Figura 2.7.). Este espaço foi escolhido devido ao constante fluxo e escoamento de água, semelhante ao habitat natural da espécie. Foram feitas pesagens todas as semanas, e foram feitas medições de parâmetros físico-químicos com a ajuda de Sonda Multiparamétrica (*Multiparameter WP pH/EC/OPDo/ORP HI98494*) sempre que possível.



Figura 2.7. Linha do Berçário 3 após transporte para Tanque Tordos.

2.6. Linhas Fixas Finais (FFL) (Tanque industrial)

Para este método, foi realizada uma recolha de biomassa na praia de Tamargueira no dia 29 de abril de 2022. Foram selecionados espécimes que ainda tinham substrato no seu órgão de fixação. Foram atados com cordel de nylon e dispostos no Tanque Tordos semelhantemente ao método utilizado para o Berçário 3 (Figura 2.8.). Foram feitas pesagens todas as semanas, e foram feitas medições de parâmetros físico-químicos com o auxílio de Sonda Multiparamétrica (*Multiparameter* WP pH/EC/OPDo/ORP HI98494) sempre que possível.



Figura 2.8. Réplica de Linha Fixa Final, submergida.

2.7. Cages (Tanque industrial)

Utilizando a biomassa recolhida 19 de janeiro (idêntica à utilizada no Berçário 1), foi criado um sistema de gaiolas (*cages*). A biomassa foi distribuída em *cages* semirrígidas de plástico de modo que cada uma acomodasse aproximadamente 0,5 kg. Estas foram fixas a uma corda estendida (com flutuadores) de um lado do tanque para o outro (Figura 2.9.). Sempre que possível, foram feitas medições dos níveis físicos da água com a ajuda da sonda multiparamétrica (*Multiparameter* WP pH/EC/OPDo/ORP HI98494).



Figura 2.9. Método por *Cages* em Tanque exterior.

2.8. Extração de carragenanas

A extração de carragenanas foi realizada utilizando a técnica relatada por Pereira & Van de Velde, em 2011. As algas marinhas moídas foram pesadas em balança (Radwag WLC 1/A2, Radwag, Radom, Polónia), e foram utilizadas amostras de 1 g e 0,7g (n = 3). Antes da extração, as algas moídas (1 g e 0,7g) foram ressuspensas e pré-tratadas durante 16 h a 4 °C com uma solução de acetona : metanol (1:1) a uma concentração final de 1% (m/v). Para a técnica de extração, a solução líquida foi decantada, e os resíduos de alga produzidos foram secos em estufa (Raypa DAF-135, R. Espinar S.L., Barcelona, Espanha) a 60°C.

As amostras foram imersas em NaOH (1 M) (numa proporção de 1 g de alga seca : 150 mL de solução de NaOH (1M)) num sistema de banho de água quente (GFL 1003, GFL, Burgwedel, Alemanha) durante 3 h a 85-90°C. Sob vácuo, as soluções foram filtradas

a quente através de um filtro de pano suportado por um funil Buchner e um balão Kitasato. Os extratos foram então filtrados sob vácuo utilizando um funil de sílica Goosh 2. Sob vácuo, o extrato foi evaporado até um terço do seu volume inicial (modelo de evaporador rotativo: 2600000, Witeg, Alemanha). As carragenanas foram precipitadas pela adição do dobro da quantidade de etanol a 96 por cento à solução aquecida. As carragenanas precipitadas foram lavadas com etanol e seca em estufa durante 48 h a 40°C (Figura 2.10.).



Figura 2.10. Película fina de carragenanas extraída da biomassa do Berçário 1.

2.9. Análise estatística

Todas as medições foram realizadas pelo menos em triplicado, e os dados foram expressos como média +/- desvio padrão. Todas as análises estatísticas foram consideradas significativas a um nível de 5% ($p < 0,05$). Para testar a normalidade e homogeneidade de variância, o teste de Shapiro-Wilk e o teste F de Levene foram utilizados, respetivamente. Sempre que os requisitos foram validados (normalidade e homogeneidade da variância), foi feita uma análise de variância (ANOVA) e testes t. Se os valores dos testes mostraram significância, foi feita uma comparação, usando os testes post-hoc de Tukey HSD. Sempre que os dados não seguiram a normalidade, foram feitos testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis. Foram realizadas análises estatísticas utilizando o IBM SPSS software estatístico, versão 28.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, EUA).

3. Resultados

3.1. Berçário 0

Efetuada o cálculo da SGR, aos 24 dias, o Berçário 0 (Tabela 3.1.), apresentou um SGR de 2,08 %/dia \pm 0,47. Este resultado foi surpreendente pelo rápido crescimento da alga, elevando a expectativa de todo o estudo em relação ao crescimento da espécie.

Tabela 3.1. Resultado, em g, das pesagens semanais do Berçário 0.

	6/12/21	15/12/21	27/12/21	30/12/21	5/1/22	10/1/22
BALÃO A	3,9	4,9	5,4	7,1	7,7	8,4
BALÃO B	4,6	5,6	6,6	7,4	8,2	8
BALÃO C	3,8	4,5	6,4	6,2	7,4	7,8
BALÃO D	4	4,5	4,2	5,1	5,4	5,7
BALÃO E	3,9	5,4	6,4	7,7	6,6	7,5
BALÃO F	3,9	4,6	5,2	6,9	6,3	6,8
BALÃO G	4,2	5,1	6,6	7	7,5	9,2
BALÃO H	3,7	4,3	5,2	5,9	5,7	6,5
BALÃO I	3,7	4,1	5,8	5,9	5,6	6,7
MÉDIA	3,97	4,78	5,76	6,58	6,71	7,40
DP	0,27	0,48	0,78	0,80	0,97	1,02

Foram também calculados os valores semanais de SGR para este berçário (Tabela 3.2.). Foi possível observar um resultado surpreendente em relação ao crescimento na semana 3. Este foi o valor de SGR semanal mais alto observado.

Tabela 3.2. Resultados semanais de SGR para o Berçário 0.

	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4	SEMANA 5
BALÃO A	2,54	0,81	9,12	1,35	1,74
BALÃO B	2,19	1,37	3,81	1,71	-0,49
BALÃO C	1,88	2,94	-1,06	2,95	1,05
BALÃO D	1,31	-0,57	6,47	0,95	1,08
BALÃO E	3,62	1,42	6,16	-2,57	2,56
BALÃO F	1,83	1,02	9,43	-1,52	1,53
BALÃO G	2,16	2,15	1,96	1,15	4,09
BALÃO H	1,67	1,58	4,21	-0,57	2,63
BALÃO I	1,14	2,89	0,57	-0,87	3,59
MÉDIA	2,04	1,51	4,52	0,29	1,97
DP	0,69	1,02	3,43	1,66	1,33

3.2. Berçário 1

O berçário 1 apresentou 3 réplicas com menores dimensões – juvenis (juv): A, B e C; e 3 réplicas com maiores dimensões – adultos (ad): D, E e F (Tabela 3.3.).

Aos 21 dias de crescimento, as réplicas menores do Berçário 1 (Juvenis) apresentaram uma SGR de 1,54 %/dia \pm 0,14. As réplicas maiores (adultos) apresentaram um SGR de 1,94 %/dia \pm 0,26.

Tabela 3.3. Resultados de pesagens semanais, em g, para o Berçário 1.

	19/1/22	26/1/22	2/2/22	9/2/22	16/2/22
BALÃO A	4	4,5	4,8	5,3	5,3
BALÃO B	4	5,1	5,3	5,7	5,6
BALÃO C	4,1	4,6	4,7	5,6	5
MÉDIA	4,03	4,73	4,93	5,53	5,30
DP	0,05	0,26	0,26	0,17	0,24
BALÃO D	4,5	6	6,6	7	6,5
BALÃO E	4,2	5,1	5,3	6,6	6,1
BALÃO F	4,3	5,3	5,7	6	6
MÉDIA	4,33	5,47	5,87	6,53	6,20
DP	0,12	0,39	0,54	0,41	0,22

O SGR semanal foi, também, calculado (Tabela 3.4.).

Tabela 3.4. Resultados de SGR semanais para o Berçário 1.

	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4
BALÃO A	1,68	0,92	1,42	0
BALÃO B	3,47	0,55	1,04	-0,25
BALÃO C	1,64	0,31	2,5	-1,62
MÉDIA	2,26	0,59	1,65	-0,62
DP	0,85	0,25	0,62	0,71
BALÃO D	4,11	1,36	0,84	-1,06
BALÃO E	2,77	0,55	3,13	-1,13
BALÃO F	2,99	1,04	0,73	0
MÉDIA	3,29	0,98	1,57	-0,73
DP	0,59	0,33	1,11	0,52

Os resultados das medições de parâmetros físico-químicos foram também estudados (Tabela 3.5.).

Tabela 3.5. Parâmetros Físico-químicos da água, medidos no Berçário 1, ao longo do tempo de ensaio.

	N1												
	mVpH	pH	mVORP	%DO	ppmDO	mS/cm	mS/cm ^a	MΩ,cm	ppt Tds	PSU	σt	°C	psi
21/jan	-62,40	8,09	226,60	112,30	10,45	33,74	25,65	0,00	16,87	21,19	15,80	12,38	14,73
24/jan	-76,10	8,34	199,60	111,20	10,52	34,08	25,43	0,00	17,04	21,42	16,10	11,64	14,74
25/jan	-76,90	8,36	199,60	112,90	10,74	33,07	24,76	0,00	16,53	20,72	15,60	11,78	14,77
28/jan	-73,00	8,27	94,90	114,10	10,63	33,80	26,00	0,00	16,92	21,27	15,80	12,82	14,81
31/jan	-70,00	8,22	131,60	117,30	10,97	33,90	26,00	0,00	16,97	21,33	15,90	12,63	14,81
02/fev	-75,70	8,31	99,20	118,00	10,72	33,80	26,70	0,00	16,91	21,27	15,60	13,87	14,78
04/fev	-75,00	8,30	105,00	118,90	10,72	35,40	27,80	0,00	17,68	22,33	16,50	13,70	14,76
07/fev	-98,10	8,73	89,70	153,20	14,23	35,40	27,00	0,00	17,68	22,32	16,70	12,58	14,80
09/fev	-82,40	8,44	106,60	123,00	11,14	35,50	28,00	0,00	17,76	22,44	16,50	13,81	14,81
11/fev	-81,70	8,44	126,90	122,20	11,74	38,10	27,60	0,00	19,06	24,19	18,50	10,44	14,79
14/fev	-37,50	7,61	83,20	117,80	10,69	35,70	27,70	0,00	17,87	22,59	16,80	13,20	14,74
16/fev	-67,80	8,21	125,30	117,70	13,17	37,80	23,00	0,00	18,89	23,57	18,70	4,40	14,85

3.3. Berçário 2

Para o Berçário 2 só houve pesagem do peso inicial e peso final devido ao potencial erro atribuído ao peso da rocha (tabela 3.6.). Aos 28 dias, o Berçário 2 apresentou um SGR de 0,33 %/dia ± 0,83.

Tabela 3.6. Resultados da pesagem final e pesagem inicial no Berçário 2.

	16/2/22	16/3/22
RÉPLICA A	6	6,4
RÉPLICA B	6,7	4,4
RÉPLICA C	5,9	9,7
RÉPLICA D	5,7	6,5
RÉPLICA E	6,6	7
RÉPLICA F	5,5	5,5
RÉPLICA G	5,6	5,9
RÉPLICA H	6,1	8,3
RÉPLICA I	5,2	6
MÉDIA	5,92	6,63
SD	0,47	1,48

Os resultados das medições de parâmetros físico-químicos foram também registados (Tabela 3.7.).

Tabela 3.7. Parâmetros físico-químicos da água do berçário 2, no decurso do ensaio.

	N2												
	mVpH	pH	mVORP	%DO	ppmDO	mS/cm	mS/cm ^a	MΩ,cm	ppt Tds	PSU	σt	°C	psi
16/fev	-71,70	8,24	125,13	121,93	11,00	36,33	28,80	0,00	18,18	23,03	16,97	14,08	14,85
18/fev	-78,20	8,35	112,70	131,20	11,45	36,83	29,73	0,00	18,42	23,39	17,10	14,83	14,74
21/fev	-78,13	8,36	140,93	132,03	11,99	37,13	29,13	0,00	18,57	23,59	17,47	13,69	14,86
22/fev	-81,03	8,41	184,13	137,90	12,39	38,40	30,70	0,00	19,20	24,48	17,97	14,46	14,94
23/fev	-87,23	8,51	124,37	132,90	11,95	37,87	29,47	0,00	18,92	20,72	17,90	13,20	14,77
24/fev	-88,57	8,55	150,80	142,87	12,50	39,13	31,03	0,00	19,57	24,99	18,43	14,11	14,72
25/fev	-81,63	8,42	156,07	130,40	11,63	39,17	30,97	0,00	19,57	24,99	18,47	14,00	14,84
02/mar	-75,87	8,32	75,60	124,87	10,98	39,97	31,80	0,00	19,98	25,57	18,87	14,28	14,81
03/mar	-74,43	8,29	171,73	124,63	10,75	40,03	32,33	0,00	20,03	25,64	18,83	14,87	14,76
04/mar	-63,43	8,09	192,80	97,47	8,91	40,27	30,67	0,00	20,13	25,74	19,33	12,42	14,81
07/mar	-72,03	8,25	155,13	120,47	10,71	40,40	30,77	0,00	20,20	25,84	19,40	12,47	14,62
08/mar	-72,30	8,25	163,63	124,97	10,98	40,80	31,80	0,00	20,40	26,15	19,47	13,40	14,69
09/mar	-71,10	8,23	119,57	125,53	10,86	40,60	32,30	0,00	20,29	26,01	19,23	14,24	14,70
10/mar	-82,70	8,44	116,50	138,97	11,93	41,37	33,27	0,00	20,68	26,58	19,53	14,70	14,74
11/mar	-80,53	8,40	225,93	126,10	10,58	41,33	33,77	0,00	20,65	26,54	19,37	15,39	14,67
14/mar	-73,73	8,28	198,53	123,43	10,54	41,70	32,60	0,00	20,85	26,79	19,93	13,56	14,54
15/mar	-82,87	8,45	125,80	124,47	10,92	39,50	30,50	0,00	19,74	25,20	18,80	13,02	14,58
16/mar	-81,03	8,41	96,90	125,37	10,86	39,80	31,60	0,00	19,91	25,47	18,83	14,10	14,66

3.4. Berçário 3

Aos 29 dias, o Berçário 3 (Tabela 3.8.), apresentou um SGR médio de 0,99 %/dia ± 0,37.

O seu SGR semanal foi também calculado (Tabela 3.9.).

Tabela 3.8. Resultados das pesagens semanais para o Berçário 3.

	8/3/22	16/3/22	23/3/22	30/3/22	6/4/22
RÉPLICA A	22,1	24,2	26,2	26	25,5
RÉPLICA B	21,3	24	25,7	25,4	26,6
RÉPLICA C	6,9	8,2	8,9	8,6	9,3
RÉPLICA D	6,9	8,3	9	9,4	11,2
RÉPLICA E	13,2	14,8	15,7	16,3	16,7
RÉPLICA F	4,1	5,5	6,8	5,3	5,8
MÉDIA	12,42	14,17	15,38	15,17	15,85
DP	7,11	7,56	7,96	8,14	7,91

Tabela 3.9. Resultados de SGR semanal para o Berçário 3.

	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4
RÉPLICA A	1,3	1,13	-0,11	-0,28
RÉPLICA B	1,7	0,98	-0,17	0,66
RÉPLICA C	2,47	1,17	-0,49	1,12
RÉPLICA D	2,64	1,16	0,62	2,5
RÉPLICA E	1,63	0,84	0,54	0,35
RÉPLICA F	4,2	3,03	-3,56	1,29
MÉDIA	2,32	1,39	-0,53	0,94
DP	0,96	0,74	1,41	0,87

Os resultados das medições de parâmetros físico-químicos foram também registados (Tabela 3.10.).

Tabela 3.10. Parâmetros físico-químicos da água do berçário 3, ao longo do tempo de ensaio.

	N3												
	mVpH	pH	mVORP	%DO	ppmDO	mS/cm	mS/cm^a	MΩ,cm	ppt Tds	PSU	σt	°C	psi
09/mar	-68,90	8,19	115,60	120,25	10,19	41,60	33,80	0,00	20,78	26,73	19,60	15,17	14,71
10/mar	-76,55	8,32	115,65	126,50	10,56	42,05	34,85	0,00	21,02	27,06	19,65	15,99	14,75
11/mar	-80,25	8,38	217,95	125,90	10,26	42,05	35,50	0,00	21,04	27,10	19,55	16,76	14,68
14/mar	-85,30	8,49	194,75	125,05	10,42	41,65	33,60	0,00	20,85	26,81	19,70	14,81	14,55
15/mar	-86,15	8,51	126,25	125,20	10,64	40,65	32,40	0,00	20,33	26,07	19,25	14,32	14,58
16/mar	-87,20	8,52	97,35	125,80	10,55	40,95	33,55	0,00	20,48	26,30	19,20	15,49	14,67
17/mar	-68,20	8,17	68,45	121,30	10,44	39,50	32,00	0,00	19,74	25,25	18,45	15,06	14,75
18/mar	-78,65	8,36	120,15	124,80	10,65	37,25	30,80	0,00	18,61	23,66	17,05	15,94	14,75
21/mar	-81,35	8,40	172,35	123,30	10,26	36,80	31,35	0,00	18,42	23,40	16,60	17,18	14,73
22/mar	-71,20	8,22	201,30	117,45	9,73	38,30	32,30	0,00	19,16	24,44	17,50	16,75	14,68
23/mar	-79,20	8,37	140,95	124,60	10,25	38,25	32,45	0,00	19,12	24,39	17,35	17,03	14,67
24/mar	-75,95	8,32	123,00	116,65	9,94	37,55	30,80	0,00	18,79	23,91	17,30	15,55	14,69
25/mar	-71,75	8,23	174,45	122,20	10,23	37,20	31,20	0,00	18,58	23,63	16,90	16,61	14,70
28/mar	-69,70	8,19	161,30	122,85	10,01	37,70	32,60	0,00	18,84	23,99	16,90	17,91	14,71
29/mar	-64,15	8,09	156,65	112,30	9,04	37,65	32,55	0,00	18,83	23,96	16,85	17,94	14,62
30/mar	-67,20	8,15	155,20	123,45	9,95	37,65	32,55	0,00	18,82	23,96	16,90	17,81	14,61
31/mar	-71,25	8,22	137,80	123,55	10,12	37,80	32,25	0,00	18,91	24,08	17,10	17,31	14,66
01/abr	-68,60	8,18	124,75	123,40	10,27	38,05	32,10	0,00	19,01	24,22	17,35	16,79	14,71
04/abr	-69,45	8,20	46,70	124,40	10,61	38,70	31,20	0,00	19,36	24,70	18,10	14,82	14,63
06/abr	-68,75	8,19	32,05	124,45	10,63	38,40	31,30	0,00	19,20	24,48	17,85	15,30	14,70

3.5. Berçário 3 em Tordos

Aos 28 dias após transporte da biomassa do Berçário 3 para o Tanque Tordos, calculou-se um SGR de 0,54 %/dia \pm 0,84 (Tabela 3.11.).

Tabela 3.11. Resultados das pesagens semanais no decorrer dos ensaios do método Berçário 3 em Tordos.

	6/4/22	13/4/22	20/4/22	27/4/22	4/5/22
RÉPLICA A	25,5	26,9	26,1	29,4	24,1
RÉPLICA B	26,6	28,6	26	23,7	25,9
RÉPLICA C	9,3	8,2	11,6	9,8	13,4
RÉPLICA D	11,2	11,9	6,9	9,4	11,3
RÉPLICA E	16,7	18	19,5	22,6	29,6
RÉPLICA F	5,8	5,8	4,6	6,3	6,1
MÉDIA	15,85	16,57	15,78	16,87	18,40
DP	7,91	8,77	8,62	8,70	8,57

Os resultados de SGR semanais foram também calculados (Tabela 3.12.).

Tabela 3.12. Resultados de SGR semanais para o Berçário 3 em Tordos.

	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4
RÉPLICA A	0,76	-0,43	1,7	-2,84
RÉPLICA B	1,04	-1,36	-1,32	1,27
RÉPLICA C	-1,8	4,96	-2,41	4,47
RÉPLICA D	0,87	-7,79	4,42	2,63
RÉPLICA E	1,07	1,14	2,11	3,85
RÉPLICA F	0	-3,31	4,49	-0,46
MÉDIA	0,32	-1,13	1,5	1,49
DP	1,01	3,91	2,62	2,53

Os resultados das medições de parâmetros físico-químicos foram também registados (Tabela 3.13.).

Tabela 3.13. Parâmetros físico-químicos da água ao longo do Berçário 3 em Tordos.

	N3 in Tordos												
	mVpH	pH	mVORP	%DO	ppmDO	mS/cm	mS/cm ^a	MΩ,cm	ppt Tds	PSU	σt	°C	psi
06/abr	-69,80	8,20	130,20	123,55	10,11	40,70	34,30	0,00	20,35	26,13	18,75	16,73	14,66
13/abr	-74,90	8,27	55,90	137,35	10,63	39,50	36,45	0,00	19,74	25,24	17,10	20,97	14,81
14/abr	-80,55	8,36	117,15	161,55	12,10	37,90	36,65	0,00	18,95	24,08	15,65	23,22	14,82
18/abr	-82,00	8,40	137,00	169,20	13,13	42,75	38,45	0,00	21,38	27,58	19,20	19,69	14,76
27/abr	-73,30	8,23	93,75	158,30	11,60	39,95	39,10	0,00	19,99	25,53	16,55	23,84	14,80
28/abr	-80,50	8,36	78,30	174,70	12,91	39,35	38,50	0,00	19,67	25,09	16,20	23,84	14,84

3.6. Linhas Fixas Finais

Aos 21 dias, o método de Linhas Finais Fixas demonstrou um SGR de 1,18 %/dia \pm 1,14 (Tabela 3.14.).

Tabela 3.14. Resultado das pesagens semanais ao decorrer do método de Linhas Finais Fixas.

	6/4/22	13/4/22	20/4/22	27/4/22	4/5/22
RÉPLICA A	25,5	26,9	26,1	29,4	24,1
RÉPLICA B	26,6	28,6	26	23,7	25,9
RÉPLICA C	9,3	8,2	11,6	9,8	13,4
RÉPLICA D	11,2	11,9	6,9	9,4	11,3
RÉPLICA E	16,7	18	19,5	22,6	29,6
RÉPLICA F	5,8	5,8	4,6	6,3	6,1
MÉDIA	15,85	16,57	15,78	16,87	18,40
DP	7,91	8,77	8,62	8,70	8,57

Os resultados semanais de SGR foram também calculados (Tabela 3.15.).

Tabela 3.15. Resultados semanais de SGR para o método de Linhas Finais Fixas.

	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4
RÉPLICA A	3,19	1,08	0,78	-2,76
RÉPLICA B	4,79	1,95	1,14	-0,87
RÉPLICA C	2,58	2,05	0,13	0,5
RÉPLICA D	5,67	0,13	1,09	-1,34
RÉPLICA E	3,17	0,17	-1,48	0,54
RÉPLICA F	1,48	1,34	-0,9	0,84
RÉPLICA G	0,06	-0,82	0,76	-0,11
RÉPLICA H	2,72	2,14	1,74	0,56
RÉPLICA I	-0,37	-0,19	-2,62	0,06
MÉDIA	2,59	0,87	0,07	-0,29
DP	1,87	1,02	1,36	1,1

Os resultados das medições de parâmetros físico-químicos foram também registados (Tabela 3.16.).

Tabela 3.16. Parâmetros físico-químicos da água ao longo do tempo no método de Linhas Finais Fixas.

	FFL												
	mVpH	pH	mVORP	%DO	ppmDO	mS/cm	mS/cm ^a	MΩ,cm	ppt Tds	PSU	σt	°C	psi
09/mai	-77,10	8,30	12,70	116,05	8,42	44,50	43,65	0,00	22,26	28,78	18,95	23,95	14,87
10/mai	-89,35	8,50	20,95	198,60	13,84	45,05	46,40	0,00	22,51	29,08	18,40	26,58	14,92
11/mai	-95,65	8,61	128,95	218,45	14,97	45,50	47,35	0,00	22,77	29,43	18,50	27,09	14,88
13/mai	-102,70	8,74	98,60	206,90	14,46	43,80	44,50	0,00	21,90	28,22	18,00	25,86	14,82
17/mai	-76,75	8,30	126,60	147,35	10,96	49,10	46,05	0,00	24,53	32,12	22,10	21,77	14,92
18/mai	-89,40	8,52	139,60	173,65	12,24	49,00	48,35	0,00	24,51	32,04	21,35	24,26	14,84
20/mai	-82,80	8,40	161,50	110,40	8,09	49,35	46,95	0,00	24,69	32,34	22,10	22,42	14,90
23/mai	-90,30	8,53	95,95	186,90	13,11	49,65	49,05	0,00	24,82	32,49	21,65	24,39	14,84
24/mai	-93,60	8,60	108,65	178,45	13,10	50,00	46,70	0,00	25,00	32,81	22,65	21,57	14,82
25/mai	-97,55	8,67	130,80	194,10	14,03	50,40	48,50	0,00	25,20	33,08	22,50	23,04	14,91
26/mai	-93,95	8,59	80,50	189,10	13,45	50,70	50,30	0,00	25,36	33,27	22,15	24,58	15,00
27/mai	-95,85	8,61	70,50	219,55	14,98	49,55	51,10	0,00	24,77	32,35	20,85	26,64	14,91

3.7. Cages

Após 21 dias, o método *Cages* demonstrou um SGR de 1,05 %/dia \pm 0,29 (Tabela 3.17.).

Tabela 3.17. Resultado das pesagens semanais ao decorrer do método de *Cages*.

	19/1/22	26/1/22	2/2/22	9/2/22	16/2/22	23/2/22
CAGE A	0,5	0,54	0,56	0,62	0,54	0,48
CAGE B	0,5	0,54	0,54	0,58	0,54	0,46
CAGE C	0,46	0,5	0,5	0,62	0,5	0,48
MÉDIA	0,49	0,53	0,53	0,61	0,53	0,47
DP	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01

Os resultados semanais de SGR foram também calculados (Tabela 3.18.).

Tabela 3.18. Resultados semanais de SGR para o método *Cages*.

	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4	SEMANA 5
CAGE A	1,1	0,52	1,45	-1,97	-1,68
CAGE B	1,1	0	1,02	-1,02	-2,29
CAGE C	1,19	0	3,07	-3,07	-0,58
MÉDIA	1,13	0,17	1,85	-2,02	-1,52
DP	0,04	0,24	0,88	0,84	0,71

Os resultados das medições de parâmetros físico-químicos foram também registados (Tabela 3.19.).

Tabela 3.19. Parâmetros físico-químicos da água ao longo do tempo, no método *Cages*.

	Cages												
	mVpH	pH	mVORP	%DO	ppmDO	mS/cm	mS/cm ^a	MΩ,cm	ppt Tds	PSU	σt	°C	psi
20/jan	-106,80	8,91	215,20	146,90	13,68	35,44	26,83	0,00	17,72	22,37	16,80	12,21	15,76
24/jan	-133,20	9,40	233,50	134,30	12,67	35,41	26,35	0,00	17,71	22,33	16,80	11,54	14,75
25/jan	-141,75	9,56	214,45	174,70	16,74	35,82	26,31	0,00	17,91	22,61	17,10	11,02	14,79
26/jan	-42,40	7,66	-200,90	81,60	7,91	34,46	24,67	0,00	17,24	21,63	16,50	10,05	14,77
27/jan	-101,55	8,80	-24,30	147,90	13,99	34,69	26,28	0,00	17,32	21,85	16,35	12,25	14,86
28/jan	-122,60	9,19	-9,30	183,85	17,48	31,60	24,20	0,00	15,81	19,75	14,65	12,69	14,88
31/jan	-102,60	8,82	3,65	162,45	15,57	33,40	25,35	0,00	16,69	20,95	15,60	12,37	14,93
01/fev	-92,90	8,64	37,15	155,05	14,39	35,90	27,75	0,00	17,95	22,71	16,90	13,04	14,88
02/fev	-88,95	8,56	152,45	175,85	15,77	37,60	29,70	0,00	18,79	23,89	17,65	13,94	14,82
03/fev	-78,55	8,37	110,00	150,20	13,41	40,70	31,60	0,00	20,35	26,08	19,45	13,25	14,79
04/fev	-84,40	8,48	133,55	161,35	14,33	40,50	31,80	0,00	20,26	25,97	19,30	13,69	14,81
07/fev	-96,00	8,68	196,30	224,55	19,79	34,30	28,25	0,00	17,16	21,63	15,55	15,74	14,86
08/fev	-85,35	8,49	133,25	165,20	14,77	33,45	27,31	0,00	16,72	21,03	15,15	15,34	14,86
09/fev	-69,15	8,19	172,50	139,75	12,71	29,15	23,75	0,00	14,59	18,12	12,95	15,24	14,85
10/fev	-90,80	8,59	33,35	156,20	14,30	26,40	21,65	0,00	13,20	16,23	11,45	15,54	14,87
11/fev	-73,00	8,26	-14,60	109,35	9,55	31,45	26,45	0,00	15,74	19,67	13,90	16,58	14,83
14/fev	-86,05	8,51	-21,85	155,30	14,31	29,20	23,25	0,00	14,60	18,12	13,10	14,29	14,81
15/fev	-85,75	8,50	46,75	119,00	10,97	28,25	22,85	0,00	14,14	17,50	12,55	14,86	14,88
17/fev	-86,10	8,50	113,00	122,95	11,04	29,30	24,15	0,00	14,64	18,18	12,90	15,76	14,84
18/fev	-92,80	8,62	145,40	148,05	12,77	32,60	27,30	0,00	16,31	20,47	14,55	16,37	14,74
21/fev	-95,95	8,69	101,95	129,00	11,79	34,00	27,20	0,00	17,00	21,41	15,60	14,47	14,92
22/fev	-92,55	8,62	120,30	127,55	11,48	34,20	27,65	0,00	17,10	21,56	15,65	14,95	14,90
23/fev	-96,60	8,70	112,45	140,90	12,39	34,35	28,00	0,00	17,19	21,67	15,65	15,26	14,77

3.8. Água Nova – Trocas de água

A cada troca de água nos berçários efetuou-se medição e registo dos parâmetros físico-químicos da água nova inserida no sistema (Tabela 3.20.).

Tabela 3.20. Parâmetros físico-químicos da água Nova.

	Água Nova (inserida nas trocas de água)												
	mVpH	pH	mVORP	%DO	ppmDO	mS/cm	mS/cm ^{^a}	MΩ,cm	ppt Tds	PSU	σt	°C	psi
21/jan	-106,60	8,89	201,10	122,60	11,00	33,82	26,77	0,00	16,91	21,28	15,60	14,03	14,72
25/jan	-106,60	8,93	190,30	111,60	11,13	34,23	23,99	0,00	17,12	21,45	16,50	9,25	14,74
28/jan	-109,00	8,94	90,30	113,70	10,96	34,00	25,10	0,00	16,99	21,33	16,10	11,28	14,82
31/jan	-105,70	8,90	126,00	111,20	11,20	33,90	23,80	0,00	16,97	21,24	16,30	9,31	14,82
02/fev	-64,90	8,13	102,60	118,90	11,44	35,20	25,80	0,00	17,60	22,17	16,80	10,93	14,79
04/fev	-75,10	8,32	110,60	124,10	11,73	35,60	26,50	0,00	17,81	22,48	17,00	11,50	14,76
07/fev	-80,80	8,43	97,10	121,80	12,02	35,70	25,40	0,00	17,85	22,48	17,20	9,82	14,81
09/fev	-80,40	8,41	110,10	122,60	11,29	37,70	28,80	0,00	18,87	23,97	18,00	12,54	14,81
11/fev	-78,10	8,36	123,40	121,10	10,70	38,00	30,30	0,00	18,99	24,18	17,80	14,41	14,80
14/fev	-76,10	8,33	77,10	121,00	11,01	37,80	28,90	0,00	18,89	24,01	18,00	12,68	14,74
18/fev	-75,00	8,34	97,00	113,80	11,89	37,60	24,50	0,00	18,82	23,65	18,50	6,63	14,74
21/fev	-75,40	8,30	134,90	126,20	10,75	39,50	32,90	0,00	19,75	25,27	18,20	16,21	14,85
23/fev	-75,80	8,33	129,00	125,30	11,65	40,00	29,70	0,00	19,98	25,50	19,30	11,45	14,77
25/fev	-95,40	8,64	131,30	172,50	13,59	39,30	35,80	0,00	19,67	25,14	17,20	20,19	14,83
02/mar	-92,50	8,59	136,70	158,70	12,85	39,60	35,10	0,00	19,81	25,35	17,70	18,98	14,87
04/mar	-95,80	8,70	190,90	163,80	15,32	40,10	29,80	0,00	20,06	25,61	19,40	11,41	14,82
07/mar	-65,70	8,12	157,00	131,20	10,84	41,90	34,50	0,00	20,97	26,99	19,70	15,69	14,62
09/mar	-74,90	8,29	112,30	131,00	10,87	41,40	34,50	0,00	20,72	26,64	19,30	16,25	14,72
11/mar	-81,20	8,41	216,40	131,50	11,11	41,60	33,80	0,00	20,79	26,73	19,60	15,10	14,69
14/mar	-81,50	8,42	174,30	126,30	10,95	39,60	30,90	0,00	19,78	25,27	18,80	13,42	14,56
18/mar	-68,80	8,19	125,90	122,20	11,30	36,00	27,50	0,00	17,99	22,75	17,00	12,60	14,79
21/mar	-58,20	7,99	168,60	120,80	10,26	40,00	32,60	0,00	19,98	25,58	18,70	15,25	14,70
23/mar	-47,60	7,80	146,60	119,90	10,58	36,10	28,60	0,00	18,06	22,88	16,80	13,97	14,67
25/mar	-67,40	8,15	170,50	125,60	10,42	37,10	31,60	0,00	18,55	23,57	16,70	17,15	14,71
28/mar	-73,30	8,26	146,90	126,40	10,83	37,10	30,50	0,00	18,53	23,55	17,00	15,72	14,74
30/mar	-58,10	7,99	158,10	113,90	9,90	38,70	30,60	0,00	19,37	24,71	18,30	13,98	14,64
01/abr	-73,60	8,28	121,60	131,20	11,77	38,70	29,90	0,00	19,33	24,63	18,40	13,11	14,73
04/abr	-53,10	7,89	38,40	121,30	10,40	38,60	31,40	0,00	19,28	24,59	17,90	15,21	14,72

3.9. Nutrientes – Nitrato, Nitrito, Fosfato e Amónia

Ao longo do tempo de ensaio, nos Berçário 1, Berçário 2 e Berçário 3, registaram-se todas as medições de nutrientes efetuadas em dias de trocas de água. As medições foram feitas em relação ao Nitrito ($\mu\text{g/L}$), Nitrato (ppm), Fosfato ($\mu\text{g/L}$) e Amónia (mg/L). Mediu-se sempre a água nova e a água já presente no tanque (Tabela 3.21.).

Tabela 3.21. Visão global das medições de Nitrito ($\mu\text{g/L}$), Nitrato (ppm), Fosfato ($\mu\text{g/L}$) e Amónia (mg/L) ao longo do Berçário 1, Berçário 2 e Berçário 3.

	NOVA				N1				N2				N3			
	Nitrito	Nitrato	Fosfato	Amónia	Nitrito	Nitrato	Fosfato	Amónia	Nitrito	Nitrato	Fosfato	Amónia	Nitrito	Nitrato	Fosfato	Amónia
21/jan	23,67	0,00			23,67	0,00										
25/jan	25,67	0,00			21,67	0,00										
28/jan	26,33	0,00			24,33	0,00										
31/jan	25,00	0,00			26,67	0,00										
02/fev	22,33	0,00			19,00	0,00										
04/fev	24,33	0,00			25,33	0,00										
07/fev	13,67	0,00			20,33	0,00										
09/fev	17,00	0,00			22,00	0,00										
11/fev	25,33	0,00	191,67	0,28	26,33	0,00	206,67	0,03								
14/fev	23,67	0,00	1000,00	0,23	23,67	0,00	976,67	0,22								
16/fev	21,67	0,00	580,00	2,42	29,33	0,00	193,33	10,75	21,67	0,00	580,00	2,42				
18/fev	25,00	0,00	430,00	1,23					23,67	0,00	285,00	0,05				
21/fev	18,67	0,67	523,33	6,02					31,00	0,00	650,00	10,93				
23/fev	17,67	0,00	1133,33	0,12					21,33	0,00	140,00	0,22				
25/fev	18,33	0,00	310,00	0,03					20,67	0,07	133,33	0,20				
02/mar	27,00	0,00	386,67	0,28					20,00	0,00	456,67	5,67				
04/mar	17,33	0,40	446,67	0,65					25,33	0,10	176,67	0,03				
07/mar	16,67	0,00	223,33	0,70					24,67	0,00	533,33	6,50				
09/mar	28,67	0,00	233,33	5,30					23,67	0,00	213,33	5,67	28,67	0,00	233,33	5,30
11/mar	25,67	0,00	176,67	0,00					4,00	0,00	710,00	0,27	30,00	0,00	336,67	0,82
14/mar	28,67	0,00	413,33	0,52					14,67	0,37	660,00	0,13	10,00	0,00	313,33	0,03
16/mar	32,00	0,00	373,33	10,82					15,33	0,33	776,67	0,45	19,00	0,27	230,00	0,48
18/mar	24,67	0,23	410,00	0,25									21,67	0,00	186,67	0,03
21/mar	22,67	0,23	196,67	1,38									17,33	0,00	390,00	0,40
23/mar	30,33	0,20	253,33	5,38									23,00	0,10	353,33	5,58
25/mar	22,33	0,87	160,00	0,00									17,33	0,00	406,67	0,35
28/mar	22,33	0,00	493,33	0,23									20,67	0,00	711,67	0,27
30/mar	22,67	0,00	446,67	0,20									30,67	0,20	490,00	5,43
01/abr	25,67	0,00	356,67	0,68									28,67	0,00	186,67	3,75
04/abr	20,67	0,00	690,00	0,20									26,33	0,00	385,00	4,58
06/abr													25,00	0,00	286,67	3,97

Fizeram-se também os cálculos para os valores das águas após troca parcial de água (Tabela 3.22.).

Tabela 3.22. Valores calculados para níveis de nutrientes após troca parcial de água - com as unidades de Nitrito em µg/L, Nitrato em ppm, Fosfato em µg/L e Amónia em mg/L.

	N1				N2				N3			
	Nitrito	Nitrato	Fosfato	Amónia	Nitrito	Nitrato	Fosfato	Amónia	Nitrito	Nitrato	Fosfato	Amónia
21/jan	23,67	0,00										
25/jan	22,87	0,00										
28/jan	24,93	0,00										
31/jan	26,17	0,00										
02/fev	20,00	0,00										
04/fev	25,03	0,00										
07/fev	18,33	0,00										
09/fev	20,50	0,00										
11/fev	26,03	0,00	202,17	0,11								
14/fev	23,67	0,00	983,67	0,22								
16/fev	27,03	0,00	309,33	8,25	21,67	0,00	580,00	2,42				
18/fev					24,07	0,00	328,50	0,41				
21/fev					27,30	0,20	612,00	9,46				
23/fev					20,23	0,00	438,00	0,19				
25/fev					19,97	0,05	186,33	0,15				
02/mar					22,10	0,00	435,67	4,05				
04/mar					22,93	0,19	257,67	0,22				
07/mar					22,27	0,00	440,33	4,76				
09/mar					25,17	0,00	219,33	5,56	28,67	0,00	233,33	5,30
11/mar					10,50	0,00	550,00	0,19	28,70	0,00	288,67	0,57
14/mar					18,87	0,26	586,00	0,25	15,60	0,00	343,33	0,18
16/mar					20,33	0,23	655,67	3,56	22,90	0,19	273,00	3,58
18/mar									22,57	0,07	253,67	0,10
21/mar									18,93	0,07	332,00	0,70
23/mar									25,20	0,13	323,33	5,52
25/mar									18,83	0,26	332,67	0,25
28/mar									21,17	0,00	646,17	0,26
30/mar									28,27	0,14	477,00	3,86
01/abr									27,77	0,00	237,67	2,83
04/abr									24,63	0,00	476,50	3,27
06/abr									25,00	0,00	286,67	3,97

Com esta informação, foi possível calcular a percentagem de redução de nutrientes para cada dia (Tabela 3.23.).

Tabela 3.23. Percentagem de redução de nutrientes para cada dia de medição.

	N1				N2				N3			
	Nitrito	Nitrato	Fosfato	Amónia	Nitrito	Nitrato	Fosfato	Amónia	Nitrito	Nitrato	Fosfato	Amónia
21/jan												
25/jan	8,45	0,00										
28/jan	-6,41	0,00										
31/jan	-6,95	0,00										
02/fev	27,39	0,00										
04/fev	-26,67	0,00										
07/fev	18,77	0,00										
09/fev	-20,00	0,00										
11/fev	-28,46	0,00										
14/fev	9,09	0,00	-383,10	-100,00								
16/fev	-23,94	0,00	80,35	-4749,62								
18/fev					-9,23	0,00	50,86	97,93				
21/fev					-28,81	0,00	-97,87	-2599,59				
23/fev					21,86	100,00	77,12	97,71				
25/fev					-2,14	0,00	69,56	-6,01				
02/mar					-0,17	100,00	-145,08	-3677,78				
04/mar					-14,63	0,00	59,45	99,18				
07/mar					-7,56	100,00	-106,99	-2877,10				
09/mar					-6,29	0,00	51,55	-19,05				
11/mar					84,11	0,00	-223,71	95,20	-4,65	0,00	-44,29	84,59
14/mar					-39,68	0,00	-20,00	28,57	65,16	0,00	-8,55	94,17
16/mar					18,73	-29,87	-32,54	-81,21	-21,79	0,00	33,01	-171,03
18/mar									5,39	100,00	31,62	99,07
21/mar									23,19	100,00	-53,75	-306,78
23/mar									-21,48	-42,86	-6,43	-703,36
25/mar									31,22	100,00	-25,77	93,66
28/mar									-9,73	100,00	-113,93	-11,56
30/mar									-44,88	0,00	24,17	-1979,08
01/abr									-1,42	100,00	60,87	2,93
04/abr									5,16	0,00	-61,99	-61,96
06/abr									-1,49	0,00	39,84	-21,37

3.10. Visualização Geral dos dados de Crescimento

Para facilitar a análise dos dados de crescimento, calculou-se o crescimento, em percentagem, para a quarta semana, em todos os métodos estudados (Figura 3.1.).

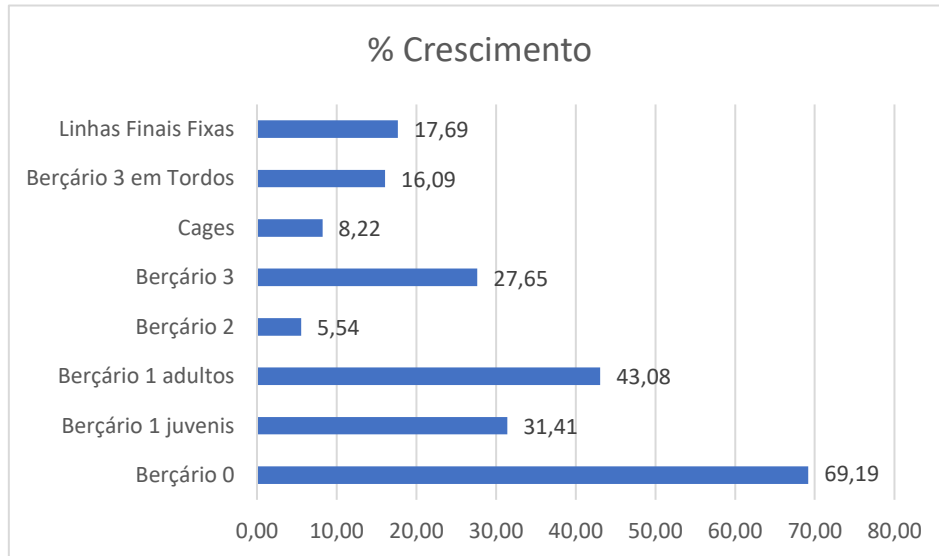


Figura 3.1. Crescimento da alga em cada método, à quarta semana, em percentagem.

De forma a comparar os diferentes resultados para SGR semanal, foi elaborado um gráfico com todos os resultados de todos os métodos testados (Figura 3.2.).

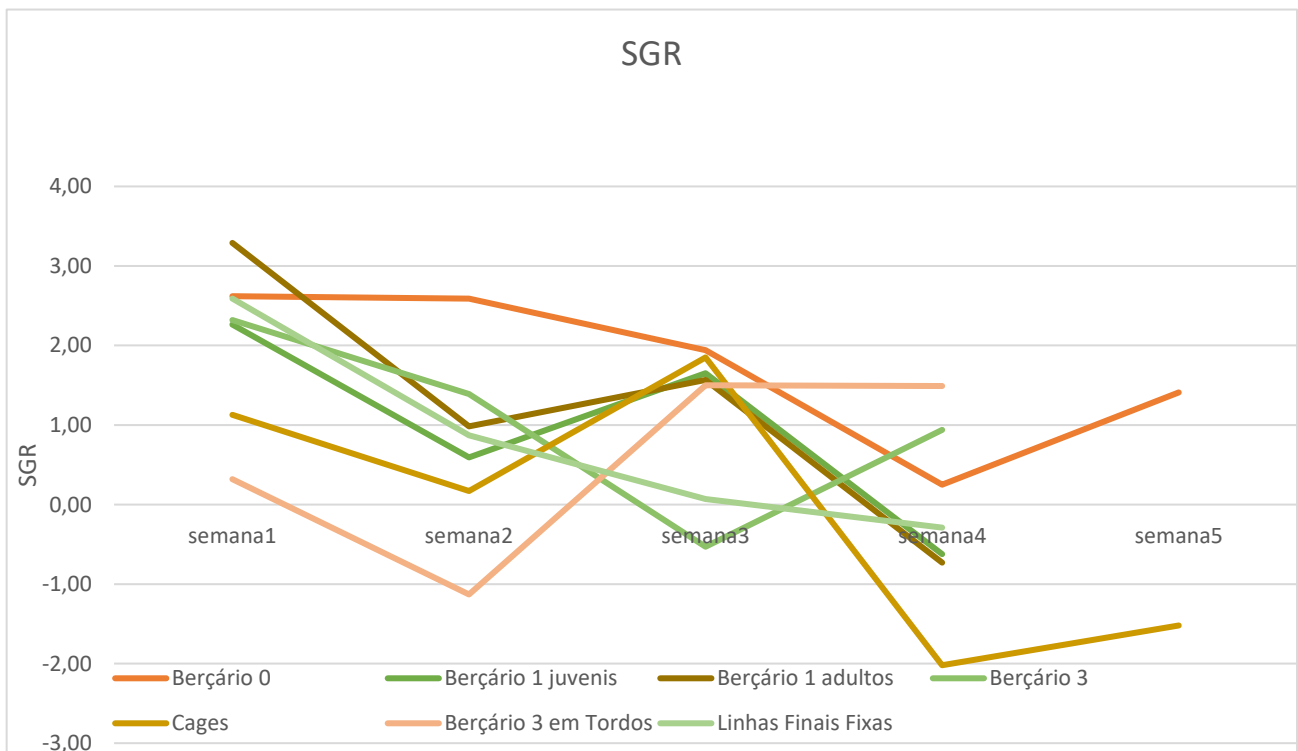


Figura 3.2. SGR semanal para todos os métodos efetuados.

Após análise dos resultados de SGR para o Berçário 3, concluiu-se que para esta avaliação seria preferível dividir os resultados entre *outliers* – Berçário 3,2 – e *inliers* – Berçário 3,1 (Tabela 3.24.).

Tabela 3.24. Análise global de valores de SGR semanais.

	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4
BERÇÁRIO 0	2,036 ± 0,692 _{a,b}	1,511 ± 1,025 ^a	4,520 ± 3,426 ^a	0,287 ± 1,664 ^a
BERÇÁRIO 1 JUVENIS	2,266 ± 0,852 ^{a,b}	0,593 ± 0,253 ^a	1,653 ± 0,621 ^{a,b}	-0,624 ± 0,711 ^a
BERÇÁRIO 1 ADULTOS	3,290 ± 0,586 ^a	0,984 ± 0,334 ^a	1,569 ± 1,107 ^{a,b}	-0,728 ± 0,516 ^a
BERÇÁRIO 3,1	1,595 ± 0,424 ^{a,b}	1,094 ± 0,084 ^a	-0,256 ± 0,167 _{a,b}	0,583 ± 0,677 ^a
BERÇÁRIO 3,2	2,470 ± 0,922 ^{a,b}	1,677 ± 0,966 ^a	-0,801 ± 1,951 ^b	1,609 ± 1,030 ^a
BERÇÁRIO 3 EM TORDOS	0,323 ± 1,013 ^b	-1,132 ± 3,912 ^a	1,498 ± 2,618 ^{a,b}	1,487 ± 2,529 ^a
CAGES	1,130 ± 0,043 _{a,b}	0,173 ± 0,245 ^a	1,849 ± 0,883 ^{a,b}	-2,022 ± 0,839 ^a
LINHA FIXA FINAL	2,586 ± 1,868 ^a	0,872 ± 1,025 ^a	0,070 ± 1,355 ^{a,b}	-0,288 ± 1,104 ^a

Para melhor interpretação de resultados, fez-se também um gráfico representante do SGR máximo de cada método (Figura 3.3.).

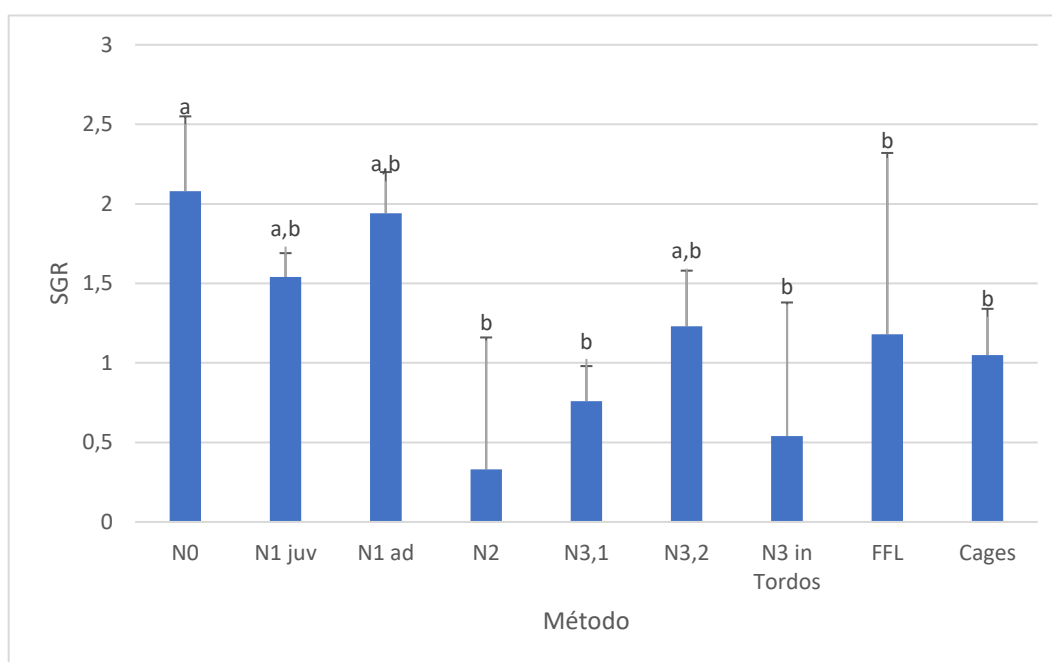


Figura 3.3. SGR máximo para cada método testado.

3.11. Extração de Carragenanas

As carragenanas em Berçário 1 e selvagem foram extraídas a partir de 0,7g de biomassa seca. As carragenanas extraídas do método Berçário 2 e Cages foram realizadas a partir de 1 g de biomassa seca. Esta diferença de massa utilizada deve-se à fraca disponibilidade de biomassa do Berçário 1 e selvagem. Estes foram os únicos métodos testados devido a questões logísticas.

Tabela 3.25. Resultados da extração de carragenanas em g e percentagem (relativamente ao peso seco da biomassa).

	N1	%	N2	%	CAGES	%	SELV	%
	0,28	40	0,3	30	0,08	8	0,39	55,71
	0,22	31,43	0,23	23	0,46	46	0,32	45,71
	0,16	22,86	0,39	39	0,21	21	0,36	51,43
MÉDIA	0,22	31,43	0,31	30,67	0,25	25	0,36	50,95
DP	0,05	7,00	0,07	6,55	0,16	15,77	0,03	4,10

Para interpretação facilitada de dados, os resultados de rendimento de carragenanas foram compilados num gráfico simples (Figura 3.4.).

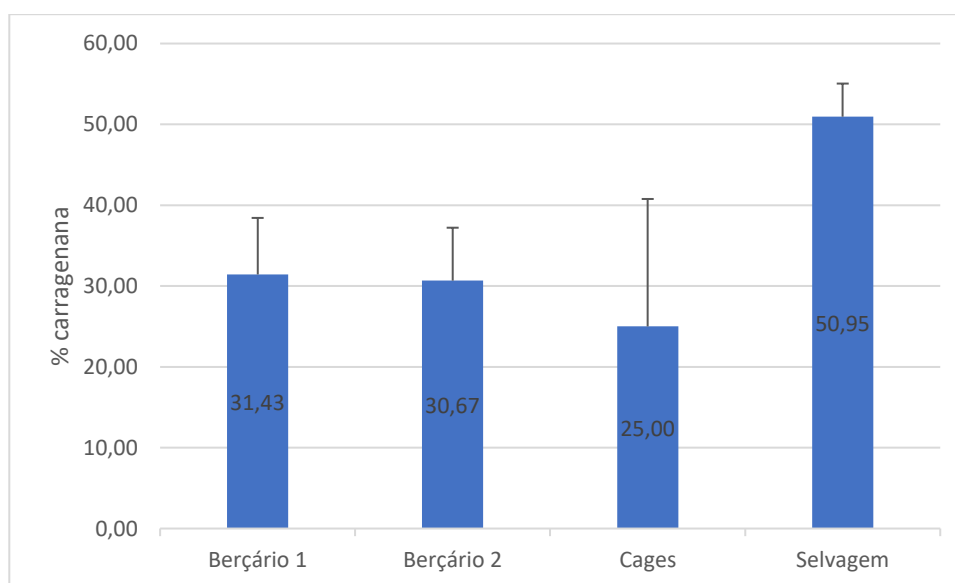


Figura 3.4. Rendimento de carragenanas de cada método testado, em percentagem.

4. Discussão de Resultados

4.1. Interpretação de valores SGR

Feita uma comparação com estudos prévios, é possível concluir que se obteve um crescimento aceitável na grande maioria dos métodos testados. Os estudos anteriores, efetuados em Tanques de 1000 L com método *Free Floating*, obtiveram uma SGR de 1,31 %/dia após os primeiros 14 dias (2ª pesagem) (Ministro, 2020). A maioria dos métodos estudados na duração deste estágio ultrapassaram este valor na sua primeira semana (2ª pesagem), com a exceção do Berçário 3 em Tordos e método *Cages* (Tabela 3.24.). Já o Berçário 2 (do qual só se obtiveram peso inicial e final, sem pesagem semanal) ficou também aquém deste resultado.

De acordo com os resultados apresentados para uma SGR global, o método de crescimento mais eficaz é o Berçário 0, a 24 dias, com um SGR de 2,08 %/dia \pm 0,47. O Berçário 1 com indivíduos adultos (réplicas D, E e F) também mostrou um resultado interessante com um SGR de 1,94 %/dia \pm 0,26.

O método menos eficaz, de acordo com a SGR global, foi o método de tentativa de fixação a Rocha (Berçário 2), que alcançou um SGR de 0,33 %/dia \pm 0,69. A própria tentativa de fixação pode ter danificado as algas e inibido o seu crescimento pelo uso de fio de nylon. O expectável seria que a alga penetrasse a rocha numa tentativa de fixação e ocorresse degradação biofísica da mesma (Morrison et al., 2009). O mesmo não se verificou.

Outro método com um SGR fraco foi a transição do Berçário 3 para o Tanque Tordos (Berçário 3 em Tordos), com um SGR de 0,54 %/dia \pm 0,84. Uma vez que neste método as algas já tinham estado no laboratório há algum tempo (a duração do Berçário 3), seria de esperar que o seu SGR fosse reduzido quando comparado com os métodos que utilizavam biomassa recém-colhida. Disto isto, é de notar que, mesmo assim, foi alcançado algum crescimento neste método.

Estes resultados indicam que, de acordo com um rápido olhar sobre o SGR global, os métodos de crescimento mais eficazes são os métodos *Free Floating* onde as algas são soltas e agitadas através do arejamento. Contudo, estes métodos só foram testados em pequena escala, pelo que seria necessário outro teste em grande escala para ter a certeza da eficiência da produção de algas nesta metodologia.

Da interpretação da Figura 3.2., podemos concluir que o SGR semanal mais consistente foi o do Berçário 0, que seria esperado do método com o melhor SGR global e maior percentagem de crescimento. No entanto, podemos observar vários pontos negativos no gráfico, o que significa que houve uma diminuição do peso da biomassa. Isto pode ser explicado pela morte de partes das algas ou, no caso de métodos de tanques (Berçário 3 em Tordos, Linhas Fixas Finais, *Cages*), consumo por peixes presentes nos tanques. Outra explicação é o erro do utilizador, tal como a incoerência na remoção da água presente na superfície das algas antes da pesagem.

Ao observar o SGR semanal de cada Berçário (Tabela 3.24.) podemos constatar que apenas encontramos diferenças estatisticamente significativas nas transições semanais da Semana 1 para Semana 2 no Berçário 3 em Tordos e na Semana 2 para Semana 3, e Semana 3 para Semana 4 nos *outliers* do Berçário 3 (Berçário 3,2). Todas estas diferenças estatisticamente significativas foram provocadas por valores negativos no SGR semanal. Estes valores negativos podem ser explicados por perda de lâminas da macroalga, excesso de água nas réplicas em pesagens anteriores ou até, no caso no Berçário 3 em Tordos, o consumo das algas por parte de peixes presentes nos tanques.

Ao estudar os valores de SGR para a semana 1 é possível observar que apenas um resultado apresenta diferenças estatisticamente significativas dos restantes, sendo esta réplica proveniente do método Berçário 3 em Tordos. Esta diferença seria espectável devido ao valor de SGR baixo para a 1ª semana. O baixo valor de SGR pode ser explicado pela transição de indivíduos já fragilizados (provenientes de Tanque de laboratório) para Tanque exterior, enquanto todos os restantes Métodos foram efetuados com Biomassa recolhida da natureza no próprio dia.

Por estudo dos valores máximos de SGR para cada método (Figura 3.3.), foi possível reafirmar a conclusão anterior de que o Berçário 0 foi o mais efetivo em termos de taxa de crescimento. Este método foi o único a apresentar diferenças estatisticamente significativas em relação aos 5 piores resultados de SGR (Berçário 2, *Inliers* do Berçário 3, Berçário 3 em Tordos, Linhas Finais Fixas e *Cages*).

4.2. Rendimento em Carragenanas

Foi possível extrair carragenanas em todos os métodos testados, e mesmo o método com o menor teor de carragenanas apresenta uma percentagem aceitável (método *Cages* com um rendimento médio de $25,00\% \pm 15,77$), até superior ao registado no estudo de Pereira & Van de Velde, em 2011 (cerca de 20% para *C. crispus*). Quando comparada com a biomassa selvagem, observa-se um menor teor de carragenanas na biomassa proveniente dos métodos de aquacultura testados. Isto pode ocorrer devido a alteração de propriedades naturais das algas quando recolhidas e mantidas em tanques de água com propriedades diferentes das encontradas no seu meio natural. Das extrações efetuadas, os maiores rendimentos provêm das algas selvagens ($50,95\% \pm 4,10$) e do método Berçário 1 ($31,43\% \pm 7,00$). Apesar da acentuada diferença, tendo em conta que há uma visível redução de espécimes de *C. crispus* na costa portuguesa, a aquacultura desta espécie pode fornecer uma quantidade de carragenanas suficiente para sustentar a indústria sem prejudicar a natureza, apresentando-se como uma alternativa mais sustentável.

4.3. Dados Físico-químicos

Através da análise das tabelas referentes a dados físico-químicos, podemos afirmar que existem grandes variações dos parâmetros, principalmente devido à época do ano em que as medições foram feitas. Em geral, o pH mais baixo foi medido em laboratório, pois experienciaram-se alguns dias em que os tanques exteriores tinham um pH perigosamente elevado (e por isso foram abertas as comportas de forma a trocar a água do tanque).

Quanto à oxigenação, em laboratório, o objetivo foi observar 120% de oxigénio dissolvido (Matos et al., 2005), mas os tanques exteriores apresentavam sempre uma

oxigenação mais elevada, cerca de 150% de oxigénio dissolvido. O total de sólidos dissolvidos era mais controlável em laboratório, e como os tanques exteriores eram feitos em fundo de terra, esperávamos que o TDS fosse mais elevado. As nossas medições em laboratório foram sempre próximas dos 20 ppt TDS. Pelo contrário, o método das Linhas Fixas Fixas apresentou um valor médio de TDS de 24,03 ppt TDS. Isto poderá ter prejudicado o crescimento das algas, impedindo a fotossíntese devido ao bloqueio da luz solar por parte dos sólidos dissolvidos na água. Quanto à temperatura, tínhamos diferenças óbvias devido à época do ano. O método das Linhas Fixas Fixas teve a temperatura média mais alta da água com 24.34°C. A temperatura média mais baixa foi também num tanque externo, no Método *Cages*, com um valor médio de 13.93°C. Já a salinidade mais elevada foi observada na água do método Linhas Fixas Fixas, no qual se verificou uma salinidade média de 31,33 PSU. A salinidade mais baixa (de média 21,12 PSU) foi observada na água do método *Cages*. Ainda assim estes valores foram superiores aos 19,7 PSU registados no estudo de Matos et. al, em 2005. Estes extremos vão ao encontro do expectável, visto que se esperava que as maiores variâncias da média viessem de métodos em Tanques exteriores, nos quais o controlo de água é dificultado por vários fatores tais como aspetos meteorológicos e a necessidade de compatibilidade das marés para trocar a água dos tanques.

A variabilidade destes parâmetros pode ser um enorme problema a ultrapassar nesta indústria para as empresas que utilizam tanques exteriores industriais.

4.4. Dados de Nutrientes

Ao analisar a tabela 3.23. podemos verificar que segundo os dados obtidos houve uma fraca redução de qualquer dos nutrientes por parte da alga. O método testado com maior redução de Nitrito foi o método do Berçário 3, com 2,06% de redução média. Para os nitratos a grande maioria das medições igualou o valor dos mesmos a 0,0 ppm, indicando-nos que o método de medição usado não seria sensível o suficiente para este tipo de amostra. Porém o método com maior redução foi novamente o método do Berçário 3 com 38,10% de redução média. Um resultado aquém do expectável segundo os resultados de Corey et al., em 2013, em que *C. crispus* apresentou capacidades de redução de nitrato em 56,35% em 24 h de ensaio.

Em relação ao Fosfato, depois de calculada a média de redução para toda a duração dos métodos testados, podemos verificar que não existiu redução, pelo contrário, houve um aumento médio tanto do conteúdo em Fosfato na água como do conteúdo em

Amónia. O berçário com menor aumento destes nutrientes na sua água foi também o Berçário 3, com um aumento médio de 10,43% em Fosfato e um aumento médio de 240,06% em Amónia. Os valores de nutrientes não foram conforme o espectável sendo que, em estudos anteriores, algas do filo Rhodophyta (*Gracilariopsis chorda*) demonstraram-se capazes de reduzir em média 30,3% do conteúdo de Fosfato da água, por exemplo (Kang et al., 2021).

Tabela 4.1. Comparação dos dados de crescimento (SGR) do Berçário 1 com a percentagem média de redução de nutrientes na água.

semana 1	semana 2	semana 3	semana 4	semana 1	semana 2	semana 3	semana 4
B1 juv				B1 ad			
2,266 ± 0,852 ^{a,b}	0,593 ± 0,253 ^a	1,653 ± 0,621 ^{a,b}	-0,624 ± 0,711 ^a	3,290 ± 0,586 ^a	0,984 ± 0,334 ^a	1,569 ± 1,107 ^{a,b}	-0,728 ± 0,516 ^a
percentagem média de redução de nutrientes para cada semana							
4,23±4,23	2,34±11,60	-4,65±14,91	-7,22±13,86	4,23±4,23	2,34±11,60	-4,65±14,91	-7,22±13,86

Ao comparar os resultados de taxa de crescimento do Berçário 1 com a percentagem de redução de nutrientes na água do berçário (tabela 4.1.), podemos concluir que os valores mais altos de crescimento se observam em semanas com maior redução de nutrientes na água.

Tabela 4.2. Comparação dos dados de crescimento (SGR) do Berçário 3 com a percentagem média de redução de nutrientes na água.

semana 1	semana 2	semana 3	semana 4	semana 1	semana 2	semana 3	semana 4
B3,1				B3,2			
1,595 ± 0,424 ^{a,b}	1,094 ± 0,084 ^a	-0,256 ± 0,167 ^{a,b}	0,583 ± 0,677 ^a	2,470 ± 0,922 ^{a,b}	1,677 ± 0,966 ^a	-0,801 ± 1,951 ^b	1,609 ± 1,030 ^a
percentagem média de redução de nutrientes para cada semana							
2,22±66,51	-64,61±218,96	-152,99±553,93	5,05±43,94	2,22±66,51	-64,61±218,96	-152,99±553,93	5,05±43,94

Em contraste com o Berçário 1, na comparação entre os dados de taxa de crescimento semanais e a percentagem de redução de nutrientes na água do berçário 3 (tabela 4.2.), o valor mais baixo de crescimento é equivalente ao valor mais baixo de redução de nutrientes, mas o contrário (para os valores mais altos) não se verifica. Mesmo assim pode se observar que, para a semana de valores de taxa de crescimento mais altos, a taxa de redução de nutrientes foi a segunda mais alta, concluindo-se que existe uma relação entre ambos os valores.

Assim, é possível verificar que houve, de facto, remoção de nutrientes proporcional à taxa de crescimento da alga, o que vai ao encontro do estudo de Abreu et al. em 2011,

no qual a alga estudada foi a *Gracilaria vermiculophylla* (Filo Rhodophyta), num sistema de Aquacultura Multitrófica Integrada (IMTA).

A partir da oscilação dos resultados quando analisados os nutrientes (e a sua diferença de estudos anteriores) podemos concluir que o método utilizado para análise dos mesmos não foi o mais indicado/preciso, ou que houve erro de utilizador em várias medições. Outra razão para estes resultados inconclusivos poderá provir do armazenamento das amostras para medição. Devido a falta de material muitas amostras foram congeladas em copos descartáveis de papel até existir possibilidade do seu processamento, os mesmos podem ter absorvido ou expelido nutrientes para a amostra.

5. Conclusões

Este estudo corrobora outros estudos que referem que a existência de vários fatores ambientais e químicos influenciam o crescimento das macroalgas, seja em laboratório ou ao ar livre.

Os melhores métodos de acordo com os valores de SGR foram em metodologia *Free Floating*, no entanto, estes métodos podem não ser os mais eficazes numa escala maior.

De todo o estudo, é de notar que os métodos com a mais fácil e rápida recolha de biomassa eram os métodos em estilo *Long Line*, e estes métodos obtiveram um SGR aceitável. Assim, acredito que este tipo de método será o melhor para estudos futuros da industrialização da aquacultura desta espécie, ajudando a reduzir o preço da biomassa e protegendo as espécies de uma recolha excessiva.

Quanto ao seu teor em carragenanas, existiu uma diferença acentuada entre o melhor método testado para esta extração e a extração de espécimes selvagens. Isto indica-nos que é necessário otimizar estes métodos de forma a atenuar a desnaturação da alga e mantendo o seu teor em carragenanas.

Em relação à redução de nutrientes por parte da alga, foi possível concluir que a mesma influencia o crescimento da alga de forma positiva, podendo ser interessante dar seguimento ao estudo com metodologias de medição de nutrientes mais propícias para os ensaios.

Numa perspetiva futura, a aquacultura e estudo geral desta espécie são necessários para proteção da mesma e obtenção de biocompostos de interesse. Este estudo poderá servir como base para estudos futuros, e os métodos testados no mesmo reaproveitados para outras espécies semelhantes.

6. Bibliografia

- Abreu, M. H., Pereira, R., Yarish, C., Buschmann, A. H., & Sousa-Pinto, I. (2011). IMTA with *Gracilaria vermiculophylla*: Productivity and nutrient removal performance of the seaweed in a land-based pilot scale system. *Aquaculture*, 312(1–4), 77–87. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2010.12.036>
- Abreu, M. H., Pereira, R., & Sassi, J.-F. (2014). Marine Algae and the Global Food Industry. *Marine Algae*, 308–327. <https://doi.org/10.1201/B17540-11>
- Álvarez-Viñas, M., González-Ballesteros, N., Torres, M. D., López-Hortas, L., Vanini, C., Domingo, G., Rodríguez-Argüelles, M. C., & Domínguez, H. (2022). Efficient extraction of carrageenans from *Chondrus crispus* for the green synthesis of gold nanoparticles and formulation of printable hydrogels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 206, 553–566. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.02.145>
- Bella, F., Mobarak, N. N., Jumaah, F. N., & Ahmad, A. (2015). From seaweeds to biopolymeric electrolytes for third generation solar cells: An intriguing approach. *Electrochimica Acta*, 151, 306–311. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2014.11.058>
- Bixler, H. J., & Porse, H. (2011). A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 321–335. <https://doi.org/10.1007/S10811-010-9529-3/TABLES/16>
- Chopin, T. (1986). *The red alga Chondrus crispus Stackhouse (Irish moss) and carrageenans: A review.*
- Chopin, T. (2014). *THE SEAWEED RESOURCES OF EASTERN CANADA Sustainable Aquaculture Systems View project All Atlantic Ocean Sustainable, Profitable and Resilient Aquaculture (ASTRAL) View project.* <https://www.researchgate.net/publication/267374852>
- Circuncisão, A. R., Catarino, M. D., Cardoso, S. M., & Silva, A. M. S. (2018). Minerals from Macroalgae Origin: Health Benefits and Risks for Consumers. *Marine Drugs*, 16(11). <https://doi.org/10.3390/MD16110400>
- Collén, J., Cornish, M. L., Craigie, J., Ficko-Blean, E., Hervé, C., Krueger-Hadfield, S. A., Leblanc, C., Michel, G., Potin, P., Tonon, T., & Boyen, C. (2014). *Chondrus crispus* – A Present and Historical Model Organism for Red Seaweeds. *Advances in Botanical Research*, 71, 53–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408062-1.00003-2>
- Corey, P., Kim, J. K., Duston, J., Garbary, D. J., & Prithiviraj, B. (2013). Bioremediation potential of *Palmaria palmata* and *Chondrus crispus* (Basin Head): effect of nitrate and ammonium ratio as nitrogen source on nutrient removal. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-9977-7>
- Cotas, J., Leandro, A., Pacheco, D., Gonçalves, A. M. M., & Pereira, L. (2020). A Comprehensive Review of the Nutraceutical and Therapeutic Applications of Red Seaweeds (Rhodophyta). *Life* 2020, Vol. 10, Page 19, 10(3), 19. <https://doi.org/10.3390/LIFE10030019>

- Craigie, J. S., Cornish, M. L., & Deveau, L. E. (2019). Commercialization of Irish moss aquaculture: The Canadian experience. *Botanica Marina*. <https://doi.org/10.1515/BOT-2019-0017>
- Dillehay, T. D., Ramírez, C., Pino, M., Collins, M. B., Rossen, J., & Pino-Navarro, J. D. (2008). Monte Verde: seaweed, food, medicine, and the peopling of South America. *Science (New York, N.Y.)*, *320*(5877), 784–786. <https://doi.org/10.1126/science.1156533>
- Doty, M. S. (1972). *Farming the Red Seaweed, Eucheuma, for Carrageenans*.
- Doty, M. S. (1986). *The production and use of Eucheuma*.
- Fasahati, P., Woo, H. C., & Liu, J. J. (2015). Industrial-scale bioethanol production from brown algae: Effects of pretreatment processes on plant economics. *Applied Energy*, *139*, 175–187. <https://doi.org/10.1016/J.APENERGY.2014.11.032>
- Ffrench, R. A. (1971). *A current appraisal of the Irish moss industry: Canadian Atlantic*.
- Genicot, S., Préchoux, A., Correc, G., Kervarec, N., Simon, G., & Craigie, J. S. (2018). Carrageenans: New Tools for New Applications. *Blue Biotechnology*, 371–416. <https://doi.org/10.1002/9783527801718.CH12>
- Harnedy, P. A., & Fitzgerald, R. J. (2011). Bioactive proteins, peptides, and amino acids from macroalgae(1). *Journal of Phycology*, *47*(2), 218–232. <https://doi.org/10.1111/J.1529-8817.2011.00969.X>
- Holdt, S. L., & Kraan, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology 2011 23:3*, *23*(3), 543–597. <https://doi.org/10.1007/S10811-010-9632-5>
- Humm, H. J. (1951). The red algae of economic importance: agar and related phycocolloids. *Marine Products of Commerce*.
- Indergaard, M. (2017). The First International Seaweed Symposium held in Edinburgh, UK, 1952: applied seaweed science coming of age. *Journal of Applied Phycology*, *29*(5), 2165–2173. <https://doi.org/10.1007/S10811-016-0958-5/TABLES/4>
- Kang, Y. H., Kim, S., Choi, S. K., Lee, H. J., Chung, I. K., & Park, S. R. (2021). A comparison of the bioremediation potential of five seaweed species in an integrated fish-seaweed aquaculture system: implication for a multi-species seaweed culture. *Reviews in Aquaculture*, *13*(1), 353–364. <https://doi.org/10.1111/RAQ.12478>
- Lewis, J., Stanley, N., & Guist, G. (1986). Commercial production and applications of algal hydrocolloids. *Algae and Human Affairs*.
- Lordan, S., Ross, R. P., & Stanton, C. (2011). Marine Bioactives as Functional Food Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases. *Marine Drugs*, *9*(6), 1056. <https://doi.org/10.3390/MD9061056>
- MacFarlane, C. I. (1966). A report on some aspects of the seaweed industry in the maritime provinces of Canada. *Industrial Development Service*.

https://scholar.google.com/scholar?hl=pt-PT&as_sdt=0%2C5&q=+A+report+on+some+aspects+of+the+seaweed++industry+in+the+Maritime+Provinces+of+Canada&btnG=

- Marshall, A. P., & Newton, S. M. (1949). *A Study of Certain British Seaweeds and Their Utilisation in the Preparation of Agar*. His Majesty's Stationary Office.
- Matos, J., Costa, S., Rodrigues, A., Pereira, R., & Sousa Pinto, I. (2005). Experimental integrated aquaculture of fish and red seaweeds in Northern Portugal. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.11.047>
- McHugh, D. (1987). Production and utilization of products from commercial seaweeds. *FAO Fisheries Technical Paper (FAO)*, 288.
- Ministro, M. (2020). Otimização do sistema de cultivo de macroalgas.
- Mitchell, M. E., & Guiry, M. D. (1983). Carrageen: a local habitation or a name? *Journal of Ethnopharmacology*, 9(2–3), 347–351. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(83\)90043-0](https://doi.org/10.1016/0378-8741(83)90043-0)
- Morrison, L., Feely, M., Stengel, D. B., Blamey, N., Dockery, P., Sherlock, A., & Timmins, É. (2009). Seaweed attachment to bedrock: Biophysical evidence for a new geophycology paradigm. *Geobiology*, 7(4), 477–487. <https://doi.org/10.1111/J.1472-4669.2009.00206.X>
- Mostafavi, F. S., & Zaeim, D. (2020). Agar-based edible films for food packaging applications - A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 1165–1176. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.05.123>
- Nehal, N. (2014). *Seaweed: A potential “Superfood” unexplored and untapped*. https://www.academia.edu/8795700/Seaweed_A_potential_Superfood_unexplored_and_untapped
- Nussinovitch, A. (1997). Hydrocolloid Applications. Gum technology in the food and other industries. In *Hydrocolloid Applications* (1st ed.). Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6385-3>
- Pauli, J. N., Mendoza, J. E., Steffan, S. A., Carey, C. C., Weimer, P. J., & Peery, M. Z. (2014). A syndrome of mutualism reinforces the lifestyle of a sloth. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1778). <https://doi.org/10.1098/RSPB.2013.3006>
- Pereira, L. (2011). A review of the nutrient composition of selected edible seaweeds. In V. H. Pormin (Ed.), *Seaweed: Ecology, Nutrient Composition and Medicinal Uses* (1st ed.). Nova Science Publishers, Inc. https://www.researchgate.net/publication/235767788_A_review_of_the_nutrient_composition_of_selected_edible_seaweeds
- Pereira, L. (2021). Macroalgae. *Encyclopedia 2021, Vol. 1, Pages 177-188*, 1(1), 177–188. <https://doi.org/10.3390/ENCYCLOPEDIA1010017>
- Pereira, L., & Van de Velde, F. (2011). Portuguese carrageenophytes: Carrageenan composition and geographic distribution of eight species (Gigartinales, Rhodophyta). *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 614–623. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2010.12.036>

- Pereira, R., Yarish, C., & Critchley, A. T. (2013). Seaweed Aquaculture for Human Foods in Land-Based and IMTA Systems. *Sustainable Food Production*, 1405–1424. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5797-8_189
- Phwan, C. K., Ong, H. C., Chen, W. H., Ling, T. C., Ng, E. P., & Show, P. L. (2018). Overview: Comparison of pretreatment technologies and fermentation processes of bioethanol from microalgae. *Energy Conversion and Management*, 173, 81–94. <https://doi.org/10.1016/J.ENCONMAN.2018.07.054>
- Pringle, J. D. (1989). *Chondrus crispus stackhouse*. 281. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF8874445>
- Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F. J., Saljoughian, S., Amid, M., & Greiner, R. (2017). Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Research International*, 99, 1066–1083. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2016.08.016>
- Sahu, N., & Tangutur, A. D. (2015). Airborne algae: overview of the current status and its implications on the environment. *Aerobiologia*, 31(1), 89–97. <https://doi.org/10.1007/S10453-014-9349-Z>
- Sangha, J. S., Fan, D., Banskota, A. H., Stefanova, R., Khan, W., Hafting, J., Craigie, J., Critchley, A. T., & Prithiviraj, B. (2013). Bioactive components of the edible strain of red alga, *Chondrus crispus*, enhance oxidative stress tolerance in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Functional Foods*, 5(3), 1180–1190. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2013.04.001>
- Smith, H. M. (1905). *The Seaweed Industries of Japan: The Utilization of Seaweeds in the United States*. https://books.google.pt/books?hl=pt-PT&lr=&id=3fK2DThullAC&oi=fnd&pg=PA127&dq=+The+seaweed+industries+of+Japan:+The+utilization+of++seaweeds+in+the+United+States&ots=S_yld8oBqx&sig=6mqtFe6eanN5h8aO7DfKvz9IECg&redir_esc=y#v=onepage&q=The%20seaweed%20industries%20of%20Japan%3A%20The%20utilization%20of%20%20seaweeds%20in%20the%20United%20States&f=false
- Snaith, W. E., MacFarlane, C. I., & Johnson, H. D. (1969). *Some notes on the marine plants industry in Canada*. https://scholar.google.com/scholar?hl=pt-PT&as_sdt=0%2C5&q=Some+notes++on+the+marine+plants+industry+in+Canada.&btnG=
- Souza Araujo, G., Cotas, J., Morais, T., Leandro, A., García-Poza, S., Gonçalves, A. M. M., & Pereira, L. (2020). *Calliblepharis jubata* Cultivation Potential-A Comparative Study between Controlled and Semi-Controlled Aquaculture. <https://doi.org/10.3390/app10217553>
- Stanford, E. (1861). *On the economic applications of seaweed*.
- Stoloff, L. (1949). Irish moss—from an art to an industry. *Economic Botany* 1949 3:4, 3(4), 428–435. <https://doi.org/10.1007/BF02859174>
- Stortz, C. (2005). Carrageenans: Structural and conformational studies. In *Handbook of Carbohydrate Engineering* (pp. 211–246).

https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/greenstone3/exa/collection/paper/document/paper_97814200_v_n_p211_Stortz

- Subashchandrabose, S. R., Ramakrishnan, B., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., & Naidu, R. (2011). Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: Biotechnological potential. *Biotechnology Advances*, 29(6), 896–907. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2011.07.009>
- Taylor, A., & Chen, L. (1994). *Chondrus Stackhouse. Biology of economic algae*.
- Torres, M. D., Flórez-Fernández, N., & Domínguez, H. (2021). *Chondrus crispus* treated with ultrasound as a polysaccharides source with improved antitumoral potential. *Carbohydrate Polymers*, 273, 118588. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2021.118588>
- Tseng, C. K. (1947). *Seaweed Resources of North America and Their Utilization*.
- Turner, D. (1819). Fuci, sive, Plantarum Fucorum generi a botanicis ascriptarum icones descriptiones et historia = Fuci, or, Colored figures and descriptions of the plants referred by botanists to the genus Fucus /. *Fuci, Sive, Plantarum Fucorum Generi a Botanicis Ascriptarum Icones Descriptiones et Historia = Fuci, or, Colored Figures and Descriptions of the Plants Referred by Botanists to the Genus Fucus /.* <https://doi.org/10.5962/BHL.TITLE.103137>
- Wicker, R., & Bhatnagar, A. (2020). Application of Nordic microalgal-bacterial consortia for nutrient removal from wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 398, 125567. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2020.125567>
- William, F. (1864). *Elements of materia medica : containing the chemistry and natural history of drugs, their effects, doses, and adulterations : with observations on all the new remedies recently introduced into practice, and on the preparations of the British Pharmacopoeia* (2nd ed.). <https://wellcomecollection.org/works/w6wxy8cw>
- Witt, H. (1985). Carrageenan, Nature's most versatile hydrocolloid. *Hemisphere Publishing Corp., Washington*.
- Yoon, H. S., Nelson, W., Lindstrom, S. C., Boo, S. M., Pueschel, C., Qiu, H., & Bhattacharya, D. (2017). Rhodophyta. *Handbook of the Protists: Second Edition*, 89–133. https://doi.org/10.1007/978-3-319-28149-0_33