

Influência do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) na atividade de água e oxidação lipídica de peixes de uma espécie de tilápia (*Oreochromis ssp* – var. vermelha Flórida) submetidos à salga

Sant'Ana, L. S.

Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP, Campus de Botucatu. Faz. Experimental Lageado, CEP 18603-970. Email: santana@fca.unesp.br. Fone: 6802-7200

RESUMO: A salga é um método bastante utilizado na conservação de peixes, entretanto só nos últimos anos estão sendo entendidos os mecanismos envolvidos na salga. O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação de folhas de alecrim, moídas; extrato de alecrim e tocoferol, adicionadas a salga úmida, nos parâmetros: Atividade de água (Aa), umidade, cinzas, cloretos e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRATB). Os resultados demonstram que os antioxidantes dificultam a absorção do sal, entretanto não há diferenças entre a ação do alecrim e tocoferol. Por outro lado com 3 horas de salga os valores de Aa e cloretos, de respectivamente, $0,77 \pm 0,01$ e $14,42 \pm 1,69$, para o tratamento controle; $0,85 \pm 0,02$ e $9,09 \pm 1,39$ para o alecrim filtrado; $0,78 \pm 0,03$ e $10,63 \pm 0,69$ para o alecrim sem filtrar e $0,85 \pm 0,02$ e $11,96 \pm 1,78$ para o tocoferol, demonstram que não há o crescimento de bactérias autóctones. Na avaliação das SRTAB pode se verificar a ação oxidativa dos sal, sendo que a adição na salga dos antioxidantes alecrim, moído; extrato de alecrim e tocoferol causou uma ação pró oxidante destes compostos.

Palavras-chave: atividade de água, Lamiaceae, salga, tilápia, oxidação lipídica.

ABSTRACT: Influence of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in water activity (Aw) and lipid oxidation in salting fish tilapia (*Oreochromis ssp* – var. red Flórida). Salting have been a very utilized fish conservation method, however only in the last years the basic mechanism involved in salting fish has been understood. The objectives of this study were determine the addition in brine salt of rosemary leaves, rosemary extracts and tocopherol, and your action in the followed parameters: water activity (Aw), moisture, ash, salt content and TBARS. The results showed that the addition of antioxidants was difficulted the salt absorption, however didn't have differences between rosemary or tocopherol use. In the salting time of 3 hours the values of Aw and salt levels, was respectively: 0.77 ± 0.01 and 14.42 ± 1.69 . for control treatment; 0.85 ± 0.02 and 9.09 ± 1.39 for rosemary filtrate; 0.78 ± 0.03 and 10.63 ± 0.69 rosemary without filtrating and 0.85 ± 0.02 and 11.96 ± 1.78 tocopherol, showed that didn't grow indigenous bacterias. Lipid oxidation was evaluated by TBARS and the results showed the oxidative effect of salt and the pro oxidant effects of alls antioxidants used in brine salting.

Key words: water activity, rosemary, salting fish, tilapia, lipid oxidation.

INTRODUÇÃO

A atividade de água está mais intimamente relacionada com as propriedades físicas, químicas e biológicas dos alimentos e de outros produtos naturais do que o teor de umidade (Rockland & Nishi, 1980).

A estabilidade do alimento usualmente é menor com elevados níveis de atividade de água, assim existem vários métodos de conservação de alimentos que utilizam a diminuição da atividade de água (Fernandez – Salguero et al., 1993).

Entretanto a mudança de atividade de água no alimento pode causar aumento ou diluição de espécies reativas do oxigênio, podendo haver mobilização e disponibilidade de metais catalíticos

na interface lipídica aumentando as taxas de oxidação lipídica (Labuza, 1980).

A oxidação lipídica ocorre através de dois processos: ativação do oxigênio molecular (ou oxigênio "triplet") pôr um iniciador, com conseqüente formação de uma espécie reativa do oxigênio ou adição de oxigênio "singlet" na dupla ligação (Lee & Min, 1990).

Uma das alternativas para evitar ou retardar oxidações nos alimentos é a utilização de antioxidantes.

Antioxidantes são substâncias capazes de prevenir os efeitos deletérios da oxidação (Jackson, 1994), pela inibição ou interferência na formação de radicais livres (Dorko, 1994).

Compostos fenólicos e alguns de seus derivados são eficazes para prevenir a autooxidação, entretanto poucos são os permitidos em alimento,

Recebido para publicação em 06/01/03
e aceito para publicação em 04/08/03.

devido principalmente a sua potencialidade tóxica (Shahidi & Wanasundara, 1992).

Estudos toxicológicos têm demonstrado que antioxidantes sintéticos podem levar a produção de substâncias tóxicas nos alimentos e o JEFCA - Joint Expert Committee on Food Additives, da FAO - Food Agricultural Organization - WHO - World Health Organization tem alterado nos últimos anos a ingestão diária aceitável (IDA) destas substâncias, como resultado de recentes informações científicas (Würtzen, 1990).

Como consequência de certa restrição ao uso de antioxidantes sintéticos como aditivo alimentar em muitos países, várias pesquisas estão sendo conduzidas com compostos antioxidantes de fontes naturais (Nakatani, 1992).

Antioxidantes naturais são compostos polifenólicos multifuncionais que ocorrem naturalmente em alimentos (Shahidi & Wanasundara, 1992), sendo que as principais fontes destes compostos são: óleos, sementes, cereais, grãos, frutas, vegetais, especiarias, chás, ervas, proteínas e hidrolisados protéicos (Six, 1994).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é um aditivo seguro por ser considerado como GRAS (generally recognized as safe), sendo classificado como extrato flavorizante natural - 21 CFR, 182.10 (especiarias, temperos e flavorizantes) ou 182.20 (óleos essenciais, oleoresinas livre de solventes) (Six, 1994).

No caso de peixes, as guelras e a pele de várias espécies possuem lipoxigenases ativas, que são capazes de oxidar ácidos graxos polinsaturados formando acil hidroperóxidos, sendo estes responsáveis pela produção de compostos voláteis que irão provocar o sabor de ranço e liberar radicais livres que propagarão a reação em cadeia (Hsieh et al., 1988, Hsieh & Kinsella, 1989).

O objetivo deste trabalho foi de testar o efeito da adição de tocoferol e extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) na salga úmida, para avaliar a diminuição da Aa, absorção de sal e taxas de oxidação lipídica de peixes de uma espécie de tilápia. Esse tipo de peixe foi escolhido devido sua relevância econômica.

A tilápia vem sendo cultivada desde o início da humanidade, sendo que atualmente existem mais de 22 espécies em todo o mundo, destas a tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), tilápia moçambique (*Oreochromis mossambicus*), tilápia azul (*Oreochromis aureus*) são as espécies mais cultivadas comercialmente (El-Sayed, 1999).

A tilápia (*Oreochromis ssp* - var. vermelha Flórida) é uma linhagem cuja origem ocorreu do cruzamento de um macho mutante vermelho de *Oreochromis mossambicus* com uma fêmea normal de *Oreochromis urolepis hornorum* (Kubtiza, 2000).

Além disso, nós testamos o efeito da adição de tocoferol na salga úmida. O tocoferol ou vitamina E é o antioxidante natural mais eficiente (Kamal - Eldin & Appelqvist, 1996), o que nos permitiu comparar o efeito de uma substância antioxidante já conhecida com o extrato de alecrim.

MATERIAL E MÉTODO

Tilápias (*Oreochromis ssp* - var. vermelha Flórida) foram obtidos junto ao Centro de Aquicultura - CAUNESP, UNESP, Campus de Jaboticabal, sendo abatidas com água e gelo e transportadas congeladas até o Laboratório de Pescado, FCA, UNESP.

Os peixes foram descongelados, eviscerados, retiradas as suas cabeças, pesados e congelados. Durante o período experimental foram descongelados e submetidos a salga úmida.

Os filés foram divididos em quatro grupos experimentais:

I - Submetidos a salga úmida apenas.

Os pesos médios dos peixes em cada período de salga 1, 2 e 3 horas foram respectivamente de: 267,67±15,31 g, 250,00±55,71 g e 250,00 ± 50,00 g.

II - Submetidos a salga úmida, com adição de tocoferol.

Foram diluídos 2 g de Rovimix 50E adsorbato (Roche) para cada litro de água, com objetivo de ter 1g de princípio ativo/ litro de água.

Os pesos médios dos peixes em cada período de salga 1, 2 e 3 horas foram respectivamente de: 263,33± 51,32g, 253,33 ± 75,06 g e 246,67 ± 83,87 g.

III - Submetidos a salga úmida, com adição de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) sem filtrar. Foram moídas 10 g de folhas moídas por litro de água.

Os pesos médios dos peixes em cada período de salga 1, 2 e 3 horas foram respectivamente de: 276,67± 55,08 g, 243,33 ± 95,04 g e 250,00 ± 55,67 g.

IV - Submetidos a salga úmida, com adição de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) filtrado.

Os pesos médios dos peixes em cada período de salga 1, 2 e 3 horas foram respectivamente de: 253,33 ± 55,08, 260,00 ± 80,00 e 237,00± 72,09 para o grupo alecrim filtrado.

A salga foi realizada com uma concentração de 360 g de cloreto de sódio/ litro de água, por períodos variáveis de 1 a 3 horas, em seus filés.

Para obtenção do extrato foram utilizados 10 g de folhas de alecrim moídas em liquidificador com 100 ml de água e a seguir filtrado em funil de Buchner, com vácuo.

Após a retirada da salga, os peixes foram

submetidos à secagem, por 12 horas, em estufa ventilada e em temperatura ambiente.

A atividade de água foi avaliada pelo analisador de atividade de água Aqualab 3TE, da Decagon Devices.

A umidade foi determinada pelo método de secagem em estufa, a 105 °C até peso constante e as cinzas pelo método de incineração em mufla a 550 °C (Association of Official Analytical Chemists, 1986).

Os cloretos foram determinados pelo método volumétrico, de acordo, com o procedimento descrito pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (Instituto Adolfo Lutz, 1985).

A oxidação foi avaliada pela formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRATB). O método utilizado foi o descrito por Wyncke (1970).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados das análises dos teores de umidade, atividade de água, cinzas e cloretos realizados em filés não submetidos a salga. Estes valores demonstram como a salga altera as características iniciais.

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados dos teores de umidade para os filés de tilápia submetidos a salga sem adição de antioxidantes (controle) e com adição de antioxidantes extrato de alecrim, filtrado e sem filtrar e tocoferol.

Em relação aos diferentes tratamentos (controle, alecrim filtrado, alecrim sem filtrar e tocoferol), para a tilápia, não são observadas diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para salga em 1 e 3 horas na salga

TABELA 1 – Teores de umidade, atividade de água, cinzas e cloretos de filés de tilápia vermelha Flórida

Umidade (%)	75,38 ± 0,28
Cinzas (%)	1,33 ± 0,03
Cloretos (%)	0,17 ± 0,02
Aa	0,99 ± 0,00
SRATB (mg malonaldeído/ Kg)	0,34 ± 0,06

durante 2 horas são observadas diferenças entre o tratamento alecrim sem filtrar e tocoferol. Exceto para o tratamento controle são observadas diferenças estatísticas entre os diferentes tempos de salga.

Os resultados da atividade de água estão apresentados na Tabela 3.

Em relação a Aa os tratamentos controle e alecrim sem filtrar apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre o tempo de 1 hora e os tempos de 2 e 3 horas de salga.

Para os diferentes tratamentos, em um mesmo tempo de salga, pode se observar que a adição de antioxidantes dificulta a ação depressora do sal, isto é, na presença de antioxidantes os valores de Aa são em geral maiores que o controle.

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados dos teores de cinzas para os filés de tilápia.

As cinzas são uma maneira indireta de avaliar a absorção do sal, uma vez que o cloreto não se decompõe em temperaturas até 550 °C.

Os resultados mostram que salga causa aumento estatisticamente significativo no teor de cinzas dos peixes, quando comparados aos peixes não submetidos a salga (Tabela1), pela análise do

TABELA 2 – Teor de umidade (%) de filés de tilápia vermelha Flórida em salga úmida

Tempo de salga (horas)	Controle (Apenas sal)	Alecrim filtrado + Sal	Alecrim sem filtrar + Sal	Tocoferol + Sal
1	63,29 ± 1,48 ^{A,a}	62,86 ± 2,87 ^{A,a}	52,67 ± 8,65 ^{A,a}	61,36 ± 2,79 ^{A,a}
2	52,61 ± 3,75 ^{A,B,b}	58,97 ± 5,42 ^{A,B,a}	47,74 ± 1,87 ^{A,B,a}	61,05 ± 5,82 ^{A,B,a}
3	49,41 ± 5,49 ^{A,b}	53,44 ± 2,99 ^{A,a}	55,63 ± 3,54 ^{A,a}	58,07 ± 1,38 ^{A,a}

Diferentes letras denotam diferenças estatísticas obtidas pelo teste de Tukey - Kramer ($p < 0,05$). Letras maiúsculas indicam diferenças em uma mesma linha, enquanto letras minúsculas em uma mesma coluna.

TABELA 3 – Atividade de água de filés de tilápia vermelha Flórida em salga úmida

Tempo de salga (horas)	Controle (Apenas sal)	Alecrim filtrado + Sal	Alecrim sem filtrar + Sal	Tocoferol + Sal
1	0,83 ± 0,02 ^{A,a}	0,91 ± 0,04 ^{B,C,a}	0,86 ± 0,00 ^{A,C,a}	0,90 ± 0,02 ^{B,C,a}
2	0,78 ± 0,02 ^{A,b}	0,88 ± 0,02 ^{B,a}	0,78 ± 0,01 ^{A,b}	0,87 ± 0,02 ^{B,a}
3	0,77 ± 0,01 ^{A,b}	0,85 ± 0,02 ^{B,a}	0,78 ± 0,03 ^{A,b}	0,85 ± 0,02 ^{B,a}

Diferentes letras denotam diferenças estatísticas obtidas pelo teste de Tukey - Kramer ($p < 0,05$). Letras maiúsculas indicam diferenças em uma mesma linha, enquanto letras minúsculas em uma mesma coluna.

TABELA 4 – Teor de cinzas (%) de filés de tilápia vermelha Flórida em salga úmida

Tempo de salga (horas)	Controle (Apenas sal)	Alecrim filtrado + Sal	Alecrim sem filtrar + Sal	Tocoferol + Sal
1	16,03 ± 1,15 ^{A,a}	10,77 ± 2,59 ^{B,a}	8,63 ± 0,62 ^{B,a}	11,53 ± 1,29 ^{B,a}
2	11,15 ± 3,75 ^{A,a}	11,67 ± 0,82 ^{A,a}	15,01 ± 0,48 ^{A,b}	11,90 ± 1,26 ^{A,a}
3	15,46 ± 4,78 ^{A,a}	12,97 ± 0,59 ^{A,a}	16,49 ± 0,34 ^{A,c}	13,75 ± 1,76 ^{A,a}

Diferentes letras denotam diferenças estatísticas obtidas pelo teste de Tukey - Kramer ($p < 0,05$). Letras maiúsculas indicam diferenças em uma mesma linha, enquanto letras minúsculas em uma mesma coluna.

TABELA 5 – Teor de cloretos (%) de filés de tilápia vermelha Flórida em salga úmida

Tempo de salga (horas)	Controle (Apenas sal)	Alecrim filtrado + Sal	Alecrim sem filtrar + Sal	Tocoferol + Sal
1	12,65 ± 0,80 ^{A,a}	06,43 ± 0,57 ^{B,a}	7,19 ± 1,27 ^{B,C,a}	9,70 ± 1,30 ^{C,a}
2	13,90 ± 0,56 ^{A,a}	8,66 ± 1,76 ^{B,a}	10,70 ± 0,31 ^{B,C,b}	10,21 ± 1,07 ^{B,a}
3	14,42 ± 1,69 ^{A,a}	9,09 ± 1,39 ^{B,a}	10,63 ± 0,69 ^{A,B,b}	11,96 ± 1,78 ^{A,B,a}

Diferentes letras denotam diferenças estatísticas obtidas pelo teste de Tukey - Kramer ($p < 0,05$). Letras maiúsculas indicam diferenças em uma mesma linha, enquanto letras minúsculas em uma mesma coluna.

teste de Tukey ($p < 0,05$).

As diferenças estatísticas observadas entre os diferentes tempos de salga (1, 2 e 3 horas), para um mesmo tratamento estão apresentados na tabela 4.

Em relação aos diferentes tratamentos (controle, alecrim filtrado, alecrim sem filtrar e tocoferol), para a tilápia, não são observadas diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para 3 horas de salga, sendo que com 1 hora de salga os tratamentos controle e alecrim sem filtrar, e para 3 horas de salga os controle, alecrim sem filtrar e tocoferol, apresentam diferenças estatisticamente significativas.

Os teores de cloretos que estão apresentados na Tabela 5.

A utilização de antioxidantes dificulta a absorção de sal dos filés de peixes quando comparados com o controle, tanto para o tratamentos com alecrim como com tocoferol.

Entretanto, o principal objetivo da salga é impedir o crescimento dos microrganismos. Os resultados obtidos neste experimento mostram que na salga por 3 horas para os filés de tilápia os valores de Aa e teor de cloreto podem impedir o crescimento de todas a bactérias autóctones, isto é, aquelas que se encontram amplamente distribuídas nos ambientes aquáticos de várias partes do mundo, pois estas não sobrevivem em Aa inferiores a 0,92 e a teores de cloretos superiores a 3%, segundo informações de Huss (1997).

As bactérias alóctones, isto é, as que são encontrados em produtos de pescados por contaminação proveniente do homem, de outros animais ou fecal (Huss, 1997), entretanto podem sobreviver nos tratamentos alecrim filtrado e tocoferol.

Por exemplo, *Staphilococcus aureus* necessita de Aa superiores a 0,83 e teor de sal entre 10 e 15%, enquanto *Escherichia coli* necessita de Aa superiores a 0,95 e teor de sal inferior a 6%.

Os resultados demonstram que a salga úmida por 3 horas é eficiente para impedir o crescimento da maioria das bactérias contaminantes de peixes, apenas exigindo uma maior atenção para as bactérias alóctones.

Como na salga há uma diminuição da Aa é necessário avaliar o grau de oxidação lipídica, pois poderá haver uma maior oxidação pela ação catalítica de metais. A avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRATB) é uma das maneiras mais frequentes para medir a oxidação lipídica.

Na tabela 6 estão apresentados os resultados das análises das SRATB.

Os resultados mostram que a adição de antioxidantes na salga causa uma maior oxidação nos filés de tilápia.

Em um trabalho anterior demonstramos o efeito antioxidante do extrato de alecrim, avaliando as SRATB em filés de pacu submetidos a irradiação a 2 e 3 KGy, sendo encontrados valores entre 0, 14 até 0,53 mg de malonaldeído/ Kg de pacu (Sant'Ana, Mancini – Filho, 1999). Os resultados obtidos neste experimento demonstram que com a salga há um aumento das SRATB, muito maior que o observado para irradiação a baixas doses, e também que não há um efeito protetor na adição de antioxidantes, tanto o alecrim, como o tocoferol, mais pelo contrário estes antioxidantes têm um efeito pró-oxidante.

Esta falta de proteção pode ser atribuída a ação oxidativa do cloreto de sódio, que pode ocorrer pela ação catalítica na oxidação dos triglicerídeos ou pela ação catalítica na oxidação de proteínas

TABELA 6 – Avaliação dos níveis das SRATB (mg de malonaldeído/ Kg de peixe) em filés de tilápia vermelha submetidos a salga úmida

Tempo de salga (horas)	Controle (Apenas sal)	Alecrim filtrado + Sal	Alecrim sem filtrar + Sal	Tocoferol + Sal
1	2,40 ± 0,46 ^a	1,99 ± 0,67 ^{A,a}	3,13 ± 0,96 ^{A,a}	5,85 ± 0,89 ^{A,b}
2	NR*	4,24 ± 1,47 ^{A,a}	3,06 ± 0,30 ^{A,a}	5,14 ± 1,50 ^{A,a}
3	1,83 ± 0,87 ^a	3,67 ± 0,84 ^{A,a}	1,93 ± 0,32 ^{A,a}	5,28 ± 0,74 ^{A,b}

Valores se referem a média ± desvio padrão, n = 3. Letras diferentes minúsculas (nas colunas) e maiúsculas (nas linhas) indicam diferenças, pelo teste de Tukey - Kramer (p < 0,05). * NR = não realizado

heme, e estas catalisariam a oxidação lipídica (Love & Pearson, 1971 in Ladikos & Lougovoit, 1990).

Em resumo, os resultados demonstram que a utilização de antioxidantes na salga dificulta a absorção de sal, entretanto com o tempo de três horas a salga com antioxidantes alcança valores de Aa e cloretos adequados para impedir o crescimento de bactérias autóctones. Porém, em relação a oxidação lipídica verifica-se uma ação catalítica do sal, e os antioxidantes, alecrim e tocoferol passam a atuar como pró oxidantes.

Para avaliar este efeito pró-oxidante do alecrim e tocoferol deverá ser realizado estudo complementar com base na variação na concentração de antioxidantes.

AGRADECIMENTO

À FAPESP pelo financiamento do projeto de pesquisa (Processo 00/12963-8).

REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Washington: Association of Official Agricultural Chemists, 1986. 1094 p.
- DORKO, C. Antioxidants used in foods. **Food Technology**, Chicago, v.48, n. 4, p. 33, 1994.
- EL-SAYED, A. F.M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis spp.* **Aquaculture**, v.179, p.149-65, 1999.
- FERNANDEZ-SALGUERO, J., GÓMEZ, R., CARMONA, M. A. Water activity in selected high - moisture foods. **Jornal Food Compositon Analysis**, v.6, n. 4, p. 364-9, 1993.
- HSIEH, R.J., GERMAN, B., KINSELLA, J.E. Lipoxygenase in fish tissue: some properties of the 12-lipoxygenase from trout gill. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 36, n.4, p. 680-5, 1988.
- HSIEH, R.J., KINSELLA, J.E. Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. **Advances in food and Nutrition Reseach**, v.33, p.233-340, 1989.
- HUSS, H. H. **Garantia da qualidade dos produtos da pesca**. FAO Documento técnico sobre as pescas n° 334. Roma, 1997, 176 p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985, 533 p.

JACKSON, M.J. Can dietary micronutrients influence tissue antioxidant capacity? **Proceedings of Nutrition Society**, v.53, n.1, p.53-7, 1994.

KAMAL – ELDIN, A., APPELQVIST, L.A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, v. 31, 671-701, 1996.

KUBITZA, F. **Tilápia: Tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí, 2000. p.12-3.

LABUZA, T. P. The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. **Food Technology**, v. 34, n. 4, p. 36-41, 1980.

LADIKOS, D., LOUGOVOIS, V.L. Lipid oxidation in muscle foods: a review. **Food Chemistry**, v.35, p. 295-314, 1990.

LEE, S.H., MIN, D.B. Effects, quenching mechanisms, and kinetics of carotenoids in chlorophyll - sensitized photooxidation of soybean oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.38, n.8, p.1630-34, 1990.

NAKATANI, N. Natural antioxidants from spices. In: HUANG, M.-T., HO, C.T., LEE, C. Y. (Eds.) **Phenolic compounds and their effects on health. antioxidants and cancer prevention**. Washington: American Chemical Society, 1992. cap. 6, p. 73-86.

ROCKLAND, L.B., NISHI, S.K. Influence of water activity on food product quality and stability. **Food Technology**, v.34, n. 4, p. 42-51, 1980.

SANT'ANA, L.S. MANCINI-FILHO, J. Ação antioxidante de extratos de alecrim (*Rosmarinus officinallis* L.) em filés de peixes da espécie pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.2, n. 1, p. 27-31, 1999.

SHAHIDI, F., WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews Food Science Nutrition**, v.32, n.1, p.67-103, 1992.

SIX, P. Current research in natural food antioxidants. **Inform**, v.5, n.6, p.679-688, 1994.

WÜRTZEN, G. Shortcomings of current strategy for toxicity testing of food chemicals: antioxidants. **Food Chemisting Toxicology**, v.28, n.11, p.743-5, 1990.

WYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette-Scifen Anstrichmittel**, v.72, n.12, p.1084-7, 1970.