

Estudio sobre la producción de proteasas de *Aspergillus niger* utilizando suero de leche

María del Pilar Marín-Cortez¹

Armando Robledo-Olivo^{2,5}

Ana Verónica Charles-Rodríguez²

Rosa María Rodríguez-Jasso³

Susana González-Morales⁴

Adalberto Benavides-Mendoza⁵

1 Posgrado en Agricultura Protegida-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo Coahuila, México. CP. 25315.

2 Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas-Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo Coahuila, México. CP. 25315.

3 Departamento de Investigación en Alimentos-Facultad de Química-Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila. México. CP. 25280.

4 SECIHTI-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. CP. 25315.

5 Departamento de Horticultura-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. CP. 25315.

Autor para correspondencia: armando.robledo@uaaan.edu.mx.

Resumen

El suero de leche es un producto secundario o de deshecho de la industria láctea y generalmente de poca utilidad, con un gran contenido de proteínas que pueden inducir la síntesis fúngica de enzimas proteolíticas. El objetivo de este estudio fue evaluar la producción sustentable de enzimas proteolíticas de *Aspergillus niger* utilizando suero de leche como sustrato en fermentación líquida. La fermentación se realizó en matraces con 50 ml de medio de cultivo de suero de leche y concentraciones de glucosa, en el Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas durante el año 2024. La fermentación se llevó a cabo a 30 °C con agitación orbital a 150 rpm durante 48 h. A los extractos de fermentación se les analizaron contenido de péptidos y actividad proteasa. Los resultados mostraron que el extracto enzimático sin glucosa agregada produjo la mayor actividad de proteasa después de 24 h. El uso de este extracto a pH 3.5 resultó en una mayor liberación de péptidos del suero. El suero al ser un sustrato complejo que contiene azúcares, proteínas, grasas y minerales, puede influir en el crecimiento de microorganismos y la producción de enzimas. La valorización de este residuo agroindustrial proporciona un método eficaz y sustentable para producir biomoléculas de uso agroalimentario y agroindustrial.

Palabras clave:

enzimas, fermentación, proteasa, péptidos, proteínas.



License (open-access): Este es un artículo publicado en acceso abierto bajo una licencia **Creative Commons**

Introducción

Las proteasas son un conjunto de enzimas (proteinasas, peptidasas y amidasas), que catalizan la descomposición de las proteínas liberando peptonas y aminoácidos (Liu *et al.*, 2024). Se clasifican dependiendo de su rango de pH óptimo para realizar el hidrólisis: ácidas, básicas y neutras (Cho *et al.*, 2015). Su importancia industrial radica en su alta especificidad y eficiencia, ya que abarcan el 60% del mercado de producción de enzimas, y acaparando un 40% de las ventas de enzimas mundiales (Naveed *et al.*, 2021). Las aplicaciones industriales de las proteasas abarcan diversas áreas, incluyendo las industrias de los detergentes, de pieles, de la biotecnología y de alimentos.

Las características bioquímicas de las proteasas, como rapidez, biodegradabilidad, alta especificidad y reducida generación de residuos, le confiere a este grupo de enzimas un alto valor de mercado. El mercado de proteasas durante 2025 está pronosticado en 3.73 billones de dólares y se espera que alcance los 5.02 billones para el 2030, creciendo a una tasa compuesta anual del 6.1% durante el período previsto (2025-2030) (Mordor Intelligence, 2025).

Las proteasas de *Aspergillus niger* en particular, han sido identificadas por su eficacia en la hidrólisis de estructuras proteínicas complejas, incluidas las que se encuentran en el suero de leche (Li *et al.*, 2020; Crament *et al.*, 2024; Nouri *et al.*, 2024). La producción de estas proteasas se puede optimizar en condiciones específicas, lo que las convierte en una posible alternativa ecológica y rentable a los procesos de hidrólisis de proteínas químicas.

El suero de leche es un residuo de la agroindustria, el cual se obtiene de la coagulación de la caseína de leche, generando aproximadamente 9 L de suero al producir 1 kg de queso fresco (Fernández-Gutiérrez *et al.*, 2017). El proceso de elaboración de queso origina un problema del tratamiento de este residuo, que genera contaminación y daño al medio ambiente (Dainka *et al.*, 2019), ya que solo el 50% del suero de leche que se genera en México es procesado (Mazorra y Moreno, 2019).

Por su naturaleza, el suero de leche proporciona nutrientes como azúcares, proteínas, grasas y minerales, esenciales para el crecimiento de microorganismos y la producción de enzimas. El contenido de proteínas del suero de leche puede descomponerse en péptidos y aminoácidos, mediante hidrólisis enzimática, siendo esto una clave para mejorar la digestibilidad y reducir la alergenicidad de las proteínas, facilitando la absorción de péptidos bioactivos. Investigaciones recientes destacan que este proceso enzimático genera productos con propiedades funcionales con potencial para su uso en alimentos, bioestimulantes agrícolas, entre otros (Boscaini *et al.*, 2020; Zamana *et al.*, 2023).

Este estudio tuvo como objetivo explorar el efecto de la concentración de glucosa sobre la producción de proteasas de *Aspergillus niger* y su posterior capacidad de hidrólisis de proteínas de suero para generar péptidos solubles. Al investigar el proceso de producción de enzimas proteolíticas y su eficacia en la descomposición de las proteínas de suero, esta investigación busca mejorar el valor del suero como recurso y contribuir a soluciones sostenibles en el procesamiento de alimentos y la biotecnología.

Materiales y métodos

La investigación se realizó en el Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas en el Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

Obtención y análisis de materia prima

El suero de leche se obtuvo de la elaboración de queso asadero, y se conservó en frascos de vidrio en refrigeración a 3-5 °C durante 24 h hasta su utilización. El análisis proximal del suero de leche fue realizado a partir del secado en un horno a 60 °C por 48 h de las muestras de suero, con la finalidad de obtener un polvo. Posteriormente, al polvo de suero de leche se le determinó el contenido porcentual de cenizas, proteína y grasa totales, con la metodología descrita por la AOAC (1980).

La cuantificación de carbohidratos totales se realizó con fenol-sulfúrico, siguiendo el método de Dubois *et al.* (1956). Se generó una curva de calibración utilizando glucosa grado reactivo (Fermont, México) de 20 a 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ($y = 60.71x + 6.645$; $R^2 = 0.99$).

Inóculo y condiciones de fermentación

Se utilizó la cepa *Aspergillus niger* M4 (código de acceso KY825168.1) de la colección del Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas. La cepa crio-conservada fue propagada en placas con medio PDA (Dibico, México) a 35 °C durante cinco días, para posteriormente mantener las placas en refrigeración a 4 °C hasta su utilización. Las conidias fueron cosechadas de las placas completamente esporuladas, adicionando 30 ml de Tween 80 (0.1% p/v) (Hyce, México).

Para el conteo de conidias ml^{-1} para la inoculación del medio, se utilizó una cámara de Neubauer (Marienfeld, México). El medio de cultivo líquido consistió en suero de leche enriquecido con sales minerales en la siguiente proporción: 5 g L^{-1} de KH_2PO_4 (Jtbaker, México), 0.5 g L^{-1} de MgSO_4 (Jtbaker, México), 0.5 g L^{-1} de KCl (Jtbaker, México), y diferentes concentraciones de glucosa (Fermont, México) (0%, 7.5%, 15% y 30%). Como control de calidad y para mantener la pureza del medio, se utilizó el mismo lote de medio enriquecido para las pruebas de fermentación.

Con la finalidad de obtener la enzima proteasa, se realizó una fermentación líquida en matraces Erlenmeyer de 250 ml con un volumen de trabajo de 50 ml de medio de cultivo. Las condiciones controladas de fermentación fueron a 30 °C, pH 5.5, agitación orbital a 150 rpm (Incubadora Orbital Innova 44, New Brunswick), un tiempo máximo de 144 h y un inóculo de 1×10^6 esporas de *A. niger* M4 por ml de medio.

Para cada nivel de glucosa (0%, 7.5%, 15% y 30%) se desarrolló un diseño completamente al azar, donde cada matraz fue considerado como reactor de muestra experimental, y cada tiempo experimental se realizó por triplicado, para un total de 84 reactores en tiempos de hasta 144 h. El nivel de glucosa 0% fue considerado como control negativo. Posterior al proceso de fermentación, los extractos de fermentación (EF) fueron recuperados mediante centrifugación (Hermle laborTechnik, modelo Z 32 HK) a 4 000 rpm por 15 min a 4 °C. Se filtró el sobrenadante a través de membrana de 0.45 μm (Luzuren, China), considerando este filtrado como el EF para futuros análisis.

Determinación de actividad proteasa

A los EF obtenidos se les realizó un ensayo de actividad proteasa, se utilizó la metodología de Kunitz (1946), modificado por Johnsvesly *et al.* (2002). Se preparó caseína (Fagalab, México) al 1% disuelta en buffer de fosfatos a 50 mM a un pH 7.0. En un tubo de ensayo se agregaron 0.95 ml de caseína. Posteriormente se incubó a 30 °C por 15 min, y se adicionaron 0.05 ml de EF, se dejó reaccionar por 15 min en un baño con temperatura controlada a 30 °C. Se detuvo la reacción con 1.5 ml de ácido tricloroacético (TCA) (Fagalab, México) al 5% y se centrifugó (Hermle laborTechnik, modelo Z 32 HK) a 4 500 rpm por 20 min, tomando el sobrenadante como extracto enzimático (EE).

Se definió como una unidad de actividad proteolítica (U) a la cantidad en μmol de tirosina liberada por minuto, bajo las condiciones del ensayo. Para la determinación de tirosina, se empleó el método de Lowry *et al.* (1951). La curva de calibración se realizó en rango de 0 a 156 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de tirosina (FAGALab, México) en ácido clorhídrico (Jalmek, México) 1 M ($y = 0.0037x + 0.0308$; $R^2 = 0.9854$). Para la cuantificación de los péptidos solubles, se utilizaron los EE y se cuantificó la absorción ultravioleta a 280 nm (Thermo Fisher Scientific, modelo G10S).

Para la valoración del EE en cuanto a la actividad proteolítica ácida o alcalina sobre el suero de leche, se evaluaron las actividades enzimáticas a pH 3.5 y 7.0 respectivamente. La cuantificación de péptidos se realizó mediante una curva patrón de tirosina (Fagalab, México; $y = 4.0721x$; $R^2 = 0.9913$).

Análisis estadístico

Los experimentos se basaron en un diseño experimental aleatorio, con dos factores (glucosa y tiempo) en diversos niveles (4 y 7, respectivamente), considerando la actividad proteasa como la variable de respuesta. Se reporta la media aritmética de los datos recolectados $\pm$ su desviación estándar, con tres repeticiones por tiempo de muestreo. Respecto a las determinaciones analíticas, se reportan la media aritmética de tres replicas por cada repetición $\pm$ su desviación estándar.

Los tratamientos experimentales se aplicaron bajo condiciones controladas manteniendo constantes las variables ambientales y operativas. El diseño experimental y los análisis estadísticos se realizaron con el software estadístico Minitab 17, mediante una prueba de normalidad de Shapiro-Wilkins, un análisis de varianza de una vía con pruebas *post-hoc* de comparación de medias de Fisher (LSD) ($p < 0.05$), y Dunnett ($p < 0.05$). Se estableció un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ para minimizar el riesgo de errores tipo I, garantizando la confiabilidad de los resultados obtenidos.

Resultados y discusión

El principal propósito para realizar el análisis proximal del suero de leche en este estudio fue la validación del contenido de carbohidratos y proteínas presentes (Cuadro 1) para identificar la relación carbono-nitrógeno (C/N). Se encontró que el contenido de proteína cruda fue de $9.58\% \pm 0.04$, grasa ($6.27\% \pm 0.58$), cenizas ($6.09\% \pm 0.53$) y carbohidratos totales ($78.05\% \pm 1.04$). Con los datos anteriores se calculó la relación C/N del suero de leche, con un valor de 20.37. Estos compuestos químicos sirven como sustrato para el crecimiento de microorganismos y la síntesis de enzimas de tipo proteasas.

Cuadro 1. Composición y valor nutricional porcentual en base seca del suero de leche de queso asadero.

Composición	Porcentaje en base seca (%)	
Cenizas	6.09	± 0.53
Proteína cruda	9.58	± 0.04
Grasa	6.27	± 0.58
Carbohidratos totales	78.05	± 1.04

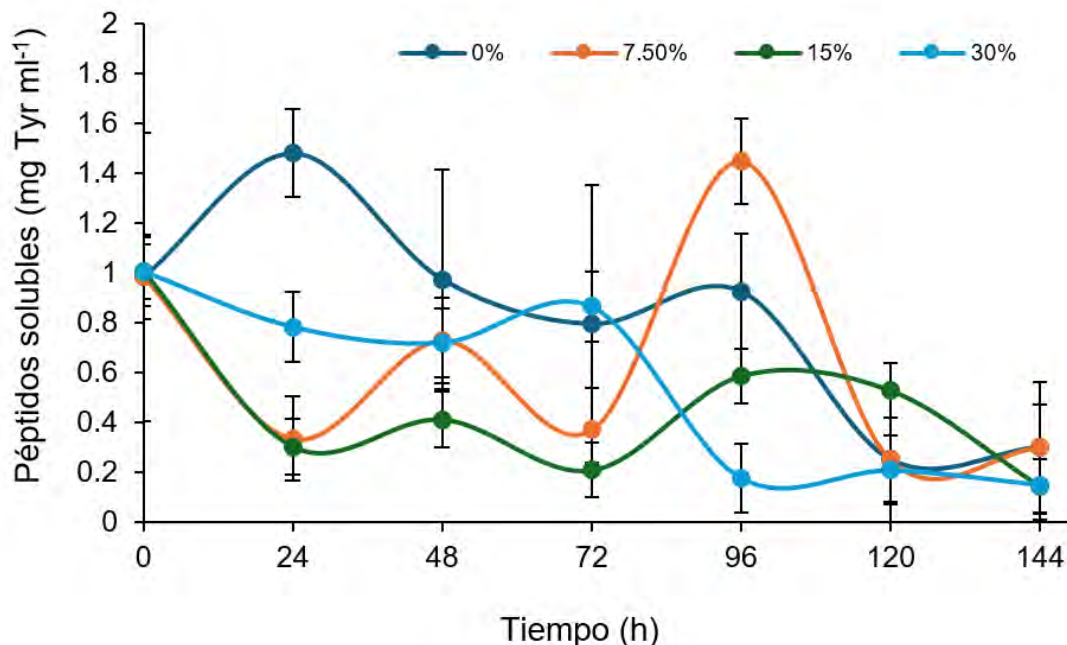
La cantidad en números representan la media ($n = 3$) $\pm$ la desviación estándar de las muestras.

Estudios recientes han demostrado que la proteína del suero de leche es una fuente rica en péptidos bioactivos, los cuales pueden mejorar la salud metabólica y la función inmunológica (Quintieri *et al.*, 2025). Además, la presencia de carbohidratos en altas concentraciones puede influir en la estabilidad y solubilidad de los péptidos generados durante las reacciones de hidrólisis enzimática (Tang *et al.*, 2025).

Asimismo, la grasa presente en el suero de leche puede afectar la emulsificación y la disponibilidad de los péptidos bioactivos, características relevantes para su aplicación en suplementos nutricionales y productos funcionales (Lam *et al.*, 2019). La proporción de cenizas también es un indicador de la presencia de minerales esenciales, los cuales pueden influir en la actividad enzimática y la estabilidad de los compuestos. Estos hallazgos refuerzan la importancia del suero de leche de queso asadero como una fuente valiosa de compuestos químicos y bioquímicos, de ahí el interés en su aprovechamiento en procesos y productos con aplicación en la agroindustria (Benítez, 2024).

El contenido de péptidos solubles (mg de Tyr ml^{-1}) en cada muestra durante el proceso fermentativo de *A. niger* M4 en suero de leche se muestra en la Figura 1. Se observó la degradación de proteínas a péptidos por reacción enzimática a través del tiempo. En el tiempo cero, todas las muestras comienzan con una línea base similar ($1 \text{ mg de Tyr ml}^{-1}$), pero surgen claras diferencias en el transcurso del tiempo. Cabe destacar, que el tratamiento a 0% de glucosa (control) muestra un punto máximo de péptidos a las 24 h con $1.48 \text{ mg de Tyr ml}^{-1}$, el tratamiento de 7.5% de glucosa acumula una concentración de $1.45 \text{ mg de Tyr ml}^{-1}$ a las 96 h.

Figura 1. Representación gráfica de las medias de los péptidos liberados en mg de tirosina por ml en función del tiempo (h). Las diferentes líneas representan la concentración de glucosa en 0%, 7.5%, 15% y 30%.



Los tratamientos de 15% y 30% muestran una menor concentración de péptidos a través del tiempo de fermentación, en donde el tratamiento con 30% de glucosa después de 72 h acumula 0.86 mg de Tyr ml⁻¹. Estos patrones pudieran sugerir que una suplementación moderada de glucosa (7.5%) fomenta la liberación de péptidos durante la fermentación hasta alcanzar su máximo a las 96 h, mientras que una suplementación más alta de glucosa (15 % y 30%) parece inhibir este proceso.

Esto podría deberse a un efecto, en el que niveles excesivos de glucosa inhiben la actividad proteolítica, posiblemente por el crecimiento del hongo y un mayor requerimiento de nitrógeno estructural; por lo tanto, el microorganismo comienza a degradar los aminoácidos presentes en el suero de leche (Rojas y Martínez, 2023). Lo anterior da como resultado una disminución en la concentración de los péptidos. Kashung y Karuthapandian (2025), mencionan que concentraciones bajas a moderadas de glucosa en sustratos pueden estimular la actividad enzimática y la liberación de péptidos en fermentaciones microbianas, mientras que concentraciones más altas pueden interrumpir el acceso enzimático al inducir la agregación del sustrato.

De igual manera, Li *et al.* (2019) observaron que la eficiencia de la hidrólisis enzimática alcanza su punto máximo a concentraciones intermedias en sustratos, por encima de las cuales el impedimento estérico o las interacciones inhibitorias pueden reducir la eficacia enzimática. El aumento inicial en el control 0% podría reflejar una actividad enzimática nativa adaptadas al medio, pero es transitoria y menos sostenida, en comparación con la actividad enzimática resultante de una suplementación moderada de glucosa (7.5%).

La disminución de los péptidos solubles a niveles más altos de adición de glucosa coincide con los hallazgos de Wang *et al.* (2019), quienes destacaron la importancia de una proporción óptima de enzima-sustrato para maximizar la hidrólisis de proteínas. Por tanto, en investigaciones futuras puede centrarse los esfuerzos en mejorar la extracción y estabilidad de los péptidos bioactivos para maximizar sus beneficios en la salud humana y aplicaciones en la agroindustria.

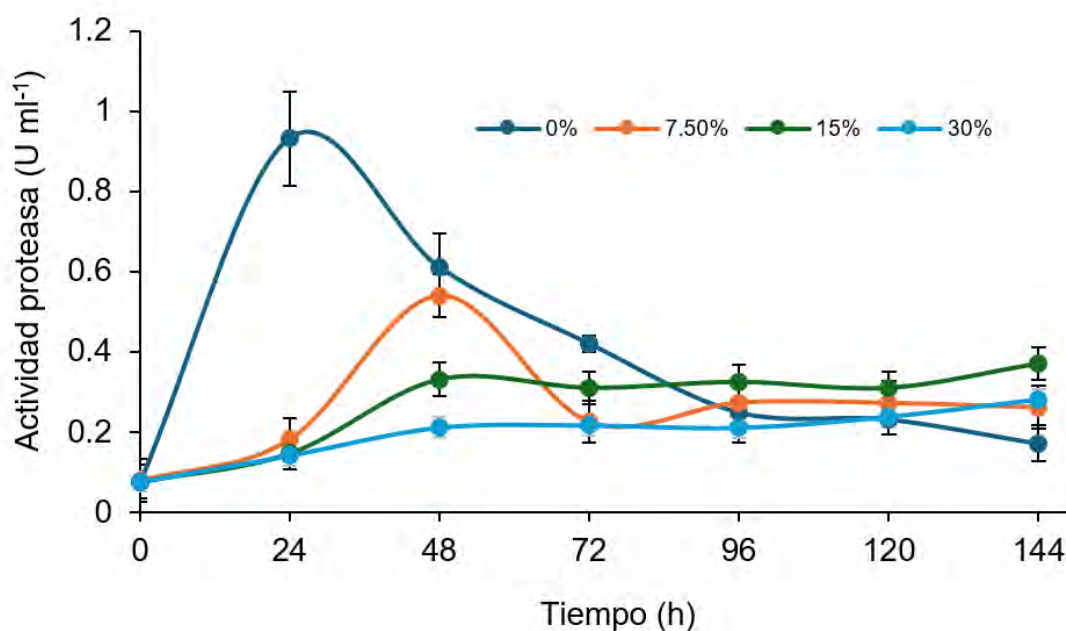
El análisis de la actividad proteasa (U ml^{-1}) en extractos de fermentación de suero de leche, muestra variaciones en la eficiencia en la hidrólisis de la proteína bajo diferentes concentraciones de glucosa. Los análisis de correlación mostraron una relación negativa entre la actividad proteasa y la adición de glucosa al proceso de fermentación ($\text{U ml}^{-1} = 0.793 - 0.019 \text{ ConcGluc}$), con una producción promedio de 0.793 U ml^{-1} de proteasa si no se adicionara glucosa. Por otra parte, hay una disminución de 0.019 U ml^{-1} en la máxima actividad proteasa por cada concentración en porcentaje de glucosa que se agrega.

La concentración de glucosa no es significativa ($p = 0.112$) para la producción de proteasa, y representa el 78.88% de la producción máxima de la actividad enzimática. La correlación de Pearson de la actividad proteasa y la concentración de glucosa mostró una relación negativa fuerte (-0.888), indicando que, a mayor concentración de glucosa menor actividad proteasa. La prueba *post-hoc* de Dunnett permitió comparar el control con los demás tratamientos de concentración de glucosa.

Los resultados mostraron que no hay diferencia estadística significativa ($p = 0.075$) con la concentración de 7.5% de glucosa. La presencia de glucosa en concentraciones superiores a 15% puede influir en la disminución de la actividad enzimática al modificar el entorno de fermentación y la disponibilidad del sustrato para la acción proteolítica. Lo que ocasionó un ajuste en la vía metabólica de *A. niger* en función de las fuentes de carbono disponibles en el suero de leche.

Lo anterior resulta en variaciones de crecimiento, afectando la actividad proteasa que se emplea para la hidrólisis de las proteínas y aminoácidos presentes en el suero de leche (Li *et al.*, 2022). En la Figura 2 se mostró los tratamientos de extractos enzimáticos durante la cinética de fermentación de *A. niger*. La mayor actividad proteasa se obtuvo con el tratamiento 0% (control) a las 24 h con 0.93 U ml^{-1} , mientras que, la suplementación media de glucosa al 7.5% obtuvo un aumento a las 48 horas (0.54 U ml^{-1}). La presencia de diversas fuentes de carbono puede afectar la producción de proteasas tal como lo menciona Siala *et al.* (2012), quienes obtuvieron valores de proteasa de 3.33, y 1.24 U ml^{-1} con glucosa y lactosa respectivamente.

Figura 2. Representación gráfica de las medias aritméticas de actividad proteasa en U ml^{-1} contra el tiempo en horas. Las diferentes líneas representan la concentración de glucosa en 0%, 7.5%, 15% y 30%.



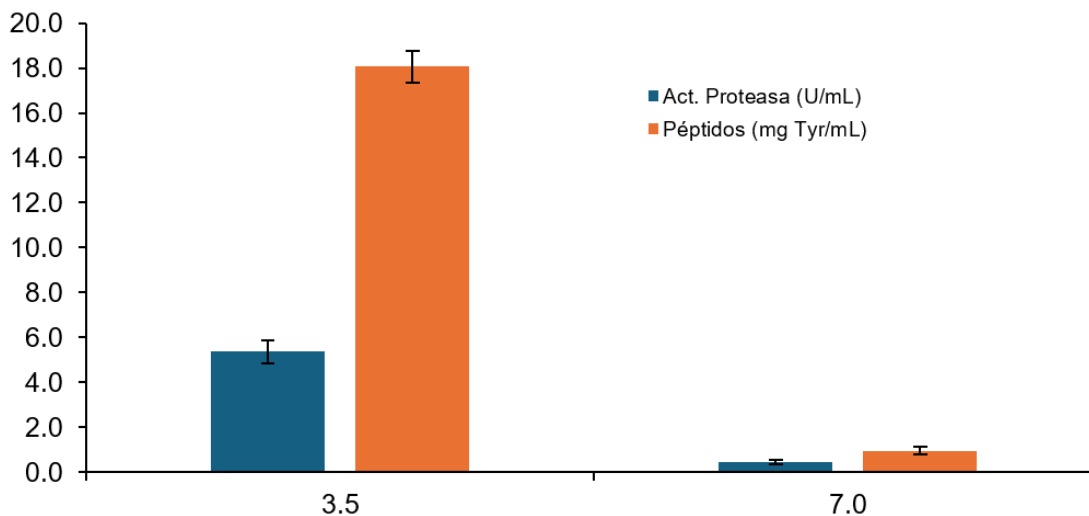
Por otro lado, Irazoqui *et al.* (2024) destacaron el papel de las proteasas en la producción de hidrolizados de proteínas de suero, resaltando su potencial en la generación de compuestos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Los resultados obtenidos refuerzan la importancia de la actividad proteasa en la fermentación del suero de leche, especialmente en presencia de glucosa como un factor influyente en la disminución de la actividad proteasa, afectando la generación de péptidos a través del tiempo.

La optimización de las condiciones de fermentación puede mejorar la eficiencia enzimática y la producción de compuestos bioactivos, estos hallazgos contribuyen al conocimiento sobre el aprovechamiento de un residuo como el suero de leche en el área de la biotecnología y su potencial aplicación en algunos sectores de la cadena agroindustrial.

La actividad hidrolítica de las proteasas puede ayudar a mejorar la digestibilidad de las proteínas, reduciendo su alergenicidad y generando péptidos bioactivos. Estudios recientes han demostrado que este proceso hidrolítico puede optimizar la producción de compuestos con efectos antioxidantes, antihipertensivos y antimicrobianos (Luparelli *et al.*, 2025). Derivado de los resultados anteriores, se seleccionó la condición de fermentación de suero al 0% de glucosa con un tiempo 24 h para la utilización del extracto enzimático en dos niveles de pH (3.5 y 7.0), para elucidar su efectividad en la hidrólisis del suero de leche.

El análisis de la actividad proteolítica en el suero mostró variaciones en la eficiencia de la hidrólisis bajo diferentes condiciones de pH en el extracto enzimático (Figura 3). A pH 3.5 se encontró una actividad de 5.22 U ml^{-1} , indicando una eficiencia enzimática en condiciones ácidas, liberando una concentración de péptidos de $18.06 \text{ mg Tyr ml}^{-1}$. En un pH de 7.0 la actividad de la proteasa disminuye sustancialmente a $0.97 \text{ mg Tyr ml}^{-1}$.

Figura 3. Efecto de los valores de pH 3.5 y 7.0, sobre la actividad enzimática y la concentración de péptidos, durante el proceso de hidrólisis enzimática del suero de leche. Los valores reportan la media ($n=3$) $\pm$ la desviación estándar de las muestras. Se consideró el extracto enzimático obtenido a las 24 h de fermentación con 0% de glucosa.



Las pruebas de correlación mostraron una relación negativa entre el pH y la liberación de péptidos por hidrólisis enzimática sobre el suero de leche ($\text{mg Tyr ml}^{-1} = 35.162 - 4.8852 \text{ pH}$), con una disminución de $4.8853 \text{ mg Tyr ml}^{-1}$ en la concentración de péptidos por cada aumento en el valor de pH. El pH es significativo ($p=0$) para la generación de péptidos, y explica el 99.97% de la producción de péptidos por hidrólisis enzimática. La correlación de Pearson entre el pH y la concentración de péptidos mostró una relación negativa fuerte (-1), indicando que, a mayor valor de pH menor concentración de péptidos por hidrólisis enzimática.

Esto sugiere que, la actividad de la proteasa producida por *A. niger* M4 es mucho menor en condiciones de pH neutro, en comparación con condiciones ácidas. Rojas y Martínez (2023) analizaron la actividad proteolítica de *A. niger* en suero de leche, destacando su capacidad para generar péptidos bioactivos con propiedades antioxidantes, evaluando la influencia del pH en la estabilidad de los péptidos obtenidos. La optimización de las condiciones de pH en la hidrólisis puede mejorar la eficiencia enzimática y la producción de péptidos solubles y de esta manera mejorar la funcionalidad del suero de leche y su aplicación en productos de alto valor agregado, pero sobre todo en la agroindustria.

Conclusiones

Los resultados obtenidos mostraron que la producción de proteasas de *Aspergillus niger* M4 en fermentación líquida con suero de leche enriquecido, es regulada dependiendo de la concentración de glucosa añadida en el medio de cultivo. El hongo *A. niger* M4, es capaz de hidrolizar las proteínas presentes en el suero de leche y se puede utilizar para la generación de péptidos solubles. En un pH de 3.5, el extracto enzimático de *A. niger* M4 obtuvo una mayor actividad proteasa capaz de hidrolizar las proteínas existentes en el suero de leche para la obtención de péptidos bioactivos.

El extracto enzimático que se obtuvo en el proceso podría tener aplicaciones al crear nuevos productos para la agroindustria. Investigaciones futuras podrían optimizar la producción de enzimas y las condiciones operativas para ampliar este proceso para uso comercial.

Bibliografía

- 1 AOAC. 1980. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical.
- 2 Benítez-Torre, A.; Pérez-Ramírez, E.; Morales-García, Y. E.; Muñoz-Rojas, J.; Díaz-Ruíz, R. y Morales-Almora, P. 2023. Efecto del uso de lactosuero dulce en el riego de alfalfa y maíz. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 14(29):1-12. <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i29.3532>.
- 3 Boscaini, S.; Cabrera-Rubio, R.; Nychyk, O.; Speakman, J. R.; Cryan, J. F.; Cotter, P. D. and Nilaweera, K. N. 2020. Physiological Reports. 8(15):1-19. <https://doi.org/10.14814/phy2.14523>.
- 4 Cairns, T. C.; Nai, D. O. and Meyer, V. 2018. Cómo un hongo influye en la biotecnología: 100 años de investigación sobre *Aspergillus niger*. Biología y biotecnología de los hongos. 5(13):1-14. <https://doi.org/10.1186/s40694-018-0054-5>.
- 5 Cho, K.; Lee, J.; Han, G.; Kim, N. K.; Bae, H. and Hwang, S. 2015. Resource recovery using whey permeate to cultivate *Phellinus linteus* mycelium: Solid-state and submerged liquid fermentation. Journal of Dairy Science. 98(10):6739-6748. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9631>.
- 6 Crament, T. C.; Arendsen, K.; Rose, S. H. and Jansen, T. 2024. Cultivation of recombinant *Aspergillus niger* strains on dairy whey as a carbohydrate source. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 9(51):1-7. Doi:10.1093/jimb/kuae007.
- 7 Cen-Li; Jingwen-Zhou; Guocheng-Du; Jian-Chen; Shunji-Takahashi and Song-Liu. 2020. Developing *Aspergillus niger* as a cell factory for food enzyme production. Biotechnology Advances. 44:1-17. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107630>.
- 8 Dinika, I. and Utama, G. L. 2019. Cheese Whey is a potential resource for antimicrobial edible film and active packaging production. Foods and Raw Materials. 7(2):229-239. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-229-239>.
- 9 DuBois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Robers, P. A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. Analytical Biochemistry. 28(3):350-356. Doi: 10.1021/ac60111a017.

- 10 Fernández-Gutiérrez, D.; Veillette, M. and Giroir-Fendler, A. 2017. Biovalorization of saccharides derived from industrial wastes such as whey: a review. *Reviews in Environmental Science Biotechnology*. 16(1):147-174. <https://doi.org/10.1007/s11157-016-9417-7>.
- 11 Gill, H. S.; Doull, F.; Rutherford, K. J. and Cross, M. L. 2000. Immunoregulatory peptides in bovine milk. *British Journal of Nutrition*. 84(S1):111-117. <https://doi.org/10.1017/s0007114500002336>.
- 12 Irazoqui, J. M.; Santiago, G. M.; Mainez, M. E.; Amadio, A. F. and Eberhardt, M. F. 2024. Enzymes for production of whey protein hydrolysates and other value-added products. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 108(1):1-11. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13117-2>.
- 13 John, J. A. and Ghosh, B. C. 2021. Production of whey protein hydrolyzates and its incorporation into milk. *Food Production Processing and Nutrition*. 3(1):1-13. <https://doi.org/10.1186/s43014-021-00055-z>.
- 14 Johnvesly, B.; Manjunath, B. and Naik, G. R. 2002. Pigeon pea waste as a novel, inexpensive, substrate for production of a thermostable alkaline from a thermoalkalophilic *Bacillus* sp. JB-99. *Bioresource Technology*. 82(1):61-64. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00147-X](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00147-X).
- 15 Kashung, P. and Karuthapandian, D. 2025. Milk-derived bioactive peptides. *Food Production Processing and Nutrition*. 7(1):1-19. <https://doi.org/10.1186/s43014-024-00280-2>.
- 16 Kunitz, M. 1947. Crystalline soybean trypsin inhibitor: ii. General properties. *Journal of general physiology*. 30(4):291-310. <https://doi.org/10.1085/jgp.30.4.291>.
- 17 Lam, F.; Khan, T. M.; Faidah, H.; Haseeb, A. and Khan, A. H. 2019. Effectiveness of whey protein supplements on the serum levels of amino acid, creatinine kinase and myoglobin of athletes: a systematic review and meta-analysis. *Systematic Reviews*. 8(1):1-12. <https://doi.org/10.1186/s13643-019-1039-z>.
- 18 Li, W.; Wang, J.; Zhang, J.; Takada, S. and Wang, W. 2019. Overcoming the Bottleneck of the enzymatic cycle by steric frustration. *Physical Review Letters*. 122(23):1-6. <https://doi.org/10.1103/physrevlett.122.238102>.
- 19 Li, J.; Chroumpi, T.; Garrigues, S.; Kun, R. S.; Meng, J.; Salazar-Cerezo, S.; Aguilar-Pontes, M. V.; Zhang, Y.; Tejomurthula, S.; Lipzen, A.; Ng, V.; Clendinen, C. S.; Toli#, N.; Grigoriev, I. V.; Tsang, A.; Mäkelä, M. R.; Snel, B.; Peng, M. and Vries, R. P. 2022. The sugar metabolic model of *Aspergillus niger* can only be reliably transferred to fungi of its phylum. *Journal of Fungi*. 8(12):1-23. <https://doi.org/10.3390/jof8121315>.
- 20 Liu, X.; Lian, M.; Zhao, M. and Huang, M. 2024. Advances in recombinant protease production: current state and perspectives. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 40(5):144. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-03957-5>.
- 21 Mordor Intelligence. 2025. Protease market size and share analysis growth trends and forecasts source. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/proteases-market>.
- 22 Norma Oficial Mexicana. 2012. NOM-155-SCFI-2012, Leche denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba, secretaria de economía. Estados Unidos Mexicanos. <http://sidof.segob.gob.mx/notas/5254842>.
- 23 Naveed, M.; Nadeem, F.; Mehmood, T.; Bilal, M.; Anwar, Z. and Amjad, F. 2021. Protease a versatile and ecofriendly biocatalyst with multi-industrial applications: an updated review. *Catalysis Letters*. 151(2):307-323. <https://doi.org/10.1007/s10562-020-03316-7>.
- 24 Nouri, N.; Sadeghi, L. and Marefat, A. 2024. Production of alkaline protease by *Aspergillus niger* in a new combinational paper waste culture medium. *Journal of bioscience and bioengineering*. 137(3):173-178. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2023.12.010>.

- 25 Quintieri, L.; Luparelli, A.; Caputo, L.; Schirinzi, W.; Bellis, F.; Smiriglia, L. and Monaci, L. 2025. Unraveling the biological properties of whey peptides and their role as emerging therapeutics in immune tolerance. *Nutrients*. 17(6):1-29. <https://doi.org/10.3390/nu17060938>.
- 26 Rojas, M. P. G. and Martinez, O. M. M. 2023. Whey protein fermentation with *Aspergillus niger*: source of antioxidant peptides. En Mehdi Razzaghi-Abyaneh, Mahendra Rai y Masoomeh Shams-Ghahfarokhi (Eds.). *Aspergillus and aspergillosis - Advances in genomics, drug development, diagnosis and treatment*. (IntechOpen, 1st ed, 208 p.). <https://doi.org/10.5772/intechopen.111895>.
- 27 Siala, R.; Frikha, F.; Mhamdi, S.; Nasri, M. and Kamoun, A. S. 2012. Optimization of acid protease production by *Aspergillus niger* I1 on shrimp peptone using statistical experimental design. *The Scientific World Journal*. 1-11 pp. <https://doi.org/10.1100/2012/564932>.
- 28 Tang, C.; Xi, T.; Zheng, J. and Cui, X. 2025. Chemical properties of whey protein in protein powders and its impact on muscle growth in athletes: a review. *Natural Product Communications*. 20(3):1-7. <https://doi.org/10.1177/1934578x251326124>.
- 29 Wang, R.; He, S. and Xuan, Y. 2020. Preparation and characterization of whey protein hydrolysate-Zn complexes. *Food Measure*. 14:254-261. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00287-1>.
- 30 Yin, X.; Fu, X.; Cheng, H. and Wusigale-Liang, L. 2020. #-Tocopherol and naringenin in whey protein isolate particles: partition, antioxidant activity, stability and bioaccessibility. *Food Hydrocolloids*. 106:105895. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105895>.



Estudio sobre la producción de proteasas de *Aspergillus niger* utilizando suero de leche

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 00 March 2025
Date accepted: 00 July 2025
Publication date: 15 October 2025
Publication date: Sep-Oct 2025
Volume: 16
Issue: esp30
Electronic Location Identifier: e4947
DOI: 10.29312/remexca.v16i30.4047
Article Id (other): 00010

Categories

Subject: Artículos

Palabras clave

Palabras clave

enzimas
fermentación
proteasa
péptidos
proteínas

Counts

Figures: 6
Tables: 2
Equations: 0
References: 30