

<https://doi.org/10.22256/pubvet.v12n2a33.1-7>

Seleção de fungos do gênero *Aspergillus* produtores de tanase para inclusão em ração animal

Emilena Pina da Silva^{1*}, Lucilo Bioni da Fonseca Filho², Carlos André Ferreira Lima³, Priscilla Virginio de Albuquerque⁴, Lourival Barros de Sousa Brito Pereira⁵, Silvia Fernanda de Alcantara⁶, João Araujo de Melo Neto⁷, Júlio César dos Santos Nascimento⁸, Marleyne José Afonso Accioly Lins Amorim⁹, Ana Lúcia Figueiredo Porto¹⁰

¹Zootecnista, Recife-PE Brasil.

²Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE Brasil. E-mail: lucilofilho@gmail.com

³Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE Brasil. E-mail: carlos-andre21@hotmail.com

⁴Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE Brasil. E-mail: priscilla2009w@hotmail.com

⁵Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Maurício de Nassau, Recife-PE Brasil. E-mail: lorinho2013.1@hotmail.com

⁶Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE Brasil. E-mail: alcantarabio35@gmail.com

⁷Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE Brasil. E-mail: joaoaraujomn@outlook.com

⁸Professor do Centro Universitário Maurício de Nassau, Curso de Medicina Veterinária, Recife-PE Brasil. E-mail: juliocezar@veterinario.med.br

⁹Professor Associado em Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE Brasil. E-mail: marleyneamorim@gmail.com

¹⁰Professor Titular em Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE Brasil. E-mail: analuporto@yahoo.com.br

*Autor para correspondência, E-mail: emilena_pina@hotmail.com

RESUMO. A indústria biotecnológica produz diversas enzimas com inúmeras utilizações, podendo estar presente na indústria de alimentos, bebidas, farmacêuticas, como agentes terapêuticos ou ainda como uma alternativa para uma questão bastante atual como a redução do impacto ao meio ambiente como também geração de recursos renováveis. Resíduos agroindustriais que são descartáveis no processo de produção podem ser utilizados a fim de agregar valor e/ou propiciar o aproveitamento dos mesmos, podendo ser utilizado na alimentação animal. A tanase (Tanino-acil-hidrolase) é uma enzima que hidrolisa ésteres e ligações laterais de taninos hidrolisáveis, como o ácido tânico, promovendo a liberação de glicose e ácido gálico. Esta enzima pode ser obtida a partir de fontes vegetal, animal e microbiana, estando presente em maior concentração em partes de vegetais ricos em taninos (frutas, folhas, galhos e cascas). Para produção desta enzima pode ser utilizado um meio de cultura simples, como subprodutos agroindustriais, tais como casca de uva, caju, café ou farelo de trigo, arroz e aveia, acrescidos de ácido tânico. No presente trabalho foram selecionadas espécies de fungos do gênero *Aspergillus* para produção de tanase. Sendo estas crescidas em meio modificado, indicando assim a capacidade de produção de tanase pelos mesmos e os possíveis melhores produtores da enzima. Foram testados 19 fungos, dos quais apenas 4 (*A. caespitosus* URM 5182, *A. janus* URM 4456, *A. niveus* URM 2803 e *A. sydowi* URM 3066) não apresentaram crescimento no meio modificado (acrescido com ácido tânico). As espécies que mais se destacaram quanto ao crescimento no meio screening tanase foram as espécies *Aspergillus japonicus* e *Aspergillus niger* apresentando um crescimento nas colônias superior aos demais selecionados.

Palavras chave: Biodeterioração, produção animal, screening tanase

Selection of fungi of the genus *Aspergillus* tannase producers for inclusion in animal feed

ABSTRACT. The biotechnology industry produces several enzymes with numerous uses, being able to be present in the food industry; drinks; pharmaceuticals as therapeutic agents or as an alternative to a fairly current issue such as reducing the impact on the environment as well as generating renewable resources. Agroindustry wastes that are disposable in the production process can be used in order to add value and / or propitiate the use of them, and can be used in animal feed. Tannase (Tannin-acylhydrolase) is an enzyme that hydrolyzes esters and side bonds of hydrolysable tannins, such as tannic acid, promoting the release of glucose and gallic acid. This enzyme can be obtained from vegetable, animal and microbial sources, being present in greater concentration in vegetable parts rich in tannins (fruits, leaves, twigs and peels). For the production of this enzyme a simple culture medium may be used, such as agroindustry by-products, such as grape rind, cashew, coffee or wheat bran, rice and oats, plus tannic acid. In the present work were selected species of fungi of the genus *Aspergillus* for the production of tanase. These being grown in modified medium; thus indicating the production capacity of tannase by them and the possible best producers of the enzyme. 19 fungi were tested, of which only 4 (*A. caespitosus* URM 5182, *A. janus* URM 4456 *A. levels* URM 2803 and *A. sydowi* URM 3066) did not show growth in the modified medium (increased with tannic acid). The species that most stood out for the growth in the medium screening tanase were the species *Aspergillus japonicus* and *Aspergillus niger* showing a growth in the colonies superior to the others selected.

Keywords: Biodeterioration, animal production, screening tanase

Selección de hongos del género Aspergillus productores de tanasa para su inclusión en piensos

RESUMEN. La industria biotecnológica produce varias enzimas con numerosas utilidades, pudiendo estar presente en la industria de alimentos, bebidas, farmacéuticas, como agentes terapéuticos o como una alternativa a una cuestión bastante actual como la reducción del impacto al medio ambiente, así como la generación de recursos renovables. Los residuos agroindustriales que son desechables en el proceso de producción pueden ser utilizados para agregar valor y / o propiciar el aprovechamiento de los mismos, pudiendo ser utilizado en la alimentación animal. La tanasa (Tanino-acil-hidrolasa) es una enzima que hidroliza ésteres y enlaces laterales de taninos hidrolizados, como el ácido tánico, promoviendo la liberación de glucosa y ácido gálico. Esta enzima puede ser obtenida a partir de fuentes vegetales, animales y microbianas, estando presente en mayor concentración en partes de vegetales ricos en taninos (frutas, hojas, ramas y cáscaras). Para la producción de esta enzima se puede utilizar un medio de cultivo simple, como subproductos agroindustriales, tales como cáscara de uva, cajú, café o salvado de trigo, arroz y avena, además de ácido tánico. En el presente trabajo se seleccionaron especies de hongos del género *Aspergillus* para producción de tanasa. Siendo estas especies crecidas en medio modificado, indicando así la capacidad de producción de tanasa por los mismos y los mejores productores de la enzima. Se probaron 19 hongos, de los cuales sólo 4 (*A. caespitosus* URM 5182, *A. janus* URM 4456 *A. niveus* URM 2803 y *A. sydowi* URM 3066) no presentaron crecimiento en el medio modificado (añadido con ácido tánico). Las especies que más se destacaron en cuanto al crecimiento en el medio screening tanase fueron *Aspergillus japonicus* y *Aspergillus niger* presentando un crecimiento en las colonias superior a los demás seleccionados.

Palabras clave: Biodeterioración, producción animal, hongos, screening tanase

Introdução

Por exercerem uma grande variedade de funções nos organismos vivos, as enzimas são indispensáveis para a transdução de sinais, assim como na regulação celular. Uma importante

função das enzimas ocorre no sistema digestivo dos animais, como amilases e proteases que quebram grandes moléculas como o amido e proteínas, respectivamente, em moléculas de menores dimensões de maneira a que estas possam ser absorvidas no intestino. Nos ruminantes, que

possuem uma dieta herbívora, bactérias no sistema digestivo produzem uma enzima denominada celulase que quebra as paredes das células vegetais. Elas trabalham em conjunto seguindo uma ordem de atuação específica, formando vias metabólicas. Nestas vias, uma enzima processa o produto da ação de outra enzima como o seu substrato. Após a reação catalítica, o produto é depois entregue a outra enzima. Por vezes, mais do que uma enzima pode catalisar a mesma reação, em paralelo. Isto permite uma regulação mais complexa ([Meighen, 1991](#), [Hunter, 1995](#), [Berg et al., 2001](#)).

Enzimas hidrolíticas ou hidrolases, catalisam a clivagem hidrolítica das ligações -C-O, -C-N, -C-C além de outros tipos de ligação, incluindo as ligações de anidrido fosfórico. A classificação sistemática das enzimas pelo seu sistema *Enzyme Comision* (EC) permitiu em seis grandes grupos ou classes, podendo ser subdivididos em subclasses relacionadas à ação específica da cada enzima. Graças às suas características as hidrolases possuem um grande potencial biotecnológico, constituindo um grupo de enzimas mais exploradas comercialmente. As hidrolases comercializadas são empregadas em diversos setores da indústria, tais como detergentes, couro, têxtil, roupa e papel, óleos e gorduras, panificação, laticínios, sucos e vinhos, cervejaria, ração animal, cosméticos, medicamentos e mais recentemente nos setores de química fina, meio ambiente e engenharia genética ([Cheethan, 1995](#), [Bon & Pereira, 1999](#)).

Tanino-acil-hidrolase (TAH) usualmente chamada de tanase (E.C: 3.1.1.20) é uma enzima que hidrolisa ésteres e ligações laterais de taninos hidrolisáveis ([Banerjee et al., 2001](#)) e por meio da hidrólise das ligações éster e depsídica desses taninos (como o ácido tânico) ocorre à liberação de glicose e ácido gálico ([Helbig et al., 2003](#)). A tanase assim como as enzimas de um modo geral, pode ser obtida a partir de fontes vegetal, animal e microbiana. Estando presentes em muitas plantas ricas em taninos, principalmente em suas frutas, folhas, galhos e nas cascas ([Banerjee & Kar, 2000](#)), é uma enzima extracelular, induzível, produzida na presença de ácido tânico por fungos, bactérias e leveduras ([Aguilar et al., 1999](#)).

A primeira etapa para o desenvolvimento do processo de produção de enzimas microbianas é a seleção da linhagem. As enzimas extracelulares são preferidas, pois são mais facilmente extraídas e dispensam métodos de extração mais

dispendiosos ([Couri et al., 1998](#)). Existem estudos de produção da tanase por fermentação sólida, líquida e submersa ([Lekha & Lonsane, 1994](#)).

A fermentação sólida para a produção de enzimas oferece vantagens sobre o método de fermentação submersa e líquida convencional. O meio de produção é simples, podem-se utilizar subprodutos agroindustriais como casca de uva, caju, café ou farelo de trigo, arroz e aveia, acrescidos de ácido tânico ([Van de Lagemaat & Pyle, 2001](#)).

[Lekha & Lonsane \(1997\)](#) produziram tanase de *Aspergillus niger* e *Penicillium glabrum* utilizando farelo de trigo e [Aguilar & Gutiérrez-Sánchez \(2001\)](#) e [Van de Lagemaat & Pyle \(2001\)](#) produziram tanase em espuma de poliuretano. A utilização de resíduos provenientes de indústrias processadoras de frutas e grãos pode consistir em uma alternativa para promover a redução dos custos de produção da enzima e evitar problemas de poluição. O interesse na fermentação sólida para a produção de compostos de importância comercial é uma consequência da demanda por insumos de menor custo. Embora existam muitas aplicações industriais da tanase em potencial, poucas são efetivamente empregadas devidas essencialmente ao custo de produção da enzima, que ainda é elevado e principalmente devido ao pouco conhecimento sobre seu modo de ação catalítica.

A enzima pode ter vasta aplicação na indústria de alimentos, sucos, cervejaria, cosméticos, farmacêutica e indústria química ([Lekha & Lonsane, 1997](#)), sendo bastante utilizada para a produção de ácido gálico, chás instantâneos, na estabilização e coloração de vinhos, em refrigerantes à base de café, no processo de tratamento de couro, na detanificação de alimentos e no tratamento de efluentes na indústria de couro ([Banerjee et al., 2001](#)).

O gênero *Aspergillus* pertence ao grupo de fungos filamentosos de grande dispersão no meio ambiente e com papel importante nos processos de biodeterioração, principalmente em alimentos estocados e industrializados. O interesse pelo uso de espécies pertencentes ao grupo *Aspergillus* em processos industriais vem aumentando nos últimos anos, proporcionando vantagens econômicas na produção de enzimas, ácidos orgânicos e preparação de comidas orientais ([Campbell et al., 1989](#), [Gómez-Ramírez et al., 2013](#)). Os *Aspergillus* encontram-se na microflora normal de produtos vegetais tais como o arroz, o

feijão e soja (Pitt, 2000). A maioria das espécies é mais comumente encontrada em áreas tropicais e subtropicais. No entanto, algumas podem habitar no solo em climas frios (Larone, 1995).

De acordo com Esposito & Azevedo (2004), os fungos são responsáveis pela produção de importantes ácidos orgânicos, como o ácido cítrico, pela produção de fármacos, como alguns antibióticos, pela produção de enzimas de interesse industrial e de elevado valor econômico, destacando-se as celulases, lacases, xilanases, pectinases e amilases, pelo controle de insetos-pragas da agricultura, pelo controle de inúmeras moléstias que atacam as plantas cultivadas e pela produção de etanol.

As espécies que compreendem o Reino *Fungi* são os agentes mais importantes em degradação na Terra. Isso é particularmente verdadeiro em ecossistemas florestais onde os fungos são os principais decompositores de celulose e lignina, os componentes primários da madeira (Esposito & Azevedo, 2004).

O gênero *Aspergillus* inclui aproximadamente 185 espécies, das quais 20 espécies foram, por enquanto, informadas como agentes causativos de infecções oportunistas no homem. Entre essas, *Aspergillus fumigatus* é a espécie mais comumente isolada, seguida por *Aspergillus flavus* e o *Aspergillus niger*. Os *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus ustus*, e *Aspergillus versicolor* estão entre as espécies menos isoladas como agentes patógenos oportunistas. As características macroscópicas principais notáveis na identificação de espécie são a taxa de crescimento, a cor da colônia, e termotolerância (Larone, 1995).

Material e Métodos

Os fungos para seleção de produção de tanase foram obtidos da coleção URM do Departamento de Micologia (Centro de Ciências Biológicas) da Universidade Federal de Pernambuco. Totalizando 19 espécies do gênero *Aspergillus*. Foram utilizados reagentes diversos, todos de grau analítico.

Para manutenção das culturas foram utilizados o meio de cultura potato dextrose agar (PDA) e Czapek (Cz). Para o crescimento dos fungos e produção de tanase foi utilizado um meio de cultura constituído por um subproduto agroindustrial.

As amostras foram repicadas a cada 30 dias para tubos de ensaio contendo ágar Sabourand, Malte ou Czapek, de acordo com amostra, incubados a 37° C por 48h. Foram adquiridas 19 amostras de fungos do gênero *Aspergillus* da coleção URM (Micoteca – Departamento de Micologia/CCB/UFPE).

Na primeira etapa do screening, as linhagens foram repicadas no Meio Screening Tanase (meio básico modificado) para classificar os possíveis produtores da enzima tanase (Tabela 1). O meio básico modificado continha ácido tânico, que confere ao mesmo, fonte de glicose e ácido gálico. Os fungos foram inoculados em meio de cultura contendo g/L: ácido tânico, 10; NaNO₃ 3,0; KH₂PO₄ 1,0; MgSO₄.7H₂O 0,5; KCl 0,5; FeSO₄.7H₂O 0,01; e Agar 30,0; pH 5.8 e a inoculação de cada linhagem de *Aspergillus* foi feita em duplicata a 30° C por 120 horas, conforme a metodologia descrita por Pinto et al. (2003).

Tabela 1. *Aspergillus* utilizados para o screening de produtores de tanase

Espécies <i>Aspergillus</i> spp. URM
<i>A. aculeatus</i> URM 4953 (1)
<i>A. caespitosus</i> URM 5182 (2)
<i>A. carbonarius</i> URM 1546 (3)
<i>A. carbonarius</i> URM 3818 (4)
<i>A. carbonarius</i> URM 5012 (5)
<i>A. janus</i> URM 4456 (7)
<i>A. japonicus</i> URM 3833 (8)
<i>A. japonicus</i> URM 3840 (9)
<i>A. japonicus</i> URM 3916 (10)
<i>A. japonicus</i> URM 5242 (13)
<i>A. niger</i> URM 2908 (14)
<i>A. niger</i> URM 4645 (15)
<i>A. niger</i> URM 5218 (16)
<i>A. niger</i> URM 5239 (17)
<i>A. niger</i> URM 5243 (18)
<i>A. niveus</i> URM 2803 (19)
<i>A. phoenics</i> URM 4924 (20)
<i>A. sydowi</i> URM 3066 (21)
<i>A. terreus</i> URM 224 (22)

A segunda etapa do screening foi realizada com as linhagens que apresentaram crescimento na 1ª etapa, em meio screening tanase. As mesmas foram inoculadas pela técnica do ponto central em placas contendo o meio básico modificado (meio screening tanase). As placas foram incubadas a 30° C em estufa microbiológica e o diâmetro das colônias foi mensurado a cada 24 horas, utilizando um paquímetro, por um período total de 96 horas (Gomes da Silva et al., 2007). Os experimentos

foram realizados em duplicata, considerando a média aritmética de ambos.

Resultados e Discussão

A [Tabela 2](#) demonstra o resultado da capacidade dos fungos do gênero *Aspergillus* testados em crescer no meio screening tanase, no qual possui o ácido tânico como fonte de glicose e ácido gálico (1º Etapa do screening). Dos 19 fungos *Aspergillus* testados no meio básico modificado, a maioria das espécies apresentaram crescimento no meio, exceto os fungos *A. caespitosus* URM 5182, *A. janus* URM 4456 *A. niveus* URM 2803 e *A. sydowi* URM 3066. Isso indicou que o ácido tânico não conseguiu ser assimilado por esses fungos, demonstrando que os mesmos não produzem a enzima tanase, na qual catalisa a reação de hidrólise do ácido gálico para posterior aproveitamento.

Na [Tabela 3](#) foi verificado que as espécies *A. carbonarius* URM 1546 e *A. japonicus* URM 3833 só apresentaram crescimento após 24 horas de incubação. A partir de 48 horas de incubação, todas as linhagens apresentaram um bom desempenho de crescimento e, com 96 horas, as colônias apresentaram diâmetros que variaram de 0,895 a 4,595 cm. *A. japonicus* URM 3916 ([Figura 1](#)) destacou-se no crescimento em meio básico modificado, apresentando um diâmetro de colônia

de 4,595 cm em 96 horas de incubação (30° C), seguido do *A. niger* URM 2908 ([Figura 2](#)) com 4,030 cm em 96 horas.

Tabela 2. Desenvolvimento dos fungos do gênero *Aspergillus* em meio screening Tanase.

Espécie	Resultado
<i>A. aculeatus</i> URM 4953	+
<i>A. caespitosus</i> URM 5182	-
<i>A. carbonarius</i> URM 1546	+
<i>A. carbonarius</i> URM 3818	+
<i>A. carbonarius</i> URM 5012	+
<i>A. janus</i> URM 4456	-
<i>A. japonicus</i> URM 3833	+
<i>A. japonicus</i> URM 3840	+
<i>A. japonicus</i> URM 3916	+
<i>A. japonicus</i> URM 5242	+
<i>A. niger</i> URM 2908	+
<i>A. niger</i> URM 4645	+
<i>A. niger</i> URM 5218	+
<i>A. niger</i> URM 5239	+
<i>A. niger</i> URM 5243	+
<i>A. niveus</i> URM 2803	-
<i>A. phoenicis</i> URM 4924	+
<i>A. sydowi</i> URM 3066	-
<i>A. terreus</i> URM 224	+

(+) → Crescimento evidenciado em meio screening tanase;

(-) → Crescimento não evidenciado em meio screening tanase

Tabela 3. *Aspergillus* utilizados para o screening de produtores de tanase

Espécies	Diâmetro das colônias (cm/hora)**			
	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
<i>A. aculeatus</i> URM 4953	0,652	1,742	3,037	3,607
<i>A. carbonarius</i> URM 1546	*	0,180	0,600	0,895
<i>A. carbonarius</i> URM 3818	0,192	0,855	1,617	3,370
<i>A. carbonarius</i> URM 5012	0,115	0,835	1,550	2,445
<i>A. japonicus</i> URM 3833	*	0,907	2,130	3,222
<i>A. japonicus</i> URM 3840	0,132	1,132	2,590	3,835
<i>A. japonicus</i> URM 3916	0,202	1,502	2,910	4,595
<i>A. japonicus</i> URM 5242	0,515	1,810	3,252	4,537
<i>A. niger</i> URM 2908	0,280	1,012	1,935	4,030
<i>A. niger</i> URM 4645	0,317	1,082	2,260	3,347
<i>A. niger</i> URM 5218	0,450	1,200	2,237	3,252
<i>A. niger</i> URM 5239	0,380	1,137	2,212	3,232
<i>A. niger</i> URM 5243	0,385	1,112	2,147	3,195
<i>A. phoenicis</i> URM 4924	0,195	0,670	1,510	2,385
<i>A. terreus</i> URM 224	0,230	0,837	1,662	2,487

*Não houve crescimento ou não se conseguiu mensurar macroscopicamente; **Esses valores representam a média dos experimentos em duplicata.

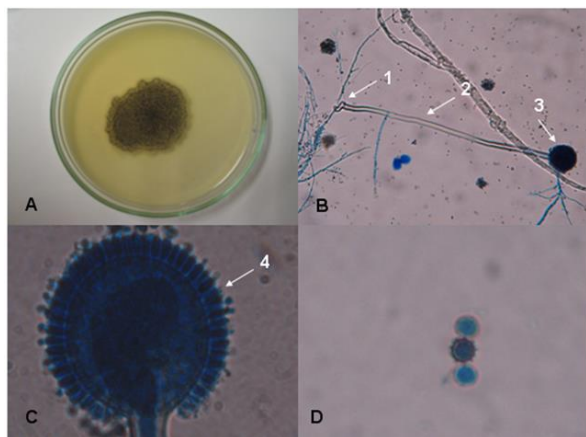


Figura 1. *Aspergillus japonicus* URM 3916: **A)** colônia em meio Ágar Extrato de Malte, com 7 dias de crescimento; **B)** célula pé (seta 1), conidióforo (seta 2) e cabeça conidial (seta 3) (17,7x); **C)** vesícula globosa alongada, esterigma uniseriado (seta 4) (106x); **D)** conídio globoso e equinulado (112x).

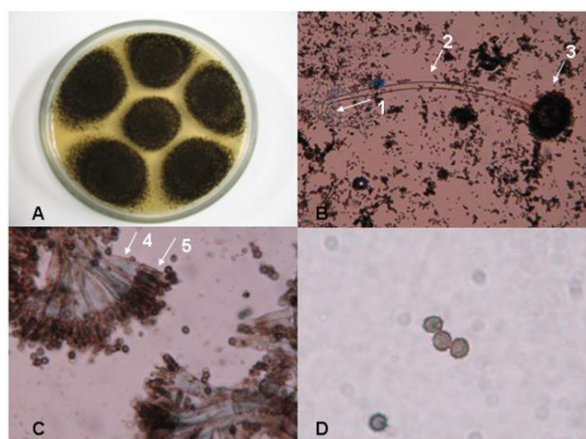


Figura 2. *Aspergillus niger* URM 2908. **A)** colônias em Ágar Extrato de Malte, com 7 dias de crescimento; **B)** célula pé (seta 1), conidióforo (seta 2) e cabeça conidial (seta 3) (17,7x); **C)** metulas (seta 4) maiores que as fiálides (seta 5) (47,7x); **D)** conídio globoso e rugoso (110x).

Conclusão

Dos resultados obtidos pode-se concluir que: O crescimento das colônias em meio modificado, contendo ácido tânico, indicou capacidade de produção de tanase, e que as espécies que mais se destacaram quanto ao crescimento de colônias no meio screening tanase foram *Aspergillus japonicus* e *Aspergillus niger*. Devido a esses resultados, tem-se que a seleção de fungos produtores de tanase é importante para inclusão desta enzima na alimentação animal objetivando assim melhorar os índices reprodutivos.

Referências Bibliográficas

Aguilar, C., Christopher, A., Viniegra-González, G. & Favela, E. 1999. A comparison of methods to determine tannin acyl hydrolase

activity. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 42, 355-362.

Aguilar, C. N. & Gutiérrez-Sánchez, G. 2001. Sources, properties, applications and potential uses of tannin acyl hydrolase. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 7, 373-382.

Banerjee, D., Mondal, K. C. & Pati, B. R. 2001. Production and characterization of extracellular and intracellular tannase from newly isolated *Aspergillus aculeatus* DBF 9. *Journal of Basic Microbiology*, 41, 313-318.

Banerjee, R. & Kar, B. 2000. Biosynthesis of tannin acyl hydrolase from tannin-rich forest residue under different fermentation conditions. *Journal of Industrial Microbiology & biotechnology*, 25, 29-38.

Berg, J. S., Powell, B. C. & Cheney, R. E. 2001. A millennial myosin census. *Molecular Biology of the Cell*, 12, 780-794.

Bon, E. P. S. & Pereira, J. R. 1999. *Tecnologia Enzimática*. Firjan/Senai, Rio de Janeiro, Brasil.

Campbell, E. I., Unkles, S. E., Macro, J. A., Van den Hondel, C., Contreras, R. & Kinghorn, J. R. 1989. Improved transformation efficiency of *Aspergillus niger* based on the pyrG gene. *Mol Gen Genet*, 206, 71-75.

Cheethan, P. S. J. 1995. The application of enzymes in industry. In: Wiseman, A. (ed.) *Hambook of Enzyme Biotechnology*. 3 ed., T. J. Press, Cornwall, p. 419-541. T. J. Press, Cornwall, New York, USA.

Couri, S., Terzi, S. C., Silva, F. D., Freitas, S. P. & Pinto, G. A. S. 1998. Seleção de linhagens mutantes de *Aspergillus niger*, para síntese de enzimas hidrolíticas por fermentação em meio semi-sólido. *Ciência e Engenharia*, 7, 29-31.

Espósito, E. & Azevedo, J. L. 2004. *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*.

Gomes da Silva, L., Ferreira, C. R. C. & Courin, S. 2007. Seleção de *Aspergillus niger* produtores de fitase. CEFET, Nilópolis, Rio de Janeiro.

Gómez-Ramírez, C., Sosa-Morales, M. E., Palou, E. & López-Malo, A. 2013. *Aspergillus niger* time to growth in dried tomatoes. *International Journal of Food Microbiology*, 164, 23-25.

Helbig, E., de Oliveira A.C., Queiroz, Kda S. & Reis, S.M. 2003. Effect of soaking prior to cooking on the levels of phytate and tannin of

- the common bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) and the protein value. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 49, 81-86
- Hunter, T. 1995. Protein kinases and phosphatases: the yin and yang of protein phosphorylation and signaling. *Cell*, 80, 225-236.
- Larone, D. H. 1995. *Medically important fungi- A guide to identification*. ASM Press, Washington.
- Lekha, P. K. & Lonsane, B. K. 1994. Comparative titres, location and properties of tannin acyl hydrolase produced by *Aspergillus niger* PKL 104 in solid-state, liquid surface and submerged fermentations. *Process Biochemistry*, 29, 497-503.
- Lekha, P. K. & Lonsane, B. K. 1997. Production and application of tannin acyl hydrolase: state of the art. *Advances in Applied Microbiology*, 44, 216-260.
- Meighen, E. A. 1991. Molecular biology of bacterial bioluminescence. *Microbiological Reviews*, 55, 123-142.
- Pinto, G., Bruno, L., Hamacher, M., Tarzi, S. & Couri, S. 2003. Increase of tannase production in solid state fermentation by *Aspergillus niger* 3T5B8. *25th Symposium on biotechnology for fuels and chemicals*. Breckenridge, CO, USA.
- Pitt, J. I. 2000. Toxigenic fungi and mycotoxins. *British Medical Bulletin*, 56, 184-192.
- Van de Lagemaat, J. & Pyle, D. L. 2001. Solid-state fermentation and bioremediation: development of a continuous process for the production of fungal tannase. *Chemical Engineering Journal*, 84, 115-123.

Article History:

Received 11 October 2017

Accepted 25 October 2017

Available online 18 January 2018

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License 4.0, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.