

Formulación matemática y evaluación de la actividad antihipertensiva de yogurt griego elaborado con fines preventivos a las enfermedades dinamizadas por COVID19.

Mathematical formulation and evaluation of the antihypertensive activity of Greek yoghurt produced for preventive purposes for the diseases promoted by COVID19.

Everardo Mares-Mares¹, Luis Armando García-de-la-Rosa², Maria Guadalupe de Lourdes Acosta-Castillo³

^{1,2,3}*Tecnológico Nacional de México, Guanajuato - México*

ORCID: ¹[0000-0003-4137-6154](https://orcid.org/0000-0003-4137-6154), ²[0000-0002-0866-9783](https://orcid.org/0000-0002-0866-9783), ³[0000-0003-4456-8362](https://orcid.org/0000-0003-4456-8362)

Recibido: 06 de febrero de 2022.

Aceptado: 19 de abril de 2023.

Publicado: 01 de mayo de 2023.

Resumen- Dentro de las estrategias de la inmuno-nutrición para prevenir y/o combatir los problemas causados por el COVID-19, se ha descrito que los péptidos bioactivos de alimentos ricos en proteína y de alta calidad nutricional como el yogurt, poseen efectos positivos directos e indirectos en el sistema inmune. Más aún, durante la pandemia se reportó que los péptidos con potencial inhibitorio de la Enzima – Convertidora - de - Angiotensina (IECA) derivados de productos lácteos participan en la regulación y/o bloqueo de los mecanismos quimio-enzimáticos de las patologías como la hipertensión. Por lo tanto, el estudio in vitro sobre efecto de los péptidos bioactivos de alimentos sobre mecanismos moleculares de las enfermedades dinamizadas por el virus SARS-CoV-2 permite integrar un cuadro terapéutico molecular preventivo que determine parcialmente el potencial inmune de un alimento. En este proyecto se busca optimizar una fórmula de yogurt griego mediante la metodología estadística de un diseño superficie de respuesta y evaluación sensorial incluyendo ingredientes como el complejo B, vitamina C e inulina. Posteriormente, se realizaron las determinaciones del análisis químico proximal para la declaración nutricional de acuerdo con la NOM-051-SCFI/SSA1-2010. El yogurt griego fue sometido a un modelo in vitro de simulación salivar-gástrica-intestinal para la liberación de péptidos - bioactivos que fueron sometidos a diferentes concentraciones al análisis in vitro de la actividad inhibitoria de la ECA (ensayo de actividad antihipertensiva). Con los resultados obtenidos se obtuvo la IC50. Finalmente, se proyectaron y constataron las hipótesis sobre los beneficios hacia la salud de los péptidos bioactivos del yogurt griego para su consideración futura como alimento funcional.

Palabras clave: yogurt, péptidos-bioactivos; antihipertensivo; covid19.

Abstract— Within the immuno-nutritional strategies to prevent and/or combat the problems caused by COVID-19, bioactive peptides from protein-rich and nutrient-dense foods such as yoghurt have been reported to have direct and indirect positive effects on the immune system. Moreover, during the pandemic, peptides with Angiotensin - converting - enzyme (ACE) inhibitory potential derived from dairy products were reported to participate in the regulation and/or blockade of chemo-enzymatic mechanisms of pathogens such as hypertension. Therefore, the in vitro study of the effect of bioactive food peptides on molecular mechanisms of diseases triggered by the SARS-CoV-2 virus allows the integration of a preventive molecular therapeutic framework that partially determines the immune potential of a food. This project seeks to optimise a Greek yoghurt formula using the statistical methodology of a response surface design and sensory evaluation by including ingredients such as B complex, vitamin C and inulin. Subsequently, proximate chemical analysis determinations were performed for nutrient declaration in accordance with NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Greek yoghurt was subjected to an in vitro salivary-gastric-intestinal simulation model for the release of bioactive peptides, which were subjected at different concentrations to in vitro analysis of ACE inhibitory activity (antihypertensive activity assay). Finally, the hypotheses on the health benefits of bioactive peptides in Greek yoghurt were projected and confirmed for future consideration as a functional food.

Keywords: yoghurt, peptide-bioactives; antihypertensive; covid19.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: emares@itesg.edu.mx (Everardo Mares Mares).

La revisión por pares es responsabilidad de la Universidad de Santander.

Este es un artículo bajo la licencia CC BY (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Como citar este artículo: E. Mares-Mares, L. A. García-de-la-Rosa y M. G. L. Acosta-Castillo, "Formulación matemática y evaluación de la actividad antihipertensiva de yogurt griego elaborado con fines preventivos a las enfermedades dinamizadas por COVID19", *Aibi revista de investigación, administración e ingeniería*, vol. 11, no. 2, pp. 36-43 2023, doi: [10.15649/2346030X.3090](https://doi.org/10.15649/2346030X.3090)

I. INTRODUCCIÓN

La entrada en la célula del SARS-CoV-2 se debe a su interacción mediada por el dominio de unión del receptor de punta con la proteína la enzima que es convertidora de angiotensina 2 (ECA-II) en la membrana de la célula huésped. Esta interacción induce la regulación negativa de ECA-II, la cual, es un homólogo de mono carboxipeptidasa de ECA-I que convierte la angiotensina II en angiotensina 1-7. La mayoría de los estudios respaldan que la regulación a la baja de ECA-II contribuye a las manifestaciones de COVID-19 a través de sus efectos contrarreguladores críticos en el sistema renina-angiotensina, cuya disfunción resulta en la acumulación de angiotensina II y la deficiencia en angiotensina 1-7 [1].

La inactivación de la ECA-I tiene efectos significativos en la regulación de la sobreexpresión de la ECA-II comprobando que una menor producción de angiotensina II repercute de manera positiva a no manifestar el desarrollo de COVID-19. Lo anterior representa una alternativa estratégica para evaluar el potencial *in vitro* o *in vivo* de los péptidos bioactivos inhibidores de la ECA-I. La inhibición realizada en la ECA-I conduce a una disminución significativa de la síntesis realizada en la angiotensina II y de la descomposición de la angiotensina 1-7 [2]. Recientemente se ha revisado los efectos relacionados con COVID-19 en estos sistemas, lo que demuestra que los péptidos que son inhibidores de la ECA, si están disponibles y son seguros como un fármaco farmacéutico, podrían actuar como una terapia óptima preventiva del sistema inmune y en pacientes con COVID-19 debido a sus propiedades inhibitorias en los mecanismos de las enfermedades dinamizadas del COVID-19 [3]. Muchos alimentos ricos en proteínas contienen péptidos bioactivos con efectos inhibidores de la ECA. Estos péptidos son alternativas eficaces a los inhibidores sintéticos de la ECA. La mayoría de los productos lácteos fermentados como el yogurt exhiben actividades inhibitorias de la ECA, inhibitorias de la DPPIV (enzima implicada en el mecanismo del desarrollo de la diabetes), actividad antioxidante, actividad antiinflamatoria celular y actividad antimicrobiana [4].

El yogurt, un producto lácteo producido por la fermentación de la leche, contiene bacterias del ácido láctico (BAL) que fermentan la lactosa y afectan las proteínas de la leche produciendo péptidos bioactivos [5]. Se han atribuido múltiples beneficios nutricionales y para la salud del consumo de yogurt a estos péptidos bioactivos, incluidos los antihipertensivos o inhibidores de la ECA, inmunomodulador, antiinflamatorio, antioxidante, antitrombótico, inhibidor de la agregación plaquetaria, antimicrobiano, antiviral, anticancerígeno, antidiabéticos y reguladores de la absorción de nitrógeno dietético [6, 7]. Muchos de estos efectos informados podrían parecer de interés en el manejo de pacientes con COVID-19. Sin embargo, cada péptido del yogurt tiene propiedades y actividades multifuncionales según su secuencia de aminoácidos [8]. Favorablemente, se ha informado que el yogurt mejora la resistencia a las infecciones del tracto respiratorio superior, prevenir el resfriado común, la influenza y tratar la gastroenteritis aguda y la diarrea [9]. Considerando que las tendencias alimentarias nacionales e internacionales proyectan a un alto consumo de yogurt griego por su alto contenido de proteína y bajo en grasa.

De acuerdo con Ahmed et al., [10], actualmente el potencial inmune del yogurt no solo se basa en la efectividad de los péptidos que son inhibidores para la ECA y sus antioxidantes, sino al efecto de los péptidos en las distintas reacciones de señalización sobre los mecanismos implícitos que se desarrollan por las enfermedades dinamizadas por el COVID19. Sin embargo, por su naturaleza proteínica los péptidos requieren de ser encapsulados para mantener su actividad biológica. Una alternativa viable es la fortificación y enriquecimiento de alimentos con vitaminas y minerales que fortalecen el sistema inmune. Por otra parte, el sistema inmunitario necesita ciertas vitaminas y minerales para funcionar de la manera adecuada. Entre ellos se encuentran la vitamina C, la vitamina D, el complejo B y el zinc. Los suplementos de hierbas, los probióticos y sus prebióticos y otros ingredientes de los suplementos dietéticos también podrían incidir en la inmunidad y la inflamación [21]. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación es formular matemáticamente mediante la metodología estadística de superficie de respuesta y evaluar de la actividad *in vitro* de la inhibición de la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (actividad antihipertensiva) de yogurt griego elaborado con fines preventivos a las enfermedades dinamizadas por COVID19, especialmente en países como México, donde se desarrolla la presente investigación, ya que encontramos diferentes factores como las condiciones de la población en cuestión de salud con altos índices de enfermedades crónico degenerativas, población con entorno socioeconómico vulnerable e instituciones de salud con capacidad limitada para responder ante la alta demandada durante la contingencia sanitaria [22].

II. MARCO TEÓRICO

El enfoque de investigación se refiere a la aplicación de un estudio de enfoque cuantitativo con un diseño de investigación experimental y de carácter descriptivo donde se llevaron a cabo las siguientes etapas:

a. *Formulación*

Se realizó el yogurt a partir de leche bronca pasteurizada a 90°C durante diez minutos, la formulación fue realizada empleando por cada litro de leche 100 gr de fermento, 80 g de azúcar, 15 g de leche en polvo bajo las condiciones adecuadas (45°C por 4 a 5 h), de acuerdo con las condiciones óptimas y necesarias de acuerdo con los protocolos de ASELAC (2014) [11] y a la normatividad nacional vigente. El yogurt se saborizó con una base frutal de kiwi al 20% con respecto al yogurt.

b. *Diseño de superficie de respuesta para la formulación de yogurt de kiwi*

Se empleó el software MiniTab 19 para establecer el diseño de superficie de respuesta “Box-Behnken”, donde se establecieron los intervalos de las concentraciones para Complejo B (4 a 7.8mL), Inulina (4 a 10g) y Vitamina C (0.05-0.4g). En la Tabla 2, se muestra la corrida de un bloque de reproducibilidad aleatoria obtenida para las formulaciones obtenidas con MiniTab 19. Los intervalos de concentración propuestos se apegan a los lineamientos establecidos en la Tabla de valores nutrimentales de referencia para la población mexicana descritos en la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 en su actualización 2020 y bajo el cumplimiento de las especificaciones fisicoquímicas de la NOM-181-SCFI/SAGARPA-2018 (Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba). Las cantidades de los ingredientes es con base una porción de 100g de yogurt.

Tabla 1: Orden de corridas de las formulaciones de yogurt con ingredientes inmunoprotectores.

Orden estándar	Orden de corrida	TipoPt	Bloques	Inulina (g)	Vitamina C (g)	Complejo B (ml)
1	1	2	1	4.0	0.05	6.2
9	2	2	1	7.0	0.05	4.6
4	3	2	1	10.0	0.4	6.2
12	4	2	1	7.0	0.4	7.8
5	5	2	1	4.0	0.225	4.6
13	6	0	1	7.0	0.225	6.2
11	7	2	1	7.0	0.05	7.8
14	8	0	1	7.0	0.225	6.2
8	9	2	1	10.0	0.225	7.8
15	10	0	1	7.0	0.225	6.2
7	11	2	1	4.0	0.225	7.8
10	12	2	1	7.0	0.4	4.6
6	13	2	1	10.0	0.225	4.6
3	14	2	1	4.0	0.4	6.2
2	15	2	1	10.0	0.05	6.2

Fuente: Elaboración propia.

c. Evaluación de los parámetros sensoriales para la formulación

Obtenidas las corridas del diseño experimental Box-Behnken, se elaboraron las fórmulas y se adicionaron las concentraciones de los ingredientes potenciadores del sistema inmune a la base de yogurt. Cada una de las fórmulas se sometió a evaluación de los atributos sensoriales de color, olor, sabor y textura, para ello se empleó una escala hedónica de 5 puntos (donde 1 es me disgusta muchísimo, 3 no me gusta ni me disgusta y 5 me gusta muchísimo) a un panel de 50 jueces no entrenados.

d. Optimización de la formulación a partir del modelo predictivo

Los resultados de la evaluación sensorial se analizaron en el diseño de corridas Box-behken. Para cada atributo se probó y estudió el modelo matemático de mejor ajuste (con una R-cuadrada mayor a 0.975) y se optimizó la muestra a un máximo de 5 de la escala de evaluación. Los modelos matemáticos fueron lineales, cuadráticos, cúbicos y cúbicos completos [12]. Con las proporciones obtenidas y optimizadas se elaboró la fórmula y nuevamente se sometió a una evaluación sensorial a fin de corroborar la formulación con mayor aceptación.

e. Declaración nutrimental

Se determinó el análisis químico proximal teórico del yogurt optimizado elaborado bajo los parámetros de aceptación sensorial. Para ello, se determinó teóricamente el contenido de nitrógeno total (método 954.01), grasa (método 920.39), cenizas (método 923.03), fibra (método 962.09) y humedad (método 925.09) de acuerdo con los procedimientos estándar de la AOAC [12]. Los resultados se presentan de acuerdo con la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 (Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria) en su actualización del 2020 para el etiquetado frontal y reverso.

f. Simulación in vitro en fluido salivar, gástrico e intestinal para la liberación de péptidos

La muestra de yogurt se sometió a deshidratación mediante liofilización a una temperatura de -55°C durante 24 horas. La muestra deshidratada de yogurt se sometió al proceso de simulación salivar, gástrica e intestinal [14, 15]. El método in vitro que se utilizó para el estudio de la producción de péptidos bioactivos se basa en un protocolo realizado en tres etapas continuas: a) Fase salivar. Para esta etapa, se tomó 20g de la muestra seca de yogurt griego deshidratada y se mezcló con 18 mL de fluido salivar simulado (cloruro de potasio, fosfato mono potásico, bicarbonato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de magnesio y carbonato de amonio) más 2 mL para la disolución de la enzima α -amilasa. La mezcla fue incubada a 37°C por 2 minutos a 300 rpm. b) Fase gástrica. De manera continua, se realizó la simulación para la etapa gástrica por medio de agregar 35 mL de fluido gástrico (El cual contiene ácido clorhídrico y cloruro de sodio), más 5 mL de disolución de pepsina. El pH de la mezcla fue ajustado a un valor de 2 (con HCl 1N), se mantuvo a 37°C durante 30 minutos a 300rpm. c) Fase intestinal. Posterior al tiempo transcurrido en la etapa gástrica se le agregaron 70 ml de fluido intestinal al producto resultante (contiene, bicarbonato de sodio, fosfato mono potásico, cloruro de magnesio, cloruro de sodio y carbonato de amonio), así como 10 ml de una disolución con ácidos biliares. La mezcla que resultó fue ajustada con NaOH al 1N a un valor promedio de pH similar al intestinal de 7.5, se mantuvo a 37°C durante 120 minutos a 300rpm. La muestra resultante de las tres etapas se sometió a centrifugación a 3 000 rpm a 4°C y se recolectó el sobrenadante, el cual contiene los péptidos bioactivos liberados. Sin embargo, previamente se obtuvo la fracción menor de 10 kDa del extracto de los péptidos mediante ultrafiltración realizada por medio de una membrana hidrofílica con un valor de 10 kDa. (MilliporeSigma UFC905024 Amicon®), centrifugando a 13 000rpm durante 40 min. Posteriormente, se procedió a cuantificar el sobrenadante mediante el método de Lowry.

g. Actividad antihipertensiva (Ensayo de Inhibición de la Enzima Convertidora de Angiotensina ECA)

La actividad de inhibición para la ECA se evaluó in vitro acorde con el método propuesto de Cushman y Cheung [16], modificado de manera posterior por Kim et al., [17] y Barba de la Rosa et al., [18]. El compuesto empleado utilizado como sustrato de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) es el Hipuril-Histidil-Leucina. El cual se disuelve en un buffer de Tris 0.1 M, cloruro de sodio al 0.3 M y 10uM de Cloruro de zinc donde se obtuvo una concentración de manera final con 5 mM de sustrato a un pH de 8,3. A 100 μL del sustrato se le añadió 20 μL de

la suspensión de péptidos bioactivos del yogurt griego a diferentes concentraciones [10 - 250 µg/mL]. Se añade 5 mU de enzima ECA (EC 3.4.15.1, 5.0.5 U/mg). La reacción fue realizada a 37°C por 30 minutos. La enzima fue inactivada por medio del descenso del pH, agregando 150 µL de HCl 1 N y también ácido hipúrico producido se extrae con 1000 µL de un acetato de etilo. Después de agitar y centrifugar a 4000rpm por 10 minutos a temperatura del ambiente, se obtuvieron 750 µL correspondientes a la fase orgánica. El volumen mencionado fue evaporado incrementando la temperatura a 95°C por 15 minutos. El residuo obtenido de ácido hipúrico fue disuelto en 800 µL de agua que fue destilada y tras agitación, fue medida la absorbancia a 228 nm utilizando un equipo de espectrofotómetro. El porcentaje de inhibición (% IECA) se calculó utilizando la fórmula:

$$\% \text{ IECA} = (C - M) / (C - B) \times 100$$

El blanco (B) es utilizado para la corrección de la absorbancia de fondo. Éste contiene enzima, sustrato y 20 µL de agua que fue bidestilada como la muestra (M), y la reacción es detenida a tiempo cero. El control (C) supone el 100% para la acción enzimática en el sustrato donde no hay inhibidores, y éste contiene 20µL de agua en el lugar de muestra y es incubado al mismo tiempo que la incubación de la muestra. Cada muestra se realizará por triplicado y con los resultados obtenidos a partir de las diferentes concentraciones de los péptidos bioactivos del yogurt griego, se procedió a obtener la IC50 de la actividad inhibitoria de la ECA.

h. Análisis Estadístico

Todos los datos se reportaron como la media ± desviación. Para conocer la diferencia en la variación del efecto de los tratamientos se realizaron un ANDEVA con un 95% de confiabilidad y una prueba de contraste medias utilizando la prueba de Tukey (α= 0,05). Se utilizó el paquete estadístico Minitab 19.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados promedio de los 50 jueces para los parámetros del análisis sensorial se presentan en la Tabla 2. En cada parámetro sensorial se realizó el análisis del diseño Box-Behnken con los diferentes modelos matemáticos (Lineal, cuadrático, cubico y cubico completo) hasta obtener un modelo significativo (p<0.05) y un coeficiente de determinación ajustado (R2) de mayor a 0.95. Los modelos matemáticos para los parámetros sensoriales de color, olor, sabor y textura se indican en la Tabla 3 con el nivel de significancia de ajuste al modelo y el coeficiente de regresión ajustado. De acuerdo con los resultados en los cuatro parámetros el modelo cuadrático fue el que presentó el mayor coeficiente de regresión al ajuste, siendo el parámetro de sabor el único que obtuvo significancia (p<0.05) ya que obtuvo un ajuste del 98.31% y un valor p de 0.033. Así mismo, las variables de concentración para el Complejo B, Inulina y Vitamina C obtuvieron un valor p de 0.000, 0.002 y 0.005 respectivamente de ajuste al modelo cuadrático. En la Fig. 1, se muestra el gráfico de superficie de respuesta del modelo cuadrático con tendencia parabólica.

Tabla 2: Resultados para los parámetros del análisis sensorial para las diferentes fórmulas del diseño Box-Behnken.

Código sensorial	Orden de corrida	Inulina (g)	Vitamina C (g)	Complejo B (ml)	Color	Olor	Textura	Sabor
A1	1	4.0	0.05	6.2	3.93	3.73	4.20	3.87
A2	2	7.0	0.05	4.6	3.93	3.87	4.13	3.73
A3	3	10.0	0.4	6.2	3.80	3.80	4.33	3.80
A4	4	7.0	0.4	7.8	4.13	3.73	4.27	3.93
A5	5	4.0	0.225	4.6	4.07	3.73	4.07	4.13
B1	6	7.0	0.225	6.2	3.73	3.73	4.07	3.93
B2	7	7.0	0.05	7.8	4.20	3.80	4.13	3.93
B1	8	7.0	0.225	6.2	3.73	3.73	4.07	3.93
B3	9	10.0	0.225	7.8	4.13	4.00	4.33	3.67
B1	10	7.0	0.225	6.2	3.73	3.73	4.07	3.93
B4	11	4.0	0.225	7.8	4.00	3.93	4.07	4.13
C1	12	7.0	0.4	4.6	3.80	4.13	4.00	3.87
C2	13	10.0	0.225	4.6	4.07	3.80	4.00	3.73
C3	14	4.0	0.4	6.2	3.80	4.00	4.20	4.00
C4	15	10.0	0.05	6.2	4.20	3.80	3.73	3.47

Fuente: Elaboración propia.

En la elaboración de las fórmulas de yogurt, los jueces indicaron que el sabor y olor del complejo B fue intenso y fue descrito como “olor medicinal” y por ello se prefirió los valores con menor cantidad del ingrediente, sin embargo, su concentración resulto significativo en el modelo. Para la Vitamina C, se presentó la misma tendencia ya que se identificaron las muestras como más acidas cuando los valores eran cercanos a 0.4g, por tal motivo las fórmulas con mayor aceptación también fueron las que tenían menor cantidad de vitamina C.

Una vez obtenido el modelo cuadrático se emplearon los conocimientos de cálculo diferencial para maximizar el valor de aceptabilidad lo más cercano a 5. Para ello, se determina que el valor máximo sensorial del sabor se encuentra en el punto en el cual simultáneamente la derivada

parcial relacionada con la evaluación sensorial para el sabor respecto a la concentración del complejo B, la derivada parcial de la evaluación sensorial para el sabor respecto a la concentración de la vitamina C y la derivada parcial de la evaluación sensorial para el sabor respecto a la concentración de inulina son iguales a cero [12]. Obtenidas las ecuaciones de las derivadas parciales se resuelven las incógnitas por el método algebraico y se determinan las concentraciones de los ingredientes inmunoprotectores que dan respuesta a una mayor aceptabilidad en el parámetro de sabor.

En la Tabla 4, se representan las cantidades de cada ingrediente, así como el valor teórico del modelo obtenido y el valor experimental. El valor experimental fue obtenido nuevamente por evaluación sensorial al elaborar la fórmula con las concentraciones encontradas en la optimización. El valor experimental estuvo por debajo del predictivo, sin embargo, por encima de los valores de aceptabilidad en la primera fase de evaluación sensorial.

Tabla 3: Modelos de ajuste para los parámetros sensoriales.

Parámetro	Modelo con mayor ajuste	Valor P	Coefficiente R ²	Ecuación
Color	Cuadrático	0.098	85.81%	Color = 7.56 - 0.192B - 1.11C - 1.024A + 0.01389B ² + 2.45C ² + 0.0814A ² - 0.127BC + 0.0069 AB + 0.060 AC
Sabor	Cuadrático	0.033	91.31%	Sabor = 4.064 + 0.0168 B + 1.97C - 0.095A - 0.00556B ² - 3.27C ² + 0.0130A ² + 0.0952 BC - 0.00347 AB - 0.119 AC
Olor	Cuadrático	0.741	53.25%	Olor = 4.78 - 0.036B + 2.21C - 0.382A + 0.00463B ² + 1.90C ² + 0.0358A ² - 0.127BC + 0.0000AB - 0.298AC
Textura	Cuadrático	0.310	74.42%	Textura = 5.90 - 0.203B - 3.54C - 0.290A + 0.00185 B ² + 1.09C ² + 0.0130A ² + 0.286BC + 0.0174AB + 0.238AC

Fuente: Elaboración propia.

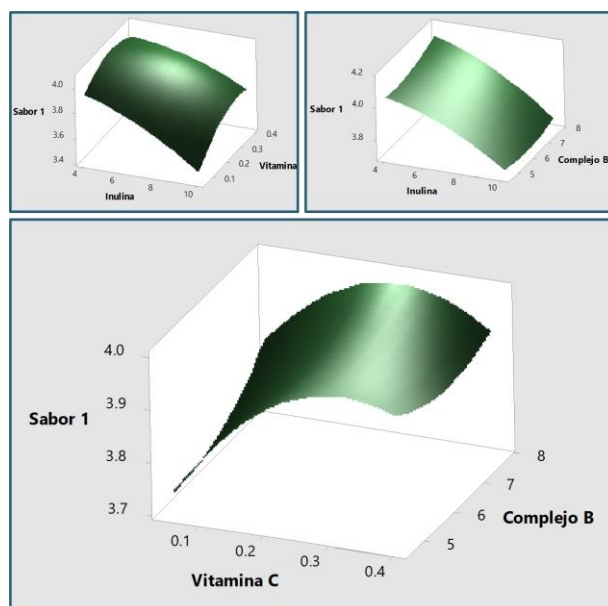


Figura 1: Representación del modelo cuadrático del parámetro de sabor en la elaboración del yogurt.
Fuente: Elaboración propia.

Tabla 4: Valor de optimización (Maximización) para las concentraciones de ingredientes.

Parámetro	Valor	
Modelo cuadrático	Sabor = 4.064 + 0.0168 B + 1.97C - 0.095A - 0.00556B ² - 3.27C ² + 0.0130A ² + 0.0952 BC - 0.00347 AB - 0.119 AC	
Valores de optimización	A-Complejo B	3.84 mL
	B- Vitamina C	0.18 g
	C- Inulina	5.55 g
Valor de aceptabilidad teórica	4.87	
Valor de aceptabilidad teórica	4.65	

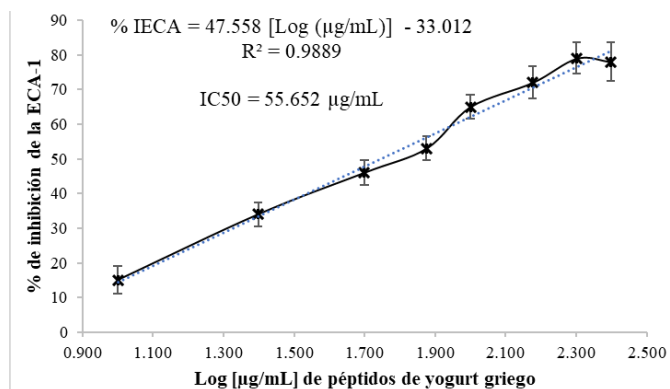
Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con los descriptores en la segunda evaluación sensorial, los panelistas no indicaron la presencia a olor medicinal otorgado por el complejo B, sin embargo, mencionaron que se percibía ligeramente ácido el yogurt. En la declaración nutricional, se identificó que el yogurt cumple con las características descritas en la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 en su actualización 2020 y bajo el cumplimiento de las especificaciones fisicoquímicas de la NOM-181-SCFI/SAGARPA-2018 (Yogurt, Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba). Así mismo, el yogurt se encuentra fortificado con las vitaminas, otorgando la ingesta recomendada por día (Fig. 2). El producto solo tiene un sello de advertencia por el exceso de azúcares.

Declaración nutricional por 100g	
Contenido energético	140 kcal (590 kJ)
Proteína	3 g
Grasas totales	2 g
Grasas saturadas	1 g
Grasas trans	0 mg
Grasa monoinsaturada	0 g
Grasa poliinsaturada	0 g
Colesterol	0 mg
Hidratos de carbono disponibles	29 g
Azúcares	19 g
Azúcares añadidos	13 g
Fibra Dietética	1 g
Sodio	55 mg
Calcio	15 %
Vitamina C	107 %
Vitamina D	105 %
Vitamina B1 (Tiamina)	108 %
Vitamina B2 (Riboflavina)	108 %
Vitamina B6 (Piridoxina)	108 %
Vitamina B12 (Cobalamina)	108 %

Figura 2: Declaración nutricional del yogurt formulado.
Fuente: Elaboración propia.

Se calculó la concentración inhibitoria media (IC50), es decir, la concentración de los péptidos del yogurt griego necesarios para producir una inhibición del 50% de la enzima ECA-1. Para llevarlo a cabo, se analizaron diferentes concentraciones de hidrolizado (10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 y 250 µg/mL). La concentración de los péptidos necesarios para inhibir la actividad enzimática de la ECA-1 en un 50% (IC50) del yogurt griego formulado fue de 55.652 µg/mL (Fig. 3). Los datos de inhibición de la enzima convertidora para angiotensina muestran el potencial de los péptidos que contiene el yogurt griego como inhibidores de la ECA-1, contribuyendo con evidencia científica sobre la tendencia en consumo para obtener un hidrolizado o péptidos con enzimas digestivas como fuente para péptidos que sean inhibidores de la ECA-1.



La máxima inhibición de la ECA-1 de los péptidos del yogurt griego fue de 79% a una concentración de 200µg/mL, sin embargo, como control positivo se evaluó Captopril, obteniendo un valor superior de 92.18% para inhibición enzimática en una concentración de 100µg/mL. Los resultados obtenidos de este apartado resultan difíciles de comparar ya que no hay investigaciones centradas al yogurt griego empleando un modelo continuo de simulación salivo-gastro-intestinal. Sin embargo, en un estudio reportado por Vera [19] se obtuvo una IC50 de 296 µg/mL, pero de yogurt convencional, lo anterior ponen en evidencia que el tipo de yogurt griego por su enriquecimiento en proteína permite tener una mayor producción de péptidos con potencial inhibitorio de la IECA ya que el yogurt griego formulado en esta investigación es casi 6 veces potencialmente más efectivo al reportado por Vera [19]. En otras investigaciones, utilizando un estudio de cohorte basado en la población con regresión basada en puntaje de propensión multivariable, se demostró que los inhibidores de la ECA de alimentos fermentados reducen sustancialmente la mortalidad a corto plazo después de la sepsis. Recientemente, un metaanálisis informó que el uso previo de inhibidores de la ECA proveniente de alimentos puede haber reducido de manera similar la mortalidad en pacientes con COVID-19 [20].

IV. CONCLUSIONES

El yogurt griego formulado y evaluado en esta investigación, al ser un producto fermentado rico en proteína es una fuente de péptidos bioactivos que pueden contribuir a contrarrestar los efectos causados por las enfermedades dinamizadas por el COVID-19 como la hipertensión ya que se demostró in vitro su potencial inhibitorio contra la enzima convertidora para angiotensina. Con los resultados de esta investigación se pone en evidencia la calidad nutrimental del yogurt con una formula mejorada y el potencial de sus péptidos bioactivos sobre el mecanismo de hipertensión que esta relacionado en las enfermedades causadas por el COVID19, cuya afectación repercute directamente en el sistema inmunológico. Aunque se debe continuar con el estudio de otras actividades biológicas como la antimicrobiana, antioxidante etc., para demostrar su amplio potencial en el sistema inmune, este proyecto contribuye a constatar lo sugerido por diversos autores del potencial de los péptidos del yogurt y sugiere por primera vez el potencial de un yogurt griego sometido a un proceso de simulación salivo-gastro-intestinal. Por lo tanto, es posible inferir en el efecto positivo en las distintas reacciones de señalización sobre los mecanismos implícitos que se desarrollan por las enfermedades dinamizadas por el COVID19.

V. AGRADECIMIENTOS

Al Tecnológico Nacional de México por el financiamiento del proyecto (14395) "Evaluación in vitro del potencial nutrimental e inmune de los péptidos bioactivos de un yogurt griego formulado con fines preventivos a enfermedades dinamizadas por el COVID19" dentro de la convocatoria 2022 "Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación".

VI. REFERENCIAS

- [1] W. Miesbach "Pathological Role of Angiotensin II in Severe COVID-19". T.H. Open 04, Vol. 02, 2020. e138–e144.
- [2] S. Ghosal, J. J. Mukherjee, B. Sinha, K. K. Gangopadhyay "The effect of angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers on death and severity of disease in patients with coronavirus disease 2019 (COVID19): A meta-analysis" MedRxiv Preprint. 2020.
- [3] A. S. Gouda, B. Mégarbane "Snake venom-derived bradykinin-potentiating peptides: A promising therapy for COVID-19" Drug Dev. Res. 82 (1), 2020. pp 38–48.
- [4] H. Fan, W. Liao, J. Wu "Molecular interactions, bioavailability, and cellular mechanisms of angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides". J. Food Biochem. 43, (1). 2019.
- [5] N. H. El-Abadi, M. C. Dao, S. N. Meydani "Yogurt: role in healthy and active aging" The Am. J. Clin. Nutr. 99 (Vol. 5). 2014. pp 1263S–1270S.
- [6] E. Barengolts, E. Smith, S. Reutrakul, L. Tonucci, T. Anothaisintawee "The Effect of Probiotic Yogurt on Glycemic Control in Type 2 Diabetes or Obesity: A Meta-Analysis of Nine Randomized Controlled Trials" Nutrients 11 (Vol. 3), 2019. pp. 671.
- [7] D. Rea, G. Coppola, G. Palma, A. Barbieri, A. Luciano, P. Del Prete, S. Rossetti, M. Berretta, G. Facchini, S. Perdonà, M. C. Turco, C. Arra "Microbiota effects on cancer: from risks to therapies" Oncotarget 9 (Vol 25). 2018. Pp. 17915–17927.
- [8] D. Tagliazucchi, S. Martini, A. Bellesia, A. Conte "Identification of ACE[1]inhibitory peptides from Phaseolus vulgaris after in vitro gastrointestinal digestion" Int. J. Food Sci. Nutr. 66 (Vol. 7), 2015. Pp. 774–782.
- [9] Y. Yamamoto, J. Saruta, T. Takahashi, M. To, T. Shimizu, T. Hayashi, T. Morozumi, N. Kubota, Y. Kamata, S. Makino, H. Kano, J. Hemmi, Y. Asami, T. Nagai, K. Misawa, S. Kato, K. Tsukinoki "Effect of ingesting yogurt fermented with Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus OLL1073R-1 on influenza virus bound salivary IgA in elderly residents of nursing homes: a randomized controlled trial" Acta Odontol. Scand. 77 (Vol. 7), 2019. Pp. 517–524.
- [10] S. A. Gouda, F. G. Adbelruhman, H. S. Alenezi, B. Mégarbane "Theoretical benefits of yogurt-derived bioactive peptides and probiotics in COVID-19 patients – A narrative review and hypotheses" Saudi Journal of Biological Sciences, Vol. 28, Issue 10, 2021, Pp. 5897–5905.
- [11] ASELAC. Notas del curso de capacitación de Asesoría Láctea S.A de C.V. Taller de extendidos. Texcoco Edo. De México. 2014.
- [12] H. Scheffé "Experiment with mixtures". Journal Royal Statistical Society. 20:344. 1958.
- [13] AOAC "Official methods of analysis of the Association of Official's Analytical Chemist" 17th Edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia USA. 2003.
- [14] M. Minekus P. Alvinger, S. Alvito, T. Ballance, C. Bohn, F. Bourlieu, R. Carriere, M. Boutrou, D. Corredig, C. Dupont, L. Dufour, M. Egger, S. Golding, B. Karakaya, S. Kirkhus, U. Le Feunteun, A. Lesmes, A. Macierzanka, S. Mackie, D. J. Marze, O- McClements, I. M'énard, C. N. Recio, R. P. Santos, G. E. Singh, M. S. J. Vegarud, W. Wickham, A. Weitschies and A. Brodkorb "A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus". Universidad Politécnica de Valencia. 2014.
- [15] M. Chávarri, I. Marañón, R. Ares, F. C. Ibáñez, F. Marzo, M. C. Villarán "Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions" International Journal Food Microbiology. 142 (Vol. 2), 2010. Pp. 185-189.

- [16] D. W. Cushman, y H. S. Cheung “Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin I-converting enzyme of rabbit lung” *Biochemical Pharmacology Journal* (Vol. 20). 1971. Pp.1637–1648.
- [17] Y. K. Kim, y B. H. Chung “A novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from human α 1-casein”. *Biotechnology Letters* (Vol. 21) 1999. pp 575–578.
- [18] A. P. Barba de la Rosa, A. Barba-Montoya, P. Martínez-Cuevas, B. Hernández-Ledesma, M. F. León-Galván, A. De León-Rodríguez, C. González “Tryptic amaranth glutelin digests induce endothelial nitric oxide production through inhibition of ACE: Antihypertensive role of amaranth peptides” *Nitric Oxide*, (Vol. 23), 2010. 106–11.
- [19] A. Vera, “Desarrollo de un yogur bebible enriquecido con péptidos bioactivos obtenidos de la hidrólisis enzimática de proteínas de suero lácteo utilizando papaína” Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos Universidad Autónoma de Querétaro. 2017.
- [20] W. T. Hsu, B. P. Galm, G. Schrank, T. C. Hsu, S. H. Lee, J. Y. Park, C. C. Lee, “Effect of Renin-Angiotensin-Aldosterone System Inhibitors on Short-Term Mortality After Sepsis”. *Hypertension* 75 (Vol 2). 2020. Pp. 483–491.
- [21] OMS “Enfermedades no transmisibles” 2013. Disponible en: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/es/.
- [22] Hernández Bringas, Héctor. "COVID-19 en México: un perfil sociodemográfico." *Notas de Población* (2021).