

UACM

Universidad Autónoma
de la Ciudad de México

Nada humano me es ajeno

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

LICENCIATURA EN PROMOCIÓN DE LA SALUD

**“Caracterización Fitoquímica, Farmacológica de la
Semilla de la Chía (Salvia hispánica L.)”**

TRABAJO RECEPCIONAL
PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN
PROMOCIÓN DE LA SALUD

PRESENTA:

Miguel Ángel Velázquez Medina

Director del trabajo recepcional

Dr. José Alberto Mendoza Espinoza

Codirector del trabajo recepcional

Mtro. Edgar del Carmen Sierra Palacios

México, D. F. Enero, 2015.

SISTEMA BIBLIOTECARIO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO COORDINACIÓN ACADÉMICA

RESTRICCIONES DE USO PARA LAS TESIS DIGITALES

DERECHOS RESERVADOS[©]

La presente obra y cada uno de sus elementos está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor; por la Ley de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, así como lo dispuesto por el Estatuto General Orgánico de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México; del mismo modo por lo establecido en el Acuerdo por el cual se aprueba la Norma mediante la que se Modifican, Adicionan y Derogan Diversas Disposiciones del Estatuto Orgánico de la Universidad de la Ciudad de México, aprobado por el Consejo de Gobierno el 29 de enero de 2002, con el objeto de definir las atribuciones de las diferentes unidades que forman la estructura de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México como organismo público autónomo y lo establecido en el Reglamento de Titulación de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

Por lo que el uso de su contenido, así como cada una de las partes que lo integran y que están bajo la tutela de la Ley Federal de Derecho de Autor, obliga a quien haga uso de la presente obra a considerar que solo lo realizará si es para fines educativos, académicos, de investigación o informativos y se compromete a citar esta fuente, así como a su autor ó autores. Por lo tanto, queda prohibida su reproducción total o parcial y cualquier uso diferente a los ya mencionados, los cuales serán reclamados por el titular de los derechos y sancionados conforme a la legislación aplicable.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, mi escuela en la formación profesional como Licenciado en Promoción de la Salud.

Agradezco a la UACM que por medio del convenio número UACM-CSE-ITR/106/2014, me otorgó un apoyo para impresión y empastado de tesis.

Al laboratorio de productos naturales y al herbario de la UACM Plantel Casa Libertad por permitirme un lugar para llevar a cabo la realización de este proyecto.

Agradezco al Dr. José Alberto Mendoza Espinoza por ser mi director en este trabajo y compartir conmigo su amplia experiencia en el campo de la ciencia.

Al profesor investigador Edgar del Carmen Sierra Palacios mi codirector de tesis, un maestro entregado y dedicado a la enseñanza.

Muchas gracias a mi familia, a quien dedico este trabajo, en primera instancia a mi madre Adelina Medina Núñez la persona que más quiero en este mundo, por ser una mujer extraordinaria, a mi padre Ángel Velázquez Pineda de quien estoy orgulloso por ser una persona trabajadora y entregada con su familia, a mis hermanos Yolanda, Jessica, Martín y Lorena quienes siempre me dieron su cariño y apoyo, a mis sobrinos y a mi ahijado Sebastián.

También agradezco a mis amigos, familiares y a las personas que siempre creyeron en mí y que ocupan un lugar en mi vida, gracias por su apoyo y amistad.

Mi más sincero reconocimiento al comité de lectores que me apoyaron en la escritura y propuesta de este proyecto:

Dr. José A. Mendoza, Plantel Casa Libertad, UACM. Director

Mtro. Edgar del Carmen Sierra, Plantel Casa Libertad, UACM. Co- Director

Mtra. Aída Sandoval, Plantel Casa Libertad, UACM. Lector interno

Mtro. José Antonio Navarro, Plantel Casa Libertad, UACM. Lector interno

Mtro. José Antonio Segoviano, San Lorenzo Tezonco, UACM. Lector interno

Dra. Laura J. Pérez-Flores, UAM-I. Lector externo

Este trabajo forma parte de los entregables del sabático del profesor José A. Mendoza E.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
Capítulo 1. Importancia de la medicina tradicional en México	1
1.1 La medicina tradicional en México	1
Capítulo 2. La chía (<i>Salvia hispánica</i> L.) como modelo de estudio	3
2.1 Generalidades de la chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)	3
2.2 Descripción botánica de la chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)	4
2.3 Características de la semilla de la chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)	5
Capítulo 3. La razón del estudio de la chía (<i>Salvia hispánica</i> L.). Generalidades de la obesidad	7
3.1 La razón del estudio de la chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)	7
3.2 Definición de la obesidad según la Organización Mundial de la Salud (OMS)	7
3.3 Clasificación de la obesidad	8
3.4 Prevalencia de la obesidad en el mundo y en México	9
3.5 Principales causas de obesidad	10
3.6 Alternativas para combatir la obesidad	10
Capítulo 4. Promoción de la salud y su relación con la medicina tradicional	18
4.1 Concepto de promoción	18
4.2 Concepto de salud según la OMS	18
4.3 Concepto de promoción de la salud	18
4.4 Funciones de la promoción de la salud y su relación con este estudio	21
4.5 Medicina tradicional	22
4.6 La importancia de la promoción de la salud en el manejo de la medicina tradicional	24
Capítulo 5. Justificación	25
Capítulo 6. Objetivos	27
6.1 Objetivo general	27

	6.2 Objetivos particulares	27
Capítulo 7.	Diseño del estudio de la semilla de la chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)	28
Capítulo 8.	Material y métodos	29
	8.1 Obtención del material biológico	30
	8.2 Estudio fitoquímico cualitativo	31
	8.2.1 Determinación de alcaloides	31
	8.2.2 Determinación de antraquinonas	31
	8.2.3 Determinación de cumarinas volátiles	32
	8.2.4 Determinación de saponinas	32
	8.2.5 Determinación de taninos	32
	8.3 Estudio fitoquímico cuantitativo	33
	8.3.1 Determinación de flavonoides totales	33
	8.3.2 Determinación de fenoles totales	34
	8.3.3 Determinación de ácido cafeico y ácido clorogénico mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR)	35
	8.4 Estudio farmacológico	35
	8.4.1 Determinación de la capacidad antioxidante empleando DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil)	35
	8.4.2 Determinación de la capacidad antioxidante por el método de ABTS ⁺	36
	8.4.3 Toxicidad en el modelo de <i>Artemia salina</i>	37
	8.4.4 Seguimiento del crecimiento en ratas macho de la cepa Wistar	37
Capítulo 9.	Resultados y discusión	39
	9.1 Estudios fitoquímicos y comparación con otros datos de la literatura	39

9.1.1 Estudio cualitativo determinación de alcaloides, antraquinonas, cumarinas volátiles, saponinas y taninos	39
9.1.2 Análisis del estudio fitoquímico cuantitativo	41
9.1.2.1 Contenido de flavonoides y fenoles totales	41
9.1.2.2 Determinación de la presencia de algunos metabolitos con actividad antioxidante como son el ácido cafeico y clorogénico	42
9.2 Análisis farmacológico	43
9.2.1 Capacidad antioxidante	43
9.2.2 Toxicidad en el modelo de <i>Artemia salina</i>	43
9.2.3 Análisis del efecto de los extractos de chía (<i>Salvia hispánica</i> L.) en el crecimiento de rata macho de la cepa Wistar	44
9.3 Importancia de los resultados en el desarrollo de la Licenciatura de Promoción de la Salud	49
Capítulo 10. Conclusiones	50
Capítulo 11. Perspectivas	51
Referencias	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Composición nutrimental de la semilla de la chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)	6
Tabla 2.	Contenido de vitaminas y aminoácidos encontradas en la semilla de la chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)	6
Tabla 3.	Indicadores para determinar obesidad en base al IMC	8
Tabla 4.	Plantas empleadas para bajar de peso con un efecto saciante y disminuidor de absorción	13
Tabla 5.	Plantas empleadas en el tratamiento contra la obesidad con actividad termogénica	15
Tabla 6.	Funciones básicas de la promoción de la salud	19

Tabla 7.	Resultados obtenidos del estudio fitoquímico de la semilla de la chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)	41
Tabla 8.	Estudio de ácido cafeico, ácido clorogénico, fenoles totales, flavonoides totales de los extractos de la semilla de la chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)	42
Tabla 9.	Letalidad de la semilla de la chía (<i>Salvia hispánica</i> L.) en el modelo de <i>Artemia salina</i>	44
Tabla 10.	Análisis estadístico del alimento consumido, durante 23 días de estudio	46
Tabla 11.	Análisis estadístico de las soluciones consumidas, durante 23 días de estudio	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Chía (<i>Salvia hispánica</i> L.) ejemplar herborizado perteneciente a la colección de plantas del herbario de la UACM, plantel Casa Libertad.	4
Figura 2.	Semillas de chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)	5
Figura 3.	Harina de chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)	30
Figura 4.	Presencia de ácido cafeico en la semilla de chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)	43
Figura 5.	Crecimiento ponderal promedio de 9 ratas Wistar por grupo durante 23 días de estudio	45
Figura 6.	Alimento consumido en gramos por grupo de 9 ratas Wistar, durante 23 días de estudio	46
Figura 7.	Solución consumida en mililitros por grupo de 9 ratas Wistar, durante 23 días de estudio	47

ANEXOS

A1	Resultados de toxicidad en el modelo de <i>Artemia salina</i> de extracto de chía en acetato de etilo	59
A2	Resultados de toxicidad en el modelo de <i>Artemia salina</i> del extracto de chía en hexano	60
A3	Resultados de toxicidad en el modelo de <i>Artemia salina</i> del extracto de chía en metanol	61

A4	Pesos de las ratas Wistar control por día	62
A5	Ganancia de peso de las ratas Wistar control por día	63
A6	Peso de las ratas Wistar a las que se les dio la solución acuosa con chía por día	64
A7	Ganancia de peso de las ratas Wistar a las que se les dio la solución acuosa con chía por día	65
A8	Promedio y desviación estándar por día de las ratas Wistar a las que se les dio la solución acuosa con chía	66

Abreviaturas

(p/v) – peso sobre volumen
(v/v) – volumen sobre volumen
°C – grados centígrados
AlCl₃ - Tricloruro de aluminio
CAET – por sus siglas en inglés (capacidad antioxidante equivalente a Trolox)
CLAR - Cromatografía líquida de alta Resolución
cm - centímetro
CH₃CO₂K – acetato de potasio
CHCl₃-CH₃OH - cloroformo-metanol
DPPH - Difetil-2-picrilhidrazilo
EAG – Equivalentes de Ácido Gálico
ENSANUT - Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
IMC- Índice de Masa Corporal
INSP - Instituto Nacional de Salud Pública de México
kg/m²- kilogramo sobre metro al cuadrado
m – metro
mA – mili-Ampers
MEAA –por sus siglas en inglés, miliequivalente de ácido ascórbico
mg - microgramos
mg/mL - miligramo sobre mililitro
min – minuto
mL – mililitro
mm - milímetro
msnm – metros sobre el nivel del mar
nm - nanómetro
OMS – Organización Mundial de la Salud
ppm – partes por millón
PUBMED – Publicaciones Médicas, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
seg - segundos
TLC – por sus siglas en inglés, cromatografía en capa fina
UV – Ultravioleta
UV/Vis – ultravioleta visible
µL – microlitro.

Capítulo 1.

Importancia de la medicina tradicional en México

1.1 La medicina tradicional en México

Durante la historia de la humanidad, el hombre ha hecho uso de un sin número de plantas para su beneficio, en algún momento descubrió que ciertos vegetales le podían servir para tratar algunas afecciones médicas. Las culturas mesoamericanas tomaron esta práctica del empleo de plantas y la desarrollaron hasta niveles elevados, juntaron esta actividad con sus ritos religiosos y obtuvieron grandes beneficios en el tratamiento o cura de las enfermedades. En México, el uso de las plantas medicinales por las culturas prehispánicas se ha extendido hasta nuestros días, la población mexicana conserva una rica tradición de empleo de éstas, algunos ejemplos de ello es el uso de la árnica, la semilla de chía, el epazote, el orégano, etc. (Aguilar, 1999; Argueta, *et al*; 1994; Linares, *et al*; 1994; Lozoya, 1994; Martínez, 1989).

Se calcula que la flora medicinal mexicana contiene entre 3,000 y 5,000 plantas que tienen potencial terapéutico (Aguilar, 1999; Lozoya, 1994). Un total de 3,000 especies han sido compiladas en un atlas de plantas medicinales empleadas por diversos grupos étnicos (Argueta, *et al*; 1994). Según la Sociedad Latinoamericana de Medicina Natural y Tradicional, la industria herbolaria mexicana comercializa alrededor de 1,200 toneladas mensuales, de las cuales, el Mercado de Sonora del D. F., participa con 160 toneladas (Lira, 2002). Estudios realizados por Gutiérrez y Betancourt (2005), reportan que de manera cotidiana se comercializan plantas frescas y deshidratadas, cerca de 250 especies provenientes principalmente de las zonas centro y sur del país.

México es considerado el segundo país del mundo con mayor número de plantas medicinales inventariadas, con casi 4,500 especies, después de China que cuenta con 5,000, según la Sociedad Latinoamericana de Medicina Natural y Tradicional. El presidente de dicha sociedad, Erick Estrada, señala que el 80% de la población total en México hace uso frecuente de la herbolaria para sanar sus enfermedades. Diciendo: "los mexicanos hemos sido herbolarios toda la vida, desde la época prehispánica y aún antes, toda la vida hemos consumido plantas medicinales y se usan en combinación con la medicina alópata" (Muñeton, 2009; Morón, 2004; Meckes, *et al*; 2004; Cáceres, 2005). En este contexto nace la importancia de estudiar la semilla de la *Salvia hispanica* L. conocida comúnmente como chía cultivada en la parte centro sur del país.

Capítulo 2.

La chía (*Salvia hispánica* L.) como modelo de estudio

2.1 Generalidades de la chía (*Salvia hispánica* L.)

Cultivo y distribución geográfica:

La *Salvia hispánica* L. es una planta de origen mesoamericano, su nombre “Chía” o “Chan” proviene del vocablo náhuatl que agrupa varias especies botánicas de los géneros *Salvia*, *Hypti*, *Amaranthus* y *Chenopodium*; su cultivo y utilización fueron considerados por Kirchhoff (1960).

Se han encontrado descripciones prehispánicas sobre su cultivo y empleo en la alimentación. Desde esa época ha tenido un uso como planta medicinal, comestible, religioso y en el ámbito artístico su aceite fue utilizado para pintar. Pero hasta hace unos años esta planta había caído en desuso. Sin embargo, en la actualidad empieza a tener un uso importante como planta medicinal y/o nutrimental. Su distribución geográfica es en ambientes semicálidos y templados del eje neovolcánico, de la sierra madre occidental del sur y de Chiapas. Crece a altitudes de los 1,400 a los 2,200 msnm¹ (Kirchhoff, 1960; Miranda, 1978 y Ramamoorthy *et al*; Elliot, 1998). La chía es cultivada en algunas zonas del país, como Puebla, Jalisco, Guerrero, Chiapas y Estado de México.

¹ Las abreviaturas (msnm) hacen referencia a metros sobre el nivel del mar

2.2 Descripción botánica de la chía (*Salvia hispánica* L.)

La chía cuyo nombre científico es *Salvia hispánica* L. es una planta que pertenece a la familia Lamiaceae, del género *Salvia*, (Figura 1), es una hierba o arbusto que mide de 90 cm a 1 m de altura; tiene hojas que miden de 4 a 8 cm de largo y 3 a 5 cm de ancho. Sus flores son hermafroditas, púrpuras o blancas, y aparecen en ramilletes terminales; florece en los meses de julio y agosto en el hemisferio norte. En verano, sus flores son las que dan lugar a un fruto llamado aquenio el cual en el interior reserva la semilla (Cahill, 2003; Miranda, 2008).



Figura 1. Chía (*Salvia hispánica* L.) ejemplar herborizado perteneciente a la colección de plantas del herbario de la UACM, plantel Casa Libertad.

2.3 Características de la semilla de la chía (*Salvia hispánica* L.)

La semilla de chía (Figura 2) tiene una forma ovalada, su tamaño es de 1 a 2 mm, su color es variado se puede encontrar en negro, gris, y negro con manchas blancas, La semilla de la chía contiene una gran cantidad de componentes nutrimentales, entre ellos proteínas (15-25%), aceites (30-33%) y carbohidratos (17-41%), entre otros nutrimentos. El interés actual por la semilla de chía es debido a la presencia de aceite omega-3 y de agentes antioxidantes (Hernández, *et al*; Miranda, 2008; Norlaily, *et al*; 2012).



Fuente: Propia

Figura 2. Semillas de chía (*Salvia hispánica* L.)

Actualmente la semilla de la chía es utilizada para preparar agua refrescante endulzada con azúcar y limón, también mediante un proceso químico se extrae aceite con alto contenido en omegas. En el Estado de Michoacán se cultiva y le dan un uso

gastronómico al preparar tamales de chía. De forma similar, en algunos países como Canadá y EUA la usan para hacer barras nutritivas.

Tabla 1. Composición nutricional de la semilla de la chía (*Salvia hispánica* L.)

Composición proximal		Minerales (mg/100g)	
Materia seca	91-96%	Sodio	<0.1-6
Proteínas	20-22%	Potasio	510-710
Lípidos	30-35%	Calcio	500-640
Carbohidratos	25-41%	Hierro	5.7-15
Fibra cruda	18-30%	Magnesio	310-430
Ceniza	04-06%	Fosforo	600-870

Fuente tomada de:

http://acnfp.food.gov.uk/sites/default/files/mnt/drupal_data/sources/files/multimedia/pdfs/applicdos/schiacompany.pdf

Tabla 2. Contenido de vitaminas y minerales encontradas en la semilla de la chía (*Salvia hispánica* L.)

Vitaminas	Resultados (mg/100g)	Aminoácidos	Resultados (% de proteínas)
Retinol	16.10	Isoleucina	3.05-3.53
Tiamina (Vitamina B1)	0.79-0.81	Leucina	5.47-6.34
Riboflavina (Vitamina B2)	0.05	Lisina	3.87-4.42
Niacina (Vitamina B3)	7.8-9.4	Metionina	1.00-1.14
Cobalamina (Vitamina B12)	90-110 ng	Fenilalanina	4.19-4.71
Acido ascórbico (Vitamina C)	<1-6	Treonina	2.90-3.42
		Triptófano	0.89-1.04
		Valina	3.86-4.56

Fuente tomada de:

http://acnfp.food.gov.uk/sites/default/files/mnt/drupal_data/sources/files/multimedia/pdfs/applicdos/schiacompany.pdf

Capítulo 3.

La razón del estudio de la chía (*Salvia hispánica* L.). Generalidades de la obesidad

3.1 La razón del estudio de la chía (*Salvia hispánica* L.)

En la actualidad existe en el mundo una corriente interesada por el resurgimiento de lo natural, principalmente por mantener un estilo de vida saludable y cada vez con menos sustancias químicas sintéticas. Debido a que se ha observado un aumento en la prevalencia de ciertas enfermedades como la obesidad. Ante este problema, una alternativa es el uso de la semilla de la chía como alimento, por su alto contenido nutrimental, además de darle un uso como alternativa terapéutica contra este padecimiento (Prieto, *et al*; 2004).

3.2 Definición de la obesidad según la Organización Mundial de la Salud (OMS)

La obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. Generalmente la obesidad se mide con el Índice de Masa Corporal (IMC) que se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros (kg/m^2). Un IMC igual o superior a 30 determina obesidad como se observa en la Tabla 3 (OMS, 2012).

Se ha reconocido la obesidad como el exceso de tejido adiposo en el organismo que ocasiona enfermedades multifactoriales influidas por factores genéticos, fisiológicos, metabólicos, celulares, moleculares, sociales y culturales, constituyen un importante problema de salud (OMS, 2012).

Tabla 3. Indicadores para determinar obesidad en base al IMC

Indicador	IMC
Bajo peso	<18.5
Peso adecuado	18.5<y/o< 24.9
Sobre peso	25<y/o<29.9
Obesidad tipo I	30.0<y/o<34.9
Obesidad tipo II	35.0<y/o<39.9
Obesidad tipo III	≥40.0

Fuente tomada de: (OMS, 2012).

3.3 Clasificación de la obesidad.

La clasificación de este padecimiento se divide en tres tipos de obesidad y esto depende de la región del cuerpo en la que se encuentre la acumulación del tejido adiposo:

Obesidad ginecoide. El tejido adiposo se acumula en la zona de la cadera, glúteos y muslos, le llaman al cuerpo forma de pera y se presenta principalmente en mujeres. Este tipo de enfermedad provoca complicaciones en venas y articulaciones (Morales, 2010).

Obesidad androide. Este tipo de padecimiento se caracteriza por que el tejido adiposo se concentra en la cara, región cervical, tronco y hay una mayor concentración en abdomen, se le conoce como forma de manzana, es más frecuente en hombres y es un factor de riesgo de padecer enfermedades crónico degenerativas (Morales, 2010).

Obesidad visceral o generalizada. Se caracteriza por tener acumulación de grasa alrededor de las vísceras. Sin embargo, tanto en hombres como en mujeres se pueden presentar los 3 tipos (Morales, 2010).

3.4 Prevalencia de la obesidad en el mundo y en México

La OMS menciona que la obesidad ha alcanzado proporciones epidémicas a nivel mundial, el sobrepeso y la obesidad son el sexto factor principal de riesgo de defunción en el mundo. Cada año fallecen alrededor 3,4 millones de personas adultas como consecuencia del sobrepeso o la obesidad. Además, el 44% de la prevalencia de diabetes, el 23% de las cardiopatías isquémicas y entre el 7% y el 41% de algunos cánceres son atribuibles a la obesidad (OMS, 2012).

Es alarmante ver como mueren tantas personas por esta enfermedad que por desnutrición. En el caso de México, de acuerdo con los puntos de corte del IMC propuestos por la OMS (Ver Tabla 3), la prevalencia de sobrepeso y obesidad en México en adultos de 20 años o más fue del 71.3% esto representa 48.6 millones de personas.

La obesidad es un factor de riesgo, de acuerdo a la OMS se menciona que 8 de cada 10 muertes en México son provocadas por ECDNT (Enfermedades Crónicas Degenerativas No Transmisibles); 13% del total fueron por diabetes y 13% por cánceres. Asegura además que 37% de la población mexicana es inactiva es decir no realiza ningún tipo de actividad física; de estos, 36% son hombres y 37.9% mujeres (OMS, 2012). La obesidad y el sobrepeso que no están determinados por factores genéticos son prevenibles con

una dieta balanceada rica en alimentos con fibra y actividad física moderada, la OMS menciona que se requiere de un esfuerzo moderado, que acelere de forma perceptible el ritmo cardiaco.

Se recomienda realizar las siguientes actividades físicas por lo menos media hora diaria.

- Caminar a paso rápido
- Bailar
- Jardinería
- Tareas domésticas
- Participación activa en juegos y deportes con niños. Paseo con mascotas
- Trabajos de construcción generales (por ejemplo, hacer tejados, pintar, etc.)
- Desplazamiento de cargas moderadas (< 20 kg)

3.5 Principales causas de obesidad

Existe una serie de causas de obesidad: excesiva ingestión calórica, genética, endocrina, etc. Sin embargo, las pruebas apuntan a que la causa principal es la excesiva ingestión calórica (Benyon, 2008).

3.6 Alternativas para combatir la obesidad

Existen diversos tipos de tratamientos para disminuir este padecimiento, basados en dos grupos, los que disminuyen la ingesta calórica o los que aumentan el gasto energético. Es posible que aunado a estos tratamientos se opte por una terapia farmacológica o quirúrgica la cual puede estar basada en:

Neuropéptido Y. El Neuropéptido Y encontrado en el tejido nervioso, estimula el centro del apetito. Los fármacos que bloquean los receptores de dicho neuropéptido disminuyen la ingestión de alimentos (Luckie, *et al*; 2009).

Colecistocinina. Tiene una función importante para facilitar la digestión en el intestino delgado. Estimula la liberación de enzimas digestivas y bilis de la vesícula (Luckie, *et al*; 2009).

Melanocortinas. Es un grupo de hormonas peptídicas hipofisarias. Uno de los receptores encontrados en el hipotálamo y la proteína que se le une parece tener un papel importante en el control del peso (Luckie, *et al*; 2009).

Glucagón. Es una hormona producida en el páncreas que regula la utilización de carbohidratos y disminuye la ingestión de alimentos. Una parte de la molécula de glucagón, el glucagón-like péptido 1, también ayuda a disminuir la ingestión de comida (Luckie, *et al*; 2009).

Cirugía: Se trata de una solución extrema y se practica solo en casos seleccionados. Entre los ejemplos podemos citar coser las mandíbulas, gastroplastia (engrapar) las paredes del estómago, haciéndolo más pequeño), derivación del intestino delgado y distensión gástrica (Benyon, 2008).

Bypass gástrico. Origina un estómago pequeño y conecta esta “bolsa” con la segunda porción del intestino. Esta cirugía es más extensa y difícil de realizar que la gastroplastia, pero también es más efectiva. De la evaluación inicial al seguimiento

posoperatorio, el paciente requiere vigilancia cuidadosa durante los primeros dos años, en forma multidisciplinaria: cirujanos, médicos internistas, psicólogos y otros profesionales de la salud para mantener una dieta especial, ejercicio y vigilancia de por vida (Luckie, *et al*; 2009).

Liposucción. No se considera un tratamiento para el paciente obeso. Es una forma de remover células grasas de ciertos puntos del cuerpo por razones cosméticas, por lo que, no resuelve el problema de la sobre ingestión (Luckie, *et al*; 2009).

Es importante indicar que además de los tratamientos antes mencionados existen algunos productos herbolarios que se consumen como coadyuvantes en la terapia para bajar de peso, ya que, tienen como característica un efecto en la saciedad. Los que encontramos los mencionamos en la Tabla 4.

Asimismo, podemos observar en la Tabla 4 y 5 que existen diferentes plantas empleadas para tratar la obesidad con diferente acción en el organismo, algunas tienen un efecto saciante, otras disminuyen la absorción de nutrientes y otras con actividad termogénica. Cabe mencionar, que la chíá es un candidato potencial gracias a sus propiedades de absorción de agua y de efecto saciante.

Tabla 4. Plantas empleadas para bajar de peso con un efecto saciante y disminuidor de absorción

Nombre común o comercial	Nombre científico	Información relevante
Chía	<i>(Salvia hispánica L.)</i>	<p>En estudios recientes se encontró que la ingesta regular de 37 g/día de chía reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares disminuyendo la presión sanguínea y marcadores de coagulación en sujetos con diabetes tipo II.</p> <p>Otros beneficios asociados son la disminución de niveles de glucosa postprandial, reducción de inflamación y aumento de la sensación de saciedad. La chía produce un mucílago que se libera cuando se pone en contacto con agua, este polisacárido tiene la capacidad de absorber siete veces su peso en agua. Este fenómeno también ocurre cuando la semilla entera se mezcla con los jugos gástricos, el gel producido puede formar una barrera física entre los carbohidratos y enzimas digestivas. Por lo tanto, son digeridos en forma uniforme y lenta, lo que se traduce en el no aumento de insulina en la sangre. Actualmente se busca incorporar nuevos ingredientes funcionales a alimentos para contribuir con la promoción de la salud en enfermedades como la obesidad.</p>
Fuco	<i>Fucus spp</i>	<p>En los últimos años se han utilizando como coadyuvante en el tratamiento del sobrepeso. A pesar de ser muy empleado, no existe demasiada información científica acerca de las actividades farmacológicas de esta especie vegetal, aunque si de algunos de sus componentes, como es el caso del</p>

ácido algínico, pues es muy empleado en tecnología farmacéutica y alimentaria ya que, en medio alcalino, forma disoluciones coloidales de elevada viscosidad.

Gimnema *Gymnema sylvestre* En trabajos recientes se ha constatado su utilidad en el tratamiento de la obesidad debido a la eficacia de los ácidos gimnémicos para impedir la absorción de glucosa en intestino (Kanetkar, *et al*; 2007).

Glucomanano *Amorphophallus*
konjac Tiene la capacidad de absorber agua. Actualmente se emplea por su eficacia terapéutica en el tratamiento del exceso de peso, además de emplearse en la hipercolesterolemia, la hiperglucemia y el estreñimiento. Tiene la capacidad de inducir la sensación de saciedad y como consecuencia, una disminución en la ingesta de alimentos. Como ocurre con otras sustancias mucilaginosas como la chía.

Plantago *Plantago spp* Producen un efecto saciante, además retarda la absorción de algunos nutrientes. Se han publicado diferentes trabajos relacionados con su posible efecto en la reducción del peso corporal. Por ejemplo, la administración de un preparado que contenía un 3,5% de cutículas de ispágula en la dieta de ratas obesas con diabetes tipo 2 fue capaz de prevenir algunas de sus alteraciones metabólicas, entre ellas la obesidad (Galisteo, *et al*; 2005).

Fuente tomada de: (Ronquillo, 2011).

Tabla 5. Plantas empleadas en el tratamiento contra la obesidad con actividad termogénica

Nombre común o comercial	Nombre científico	Información relevante
Guaraná	<i>Paullinia cupana</i>	Tradicionalmente esta planta medicinal se ha empleado en el tratamiento sintomático de diarreas ligeras y astenias funcionales. Es estimulante del sistema nervioso central por su contenido en cafeína y astringente por sus taninos. En animales de experimentación induce incrementos en la actividad física y mental, actividad que ha sido confirmada en el hombre, mediante la realización de ensayos clínicos aleatorizados, doble ciego y frente a placebo. Aunque no existen ensayos clínicos que avalen la eficacia adelgazante de esta sustancia cuando se administra sola, debido a que en su composición figuran componentes similares a los identificados en las hojas de té, parece probable que pueda reducir el peso corporal.
Hoodia	<i>Hoodia gordinii</i>	La actividad farmacológica del género <i>Hoodia</i> , e incluso de los compuestos aislados a partir de <i>H. gordonii</i> y <i>H. pilífera</i> , son sumamente escasas. Se dispone de los resultados obtenidos en una experiencia en la que se procedió, en animales de experimentación, a la administración intracerebroventricular (icv) del compuesto P57AS3. Estos resultados fueron demostrativos de que este compuesto esteroídico actuaba sobre el sistema nervioso central, dando lugar al incremento de ATP en las neuronas hipotalámicas, en porcentajes comprendidos entre 50-150. De forma simultánea se observó

que la administración icv del P57 daba lugar, en las 24 horas siguientes, a una disminución en la ingesta del 40-60%. Este efecto anorexígeno puede ser debido, según los autores (Maclean, *et al*; 2004), a la actuación del ATP en el hipotálamo como sensor de energía, por lo cual su incremento ocasionaría una disminución en el apetito y, por tanto, en la ingesta.

Mate	<i>Ilex paraguariensis</i>	<p>Contienen numerosos compuestos fenólicos, principalmente ácidos fenólicos, taninos, flavonoides y bases xánticas. También se han identificado saponósidos triterpénicos (matesaponinas); amins (colina, trigonelina); aminoácidos; minerales (potasio, magnesio y manganeso) y vitaminas del grupo B y vitamina C.</p> <p>Por su contenido en cafeína es utilizado tradicionalmente en la elaboración de bebidas estimulantes. De igual forma, como ocurre con otras especies, que también contienen polifenoles y bases xánticas como el té o el guaraná. La comunidad científica ha mostrado un gran interés en ellas en los últimos años, proponiendo su empleo como coadyuvantes para el control del sobrepeso y de la obesidad. Estudios farmacológicos realizados en animales han demostrado que su administración puede reducir la sobrecarga ponderal reduciendo los depósitos grasos.</p>
Naranja amargo	<i>Citrus aurantium L.</i>	<p>La corteza de naranja amarga ha sido empleada básicamente en el tratamiento de la pérdida de apetito, debido al carácter amargo de los flavonoides como el naringósido (Bruneton, 2001), en los últimos años se ha propuesto el uso de sus preparados con la finalidad de disminuir el apetito y favorecer la pérdida de peso.</p>

Té verde	<i>Camellia Sinensis</i>	Entre sus innumerables propiedades terapéuticas que le han sido atribuidas, recientemente. Los componentes mayoritarios de tipo fenólico, han demostrado en cultivos celulares y modelos de obesidad en animales reducen la proliferación y diferenciación de adipocitos y los niveles plasmáticos de triglicéridos, ácidos grasos libres, colesterol, glucosa, insulina y leptina, todo esto contribuye a la reducción del peso por disminución de la masa grasa (Moon, <i>et al</i> ; 2007). Algunos de estos ensayos (Hsu, <i>et al</i> ; 2008), sugieren su eficacia moderada en el tratamiento de la obesidad a través del incremento en el gasto energético (termogénesis posprandial) y de la oxidación de grasas (Venable, <i>et al</i> ; 2008; Boschmann, <i>et al</i> ; 2007). Que se traducen en una pérdida de peso corporal y de grasa.
-----------------	--------------------------	--

Fuente tomada de: (Ronquillo, 2011).

Capítulo 4.

Promoción de la salud y su relación con la medicina tradicional

4.1 Concepto de promoción

Etimológicamente, promoción es la acción de promover de dar a conocer, es impulsar subir de nivel, destacar, facilitar el acceso a algo, Promoción es acción (Canales, 2014).

La promoción es un conjunto de acciones articuladas y orientadas a una finalidad específica, tiene valor en diferentes ámbitos y en cualquier contexto, desde su utilización mercantil, laboral y más aún en la promoción de la salud (Canales, 2014).

4.2 Concepto de salud según la OMS

La OMS menciona que la salud es un estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades, si tomamos en consideración el aspecto social, la salud engloba conceptos más extensos que van desde la paz, cobijo, educación, alimento y trabajo entre otros.

4.3 Concepto de promoción de la salud

En 1946 el historiador alemán Henry Sigerist fue el primero en usar la palabra promoción de la salud, mencionó que “La salud se promueve proporcionando un nivel de vida decente, buenas condiciones de trabajo, educación, ejercicio físico y los medios de descanso y recreación”.

Tomando como referencia el concepto de Singerist antes mencionado puedo decir que la promoción de la salud abarca diferentes campos de acción y distintas funciones que pueden ir desde el trabajo en investigación, hasta el trabajo en comunidades.

Tabla 6.Funciones básicas de la promoción de la salud

Inciso	Función	Descripción de la función
A)	Desarrollar aptitudes personales para la Salud	La promoción de la salud proporciona información y las herramientas necesarias para mejorar los conocimientos, habilidades y competencias necesarias para la vida. Al hacerlo genera opciones para que la población ejerza un mayor control sobre su salud y sobre el ambiente, para que utilicen adecuadamente los servicios de salud. Además ayuda a que las personas se preparen para las diferentes etapas de la vida y afronten con más conocimientos las enfermedades, lesiones, y sus secuelas.
B)	Desarrollar entornos favorables	La promoción de la salud impulsa que las personas se protejan entre sí y cuiden su ambiente. Para ello, estimula la creación de condiciones de trabajo y de vida gratificante, higiénica, segura y estimulante. Además procura la protección y conservación de los recursos naturales y sea prioridad de todos.

C)	Reforzar la acción comunitaria	La promoción de la salud impulsa la participación de la comunidad en el establecimiento de prioridades, toma de decisiones, elaboración y ejecución de acciones para alcanzar un mejor nivel de salud. Asimismo, fomenta el desarrollo de sistemas versátiles que refuercen la participación pública.
D)	Reorientar los servicios de salud	La promoción de la salud impulsa los servicios del sector salud a que su función curativa trascienda y que además, ejecuten acciones de promoción, incluyendo las de prevención específica. También contribuye a que los servicios médicos sean sensibles a las necesidades interculturales de los individuos, y las respeten. Asimismo, impulsa que los programas de formación profesional en salud incluyan disciplinas de promoción y que presten mayor atención a la investigación sanitaria. Por último, la promoción de la salud aspira a ser una responsabilidad compartida entre los individuos, los grupos comunitarios y los servicios de salud.
E)	Impulsar políticas públicas saludables	La promoción de la salud coloca a la salud en

la agenda de los tomadores de decisiones de todos los órdenes de gobierno y de todos los sectores públicos y privados. Al hacerlo busca sensibilizarlos hacia las consecuencias que sobre la salud tienen sus decisiones. También aspira a propiciar que una decisión sea más fácil al tomar en cuenta que favorecerá a la salud. Asimismo promueve que todas las decisiones se inclinen por la creación de ambientes favorables y por formas de vida, estudio, trabajo y ocio que sean fuente de salud para la población.

Texto tomado de manera literal de la secretaria de salud:

<http://www.promocion.salud.gob.mx/dgps/interior1/promocion.html>

4.4 Funciones de la promoción de la salud y su relación con este estudio

Como se menciona en la (Tabla 6 en el inciso A) una de las funciones de la promoción de la salud es “proporcionar información y las herramientas necesarias para mejorar los conocimientos, habilidades y competencias necesarios para la vida. Al hacerlo genera opciones para que la población ejerza un mayor control sobre su propia salud y sobre el ambiente”, bajo esta perspectiva una de las herramientas que proporciona este trabajo es información relevante que le servirá en determinado momento a las comunidades para ampliar su conocimiento y poder tomar decisiones para mejorar su salud.

Otra de las funciones importantes de la promoción de la salud mencionadas en la (Tabla 6 inciso B) es “impulsar a las personas para que se protejan entre sí y cuiden su ambiente. Para ello estimula la creación de condiciones de trabajo y de vida gratificante, higiénica, segura y estimulante. Además procura que la protección y conservación de los recursos naturales sea prioridad de todos. En este trabajo se le da un papel importante al medio ambiente, en este caso a las plantas usadas en la medicina tradicional ya que son fuente vital para llevar a cabo este tipo de estudios.

Como se menciona en la (Tabla 6, inciso D) otra función de la promoción de la salud es “impulsar que los programas de formación profesional en salud incluyan disciplinas de promoción y que presten mayor atención a la investigación sanitaria”. Este trabajo como podemos ver tiene una orientación hacia la investigación relacionada con la salud y de cierta forma impulsa a generar nuevos programas y proyectos en donde los estudiantes de promoción de la salud puedan ejercitar las habilidades adquiridas en su proceso educativo como promotores de la salud.

4.5 Medicina tradicional

La medicina tradicional en México, abarca una amplia variedad de saberes y conocimientos, que van desde terapias con plantas, semillas y algunas prácticas terapéuticas como lo son masajes y sobadas. Las antiguas civilizaciones tenían amplio conocimiento sobre este tipo de terapias, algunas de ellas fueron plasmadas en códices, como el código *Libellus de medicinalibus indorum herbis o código De La Cruz Badiano* escrito en 1552 por un médico indígena de nombre Martín De La Cruz quien dictó

varios remedios contra las enfermedades dejando un legado importante para la medicina tradicional y la cultura, este es el primer tratado en el que se dibujan y se describe las propiedades curativas de las plantas americanas empleadas entre los mexicas (De la Cruz, 1996). Se sabe que este libro fue registrado originalmente en náhuatl y posteriormente, el xochimilca Juan Badiano traduciría al latín.

La OMS, menciona que la medicina tradicional se viene utilizando desde hace miles de años, sus practicantes han contribuido considerablemente a la salud humana. En particular, como proveedores de atención primaria de salud a nivel de la comunidad.

La medicina tradicional ha mantenido su popularidad en todo el mundo. A partir del decenio de 1990 se ha constatado un resurgimiento de su utilización en muchos países desarrollados y en desarrollo (OMS, 2014).

Actualmente con el resurgimiento de la medicina alternativa, hay un interés por rescatar los conocimientos de la medicina tradicional, que por lo general tienen los habitantes de las diferentes poblaciones en México, en ese sentido la promoción de la salud juega un papel muy importante.² Es aquí donde este trabajo toma importancia en la búsqueda de los resultados, fitoquímicos y farmacológicos que puedan demostrar la eficacia del uso de las semillas de la chía como alternativa alimentaria o terapéutica con el fin de que los pobladores de las diferentes comunidades conozcan las propiedades de las plantas para mejorar su salud.

² Promoción de la salud es un proceso que permite a las personas incrementar el control sobre su salud y mejorarla. Para alcanzar un estado de completo bienestar físico, mental y social, un individuo o grupo debe ser capaz de identificar y realizar sus aspiraciones, para satisfacer las necesidades y de cambiar o hacer frente al medio ambiente.

4.6 La importancia de la promoción de la salud en el manejo de la medicina tradicional

Respecto a lo anterior, este estudio toma valor para la promoción de la salud ya que en las comunidades nace la necesidad de conocer realmente que es lo que contienen las plantas de uso medicinal implementadas en su comunidad. A partir de este contexto el promotor de la salud funge como investigador, intermediario entre institución y comunidad en la búsqueda de resultados obtenidos de un estudio de tipo científico.

Que ayudará a las personas a resolver los tabús y misterios de la medicina tradicional esto sin menos preciar las prácticas y conocimientos de los pobladores de las diferentes comunidades atendiendo así a una demanda de las comunidades por obtener mayor conocimiento de las plantas que se emplean en sus poblaciones.

Capítulo 5.

Justificación

Ante el desarrollo tecnológico actual, el estilo de vida de la población ha cambiado, ya que, las personas tienden a un mayor sedentarismo y altos niveles de ansiedad, lo cual conlleva a un aumento de la ingesta alimentaria. El resultado final de estos factores es el incremento en sobrepeso y obesidad.

Hoy en día en México existen graves problemas de salud como: obesidad, hipertensión diabetes y diversas formas de cáncer; de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012 (ENSANUT, 2012); En México 7 de cada 10 adultos presentan sobrepeso, de estos la mitad presentan obesidad, lo que nos ubica en primer lugar a nivel mundial, esto es alarmante por que deriva en enfermedades crónicas degenerativas como: diabetes, hipertensión, osteoartritis y algunas formas de cáncer.

La obesidad es una enfermedad que pone en riesgo la vida de las personas debido a la correlación que existe con padecimientos relacionados con el síndrome metabólico, este hecho genera preocupación por su alta prevalencia en nuestro país (Gutiérrez, *et al*; 2012). Por ello, se están buscando medicamentos que disminuyan el problema de esta enfermedad sin tener efectos secundarios en las personas.

Una alternativa para tratar el problema de la obesidad es la de búsqueda de compuestos químicos provenientes de la naturaleza. Durante la historia de la humanidad, las plantas han demostrado ser una fuente importante de moléculas terapéuticas. En el caso de la

chía (*Salvia hispánica* L.) solo se conocen sus propiedades nutraceuticas³ de forma empírica, pero creemos que al realizar un estudio fitoquímico y farmacológico de la semilla de esta planta encontraremos información importante, que permitirá realizar estudios posteriores, los cuales demuestren que la semilla de la chía es una alternativa terapéutica, con un efecto en la saciedad, por lo que podría ser empleada como fármaco o alimento en el tratamiento de distintos padecimiento como lo es la obesidad.

³ El término NUTRACÉUTICO fue acuñado desde “nutrición” y “farmacéutico” en 1989 por el Dr. Stephen DeFelice, Presidente de la Fundación para la Innovación en Medicina (Foundation for Innovation in Medicine, FIM), en Cranfor, Nueva Jersey, Estados Unidos.

El Dr. DeFelice definió la Nutraceutica como “un alimento o parte de un alimento que proporciona beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención y/o el tratamiento de enfermedades”.

Capítulo 6.

Objetivos

6.1 Objetivo general

Caracterizar de forma fitoquímica y farmacológica la semilla de la chía (*Salvia hispánica* L.)

6.2 Objetivos particulares

- a) Determinar los componentes químicos principales de tres extractos obtenidos de la semilla de la chía (hexano, acetato de etilo y metanol)
- b) Evaluar el contenido químico cuantitativo de flavonoides totales y fenoles totales
- c) Conocer de manera cuantitativa el contenido de ácido cafeico y clorogénico
- d) Evaluar el efecto tóxico en el modelo de *Artemia salina*
- e) Cuantificar el efecto en el crecimiento de un extracto acuoso en un modelo *in vivo* en ratas macho Wistar para tratar de medir el efecto de saciedad de manera indirecta.

Capítulo 7.

Diseño del estudio de la semilla de la chía (*Salvia hispánica* L.)

El estudio de la chía se realizó en dos etapas. Primera etapa obtención de extractos. Se prepararon los extractos de la semilla de chía (*Salvia hispánica* L.) por maceración directa en tres solventes con polaridad diferente de manera paralela, para llevar a cabo la evaluación fitoquímica cualitativa y cuantitativa.

1. Evaluación cualitativa:

Determinar la presencia de los principales grupos químicos: a) Alcaloides, b) Antraquinonas, c) Cumarinas volátiles, d) Saponinas, e) Taninos

2. Evaluación cuantitativa:

Evaluación del contenido total de flavanoides y fenoles y medición de dos de ellos, ácido cafeico y ácido clorogénico.

Segunda etapa. Consistió en llevar a cabo la evaluación farmacológica de la semilla de la chía (*Salvia hispánica* L.) en diversos modelos:

- a) *In vitro*. Evaluar el efecto tóxico en el modelo de *Artemia salina*
- b) *In vitro*. Determinar la capacidad antioxidante empleando el método del DPPH y ABTS⁺
- c) *In vivo*. Análisis del crecimiento de ratas de la cepa Wistar en un periodo de 23 días

Capítulo 8.

Material y métodos

Reactivos orgánicos e inorgánicos

1. Acetato de Etilo ($C_4H_8O_2$) J.T Baker
2. Ácido cafeico (SIGMA-ALDRICH)
3. Acuamar de Artemia Franciscana (Eclósión azul)
4. Agua destilada (Aqua tonx)
5. Carbonato de Sodio monohidratado (Química Meyer)
6. Diclorometano (TEDIA)
7. 2,2-difenil-1-picrilhidracil (Sigma-Aldrich)
8. Dragendorff (TLC Reagent – Whatman)
9. Hexano (C_6H_{14}) J.T Baker
10. Metanol (CH_3OH) J.T Baker
11. Papel Whatman4
12. Placas de silica gel (TLC silica gel 60 F 254 MERCK)
13. Parafilm (Mis “M” Pechiney Plastic packaging)
14. Reactivo de Folin–(Ciocalteu)
15. Sal marina (Oceanic)

Material de laboratorio

1. Agitador magnético (CIMAREC- Thermo científico)
2. Báscula granataria (OHAUS)
3. Báscula digital (OHAUS Adventurer)
4. Bomba de aire para pecera con manguera (Elite)
5. Bulbo para pipetear Pasteur
6. Cámara UV (UVM-57-entela-Uplond, CA91786 USA)
7. Campana de extracción (Equipar)
8. Charolas de pesaje
9. CLAR (Agilent Modelo 1260 acoplado a dos detectores; índice de refracción y Ultravioleta Visible)
10. Crisol
11. Cuchara de plástico
12. Desecador con sílice gel
13. Embudo (Kimax)
14. Eppendorf con punta azul (research)
15. Espátula
16. Espectrofotómetro (Equipar, Modo. Genesys 10Vis)
17. Gradilla
18. Matraz Erlenmeyer (kimax)
19. Microondas (mabe)
20. Mufla (Felisa)
21. Parrilla (Thermolyne)
22. Perlas de ebullición
23. Pipeta (Biohit mod. 10047872)
24. Pipeta Pasteur
25. Recipiente de metal para baño María
26. Refrigerador (Mabe)
27. Rotavapor (R-3 Buchi-Equipar)
28. Soporte universal con aro metálico
29. Termómetro (Brannan)
30. Tubos de ensayo de (Bomex)
31. Vasos de precipitado (Bomex, Pyrex, Kimax)
32. Viales (Equipar)

8.1 Obtención del material biológico

Se consiguió la semilla de la chía en el estado de Puebla, después se mandó a moler para obtener harina y poder hacer los extractos en los tres diferentes solventes.



Fuente: Propia

Figura 3. Harina de chía (*Salvia hispanica* L.)

8.2 Estudio fitoquímico cualitativo

Las pruebas específicas para la determinación de grupos de metabolitos secundarios se llevaron a cabo con los extractos de chía seleccionados y a través de las técnicas espectrofotométricas y cromatográficas reportadas por Domínguez (1988). Los extractos se obtuvieron colocando 40 g de harina de chía en cada uno de los solventes seleccionados, metanol, acetato de etilo y hexano de manera paralela. El material en maceración se mantuvo durante 10 días a temperatura ambiente. El extracto se separo por filtración y se concentró a presión reducida empleando un rotavapor. Las pruebas para determinar los metabolitos secundarios fueron las siguientes:

8.2.1 Determinación de alcaloides

Alcaloides: Para la detección de alcaloides se utilizó la técnica de cromatografía en capa fina; en una placa de silica gel de 3 x 5 cm se colocó una marca del extracto de metanol. Posteriormente se eluyó en un sistema de soluciones dicloro-metanol 96:05. Ya eluída la placa se reveló con el reactivo Dragendorff. La presencia de alcaloides se tiñe de color rojo a naranja. (Peña, 2014).

8.2.2 Determinación de antraquinonas

Antraquinonas: Para la detección de antraquinonas se utilizó la técnica de cromatografía en capa fina; en una placa de sílica gel de 3 x 5 cm se colocó una marca del extracto de metanol. Posteriormente se eluyó en un sistema de soluciones dicloro-metanol 96:05.

Ya seca la placa se introdujo a una lámpara UV y se observó, si ésta presentaba color amarillo o rojo marrón, se confirmaba la presencia de antraquinonas.

8.2.3 Determinación de cumarinas volátiles

La identificación de cumarinas volátiles se realizó a partir de la técnica de reacción en tubo: en un tubo de ensayo se colocaron 2 mg de extracto y 10 mL de agua destilada; exponiéndolo a una temperatura de 100 °C, tapado con un trozo de papel filtro humedecido con una solución de sosa (1 g) con agua (5 mL). Después de exponer el extracto durante cinco minutos a 100°C, se retiró el papel filtro y se expuso a la lámpara de luz UV. La fluorescencia amarilla indicó que el extracto tenía presencia de cumarinas volátiles (Peña, 2014).

8.2.4 Determinación de saponinas

Se utilizaron 2 mg de extracto. A cada extracto se le agregaron 10 mL de agua destilada, se colocaron en una parrilla, por un periodo aproximado de 25 minutos, hasta que alcanzó la ebullición, después se dejaron enfriar y posteriormente se agitaron y dejaron reposar. Finalmente se observó si existía la presencia de espuma, pues es el indicador de la existencia de saponinas (Peña, 2014).

8.2.5 Determinación de taninos

Para identificar la presencia de taninos se prepararon los reactivos a, b y c de precipitación.

a) Se preparó una solución al 1 % de gelatina en agua destilada; para lo que se utilizó 1 g de gelatina y 10 mL de agua destilada.

b) Se utilizó 0.1 g de gelatina, 1 g de cloruro de sodio y 10 mL de agua destilada.

c) Se preparó una solución al 10 % de cloruro de sodio en agua destilada: 1 g de cloruro de sodio en 10 mL de agua destilada.

Una vez preparadas las soluciones en un tubo de ensayo, se observó si había presencia de precipitado blanco en A y B, si lo había, el resultado era positivo para la prueba de taninos (Peña, 2014).

8.3 Estudio fitoquímico cuantitativo

8.3.1 Determinación de flavonoides totales

Se pesaron 40 g de harina de chía y se disolvieron en 300 mL de metanol para llevar a cabo la maceración, posteriormente el filtrado se concentró a presión constante empleando un rotavapor. Del extracto obtenido se evaluó el contenido de compuestos flavonoides totales por método descrito por Chang y colaboradores. Se colocaron 0.05 mL de extracto, 1.5 mL de etanol, 0.1 mL de cloruro de aluminio al 10% (p/v), 0.1 mL de acetato de potasio 1 M y 2.8 mL de agua destilada, una vez colocado todos los reactivos se dejó incubar durante 30 minutos y se leyó a 415 nm de absorbancia. Una vez que entró dentro del rango especificado de absorbancia (0.3 y 0.8 nm) se realizaron dos repeticiones para verificar los resultados (Peña, 2014).

El contenido total de flavonoides se reportó como equivalentes de quercetina (EQ) en mg/mL de extracto de las plantas, para ello se realizó una curva patrón donde se utilizó

una solución stock conformada por 1 mg de quercetina en 10 mL de etanol. En cada tubo se colocaron 0.80, 0.60, 0.40, 0.20, 0.10 mL de solución stock y se complementó 1 mL con agua destilada. Cada uno de estos ensayos se realizó por triplicado (Peña, 2014).

8.3.2 Determinación de fenoles totales

Se pesaron 40 g de harina de chía y se disolvieron en 300 mL de metanol para llevar a cabo la maceración. Posteriormente, el filtrado se concentró a presión constante empleando un rotavapor. Del extracto obtenido se evaluó el contenido de compuestos fenólicos totales mediante el reactivo de Folin–Ciocalteu mediante la técnica descrita por Singleton y Rossi, 1965. Se utilizó 0.005 g del extracto hidroalcohólico de las diferentes plantas a trabajar diluido en 2 mL de metanol, se mezcló con 1 mL del reactivo de Folin–Ciocalteu (previamente diluido con agua a 1:10 (v/v) y se incubó por 1 min antes de adicionarle 0.8 ml de una solución de carbonato de sodio (7.5% p/v) en agua destilada. La mezcla de reacción se incubó por 1h a temperatura ambiente antes de leer la absorbancia a 765 nm. Es importante que el método se considere lineal en un rango de absorbancias de 0.4 a 0.8. El contenido total de compuestos fenólicos totales se reportará como equivalentes de ácido gálico (EAG) en mg ml^{-1} de extracto de las plantas (Parra, 2014).

8.3.3 Determinación de ácido cafeico y ácido clorogénico mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR)

Se pesaron 20 g de harina de chía, se agregaron 200 mL de hexano en cada muestra para desengrasar por un tiempo de 6 horas, una vez pasado este proceso la muestra se filtro para obtener la harina desengrasada. A la harina desengrasa se les agregó 125 mL de etanol para ser maceradas durante 2 hrs a temperatura ambiente, se recuperó el solvente y se concentró a presión constante para obtener un extracto rico en componente de polaridad alta del cual se tomaron 20 μ L para inyectar al Cromatografo de Líquidos de Alta Resolución. Para la Cromatografía de líquidos de Alta Resolución (CLAR), se utilizó un equipo CLAR Agilent acoplado a un detector de luz ultravioleta visible para obtener el patrón químico, como fase móvil se utilizaron una mezcla de agua y ácido acético (0.1% v/v) (a) y acetonitrilo (d) en una proporción inicial de 85 y 15%, respectivamente (Pellati, 2011). Se trabajó con un gradiente de elución, disminuyendo gradualmente la polaridad de la fase móvil (Peña, 2014).

8.4 Estudio farmacológico

8.4.1 Determinación de la capacidad antioxidante empleando DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil)

La determinación de la capacidad antioxidante se basó en la evaluación de la capacidad del extracto hidroalcohólico de las plantas para secuestrar radicales libres de cuerdo al método descrito por Brand-Williams y colaboradores (Brand, *et al*; 1995). Que

consistió en preparar una solución de DPPH⁴ (2,2-difenil-1-picrilhidracil) en metanol con 12 mg de DPPH en 50 mL de metanol a la cual denominamos solución stock. Posteriormente, se utilizó una dilución 1:5 la cual es nombrada solución diaria. Una vez estandarizando la absorbancia⁵ de la solución diaria a 1.1 nm (nanómetros), se comenzó a trabajar con las muestras. El extracto vegetal se pesó y se disolvió también en metanol, de la cual solo se utilizaron 50 µL del extracto hidroalcohólico y 950 µL de la solución de DPPH 0.1 mM para cada reacción, el ensayo se realizó por triplicado. La capacidad antioxidante se determinó mediante el decremento de la absorbancia a 515 nm. Los resultados se reportaron como la capacidad antioxidante equivalente del ácido ascórbico mM mL⁻¹ del extracto hidroalcohólico (CAEAA) del cual ya existe un estándar. Se realizó una curva patrón, donde se colocó 40, 80, 120, 160, 200, 240 y 280 mL de volumen tomados de una solución de 0.011 g de ácido ascórbico en 25 mL de agua destilada; a estas concentraciones se les aplicó el método descrito por Brand-Williams descrito anteriormente (Peña, 2014).

8.4.2 Determinación de la capacidad antioxidante por el método de ABST⁺

Se preparó una solución de ABTS (Ácido 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico) con persulfato de potasio en 100 mL de agua desionizada y se dejó reaccionar durante 16 horas. Posteriormente se ajustó el pH de esta solución a 7.4 con amortiguador PBS 1X y se ajustó la absorbancia a 0.7, utilizando agua destilada como

⁴ El radical DPPH es estable y con él se mide la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidante. La reacción química consiste en que el radical libre DPPH sustrae un átomo de hidrogeno proveniente de un donador (compuesto químico puro o extracto), ya que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante al disminuir la concentración del radical libre (Muñoz, 2007.; Peña, 2014).

⁵ Es el logaritmo de la transmitancia (medida directa de la intensidad de la luz que atraviesa una dilución).

blanco. La mezcla de reacción constó de 100 μL de la respectiva dilución de cada extracto de chía y 1 mL de ABTS y se determinó a 734 nm. Tanto para DPPH como ABTS, los resultados se reportaron como la capacidad antioxidante equivalente de Trolox mM mL^{-1} del extracto hidroalcohólico (CAET).

8.4.3 Toxicidad en el modelo de *Artemia Salina*

Se pesan los quistes de *Artemia salina*⁶ (200 mg) se desinfectaron utilizando una solución de hipoclorito al 1%, (v/v), después fueron depositados en un contenedor de 20 x 20 x 30 cm con 250 mL de agua salada (20 g L^{-1} de sal de mesa), se incubaron a 37 ° C durante 24 h. Diez nauplios de *Artemia salina* se colocaron a continuación en tubos de 15 mL y se le adicionó el extracto a 48 h (García, *et al*; 2009). Los extractos fueron evaluados a cinco concentraciones diferentes (100, 10, 1, 0,1, 0,01 mg/mL). Se contaron el número de nauplios muertos a las 24 horas. Se calculó la proporción porcentual de letalidad empleando la fórmula: (nauplios muertos/número total de nauplios) x 100. El estudio se efectuó por triplicado (García, *et al*; 2009; Peralta *et al.*, 2013).

8.4.4 Seguimiento del crecimiento en ratas macho de la cepa Wistar

El uso de un modelo animal nos ayuda a evaluar la calidad de los extractos, así como, la toxicidad de los mismos, en este estudio se preparó un extracto de chía (*Salvia hispánica* L.), acuoso que consistió en disolver 1/2 g de harina de chía en 700 mL de

⁶ La *Artemia salina* es un tipo de crustáceo pequeño de agua salada. Se utiliza para detectar compuestos secundarios con actividad biológica relevante (Pino, 2010; Arellano, 2013). Ensayo de Artemia: útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. *Protección veg.*, 22 (1), 38.

agua, esta solución se administró durante 23 días del experimento, para este estudio se formaron dos grupo de 9 ratas macho Wistar de aproximadamente 40 g de peso de 20 días de haber sido destetadas, al primer grupo se le administró una solución 0.714 de extracto de chía *ad libitum* y se comparó con el segundo grupo que solo se le administró agua, en ambos grupos el consumo de alimento fue de manera libre.

Las ratas fueron mantenidas en el bioterio de la UAM Iztapalapa en jaulas individuales de polipropileno, con una capa de aserrín a una temperatura constante ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e iluminación controlada, ciclo claro-oscuro 12/12h, recibiendo alimento para roedor, durante todo el experimento se monitorearon diariamente, cada 24 hr se registró el peso de cada rata, se midió y registro el consumo de alimento y de agua consumido por cada grupo, también se cambió el extracto de chía diariamente, se verifico el estado de salud de cada rata, tomando como indicadores el color de ojos y el estado del pelaje (Lenzi de Almeida, *et al*; 2008).

Capítulo 9.

Resultados y discusión

9.1 Estudios fitoquímicos y comparación con otros datos de la literatura

9.1.1 Estudio cualitativo determinación de alcaloides, antraquinonas, cumarinas volátiles, saponinas y taninos

Los resultados obtenidos de la caracterización fitoquímica de la semilla de la chía arrojaron los resultados expuestos en la (Tabla 7), donde encontramos la presencia diferenciada de los grupos químicos analizados, por ejemplo podemos observar una mayor presencia de alcaloides en la fracción de hexano, lo que nos indica que pertenecen a grupos de alcaloides de polaridad baja, este tipo de compuestos son insolubles en agua, solubles en éter y contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula, la mayoría de ellos son heterocíclicos aunque algunos son compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos) como la mescalina o la colchicina. Es importante mencionar, que este tipo de compuestos se encuentran en aproximadamente el 20% de las plantas vasculares, la mayoría dicotiledóneas herbáceas sobresaliendo las Solanáceas. Entre las propiedades farmacológicas que se les han asociado en humanos en su mayoría se relacionan con el sistema nervioso central (Ávalos, *et al*; 2009).

En cuanto al contenido de antraquinonas observamos de dos tipos: las de polaridad baja y las de polaridad alta esto por encontrarse solo en las fracciones de hexano y metanol, entre las antraquinonas más comunes en la literatura encontramos las derivadas de compuestos fenólicos que incluyen una amplia variedad de propiedades farmacológicas

como antifúngicas, antimicrobianas, anticancerígenas, antioxidantes y recientemente se han asociado con propiedades analgésicas (Gracia, 2007), estas últimas se obtienen en la fracción polar, mientras que en la fracción no polar podemos estar observando algunos compuestos capaces de absorber en la longitud de onda estudiada.

Las antraquinonas al igual que las cumarinas y los taninos derivan de la ruta del ácido Shikimico. En este estudio solo encontramos la presencia de taninos en la fracción de polaridad alta, esto posiblemente debido al alto contenido de grupos hidroxilos presentes en este tipo de compuestos, mientras que no observamos cumarinas en ninguna de las fracciones.

Finalmente, algo interesante fue el alto contenido de saponinas encontrados en la fracción polar, esto debido a que la maceración se llevó a cabo de manera paralela y no secuenciada esto permitió que se extrajera la grasa en forma coloidal.

Entre las saponinas más comunes en la literatura encontramos los glicósidos esteroideos, o triterpenos, estos últimos son esteroides que contienen una o más moléculas de azúcar en su estructura y algunos de ellos son utilizados en la industria de alimentos. Una de las propiedades biológicas asociadas frecuentemente a las saponinas es la capacidad de romper membranas celulares una vez incorporadas al torrente sanguíneo (Gracia, 2007).

Tabla 7. Resultados obtenidos del estudio fitoquímico de la semilla de la chía (*Salvia hispánica* L.)

Análisis fitoquímico			
<i>(Salvia hispánica L.)</i>			
Metabolito secundario	Hexano (C ₆ H ₁₄)	Acetato de etilo (C ₄ H ₈ O ₂)	Metanol (CH ₃ OH)
Alcaloides	+++	++	+
Antraquinonas	+++	++	+++
Cumarinas	-	-	-
Taninos	-	-	+++
Saponinas	-	-	++
No se observó presencia - Escasa + Moderada ++ Abundante +++			

9.1.2 Análisis del estudio fitoquímico cuantitativo

9.1.2.1 Contenido de flavonoides y fenoles totales

En la tabla (Tabla 8) se encontró que el contenido de flavonoides totales en la semilla de la chía es de 1.026 ± 0.23 un valor distinto a lo reportado en el trabajo de Peña en el (2014), donde obtuvo un valor de 268 ± 6 dicha diferencia puede deberse a que en su trabajo utilizó la parte aérea, lo cual da correspondencia ya que la mayor parte de estos compuestos se encuentran en hoja.

En cuanto a los fenoles totales la cantidad se reportan en la (Tabla 8). Es importante señalar que la capacidad antioxidante para estos sistemas tienen una relación directa con

el contenido total de fenoles, no encontrando capacidad antioxidante por los métodos *in vitro* evaluados.

9.1.2.2 Determinación de la presencia de algunos metabolitos con actividad antioxidante como son el ácido cafeico y clorogénico

Con respecto a la medición de algunos metabolitos relacionados con las propiedades antioxidantes como son el ácido cafeico y el clorogénico, observamos la presencia de dichos compuesto en la semilla de chía empleando la técnica de CLAR (Figura 4). Al hacer una comparación con los resultados obtenidos por Peña-Miranda en 2014 observamos que reporta un valor de 2.0 ppm en el contenido ácido cafeico, diferente a la cantidad encontrada en este trabajo que es < a 1 ppm (Figura 4, Tabla 8), esta diferencia se pueda deber a que en el trabajo de Peña se trabajo con una especie colectada en Ameca mientras que en nuestro caso se trabajo con una muestra de Puebla, además es importante mencionar que en el trabajo de Peña se empleo toda la parta aérea de las Plantas. En cuanto al contenido de ácido clorogénico no encontramos presencia de este compuesto en ninguno de los extractos evaluados.

Tabla 8. Estudio de ácido cafeico, ácido clorogénico, fenoles totales, flavonoides totales de los extractos de la semilla de la chía (*Salvia hispánica* L.)

Extracto de la semilla de la chía (<i>Salvia hispánica</i> L.)			
Ácido cafeico en (ppm)	Ácido clorogénico en (ppm).	Fenoles totales	Flavonoides totales
< a 1ppm	No disponible	612.35±23.77^a	1.026±0.23^b

a, miliequivalentes de ácido gálico por mL.: b, miliequivalentes de quercetina por mL

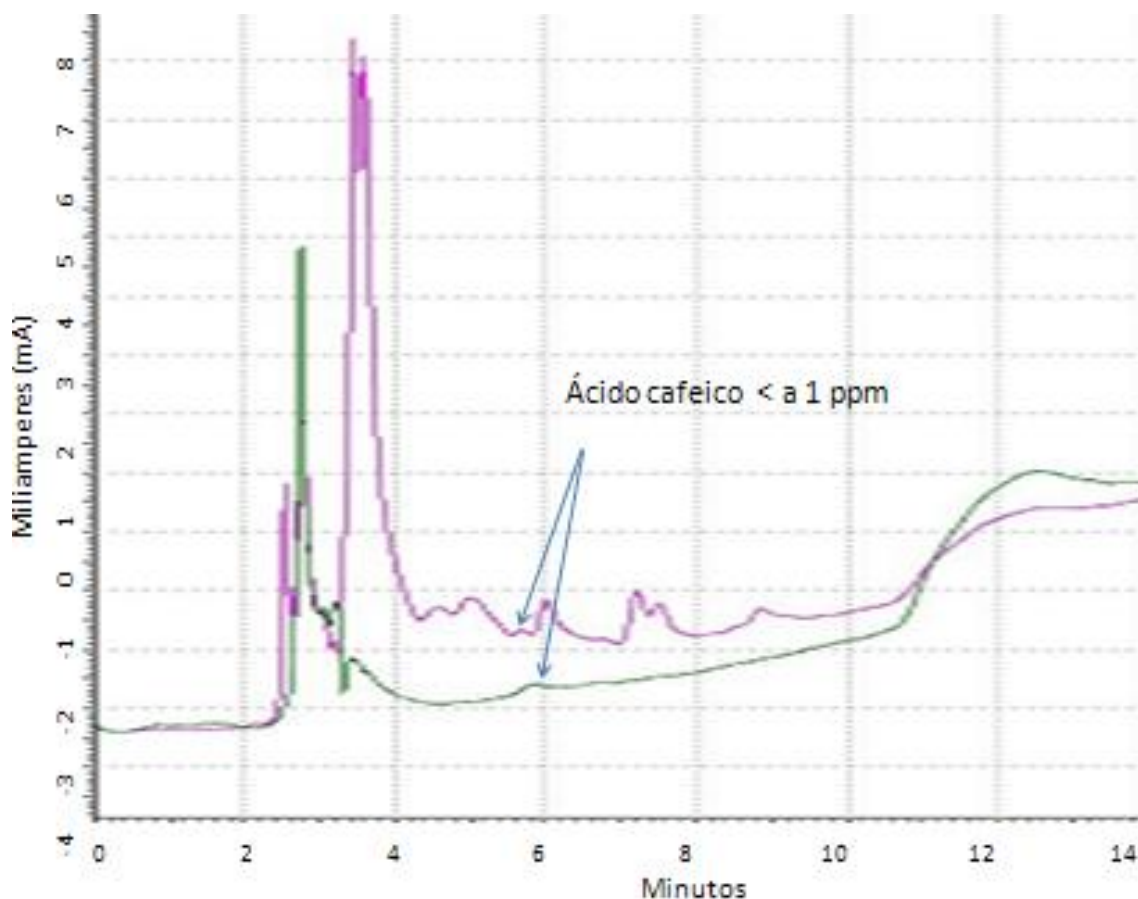


Figura 4. Presencia de ácido cafeico en la semilla de chía (*Salvia hispánica L.*)

9.2 Análisis farmacológico

9.2.1 Capacidad antioxidante

En cuanto a la capacidad antioxidante del extracto metanolico esta se midió por dos métodos *in vitro* encontrando en ambos casos la absorbancia que corresponden a valores inferiores al último punto de calibración de la curva, lo que indica una capacidad antioxidante despreciable en semilla, sin embargo en un trabajo previo en el laboratorio se encontró una capacidad antioxidante cerca de 2.0 miliequivalente de ácido ascorbico por gramo de extracto.

9.2.2 Toxicidad en el modelo de *Artemia salina*

La toxicidad del extracto de semilla de chía (*Salvia hispánica L.*) se midió en el modelo de *Artemia salina* el cual se correlaciona con tóxicos presentes, indicando en el rango

evaluado de 0 a 500 ppm no se encontró ningún efecto tóxico al compararse con los controles, lo que indica la inocuidad del extracto de chía en este modelo (Tabla 9), ya que se consideran los extractos tóxicos cuando la concentración inhibitoria cincuenta se encuentra por debajo de 100 ppm.

Tabla 9. Letalidad de la semilla de la chía (*Salvia hispánica* L.) en el modelo de *Artemia salina*

Evaluación Farmacológica (Modelo de <i>Artemia Salina</i>)			
	(<i>Salvia hispánica</i> L.) en acetato de etilo (C ₄ H ₈ O ₂)	(<i>Salvia hispánica</i> L.) en metanol (CH ₃ OH)	(<i>Salvia hispánica</i> L.) en hexano (C ₆ H ₁₄)
CL ₅₀ (<i>Artemia Salina</i>)	>500 ppm	>500 ppm	>500 ppm
ppm: partes por millón.			
CL₅₀: Concentración Letal 50			

9.2.3 Análisis del efecto de los extractos de chía (*Salvia hispánica* L.) en el crecimiento de rata macho de la cepa Wistar

Los resultados encontrados indicaron que los ratones que consumen el extracto de la semilla de chía tuvieron una tendencia de crecimiento similar con respecto al control como se observa en la Figura 5, esta tendencia similar en la ganancia de peso no concuerda con la disminución esperada en los animales tratados, atribuida al efecto en la saciedad por la semilla de chía, tampoco se observaron cambios en el consumo de alimento y soluciones (Figura 6 y 7; Tabla 10, 11).

En conclusión estos datos indican que el extracto de semilla de chía a la concentración empleada tuvo un efecto similar a las ratas no tratadas no observando el efecto de saciedad.

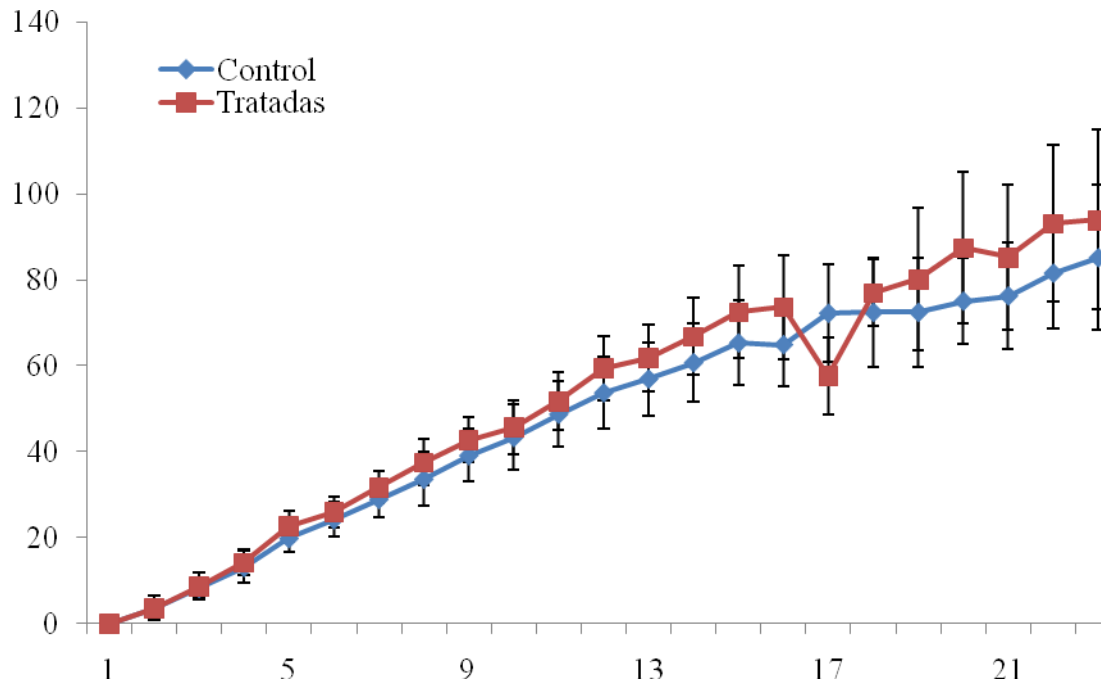


Figura 5. Crecimiento ponderal promedio de 9 ratas Wistar por grupo durante 23 días de estudio

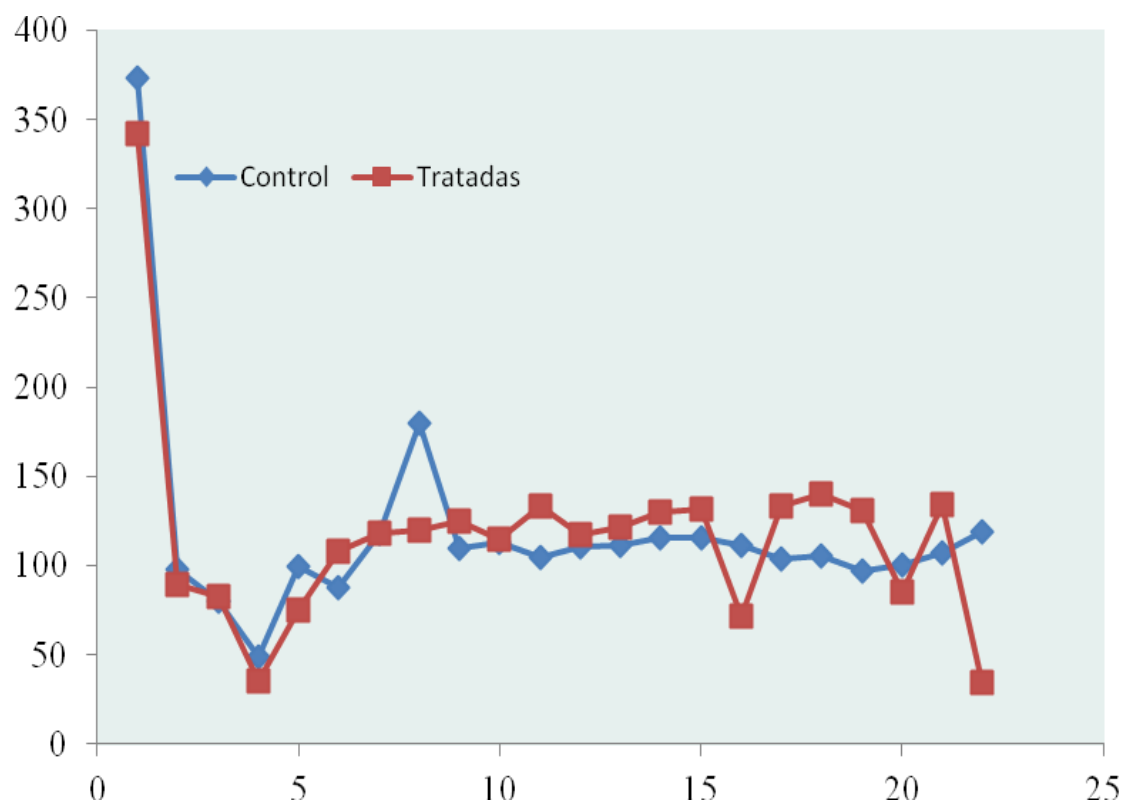


Figura 6. Alimento consumido en gramos por grupo de 9 ratas Wistar, durante 23 días de estudio

Tabla 10. Análisis estadístico del alimento consumido, durante 23 días de estudio

a) Valores

Día	$\mu_1 = \text{Chía (Salvia hispánica L.)}$	$\mu_2 = \text{Control}$
2	89	98
3	83	80
4	35	49
5	75	100
6	108	88
7	118	118
8	120	180
9	125	110
10	115	113
11	134	108
12	117	110
13	121	112
14	130	116
15	131	116
17	133	104
18	140	106

b) Estadística descriptiva

N	16	16
Media	111	107
Mediana	119	109
Moda	88	115
S²	763	686
S	28	26
%C. V	25	25

c) Estadística inferencial ($\mu_1 = \mu_2$)

La prueba F preliminar no permitió rechazar la hipótesis de las varianzas son iguales

Estadístico = t: 0.4187

Valor crítico = t: ± 2.04227 ; P-Valor = 0.6784; n-2 = 30;

$-15.50876 < \mu_1 - \mu_2 < 23.50876$ Imposible rechazar la hipótesis nula.

Para el análisis estadístico del alimento consumido se eliminaron los puntos que salen de la tendencia por pares de la gráfica para eliminar el error experimental

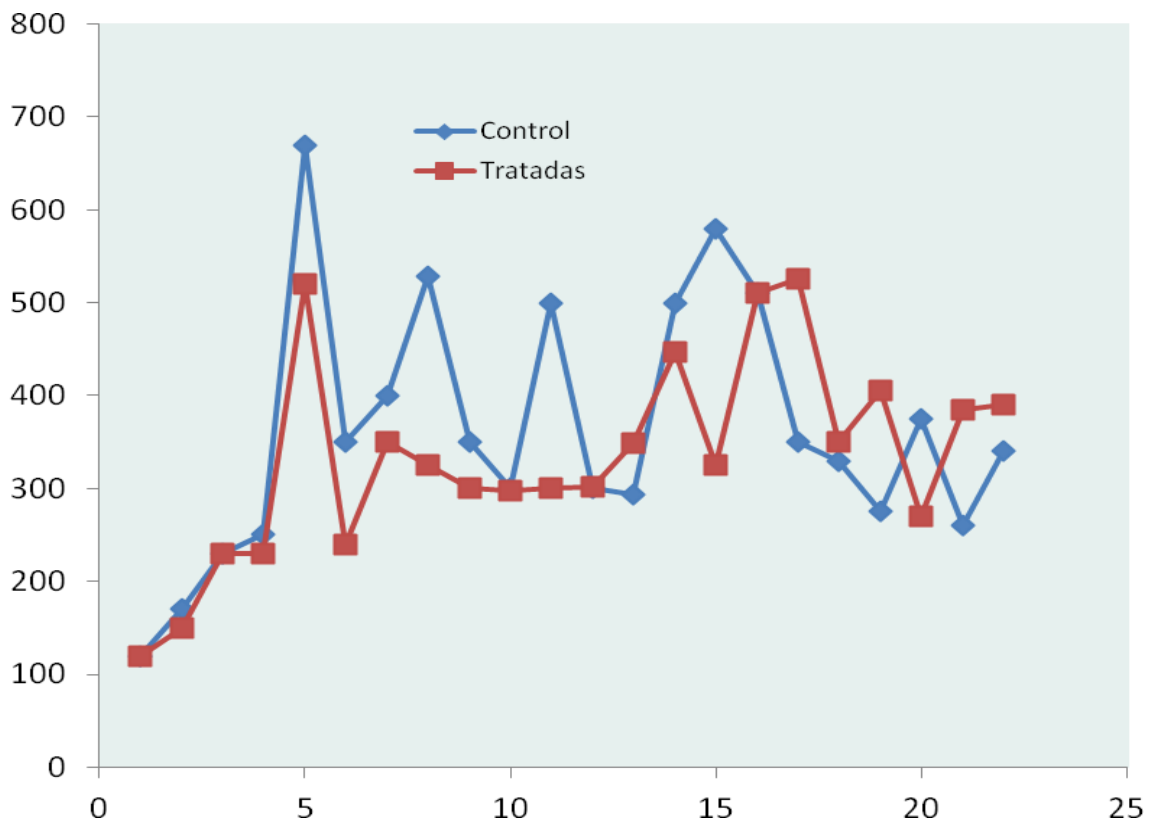


Figura 7. Solución consumida en mililitros por grupo de 9 ratas Wistar, durante 23 días de estudio

Tabla 11. Análisis estadístico de las soluciones consumidas, durante 23 días de estudio

a) Valores		
Día	$\mu_1 = \text{Chía (Salvia hispánica L.)}$	$\mu_2 = \text{Control}$
1	120	120
2	170	150
3	230	230
4	250	230
5	670	520
6	350	240
7	400	350
8	529	325
9	350	300
10	300	297
11	500	300
12	300	302
13	293	349
14	499	447
15	580	325
16	510	325
17	350	525
18	330	350
19	275	405
20	375	270
21	260	385
22	340	390
b) Estadística descriptiva		
N	22	22
Media	363	324
Mediana	345	325
Moda	395	323
S²	18541	10117
S	136	101
%C. V	38	31
c) Estadística inferencial ($\mu_1 = \mu_2$)		
La prueba F preliminar no permitió rechazar la hipótesis de las varianzas son iguales		
Estadístico = t: 10798		
Valor crítico = t:± 2.01808 P-Valor = 0.2864; n-2 = 42;		
Imposible rechazar la hipótesis nula		

9.3 Importancia de los resultados en el desarrollo de la Licenciatura de Promoción de la Salud

Con los resultados obtenidos de este trabajo se abre un campo de estudios fértil para los promotores de salud que se encuentren interesados en adquirir nuevos conocimientos relacionados con la investigación ya sea en el laboratorio empleando técnicas químicas o promoviendo la medicina tradicional con un sustento científico.

Uno de los resultados que se considera relevante al hacer el estudio en un modelo animal es que no se observó un crecimiento y desarrollo distinto en ambos grupos de ratas, por lo que la chía se puede proponer como suplemento en una dieta para la población en general.

Sabemos que la promoción de la salud es multidisciplinaria y este es una disciplina más en la que un promotor de la salud se puede desempeñar.

Capítulo 10.

Conclusiones

a) Estudio fitoquímico

El estudio fitoquímico cualitativo reveló mayor presencia de alcaloides, antraquinonas y saponinas por lo que la semilla de la chía es un candidato a estudios para la búsqueda de nuevas estructuras con actividad biológica. Al inyectar el extracto desengrasado en un equipo CLAR se encontró ácido cafeico en una concentración < 1 ppm y no encontramos presencia de ácido clorogénico.

b) Estudio farmacológico

En el estudio de toxicidad encontramos que la semilla de chía no tuvo efectos tóxicos sobre el modelo de *Artemia salina*. Por lo que, se pudo emplear en modelos animales superiores como lo son los ratones de la cepa Wistar.

Por último, con lo que respecta al modelo animal implementado en ratas macho de la cepa Wistar, no se observaron cambios significativos en el crecimiento ponderal, consumo de alimento y soluciones, por lo cual los resultados de este trabajo no apoyan la hipótesis del efecto saciante de la chía, hacen falta realizar otros estudios con semillas de chía para poder determinar si se puede usar para disminuir enfermedades como la obesidad.

Capítulo 11.

Perspectivas

Este trabajo genera un nuevo conocimiento que da pie a realizar nuevas investigaciones que deriven en una dieta adecuada en donde se pueda recomendar esta semilla como un suplemento alimentario que ayude a mejorar el estado nutricional, de las personas, estas nuevas líneas pudieran ser:

- Evaluar y contrastar el aumento de peso en un tiempo mayor a 20 días
- Realizar el estudio en un modelo de dieta hipercalórica en ratas obesas
- Realizar el estudio en un modelo de ratas diabéticas
- Analizar el contenido de proteína presente en el extracto acuso de chía y correlacionarlo con la ganancia de peso
- Analizar niveles de lípidos

Referencias

Revistas de investigación consultadas

- Ávalos, A; Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2(3): 119-145.
- Boschmann, M.; Thielecke, F. (2007). The effects of epigallocatechin-3-gallate on termogénesis and fat oxidation in obese men. *J Am Coll Nutr.* 26(4): 389S-395S.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie.* (28): 25-30.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales.* 2.^a ed. Ed. Acribia. Zaragoza.
- Cáceres, A. (2005). Desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales nativas y producción de fitoterápicos en Centro América. *Rev. Cubana Plant Med. Suplemento Especial.* 2(1): 124-136.
- Cahill, J.P. (2003). Ethnobotany of chia, *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae). *Economic Botany.* 57(4): 604-618.
- Galisteo, M.; Sánchez, M.; Vera, R.; González, M.; Anguera, A.; Duarte, J.; Zarzuelo, A. (2005). A diet supplemented with husks of *Plantago ovata* reduces the development of endothelial dysfunction, hypertension, and obesity by affecting adiponectin and TNF-alpha in obese Zucker rats. *J Nutr.* 135(10): 2399- 2404.
- García-Ocón, B.; Díaz, R.; Mendoza-Espinoza, J.A. (2009). Importancia del bioensayo de *Artemia salina*. *Aleph Zero.* (52): 1.
- Gracia-Nava, M.A. (2007). Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. *Universidad Autónoma de Querétaro, México.*

- Hernández-Gómez, J.; Miranda-Colín, S.; Peña-Lomelí, A. (2008). Cruzamiento natural de Chía (Salvia hispanica L). *Revista Chapingo Serie Horticultura.* 14(3): 331-337.
- Hernández-Gómez, J.; Miranda-Colín S. (2008). Caracterización morfológica de chíá (Salvia hispanica). *Revista Fitotecnia Mexicana.* 31(2): 105-113.
- Hsu, C.H.; Tsai, T.H.; Kao, Y.H.; Hwang, K.C.; Tseng, T.Y; Chou, P. (2008). Effect of green tea extract on obese women. *Clin Nutr,* 27(3): 363-370.
- Kanetkar, P.; Shingal, R.; Kamat M. (2007). Gymnema sylvestre: A memoir. *J Clin Biochem Nutr.* 41: 77-81.
- Kirchhoff, P. (1960). Mesoamérica: Sus Límites Geográficos, Composición Étnica y Caracteres Culturales. *Revista. Tlatoani. Escuela Nacional de Antropología e Historia.* (3): 1-20.
- LaCourse, W.R.; Mead, D.A.; Johnson, D.C. (1990). Jhonson.Anion-exchange separation of carbohydrates with pulsed amperometric detection using a pH-selective reference electrode. *Analytical Chemistry.* 62(2): 220-224.
- Lenzi de Almeida, K.C.; Spreafico, F.; Teles, G.; Guzmán, M. A. (2008). Efecto de la semilla de linaza (Linum Usitatissimum) en el crecimiento de ratas Wistar. *Revista Chilena de Nutrición.* 35(4): 443-451.
- Lozoya, X. (1994). Two decades of Mexican ethnobotany and research in plant drugs. *Ciba Foundation Symposium.* Ed Wiley. New York. (185): 130-40.
- Luckie, A.; Cortés, F; Ibarra, S. (2009). Obesidad: trascendencia y recuperación médico-social. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas.* 14(4): 191-201.
- Lugones-Botell, M.A.; Ramírez-Bermúdez, M. (2007). Arte y obesidad. Apuntes sobre el tema. *Revista cubana medicina general integral.* 23(2).

- Maclean D.B.; Luo, L.G. (2004). Increased ATP content/production in the hypothalamus may be a signal for energy-sensing of satiety: studies of the anorectic mechanism of a plant steroidal glycoside. *Brain Res.* 1020: 01-11.
- Meckes, M.; David-Rivera, A.D.; Nava-Aguilar, V.; Jiménez, A. (2004). Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw oedema. *Phytomed.* 11(5): 446-51.
- Miranda, C. S. (1978). Evolución de cultivares nativos de México. *Ciencia y Desarrollo.* (3): 130-131.
- Moon, H.S.; Lee, H.G.; Choi, Y.J.; Kim, T.G.; Cho, C.S. (2007). Proposed mechanisms of (-)-epigallocatechin-3-gallate for anti-obesity. *Chem Biol Interact,* 167(2): 85-98.
- Morón, F.; Sierra, P.; Martínez, M.J. (2004). Programa de Medicina Tradicional herbolaria en Cuba. Las plantas medicinales en la terapéutica. *Rev Cubana Med Gen Integral* 7 (3): 276-284
- Muñetón-Pérez, P. (2009). Plantas medicinales: un complemento vital para la salud de los mexicanos. Entrevista con el Dr. Erick Estrada Lugo. *Revista Digital Universitaria.* 10(9): 1067-6079.
- Norlaily-Mohd, A.; Swee-Keong Y.; Wan-Yong, Ho.; Boon-Kee B.; Sheau-Wei T.; Soon-Guan T. (2012). The Promising Future of Chia, Salvia hispanica L. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Biomedicine and Biotechnology.* 2012(171956): 9
- Pellati, F.; Epifano, F.; Contaldo, N.; Orlandini, T.; Cavicchi, L.; Genovese S.; Bertelli, D.; Benvenuti, S.; Curini, M.; Bertaccini, A.; Bellardi, M.G. (2011). Chromatographic methods for metabolite profiling of virus- and phytoplasma-infected plants of Echinacea purpurea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 59(19): 10425-10434.

- Pino, O.; Jorge, F. (2010). Ensayo de Artemia: útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. *Protección vegetal*. 22(1): 34-43.
- Prieto-González, S.; Garrido-Garrido, G.; González-Lavaut, J.A. Molina-Torres, J. (2004). Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*. 35(1): 19-36.
- Venables, M.C.; Hulston, C.J.; Cox, H.R.; Jeukendrup, A.E. (2008). Green tea extract ingestion, fat oxidation, and glucose tolerance in healthy humans. *Am J Clin Nutr*. 87(3): 778-784.

Libros consultados

- Aguilar, A. (1999). *Plantas Medicinales del Sur de México*. Guías Prácticas México Desconocido. México D.F
- Benyon, R. (2008). *Lo esencial en Metabolismo y Nutrición*. 2ª edición, ELSEVIER. España, pág. 144-149.
- Domínguez, X.A. (1988). *Métodos de investigación fitoquímica*. Limusa, México, pág. 153.
- De la Cruz, M. (1996). *Libellus de Medicinalibus indorum Herbis (según traducción latina de Juan Badiano)*. 2ª edición, Fondo de Cultura Económica. México 258 p.
- Linares, E.; Flores, B.; Bye, R. (1994). *Selección de Plantas Medicinales de México*. Limusa. México.
- Martínez, M. (1989). *Las Plantas Medicinales de México*. Botas. México.
- Morales, J.A. (2010). *Obesidad un enfoque multidisciplinario*. 20 CIENCIA AL DÍA. México.

- Ramamoorthy, T.P.; M, E. (1998). Lamiaceae de México: diversidad, distribución, endemismo y evolución. In: Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot. y J. Fa (eds.). Diversidad biológica de México: Orígenes y distribución. Instituto de Biología, UNAM. México. 501-526.

Páginas en internet consultadas

- Argueta, A.; Cano, L.; Rodarte, M. (1994). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. *Instituto Nacional Indigenista*. Disponible en: http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/intro_atlas.html, revisado el: 10 de enero 2014.
- Canales, J. (2014). Promoción de la salud. *Slideshare.net*. Disponible en: <http://www.slideshare.net/JoseMoi/promocion-de-la-salud-14056133>, revisado el: 5 de mayo de 2014.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. (2012). Disponible en: <http://ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales.pdf>, revisado el: 12 de enero 2013.
- Gutierrez, D; Betancurt, A. (2005). El mercado de plantas medicinales en México: situación actual y perspectivas de desarrollo. Disponible en: <http://xurl.es/3uaig>, revisado el: 1 de marzo 2013.
- Lira, C. (2002). México, segundo lugar en el mundo en plantas medicinales; inventariadas, 4 mil 500. La Jornada Virtual. Disponible en: <http://www.jornada.unam.mx/2002/07/23/06an1esp.php?printver=1>, revisado el: 4 de marzo 2013.
- OMS. (2009). Milestones in Health Promotion. Disponible en: <http://goo.gl/motPG0>, revisado el: 28 de marzo 2013.

- OMS. (2012). Obesidad y sobrepeso. Nota descriptiva 311. Disponible en: <http://goo.gl/ORdxN> revisado el: 14 de marzo 2013.
- OMS. (2014). Medicina tradicional. Disponible en: <http://goo.gl/MzjLF2>, revisado el: 8 de febrero 2014.
- OMS. (2014). Disponible en: <http://www.who.int/suggestions/faq/es/>, revisado el: 24 de junio 2014.
- OMS. (2014). Disponible en: http://www.who.int/dietphysicalactivity/physical_activity_intensity/es/, revisado el: 15 de abril 2014.
- Sociedad Española Nutracéutica Médica. (2014). Disponible en: <http://www.nutraceuticamedica.org/definicion.htm>, revisado el 20 de febrero 2014.
- Promoción de la salud (2014). Disponible en: <http://www.promocion.salud.gob.mx/dgps/interior1/promocion.html>, revisado el: 8 de junio 2014.

Tesis consultadas

- Arellano, D. (2013). *Comparación de los principales grupos químicos del Solanum nigrescens Mart. y Gal. colectado en dos zonas del Valle de México*. México D.F. Tesis de Licenciatura en Promoción de la Salud. UACM.
- González, E. (2010). *Caracterización de compuestos Féenólicos presentes en la semilla y aceite de chíá, mediante electroforesis capilar*. México.: Tesis de Maestría en ciencias en Alimentos. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN.
- Palomino, C. (2012). *Estudio fitoquímico y farmacológico de la planta Solanum cervantesii Lag., recolectada en el área natural protegida del centro de educación ambiental Yautlica*. México D.F.: Tesis de Licenciatura en Promoción de la Salud. UACM.

- Parra, F. (2014). *Estudio farmacológico de las plantas, cáscara sagrada (Rhamnus purshiana), chaparro amargo (Castela erecta ssp.), gobernadora (Larrea tridentata (dc) cav), guarumbo (Cecropia obtusifolia bertol), guazima (Ulmifolia lam.), empleadas para el tratamiento de la diabetes mellitus en el mercado de Sonora.* México D.F.: Tesis de Licenciatura en Promoción de la Salud. UACM.
- Peña, I. (2014). *Estudio del potencial antioxidante de plantas colectadas en Amecameca en el periodo de febrero a mayo de 2013.* México D.F.: Tesis de Licenciatura en Promoción de la Salud. UACM.
- Ronquillo, L. (2011). *Análisis y evaluación de la variabilidad química y biológica de la infusión de té verde (Camellia sinensis) empleado como coadyuvante en el tratamiento de la obesidad, como un posible problema de salud.* México D.F.: Tesis de Licenciatura en Promoción de la Salud. UACM

ANEXOS

A 1. Resultados de toxicidad en el modelo *Artemia salina* de extracto de chía en acetato de etilo

<i>Artemia salina</i>					
Acetato de etilo					
	Vivas		Vivas		Vivas
B1	8	1.1	0	2.1	0
B2	8	1.2	6	2.2	7
B3	9	1.3	8	2.3	7
B4	8	1.4	9	2.4	9
B5	9	1.5	8	2.5	7
B6	9	1.6	8	2.6	7
B7	9	1.7	9	2.7	7
B8	8	1.8	10	2.8	8
B9	8	1.9	9	2.9	7
B10	8	1.1	9	2.1	8
	Mean:8.4		Mean: 7.6		Mean:6.7
	St Dev, s: 0.5163978		St Dev, s: 2.875181		St Dev, s: 2.451757

A 2. Resultados de toxicidad en *Artemia salina* del extracto de chía en hexano

Hexano						
	Vivas		Vivas		Vivas	
B1	7	1.1	7	2.1	7	
B2	7	1.2	7	2.2	8	
B3	7	1.3	8	2.3	7	
B4	8	1.4	9	2.4	8	
B5	9	1.5	8	2.5	8	
B6	9	1.6	8	2.6	8	
B7	8	1.7	9	2.7	9	
B8	8	1.8	7	2.8	7	
B9	7	1.9	9	2.9	9	
B10	9	1.1	9	2.1	9	
	Mean:7.9		Mean: 8.1		Mean: 8	
	St Dev, s: 0.875595		St Dev, s: 0.875595		St Dev, s: 0.8164966	

A 3. Resultados de toxicidad en *Artemia salina* del extracto de chía en metanol

Metanol						
	Vivas		Vivas		Vivas	
B1	9	1.1	9	2.1	7	
B2	8	1.2	7	2.2	7	
B3	9	1.3	10	2.3	7	
B4	8	1.4	9	2.4	9	
B5	8	1.5	10	2.5	9	
B6	7	1.6	10	2.6	10	
B7	9	1.7	9	2.7	9	
B8	8	1.8	9	2.8	10	
B9	7	1.9	8	2.9	7	
B10	8	1.1	7	2.1	6	
	Mean:8.1		Mean:8.8		Mean:8.1	
	St Dev, s: 0.7378648		St Dev, s:1.135292		St Dev, s: 1.449138	

A 4. Pesos de las ratas Wistar control por día

Días	Peso (g) de las ratas control							
	1	2	3	4	5	6	8	9
0	66.0	64.0	65.0	62.0	58.0	74.0	58.0	67.0
1	66.0	67.5	68.5	65.1	63.5	77.2	61.0	74.0
2	72.1	74.4	72.1	67.5	68.0	81.1	67.0	78.4
3	75.5	80.9	75.4	69.2	73.5	89.1	72.0	84.5
4	84.0	88.9	83.0	76.5	80.0	95.5	77.5	88.4
5	88.7	95.9	84.1	83.3	84.7	100.8	79.9	91.3
6	94.8	101.7	91.0	86.1	88.7	103.2	89.3	91.8
7	101.2	109.8	94.5	91.8	94.8	107.4	92.4	91.9
8	105.5	114.0	102.2	95.0	101.6	112.9	100.0	97.0
9	108.3	123.0	107.0	101.9	107.0	112.9	101.2	100.0
10	116.9	128.0	111.0	105.5	112.6	115.4	106.0	109.7
11	117.1	136.0	118.0	111.5	117.0	120.0	111.5	113.4
12	121.0	137.0	122.7	116.4	120.0	120.3	118.2	114.5
13	121.2	142.0	125.3	124.0	124.6	125.0	121.8	117.2
14	123.7	150.0	131.5	124.0	130.5	129.6	121.8	126.5
15	127.0	151.5	131.5	125.0	138.0	130.8	126.0	127.6
16	128.3	158.5	131.5	130.0	143.3	139.2	129.0	133.0
17	132.0	159.5	119.0	134.5	143.5	140.7	131.0	134.2
18	134.0	148.0	120.5	140.0	146.5	152.0	134.0	140.0
19	138.5	152.0	120.5	140.0	146.5	152.0	134.0	140.0
20	145.1	162.0	120.6	142.2	155.0	156.0	138.0	147.9
21	147.5	172.5	120.7	147.5	161.5	158.5	138.0	154.0
22	153.3	182.0	121.6	150.0	167.2	166.5	139.5	158.0

A 5. Ganancia de peso de las ratas Wistar control por día

Días	Ganancia de peso (g) de las ratas control								
	1	2	3	4	5	6	8	9	
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	3.5	3.5	3.1	5.5	3.2	3.0	7.0	
2	6.1	10.4	7.1	5.5	10.0	7.1	9.0	11.4	
3	9.5	16.9	10.4	7.2	15.5	15.1	14.0	17.5	
4	18.0	24.9	18.0	14.5	22.0	21.5	19.5	21.4	
5	22.7	31.9	19.1	21.3	26.7	26.8	21.9	24.3	
6	28.8	37.7	26.0	24.1	30.7	29.2	31.3	24.8	
7	35.2	45.8	29.5	29.8	36.8	33.4	34.4	24.9	
8	39.5	50.0	37.2	33.0	43.6	38.9	42.0	30.0	
9	42.3	59.0	42.0	39.9	49.0	38.9	43.2	33.0	
10	50.9	64.0	46.0	43.5	54.6	41.4	48.0	42.7	
11	51.1	72.0	53.0	49.5	59.0	46.0	53.5	46.4	
12	55.0	73.0	57.7	54.4	62.0	46.3	60.2	47.5	
13	55.2	78.0	60.3	62.0	66.6	51.0	63.8	50.2	
14	57.7	86.0	66.5	62.0	72.5	55.6	63.8	59.5	
15	57.7	86.0	64.0	62.0	72.0	55.6	63.8	59.5	
16	62.3	94.5	66.5	68.1	85.3	65.2	71.0	66.0	
17	66.0	95.5	54.0	72.5	85.5	66.7	73.0	67.2	
18	66.0	95.5	54.0	72.5	85.5	66.7	73.0	67.2	
19	68.0	84.0	55.5	78.0	88.5	78.0	76.0	73.0	
20	72.5	88.0	51.0	76.9	93.3	75.6	78.1	75.5	
21	79.1	98.0	55.6	80.2	97.0	82.0	80.0	80.9	
22	81.5	108.5	52.5	85.5	103.5	84.5	79.0	87.0	

A 6. Peso de las ratas Wistar a las que se les dio la solución acuosa con chía por día

Días	Peso (g) de las ratas a las que se les dio la solución acuosa de chía								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	73.0	57.0	51.0	56.0	62.0	57.0	61.0	58.0	56.0
1	75.7	57.5	54.3	59.6	65.4	68.0	65.5	60.0	58.5
2	81.7	60.0	62.0	64.6	71.1	71.8	70.5	65.1	63.2
3	87.4	67.5	65.4	71.0	76.8	77.2	78.0	69.4	67.4
4	99.0	80.0	70.8	77.0	83.8	87.3	85.7	78.0	74.0
5	103.2	83.7	71.4	81.5	89.7	87.5	90.0	81.0	78.3
6	108.4	85.6	78.3	87.0	91.9	93.5	99.0	89.2	85.0
7	121.8	91.0	83.1	91.8	100.7	98.7	101.0	94.3	87.4
8	127.0	97.8	86.4	97.9	104.4	101.8	108.1	99.0	94.4
9	131.0	100.0	88.0	100.6	105.7	104.0	114.0	103.1	96.9
10	137.3	105.5	91.7	106.8	111.2	110.0	121.0	110.0	104.1
11	148.0	110.5	100.0	112.5	119.0	117.7	127.0	119.0	113.0
12	148.8	110.7	104.5	113.2	122.4	123.0	132.7	119.0	114.4
13	152.6	110.7	109.0	119.8	128.0	129.6	141.4	121.6	121.0
14	166.0	109.9	121.0	124.0	127.0	127.5	140.5	128.0	121.1
15	170.4	110.8	127.0	126.2	128.8	132.6	145.7	129.4	123.7
16	146.0	101.4	100.4	111.5	117.5	116.5	131.1	115.5	111.0
17	164.4	124.0	158.5	132.0	119.6	144.0	133.5	129.3	127.5
18	178.5	127.0	162.0	135.4	125.2	147.2	136.6	130.0	134.4
19	182.2	134.0	131.2	134.2	132.6	149.9	168.5	129.6	125.7
20	188.0	137.5	137.0	140.2	144.5	153.0	170.3	137.3	131.0
21	202.0	146.0	134.5	141.5	143.3	158.9	179.0	143.0	121.5
22	205.8	147.6	136.5	145.0	143.6	159.0	181.6	145.7	126.5

A 7. Ganancia de peso de las ratas Wistar a las que se les dio la solución acuosa con chía por día

Días	Ganancia de peso (g) de las ratas								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	2.7	0.5	3.3	3.6	3.4	11.0	4.5	2.0	2.5
2	8.7	3.0	11.0	8.6	9.1	14.8	9.5	7.1	7.2
3	14.4	10.5	14.4	15.0	14.8	20.2	17.0	11.4	11.4
4	26.0	23.0	19.8	21.0	21.8	30.3	24.7	20.0	18.0
5	30.2	26.7	20.4	25.5	27.7	30.5	29.0	23.0	22.3
6	35.4	28	27.3	31.0	29.9	36.5	38.0	31.2	29.0
7	48.8	34.0	32.1	35.8	38.7	41.7	40.0	36.3	31.4
8	54.0	40.8	35.4	41.9	42.4	44.8	47.1	41.0	38.4
9	58.0	43.0	37.0	44.6	43.7	47.0	53.0	45.1	40.9
10	64.3	48.5	40.7	50.8	49.2	53.0	60.0	52.0	48.1
11	75.0	53.5	49.0	56.5	57.0	60.7	66.0	61.0	57.0
12	75.8	53.7	53.5	57.2	60.4	66.0	71.7	61.0	58.4
13	79.6	53.7	58.0	63.8	66.0	72.6	80.4	63.6	65.0
14	93.0	52.9	76.0	70.2	66.8	75.6	79.5	71.4	67.7
15	97.4	53.8	76.0	70.2	66.8	75.6	84.7	71.4	67.7
16	73.0	44.4	49.4	55.5	55.5	59.5	70.1	57.5	55.0
17	91.4	67.0	68.0	78.5	81.5	83.7	72.5	73.0	78.2
18	105.5	70.0	107.5	76.0	57.6	87.0	75.6	71.3	71.5
19	109.2	77.0	111.0	79.4	63.2	90.2	107.5	72.0	78.4
20	115.0	80.5	80.2	78.2	70.6	92.9	109.3	71.6	69.7
21	129.0	89.0	86.0	84.2	82.5	96.0	118.0	79.3	75.0
22	132.8	90.6	83.5	85.5	81.3	101.9	120.6	85.0	65.5

A 8. Promedio y desviación estándar por día de las ratas Wistar a las que se les dio la solución acuosa con chía

Días	Promedio	Desviación estándar
1	-	0.0
2	3.7	3.0
3	8.8	3.2
4	14.3	3.0
5	22.7	3.8
6	26.1	3.6
7	31.9	3.8
8	37.6	5.4
9	42.9	5.4
10	45.8	6.3
11	51.8	6.9
12	59.5	7.5
13	62.0	7.8
14	67.0	9.0
15	72.6	10.8
16	73.7	12.2
17	57.8	9.0
18	77.1	7.9
19	80.2	16.7
20	87.5	17.7
21	85.3	16.8
22	93.2	18.4
23	94.1	21.0