

## Ação do tanino na digestibilidade de dietas pela tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*)

Luis Gabriel Quintero Pinto<sup>3</sup>, Luiz Edivaldo Pezzato<sup>1\*</sup>, Edma Carvalho de Miranda<sup>2</sup>, Margarida Maria Barros<sup>1</sup> e Wilson Massamito Furuya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Nutrição Animal, FMVZ/Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Botucatu, C.P. 560, 18618-000, Botucatu-São Paulo, Brazi. <sup>2</sup>Departamento de Zootecnia, Botucatu-São Paulo, Brazil. <sup>3</sup>Departamento Aquicultura, Caunesp, Jaboticabal-São Paulo, Brazil. \*Author for correspondence. e-mail: epezzato@fca.unesp.br

**RESUMO.** Este experimento teve por objetivo avaliar o efeito do tanino de barbatimão (*Stryphnodendron obovatum*) adicionado a rações completas para peixes. Avaliou-se a digestibilidade aparente das frações matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo em juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). Usaram-se 80 peixes distribuídos em cinco grupos (16 peixes/aquário), os quais receberam rações contendo 0,00%; 0,21%; 0,42%; 0,63% e 0,84% de taninos totais, a partir do extrato de barbatimão (*Stryphnodendron obovatum*). Após um período de aclimação de três dias, foram colhidas amostras representativas das fezes produzidas diariamente até completar cinco repetições por cada grupo. A partir das análises químicas dos alimentos e das fezes, e utilizando óxido de crômio como marcador inerte, foram calculados os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo. Através dos resultados obtidos, pode-se concluir que, para tilápia-do-nilo na fase juvenil, a presença de até 0,42% de tanino não prejudica significativamente a digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo, e que níveis iguais ou superiores a 0,63% de tanino têm efeito deletério altamente significativo sobre a digestibilidade dos nutrientes analisados.

**Palavras-chave:** digestibilidade, *Stryphnodendron obovatum*, *Oreochromis niloticus*, tanino, tanino de barbatimão, tilápia-do-nilo.

**ABSTRACT. Effect of tannin on digestibility of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets.** This experiment was undertaken to determine the effect of tannin from *Stryphnodendron obovatum* added to fish diets. The apparent digestibility of dry matter, crude protein and lipid was evaluated. Eighty Nile tilapia juveniles were arranged in five groups (16/aquarium) and fed diets containing 0.00%; 0.21%; 0.42%; 0.63% and 0.84% of total tannin from *barbatimão* (*Stryphnodendron obovatum*). After three days of acclimatation, feces were collected during 5 days up to reach five replicates/group. The apparent digestibility coefficient was determined based on chemical analyses of feedstuffs and feces using chromic acid as an inert marker. The results of this study indicate that 0.42% of tannin had no effect on dry matter, crude protein and lipid digestibility but 0.63% or higher levels had significant harmful effect on the digestibility of nutrients.

**Key words:** digestibility, *Stryphnodendron obovatum*, *Oreochromis niloticus*, tannin, Nile tilapia.

Nas avaliações do potencial de uso dos ingredientes vegetais nas formulações de rações para peixes, além de considerar seu valor nutricional por análise proximal, é fundamental observar as alterações naturais ocasionadas por substâncias antinutricionais. Essas, quando presentes, podem causar mudanças no comportamento fisiológico do animal, perda do apetite, diminuição do desempenho produtivo, pobre utilização do alimento, alterações histopatológicas nos tecidos e

se o consumo for prolongado a morte (Chubb, 1982; Liener, 1980; Pezzato, 1995).

As respostas produtivas que esses animais podem apresentar ao serem alimentados com ingredientes vegetais que contenham fatores antinutricionais são dependentes do tipo e da quantidade da substância contida no ingrediente, do tempo de exposição ao alimento, dos processos técnicos usados na transformação do produto e da espécie de peixe em questão.

Segundo Chubb (1982), os fatores antinutricionais endógenos são de três tipos: a) substâncias que prejudicam a digestibilidade ou utilização metabólica das proteínas (inibidores de enzimas digestivas, lecitinas ou hemaglutininas, saponinas e compostos fenólicos); b) substâncias que reduzem a solubilidade ou interferem na utilização dos minerais (ácido fítico, ácido oxálico, glicosinolatos e gossipol) e c) substâncias que inativam ou aumentam os requerimentos de algumas vitaminas (antivitaminas A, D, E e K, antivitaminas tiamina, ácido nicotínico, piridoxina e cianocobalamina).

Os taninos são compostos fenólicos de alto peso molecular que, quando presentes nos alimentos, podem causar mudanças no metabolismo, hemorragias, gastroenterites, necrose hepática e nefrites aos animais expostos. Têm capacidade de se combinar com as enzimas digestivas, proteínas e outros polímeros (carboidratos e pectinas) para formar complexos estáveis, impedindo a absorção dos nutrientes (Fialho e Pinto, 1992; Mueller-Harvey e McAllan, 1992).

Basicamente os taninos são de dois tipos: hidrolizáveis e condensados. Os taninos hidrolizáveis são poliésteres de ácido gálico e outros ácidos fenólicos derivados desses, os quais são facilmente hidrolizáveis por ácidos. Entre os hidrolizáveis, pode-se citar o ácido tânico, que tem como resultado de sua hidrólise a glicose e o ácido gálico. Os taninos condensados são polímeros flavonóides das catequinas, que produzem antocianidinas sob hidrólise ácida (Mueller-Harvey e McAllan, 1992). Em termos gerais, as ligações entre os taninos e as proteínas são feitas por pontes de hidrogênio entre os grupos hidroxifenóis dos taninos e os grupos carbonila das ligações peptídicas. Segundo Makkar (1988), uma vez complexados, a utilização da proteína é diminuída, afetando a digestibilidade dos carboidratos e interferindo na absorção e retenção de alguns minerais e vitaminas.

Os elevados preços das rações para os peixes, causados pelos custos dos produtos de origem animal, obrigam à busca constante de fontes alternativas de ingredientes. Alguns ingredientes, resultantes dessa busca, tais como sorgo, canola, girassol e leucena, quando incorporados às formulações ou usados como alimento suplementar, contêm quantidades consideráveis de taninos e apresentam resultados discretos de desempenho e utilização biológica pelos peixes. Dessa forma, os efeitos dos taninos na nutrição dos peixes precisam ser avaliados detalhadamente, a fim de otimizar o uso dos ingredientes que os contêm.

Este trabalho teve como objetivo estudar os efeitos de quatro níveis de taninos na digestibilidade das rações da tilápia-do-nylo.

## Material e métodos

A presente pesquisa foi conduzida no período compreendido entre 15.2.99 e 30.6.99, no laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp, Câmpus de Botucatu, unidade integrada ao Caunesp.

As rações experimentais foram confeccionadas de forma a apresentarem-se isoenergéticas (3.200 kcal ED/kg de ração) e isoprotéicas (30% PB). Variaram-se os níveis de inclusão de tanino de 0,0% até 0,84 na % da ração. O teor tanino foi atingido a partir de um produto comercial de barbatimão (*Dimorphandra mollis*) de 42% de atividade. Os ingredientes e a porcentagem de inclusão nos diferentes tratamentos assim como a composição analisada das rações, apresentam-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição percentual dos ingredientes usados na confecção das dietas e composição química analisada das rações experimentais

Ingrediente (%)	Tratamentos: nível de tanino na ração (%)				
	0,00	0,21	0,42	0,63	0,84
Milho	19,00	18,98	18,96	18,94	18,92
Farelo de Soja	54,00	53,95	53,89	53,84	53,78
Farelo de Trigo	17,33	17,30	17,30	17,27	17,26
BHT <sup>1</sup>	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Óleo de Soja	4,40	4,40	4,39	4,39	4,38
Fosfato bicálcico	3,60	3,60	3,59	3,59	3,59
Premix <sup>2</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Alginate	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Vitamina C	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Sal (NaCl)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Barbatimão <sup>3</sup>	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00
Oxido de crômio	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição da ração					
Proteína bruta (%)	30,40	30,48	30,40	30,36	30,38
ED <sup>4</sup> (Kcal/Kg)	3214	3211	3207	3204	3201
Relação ED: P	107	107	107	107	107
Extrato etéreo (%)	8,16	8,16	8,10	8,25	8,15
Fibra bruta (%)	6,10	6,15	5,90	5,95	5,90
Taninos adicionados <sup>5a</sup> (%)	0,00	0,21	0,42	0,63	0,84
Lisina <sup>5</sup> (%)	1,58	1,57	1,57	1,57	1,57
Metionina <sup>5</sup> (%)	0,43	0,43	0,43	0,43	0,42
Calcio <sup>5</sup> (%)	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
Fósforo disponível <sup>5</sup>	0,70	0,69	0,69	0,69	0,69

<sup>1</sup>BHT = Butil hidroxi tolueno, antioxidante; <sup>2</sup>Premix mineral e vitamínico (*Supremais*): níveis de garantia por kg do produto: vitaminas: A=1200.000 UI; D3=200.000 UI; E=12.000 mg; K3=2.400 mg; B1=4.800 mg; B2=4.800 mg; B6=4.000 mg; B12=4.800 mg; ac. fólico=1.200 mg; pantotenato de Ca=12.000 mg; C=48.000 mg; biotina=48mg; colina=65.000mg; niacina=24.000mg; minerais: ferro=10.000 mg; cobre=600 mg; manganês=4.000 mg; zinco=6.000 mg; iodo=20 mg; cobalto=2 mg e selênio=20 mg; <sup>3</sup>Extrato de Barbatimão (*Striphnodendron obovatum*) com 42% de taninos totais; <sup>4</sup>ED = Energia digestível; <sup>5</sup>Valor calculado. <sup>5a</sup> estimado pela inclusão do tanino de barbatimão e sua atividade analisada

Na confecção das rações, os ingredientes foram moídos a granulometria-padrão de 0,43mm de

diâmetro, misturados manualmente e peletizados com ajuda de moinho de carne. Posteriormente, os peletes foram desidratados em estufa dotada de ventilação forçada, a 55°C por 24 horas. Finalmente, os peletes foram fracionados e peneirados para obterem-se diâmetros de 3 x 5mm.

Os coeficientes de digestibilidade aparente foram determinados pelo método indireto, usando óxido de crômio como marcador inerte. Utilizaram-se cinco aquários de alimentação, de formato circular e capacidade de 250 litros, e cinco aquários de coleta (fezes) de formato cônico e capacidade de 300 litros, também confeccionados em fibra de vidro. Os peixes (80 juvenis com peso médio de 100 ± 10 g) foram alojados em cinco tanques-rede de formato circular, confeccionados com tela plástica (malha de 1,5cm entre-nós). Esses tanques foram utilizados para abrigar os peixes e facilitar o manejo de alimentação e coleta de fezes, sem estressá-los, conforme metodologia adotada nesse laboratório (Pezzato *et al.*, 1999).

Os peixes foram mantidos, durante o dia, nos aquários de alimentação, onde receberam refeições à vontade, das 8h00 nos quais 17h30min. Após, foram transferidos para os tanques de coleta de fezes, nos quais permaneceram até a manhã do dia subsequente. Esses tanques, dotados de um sistema de coleta de fezes por gravidade, possibilitaram a obtenção do material para análise. Após o período de alimentação e de coleta de fezes, efetuou-se uma limpeza nos tanques, preparando-os para nova coleta (repetição). O período de coleta de fezes de cada um dos ingredientes foi de cinco dias. As fezes foram desidratadas em estufa de ventilação forçada a 55 °C (48 h) e moídas.

As análises para determinação da concentração de crômio das fezes e das rações foram feitas no Laboratório de Química Analítica do Departamento de Química do Instituto de Biociências da Unesp - Câmpus de Botucatu, segundo Graner (1972). A determinação dos teores de taninos nas rações foi realizada pelo Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, câmpus de Piracicaba, e as análises bromatológicas dos ingredientes, das rações e das fezes, realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição Animal da FMVZ - Unesp - Botucatu, segundo os protocolos da AOAC (1984).

Os coeficientes de digestibilidade aparentes dos nutrientes foram calculados com base no teor de óxido crômio dos nutrientes nas rações e nas fezes, conforme a fórmula abaixo apresentada:

$$Da_{(n)} = 100 - \left[ 100 \left( \frac{\%Cr_2O_{3r}}{\%Cr_2O_{3f}} \right) \times \left( \frac{\%N_f}{\%N_r} \right) \right]$$

onde:

$Da_{(n)}$  = Digestibilidade aparente do nutriente;

$Cr_2O_{3r}$  = % de óxido de crômio na ração;

$Cr_2O_{3f}$  = % de óxido de crômio nas fezes;

$N_r$  = % Nutrientes na ração;

$N_f$  = % Nutrientes nas fezes.

O estudo estatístico do efeito do nível de tanino sobre os CDA dos nutrientes considerados foi realizado a partir de análise de variância para experimentos inteiramente causalizados ( $p < 0,01$ ) e testes de comparação entre médias (Tukey,  $p < 0,01$ ), segundo Martínez e Martínez (1997). As análises foram complementadas com as informações obtidas a partir de estudos de regressão (Draper e Smith, 1981).

Toda a análise foi implementada utilizando-se os procedimentos REG e GLM do SAS (Sasi, 1995), e as diferenças observadas foram concluídas no nível de significância de  $p < 0,01$ . Diariamente, foram registrados os valores da temperatura, pH e oxigênio dissolvido das caixas de alimentação e aquários de coleta de fezes, sendo mantidos dentro das recomendações de Boyd (1990).

## Resultados e discussão

Os parâmetros de qualidade da água, durante o experimento, mantiveram-se estáveis e, nas faixas de conforto da espécie, temperatura (26±1,3 °C), pH (7,5±0,72) e oxigênio dissolvido (5,1 ±1,5 mg/L) segundo as recomendações de Boyd (1990).

Na Tabela 2, apresentam-se os valores médios, os resultados do teste de Tukey e as equações resultantes dos testes de regressão aplicados às médias dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) das frações matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo, obtidos com tilápias alimentadas com diferentes níveis de tanino na ração.

O efeito do tanino na digestibilidade da fração matéria seca da ração, pela tilápia-do-nylo, apresenta tendência linear decrescente, conforme demonstrado pela equação de regressão (Tabela 2) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 90%. Com relação à matéria seca, essa não foi afetada na presença de 0,42% de tanino, enquanto que, níveis de 0,63 e 0,84% de tanino na ração diminuíram de forma significativa ( $p < 0,01$ ) a digestibilidade desta fração, sendo que esses dois níveis apresentaram resultados semelhantes entre si.

**Tabela 2.** Comportamento dos valores médios dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) das frações matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo para tilápias na fase juvenil, em função dos níveis de tanino ministrados na ração

CDA <sup>(1)</sup> (%)	Tratamentos: nível de tanino na ração (%)					Regressão
	0,00	0,21	0,42	0,63	0,84	
Matéria seca	82,15a ± 1,03	81,18a ± 1,01	81,96a ± 0,64	70,19b ± 1,18	70,08b ± 0,93	$\square = 84,138 - 16,729x$ (CVR = 1,38; R <sup>2</sup> = 0,90)
Proteína bruta	95,53a ± 0,37	95,13a ± 0,29	95,58a ± 0,21	91,63b ± 0,54	91,30b ± 0,33	$\square = 96,141 - 5,7041x$ (CVR = 0,43; R <sup>2</sup> = 0,89)
Extrato etéreo	95,54a ± 0,34	93,85a ± 0,98	93,97a ± 0,38	89,07b ± 0,81	86,72c ± 1,25	$\square = 96,291 - 10,680x$ (CVR = 0,92; R <sup>2</sup> = 0,92)

<sup>1</sup> CVR coeficiente de variação da regressão; R<sup>2</sup> coeficiente de determinação; Cada valor representa a média ± desvio padrão (n=5); Valores seguidos com letras iguais não diferem entre si (Tukey, p>0,01); As três variáveis testadas apresentaram efeito linear decrescente (p<0,01).

O efeito significativo do tanino na digestibilidade pode ser explicado pela ação inibidora de suas enzimas digestivas. Os resultados apresentados pelos tratamentos com níveis de 0,63% e 0,84% de taninos revelaram que tais níveis diminuíram o valor desse coeficiente, respectivamente, em 14,56% e 14,70% quando comparados ao tratamento controle (0,00% de taninos).

Os resultados de digestibilidade da matéria seca constatados nesse estudo são explicados por Mueller-Harvey e McAllan (1992), quando afirmam que os efeitos dos taninos podem ser reduzidos no estômago ao serem dissociados por ação do pH e das demais enzimas digestivas. Segundo esses autores, as substâncias fenólicas podem ainda se combinar com as proteínas da camada externa das células intestinais, levando a uma redução da absorção dos nutrientes presentes na dieta.

Afirmam também esses autores que a sua toxidez depende do tipo do tanino e da sua proporção na ração, dos produtos finais da hidrólise no intestino e da espécie animal. As semelhanças existentes entre os CDA da MS encontrados nesse estudo, entre os tratamentos controle e aqueles que continham 0,21% e 0,42% de taninos, podem ser explicadas através desse comportamento; porém, a inclusão de 0,63% e 0,84% de taninos foi suficiente para proporcionar significativamente os menores coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca.

Os resultados de digestibilidade aparente da fração proteína bruta dos diferentes tratamentos (Tabela 2) demonstraram efeito linear decrescente (p<0,01), com coeficiente de determinação de 89%. Pode-se observar que os tratamentos que continham 0,00%; 0,21% e 0,42% de taninos resultaram em semelhantes coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta. Por outro lado, a presença de níveis de 0,63% e 0,84% de taninos resultaram em semelhantes coeficientes, mas inferiores estatisticamente (p<0,01) aos demais tratamentos.

A ação dos taninos sobre a digestibilidade aparente da proteína bruta detectada quando da presença de 0,63% e 0,84% de tanino repete a tendência e a significância apresentadas para a matéria seca. Observou-se que, nos dois tratamentos, houve uma diminuição na digestibilidade da proteína bruta quando comparada ao controle, em respectivamente 4,08% e 4,43%. Isso pode ser conseqüência da ação dos taninos sobre a proteína presente na ração e ainda sobre as enzimas responsáveis pela sua digestão. Segundo Austin *et al.* (1989), alguns aminoácidos têm grande afinidade pelos taninos, destacadamente a prolina, com os quais formam complexos resistentes ao ataque enzimático que ocorre durante o processo digestório. Isso pode explicar o menor aproveitamento da proteína dessas rações, sendo esse um processo de estratégia de defesa dos animais contra os taninos presentes nos alimentos.

A diminuição da digestibilidade da fração proteína bruta, detectada de forma significativa (p<0,01) nas rações que continham 0,63% e 0,84% de taninos, confirma as afirmações feitas por Chubb (1982) de que o tanino diminui o aproveitamento da ração e leva a altas excreções de nitrogênio nas fezes. Esses resultados podem ser ainda explicados por Mueller-Harvey e McAllan (1992), quando afirmam que os taninos formam complexos com as proteínas, enzimas digestivas e outros substratos, afetando a digestão dos nutrientes contidos nos alimentos, e por Makkar (1988), segundo o qual a proteína presente na ração é complexada com o tanino, sendo diminuída a sua utilização quando presente no alimento ingerido.

À semelhança do ocorrido com as frações matéria seca e proteína bruta, a digestibilidade aparente do extrato etéreo também demonstrou tendência linear decrescente (p<0,01), com coeficiente de determinação de 92% (Tabela 2). Os coeficientes de digestibilidade aparente para o extrato etéreo apresentados pela tilápia-do-nylo não revelaram diferenças significativas (p>0,01) entre os tratamentos controle e os que continham 0,21% e 0,42% de taninos na ração. Entretanto, o efeito do tanino sobre os coeficientes de digestibilidade aparente do extrato etéreo das rações revelou-se altamente significativo (p<0,01) entre os tratamentos que continham 0,63% e 0,84% de taninos, e para esses em relação aos demais tratamentos.

A inclusão dos níveis 0,63% e 0,84% de tanino às rações proporcionou, respectivamente, diminuições de 6,77% e 9,93% no valor coeficiente de digestibilidade aparente do extrato etéreo quando

comparados ao controle. O efeito negativo ( $p < 0,01$ ) do tanino na digestibilidade da fração extrato etéreo destacado nos tratamentos que continham 0,63% e 0,84% de taninos na ração pode estar associado à menor capacidade de ação das enzimas digestivas bem como aos efeitos que esses compostos fenólicos causaram sobre o sistema digestivo e metabólico dos animais.

As menores digestibilidades para a fração extrato etéreo observadas nas rações que continham 0,63% e 0,84% de taninos na ração também são explicadas por Fialho e Pinto (1992) quando afirmam que os compostos fenólicos inibem algumas enzimas do sistema digestivo diminuindo a absorção de nutrientes através da parede celular.

Segundo Durigan (1989), o estudo dos fatores antinutricionais é prejudicado dada a ocorrência de diferentes substâncias em um mesmo ingrediente, em função da dificuldade em isolá-los e, assim, explicar os resultados obtidos como causa de um anti-nutricional específico. Neste estudo, as rações que constituíram os cinco tratamentos podem ser consideradas idênticas com relação ao conteúdo total de nutrientes. Entretanto, a diminuição significativa da digestibilidade das frações matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo observada na tilápia-do-nylo, quando da presença de níveis de 0,63% e 0,84% de taninos totais, deve ser atribuída exclusivamente à ação antinutricional desse composto.

Nas condições em que foi realizado o presente estudo, pode-se concluir que, para a tilápia-do-nylo na fase juvenil, a presença de até 0,42% de tanino na ração não prejudica a digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo. Níveis iguais ou superiores a 0,63% de tanino na ração têm efeito deletério significativo sobre a digestibilidade dos nutrientes da ração.

### Referências bibliográficas

Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis*. Arlington: AOAC, 1984.

Austin, P.J.; Suchar, L.A.; Robbins, C.T. Hagerman, A.E. Tannin binding proteins in saliva of deer and their absence in saliva of sheep and cattle. *J. Chem. Ecol.*, 15(14):1335-1347, 1989.

Austreng, E. Digestibility determination in fish using chromic oxid marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*, 13:265-272, 1978.

Boyd, C.E. *Water quality management for ponds fish culture: development in aquaculture and fisheries science*. Amsterdam, Oxford, New York: Elsevier Scientific, 1990.

Chubb, L.G. Antinutritive factors in animal feedstuffs. In: Haresing, W. *Studies in the agricultural and food sciences butterworths. Recent Adv. Anim. Nutr.*, 1:21-37, 1982.

Draper, N.R.; Smith, H. *Applied regression analysis*. New York: Wiley publishing, 1981.

Durigan, J.F. Fatores antinutricionais em alimentos. In: SIMPÓSIO INTERFASE NUTRIÇÃO X AGRICULTURA, 1989, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: Fealq/Esalq-USP, 1989, p. 155-225.

Fialho, E.T.; Pinto, H. Utilização de sorgo em rações para suínos e aves. *Circular Técnica Embrapa*, 16:4-19, 1992.

Graner, C.A.F. *Determinação do crômio pelo método colorimétrico da s-difenilcarbazida*. Botucatu, 1972. (Doctoral Thesis in Science) - Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas, Universidade Estadual Paulista.

Liener, I.J. *Toxic constituents of plants feedstuffs*. New York: Academic Press, 1980.

Makkar, H.P.S. Do tannins affect only protein utilisation? *Ind. Daryman*, 41(7):135-156, 1988.

Martínez, R.; Martínez, N. *Diseño de experimentos. analisis de datos estandar y no estandar*. Santafé de Bogotá: Fondo Nacional Universitario, 1997.

Mueller-Harvey, I.; McAllan, A.B. Tannins: their biochemistry and nutritional properties. *Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol.*, 1:151-217, 1992.

Nose, T. Recent advances in the study of fish digestion in Japan. In: SIMPOSIUM ON FINFISH NUTRITION AND FISH FEED TECHNOLOGY, 1966, Belgrade. *Proceedings...* Belgrade: Eifac/FAO, 1966. p. 15-17.

Pezzato L.E. Alimentos convencionais e não-convencionais disponíveis para indústria da nutrição de peixes no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE PEIXES E CRUSTÁCEOS, 1, Campos do Jordão. *Anais...* Campos do Jordão: CBNA, 1995. p. 33-52.

Pezzato, L.E.; Carvalho de M.E.; Pezzato, A.C.; Barros, M.M.; Quintero P.L.G. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia-do-nylo. (*Oreochromis niloticus*). 1999. No prelo.

Statistical Analysis Systems Institute. *SAS®/STAT User's guide*, Version 6. 4. ed. Cary: SAS Intitute, 1995.

Received on December 10, 1999.

Accepted on April 29, 2000.