



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

IDENTIFICACIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LA CHÍA (*Salvia hispanica* L.)
SILVESTRE Y COMERCIAL MEDIANTE EL PERFIL DE PROTEÍNAS
OBTENIDO POR ELECTROFORESIS CAPILAR

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO

PRESENTA

MIGUEL ÁNGEL ROMERO AGUILAR

ASESORA: DRA. MARÍA GABRIELA VARGAS MARTÍNEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Identificación y clasificación de la chíá (*Salvia hispanica L.*) silvestre y comercial mediante el perfil de proteínas obtenido por electroforesis capilar.

Que presenta el pasante: Miguel Ángel Romero Aguilar

Con número de cuenta: 304245057 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura de Química

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 26 de Noviembre de 2015

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. María Guadalupe Pérez Caballero	
VOCAL	M.C. Brígida del Carmen Camacho Enríquez	
SECRETARIO	Dra. María Gabriela Vargas Martínez	
1er. SUPLENTE	Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez	
2do. SUPLENTE	I.A. Dulce María Oliver Hernández	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

Dedicado a

mi madre **Josefina** y la memoria de mi padre **Sabino**

Por haberme apoyado en todas mis decisiones
y darme la fortaleza para seguir adelante.

Agradecimientos

A mi madre Josefina

Por la paciencia y amor que me brindas, me has guiado en duros momentos, eres de una fortaleza inquebrantable y dueña de un gran corazón, gracias por todo lo que me has dado y lo que me has hecho crecer, te amo.

A mi padre Sabino

Aunque ya no estás aquí me mostraste el camino de lo correcto, tu recuerdo me orienta para seguir hacia adelante, siempre creíste en mí y en lo que podía llegar a hacer, espero que donde te encuentres mis acciones te mantengan orgulloso.

A mis hermanos Lucía y Marco

Que de una u otra forma siempre han estado a mi lado y a su manera se preocupan por mí.

A mis tíos Israel y Guadalupe

Que me forjaron como persona, siempre predicando con el ejemplo, los mantengo con cariño en mi recuerdo.

A mis tías Rosa, Carmen y Esther

Por el cariño que me demuestran, así como su consejo y apoyo que me ayudaron a dar este importante paso de mi vida.

A mi novia Edith

Gracias por tus consejos y ayudarme a aprender de mis errores, siempre estas a mi lado en los buenos y malos momentos, eres mi presente y futuro, logras hacer de mí una mejor persona.

A todos mis amigos

Los que aparecieron en el momento que más los necesite, los que me acompañaron en el camino, los que siguen a mi lado. Todos marcaron una huella en mi vida.

A la UNAM que me abrió las puertas a la educación.

A mis sinodales, la Dra. Guadalupe Pérez caballero, M.C. Brígida del Carmen Camacho Enríquez, Dra. María Gabriela Vargas Martínez, Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez y I.A. Dulce María Oliver Hernández, gracias por tomarse el tiempo en la revisión del presente trabajo y su cooperación para mejorarlo.

Al proyecto UNAM-DGAPA-PAPIIT IN221412 titulado “Caracterización y cuantificación de fenoles, prolaminas y ácidos grasos presentes en diferentes variedades de chía”.

Al Dr. José Alfonso Hernández Gómez del departamento de fitotecnia de la Universidad Autónoma de Chapingo por las semillas de chía y el apoyo brindado.

Al laboratorio de postcosecha de frutas y hortaliza del CAT-UNAM de la Dra. Andrea Trejo Márquez, el préstamo de su equipo para la determinación de color.

Al Dr. Tonatiuh Cruz Sánchez del laboratorio de microbiología de la UIM-UNAM, y su ayuda para la captura de las fotografías y las dimensiones de las semillas.

A todos mis profesores que durante mis días como alumno me orientaron y corrigieron, gracias por su apoyo y demostrarme que la ciencia es multidisciplinaria.

“El mundo entero se aparta cuando ve a un hombre que sabe adónde va”

Antoine de Saint-Exupery

“Hay alguien tan inteligente que aprende de la experiencia de los demás”

François Marie Arouet Voltaire

Índice

1	Introducción.....	9
2	Marco teórico.	11
2.1	La chía.....	11
2.1.1	Descripción y clasificación.....	11
2.1.2	Composición general y nutricional.....	12
2.1.3	Factores ambientales en la composición.	14
2.1.4	Omegas en el organismo.....	15
2.1.5	Omegas en la prevención y/o tratamiento de algunas enfermedades.....	16
2.1.6	Estudios de los beneficios de la chía	17
2.1.7	Utilización actual.	17
2.1.8	Producción.....	20
2.1.9	Variedades de chía.	21
2.2	Las proteínas.	24
2.2.1	Proteínas de cereales y pseudocereales.	24
2.2.2	Solubilidad.....	25
2.2.3	Fracciones de OSBORNE.....	25
2.2.4	Composición proteica de la semilla de chía.	26
2.3	Electroforesis capilar (EC).....	27
2.3.1	Principales consideraciones para el uso de la ECZ.	29
2.4	Uso de los parámetros de color.	31
3	Objetivos.....	33
3.1	Objetivo general.....	33
3.2	Objetivos específicos.....	33
4	Hipótesis.	34
5	Metodología.....	35
5.1	Materiales.	35
5.1.1	Equipos.....	35
5.1.2	Reactivos.	35
5.1.3	Características del capilar.....	35
5.2	Preparación de soluciones.	36
5.3	Clasificación de las muestras:.....	36
5.3.1	Limpieza y preparación de las muestras.	36
5.4	Determinación del peso de las semillas.	36

5.5	Determinación del tamaño de las semillas.	37
5.6	Obtención del contenido de aceite.	37
5.7	Extracción de prolaminas.	37
5.8	Obtención del perfil de prolaminas.....	39
5.8.1	Acondicionamiento del capilar.....	39
5.9	Tratamiento estadístico.	40
6	Resultados y análisis.	41
6.1	Limpieza de las muestras.	41
6.2	Determinación del peso de las semillas.	43
6.3	Influencia de los factores en el peso de la semilla.....	44
6.4	El color de las semillas.....	45
6.4.1	WI en las muestras.	47
6.4.2	WI blancas vs pintas	48
6.4.3	WI en muestras negras.....	49
6.4.4	WI en semillas blancas.	50
6.5	Dimensiones de las semillas.....	50
6.5.1	Ancho.	53
6.5.2	Longitud.....	54
6.6	Determinación del porcentaje total de aceite.	55
6.6.1	Influencia de los factores en el contenido de aceite.....	57
6.7	Extracción de prolaminas.	58
6.7.1	Selección de la temperatura de separación en EC.....	58
6.7.2	Estabilidad de la muestra (extracto de prolaminas de chía).....	61
6.7.3	Selección del estándar interno.....	61
6.7.4	Problemática del ajuste del pH.	62
6.7.5	Estabilidad con estándar interno y cámara de refrigeración.....	63
6.7.6	Repetibilidad y Precisión intermedia con estándar interno.....	63
6.7.7	Obtención del perfil de prolaminas.....	65
6.7.8	Diferencias y clasificación.....	76
7	Conclusiones.	80
8	Referencias.	81
9	Anexos.....	87

Abreviatura	Significado
EC	Electroforesis capilar
ECZ	Electroforesis capilar de zona
FEO	Flujo electroosmótico
ACN	Acetonitrilo
C*	Cromaticidad
L*	Luminosidad
h*	Tono
WI	Índice de blancura
HMW	Alto peso molecular
LMW	Bajo peso molecular
V	Voltaje
I	Intensidad
R	Resistencia
EPA	Ácido eicopentanoico
DHA	Ácido docosahexanoico
ALA	Alanina
µm	Micrómetro
CIE	Comisión Internacional de L'Eclairage
CIELab	Espacio de color L*, a*, b*
CIELhC	Espacio de color L*, h*, C*
IDA	Ácido iminodiacético
%RSD	Porcentaje de desviación estándar relativa
Latit	Latitud
Long	Longitud
EDTA	Ácido Etilendiamintetraacético
Jal	Jalisco
Pue	Puebla
Gro	Guerrero
Oax	Oaxaca
Chih	Chihuahua
Gtm	Guatemala
Slv	El Salvador
Sin	Sinaloa
msnm	metros sobre el nivel del mar
LDL	Lípidos de baja densidad
HDL	Lípidos de alta densidad
LDS	Diferencia mínima significativa

1 Introducción.

México, junto con China, India, Colombia y Perú se encuentra entre los cinco países llamados “megadiversos”, los cuales en conjunto albergan entre el 60 % y 70 % de la diversidad biológica conocida del planeta. En México se encuentra representado el 12 % de la diversidad terrestre del planeta. Prácticamente todos los tipos de vegetación terrestres conocidos se encuentran representados en el país, y algunos ecosistemas como los humedales de Cuatrociénegas en Coahuila sólo se encuentran en México.

Esta diversidad es el resultado de la compleja topografía, geología y los diversos climas y microclimas que se encuentran en todo el territorio. Asimismo, la ubicación geográfica de México hace que se distinga por ser el territorio de unión de dos regiones biogeográficas, la Neártica y la Neotropical. La diversidad biológica de nuestro país se caracteriza por estar compuesta de un gran número de especies endémicas, es decir, que son exclusivas al país, mostrando así la evolución de especies con distinta afinidad ecológica y geográfica. Aproximadamente el 50 % de las especies de plantas que se encuentran en nuestro territorio son endémicas, esto se traduce en aproximadamente 15,000 especies que, si desaparecieran en México, desaparecerían del planeta.

La pérdida progresiva del conocimiento etnobotánico de las poblaciones silvestres, asociada con la pérdida del hábitat en algunos sitios ha provocado una degradación de importantes recursos genéticos, así como del desconocimiento de especies con un gran potencial terapéutico y económico. La pérdida de esta variación genética es común en plantas con ciclos anuales y son el resultado de la domesticación de las especies, este fenómeno es particularmente llamativo en variedades comerciales, donde son obvias las diferencias morfológicas debidas a la selección artificial como resultado la intervención humana (Cahill, 2004)

La república mexicana está catalogada como una de las áreas con mayor diversidad del género *Salvia* (fam. *Lamiaceae*) en el mundo (Ramamoorthy, 1984, & Walker, Sytsma, Treutlein, & Wink, 2004), en 2004 Villaseñor reportó que se cuenta con un total de 292 especies de este género, el segundo a nivel nacional solo por detrás del *Mammillaria* (fam. *Cactaceae*) con 306. Entre las principales características de las salvias encontradas en México es que se albergan en bosques, desarrollándose mejor en altitudes que van de los 1500-3000 msnm, la mayor parte de estas especies son arbustos perenes (86 %), en su mayoría presentan flores de colores (76 %), con tonalidades azules y/o moradas, logrando una actividad máxima de floración en el mes de octubre (Cornejo & Ibarra, 2011), los estados con mayor diversidad de salvias corresponden a Oaxaca, Guerrero, Puebla, Jalisco y Michoacán (Ramamoorthy & Elliott, 1988).

Una de las especies incluidas en este género es la semilla de chíá (*Salvia hispanica* L.) venerada en tiempos prehispánicos junto con el maíz (*Zea mays*), el frijol (*Phaseolus spp.*)

y el huautli (amaranto) (*Amaranthus leucocarpus*), y prohibido e incluso perseguido su cultivo en tiempos de la conquista, debido a su uso en rituales religiosos (Hernández J. , 2008).

Aunque ya hace casi 100 años en 1918 se dio una patente para la extracción del aceite de chía (Lomanitz, 1918), actualmente la semilla ha recobrado importancia debido a su alto contenido en fibra, proteínas, compuestos fenólicos y antioxidantes, principalmente Omegas 3, 6 y 9, así como su aplicación en la disminución de los niveles de triglicéridos, colesterol LDL, en el tratamiento para personas con hipertensión, arterioesclerosis y principalmente para la prevención de enfermedades cardiovasculares y el llamado “síndrome metabólico” (Beltrán & Vargas, 2011).

2 Marco teórico.

2.1 La chía.

2.1.1 Descripción y clasificación.

La semilla de chía (*Salvia hispanica* L.) es una planta perene-arbusto que pertenece a la familia *Lamiaceae* y al género *Salvia*, su clasificación completa se muestra en la tabla 1. Crece en suelos arcillosos o arenosos que estén bien drenados, incluso en zonas áridas; aunque no toleran las heladas ni crecen a la sombra (Hernández J. , 2008). Esta planta llega a medir un metro o más de altura, el área de distribución natural de la chía se ubica en la zona montañosa de la vertiente del Océano Pacífico, desde Chihuahua hasta Centroamérica, sobre el Eje Neovolcánico Transversal y las Sierras Madre: Occidental, del Sur y de Chiapas (imagen 1). Estas condiciones generan aislamiento geográfico que motivan la fragmentación y diferenciación de las poblaciones (Hernández J. , 2008), según reportó Flores en 1938 los estados de Sonora y Chihuahua cuentan con variedades silvestres de esta semilla.

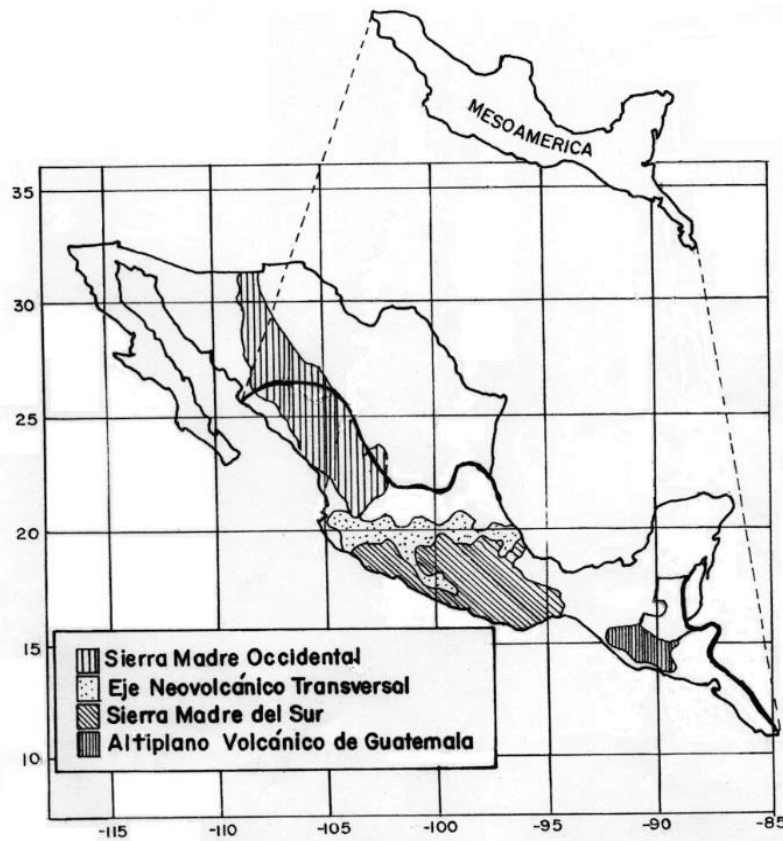


Imagen 1. Área de distribución natural de chía, tomado de Hernández, 2008 (Elaborado a partir de Cahill (2004) y Kirchhoff (1960)).

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de la semilla de chía. (Beltrán & Vargas, 2011 y Lavias, 2014). A) Hojas de diferentes muestras de chía, B) El tamaño de las inflorescencias indica domesticación de la planta. C) Planta de chía en desarrollo. Fotos recopiladas de Hernández, 2008 (A y B) y Lavias, 2014 (C).

Reino	<i>Plantae</i>	Fisiología	
Subreino	<i>Viridaeplantae</i>	A	C
División	<i>Tracheophyta</i>		
Subdivisión	<i>Spermatophytina</i>		
Clase	<i>Magnoliopsida</i>		
Subclase	<i>Asteridae</i>		
Orden	<i>Lamiales</i>		
Familia	<i>Lamiaceae</i>		
Subfamilia	<i>Neopetoideae</i>		
Tribu	<i>Mentheae</i>		
Género	<i>Salvia</i>		
Especie	<i>Salvia hispanica</i> L.	B	
TSN*	32718		

*Taxonomic Serial Number.

Hernández en 2008 reportó que las semillas cultivadas, en especial las de Jalisco, presentan un sistema de apareamiento intermedio o mixto^I con un 22.17 % de cruzamiento natural y las semillas silvestres principalmente son autógamas^{II} con un promedio de propagación cruzada de 1.5 %, también menciona que la característica principal que indica el grado de domesticación de la semilla se puede observar en la indehiscencia de la planta, ya que demuestra la pérdida de sus capacidades para la propagación y una alta dependencia del cultivo humano (Cahill, 2005, Hernández & Miranda, 2008). Por otra parte, algunos autores indican que las plantas de chía no presentan problemas debido al ataque de plagas o enfermedades, por lo que están libres del uso de pesticidas, llegando solo a ser atacadas por las hormigas en sus hojas, durante la madurez, y algunas aves que se comen las semillas (Campanilla & Martínez, 2012, Hernández, 2008), sin embargo, el uso de herbicidas es necesario debido al crecimiento de malezas en los campos de cultivo (Orozco, 1993).

2.1.2 Composición general y nutricional.

Una de las principales características de la semilla de chía es su alto contenido de aceite, rico en ácidos grasos esenciales, omegas 3, 6 y 9 (tabla 2), el cual fue utilizado artesanalmente en la época prehispánica para cosméticos, barnices y jarrones (Cahill, 2003). Adicionalmente, es un alimento que cuenta con tocoferoles, con función antioxidante, además de una gran variedad de fitoesteroles (tabla 3), los cuales cuentan

^ISe basa en la suposición de que cada fertilización es o bien la autofecundación o fertilización cruzada completamente al azar.

^{II}Son aquellas que se reproducen sexualmente por autofecundación.

con propiedades inmunomoduladoras y anticancerígenas, se ha reportado que una dieta rica en escualeno, estigmasterol, campesterol y β -sitosterol, ayuda a reducir el colesterol en la sangre previniendo problemas cardiovasculares así como cáncer de colon, seno y próstata (Award & Fink, 2000).

Tabla 2. Composición del aceite de chía de algunas zonas de América.

País	g/100 g de semilla	g/100 g de aceite				
	Aceite	Palmítico 16:00	Esteárico 18:00	Oleico 18:01	Linoleico 18:02	α -linoléico 18:03
Argentina [´]	34	7	3	6.7	19.5	63.1
Argentina ^{**}	33.5	6.89	2.39	6.37	22.5	60.35
Bolivia [´]	32.7	7.4	2.7	7.1	18.7	63.6
Bolivia ^{**}	29.98	7.72	3.59	9.12	21.93	56.93
Colombia [´]	29.9	7.5	3.5	7.6	19.2	57.9
México [*]	---	6.6	3.3	7.6	20.3	60.2
México [´]	31	6.7	3.3	7.5	19.6	61.6
México ^{''}	20-36	---	---	5	43	46.1
México ¹	---	---	---	0.8	48.6	42.2
México ²	---	---	---	0.7	45.2	39.3
México ³	---	---	---	-0.8	39.3	56.2
México ⁴	31.4	---	---	8.16	32.81	59.02
Ecuador	31.47	6.39	3.74	6.59	16.99	64.75
Perú [´]	32.4	7.2	3	6.9	18.4	64.2

* (Ayerza R. , 1995), ** (Ayerza & Coates, 2011) [´] (Ayerza & Coates, 2006), ^{''} (Palma & Donde, 1947), ¹ (Baughman & Jamieson, 1929), ² (Gardner & Nat'l, 1937), ³ (Steger & Pennekamp, 1942), ⁴ (Pascual, 2013).

Tabla 3. Compuestos identificados en el aceite de chía. (Alvarez, 2004), * (Ixtaina V. , 2010).

En la fracción	
saponificable	no saponificable
Ácido Palmítico	Escualeno
Ácido Esteárico	Campesterol o giberelinas
Ácido Oleico	Estigmasterol
Ácido Linoleico	β -sitosterol
Ácido α -linoleico	Estigmastanol
Ácido Eicosanoico	Farnesol
Ácido vaccénico*	

El aceite de la semilla de chía cuenta con una gran actividad antioxidante y antirradicales libres (Normén, y otros, 2002); estas propiedades no se limitan al aceite, ya que la harina desengrasada contiene varios polifenoles (tabla 4); uno de ellos recientemente identificado fue el secoisolariciresinoldiglucósido (SDG) (Ayerza R. , 2013) cuya principal característica radica en sus acciones farmacológicas aplicadas en el tratamiento de la diabetes, la aterosclerosis, cáncer de mama, colon y próstata así como en la enfermedad

cardiovascular (Dhaval, Jitendra, S.S, & Arindam, 2012). La semilla también cuenta con una gran cantidad de aminoácidos esenciales y no esenciales (tabla 5).

Tabla 4. Principales antioxidantes presentes en la chía. (Hernández M. , 2014), *Ixtaina, Nolasco, & Tomas, (2011) e Ixtaina V. Y., (2010), ^ (Ayerza R. , 2013).

Compuesto identificado	En la harina y el aceite	Solo en la harina
Ácido cafeico*	X	
Ácido clorogénico* ^A	X	
Ácido ferúlico	X	
Ácido gálico		X
Ácido p-cumárico	X	
Ácido trans-cinámico	X	
Ácido vanillínico		X
Miricetina* ^A	X	
Quercetina* ^A		X
Kampferol* ^A		X
SDG ^{III A}		

Tabla 5. Aminoácidos esenciales y no esenciales contenidos en la semilla de chía (Ayerza & Coates, 2006).

Aminoácidos	
Acido aspártico	Metionina
Acido glutámico	Tirosina
Alanina	Lisina
Arginina	Prolina
Cistina	Histidina
Glicina	Fenilalanina
Serina	Leucina
Treonina	Isoleucina

En la tabla 6 se muestra la cantidad de nutrimentos con los que cuenta la chía, donde se muestra que la semilla es fuente de vitamina B3 que está relacionada con la prevención de enfermedades coronarias (Lugo, 2013). Hay que tomar en cuenta que en los alimentos los lípidos también son considerados macronutrientes (Nasiff, 2009).

2.1.3 Factores ambientales en la composición.

- El contenido de aceite de las semillas es afectado por la temperatura y el régimen de lluvias del lugar donde se cultiva (Hernández J. , 2008).
- La expresión de proteínas varía debido a la localización geográfica (Lavias, 2014).

^{III} No se especifica en que parte de la semilla fue identificado, pero se menciona que se encuentra presente en semillas blancas y negras.

- Propiedades del tipo de suelo, agua usada en el riego y la variedad de la planta modifican el contenido de minerales y otros nutrientes (Ayerza & Coates, 2006).

Tabla 6. Propiedades nutricionales de la chía. (Ayerza & Coates, 2006),* (Lugo, 2013).

	Nutriente	Semilla de chía entera	Harina desengrasada
Nutrientes Inorgánicos	Macronutrientes mg/100g		
	Calcio	714	1180 (138.2*)
	Potasio	700	1100
	Magnesio	390	500
	Fosforo	1067	1117
	Micronutrientes mg/100g		
	Aluminio	2	4.3
	Boro	---	1.4
	Cobre	0.2	2.6
	Hierro	16.4	20.4 (17.29*)
	Manganeso	2.3	6.8
	Molibdeno	0.2	---
	Sodio	---	2.9
	Zinc	3.7	8.5
Vitamina	Vitamina A	44IU	---
	Tiamina (B1)	0.18	0.79
	Rivoflavina (B2)	0.04	0.46
	Niacina (B3)	6.13	11.3

2.1.4 Omegas en el organismo.

Dentro de los organismos vivos los ácidos grasos son utilizados como sustratos de diversos procesos celulares, tales como las biosíntesis de membranas, modificaciones en proteínas, regulación de la transcripción, señalización intracelular y fuente de energía para el hígado, corazón y músculo esquelético (Valenzuela, Tapia, Marcela, & Valenzuela, 2011).

Todos estos ácidos grasos se encuentran en la doble capa de fosfolípidos de las membranas celulares; las composición de éstas pueden cambiar dependiendo de la dieta de cada individuo, influyendo sobre la presión arterial, la sensibilidad a la insulina, el endotelio, las enfermedades inflamatorias, las autoinmunes y el cáncer, además de que los ácidos grasos “*trans*” favorecen la aparición de ateromas, un factor importante para el desarrollo de enfermedades como la aterosclerosis (Nasiff, 2009).

Los ácidos grasos, en especial el grupo de los omega-3 y 6 (ácidos grasos esenciales) sirven de sustratos para la síntesis de diversos mediadores fisiológicos; los primeros funcionan como precursores de ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) y los segundos pueden derivarse en ácido araquidónico. Sus principales fuentes de obtención son los alimentos de origen animal y vegetal, teniendo mayor presencia en aceites vegetales

como el de chía y el de oliva, así como pescados con alto contenido de grasas incluidos el atún y el salmón. En la tabla 7 se muestran algunas consecuencias de la suficiencia e insuficiencia de estos ácidos grasos en la dieta.

Tabla 7 . Beneficios del consumo de Omega-3 y Omega-6 (Valenzuela, Tapia, Marcela, & Valenzuela, 2011), * (Nasiff, 2009).

Suficiencia	Insuficiencia*
<p>Disminuyen:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Los niveles plasmáticos de triglicéridos <ul style="list-style-type: none"> ➤ El colesterol ➤ La síntesis de LDL ➤ La presión arterial y las arritmias ➤ La agregación plaquetaria <p>Aumentan:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ El colesterol HDL 	<p>Disminuyen:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ El aprendizaje ➤ Crecimiento ➤ Fertilidad <p>➤ Electroretinograma anormal (respuesta eléctrica de las células de la retina)</p> <p>Aumentan:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Alteraciones de la visión ➤ Lesiones de la piel ➤ Polidipsia (aumento anormal de la sed) ➤ Riesgo de desarrollar hígado graso

El DHA es primordial para la formación del sistema nervioso y visual en los mamíferos en general, ya que contribuye al trabajo neuronal, funciones de aprendizaje y memorización (Nasiff, 2009), mientras que el EPA disminuye los triglicéridos y el colesterol sanguíneo, baja la presión vascular, tiene efectos antitrombóticos y antiinflamatorios, ambos tienen propiedades antiinflamatorias y citoprotectoras además de aumentar la actividad de drogas anticancerígenas (Valenzuela, Tapia, Marcela, & Valenzuela, 2011).

En la actualidad existen muchos problemas de salud relacionados con el estilo de vida sedentaria, un alto grado de estrés, una dieta rica en grasas y carbohidratos, reflejados en el aumento de los índices de obesidad, diabetes e infarto al miocardio. En México y el mundo las principales causas de muerte en los últimos años son debidas a la cardiopatía isquémica, que es una enfermedad ocasionada por la arteriosclerosis de las arterias coronarias que consiste en la formación de colágeno, además de la acumulación de lípidos y células inflamatorias que ocasionan el estrechamiento de estas vías (CNN México, 2014).

2.1.5 Omegas en la prevención y/o tratamiento de algunas enfermedades.

Enfermedades cardiovasculares.- La arteriosclerosis es un padecimiento multifactorial que se desarrolla a largo plazo, caracterizada por valores anormales de triglicéridos, colesterol elevado e inflamación; consta de la formación de una capa o placa dentro de las arterias, compuesta principalmente por lípidos, las cuales disminuyen la elasticidad de los vasos sanguíneos, ocasionando una oxigenación inadecuada. Algunos estudios muestran

que esta enfermedad comienza en la infancia y no presenta ningún síntoma por varios años, pudiendo pasar desapercibida hasta el momento de sufrir un infarto al miocardio o alguna enfermedad vascular cerebral que concluya en la muerte del individuo (Vázquez, 2007).

Enfermedades neurodegenerativas. La vulnerabilidad oxidativa de los omegas reduce el estrés oxidativo de las neuronas, además de favorecer la expresión de genes neuroprotectores, por lo que pueden ser utilizados en el tratamiento de neuropatologías, además de la neuropatía diabética, Alzheimer, Parkinson, esclerosis múltiple, depresión y esquizofrenia (Valenzuela, Tapia, Marcela, & Valenzuela, 2011, Caballer, 2011).

En tratamiento del cáncer. El EPA y DHA retrasan el crecimiento y metástasis de los tumores primarios, reduciendo la expresión de genes relacionados con tumorigenesis; también aumenta la eficacia de los medicamentos en las quimioterapias para mujeres con cáncer de mama; inducen y modulan la apoptosis favoreciendo la diferenciación celular, adicionalmente bloquean la formación de tumores inducidos por fármacos (Valenzuela, Tapia, Marcela, & Valenzuela, 2011).

Artritis reumatoide. Este padecimiento corresponde a un desorden autoinmune caracterizado por la inflamación y destrucción progresiva de los tejidos que forman las articulaciones; la función de los omegas consiste en la Inhabilitación de los mediadores de inflamación (Valenzuela, Tapia, Marcela, & Valenzuela, 2011).

La administración de EPA y DHA permite disminuir significativamente el daño inducido por la **Isquemia-reperfusion (IR)**, las cuales son lesiones debidas a infartos al miocardio, lesión renal aguda, apoplejías e isquemias por shock sistémico (Valenzuela, Tapia, Marcela, & Valenzuela, 2011).

2.1.6 Estudios de los beneficios de la chía

Debido a todas las propiedades de la chía mencionadas anteriormente se han realizado estudios que demuestren los beneficios reales de su consumo, en la tabla 8 se muestran algunos de ellos, algunas conclusiones llegan a contrastar incluso en la dosis, ya que Beltrán & Vargas en 2011 menciona que la dosis ideal corresponde al consumo de 7 g/día.

2.1.7 Utilización actual.

Debido a sus grandes cantidades de aceite y proteínas (tabla 9), además de que su alta actividad antioxidante las semillas de chía tienen aplicación en la fabricación de alimentos y crianza de animales para consumo humano (tabla 10).

Tabla 8. Estudios realizados con diferentes dosis de chía. Tabla extraída de (Norlaily, y otros, 2012).

Tiempo de estudio	Sujetos de prueba	Tipo de Administración	Resultados
7 semanas	10 mujeres con postmenopausia	25 g de chía por día	El contenido de ALA y EPA fue elevado después de la suplementación de los alimentos con chía molida. El resultado tuvo concordancia con estudios anteriores realizados en las gallinas, ratas y conejos.
12 semanas	Muestra de 76 personas 37 con placebo y 39 con semilla de chía)	25 g de chía en 250 mL de agua por día	No hay resultados significativos en la pérdida de peso y los factores de riesgo de enfermedad a pesar de que el nivel plasmático de ALA aumento. Los resultados contrastan con la hipótesis planteada por Nieman et al. de que el alto contenido de fibra dietética y ALA en chía pueden promover la pérdida de peso y reducir factores de riesgo de enfermedades del corazón y la obesidad.
2 meses	Muestra al azar con dieta controlada (500 kcal), 67 sujetos con síndrome metabólico 35 con placebo y 32 con la bebida	Bebida de 235 kcal que contenía proteína de soya, nopal, semillas de chía y avena	Pérdida de peso corporal y reducción de los niveles de glucosa y de triglicéridos en la sangre.
120 minutos	Muestra aleatoria, en 11 sujetos sanos	Pan blanco 50 g contiene 0.7, 15, o 24 g de semillas de chía	Reducción de la glucemia postprandial. (Es aquella que se hace presente en la sangre después de haber ingerido alimentos)

Tabla 9. Análisis proximal de semillas de chía de diferentes localidades.

	Localidad	% de aceite	Proteínas	Cenizas	Fibra dietética	Carbohidratos
Lavias, 2014	Jalisco (N)	23.44 - 33.54	---	---	---	---
	Jalisco (B)	22.73 - 31.69	---	---	---	---
	Oaxaca (N)	30.80 - 33.22	---	---	---	---
	Puebla	28.16 - 36.30	---	---	---	---
Vera, 2014	Jalisco	27.6	---	---	---	---
Pascual, 2013	Colima	31.4	---	---	---	---
Lugo, 2013	Jalisco	32.84	22.3	3.69	17.07	17.51
Sandoval, 2012	Colima	32.5	22.07±0.7	3.7 ± 0.2	33.6±4.2	3.1
Ixtaina, Nolasco, & Tomas, 2011	Argentina	33.6	---	---	---	---
Ayerza & Coates, 2011	Argentina	33.5	16.45	---	---	---
	Bolivia	29.98	26.03	---	---	---
	Ecuador	31.47	15.95	---	---	---
Ixtaina, 2010	Argentina	33.6 ± 0.4	29	5	27	7
	Guatemala	26.7 ± 1.9	19	4	29	---
Ledesma, 2008	Jalisco	32.23 ± 0.08	24.6 ± 0.25	5.96 ± 0.06	34.59 ± 0.07	2.62
Álvarez, Valdivia, Arbuto, & Tecante, 2008	Jalisco	29.5 ± 4.05	---	---	---	---
	Sinaloa	25.5 ± 4.55	---	---	---	---
Molina, 2008	Jalisco	34.55 ± 0.5	26.80 ± 0.4	4.10 ± 0.009	30.49 ± 0.5	4.06
Monroy, Mancilla, Gallaga, Medina, &	---	35.2	19.9	4.64	30.27	9.99

Continúa...

Continúa...

Santiago, 2008						
Ayerza & Coates, 2006	---	30.4	20.7	4.61	27.5	40.29
Olivos, 2005	Jalisco	32.23 ± 0.08	24.6 ± 0.25	5.96 ± 0.06	34.59 ± 0.07	2.62
	Sinaloa	29.61 ± 0.07	19.59 ± 0.27	4.65 ± 0.47	4588 ± 0.02	0.27
Bushway & Belya, 1981	---	31.14	24.66	4.82	18.81	19.54
Palma & Donde, 1947	---	20-36	---	---	---	---
Flores, 1938	---	40.9	22.43	7.15	---	29.52

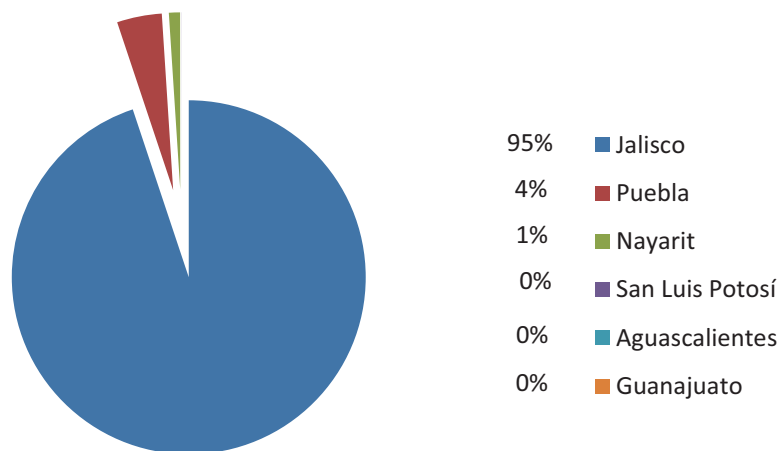
Tabla 10. Diversas aplicaciones de la semilla de chía (Norlaily, y otros, 2012),* (Molina, 2008), (Ledesma R, 2008),*** (Vera, 2014).**

Uso de la semilla	Producto	Aplicación y/o beneficio
Alimento animal	Crianza de Pollos	Aumento de $\omega - 3$ y 6 en el huevo y yema Aumento de $\omega - 3$ y ácido palmítico disminuido en la carne. La evaluación sensorial del sabor y la producción de huevos y pollos de engorde no eran afectadas
	Crianza de Cerdos y conejos	Aumento de ácidos grasos insaturados en las grasas de la carne, así como la mejora del aroma, sabor y la digestibilidad.
Formulación de alimentos	Harina (15–20 % de harina de chía harina de maíz)	Aumento de la fibra dietética total y disminución en el índice glucémico
	Harina Ingredientes para las galletas , barras de cereales , patatas fritas , postres, panes, jaleas, y emulsiones	Mejora de la retención de agua, capacidad de absorción, y estabilidad de la emulsión.
	Emulsificantes*	Las globulinas de la chía son buenos emulsificantes con una estabilización del 100 % a bajas concentraciones con un pH de 4 o 7, pudiendo ser usadas en la fabricación de embutidos, mayonesas aderezos o en productos de panadería y crema batida
	Agentes protectores**	Uso de las proteínas como películas protectoras de alimentos frente a ataques microbianos
Suplemento	Suplemento para mujeres posmenopáusicas	Mejora los niveles de ALA y EPA
	Bebidas de recarga de carbohidratos Biocombustible***	Mejora de los atletas de resistencia por más de 90 minutos, pero no de los atletas de rendimiento A pesar de su alto contenido de aceite, su alta capacidad antioxidante no permite su utilización como materia prima en la fabricación de biocombustibles
Varios	Ungüento	Aplicación tópica del aceite de chía para enfermedades de la piel tales como prurito y eczema xerótico especialmente en pacientes diabéticos y con disfunción renal

2.1.8 Producción.

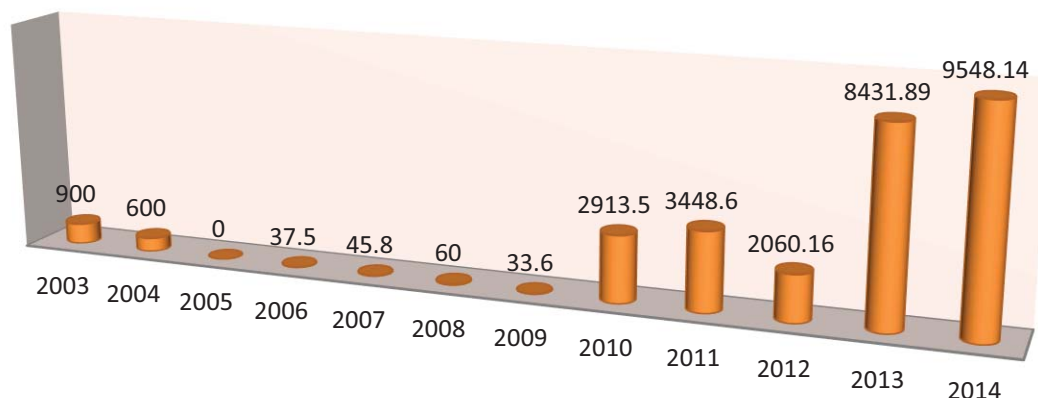
En México los primeros registros sobre la producción de chía datan del año 2003 (SAGARPA, 2015) siendo el estado de Jalisco, específicamente el municipio de Acatic, el pionero en el cultivo de esta semilla; teniendo inicialmente una superficie de cultivo de 300 hectáreas (ha), con el paso de los años se unieron varios estados con una producción intermitente, en 2009 Puebla con 20 ha, en 2013 Sinaloa con 80 ha y en 2014 Aguascalientes, Guanajuato, Nayarit y San Luis Potosí que juntos sumaron 190 ha. A once años de su incursión Jalisco se mantiene como el principal productor donde con 2 municipios, Acatic, y Cuquíó suma el 69.19 % y en conjunto con otros contribuyen con el 94.88 % de la producción nacional, siendo el segundo productor el estado de Puebla, con solo el 4.1 % y por último los demás estados con el 1.02 % (gráfica 1).

Producción nacional año 2014



Gráfica 1 Distribución de los principales productores de chía a nivel nacional (SAGARPA, 2015).

El cultivo de esta semilla se ha ido incrementando con el paso del tiempo, logrando en sólo once años un aumento en la superficie de cultivo de 300 ha a 16,721 ha y más de diez veces la producción anual (gráfica 2). Hay que tomar en cuenta que los estados mencionados anteriormente contrastan con los reportados por Ayerza en 1995 quien menciona que aparte de Jalisco existen pequeños productores en los estados de Guerrero, Chiapas, Michoacán, Oaxaca, Puebla, Zacatecas y Sinaloa, donde algunas áreas para este cultivo debido a su baja demanda fueron abandonadas, reemplazando su cultivo por el de maíz, lo que hace suponer que existen un mayor número de localidades que actualmente se dedican al cultivo de chía.



Gráfica 2 Producción total de chía en toneladas por año (SAGARPA, 2015).

Dentro del contexto internacional se estima el uso de una superficie alrededor de las 250,000 ha's anuales, siendo los principales productores Argentina, Australia, Bolivia, Chile, México, Nicaragua, Paraguay y Perú, quienes surten la creciente demanda de países europeos, Estados Unidos y Japón (González G. , 2014).

2.1.9 Variedades de chía.

Antes de hablar de variedades de chía se deben tomar en cuenta algunos conceptos.


- **Genotipo.** Es la información genética del organismo contenido en el ADN nuclear referido al conjunto de genes.
- **Fenotipo.** Son las características físicas o conductuales que son expresadas del genotipo dependiendo del ambiente (Oliva, Ballesta, Josep, & Joan, 2008).
- **Variedad botánica.** Según la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV, 2010), una variedad puede tener un genotipo natural o una “combinación de genotipos”, que abarca, por ejemplo, las variedades sintéticas y los híbridos, caracterizándose por:
 - Definirse por la expresión de características resultantes de un cierto genotipo o la combinación de genotipos.
 - Distinguirse de cualquier otra planta en la expresión de por lo menos una característica.
 - Que se propague sin alteraciones.
- **Cultivar.** Según el código internacional de nomenclatura para plantas cultivadas las palabras variedad y cultivar han sido usadas como sinónimos, un cultivar debe de cumplir con ciertas condiciones tales que:

- Sean plantas seleccionadas por el hombre y tenga una característica o características particulares deseadas.
- Que dichas características se mantengan cuando son propagadas apropiadamente mostrando así la estabilidad de sus características y del organismo durante y después de la propagación.

Sin embargo, las variedades botánicas pueden darse naturalmente y los cultivares son seleccionados artificialmente, si dentro de un cultivar las condiciones ambientales cambian el fenotipo modificando sus cualidades pasa a ser una variedad y deja de ser cultivar.

Existen registradas dos variedades de *Salvia hispanica* L. una localizada en el estado de Michoacán, específicamente en Uruapan, otra con origen en Guatemala (IPNI, 2005). Reportes indican la presencia de una semilla con usos similares a la chía en México, la procedencia de esta planta se ubica en el estado de California (tabla 11) , también llamada “chía” por los nativos sin embargo su clasificación muestra que se trata de una especie diferente (USDA-NRCS, 2003). Tampoco debe confundirse con la llamada “chía roja” que es otra especie (*Chenopodium berlandieri subsp nuttalliae*) análoga del huauzontle, la *Salvia polystachya* Ort presente en las orilla de los caminos con vistosas flores azules, la cual no tiene frutos comestibles (CONABIO, 2015) o algunas otras llamadas tradicionalmente como “chías” entre las que destacan la chía cimarrona (*Salvia tiliifolia*), chía de chapata (*Amarantus Leucocarpus*), o la chía gorda [*Hyptis Suaveolens* (L.) Piot] (UNAM, 2015).

Tabla 11. Diferentes variedades de *Salvia hispanica* L.

Clasificación	Apariencia
<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Salvia hispanica</i> L. var. <i>chionocalyx</i> Fernald (México) ➤ <i>Salvia hispanica</i> L. var. <i>Intonsa</i> Fernald (Guatemala) 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Salvia columbariae</i> Benth. (California) 	

Por otro lado Orozco creo su propia clasificación de variedades basándose en características específicas de la planta y sus semillas (imagen 2); ésta incluye las modificaciones sufridas por la planta al reprimir un gen de coloración en las flores mediante la utilización de “rayos x” (Orozco, 2015).

Ayerza & Coates en 2009 reportaron 4 diferentes genotipos de chía (tabla 12) y concluyeron que dependiendo del genotipo utilizado en la propagación se tiene un impacto significativo en el rendimiento del cultivo, además de que existe un impacto poco significativo en la composición de la semilla (contenido de proteína, porcentaje de aceite, composición de ácidos grasos y polifenoles), siendo el tipo Miztic y Tzotzol los de mayores rendimientos (738 y 704 kg/ha) (Ayerza & Coates, 2009).

Tabla 12.- diferentes cultivares reportados.

Cultivares	Referencia
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Miztic ➤ Iztac^{IV} I ➤ Iztac II ➤ Tzotzol^V 	Ayerza & Coates, 2009
<p>Líneas puras:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ semillas blancas ➤ semillas negras ➤ con Flores azules claro ➤ con Flores azul fuerte ➤ con pubescencia azul <p>➤ que presentan pigmentación en los tallos</p> <p>Líneas modificadas:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ semillas blancas y negras que dan flores blancas 	Orozco, 2015

Estas pocas diferencias observadas confirman lo dicho por Hernández y Miranda en 2008, donde afirmaron que la diversidad genética en torno a la chía se ha reducido; por tanto, se requiere valorar la diversidad actual de esta especie nativa de Mesoamérica para planificar mejor su conservación y aprovechamiento.



Imagen 2.- Variedades de chía según la clasificación de Orozco 1991.

^{IV} Semillas que presentan coloración blanca.

^V Semillas que presentan coloración negra.

2.2 Las proteínas.

2.2.1 Proteínas de cereales y pseudocereales.

Históricamente los cereales^{VI} están íntimamente ligados al desarrollo de la humanidad, ya sea para su propia alimentación o la alimentación de diferentes tipos de ganado, dentro de los procesos más antiguos de la elaboración de alimentos se encuentra la fabricación de pan, el cual está ligado directamente al manejo de proteínas.

Los cereales proporcionan parte de las proteínas que requerimos diariamente. Dentro de los sistemas biológicos éstas juegan un papel muy importante, debido a la gran variedad de funciones que realizan, de esta manera las proteínas son en cierta forma “únicas” debido a su alta complejidad y heterogeneidad.

Los atributos sensoriales de los alimentos se encuentran influenciadas por las proteínas contenidas en ellos, por ejemplo en los productos horneados tienen gran importancia las proteínas de trigo para la formación de gluten, así como las de huevo que contribuyen con propiedades gelificantes, emulgentes, espumantes y fijadoras de agua.

Los pseudocereales son cualquier planta que, aunque no perteneciente a la familia de las gramíneas, produce semillas que se pueden utilizar para hacer harina; entre los pseudocereales más utilizados están el amaranto y la quinoa. La tabla 13 presenta una comparación entre la composición de algunos cereales y pseudocereales con la chía (Mendiola, 2009).

Tabla 13.- Análisis proximal de algunos cereales y pseudocereales. ¹ (Lugo, 2013), ² (Ayerza & Coates, 2006), ³ (USDA, 2015).

	Quinoa	Amaranto	Trigo	Maíz	Arroz	Chía
Proteínas	14 %	16 %	11.6 %	9.8 %	7.7 %	22.3 % ¹
Hidratos de carbono	60 %	62 %	69.7 %	70 %	74.9 %	17.51 % ¹
Grasas	5 %	7.5 %	3.5 %	7 %	2.8 %	32.84 % ¹
Lisina	0.89 %	0.89 %	0.36 %	0.22 %	---	5.50 % ²
Metionina	0.32 %	0.32 %	0.17 %	0.27 %	0.27 %	0.44 % ²
Triptófano	0.15 %	0.15 %	0.14 %	0.07 %	0.1 %	1.59 % ²
Calorías (en 100 g)	341	333	309	338	353	486 ³

La *Salvia hispanica* L. es una planta herbácea de la familia de la menta, no poseen altas concentraciones de carbohidratos, tiene un alto contenido de lípidos poliinsaturados (tabla 2) y no necesitan ser cocinadas para poder ser ingeridas en la dieta; puede introducirse en la clasificación de pseudocereal debido a su alto contenido de fibra, la

^{VI}Plantas gramíneas que dan frutos farináceos. También se conoce como cereales a estos mismos frutos, al conjunto de las semillas de estas plantas y a los alimentos elaborados a partir de estas semillas. Son monocotiledóneas.

capacidad de utilizarla en forma de harina para la panificación y que son plantas dicotiledóneas (Natero & Romano, 2016).

2.2.2 Solubilidad.

La disolución de las proteínas es una manifestación de un equilibrio de interacciones entre proteínas con el disolvente.



Existiendo dentro de este equilibrio dos fuerzas repulsivas:

- Las interacciones hidrófobas: disminuyen la solubilidad al favorecen las interacciones proteína-proteína.
- Las interacciones iónicas: aumentan la solubilidad contribuyendo a las interacciones proteínas-agua (Damodara, Parkin, & Fennema, 2010).

Como la solubilidad de las proteínas está íntimamente ligada a sus estados estructurales dicha propiedad es usada comúnmente para medir el grado de desnaturalización durante los procesos de extracción, aislamiento y purificación.

Las proteínas son moléculas anfifílicas que migran espontáneamente a la interface aire-agua o aceite-agua, dando así una mayor concentración de las proteínas en la interface que en el seno de la solución.

En la interface de la solución las cadenas de proteínas se presentan en tres configuraciones:

- “Trenes”
- Bucles
- Colas

La distribución relativa de estas tres configuraciones depende de las características conformacionales de la proteína (Damodara, Parkin, & Fennema, 2010). Cuanto mayor sea la porción de segmentos en conformación de “trenes” mayor será la unión y menor la tensión interfacial.

2.2.3 Fracciones de OSBORNE.

Debido a su importancia económica las proteínas de reserva fueron las primeras en ser estudiadas. En 1907 Osborne basándose en la solubilidad de las proteínas de trigo las clasificó como:

- **Albuminas:** Solubles en agua a pH= 6 por ejemplo, seroalbuminas, ovoalbuminas y α - lactoalbumina.
- **Globulinas:** Solubles en soluciones salinas diluidas a pH= 7 por ejemplo, glicina, faseolina y β -lactoalbumina.
- **Prolaminas:** Solubles en soluciones al 70 % de etanol por ejemplo: Zeinas (maíz) y gliadinas (trigo).
- **Glutelinas:** Solubles en soluciones ácidas (pH= 2) y soluciones alcalinas (pH= 12) por ejemplo, glutelinas de trigo. Al disolver esta fracción en ditioeritrol + propanol al 50 % se pueden obtener otras dos subfracciones:
 - i. **Proteínas HMW:** moléculas de alto peso molecular que precipitan al elevar la concentración a 60 % de propanol.
 - ii. **Proteínas LMW:** moléculas de bajo peso molecular que se mantienen en solución al elevar la concentración de 50 % a 60 % de propanol.

De esta manera, se han ido modificando las condiciones originales descritas por Osborne para la separación de las diferentes fracciones de proteínas (Bielitz & Grosch, 2009).

Durante su evolución los cereales han sufrido mutaciones dando diferencias entre sus genes actuales y los ancestrales, ocasionando cambios en la expresión de sus proteínas. Bean, Bietz & Lookhart en 1998 mencionan que debido a su heterogeneidad y la expresión casi invariante de las proteínas de almacenamiento, éstas proporcionan huellas dactilares que diferencian a los genotipos de cereales y cultivares, esto concuerda con lo informado por Bielitz & Grosch en 2009, quienes mencionan que solo la composición de aminoácidos de las prolaminas se relacionan con el parentesco botánico entre los cereales.

2.2.4 Composición proteica de la semilla de chía.

Algunas aplicaciones ventajosas de la semilla de chía en panadería son gracias a que su harina no contiene gluten^{VII}, por lo que puede ser consumido por personas que padezcan la enfermedad Celiaca^{VIII}. La tabla 14 muestra el contenido de proteínas reportado para la semilla de *Salvia hispanica* L.

^{VII}El gluten es una proteína amorfa contenida en la semilla de muchos cereales (trigo, cebada, centeno, espelta, triticale y posiblemente avena) combinada con almidón. Representa un 80 % de las proteínas del trigo y está compuesta de gliadina y glutenina. El gluten es el responsable de la elasticidad de la masa de harina, y confiere la consistencia elástica y esponjosa de los panes y masas horneadas (FACE, 2014).

^{VIII}La **celiaquía** es la intolerancia permanente al **gluten**, conjunto de proteínas presentes en el trigo, avena, cebada y centeno y productos derivados de estos cuatro cereales. Se dice que es una **condición autoinmune**, es decir que el sistema de defensa de los celíacos reconocería como "extraño" o no perteneciente al organismo, al gluten, y produciría anticuerpos o "defensas" contra el mismo. Estos anticuerpos provocarían la lesión del intestino con destrucción o atrofia de su mucosa (capa interior del intestino), produciéndose una alteración en la absorción de los alimentos (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2008).

Tabla 14. Proteínas contenidas en las semillas de chíá.

Fracción proteica	Contenido (g/100 g de proteína total)	
	(Olivos, 2005)	(Sandoval, 2012)
Harina desengrasada		35.5 ± 0.6
Albuminas	3.9	17.3 ± 0.8
Globulinas	6.96	52.0 ± 1.1
Prolaminas	0.27	12.7 ± 0.2
Glutelinas	22.95	14.5 ± 0.2
Insoluble (residuo) (nitrógeno no proteico)	53.89	3.4 ± 0.6
Organopéptidos y aminoácidos libres (fracción perdida durante la extracción)	12.03	---

La estabilidad de las diferentes fracciones de proteínas depende de la temperatura que se aplique el momento de su uso, para las proteínas de chíá, en especial las prolaminas, su rango se encuentra entre los 60-103 °C, las temperatura de desnaturalización reportadas se recopilan en la tabla 15.

Tabla 15. Temperaturas de desnaturalización de las proteínas.

Fracción	Temperatura de desnaturalización (°C)	
	(Olivos, 2005)	(Sandoval, 2012)
Albuminas	60.74-101.14	103.6 ± 0.72
Globulinas	116.41-135.53	104.7 ± 0.24
Prolaminas	61.30-79.79	85.6 ± 0.60
Glutelinas	94.45-115.30	91.3 ± 0.85

2.3 Electroforesis capilar (EC).

La Electroforesis vista como una técnica de separación tuvo sus inicios con la observación de la migración de pequeños granos de arena (dióxido de silicio) al aplicar una corriente sobre dos electrodos sumergidos en agua y una capa fina de arena, descrito por primera vez por Reuss en 1809, tiempo después en 1816 se observó que al aplicar una corriente sobre agua, ésta se cargaba de forma positiva, teniendo una migración hacia el polo negativo creándose un flujo líquido que va en contra de la corriente eléctrica, a este fenómeno se le llama Fuerza electroendosmótica o también llamado Flujo electrosmótico (FEO) (Miguel, 2000). Estas propiedades dieron la pauta para la separación de compuestos usando una relación carga/masa.

La EC es una técnica poderosa y muy utilizada para el estudio de las proteínas, gracias a que es una técnica rápida, altamente sensible y automatizada. Metodologías basadas en las fracciones de OSBORNE durante el pretratamiento de las muestras han sido desarrolladas con éxito (Lookhart & Bean, 1995), consiguiendo así medir el contenido de

proteínas en granos de maíz (Zeinas), trigo (Gliadinas) (Bietz & Schmalzried, 1995, Bean, Bietz, & Lookhart, 1998), avena, arroz, cebada y centeno (Bean & Lookhart, 2000), obteniendo la identificación y clasificación de distintas variedades de estos granos con una alta resolución y rápida reproducibilidad.

Esta capacidad para diferenciar cultivares es importante durante la crianza, comercialización, utilización y en la investigación, debido a que el conocimiento de las proteínas de los cereales es transcendental para la predicción de la calidad, la identificación de líneas que garantizan un ingreso económico óptimo, el rendimiento, la resistencia genética, o la capacidad de adaptación de las plantas o cereales (Bean, Bietz, & Lookhart, 1998).

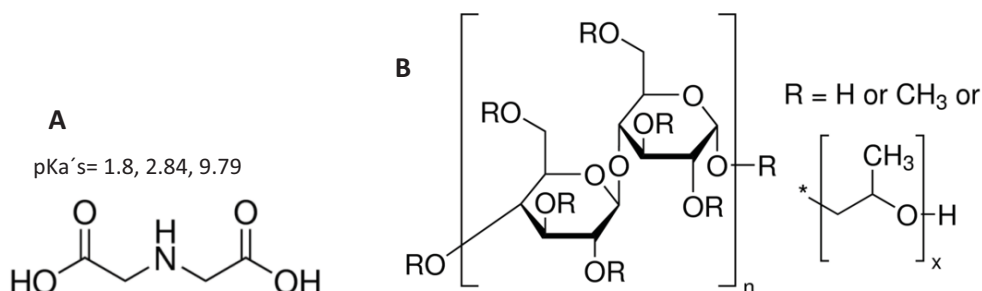


Imagen 3. Estructura química de los aditivos utilizados por Bean & Lookhart (1988). A) ácido iminodiacético B) hidroxipropilmetil celulosa, también llamado hipromelosa.

Estudios realizados por Bean & Lookhart en 1998 demostraron que las condiciones de separación óptimas para la identificación de prolaminas dependían del uso de hidroxipropilmetilcelulosa como recubrimiento dinámico del capilar, acetonitrilo (ACN) como aditivo, además del uso de un buffer isoeléctrico, como es el ácido iminodiacético (IDA) (imagen 3), que genera una baja corriente y rápida separación, concluyendo finalmente con la importancia de la remoción de las fracciones de albuminas y globulinas en la muestra, ya que éstas interactúan fijándose en las paredes del capilar aumentando la línea base y altura de los picos. Particularmente, para el caso de la chíca, con la utilización de la EC se ha logrado la separación y clasificación de globulinas (Molina, 2008 y Sandoval, 2012), mientras que la Electroforesis Capilar de Zona (ECZ) (imagen 4) sirvió para la determinación y cuantificación de compuestos polifenólicos contenidos en aceite y semilla (González, 2010 y Hernández, 2014), siendo utilizada más recientemente para clasificar diferentes tipos de semillas comerciales mediante el análisis de prolaminas, concluyendo que no existen diferencias significativas, pudiendo tener así un mismo origen (Lavias, 2014).

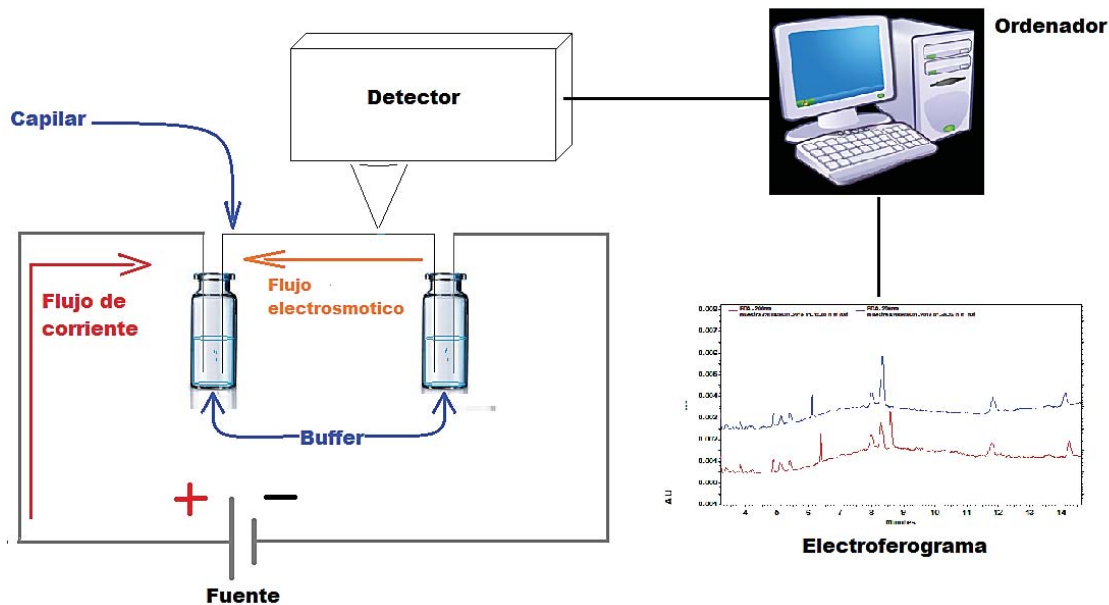


Imagen 4. Principales componentes de un equipo de EC. [Diagrama de Miguel Ángel Romero Aguilar]. (LADEMA-UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México). Archivo del autor.

2.3.1 Principales consideraciones para el uso de la ECZ.

- **Capilar.** En la actualidad los equipos empleados para esta técnica utilizan principalmente capilares constituidos por sílice fundida con un recubrimiento de poliimida, lo que les confiere un fácil manejo y flexibilidad, cuentan con una abertura interna de un diámetro que va de los 10 a los 200 μm , estos capilares son anticonvectivos, lo que elimina el uso de geles soporte, ya que debido a su pequeño diámetro, pero una gran superficie, el calor generado puede ser disipado rápidamente, finalmente los voltajes aplicados pueden ser altos, reduciendo así el tiempo de análisis (Osatinsky, 2007).
- **Buffer.** Debido a que la técnica se basa en las diferencias de movilidades (relación carga/masa) la selección del buffer es uno de los puntos críticos, ya que con él se busca imponer un pH donde las moléculas se encuentren cargadas, es decir, posean una carga neta y por lo tanto una movilidad. Las características principales de un buen buffer son; que no reaccione con la muestra, poca absorbancia y baja generación de corriente, por lo que es recomendable el uso de compuestos inorgánicos o biológicos en concentraciones de 10^{-3} a 10^{-1} M (Vargas, 2008).
- **Campo eléctrico.** Consiste en el gradiente de potencial que hace posible la separación por EC, se rige por la ley de Ohm donde $V=IR$ y depende los siguientes factores:

- **Diferencia de potencial (V).** Define el campo eléctrico, a mayor V mayor será la velocidad de migración, es medida en Volts.
 - **Intensidad (I).** Está relacionada con la resistencia Buffer, cuantifica el flujo de carga eléctrica y está relacionada con la diferencia de potencial.
 - **Resistencia (R).** Cuanto mayor sea la resistencia del buffer menor será la movilidad electroforética, una mayor concentración de buffer generara mayor viscosidad (una mayor fuerza iónica e intensidad de corriente) y por consiguiente una menor R.
 - **Temperatura.** El flujo de corriente genera calor, estando directamente relacionado con la diferencia de potencial y la resistencia del Buffer, si no se controla puede llegar a desnaturalizar las muestras (Hernández M. , 2014).
- **FEO.** Surge como consecuencia de la aplicación de un campo eléctrico sobre un capilar relleno con una solución conductora, atiende la teoría de la doble capa donde la interface entre un sólido y un líquido pueden formar una doble capa debido a dos fenómenos:
- Primero. Formación de una capa fija donde los iones en disolución se neutralizan parcialmente en la pared del capilar.
 - Segundo. Los iones que no fueron neutralizados forman una nueva capa.
 - Finalmente en el seno de la solución existe un equilibrio de cargas.

Estos fenómenos se deben a la ionización de los grupos silanol dentro de las paredes del capilar ocurriendo alguno de los siguientes posibles equilibrios:



Al aplicar un campo eléctrico la primera capa permanece inmóvil, mientras que la segunda y el seno de la solución se muevan en dirección al polo de carga opuesta. Estas interacciones crean un FEO casi uniforme y un perfil plano el cual no contribuye a la dispersión de zonas del analito. Las especies que se mueven con el FEO aumentan su velocidad de migración, si el analito se mueve en contra del FEO su velocidad disminuye. (Castillo, Revilla, & López, 2002).

- **Aditivos.** Éstos cambian el potencial zeta de la superficie del capilar y varían con el tipo de análisis, algunos ejemplos de ellos se muestran en la tabla 16.
- **Selección de un estándar Interno.** Dependiendo de la naturaleza y utilización de la muestra un compuesto de concentración conocida puede ser usado como referencia, su selección está relacionada con algunas de las siguientes características:

- Que sea un reactivo de alta pureza y estable.
- Que posea un tiempo de migración adecuado (dentro del tiempo de análisis del método).
- Que sea una especie cargada (esta característica depende del tipo de EC).
- Que sea un compuesto de naturaleza similar (molécula parecida) a la de los analitos.
- Que su señal no se traslape con la de ninguno de los analitos (condición de selectividad).
- Que tenga buena simetría de pico, una buena repetibilidad tanto en sus tiempos de migración como en sus áreas.

Tabla 16. Aditivos utilizados en EC. Laviás, 2014 (Tomado de Oda & Landers, 1997).

Aditivo	Ejemplo	Función
Sales inorgánicas	NaCl, CaCl ₂ , K ₂ SO ₄	Modifica el FEO, cambio conformacional e hidratación de proteínas.
Disolventes orgánicos	Metanol, ACN, Etilenglicol	Modifican el FEO, solubilización y solvatación de analitos
Aditivos orgánicos	Urea	Modifican el FEO, solubilización de proteínas, desnaturalización de oligonucleótidos.
Ácidos sulfónicos	Hexano, heptano, octano, análogos del nonano	Emparejamiento de los iones analito, interacciones hidrofóbicas
Aminas divalentes	Diaminoalcanos, bromuro de hexametonio	Modifican el FEO, neutralizan cargas, interacción de analitos.
Surfactantes catiónicos	Bromuro de dodeciltrimetilamonio (DTBA)	Inversión de carga en la pared del capilar, interacción hidrofóbica
Derivados de celulosa	Hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, hidroxietilcelulosa	Reducción del FEO, aporte de medio tamiz.

2.4 Uso de los parámetros de color.

Existe una gran cantidad de elementos que afectan la percepción del color, algunas de ellos son debidos a la fuente de luz, el contraste, la distancia, el tamaño del objeto e incluso la percepción del observador, por ello en 1976 la Comisión Internationale de L'Eclairage (CIE) creó unas coordenadas de color triestímulo referidos a la percepción del ojo humano, denominadas como L*, a*, b* o también llamadas coordenadas CIELab, interpretadas como:

- **L***, para colores claros u oscuros donde 100= blanco, 50= gris y 0= negro
- **a***, representa las tonalidades que van de verde (a<0) a rojo (a>0)
- **b***, indican tonos azules (b <0) a amarillos(b>0)

También existen algunas variaciones donde se aplica una relación entre los parámetros a y b como son el ángulo hue (h*), que orienta sobre la proporción de rojos y amarillos así

como la cromaticidad (C^*) que hace referencia a la saturación o pureza del color; estas coordenadas reciben el nombre de CIELhC (Konicaminolta, 2003) (imagen 5).

Estas coordenadas son un componente básico en la evaluación sensorial de los alimentos ya que sirven para la identificación de los grados de madurez en frutas de diferentes variedades (González, 2010 y Salinas, Almaguer, Peña, & Rios, 2009), vinos (Cabrera, Pérez, Rodríguez, Conde, & Pérez) e incluso de productos procesados como los embutidos (Frontela, López, Ros, & Martínez, 2006), ampliando sus aplicaciones a polímeros, textiles, tintas, etc.

Otro parámetro importante es el llamado Índice de Blancura (WI por sus siglas en inglés Whiteness index). Un producto depende de su naturaleza y aplicación. Los materiales naturales, como el algodón o lana, tienden a producir un tinte amarillento visto frecuentemente como un defecto de calidad debido al envejecimiento o la suciedad, por lo cual la industria modifica los materiales para compensar este efecto. (Konica Minolta). Esta medida tiene un amplio uso en la industria textil, del papel extendiéndose a la de medicamentos, plásticos, cerámica y alimentos. Una superficie blanca ideal debe tener un WI igual a 100 (Montoya, Giraldo, & Lucas, 2012).

El color en los aceites vegetales está relacionado con los pigmentos; en el caso de la chía presenta carotenoides siendo el β -carotenoide el compuesto principal y no presenta clorofilas (Ixtaina V. , 2010), aún no existe un estándar de color para el aceite ni la semilla de chía.

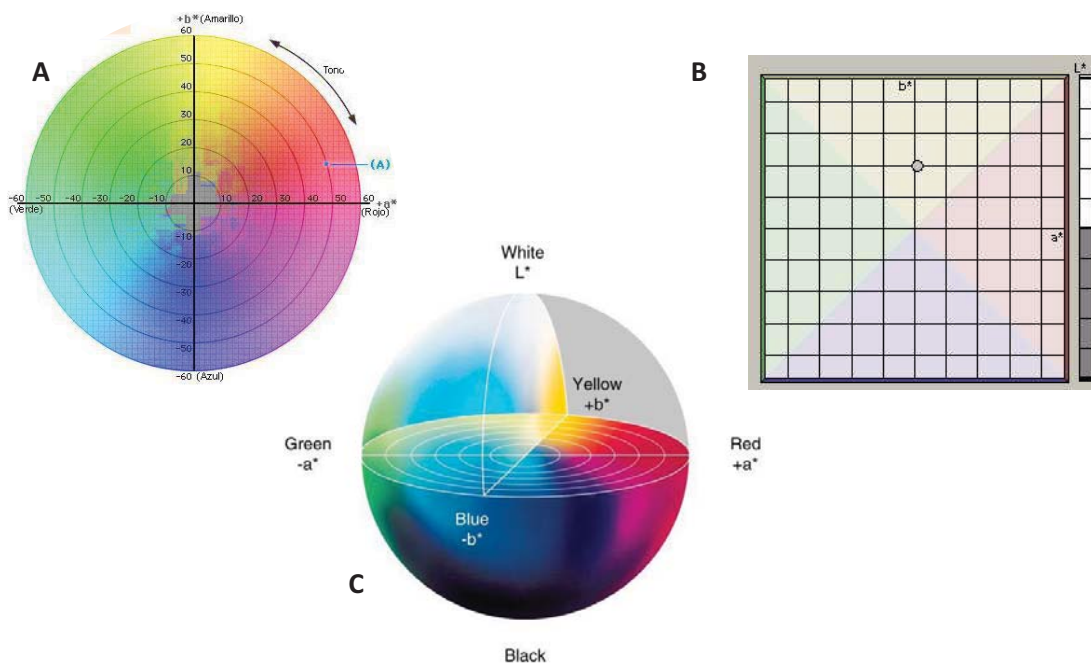


Imagen 5. A) Muestra del comportamiento y uso del parámetro a, b y L dentro del sistema Hunter B) Espacio de color CIELhC, C) Espacio de color CIE Lab (Konicaminolta, 2003).

3 Objetivos.

3.1 Objetivo general.

Identificar y clasificar diferentes variedades de chía (*Salvia hispanica* L.) mediante el análisis del perfil de proteínas usando la técnica de electroforesis capilar, con la finalidad de lograr un registro basado en la relación genotipo-fenotipo, contribuyendo así al conocimiento de las diferencias entre estas variedades (razas) de *Salvia hispanica* y con esto ayudar indirectamente a fomentar la utilización de cultivos salvajes que puedan enriquecer la variabilidad genética y coadyuve al mejoramiento genético de ésta planta.

3.2 Objetivos específicos.

- Llevar a cabo una limpieza física de las 18 muestras de semillas de chía comercial y silvestre, con la finalidad de dejarlas libres de partículas extrañas que pudieran influir en los resultados.
- Realizar la medición de algunos parámetros físicos de las 18 muestras de chía comercial y silvestre (% aceite, color, parámetros colorimétricos, tamaño y peso de las semillas), con la finalidad de encontrar diferencias que contribuyan a su caracterización.
- Llevar a cabo el pretratamiento de las muestras de las semillas de chía, con la finalidad de realizar el fraccionamiento de las proteínas presentes en la harina de chía, método de Osborne y de esta forma obtener las prolaminas.
- Seleccionar el estándar interno adecuado a utilizar en la técnica de electroforesis capilar, con la finalidad de evaluar la repetibilidad y por ende la confiabilidad del método.
- Elegir las señales de las prolaminas que presenten más diferencias entre las muestras, ya que después se utilizarán para la identificación y propuesta de clasificación entre fenotipos/genotipos de chía.

4 Hipótesis.

- Si se ha logrado la identificación de variedades de granos como maíz y trigo mediante el perfil específico de prolaminas obtenido por EC, entonces, con los perfiles específicos de prolaminas de las semillas de chía, en conjunto con la evaluación de otros parámetros físico-químicos (porcentaje de aceite, tamaño, color, peso de la semilla y parámetros colorimétricos) que han mostrado diferencias, es posible la identificación y clasificación de distintos fenotipos/genotipos de chía.

5 Metodología.

5.1 Materiales.

5.1.1 Equipos.

- Equipo de electroforesis capilar P/ACE MDQ con detector de arreglo de diodos Beckman Coulter (Fullerton CA.-USA) y cartucho con apertura # 2 (200 μm).
- Centrifuga Allegra™ 21, BeckmanCoulter (Fullerton CA.-USA).
- pH-metro sensION+ PH3 Benchop (Hach Colorado-USA).
- Electrodo 50 10 T (Hach Colorado-USA).
- Rotavapor Büchi R-114 con baño de agua Büchi B-481 (Büchi labortechnik AG-Suiza).
- Espectrofotómetro CM-600d (Konica Minolta-Japón).
- Microscopio estéreo modelo V-S4 (Velab microscopes-USA).
- Cámara digital (AmpScope-USA).
- Desionizador MilliQ (Millipore MA- USA).
- Sonicador (Transtonic 750-Alemania).
- Balanza analítica (Boeco-Alemania).
- Vortex Maxi Mix II (Thermolyne-USA).
- Micropipeta 50 μm (EPPENDORF 3130-Alemania).
- Licuadora clásica de dos velocidades modelo 465-15 (Oster-USA)

5.1.2 Reactivos.

- Hidroxipropilmetilcelulosa (Sigma Aldrich-St. Louis, Missouri, USA).
- Ácido iminoacético (Fluka, Hannover-Alemania).
- ACN grado HPLC (J.T. Baker-Center Valley, USA).
- Agua desionizada.
- Hexanos A.C.S. (MEYER, Tlahuac-México D.F.).
- Cloruro de potasio (Mallinckrodt-St. Louis, MO, USA).
- Etanol absoluto HPLC (Fermont-Monterrey, México).
- Hidróxido de sodio (Fermont-Monterrey, México).
- Hidroxipropilmetilcelulosa (Sigma Aldrich-St. Louis, Missouri, USA).
- Tris (hidroximetil)amino-metano (Sigma Aldrich-St. Louis, Missouri, USA).
- Ácido etilendiamintetraacético (EDTA) (J.T. Baker-Center Valley, USA).
- Succinato de doxilamina (Donación Bayer de México, Lerma, Toluca).

5.1.3 Características del capilar.

- Capilar de sílice fundida con recubrimiento externo de poliimida. (Polymicro Technologies, Phoenix-USA).
- Diámetro interno 50 μm .

- Longitud total 32.0 cm.
- Longitud al detector 21.5 cm.

5.2 Preparación de soluciones.

- Buffer de separación (Buffer S.): Se realizó un Buffer de IDA (50 mM) + Hidroxipropilmetilcelulosa (0.05 %) + ACN (20 %) + aforado con agua desionizada a un pH= 2.4.
- Solución de Tris (hidroximetil) aminometano (50 mM), EDTA sódico (5 mM) y KCl (50 mM).
- Una solución de NaOH 0.2 M.
- Una solución de alcohol:agua 70:30 V/V.

5.3 Clasificación de las muestras:

La tabla 17 muestra la localidad de procedencia, la coloración y el tipo de propagación de las semillas, donde propagación se refiere a si son o no cultivadas por el hombre, dividiéndose en silvestres (**Sil**), cultivadas (**Cul**), o las que presentan la leyenda de Ambas (**Amb**), nombradas así debido a que las semillas fueron tomadas de las naturaleza y están en proceso de domesticación, basándose en si la planta cultivada es dehiscente (que le planta bota la semilla de forma natural para su propagación, semillas silvestres) o indehiscente (que debido al continuo manejo por el hombre perdió la capacidad de propagar su semilla de forma autónoma, semillas cultivadas).

La mayoría de las muestras de trabajo fueron sembradas y cosechadas en el Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma de Chapingo, Estado de México (altitud 2,250 m, Latit. N 19° 29' y Long. W 98° 53') por el Dr. José Alfonso Hernández Gómez; logrando así que las características de las semillas no se vea influenciados por las condiciones geográficas, abarcando los tipos Silvestres, Cultivados y Ambos (muestras 5-16), las restantes (muestras 1-4, 17 y 18) fueron conseguidas directamente con los productores adquiriendo tipos Cultivados y Ambos que pueden ser contrastados en el análisis.

5.3.1 Limpieza y preparación de las muestras.

Se realizó la remoción de impurezas auxiliado por métodos físicos (uso de tamiz y/o a mano). Se quitaron restos de hojas, ramas, semillas rotas o huecas y semillas de maleza.

5.4 Determinación del peso de las semillas.

Se contaron y pesaron semillas de cada muestra para obtener el peso promedio de las semillas, por lo que se reporta el peso de mil semillas.

5.5 Determinación del tamaño de las semillas.

La toma de imágenes se realizó utilizando un microscopio Velabmicroscopes V-54® y el programa Am Scope Digital camera®. En la obtención de las dimensiones de las diferentes semillas se manejó el software Image Pro Express® con un aumento de 10x.

5.6 Obtención del contenido de aceite.

- Se molió en una licuadora la semilla de chía a velocidad 2 por 40 segundos.
- Enseguida se hizo pasar la harina obtenida por un tamiz No. 20, se pesaron 5 g y se colocaron en un cartucho de papel filtro poro chico.
- Para la extracción de aceite se utilizó un equipo Soxhlet con hexanos (mezcla de isómeros) como disolvente con una duración de 6 h (González, 2010).
- Finalmente con ayuda de un rotavapor Büchi R144® se eliminó el exceso de disolvente, el matraz se colocó en un desecador para llevar a peso constante y el contenido de aceite se determinó por diferencia de peso.
- La harina desengrasada se colocó en bolsas de plástico y se resguardaron en un desecador hasta su uso.

5.7 Extracción de prolaminas.

1. Primero se pesaron 0.7 g de harina desengrasada en un tubo para centrífuga.
2. Después se agregó al tubo 5 mL de la solución compuesta por Tris-HCl, EDTA sódico y cloruro de potasio y se agitó en vórtex durante 5 minutos (velocidad de 3/4 del total).
3. Posteriormente se centrifugó a 13,000 rpm durante 15 min, transcurrido el tiempo se eliminó el sobrenadante (eliminación de albuminas y globulinas).
4. Al pellet formado se vertieron 3 mL de agua desionizada, se agitó nuevamente en vórtex (velocidad de 3/4 del total) durante 1 min y se centrifugaron a 13,000 rpm durante 15 min, finalizado el tiempo se desechó el sobrenadante.
5. Al nuevo pellet formado se adicionó 5 mL de etanol al 70 %, agitando por última vez en vórtex (velocidad de 3/4 del total) durante 10 min, para centrifugar finalmente a 13,000 rpm durante 15 min (obtención de prolaminas).
6. Se recolectó el sobrenadante, al cual se le agregaron 50 ppm del estándar interno (Succinato de Doxilamina) y se llevó a un aforo 5 mL, esta última solución se hizo pasar por un acrodisco de 0.45 µm para su uso inmediato.

La imagen 6 muestra las características observadas durante la extracción de prolaminas, las flechas de color azul muestran el inicio y eliminación de albuminas y globulinas, las naranjas la extracción de la fracción de prolaminas, finalmente las rojas la obtención del extracto utilizado en la obtención del perfil de prolaminas.

Tabla 17. Ubicación geográfica, tipo de propagación y color de las muestras utilizadas durante el estudio. Las coordenadas corresponden al lugar donde se sembraron las semillas, no su lugar de origen. Las coordenadas de la ubicación de origen se muestran en el Anexo 1.

Clasificación	Localización	Ciudad/País	Color	Propagación ^{ix}	Lat. N	Long. W	Altitud (m)	Donado
Jal.Cul.Bla.01	La Arena, Zapotlanejo.	Jalisco	Blanca	Cul	20° 27'	102° 52'	1522	Dra. María Gabriela Vargas Martínez
Jal.Cul.Bla.02	Tierra roja, Arandas.	Jalisco	Blanca	Cul	20° 36'	102° 00'	2000	Dra. María Gabriela Vargas Martínez
Jal.Cul.Pin.03	La Arena, Zapotlanejo.	Jalisco	Pinta	Cul	20° 27'	102° 52'	1522	Dr. María Gabriela Vargas Martínez
Jal.Cul.Pin.04	Tierra roja, Arandas.	Jalisco	Pinta	Cul	20° 36'	102° 00'	2000	Dra. María Gabriela Vargas Martínez
Gro.Amb.Neg.05	Chiepetlán, Artesanos de Olinalá.	Guerrero	Negra	Amb	19° 29'	98° 53'	2250	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Gro.Amb.Bla.06	Áreas de cultivo en Cuescomapa.	Guerrero	Blanca	Amb	19° 29'	98° 53'	2250	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Gro.Amb.Neg.07	Productores de Temalacacingo.	Guerrero	Negra	Amb	19° 29'	98° 53'	2250	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Gro.Amb.Neg.08	Productores de Temalacacingo.	Guerrero	Negra	Amb	19° 29'	98° 53'	2250	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Gtm.Cul.Neg.09	Mercado de la ciudad de Guatemala.	Guatemala	Negra	Cul	19° 29'	98° 53'	2250	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Slv.Cul.Neg.10	Mercado de San Salvador.	El Salvador	Negra	Cul	19° 29'	98° 53'	2250	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Oax.Cul.Neg.11	Mercado de la Ciudad de Oaxaca.	Oaxaca	Negra	Cul	19° 29'	98° 53'	2250	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Chih.Sil.Neg.12	Sierra cerca del pueblo Los Pilares	Chihuahua	Negra	Sil	19° 29'	98° 53'	2250	Dr. Robert Bye (16665) Jardín Botánico UNAM.
Chih.Sil.Neg.13	Sierra cerca del pueblo Tubares.	Chihuahua	Negra	Sil	19° 29'	98° 53'	2250	Dr. Robert Bye (01445) Jardín Botánico UNAM
Sin.Sil.Neg.14	Mittlenam, Santa Lucia.	Sinaloa	Negra	Sil	19° 29'	98° 53'	2250	Dr. Joseph P. Cahill, provenientes de la colección Howard Gentry, UC-Riverside.
Pue.Cul.Neg.15	Mercado de Tepalcingo. (San Francisco Xochiteopan)	Puebla	Negra	Cul	19° 29'	98° 53'	2250	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Pue.Cul.Neg.16	Mercado de Cuernavaca.	Puebla	Negra	Cul	19° 29'	99° 53'	2250	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Pue.Amb.Bla.17	Productores de Tochimilco.	Puebla	Blanca	Amb	18° 54'	98° 34'	2060	Miguel Ángel Romero Aguilar
Pue.Amb.Neg.18	Productores de Tochimilco.	Puebla	Negra	Amb	18° 54'	98° 34'	2060	Miguel Ángel Romero Aguilar

^{ix}Forma de Propagación de las semillas sembradas originalmente, Cul= cultivada (comercial), Sil= Silvestre, Amb= Ambas.

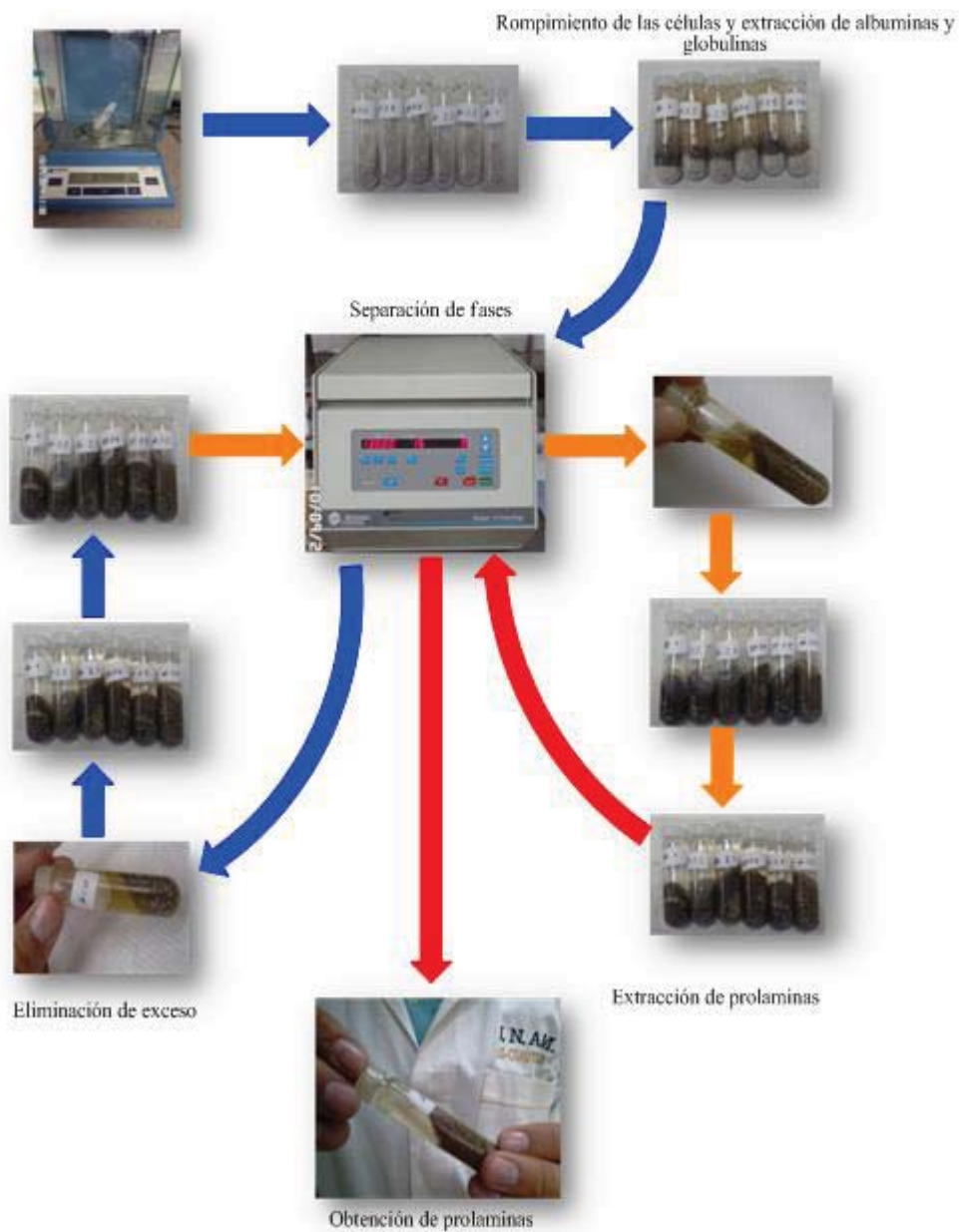


Imagen 6. Observaciones durante la metodología. [Fotografía de Miguel Ángel Romero Aguilar]. (LADEMA-UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México). Archivo del autor.

5.8 Obtención del perfil de prolaminas.

5.8.1 Acondicionamiento del capilar.

Se armó un capilar con las condiciones antes descritas y se acondicionó con las especificaciones siguientes.

- En un capilar nuevo (tabla 18).

- Acondicionamiento inicial (por día) (tabla 19).
- Condiciones de Separación (tabla 20).

Tabla 18. Condiciones de lavado para el uso de un capilar nuevo.

Acción	Solución	Tiempo (min)	Temperatura (°C)
1-Lavado	Agua desionizada	3	25
2-Lavado	NaOH (0.2M)	10	40
3-Lavado	NaOH (0.2M)	2	25
4-Lavado	Agua desionizada	2	25
5-Lavado	Buffer	10	40

Tabla 19. Condiciones de lavado para el acondicionamiento del capilar al inicio día.

Acción	Solución	Tiempo (min)	Temperatura (°C)
1-Lavado	Agua desionizada	3	40
2-Lavado	NaOH (0.2M)	10	40
3-Lavado	Agua desionizada	5	40
4-Lavado	Buffer	40	40

Tabla 20. Condiciones utilizadas en la separación de prolaminas de chí.

Acción	Solución	Tiempo (min)	Presión (psi)	Voltaje (kV)	Longitud (nm)	Temperatura (°C)
Lavado entre corridas	Buffer	15	25			40
Inyección	Muestra	0.5 seg	0.5			40
Voltaje		15		15	200	40

5.9 Tratamiento estadístico.

Para el análisis de resultados se utilizaron los softwares:

- Paquetería de Microsoft office Excel®.
- StatgraphicsCenturion IV®.
- Minitab 17®.
- 32 karat®.
- AmpScope Digital Camera®.
- Image pro express®.

6 Resultados y análisis.

6.1 Limpieza de las muestras.

Las semillas se hicieron pasar por diferentes tamices (No. 12, No. 20 y No. 30) para eliminar sólidos grandes y pequeños (imagen 7 y 8) que pudieran interferir para la obtención de los perfiles.

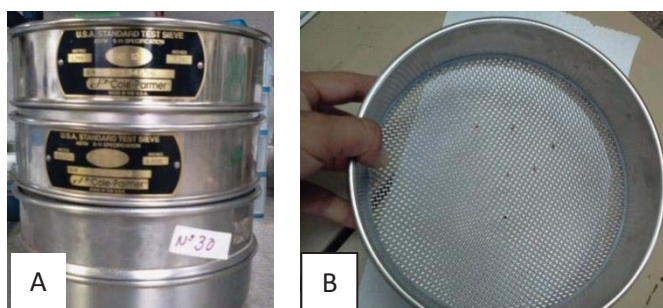


Imagen 7. A) Tamices (12, 20 y 30) utilizados para la limpieza y separación de las semillas, B) Alguna de las partículas grandes separadas en un tamiz malla 12. [Fotografía de Miguel Ángel Romero Aguilar]. (LADEMA-UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México). Archivo del autor.



Imagen 8. Semilla de chía recolectadas en tamiz malla 20. [Fotografía de Miguel Ángel Romero Aguilar]. (LADEMA-UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México). Archivo del autor.

Debido a la presencia de algunas áreas de distinta coloración, se llevó a cabo la remoción de semillas “vacías” (la coloración café en las semillas demuestra una maduración incompleta) (Hernández, 2008) y restos de planta seca por selección física en la fracción recolectada en el tamiz No. 20 (imagen 9).

La selección por sus características físicas permitió disminuir de esa manera las posibles interferencias al obtener una semilla con la coloración lo más uniforme posible (imagen 10).



Imagen 9. Selección física de los residuos presentes en las semillas de chíá. [Fotografía de Miguel Ángel Romero Aguilar]. (LADEMA-UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México). Archivo del autor.



Imagen 10. Semillas después de la remoción de las partes secas. [Fotografía de Miguel Ángel Romero Aguilar]. (LADEMA-UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México). Archivo del autor.

Al observar por medio de un microscopio los residuos, estos se clasificaron en restos de plantas secas, semillas inmaduras, secas y rotas, atacadas por hongos, y semillas extrañas, las fotografías se recopilan en la imagen 11.

Las impurezas removidas eliminaron posibles interferencias en el análisis del contenido de aceite o de proteínas. El principal origen de estas interferencias puede deberse al tipo de recolección de la semilla, donde las cultivadas de manera tradicional presentan menor daño en las semillas y mayor pureza de éstas, en comparación con las que son cultivadas de forma comercial, en las que la recolección es auxiliada por maquinaria. Tales diferencias aumentan la probabilidad de encontrar mayor cantidad de restos secos de hojas, semillas rotas con o sin cascara y semillas ajenas como son las de *Amarantus hybridus* (Vera, 2014), que crece en los campos de cultivo pero por el tipo de recolección no es separada al momento de la cosecha.

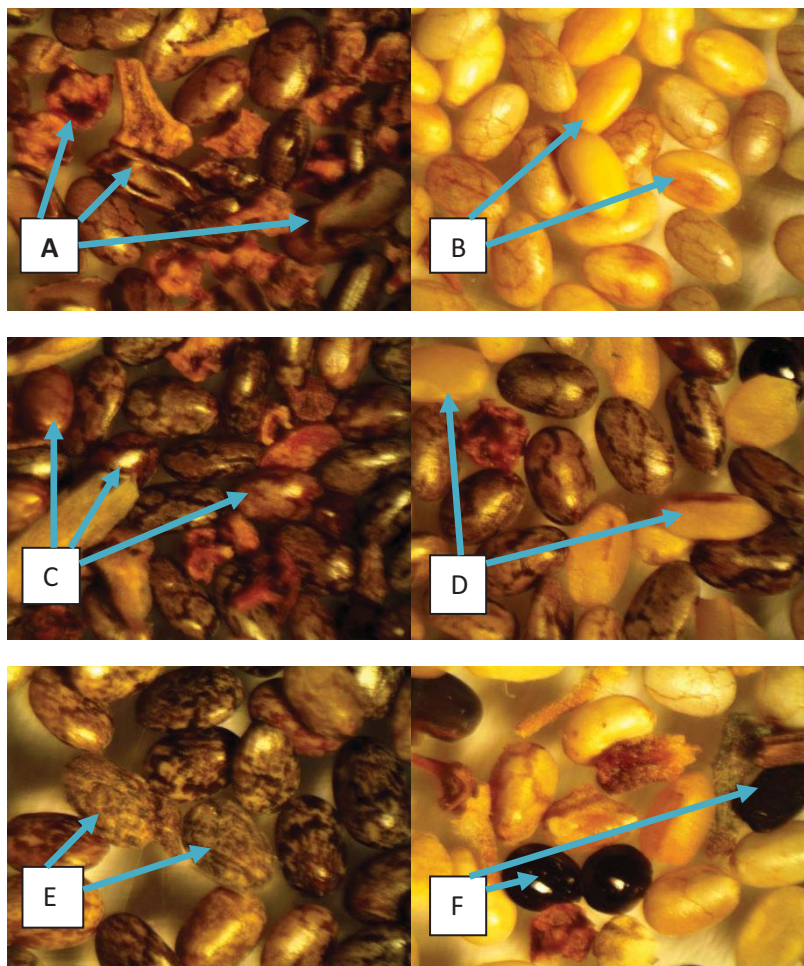


Imagen 11. Residuos encontrados en las semillas A) restos de planta seca, B) semillas inmaduras, C) semillas secas, D) Semillas rotas (debido al tipo de recolección), E) semillas atacadas por hongos, y F) semillas ajenas (*Amarantus hybridus*). [Fotografía de Miguel Ángel Romero Aguilar]. (Laboratorio de microbiología UIM-UNAM Campo 4, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México). Archivo del autor.

6.2 Determinación del peso de las semillas.

Se contaron y pesaron 200 semillas de cada muestra para obtener el peso promedio de 1,000 semillas (imagen 12).

Los pesos obtenidos durante el estudio se compararon con los reportados anteriormente por varios autores (tabla 21), según reporta Lavias en 2014 los perfiles de proteínas cambian dependiendo de las características geográficas, por lo que se puede suponer que las propiedades físicas también son afectadas.

En general los pesos de las semillas son similares a los ya reportados, por lo que se continuó con análisis univariantes para conocer la influencia de varios factores sobre el peso de las semillas.



Imagen 12. 200 semillas de chía, (Izquierda) blanca y (derecha) negras. [Fotografía de Miguel Ángel Romero Aguilar]. (LADEMA-UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México). Archivo del autor.

Tabla 21. Pesos promedio reportados de las diferentes muestras de chía.

Muestra	Obtenidos	Peso de mil semillas (g)		
		Vera S., 2014	Ixtaina V., 2010	Hernández G., 2008
Jal.Cul.Bla.01	1.157	Blancas	---	Blancas
Jal.Cul.Bla.02	1.136	1.200	---	1.122
Jal.Cul.Pin.03	1.223	Negras	---	Negras
Jal.Cul.Pin.04	1.208	1.100	---	1.265
Gro.Amb.Neg.05	0.806	---	---	0.825
Gro.Amb.Bla.06	0.819	---	---	0.870
Gro.Amb.Neg.07	1.024	---	---	
Gro.Amb.Neg.08	1.111	---	---	1.162
Gtm.Cul.Neg.09	1.163	---	1.115	1.177
Slv.Cul.Neg.10	1.226	---	---	1.180
Oax.Cul.Neg.11	1.192	---	---	1.092
Chih.Sil.Neg.12	1.276	---	---	1.020
Chih.Sil.Neg.13	1.034	---	---	1.071
Chi.Sil.Neg.14	0.894	---	---	1.027
Pue.Cul.Neg.15	1.109	---	---	1.195
Pue.Cul.Neg.16	1.089	---	---	1.197
Pue.Amb.Bla.17	1.201	---	---	---
Pue.Amb.Neg.18	1.268	---	---	---

6.3 Influencia de los factores en el peso de la semilla.

Como se puede ver en la figura 1, no se observan diferencias significativas en los pesos de las semillas de chía con respecto al tipo de propagación del cultivo ($P > 0.05$), coloración de la semilla y localidad de origen por lo que se aceptó H_0 : donde todas las medias son iguales. Detalles de la prueba de hipótesis y el análisis de varianza se pueden ver en el Anexo 1. Cabe hacer mención que aunque no se cumple la homocedasticidad (igualdad de varianzas) para los análisis usando los factores localidad y forma de propagación, se realizó la prueba estadística equivalente no paramétrica (prueba de Kruskal-Wallis) obteniendo la misma conclusión con la aceptación de H_0 , por lo que no existen diferencias

significativas entre las medias. Sin embargo, en la figura 1-C y basándonos en la tabla de la prueba de múltiples rangos (tabla 22), se observa una diferencia entre los pesos de las semillas de Guerrero (05, 06) y Sinaloa (14) con el resto de las localidades estudiadas (tabla 21), siendo en promedio un 27.69 % más ligeras que las demás. También puede verse que existe una mayor dispersión en los pesos de las semillas cuando la propagación es dehiscente (que la planta bota la semilla) que son los casos de semillas silvestres y la opción ambas, mientras que cuando es indehiscente presentan pesos mucho más uniformes. De ahí se deriva que las semillas cultivadas que en su mayoría son pintas, presenten una muy baja dispersión en sus pesos.

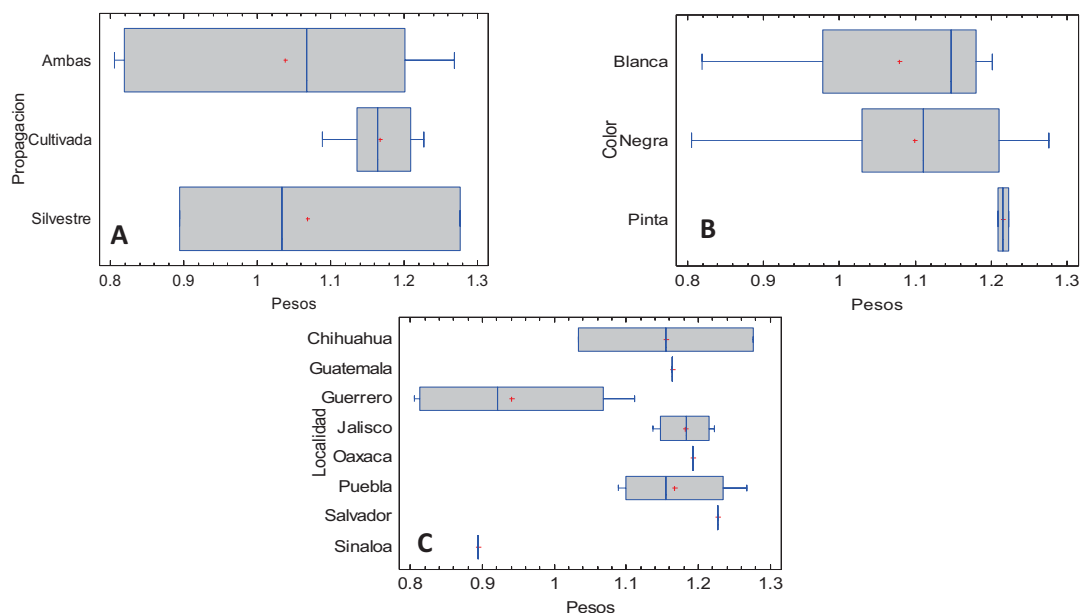


Figura 1. Influencia del factor A) propagación, B) color de la semilla y C) localidad de procedencia en el peso de la semilla de chí.

Tabla 22. Selección de los casos significativos de la Prueba de Múltiples Rangos para pesos por localidad de procedencia. Método: 95.0 %diferencia mínima significativa (LSD).

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Guerrero – Jalisco	*	-0.24125	0.175527
Guerrero – Puebla	*	-0.226625	0.175527
Guerrero – Salvador	*	-0.286375	0.277533
Jalisco – Sinaloa	*	0.287375	0.277533

* indica una diferencia significativa.

6.4 El color de las semillas.

La coloración de las semillas se evaluó utilizando un espectrofotómetro con el cual se obtuvieron las coordenadas a, b y L (sistema CIELab), con las que se calcularon las coordenadas de Cromaticidad (C*), Tono (H*) (Sistema CIELhC) y el Índice de Blancura (WI) siguiendo la ecuación de Hunt (valores promedio y ecuaciones en el anexo 3).

Tabla 23. Promedios de los diferentes parámetros colorimétricos de las muestras de chía.

Parámetro	L	a	b	WI
Muestra	Promedio			
Jal.Cul.Bla.01	63.76	3.54	11.45	40.0250
Jal.Cul.Bla.02	61.59	3.43	11.81	36.4517
Jal.Cul.Pin.03	41.46	2.60	7.25	27.4950
Jal.Cul.Pin.04	40.90	2.59	8.65	22.7350
Gro.Amb.Neg.05	34.44	2.92	7.30	21.3017
Gro.Amb.Bla.06	59.44	3.61	12.04	34.1483
Gro.Amb.Neg.07	36.81	2.69	6.56	25.1900
Gro.Amb.Neg.08	41.06	2.00	7.50	24.5717
Gtm.Cul.Neg.09	37.43	3.23	7.18	25.5683
Slv.Cul.Neg.10	37.38	3.08	7.13	25.2000
Oax.Cul.Neg.11	36.74	3.52	8.43	21.9900
Chih.Sil.Neg.12	37.30	3.29	7.91	23.4217
Chih.Sil.Neg.13	38.05	3.11	8.25	22.6283
Sin.Sil.Neg.14	37.29	2.78	7.77	22.3117
Pue.Cul.Neg.15	34.58	2.74	7.16	21.3267
Pue.Cul.Neg.16	32.86	2.66	6.85	20.2917
Pue.Amb.Bla.17	64.10	3.04	11.54	38.5917
Pue.Amb.Neg.18	34.40	2.36	6.09	23.2250

Los valores recopilados en la tabla 23 muestran las coordenadas a*(verde-rojo), b* (azul-amarillo) y L* (negro-blanco), concluyendo que las semillas de chía presentan en general una coloración ligeramente roja-amarilla con tonalidades grises a excepción de las semillas blancas que presentan un comportamiento rojo con mayor tonalidad amarilla y colores claros. La identificación de estos colores concuerda con estudios reportados por Ixtaina (2010) donde menciona que el color en los aceites vegetales está relacionado con los pigmentos. La chía en particular no presenta clorofilas en su estructura; sin embargo, contiene el β -caroteno como compuesto principal, lo que le brinda coloraciones amarillas o naranjas.

Por otro lado, el WI al ser un parámetro específico del conjunto de todas las variables obtenidas en un rango definido nos puede indicar diferencias, brindando en primer lugar una clara diferencia entre semillas blancas y negras; de esta manera se logró un análisis más simple.

6.4.1 WI en las muestras.

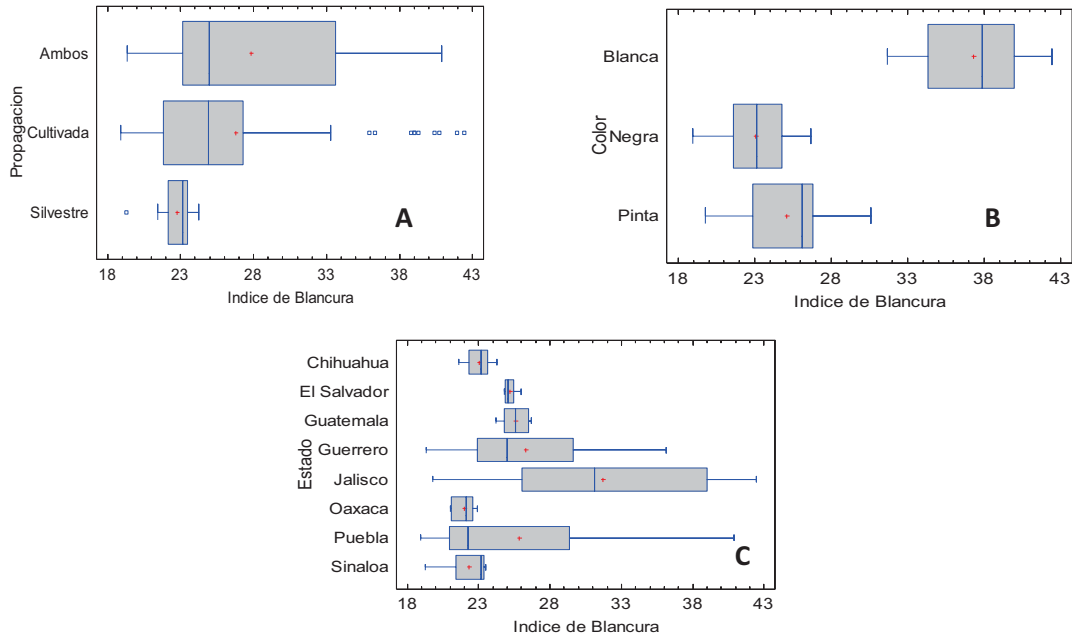


Figura 2. Influencia de los factores A) propagación, B) color de la semilla y C) localidad de procedencia, en el WI de todas las muestras de chí.

Tabla 24. Selección de los casos significativos de la Prueba de Múltiples Rangos para WI por localidad de procedencia, para todas las muestras, Método: 95.0 porcentaje LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Chihuahua – Jalisco	*	-8.65167	3.99002
El Salvador – Jalisco	*	-6.47667	5.15109
Guatemala – Jalisco	*	-6.10833	5.15109
Guerrero – Jalisco	*	-5.37375	3.25784
Jalisco – Oaxaca	*	9.68667	5.15109
Jalisco – Puebla	*	5.81792	3.25784
Jalisco – Sinaloa	*	9.365	5.15109

* indica una diferencia significativa.

La figura 2 muestra los diferentes análisis realizados con el índice de blancura (prueba de hipótesis en el anexo 4). Para todos los casos $P < 0.05$, rechazándose la H_0 , por lo que si existen diferencias significativas entre las medias como lo indica la H_1 . Se observa que todas las muestras analizadas por el factor localidad (figura 2C), presentan diferencias significativas con el estado de Jalisco (tabla 24) eso puede ser debido a que las semillas predominantes en dicho estado son las blancas y pintas las cuales tiene un alto grado de domesticación y cruzamiento, aun así existen diferencias significativas para cada tipo de coloración (tabla 25) por lo que si tiene sentido la clasificación que se realiza en éste trabajo de semillas negras, blancas y pintas. También se observa que hay diferencias significativas debidas al tipo de propagación siendo más oscuras las semillas silvestres (tabla 26), indicando esto que la domesticación del hombre y el mayor cruzamiento en los

cultivos afecta la blancura de las semillas por lo tanto este parámetro puede ser bien utilizado para su clasificación. Adicionalmente se observó que las semillas blancas tienden a presentar valores superiores de WI (50 a 60 %) y L (50 a 70 %) respecto a las muestras pintas y negras.

Tabla 25. Selección de los casos significativos de la Prueba de Múltiples Rangos para WI por color de la semilla, para todas las muestras.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Blanca – Negra	*	14.2186	1.12946
Blanca – Pinta	*	12.1892	1.69419
Negra – Pinta	*	-2.02944	1.49413

* indica una diferencia significativa.

Tabla 26. Selección de los casos significativos de la Prueba de Múltiples Rangos para WI por tipo de propagación, para todas las muestras. Método: 95.0 porcentaje LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Ambos – Silvestre	*	5.05083	3.51524
Cultivada – Silvestre	*	3.99981	3.3142

* indica una diferencia significativa.

6.4.2 WI blancas vs pintas

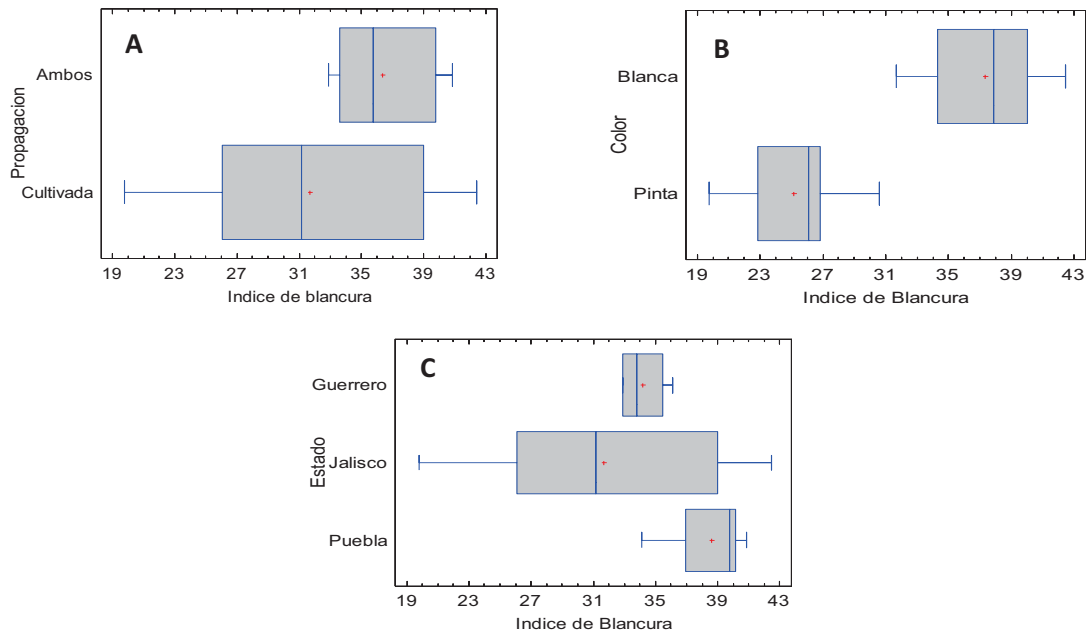


Figura 3. Influencia de los factores, A) propagación, B) color de la semilla y C) localidad de procedencia, en el WI de las semillas blancas y pintas.

Los análisis (prueba de hipótesis en anexo 4.1) muestran que no se acepta H_0 , es decir que hay una diferencia significativa entre la coloración de la semilla blanca y pinta.

Mientras que para el tipo de propagación y la localidad si se acepta Ho (tanto en la prueba paramétrica, como en la no paramétrica) (tabla 27).

Tabla 27. Prueba de Múltiples Rangos para WI por color de la semilla, para semillas blancas y pintas. Método: 95.0 porcentaje LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Blanca – Pinta	*	12.1892	2.27906

* indica una diferencia significativa.

6.4.3 WI en muestras negras.

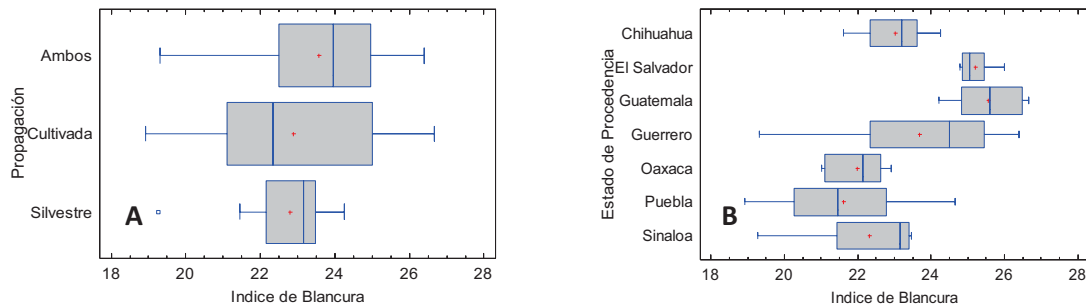


Figura 4. Influencia de los factores A) propagación y B) localidad de procedencia, en el WI de las semillas negras.

Tabla 28. Selección de los casos significativos de la Prueba de Múltiples Rangos para WI por localidad de procedencia, para semillas negras. Método: 95.0 porcentaje LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Chihuahua - El Salvador	*	-2.175	1.52216
Chihuahua – Guatemala	*	-2.54333	1.52216
Chihuahua – Puebla	*	1.41056	1.13455
El Salvador – Guerrero	*	1.51222	1.43511
El Salvador – Oaxaca	*	3.21	1.75764
El Salvador – Puebla	*	3.58556	1.43511
El Salvador – Sinaloa	*	2.88833	1.75764
Guatemala – Guerrero	*	1.88056	1.43511
Guatemala – Oaxaca	*	3.57833	1.75764
Guatemala – Puebla	*	3.95389	1.43511
Guatemala – Sinaloa	*	3.25667	1.75764
Guerrero – Oaxaca	*	1.69778	1.43511
Guerrero – Puebla	*	2.07333	1.01478

* indica una diferencia significativa.

La figura 4 muestra los análisis para el WI aplicado sólo a semillas negras (mayores detalles en el anexo 4.3), no se observaron diferencias significativas para el tipo de propagación de las semilla, por lo que se aceptó Ho, el factor localidad de procedencia presentó diferencias por lo que se acepta H1. Las semillas que presentan una coloración

más “clara” son las correspondientes a los países de Centro América (Guatemala y El Salvador) respecto a los estados de Chihuahua, Oaxaca, Puebla y Sinaloa, siendo las más “oscuras” las pertenecientes a Oaxaca y Puebla. Por otro lado, el estado de Guerrero muestra una coloración intermedia, ya que presenta diferencias con Guatemala, El Salvador, Puebla y Oaxaca, así como similitud con Chihuahua (ver tabla 28). Este parámetro (WI) muestra diferencias significativas, dependiendo del estado e incluso el país de origen en semillas negras.

6.4.4 WI en semillas blancas.

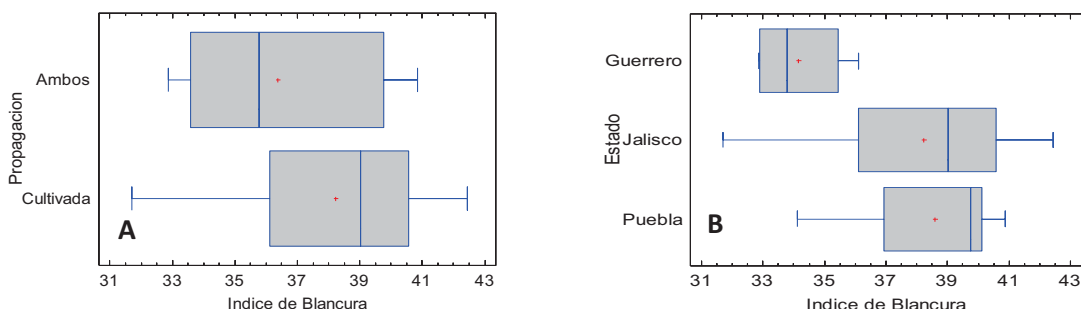


Figura 5. Influencia de los factores A) propagación y B) localidad de procedencia, en el WI de las semillas blancas.

No existen diferencias significativas del WI de las semillas de chíá con respecto al tipo de propagación ($P=0.1650$), por lo que se acepta H_0 (prueba de hipótesis en anexo 4.4); mientras que con respecto a la localidad de procedencia, si existen diferencias significativas entre la semilla de Guerrero con las de Jalisco y Puebla (tabla 29) por lo que se acepta H_1 . Los resultados muestran que las semillas de chíá blanca poseen diferencias en el WI de acuerdo a la localidad de procedencia, por lo que pueden ser diferenciadas de esta forma.

Tabla 29. Prueba de múltiples rangos para el WI por localidad de procedencia.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Guerrero – Jalisco	*	-4.09	2.90715
Guerrero – Puebla	*	-4.44333	3.35689

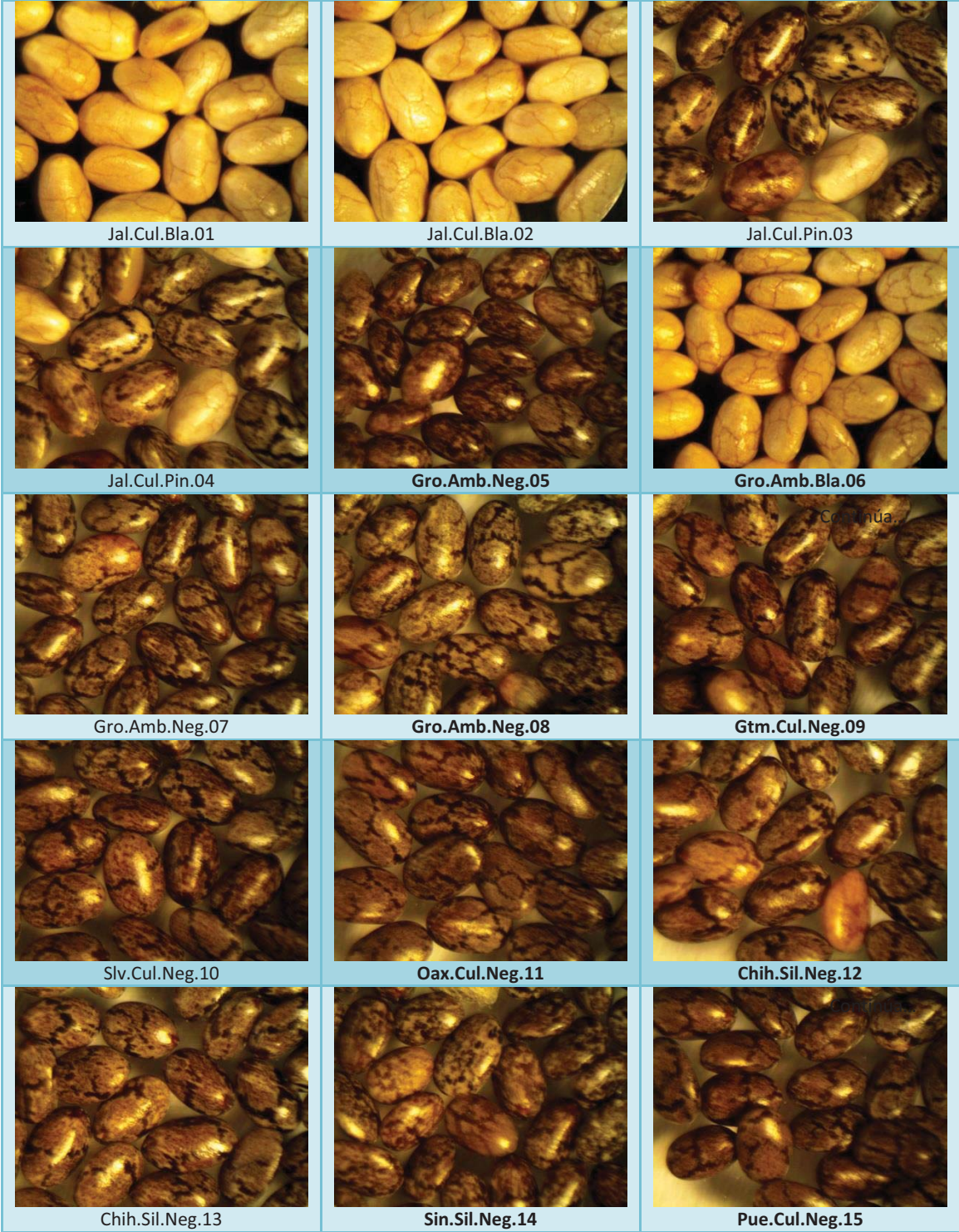
* indica una diferencia significativa.

6.5 Dimensiones de las semillas.

La imagen 13 muestra la apariencia de las diferentes muestras de *Salvia hispanica* L. nótese que las semillas de tonalidades grises presentan líneas de colores negras, mientras que las blancas muestran estrías en la superficie dando una apariencia de fragmentación. La tabla 30 muestra el recopilado las dimensiones obtenidas.

Dentro de la literatura se encontraron pocos datos sobre las dimensiones de las semillas de chíá, en la tabla 31 se muestran algunas referencias encontradas. Estos datos indican

que las semillas originarias del estado de Jalisco, que corresponden a las más comerciales a nivel nacional, son ligeramente más pequeñas (10 % de ancho y 6 % en longitud) que las cultivadas en países como Argentina y Guatemala. Aunado a esto los valores reportados difieren ligeramente de los obtenidos durante la experimentación.



Continúa...

Continúa...

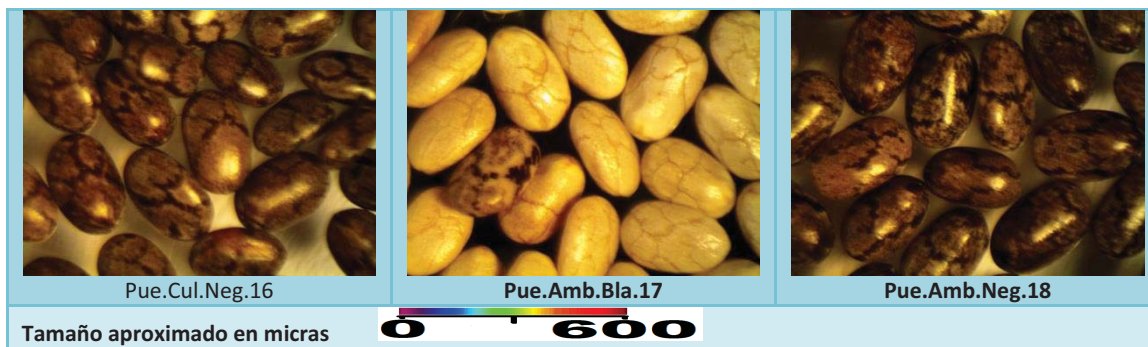


Imagen 13. Semillas de chía [Fotografías de Miguel Ángel Romero Aguilar]. (Laboratorio de microbiología UIM-UNAM campo 4, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México). Archivo del autor.

Tabla 30. Promedios de las dimensiones de las diferentes muestras.

Muestra	Promedio de ancho (mm)	Promedio de longitud (mm)
Jal.Cul.Bla.01	1.74	2.77
Jal.Cul.Bla.02	1.69	2.68
Jal.Cul.Pin.03	1.84	2.87
Jal.Cul.Pin.04	1.85	2.86
Gro.Amb.Neg.05	1.59	2.53
Gro.Amb.Bla.06	1.52	2.42
Gro.Amb.Neg.07	1.73	2.69
Gro.Amb.Neg.08	1.78	2.82
Gtm.Cul.Neg.09	1.72	2.71
Slv.Cul.Neg.10	1.86	2.85
Oax.Cul.Neg.11	1.88	2.87
Chih.Sil.Neg.12	1.87	2.97
Chih.Sil.Neg.13	1.8	2.87
Sin.Sil.Neg.14	1.73	2.68
Pue.Cul.Neg.15	1.81	2.7
Pue.Cul.Neg.16	1.83	2.85
Pue.Amb.Bla.17	1.79	2.93
Pue.Amb.Neg.18	1.78	2.92

Tabla 31- Recopilado de las dimensiones de las semillas de chía. 1y 2 Ixtaina, Nolasco, & Tomás, 2008 e Ixtaina, 2010, 3 y 4 de Vera, 2014, 5-6 de Ixtaina, 2010.

#	ancho (mm)	longitud (mm)	Color	Localidad
1	1.32	2.11	Negra	Argentina
2	1.4	2.15	Blanca	
3	1.19	1.92	Negra	Jalisco
4	1.18	1.96	Blanca	
5	1.27	2.03	Negra	Guatemala
6	1.31	1.99	Blanca	

6.5.1 Ancho.

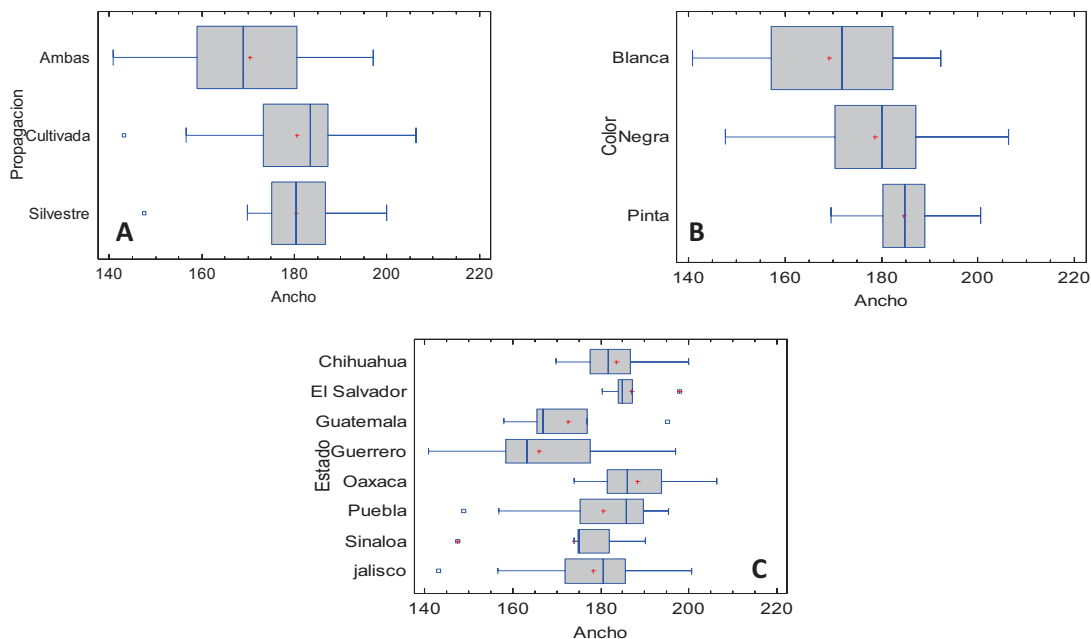


Figura 6. Influencia de los factores A) propagación, B) color y C) localidad de origen en el contenido de aceite de la semilla de chí.

Los tres factores tomados en cuenta, el tipo de propagación, la localidad de procedencia y la coloración de la semilla muestran diferencias significativas en las medias, por lo que se aceptó H1 (ver prueba de hipótesis en anexo 5.1). Los resultados muestran que las semillas comenzadas a ser trabajadas por el hombre presentan diferencias significativas en las dimensiones del ancho de la semilla (tabla 32), donde la mayoría de éstas corresponden al estado de Guerrero (tabla 33), siendo un poco más delgadas que sus contrapartes, y que las semillas de coloración blanca son menos anchas que las de coloraciones oscuras (tabla 34).

Tabla 32. Prueba de Múltiples Rangos para Ancho de la semilla por tipo de propagación.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Ambas – Cultivada	*	-10.3024	6.25073
Ambas – Silvestre	*	-10.0861	8.38624

* indica una diferencia significativa.

Tabla 33. Prueba de múltiples Rangos para ancho de la semilla por localidad de origen.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Chihuahua – Guerrero	*	17.7238	9.74132
El Salvador – Guerrero	*	21.0014	12.576
Guerrero – Oaxaca	*	-22.4456	12.576
Guerrero – Puebla	*	-14.7271	7.95375

Continúa...

Continúa...

Guerrero – Jalisco	*	-12.4185	7.95375
---------------------------	----------	-----------------	----------------

* indica una diferencia significativa.

Tabla 34. Prueba de múltiples rangos para ancho de la semilla por coloración.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Blanca – Negra	*	-9.5231	6.87216
Blanca – Pinta	*	-15.5492	10.3082

* indica una diferencia significativa.

6.5.2 Longitud.

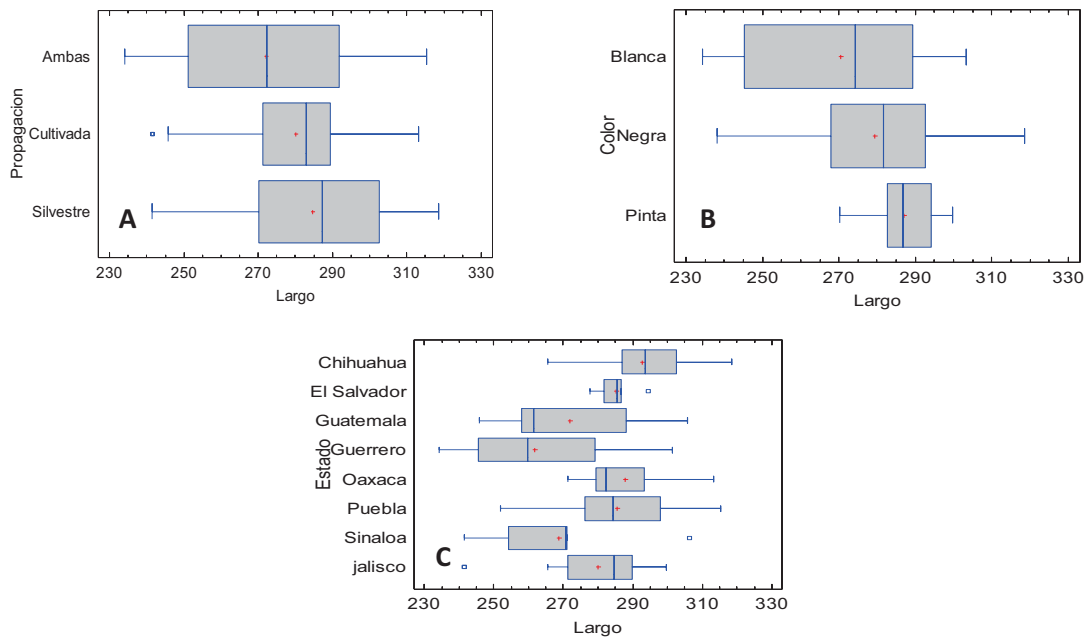


Figura 7. Influencia de los factores A) propagación, B) color y C) localidad de procedencia en la longitud de la semilla de chía.

La figura 7 muestra los diagramas de caja con bigote obtenidos de los ANOVA's realizados, donde no se muestran diferencias significativas en las medias para los factores coloración y tipo de propagación con respecto a la longitud de la semilla, por lo que se acepta H_0 (ver anexo 5.2). Cabe hacer mención que para los factores antes mencionados los datos no cumplen con la homocedasticidad de varianzas, por lo que tuvo que aplicarse el modelo NO paramétrico con la Prueba de Kruskal-Wallis, confirmándose la correcta aceptación de H_0 para el tipo de propagación. Para la influencia de la localidad de procedencia con respecto a la longitud de la semilla, si existen diferencias significativas entre las medias (tabla 35), por lo que se acepta H_1 (ver anexo 5.2.1). Las semillas que muestran mayor diferencia son la que provienen del estado de Guerrero, teniendo diferencias con los estados de Chihuahua, El Salvador, Oaxaca, Puebla, Jalisco y las de Chihuahua con Guatemala y Sinaloa. Las más largas corresponden a Chihuahua y Puebla, mientras que las pequeñas a Guerrero y Guatemala, las demás presentan un tamaño de semilla medio. En

el caso de la coloración el análisis de varianzas demostró que existen diferencias significativas por lo que se aceptó H1 (anexo 5.2.2) y es posible el contraste entre semillas blancas y pintas (tabla 36).

Tabla 35. Selección de los casos significativos de la Prueba de múltiples Rangos para la longitud de la semilla por localidad de origen.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Chihuahua – Guatemala	*	20.7899	19.1834
Chihuahua – Guerrero	*	30.7371	13.5647
Chihuahua – Sinaloa	*	23.8362	19.1834
El Salvador – Guerrero	*	23.2868	17.512
Guerrero – Oaxaca	*	-26.0532	17.512
Guerrero – Puebla	*	-23.643	11.0756
Guerrero – Jalisco	*	-18.1153	11.0756

* indica una diferencia significativa

Tabla 36. Prueba de múltiples rangos para la longitud de la semilla por color.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Blanca – Pinta	*	-16.3857	15.0596

* indica una diferencia significativa.

6.6 Determinación del porcentaje total de aceite.

Las extracciones se realizaron por triplicado para cada muestra (imagen 14), el aceite presenta un olor característico y en ocasiones restos blancos de posibles resinas. Los valores de % RSD obtenidos se encuentran debajo del 3 %, solo en algunas muestras se localiza inferior al 5 %, estos resultados presentan mayores precisiones que los reportados por Ayerza & Coates en 2009. La variación en el % RSD puede deberse a las presencia de semillas inmaduras o vacías (tabla 37). Se planteó un intervalo para los tipos de propagación de las semillas.

- Silvestres. 26.01 – 29.75 %
- Cultivadas 30.85 – 33.64 %
- Ambas 29.85 – 35.11 %

El contenido reportados para Guatemala (26.7 %) varían en 5 %, los estados de Jalisco (22.73-34.55 %), Puebla (28.16-36.30 %) y Sinaloa (29.61 %) entran dentro del intervalo.



Imagen 14. Izquierda) Armado del equipo Soxhlet, Derecha) obtención del aceite de chía, [Fotografía de Miguel Ángel Romero Aguilar]. (LADEMA-UNAM Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México). Archivo del autor.

Tabla 37. Porcentaje de aceite en las semillas de chía.

Muestra	Porcentaje de aceite	Desviación. Estándar	% RSD
Jal.Cul.Bla.01	30.85	0.34	1.12
Jal.Cul.Bla.02	33.71	0.50	1.47
Jal.Cul.Pin.03	33.76	0.43	1.29
Jal.Cul.Pin.04	30.85	0.92	2.98
Gro.Amb.Neg.05	29.85	0.87	2.93
Gro.Amb.Bla.06	30.15	0.21	0.69
Gro.Amb.Neg.07	31.71	0.82	2.58
Gro.Amb.Neg.08	32.48	0.36	1.11
Gtm.Cul.Neg.09	33.36	0.55	1.65
Slv.Cul.Neg.10	33.94	1.20	3.54
Oax.Cul.Neg.11	33.64	0.09	0.25
Chih.Sil.Neg.12	29.75	0.62	2.09
Chih.Sil.Neg.13	26.01	0.07	0.27
Sin.Sil.Neg.14	28.29	0.40	1.41
Pue.Cul.Neg.15	32.70	0.56	1.70
Pue.Cul.Neg.16	31.99	1.31	4.11
Pue.Amb.Bla.17	34.66	0.37	1.06
Pue.Amb.Neg.18	35.11	0.58	1.64

Como se puede observar el intervalo del porcentaje de aceite obtenido en este trabajo (26.01-35.11 %) por el método de extracción Soxhlet utilizando hexano como disolvente entra dentro de los valores reportados por otros autores (ver Tabla 9). Cabe hacer mención que existe una fuerte variabilidad del contenido de aceite de las semillas de chía con respecto a la referencia utilizada. Esta variación puede deberse a las diferentes temperaturas de extracción, así como los tiempos de extracción, la pureza de los disolventes, la naturaleza de la semilla (localidad y condiciones atmosféricas de crecimiento), por lo que esta variación resulta en causas multifactoriales de difícil homogenización.

6.6.1 Influencia de los factores en el contenido de aceite.

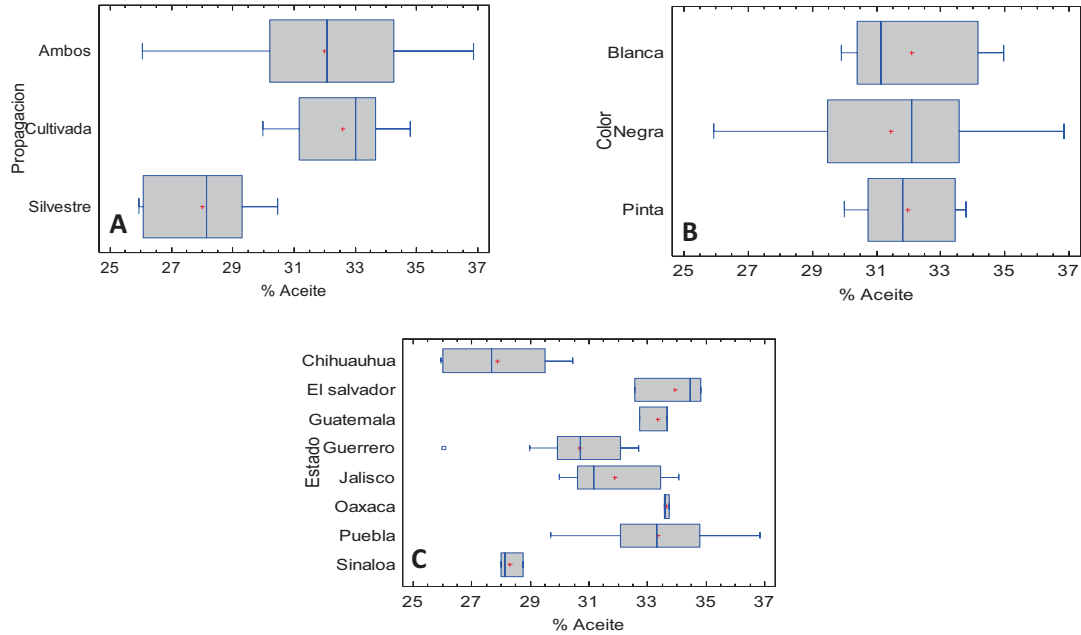


Figura 8. Influencia de los factores A) propagación, B) color y C) lugar de origen en el contenido de aceite de la semilla de chí.

Como se puede ver en la figura 8, no se observaron diferencias significativas en el contenido de aceite debido a la coloración de la semilla por lo que se aceptó H_0 . Se presentan diferencias significativas debido al tipo de propagación, y lugar de origen, en las que se aceptó H_1 , (detalles de las pruebas de hipótesis y el análisis de varianza se pueden ver en el anexo 6). Las semillas originarias de los estado de Chihuahua y Sinaloa presentan diferencias con el resto de las muestras, ya que poseen el menor contenido de aceite. Estas semillas corresponden al tipo de propagación silvestre, mostrando así como una conclusión importante de este trabajo que las semillas silvestres tienen un menor contenido de aceite respecto a las que se encuentran manipuladas por el hombre (tabla 38). Las semillas originarias de Guerrero y Jalisco presentan un porcentaje de aceite similar, y las que tienen un mayor contenido de aceite son las de Puebla, Oaxaca y Centroamérica (Guatemala y El Salvador) (tabla 39).

Se ha reportado que el porcentaje de aceite se ve influenciado por la localidad del cultivo, la altura, el régimen de lluvias, la fase de crecimiento del cultivo y la temperatura del lugar donde se siembre la semilla (Lavias, 2014, Ayerza & Coates, 2009, Peiretti & Gai, 2009, Ayerza & Coates, 2011, Álvarez, Valdivia, Arbut, & Tecante, 2008, Ayerza R. , 2008). En este estudio, como se dijo ya anteriormente, esos parámetros fueron controlados, debido a que las semillas de distinto origen, fueron plantadas y cosechadas de un mismo sitio (ver tabla 17, con excepción de las de Jalisco y dos de Puebla), observando que las semillas que tienen como origen un clima más seco (Chihuahua y Sinaloa) mantienen esa característica

y presentan una menor cantidad de aceite (media mucho más baja que las demás) independientemente del régimen de lluvias y la altura a la que se siembren.

Tabla 38. Prueba de Múltiples Rangos para porcentaje de aceite por tipo de propagación.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Ambos – Silvestre	*	3.96573	1.56005
Cultivada – Silvestre	*	4.5804	1.51438

* indica una diferencia significativa.

Tabla 39. Selección de los casos significativos de la Prueba de múltiples Rangos para porcentaje de aceite por lugar de origen.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Chihuahua - El salvador	*	-6.06321	2.39793
Chihuahua - Guatemala	*	-5.48354	2.39793
Chihuahua – Guerrero	*	-2.78385	1.67371
Chihuahua – Jalisco	*	-3.99478	1.72109
Chihuahua – Oaxaca	*	-5.76033	2.39793
Chihuahua – Puebla	*	-5.48411	1.65473
El salvador – Guerrero	*	3.27935	2.17209
El salvador – Sinaloa	*	5.65082	2.76889
Guatemala – Guerrero	*	2.69969	2.17209
Guatemala – Sinaloa	*	5.07116	2.76889
Guerrero – Oaxaca	*	-2.97648	2.17209
Guerrero – Puebla	*	-2.70026	1.30616
Guerrero – Sinaloa	*	2.37147	2.17209
Jalisco – Puebla	*	-1.48933	1.36635
Jalisco – Sinaloa	*	3.5824	2.20881
Oaxaca – Sinaloa	*	5.34795	2.76889
Puebla – Sinaloa	*	5.07173	2.1575

* indica una diferencia significativa

6.7 Extracción de prolaminas.

6.7.1 Selección de la temperatura de separación en EC.

Se probaron dos temperaturas de separación de las prolaminas por EC, una a 25 °C y otra a 40 °C reportada con anterioridad, con las cuales se busca obtener un electroferograma con el mayor número de picos que sirvan para la clasificación posterior.

Los % RSD (tabla 40 y 41) muestran que a una T= 25 °C existe una buena precisión en tiempos de migración (<3 %), teniendo una buena repetibilidad si se mide el mismo día. Esta precisión se pierde (RSD>5 %) al realizar el comparativo en diferentes días, además de

la desaparición de varios picos por lo que se concluye que a 25 °C las mediciones no son reproducibles (imagen 15).

Tabla 40. Repetibilidad a 25 °C (el mismo día). Se tomaron en cuenta los picos que presentan mayores diferencias entre muestras.

T = 25 °C		Tiempos de migración				
# pico	rep. 1	rep2	rep3	Promedio	Desv. Est.	%RSD
1	2.808	2.796	2.800	2.801	0.002	0.099
2	2.850	2.837	2.842	2.843	0.003	0.113
3	3.133	3.125	3.129	3.129	0.002	0.073
4	3.767	3.763	3.767	3.765	0.002	0.054
5	4.671	4.667	4.662	4.666	0.002	0.059
6	6.471	6.471	6.492	6.478	0.010	0.165
7	6.968	6.963	7.000	6.977	0.018	0.267
8	7.304	7.308	7.333	7.315	0.012	0.176
9	9.400	9.396	9.421	9.405	0.012	0.134

Tabla 41. Repetibilidad a 40 °C (el mismo día). Se observa un mayor %RSD, además de una mayor número de picos.

T= 40 °C		Tiempos de migración				
# pico	rep1	rep2	rep3	Promedio	Desv. Est.	%RSD
1	2.217	2.275	2.133	2.208	0.071	3.233
2	2.296	2.258	2.229	2.261	0.033	1.486
3	2.400	2.362	2.337	2.366	0.031	1.340
4	2.942	2.796	2.767	2.835	0.093	3.308
5	3.525	3.000	3.413	3.464	0.056	1.635
6	4.729	4.633	4.579	4.647	0.075	1.634
7	5.046	4.942	4.883	4.957	0.082	1.664
8	5.250	5.138	5.071	5.153	0.090	1.755
9	6.417	6.250	6.162	6.276	0.129	2.063
10	6.633	6.454	6.346	6.477	0.144	2.237
11	10.288	9.908	9.700	9.965	0.298	2.992

Por otra parte, los datos de la muestra analizada a 40 °C en diferentes días muestran ser repetibles (RSD< 3.3%) y reproducibles, sobre todo con la posterior adición de un estándar interno (apartado 6.7.6). En la imagen 16 se muestra un ejemplo de la repetibilidad del sistema a 40 °C. Ambos resultados (repetibilidad y reproducibilidad) revelan la precisión intermedia del sistema y fueron evaluados posteriormente al ser adicionado un estándar interno (apartado 6.7.6).

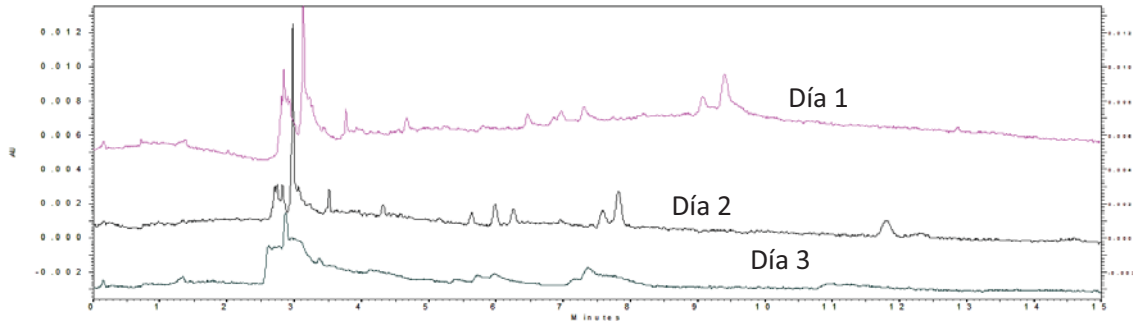


Imagen 15. Muestra separada a 25°C, se observa que la nitidez de los picos se pierde con la influencia del día de medición.

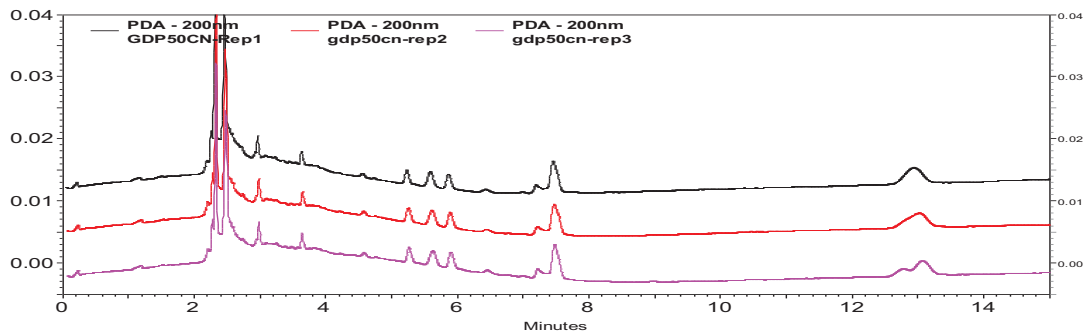


Imagen 16. Perfil y repetibilidad de la muestra a 40 °C.

Habiendo obtenido ya una buena reproducibilidad del método desarrollado, se procedió a evaluar los perfiles de diferentes semillas de chía. Estos Electroferogramas se muestran en la imagen 17, encerrados en los círculos se pueden observar diferencias en los perfiles.

Se pueden observar señales diferenciales entre los distintos tipos de chía, las cuales se muestran dentro de los óvalos. Estas diferencias serán las que nos ayuden a la clasificación posterior.

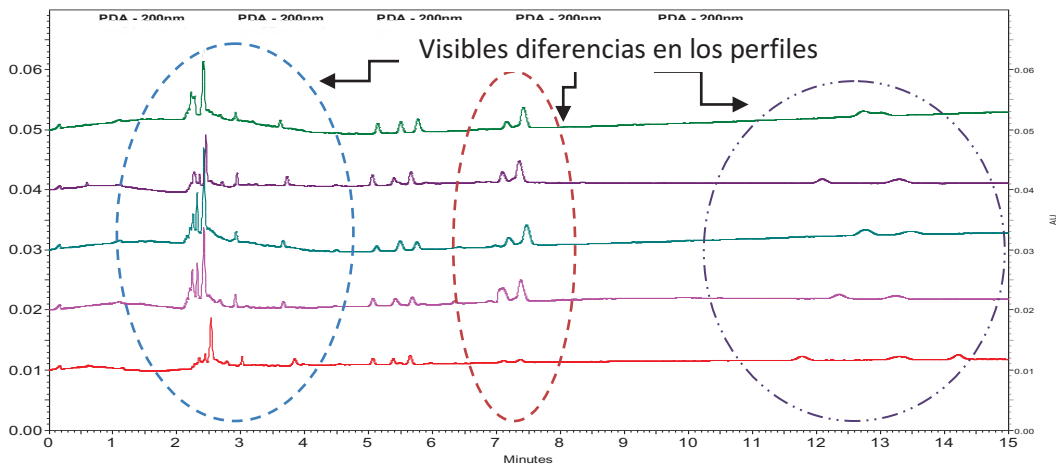


Imagen 17. Perfiles de distintas muestras.

6.7.2 Estabilidad de la muestra (extracto de prolaminas de chíá)

Ya definida la temperatura de separación a 40 °C, se determinó el número de corridas en que la muestra se mantiene estable con el mismo perfil. Para tal tarea se preparó una muestra, la cual se midió varias veces en un lapso de 12 horas.

En la imagen 18 se observa que con el paso de las corridas, dos picos tienden a separarse (encerrados en los círculos café y negro), esta separación puede deberse a que se genera calor dentro del equipo y éste afecta la estabilidad de las muestras. Este problema de inestabilidad de la muestra se eliminó más adelante (apartado 6.7.6) con la utilización de un equipo de electroforesis capilar con cámara de enfriamiento de muestras.

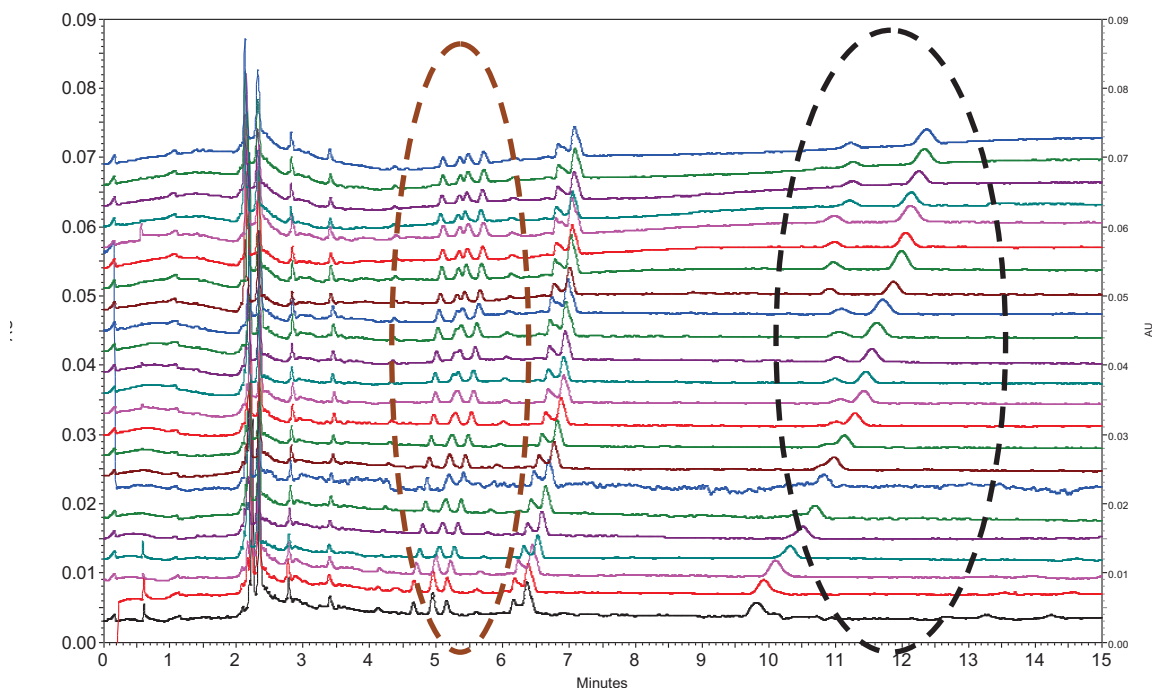


Imagen 18. Perfiles en función del tiempo.

6.7.3 Selección del estándar interno.

Es muy frecuente la utilización de un estándar interno (STD) en métodos de separación donde las muestras están contenidas en una matriz muy compleja, como es el caso de alimentos. Esta adición resulta beneficiosa debido a que su adición corrige sobre todo problemas en el cambio de viscosidad de las muestras y variaciones en los volúmenes inyectados al capilar. La selección de estándar interno adecuado está influida por los criterios descritos en el apartado 2.3.1.

Se probaron estándares de alto peso molecular que salieran en la medida de lo posible, a tiempos bajos, con la finalidad de no alargar demasiado el tiempo de análisis. Los

estándares utilizados y los tiempos de migración se muestran en la tabla 42 (la forma de los espectros de absorción se muestran en el anexo 6).

Tabla 42. Moléculas propuestas como estándar interno.

Estándar	Tiempo de migración
Ractopanima	3.529
Ampicilina	4.313
Cefprozil	4.775
Penicilina	2.675
Trimetropina	3.142
Doxilamina (seleccionado)	1.842
Clorfeniramina	1.904
Oxitetraciclina	3.837
Captopril	---
Oxaciclina	---

El estándar interno seleccionando fue el Succinato de doxilamina, debido a que tiene el tiempo de migración más bajo, es selectiva su señal y la forma del pico fue gaussiana. Esta selección se realizó adicionando el estándar interno a la muestra de Jalisco.Cul.Bla.01.

6.7.4 Problemática del ajuste del pH.

Debido a que el buffer de separación además de contener ácido iminodiacético, contiene 20 % de acetonitrilo, las mediciones obtenidas son de pH* (pH operacional), ya que no se utilizó electrodo para mezclas (agua:acetonitrilo). Esta situación creo problemas para el ajuste del pH*. Un análisis del comportamiento del perfil de prolaminas con ajuste y sin ajuste de pH* sirvió para seleccionar las condiciones que favorecieran la detección de un mayor número de picos y obteniendo una mayor cantidad de diferencias.

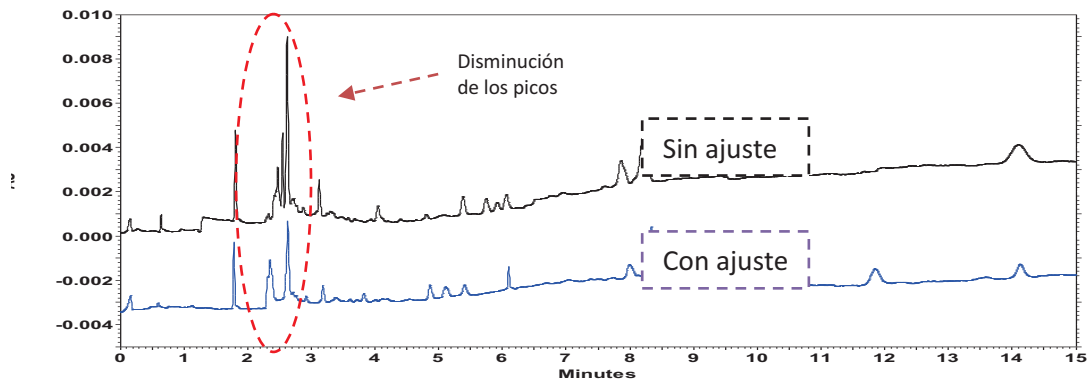


Imagen 19. Comparación de Electroferogramas con y sin ajuste de pH.

La imagen 19 muestra que el ajuste en el pH* disminuye el número de picos obtenidos en el electroferograma, ocasionando un traslape en los primeros minutos así como la disminución en los tiempos de migración (el % RSD se muestra en el anexo 7). La mayor

cantidad de picos se hizo presente durante los primeros minutos de análisis, por lo que se optó por no realizar ajustes en el pH*, ya que de esta forma los electroferogramas resultaron más repetibles.

6.7.5 Estabilidad con estándar interno y cámara de refrigeración.

Adicionando el estándar interno (STD) a la muestra y con la utilización de la cámara de refrigeración del equipo de electroforesis capilar, se volvió a hacer la prueba de estabilidad (repetibilidad de las señales). Como se observa en la imagen 20, la muestra presenta un grupo de señales a los 5.5 min, donde se observan cuatro picos diferenciados (corridas 1 al 7, de abajo a arriba) hasta la octava corrida que sólo se obtienen tres señales (electroferogramas 8 al 19) todos estos marcados con un círculo azul. Se evidenció que el segundo pico de ese grupo, no es repetible pues a veces se dobla su señal, por lo que se decidió no tomarlo en cuenta para su monitoreo con señal diferencial con respecto a la variedad de semilla de chí. En lo que respecta a las señales de los óvalos morado y marrón solo se observan pequeños cambios en los tiempos de migración, pero con las mismas señales a seguir. Estos pequeños cambios en los tiempos de migración debido a las diferencias de viscosidad de las muestras se corrigen con la adición del estándar interno (apartado 6.7.7).

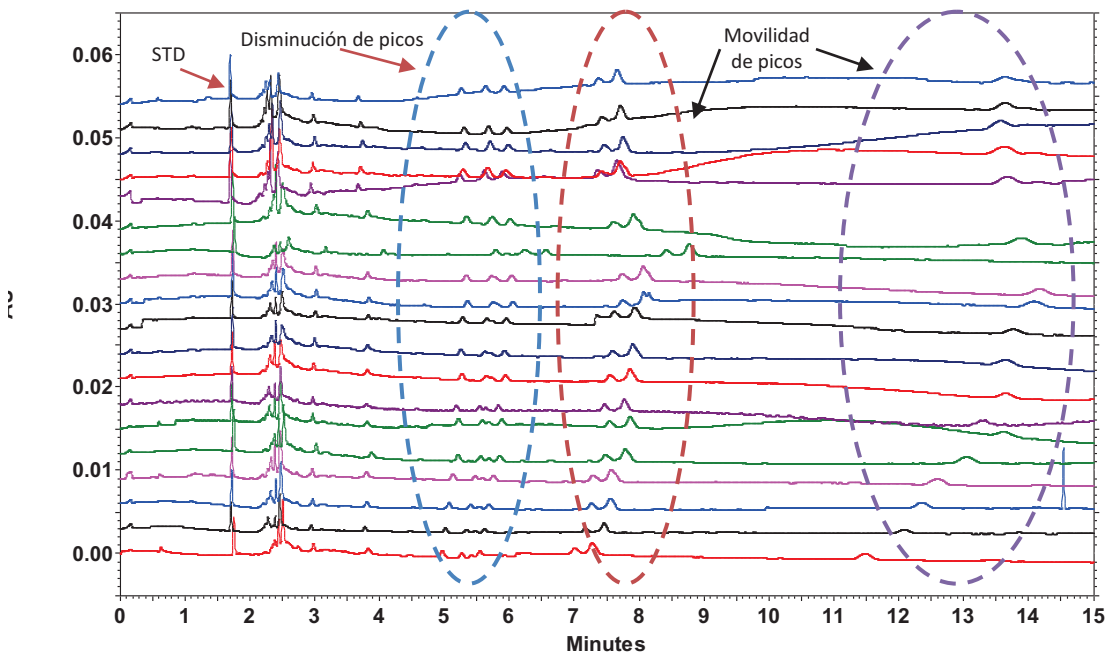


Imagen 20. Prueba de estabilidad de la muestra utilizando un estándar interno y cámara de conservación.

6.7.6 Repetibilidad y Precisión intermedia con estándar interno.

Se realizó un análisis de la precisión intermedia para las señales de la muestra tomando en cuenta el estándar interno. En la imagen 21 se muestran tres repeticiones para una misma

muestra y en la tabla 43 los valores obtenidos para realizar los cálculos. La llamada relación de áreas reportada en la tabla 46 se obtiene del cociente del tiempo de migración del pico correspondiente (ejemplo pico 1, traza azul 2.229) dividido entre el tiempo de migración obtenido (en esa misma traza azul) del estándar interno (1.746), por lo que ese cociente da como resultados la llamada Relación de tiempos en 1.277 y redondeado en la tabla como 1.28.

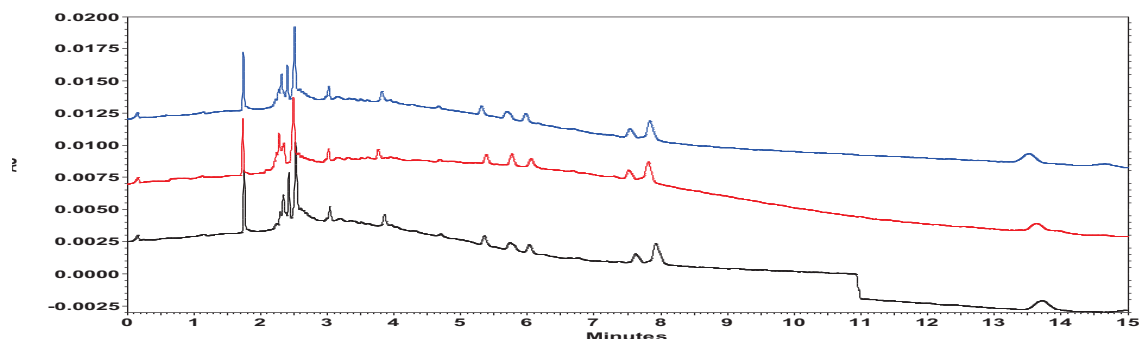


Imagen 21. Repeticiones en un mismo día para una muestra.

Tabla 43. Precisión intermedia, respetabilidad por día.

Traza	Identificación	Azul	Negra	Roja	Azul	Negra	Roja			
	Pico	tiempo de migración (min)			relación de tiempos			promedio	desviación estándar	% RSD
STD	STD	1.746	1.758	1.738	---	---	---	1.747	0.01	0.58
1	A	2.229	2.246	2.217	1.28	1.28	1.28	1.28	0.00	0.08
2	B	2.271	2.296	2.242	1.30	1.31	1.29	1.30	0.01	0.63
3	C	2.317	2.346	2.279	1.33	1.33	1.31	1.32	0.01	0.89
4	D	2.404	2.425	2.354	1.38	1.38	1.35	1.37	0.01	1.00
5	E	2.508	2.529	2.492	1.44	1.44	1.43	1.44	0.00	0.17
6	F	2.583	2.596	2.567	1.48	1.48	1.48	1.48	0.00	0.10
7	G	3.021	3.038	3.017	1.73	1.73	1.74	1.73	0.00	0.23
8	H	3.133	3.179	3.15	1.79	1.81	1.81	1.81	0.01	0.23
9	I	3.817	3.854	3.763	2.19	2.19	2.17	2.18	0.01	0.52
10	J	3.938	3.962	3.875	2.26	2.25	2.23	2.25	0.01	0.65
11	K	4.662	4.595	4.683	2.67	2.61	2.69	2.66	0.04	1.56
12	L	5.308	5.35	5.379	3.04	3.04	3.09	3.06	0.03	1.01
13	M	5.688	5.733	5.763	3.26	3.26	3.32	3.28	0.03	1.00
14	N	5.971	6.021	6.05	3.42	3.42	3.48	3.44	0.03	0.99
15	O	7.533	7.617	7.513	4.31	4.33	4.32	4.32	0.01	0.21
16	P	7.833	7.921	7.808	4.49	4.51	4.49	4.49	0.01	0.22
17	Q	13.517	13.696	13.629	7.74	7.79	7.84	7.79	0.05	0.64

Como se puede observar en la tabla 43 los % RSD obtenidos usando la relación de tiempos son bastante buenos (% RSD < 1.6 para todos los picos monitoreados) para la muestra en

sus tres repeticiones, adicionalmente se concluyó en la identificación de 17 picos para la muestra (imagen 21).

6.7.7 Obtención del perfil de prolaminas.

Utilizando los resultados anteriores, se realizó la identificación y clasificación de los picos de las diferentes muestras de chíá. Se tomó como base (control) la muestra el Jal.Cul.Bla.01 cuyo electroferograma se aprecia en la imagen 22.

En la imágenes 23 a 31 se muestran algunos electroferogramas selectos (de la totalidad de los 53 obtenidos) que muestran las diferencias particulares en los perfiles de las muestras. Todas las observaciones son entre muestras con alguna similitud de localización y tomando en cuenta el comportamiento del STD interno, a excepción de la mostrada en la imagen 28 donde la muestra de Oaxaca se compara con una semilla silvestre del estado de Chihuahua.

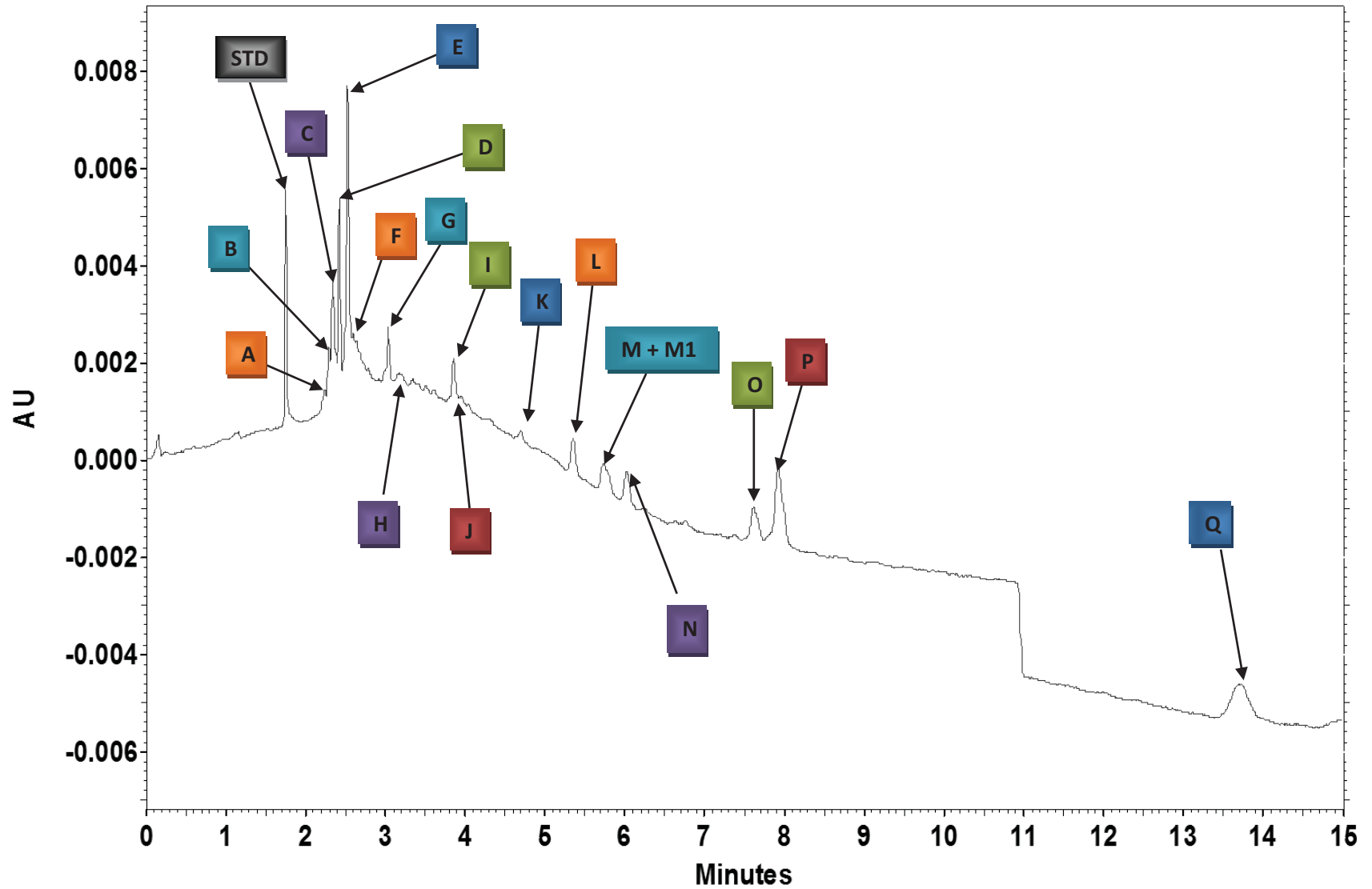


Imagen 22 Asignación de etiquetas encontradas en la muestra Jal.Cul.Bla.01. La clave de la muestra usada como control significa que es una muestra del estado de Jalisco (Jal) con tipo de proliferación cultivada (Cul), con semillas de color blanco (Bla) y la localización 01 (según tabla 17).

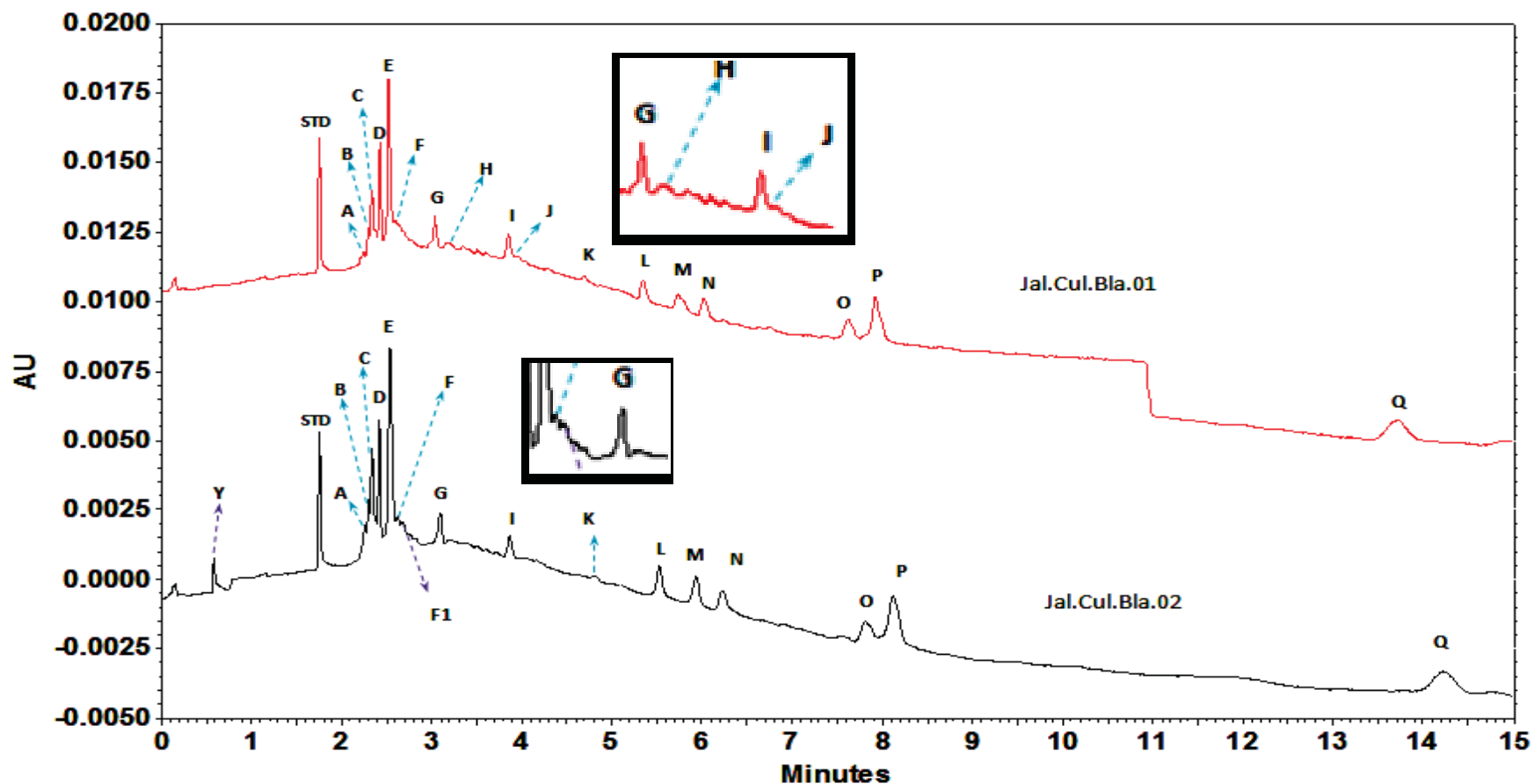


Imagen 23. Semillas Blancas de Jalisco, con proliferación del tipo Cultivada y con localización 01-Zapotlanejo y 02-Arandas.

Picos sólo de Jal.Cul.01: H, J.

Picos sólo de Jal.Cul.02: Y, F1.

Picos comunes: A, B, C, D, E, F, G, I, K, L, M, O, P, Q.

En la imagen 23 se observa que las muestras blancas originarias de Jalisco mantienen un perfil similar aun cuando tienen una localidad de origen distinto (Zapotlanejo y Arandas). Los picos del trazo negro son ligeramente más altos que el rojo.

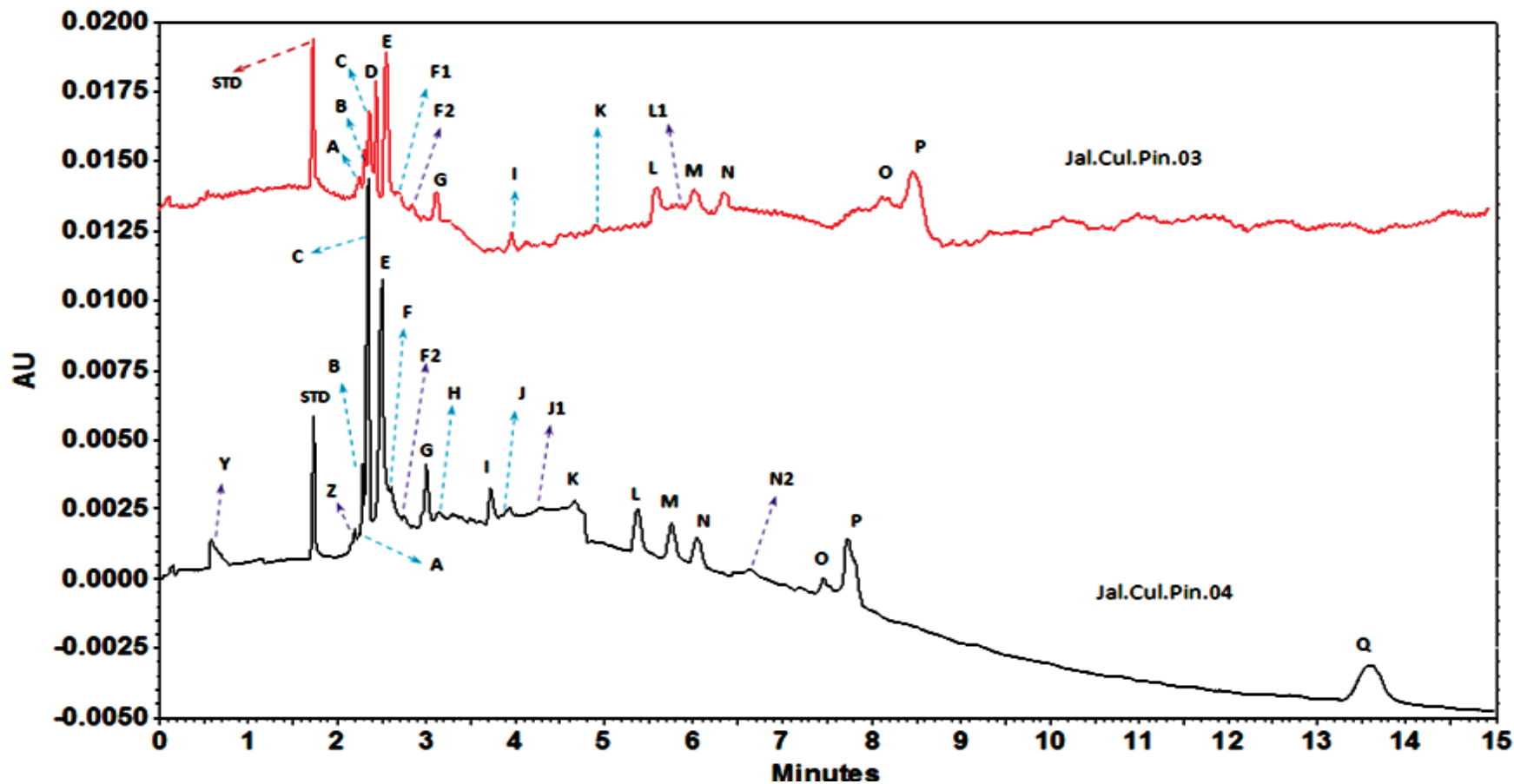


Imagen 24. Semillas de Jalisco Pintas con proliferación del tipo Cultivada y con localización 03-Zapotlanejo y 04-Arandas.

Picos sólo de Jal.Pin.03: D, F1, L1

Picos sólo de Jal.Pin.04: Y, Z, F, H, J, J1, N2, Q

Picos comunes: A, B, C, E, F2, G

El pico etiquetado como A en Jal.Pin.04 presenta una señal pequeña con respecto a la mayor señal de la muestra Jal.Pin.03 (ver imagen 24), mientras que C y E tienen señales más altas en la muestra Jal.Pin.04. El trazo negro tiene mayor intensidad que el rojo y solo la semilla de 03 la Arena Zapotlanejo no presenta el pico Q a diferencia de todas las demás.

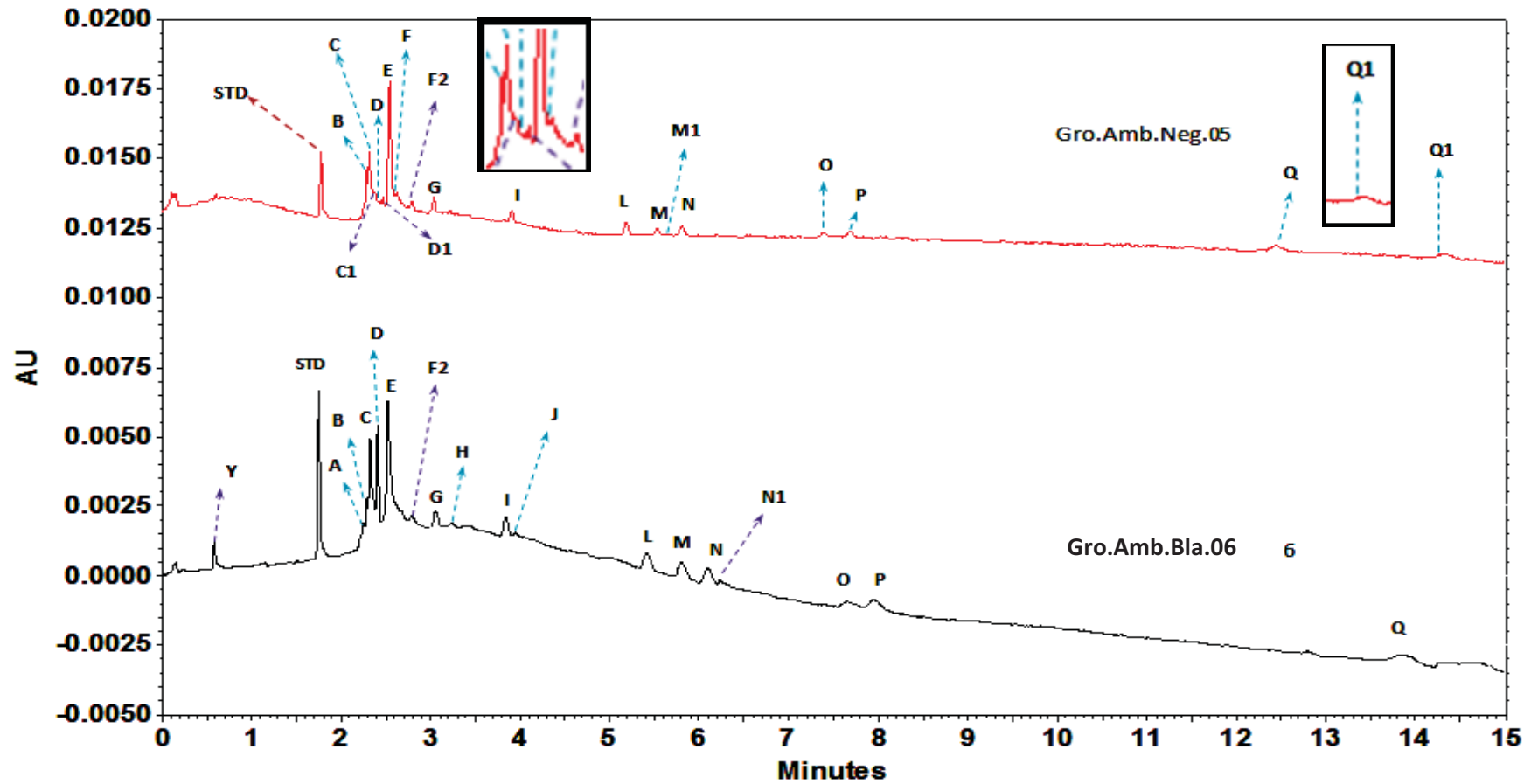


Imagen 25. Semilla de Guerrero blanca vs negra con proliferación del tipo “Ambas” y con localización 05-Chiepetlán y 06-Cuescomapa.

Sólo picos de Gro.Amb.Neg.05: C1, F, D1, M1, Q1

Sólo picos de Gro.Amb.Bla.06: Y, A, H, J, N1

Picos comunes: B, C, D, E, F2, G, I, L, M, N, O, P, Q

El pico D en el trazo rojo superior es una señal muy pequeña respecto al trazo negro inferior. El trazo rojo cuenta con picos más pronunciados siendo referido al STD (imagen 25). Así que estos electroferogramas presentan diferencias claras entre semillas blancas y negras.

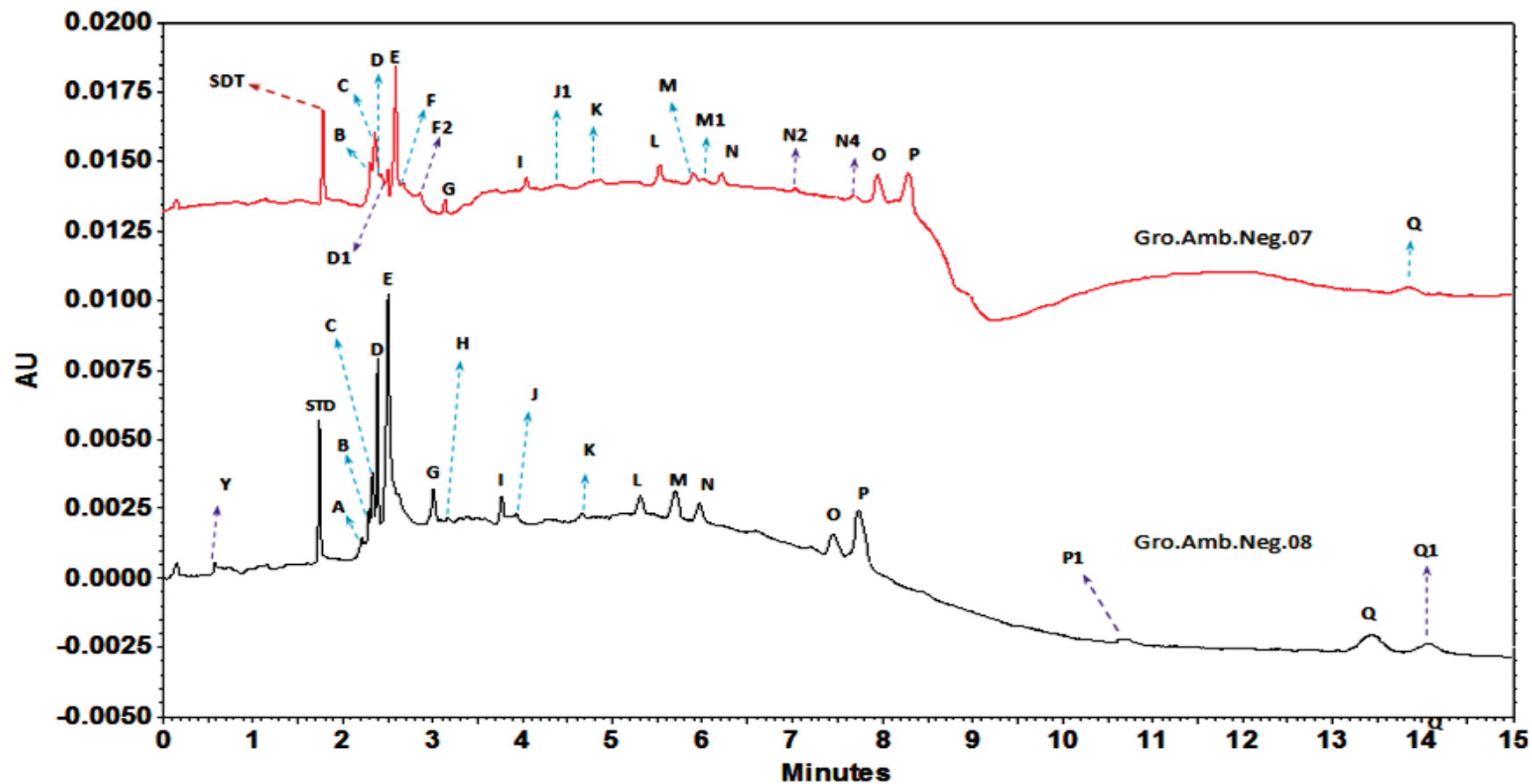


Imagen 26. Semilla de Guerrero negras con proliferación del tipo “Ambos” y con localización 07 y 08 de los productores de Temalacacingo.

Sólo picos de Gro.Amb.Neg.07: D1, F, F2, J1, M1, N2, N4

Sólo picos de Gro.Amb.Neg.08: Y, A, H, J, P1, Q1

Picos comunes: B, C, D, E, G, I, K, L, M, N, O, P, Q

Este análisis nos muestra que existen diferencias en el perfil de las semillas que suponen una misma localidad, resaltando los picos D. Los picos más concentrados corresponden a la semilla de Gro.Amb.Neg.08. (ver imagen 26). Probablemente estos cambios surgieran que provienen de variedades distintas, lo cual se debe probar con otros métodos adicionales.

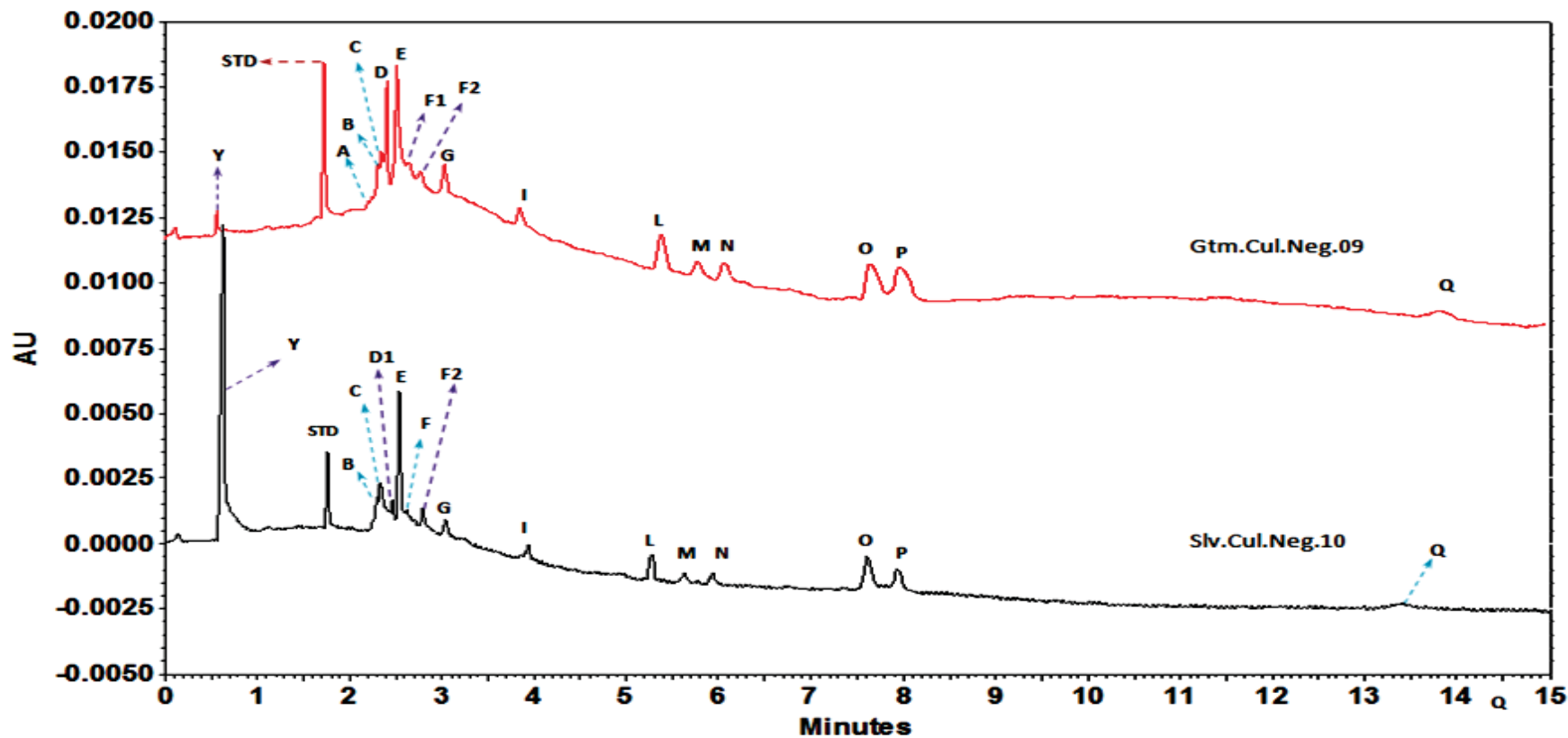


Imagen 27, Semilla de Centro América negra con proliferación del tipo Cultivada y con localización 09-Mercado de la ciudad de Guatemala y 10-Mercado de San Salvador.

Picos de Gtm.Cul.Neg.09: A, D, F1

Picos de Slv.Cul.Neg.10: D1, F

Picos comunes: Y, B, C, E, F2, G, I, L, M, N, O, P, Q

Los picos con mayor intensidad corresponden a la semilla de “El Salvador”, ya que se puede observar una gran diferencia entre la altura de los picos Y y E (ver imagen 27). Puede observarse que entre estos 2 electroferogramas existe un menor número de diferencias, aunque provengan de distintos países, que entre las diferencias existentes entre las chías de un mismo estado (imagen 25 de las semillas de Guerrero).

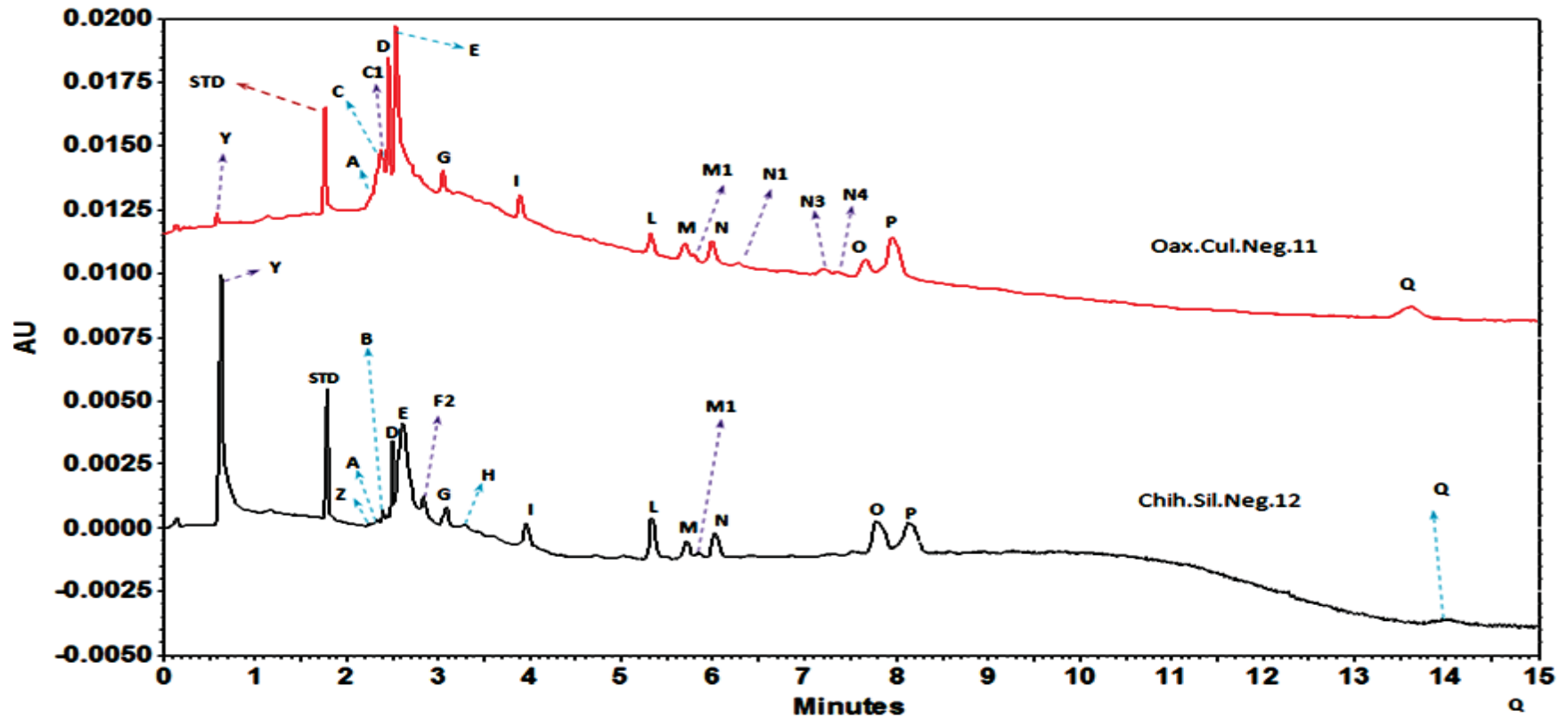


Imagen 28. Semillas de Oaxaca y Chihuahua con proliferación Cultivada (Cul) y Silvestre (Sil) con localización 11-Mercado de de Oaxaca y 12-Jardín Botánico UNAM.

Picos de Oax.Cul.Neg.11: C, C1, M1, N1, N3, N4

Picos de Chih.Sil.Neg.12: Z, B, F2, H, M1

Picos comunes: Y, A, D, E, G, I, L, M, N, O, P, Q

Se observa claramente en el pico E de las semillas de Chihuahua (traza negra) una señal ancha y de menor magnitud que la de Oaxaca (traza roja), además de una mayor cantidad de picos en la de Oaxaca (Imagen 28). También se observa que en su mayoría son más pequeños los picos del trazo negro a excepción del pico "Y" que es el más pronunciado. Esto pone de manifiesto las claras diferencias entre las semillas silvestres y cultivadas.

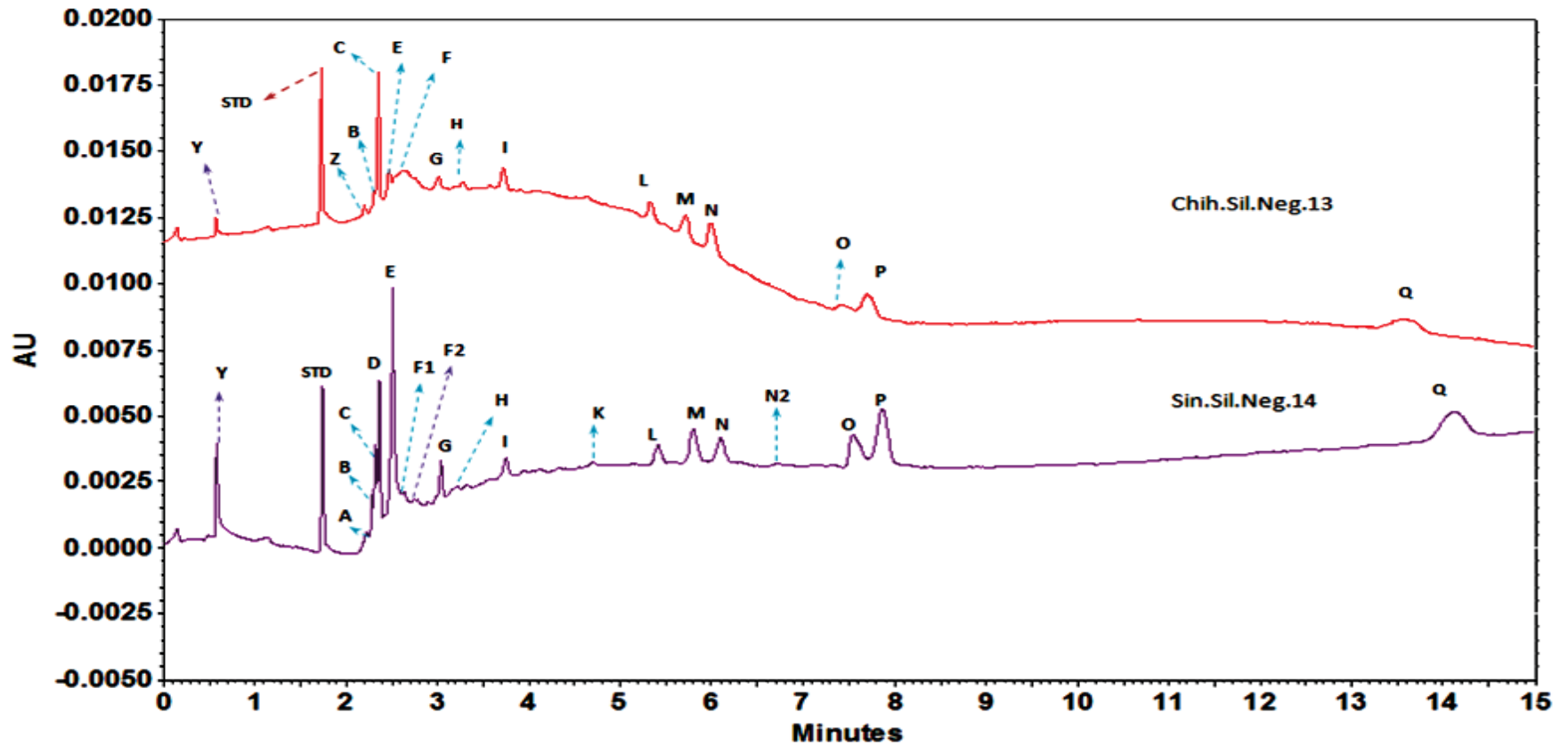


Imagen 29, Semillas silvestres de Chihuahua y Sinaloa proliferación Silvestre (Sil) con localización 13-Jardín Botánico UNAM y 14-Santa Lucia, Mittlenam (colección de Universidad de California-Riverside).

Picos de Chih.Sil.Neg.13: Z, F

Picos de Sin.Sil.Neg.14: A, D, F1, F2, K, N2

Picos Comunes: Y, B, C, E, G, H, I, L, M, N, O, P, Q

Existe diferencia entre la expresión de las proteínas del pico E, siendo menor en el trazo superior (rojo) de Chihuahua, también presentan diferente intensidad los picos Y, O, P (ver imagen 29), por lo que existen muchas diferencias entre semillas silvestres de distinto estado para poder ser procesadas en análisis posteriores.

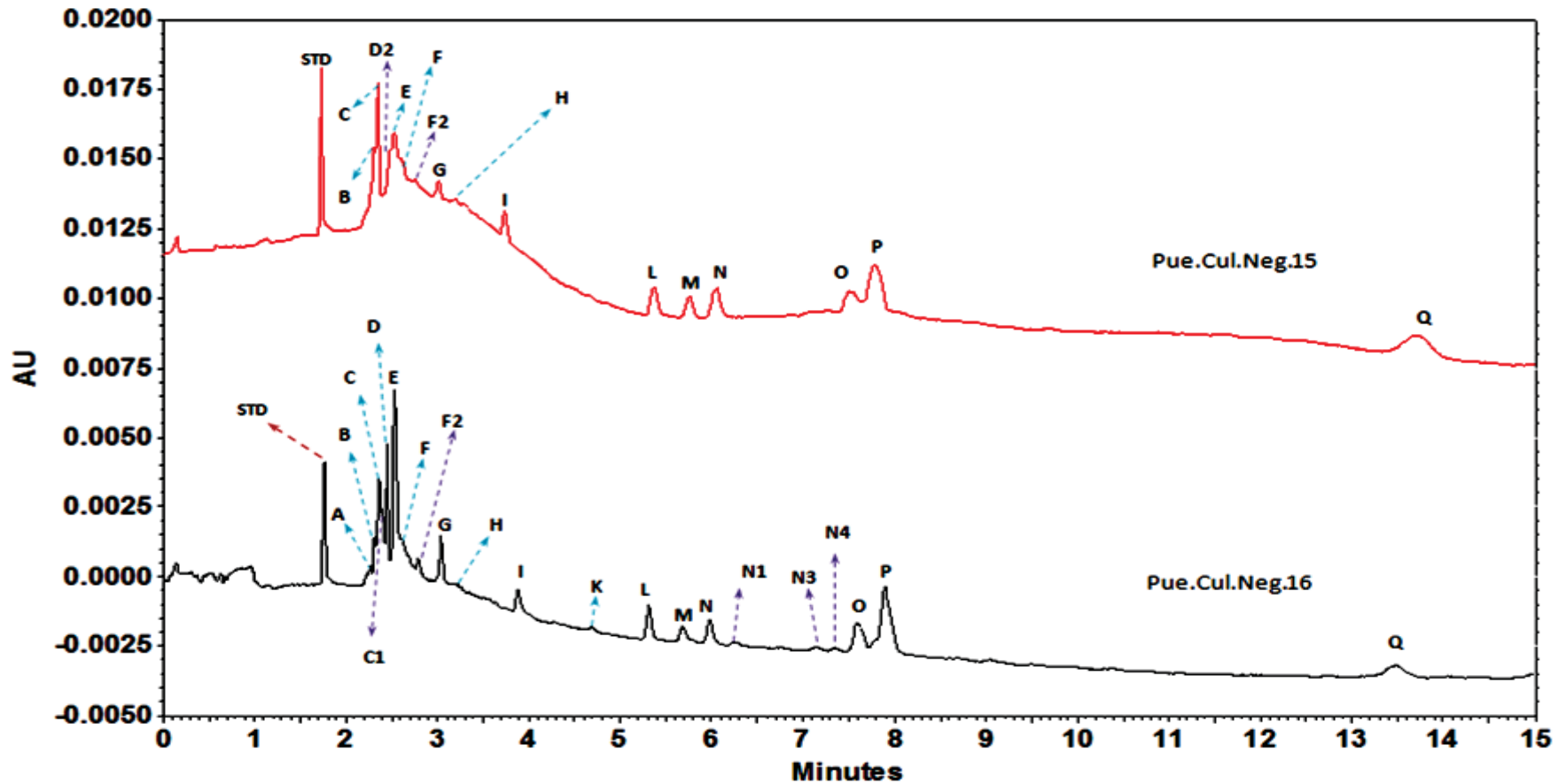


Imagen 30, Semilla de Negras de Puebla proliferación Cultivada (Cul) con localización 15-San Francisco Xochiteopan y 16-Mercado de Cuernavaca.

Picos de Pue.Cul.Neg.15: D2, H

Picos de Pue.Cul.Neg.16: A, C1, D, K, N1, N3, N4

Picos comunes: B, C, E, F, F2, G, H, I, L, M, N, O, P, Q

La semilla de Pue.Cul.Neg.15 (traza roja) también presenta el pico E ancho y de poca altura comparado con la traza negra. La Pue.Cul.Neg.16 posee una mayor cantidad y mayor altura de los picos, esta relación es observada al compararlos contra el STD (ver imagen 30).

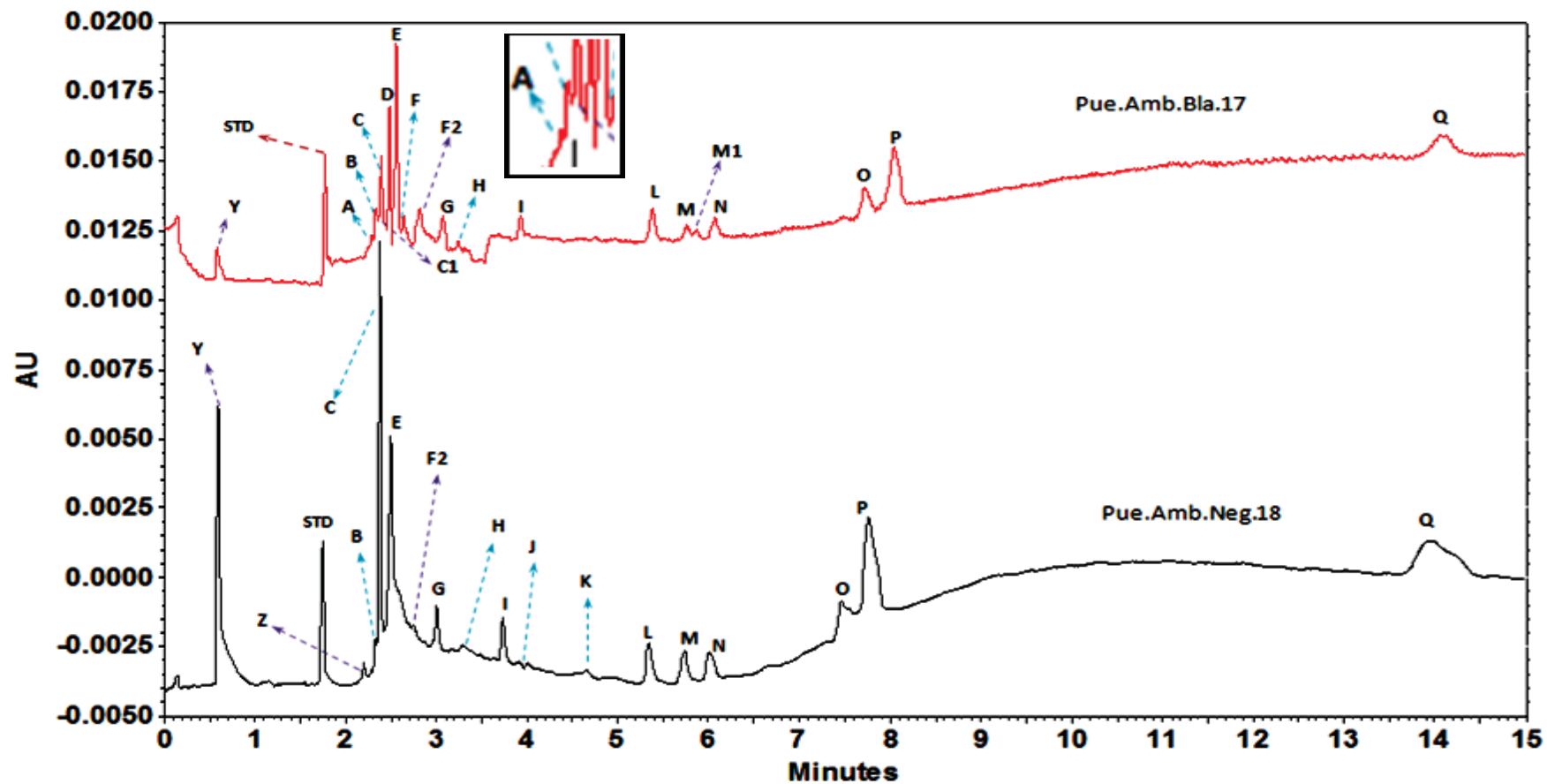


Imagen 31. Semilla de Puebla Blanca y Negra, con proliferación del tipo "Ambas" (Amb, dehiscente) con localización 17 y 18 de Tochimilco.

Picos de Pue.Amb.Bla.17: A, C1, D, F, M1

Picos de Pue.Amb.Neg.18: Z, J, K

Picos comunes: Y, B, C, E, G, H, I, L, M, N, O, P, Q

En la imagen 30 se puede observar que la muestra Pue.Amb.Neg.18 (traza negra) presenta una menor cantidad de picos pero éstos son más pronunciados (altos) que su contraparte (traza roja) en especial los picos C, Y.

6.7.8 Diferencias y clasificación.

Se pudo observar en los electroferogramas que con frecuencia las señales que aparecen en los primeros cinco minutos muestran mayores diferencias, éstas son muy marcadas para algunas chías pero en especial en las semillas silvestres y las pintas (ver imagen 32 B y C). Adicionalmente, se observó que las muestras blancas mantienen la misma tendencia de proporciones respecto al STD en el perfil (ver imagen 32A).

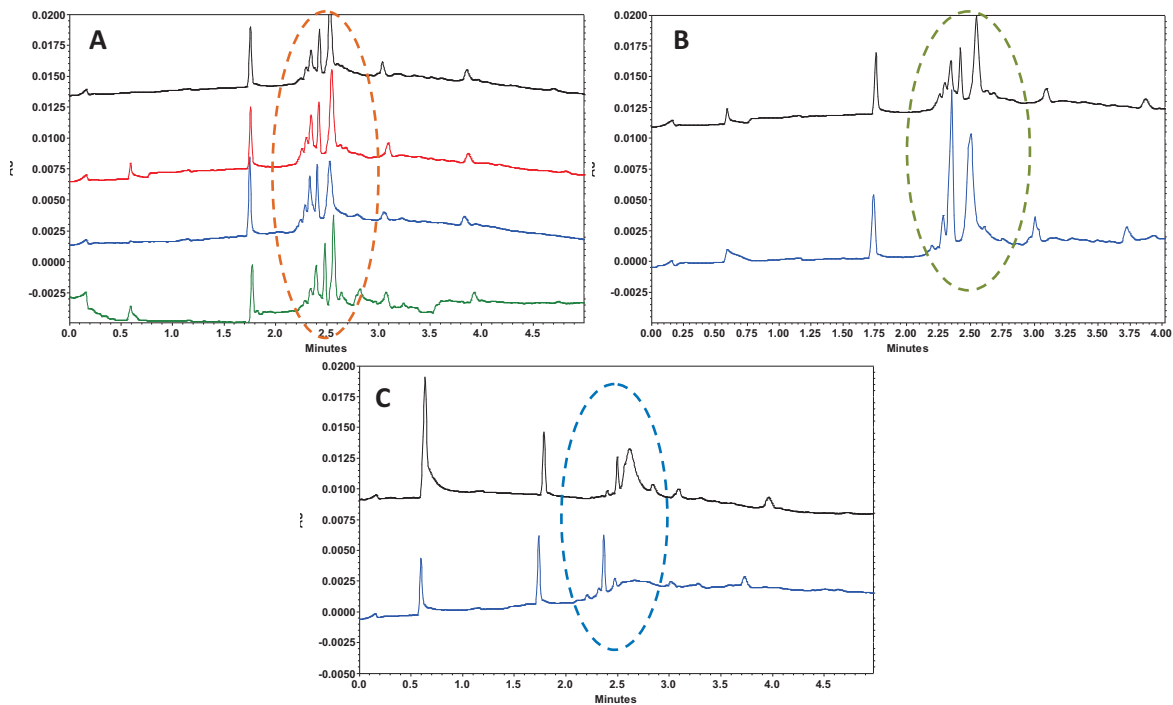


Imagen 32. Tendencias del perfil de las semillas en los primeros 5 min A) blancas B) pintas y C) negras (silvestres).

Las principales características de los perfiles (huella digital) de las semillas silvestres radica en la forma de los picos que se separaron durante los primeros minutos, siendo más significativos los picos C, D y E. Las semillas Jal.Cul.Pin.04 presentan junto con la Pue.Amb.18 la mayor intensidad en las señales de todas las muestras.

En la tabla 44 se muestran los picos diferenciales de todas las muestras de *Salvia hispanica* L., fueron omitidos los picos E, G, I, L, N, O y P debido a que se encuentran presentes en todas las semillas (sin diferencias entre ellas), además de que los picos etiquetado como M y M1 se retiraron ya que la prueba de estabilidad, mostrada con anterioridad, indica que estos tienden a generarse (por inestabilidad) siendo poco confiables para usarlos en la identificación y clasificación.

Se procedió a la elaboración de un análisis de conglomerados con la finalidad de apreciar más claramente las relaciones de agrupación entre los datos de las diferentes semillas e

incluso formar grupos entre ellos de acuerdo a su similitud. Usando todos los datos de las propiedades físicas y el perfil de proteínas (con excepción del tipo de color y tipo de propagación) se construyó el dendograma [se utilizó “Distancia Euclidiana” como algoritmo de la definición de distancia y como método aglomerativo el del “Vecino más lejano” (Complete linkage)], el cual nos presenta en el eje de las “x” la clave de la semilla y en el eje de las “y” el porcentaje de similitud entre las muestras, siendo más similar conforme aumenta el porcentaje (cerca a 100). De modo tal que de la imagen 33 se puede decir que:

- Existe una separación completa de las semillas blancas (agrupación azul) y negras/pintas, independientemente de su localización original, esto puede deberse a ciertas características diferenciales en los datos, muy probablemente por las medidas de color (WI) y a los picos diferenciales presentes en los electroferogramas. Además, las únicas 2 semillas pintas se ubican ambas en una sola agrupación junto con una semilla negra 08 de Guerrero (traza roja).
- Las semillas silvestres se agrupan juntas (traza verde) no importando el lugar de procedencia, pudiendo distinguirse de entre las cultivadas/ambas perfectamente.
- Las semillas de Centroamérica forman un grupo pequeño con una alta similitud, lo que nos dice que comparten muchas características que las hace agruparse. (traza rosa)
- Dentro del conjunto de la rama más grande de semillas negras/pintas, se observa la presencia de una semilla del estado de Guerrero. Como se había mencionado anteriormente las semillas que tienen mayor índice de domesticación son las que presentan indehiscencia por lo que se puede proponer la idea de que las semillas de Jalisco (trazo rojo) quizás tengan un alto grado de domesticación pero pueden provenir de un ancestro común con las de Guerrero, ya que estas conservan algunos rasgos silvestres como lo es la dehiscencia. Las semillas del Guatemala y el salvador también presentan similitudes con las de Guerrero de la misma forma que las de Jalisco, e incluso las de Puebla, por lo que se podría estar hablando de cultivares diferentes.

Un estudio similar fue hecho por Hernández en 2008, quien usando las características de crecimiento de las plantas de chíá logró su clasificación y separación, obteniendo 6 grupos marcados como Jalisco, Centro América, Puebla, Guerrero, Chihuahua y Oaxaca. En dicho estudio solo se usaron las características físicas de la planta, las cuales no cambian espontáneamente por la variación en el tipo de suelo o el régimen de lluvias, ya que mantienen una adaptación lenta y constante si existen las condiciones adecuadas. Algunas características físicas y químicas como lo son el porcentaje de aceite y la expresión de prolaminas, entre otras estudiadas en este trabajo, son influenciadas por las condiciones geográficas, pero aún y cuando las condiciones no fueron las mismas se siguió

manteniendo la diferenciación, todo esto nos indica que es posible la identificación y clasificación de las semillas utilizando el perfil de las prolaminas por área de cultivo.

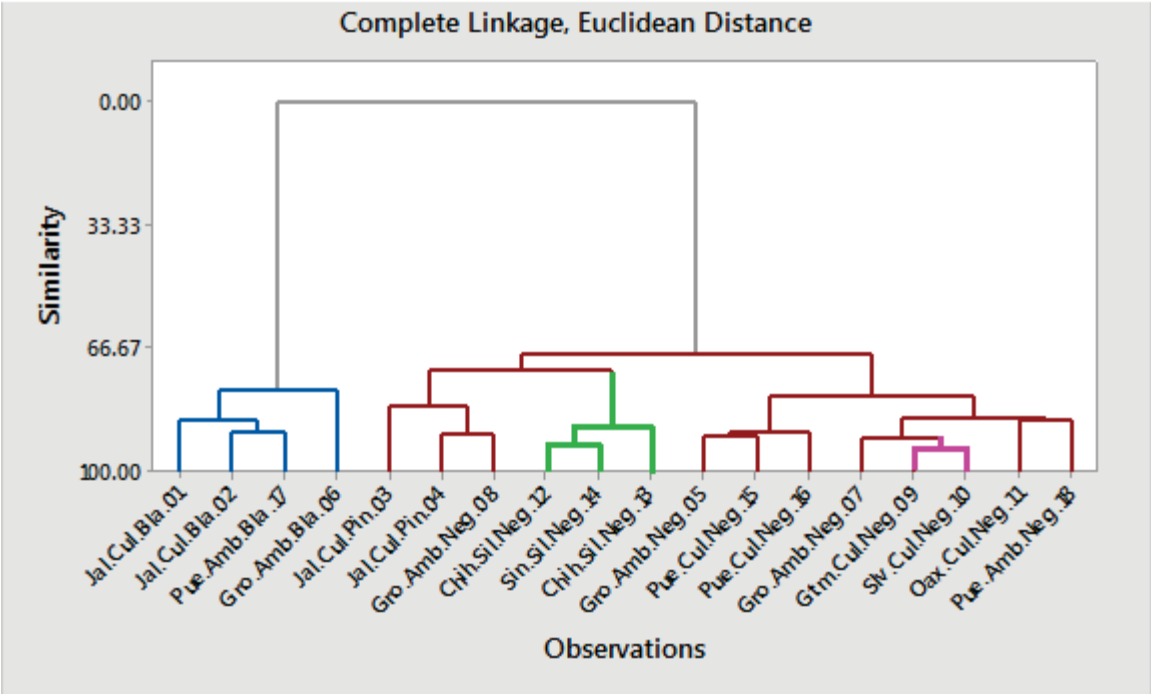


Imagen 33. Agrupación de las semillas, para el análisis se utilizó similitud cero.

Tabla 44. Se muestra la “huella digital de las diferentes semillas de chía, 0 representa ausencia del pico y 1 su presencia”.

Pico	Y	Z	A	B	C	C1	D	D1	D2	F	F1	F2	H	J	J1	K	L1	N1	N2	N3	N4	P1	Q	Q1
Jal.Cul.Bla.01	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Jal.Cul.Bla.02	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Jal.Cul.Pin.03	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Jal.Cul.Pin.04	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0
Gro.Amb.Neg.05	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Gro.Amb.Bla.06	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Gro.Amb.Neg.07	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0
Gro.Amb.Neg.08	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1
Gtm.Cul.Neg.09	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Slv.Cul.Neg.10	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Oax.Cul.Neg.11	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0
Chih.Sil.Neg.12	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Chih.Sil.Neg.13	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Sin.Sil.Neg.14	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
Pue.Cul.Neg.15	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Pue.Cul.Neg.16	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0
Pue.Amb.Bla.17	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Pue.Amb.Neg.18	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0

7 Conclusiones.

Se logró exitosamente identificar los perfiles de proteínas característicos de diferentes variedades de chía (*Salvia hispanica* L.) por Electroforesis Capilar. Estas señales diferenciales encontradas en los electroferogramas, junto con otras propiedades fisicoquímicas como: el color, el porcentaje de aceite, el tamaño de la semilla, su peso promedio y el índice de blancura, lograron ser información relevante para encontrar diferencias significativas entre las chías comerciales y silvestres y formar agrupaciones con similitudes en el análisis de conglomerados.

En lo que respecta a las medidas fisicoquímicas y su análisis por ANOVA, existen diferencias significativas: a) en los datos de la longitud y ancho con el lugar de procedencia y b) en el porcentaje de aceite contenido pues depende del tipo de propagación de la semilla de chía (silvestre o cultivada) y en su localidad de origen; teniendo un menor contenido las semillas silvestres y en especial si proceden de los estados de Chihuahua y Sinaloa. Adicionalmente existen diferencias significativas en c) los datos del color medido entre las semillas blancas, negras y pintas, independientemente de su localización original, con una formación de agrupaciones diferenciada en el análisis de conglomerados.

Se obtuvieron exitosamente los perfiles de las prolaminas presentes en 18 muestras semillas de chía comercial y silvestre utilizando la técnica de electroforesis capilar. Estas mediciones se realizaron ya habiendo adicionado el succinato de doxilamina que fue seleccionado como estándar interno en estudios previos. Se evaluó también la repetibilidad del método a utilizar y de esta forma se probó que éste es confiable para la obtención de los perfiles de las prolaminas de chía.

Con base en el dendograma construido, se obtuvo una clara diferenciación entre semillas blancas y negras, además de la separación y agrupación de las muestras en silvestres, cultivadas y ambas. La semillas de Guerrero se presenta en la mayoría de los grupos mostrando así que pueden tener un ancestro común con las cultivadas e incluso pudiendo ser progenitor, ya que mantienen dehiscencia propia de las semillas silvestres.

El análisis del perfil de las prolaminas no puede ser utilizado como única referencia para determinar la variedad de la semilla, el trabajo realizado demostró que existen diferencias entre las distintas muestras, pero para una plena aseveración es necesaria una clasificación taxonómica de estas semillas.

8 Referencias.

- Alvarez, L. (2004). Identificación y cuantificación de compuestos nutraceuticos presentes en la semilla de chía (*Salvia hispanica*). *Tesis de licenciatura*. México, D.F., Facultad de Química-UNAM.
- Álvarez, L., Valdivia, M., Arbutó, M., & Tecante, A. (2008). A Chemical Characterization of the lipid fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica*). *International Journal of food properties*, 11: 687-697.
- Award, A., & Fink, C. (2000). Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *Journal of Nutrition*, 130:2127-2130.
- Ayerza, R. (1995). Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five Northwestern locations in Argentina. *Journal of American Oil Chemical Society*, 22:1079-1081.
- Ayerza, R. (2008). The seed's protein and oil content, fatty acid composition and growing cycle length of a single genotype of chia (*Salvia hispanica*) as affected by environmental factors. *Journal of Oleo Science*, 58(7): 347-354.
- Ayerza, R. (2013). Seed composition of two chia (*Salvia hispanica* L.) genotypes which differ in seed color. *Emir. J. Food Agric.*, 25(7): 495-500.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2006). Chia: rediscovering a forgotten crop of the Aztecs. Buenos Aires, Argentina: Del Nuevo Extremo.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2009). Influence of environment on growing period and yield, protein, oil and α -linolenic content of three chia (*Salvia hispanica* L.) selections. *Industrial Crops and Products*, 30:321-324.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2009). Some quality components of four chia (*Salvia hispanica* L.) genotypes grown under tropical coastal desert ecosystem conditions. *Asian Journal of Plant Sciences*, 8(4):301-307.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2011). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and Products*, 34:1366-1371.
- Baughman, & Jamieson. (1929). *Oil and Fat Ind.*, 6, 15.
- Bean, S., & Lookhart, G. (1998). Faster capillary electrophoresis separation of wheat proteins through modifications to buffer composition and sample handling. *Electrophoresis*, 3190-3198.
- Bean, S., & Lookhart, G. (2000). Ultrafast Capillary Electrophoretic Analysis of Cereal Storage Proteins and its Applications to Protein Characterization and Cultivar Differentiation. *J. Agric. Food Chem.*, 48(2):344-353.

- Bean, S., Bietz, J., & Lookhart, G. (1998). High-performance capillary electrophoresis of cereal proteins. *Journal of chromatography A*, 25-41.
- Beltrán, M., & Vargas, M. (2011). Pharmacological activity of the chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *Reserch Signpost*, 151-178.
- Bielitz, H.-D., & Grosch, W. (2009). *Química de los alimentos*. Zaragoza, España: Acribilla S.A.
- Bietz, J., & Schmalzried, E. (1995). Capillary Electrophoresis of Wheat Gladin; Initial Studies and Aplication to Varietal Identification. *Lehensm.-Wiss. u.-Technol.*, 28:174-184.
- Bushway, A., & Belya, J. (1981). Chia seed as a source of oil, polysaccharide, and protein. *Journal of Food Science*, 1349-1356.
- Caballer, J. (2011). Los ácidos grasos omega-3 en la prevención de la enfermedad de alzheimer. *Alzheimer. Real Invest Demenc.*, 12-18. doi:10.55.38/1137-1242.2011.49.12
- Cabrera, H., Pérez, S., Rodríguez, M., Conde, J., & Pérez, J. (s.f.). *Tenerife*. Recuperado el 03 de marzo de 2015, de Determinacion de las Coordenads CIELab y otros parámetros influyentes en el color en vinos tintos de las islas Canarias: <http://www.tenerife.es/Casa-vino/jornadas/pdf/PDF%20JORNADAS%20IV/18.pdf>
- Cahill, J. (2003). Etnobotany of Chia, *Salvia hispanica* L.(Lamiaceae). *Economic Botany*, 57(4): 604-618.
- Cahill, J. (2004). Genetic diversity among varieties of Chia (*Salvia hispanica* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51: 773-781.
- Campanilla, C., & Martínez, O. (2012). Calidad de la semilla de chíá. *Tesis de licenciatura*. Edo. de México: Universidad Autónoma de Chapingo: Departamento de Fitotecnia.
- Castillo, R., Revilla, A., & López, A. (2002). *Fundamentos sobre electroforesis*. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- CNN México. (16 de diciembre de 2014). *CNN México*. Recuperado el 23 de febrero de 2015, de <http://mexico.cnn.com/salud/2014/12/18/cual-es-la-causa-que-mas-muertes-provoca-en-mexico-y-el-mundo>
- CONABIO. (16 de octubre de 2015). *Sitio de malezas de México*. Obtenido de *Salvia polystachya* Ort.: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm>
- Cornejo, G., & Ibarra, G. (diciembre de 2011). Diversidad y distribución del género *Salvia* (Lamiaceae) en Michoacán, México. (U. N. México, Ed.) *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82, págs. 1279-1296.
- Damodara, S., Parkin, K., & Fennema, O. (2010). *Fennema. Química de los Alimentos*. Zaragoza, España: Acribia S.A.
- Dhaval, P., Jitendra, V., S.S, P., & Arindam, P. (2012). Therapeutic Potential of Secoisolariciresorcinol Diglucoside: A Plant Lignan. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Reserch*, 4(1): 15-18.

- FACE. (2014). *Federación de Asociaciones de Celiacos de España*. Recuperado el 7 de octubre de 2015, de El glúten: www.celiacos.org
- Flores, C. (1938). Estudio analítico de la Salvia hispanica L. *Tesis de licenciatura*. México D.F.: Facultad de Química- UNAM.
- Frontela, C., López, G., Ros, G., & Martínez, C. (2006). Relación entre los parámetros sensoriales, fisicoquímicos e instrumentales en el jamón cocido. *An. Vet. (Murcia)*, 22:67-78.
- Gardner, & Nat'l, P. (1937). *Var and Lac. Assoc. Circ*, 535.
- González, G. (marzo de 2014). Desarrollo institucional para la inversión. Principales limitaciones y restricciones a la comercialización de los productos de interés para el área de sistemas de riego en Santa María Catamarca. Buenos Aires, Argentina: FAO-PROSAP.
- González, I. (2010). Caracterización química del color de diferentes variedades de guayaba (*Psidium guajava* L.) colombiana. *Tesis de maestría*. Bogotá D.C., Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Hernández, J. (2008). Caracterización morfológica, contenido de ADN nuclear y cruzamiento natural en la chía (*Salvia hispanica* L.). *Tesis de doctorado*. Edo. de México: Colegio de postgraduados-Universidad Autónoma de Chapingo.
- Hernández, J., & Miranda, S. (abril-junio de 2008). Caracterización morfológica de la chía (*Salvia hispanica*). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31-002, 105-113.
- Hernández, M. (2014). Caracterización y cuantificación de compuestos fenólicos presentes en la semilla y aceite de chía (*Salvia hispanica* L), mediante electroforesis capilar. *Tesis de licenciatura*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México: FESC-UNAM.
- IPNI. (2005). *The International Plant Names Index*. Recuperado el 23 de febrero de 2015, de http://www.ipni.org/ipni/advPlantNameSearch.do?find_family=&find_genus=Salvia&find_species=hispanica
- Ixtaina, V. (2010). Caracterización de la semilla y el aceite de chía (*Salvia hispanica* L.) Obtenido mediante distintos procesos. Aplicación en tecnologías de alimentos. *Tesis de doctorado*. Buenos Aires, Argentina: Departamento de Química-Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de la Plata.
- Ixtaina, V., Nolasco, M., & Tomas, M. (2011). Oxidative Stability of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed oil: Effect of antioxidants and Storage Conditions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24:166-174.
- Ixtaina, V., Nolasco, S., & Tomás, M. (2008). Physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Industrial Crops and products*, 28:286-293.
- Konica Minolta. (s.f.). *Índices de blancura y estándares UV-Fluorescentes*. Recuperado el 03 de marzo de 2015, de KONICA MINOLTA SENSING AMERICAS: <http://sensing.konicaminolta.com.mx/learning-center/case-studies/Whiteness.pdf>
- Konicaminolta. (2003). Recuperado el 03 de marzo de 2015, de Comunicación precisa de los colores: <http://www2.konicaminolta.eu/eu/Measuring/pcc/es/index.html>

- Lavias, P. (2014). Caracterización de los perfiles (huella digital) de las prolaminas de diferentes variedades de chíá por electroforesis capilar. *Tesis de licenciatura*. Cuautitlán Izcalli., Edo. de México: FESC-UNAM.
- Ledesma R, F. (2008). Caracterización de fracciones de proteínas de las semilla de chíá (Salvia hispanica). *Tesis de licenciatura*. México D.F.: Facultad de Química- UNAM.
- Lomanitz. (1918). *Patente nº 1,244,521*. U.S.
- Lookhart, G., & Bean, S. (1995). Separation and Characterization of Wheat Protein Fractions by High-Performance Capillary Electrophoresis. *American Association of Cereal Chemists. Inc.*, 72(6):527-532.
- Lugo, A. (2013). Evaluación nutrimental de semilla de chíá (Salvia hispanica) y balance de hierro mediante métodos biológicos. *Tesis de licenciatura*. México D.F.: Facultad de Química-UNAM.
- Mendiola, M. Á. (marzo de 2009). *Plantas de Interés Agroalimentario*. Recuperado el 7 de octubre de 2015, de OpenCourseWare, Universidad Politécnica de Madrid: http://ocw.upm.es/botanica/plantas-de-interes-agroalimentario/Temas_pdf_revisado/tema-15-cereales-y-pseudocereales
- Miguel, J. (2000). Electroforesis Capilar. *Bioquímica*, 1:13-32.
- Ministerio de Sanidad y Consumo. (2008). *Diagnóstico precoz de la enfermedad celiaca*. Madrid: Gobierno de España.
- Molina, N. (2008). Caracterización bioquímica y estudio de las propiedades funcionales de la fracción de globulinas obtenidas a partir de la semilla de chíá. (Salvia hispanica). *Tesis de licenciatura*. México D.F.: Facultad de Química-UNAM.
- Monroy, R., Mancilla, M., Gallaga, J., Medina, S., & Santiago, E. (Enero-Marzo de 2008). Protein digestibility of chia seed Salvia hispanica L. *Revista de Salud Pública y Nutrición.*, 9(1).
- Montoya, J., Giraldo, G., & Lucas, J. (2012). Determinación del índice de blancura en harina de trigo comercial. *Viate*, S415-S416.
- Nasiff, A. (2009). *Ácidos grasos trans, Omega-3 y Omega-6*. Recuperado el 23 de febrero de 2015, de Medigraphic: <http://www.medigraphic.com/pdfs/actamedica/acm-2009/acm091i.pdf>
- Natero, V., & Romano, G. (15 de enero de 2016). *Nutriguia*. Obtenido de <http://documentos.nutriguia.com.uy/7Jornada/3-%20PSEUDOCEREALES%20Y%20CHIA.pdf>
- Nieman, D., Cayea, E., Austin, M., Henson, D., McAnulty, S., & Jin, F. (2009). Chia seed does not promote weight loss or alter disease risk factors in overweight adults. *Nutrition Research*, 29:414-418.
- Norlaily, A., Swee, Y., Wan, H., Boon, B., Sheau, T., & Soon, T. (2012). The Promising Future of Chia, Salvia hispanica L. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012. doi:10.1155/2012/171956

- Normén, L., Bryngelsson, S., Jonhsson, M., Evheden, P., Ellegård, L., Brants, H., . . . Dutta, P. (2002). The phytosterol content of some cereal foods commonly consumed in sweden ad in the netherlands. *Journal of Food Compositions and Analysis.*, 15:693-704.
- Oda, P., & Landers, J. (1997). *Introduction to capillary electrophoresis, Handbook of Capillary Electrophoresis*. C. Press.
- Oliva, R., Ballesta, F., Josep, O., & Joan, C. (2008). *Genética médica*. España: Universidad de Barcelona.
- Olivos, B. (2005). Estudio de las propiedades térmicas funcionales y nutritivas de la fracción proteica de la semilla de chía. *Tesis de licenciatura*. México D.F.: Faculta de Química-UNAM.
- Orozco, G. (1993). Evaluación de herbicidas para el control de malezas en chía (*Salvia hispanica* L.) en condiciones de temporal, en Acatic, Jal. *Tesis de licenciatura*. Jalisco, Zapopan: Universidad de Guadalajara.
- Orozco, G. (2015). *Chía Blanca*. Recuperado el 7 de octubre de 2015, de chiablanca.com.mx
- Osatinsky, R. (2007). ¿Qué es la electroforesis capilar? *Bioquímica y Patología Clínica*, 71, 2:60-68.
- Palma, F., & Donde, M. (enero de 1947). Oil of Chia-Salvia Hispanica. *Journal of The American Oil Chemists Society*, 27-28.
- Pascual, S. (2013). Efecto de la temperatura sobre las propiedades fisicoquímicas y la composición de los ácidos grasos presentes en el aceite de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.). *Tesis de maestría*. Miguel Hidalgo, México D.F: IPN.
- Peiretti, P., & Gai, F. (2009). Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica*) seeds and plant during growth. *Animal Feed Science and Technology*, 148: 267-275.
- Ramamoorthy, T. (1984). Notes on Salvia (Labiatae) in México, whit three new species. *Journal of the Arnold Arboretum*, 65, 135-143.
- Ramamoorthy, T., & Elliott, M. (1988). Lamiaceae de México: Diversidad, distribución, endemismo y evolución. In *Diversidad biológica de México, orígenes y distribución*. T.P. Ramamoorthy, R.Bye. A. Lot y J. Fa (eds). 501-526.
- Reuss, F. (1809). *Mem. Soc. Imper, Natual, Moscow*.
- SAGARPA. (15 de enero de 2015). Cierre de la producción agricola por estado. México, D.F. Obtenido de http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap/icultivo/index.jsp
- Salinas, Y., Almaguer, G., Peña, G., & Ríos, R. (2009). Ácido elágico y perfil de antocianinas en frutos de frambuesa (*Rubus idaeus* L.) con diferente grado de maduración. *Revista Chapingo-Serie horticultura*, 15(1): 97-101.
- Sandoval, M. R. (noviembre de 2012). Aislamiento y caracterización de las proteínas de reserva de chía (*Salvia hispanica* L.). *Tesis de maestría*. Santiago de Querétaro, Querétaro: Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República-Universidad Autónoma de Querétaro.

- Steger, V. L., & Pennekamp. (1942). *Fette u. Seifen*, 49:241.
- UNAM. (16 de octubre de 2015). *Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana*. Obtenido de http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Hyptis_suaveolens&id=7152
- UPOV. (septiembre de 2010). Unión internacional para la protección de las obtenciones vegetales. *Acta de 1991 del convenio de la UPOV*. Ginebra. Obtenido de www.upov.int
- USDA. (10 de enero de 2015). *United States Department of Agriculture*. Recuperado el 7 de octubre de 2015, de National Nutrient Database for Standard Reference Release 27: <http://ndb.nal.usda.gov/>
- USDA-NRCS. (29 de enero de 2003). *United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service*. Recuperado el 23 de febrero de 2015, de Plants Database: <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=SACO6>
- Valenzuela, R., Tapia, G., Marcela, G., & Valenzuela, A. (2011). Ácidos grasos Omega-3 (EPA Y DHA) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. *Revista chilena de nutrición*, 38, 356-367.
- Vargas, M. G. (noviembre de 2008). Electroforesis capilar y sus aplicaciones. FESC-UNAM.
- Vázquez, C. (2007). La prevención primaria de la enfermedad cardiovascular inicia en la infancia. *Archivos de cardiología de México*, 77.
- Vera, A. (2014). Obtención de aceite de semilla de chía (*Salvia hispanica*) y su transformación a biocombustible. *Tesis de licenciatura*. México, D.F.: Facultad de Química- UNAM.
- Villaseñor, J. (2004). Los géneros de plantas vasculares de la flora de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 75:105-135.
- Walker, J., Sytsma, K., Treutlein, J., & Wink, M. (2004). *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentear. *Amer. J. Bot.*, 91:1115-1125.

9 Anexos.

1. Ubicación geográfica.

Tabla Anexo 1. Localización original de las semillas utilizadas durante la experimentación.

Clasificación	Localización	Ciudad/Pais	Color	Propagación ^x	Lat. N	Long. W	Altitud (m)	Donado
Jal.Cul.Bla.01	La Arena, Zapotlanejo.	Jalisco	Blanca	Cul	20° 27'	102° 52'	1522	Dra. María Gabriela Vargas Martínez
Jal.Cul.Bla.02	Tierra roja, Arandas.	Jalisco	Blanca	Cul	20° 36'	102° 00'	2000	Dra. María Gabriela Vargas Martínez
Jal.Cul.Pin.03	La Arena, Zapotlanejo.	Jalisco	Pinta	Cul	20° 27'	102° 52'	1522	Dr. María Gabriela Vargas Martínez
Jal.Cul.Pin.04	Tierra roja, Arandas.	Jalisco	Pinta	Cul	20° 36'	102° 00'	2000	Dra. María Gabriela Vargas Martínez
Gro.Amb.Neg.05	Chiepetlán, Artesanos de Olinalá.	Guerrero	Negra	Amb	17° 43'	98° 36'	1720	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Gro.Amb.Bla.06	Áreas de cultivo en Cuescomapa.	Guerrero	Blanca	Amb	17° 34'	98° 55'	1980	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Gro.Amb.Neg.07	Productores de Temalacacingo.	Guerrero	Negra	Amb	17° 53'	98° 40'	1480	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Gro.Amb.Neg.08	Productores de Temalacacingo.	Guerrero	Negra	Amb	17° 53'	98° 40'	1480	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Gtm.Cul.Neg.09	Mercado de la ciudad de Guatemala.	Guatemala	Negra	Cul	14° 37'	90° 31'	1514	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Slv.Cul.Neg.10	Mercado de San Salvador.	El Salvador	Negra	Cul	13° 42'	89° 12'	690	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Oax.Cul.Neg.11	Mercado de la Ciudad de Oaxaca.	Oaxaca	Negra	Cul	17° 03'	96° 43'	1560	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Chih.Sil.Neg.12	Jardín Botánico UNAM.	Chihuahua	Negra	Sil	26° 46'	106° 45'	2200	Dr. Robert Bye (16665)
Chih.Sil.Neg.13	Jardín Botánico UNAM.	Chihuahua	Negra	Sil	27° 03'	107° 58'	1620	Dr. Robert Bye (01445)
Sin.Sil.Neg.14	UC-Riverside.	Sinaloa	Negra	Sil	25° 53'	107° 26'	1100	Dr. Joseph P. Cahill, provenientes de la colección Howard Gentry
Pue.Cul.Neg.15	Mercado de Tepalcingo. (San Francisco Xochiteopan)	Puebla	Negra	Cul	18° 54'	98°26'	1845	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Pue.Cul.Neg.16	Mercado de Cuernavaca.	Puebla	Negra	Cul	18° 55'	99°13'	1500	Dr. José Alfonso Hernández Gómez
Pue.Amb.Bla.17	Productores de Tochimilco.	Puebla	Blanca	Amb	18° 54'	98° 34'	2060	Miguel Ángel Romero Aguilar
Pue.Amb.Neg.18	Productores de Tochimilco.	Puebla	Negra	Amb	18° 54'	98° 34'	2060	Miguel Ángel Romero Aguilar

^xForma de Propagación de las semillas sembradas originalmente, Cul= cultivada, Sil= Silvestre, Amb= Ambas.

Parámetros para pruebas de hipótesis.

- Se acepta H_0 cuando no existen diferencias significativas entre los valores de las medias.
Aplica cuando el valor de la Razón $F_{exp} < F_{Tablas}$, o si se cumple que el valor $P > 0.05$, correspondiente a la probabilidad con un intervalo de confianza del 95% en una gráfica simétrica con 2 colas.
- Se acepta H_1 cuando existe diferencia significativa en por lo menos uno de los valores de las medias.
Aplica cuando se rechaza H_0 , dado que $F_{exp} > F_{Tablas}$, o el valor $P < 0.05$.

2. Influencia de los factores en el peso de la semilla.

2.3 Influencia del tipo de propagación en el peso de la semilla.

Tabla Anexo 2. ANOVA para Pesos de la semilla por tipo de propagación.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0656733	2	0.0328366	1.75	0.2070
Intra grupos	0.280989	15	0.0187326		
Total (Corr.)	0.346663	17			

$H_0: \bar{X}_{Silvestre} = \bar{X}_{Cultivada} = \bar{X}_{Ambas}$, No existe influencia del factor propagación en el peso de la semilla.

$H_1: \bar{X}_{Silvestre} \neq \bar{X}_{Cultivada} \neq \bar{X}_{Ambas}$, Existe influencia del factor propagación en peso de por lo menos un tipo de semilla.

El Valor P de probabilidad es mayor a 0.05 por lo que se acepta H_0 , por lo tanto no existe influencia significativa del peso de la semilla debido al tipo de propagación.

Cabe hacer mención que se observó que los datos NO cumplen con la condición de homocedasticidad (igualdad de varianzas, prueba de Levene con $P=0.025$), por lo que se invalida la prueba paramétrica de ANOVA. Por tal motivo, se aplicó la prueba equivalente "no paramétrica" (prueba de Kruskal-Wallis) donde no hay que cumplir con la condición de homocedasticidad. Los resultados obtenidos (tabla anexo 3) confirman la aceptación de H_0 , por lo que no existen diferencias significativas entre las medias de los pesos de las semillas por el factor del tipo de propagación.

Tabla Anexo 3. Prueba de Kruskal-Wallis para el Peso de la semilla por el factor tipo de propagación.

Propagación	Tamaño de muestra	Intervalo promedio
Ambas	6	7.5
Cultivada	9	11.1111
Silvestre	3	8.66667

Test estadístico = 1.73489 Valor P = 0.420023

2.2 Influencia del lugar de procedencia de la semilla en el peso de la semilla.

Tabla Anexo 4. ANOVA para pesos por localidad de procedencia.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.222546	7	0.0317922	2.56	0.0862
Intra grupos	0.124117	10	0.0124117		
Total (Corr.)	0.346663	17			

$H_0: \bar{X}_{Chihuahua} = \bar{X}_{Guatemala} = \bar{X}_{Guerrero} = \bar{X}_{Jalisco} = \bar{X}_{Oaxaca} = \bar{X}_{Sinaloa} = \bar{X}_{El\ Salvador} = \bar{X}_{Puebla}$, No existe influencia del factor localidad de procedencia en el peso de la semilla.

$H_1: \bar{X}_{Chihuahua} \neq \bar{X}_{Guatemala} \neq \bar{X}_{Guerrero} \neq \bar{X}_{Jalisco} \neq \bar{X}_{Oaxaca} \neq \bar{X}_{Sinaloa} \neq \bar{X}_{El\ Salvador} \neq \bar{X}_{Puebla}$, Existe influencia del factor localidad de procedencia en el peso de por lo menos un tipo de semilla.

El Valor P de probabilidad es mayor a 0.05 por lo que se acepta H_0 , por lo tanto no existe influencia significativa del peso de la semilla debido a la localidad de procedencia.

Tabla Anexo 5. Prueba de Múltiples Rangos para Pesos por Localidad de Procedencia. Método: 95.0 porcentaje LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Chihuahua – Guatemala		-0.0085	0.304022
Chihuahua – Guerrero		0.214875	0.214976
Chihuahua – Jalisco		-0.026375	0.214976
Chihuahua – Oaxaca		-0.0375	0.304022
Chihuahua – Puebla		-0.01175	0.214976
Chihuahua – Salvador		-0.0715	0.304022
Chihuahua – Sinaloa		0.261	0.304022
Guatemala – Guerrero		0.223375	0.277533
Guatemala – Jalisco		-0.017875	0.277533
Guatemala – Oaxaca		-0.029	0.351054
Guatemala – Puebla		-0.00325	0.277533
Guatemala – Salvador		-0.063	0.351054
Guatemala – Sinaloa		0.2695	0.351054
Guerrero – Jalisco	*	-0.24125	0.175527
Guerrero – Oaxaca		-0.252375	0.277533
Guerrero – Puebla	*	-0.226625	0.175527
Guerrero – Salvador	*	-0.286375	0.277533
Guerrero – Sinaloa		0.046125	0.277533
Jalisco – Oaxaca		-0.011125	0.277533
Jalisco – Puebla		0.014625	0.175527
Jalisco – Salvador		-0.045125	0.277533
Jalisco – Sinaloa	*	0.287375	0.277533
Oaxaca – Puebla		0.02575	0.277533
Oaxaca – Salvador		-0.034	0.351054
Oaxaca – Sinaloa		0.2985	0.351054
Puebla – Salvador		-0.05975	0.277533
Puebla – Sinaloa		0.27275	0.277533
Salvador – Sinaloa		0.3325	0.351054

* indica una diferencia significativa.

La prueba de múltiples rangos muestra diferencias particulares entre las semillas de Guerrero con El Salvador y los estados de Jalisco y Puebla así como las del estado de Jalisco con las que provienen de Sinaloa.

Cabe hacer mención que se observó que los datos NO cumplen con la condición de homocedasticidad (igualdad de varianzas, prueba de Levene con $P=0.003$), por lo que se invalida la prueba paramétrica de ANOVA. Por tal motivo, se aplicó la prueba equivalente “no paramétrica” (prueba de Kruskal-Wallis) donde no hay que cumplir con la condición de homocedasticidad. Los resultados obtenidos (tabla anexo 6) confirman la aceptación de H_0 , por lo que no existen diferencias significativas entre las medias de los pesos de las semillas por el factor del tipo de propagación.

Tabla Anexo 6. Prueba de Kruskal-Wallis para el peso de la semilla por el factor localidad.

Localidad	Tamaño de muestra	Intervalo promedio
Chihuahua	2	11.5
El Salvador	1	16.0
Guatemala	1	11.0
Guerrero	4	3.75
Jalisco	4	12.0
Oaxaca	1	12.0
Puebla	4	10.75
Sinaloa	1	3.0

Test estadístico = 9.2807 Valor P = 0.233126

2.3 Influencia del color de la semilla en el peso de la semilla.

Tabla Anexo 7. ANOVA Para pesos por color.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.027567	2	0.0137835	0.65	0.5372
Intra grupos	0.319096	15	0.021273		
Total (Corr.)	0.346663	17			

$H_0: \bar{X}_{Negra} = \bar{X}_{Blanca} = \bar{X}_{Pinta}$ No existe influencia del color en el peso de la semilla.

$H_1: \bar{X}_{Negra} \neq \bar{X}_{Blanca} \neq \bar{X}_{Pinta}$ Existe influencia del color de la semilla en el peso de la semilla.

El Valor P de probabilidad es mayor a 0.05 por lo que se acepta H_0 , por lo tanto no existe influencia significativa del peso de la semilla debido a su coloración.

3. Parámetros colorimétricos.

Tabla Anexo 8. Fórmulas para el cálculo de los parámetros colorimétricos en el sistema CIELab.

$L^* = 116 \cdot (Y/Y_0)^{1/3} - 16$	$a^* = 500 \cdot \left[(X - X_0)^{1/3} - (Y - Y_0)^{1/3} \right]$
$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$	$b^* = 200 \cdot \left[(Y - Y_0)^{1/3} - (Z - Z_0)^{1/3} \right]$
$h^* = \text{arc. tg}(b/a)$	$WI = L^* - 3b + 3a$ (Hunter) (Montoya 2012)
$S^* = L/h^*$	

3.1. Valores promedio para la obtención de los parámetros.

Tabla Anexo 9. Medidas utilizadas para el cálculo de los parámetros colorimétricos.

Parámetro	L		a		b	
	promedio	desviación	promedio	desviación	promedio	desviación
Muestra						
Jal.Cul.Bla.01	63.76	0.93	3.54	0.28	11.45	0.29
Jal.Cul.Bla.02	61.59	1.98	3.43	0.33	11.81	0.95
Jal.Cul.Pin.03	41.46	1.79	2.6	0.21	7.25	0.19
Jal.Cul.Pin.04	40.9	3.32	2.59	0.18	8.65	1.17
Gro.Amb.Neg.05	34.44	1.45	2.92	0.26	7.3	0.85
Gro.Amb.Bla.06	59.44	0.81	3.61	0.12	12.04	0.75
Gro.Amb.Neg.07	36.81	0.74	2.69	0.13	6.56	0.29
Gro.Amb.Neg.08	41.06	2.19	2	0.21	7.5	0.65
Gtm.Cul.Neg.09	37.43	1.12	3.23	0.1	7.18	0.55
Slv.Cul.Neg.10	37.38	0.3	3.08	0.13	7.13	0.16
Oax.Cul.Neg.11	36.74	1.22	3.52	0.11	8.43	0.5
Chih.Sil.Neg.12	37.3	0.86	3.29	0.12	7.91	0.3
Chih.Sil.Neg.13	38.05	1.44	3.11	0.13	8.25	0.4
Sin.Sil.Neg.14	37.29	1.1	2.78	0.11	7.77	0.79
Pue.Cul.Neg.15	34.58	0.87	2.74	0.11	7.16	0.44
Pue.Cul.Neg.16	32.86	2.34	2.66	0.23	6.85	0.87
Pue.Amb.Bla.17	64.1	0.95	3.04	0.24	11.54	0.75
Pue.Amb.Neg.18	34.4	0.94	2.36	0.12	6.09	0.28

3.2. Parámetros adicionales.

Tabla Anexo 10. Parámetros colorimétricos.

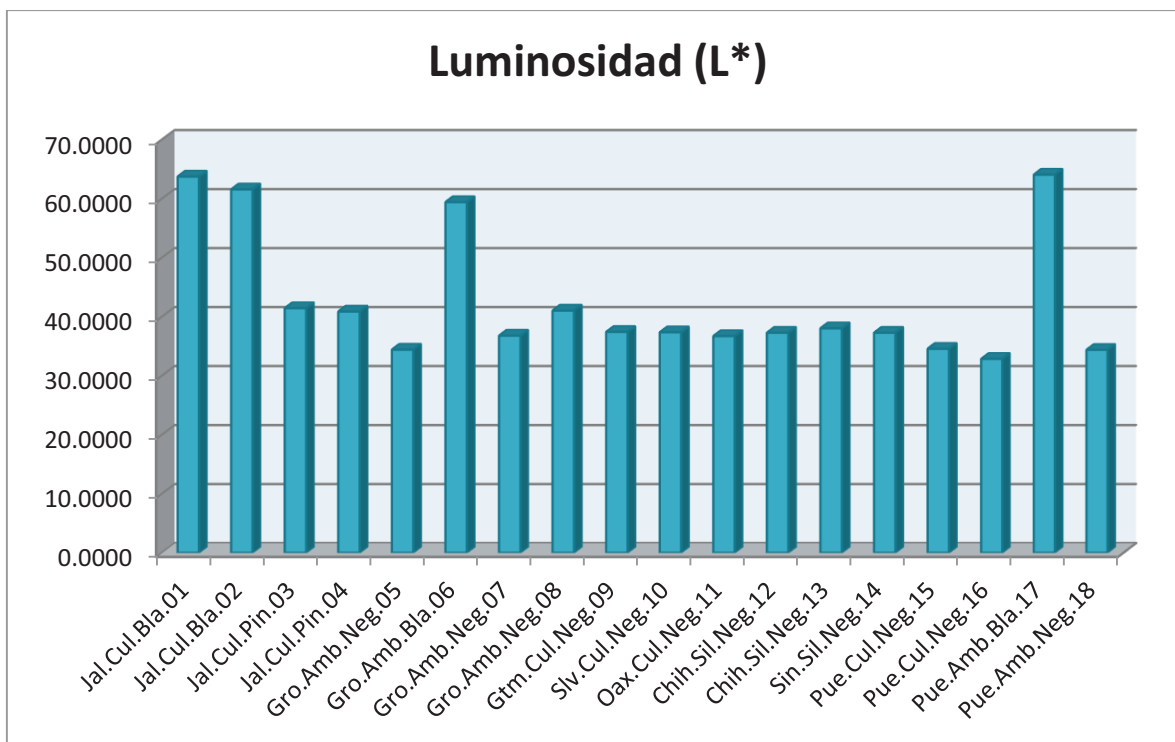
Muestra	Croma (C*)	Tono (H*)	Índice de blancura (WI)
Jal.Cul.Bla.01	11.9843	1.2711	40.025
Jal.Cul.Bla.02	12.3005	1.2879	36.4517
Jal.Cul.Pin.03	7.6989	1.227	27.495
Jal.Cul.Pin.04	9.0288	1.2795	22.735
Gro.Amb.Neg.05	7.8608	1.1902	21.3017
Gro.Amb.Bla.06	12.5712	1.2795	34.1483

Continúa...

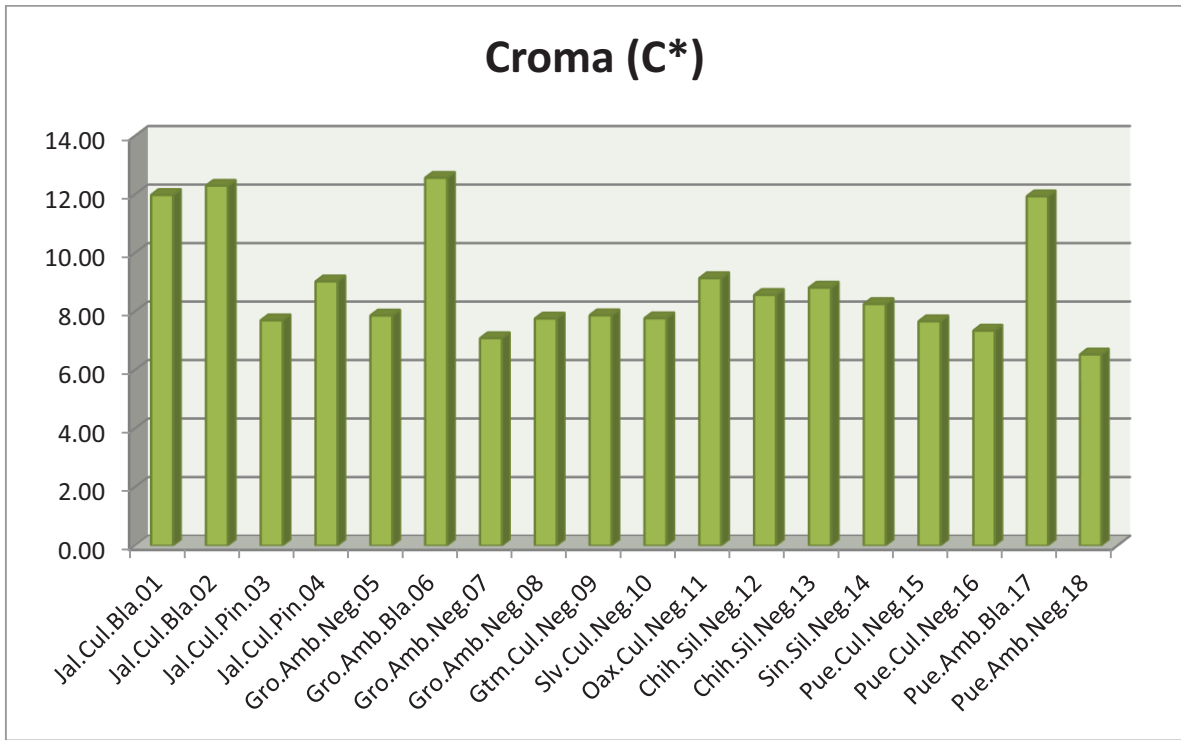
Continúa...

Gro.Amb.Neg.07	7.0851	1.1821	25.19
Gro.Amb.Neg.08	7.7568	1.3102	24.5717
Gtm.Cul.Neg.09	7.871	1.1486	25.5683
Slv.Cul.Neg.10	7.7679	1.1638	25.2
Oax.Cul.Neg.11	9.1378	1.1756	21.99
Chih.Sil.Neg.12	8.565	1.1772	23.4217
Chih.Sil.Neg.13	8.8146	1.2104	22.6283
Sin.Sil.Neg.14	8.2534	1.2275	22.3117
Pue.Cul.Neg.15	7.6648	1.2052	21.3267
Pue.Cul.Neg.16	7.3462	1.2005	20.2917
Pue.Amb.Bla.17	11.9373	1.3132	38.5917
Pue.Amb.Neg.18	6.5288	1.2007	23.225

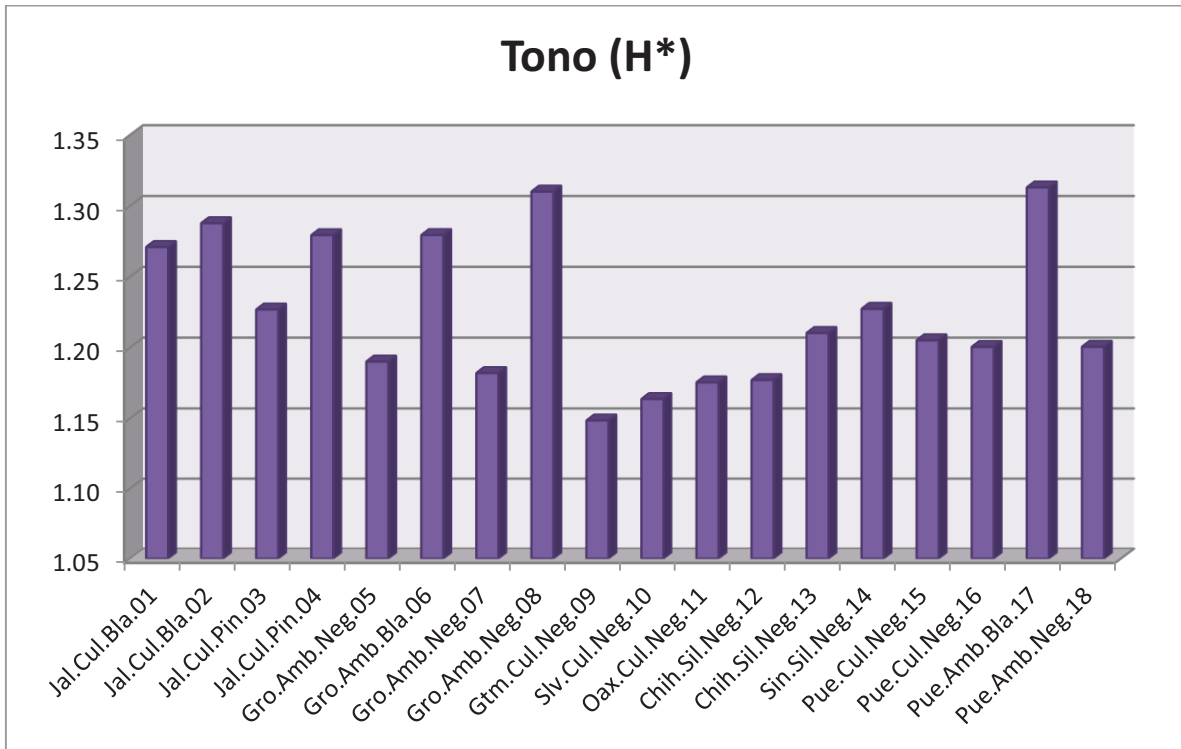
3.3. Relación de los diferentes parámetros.



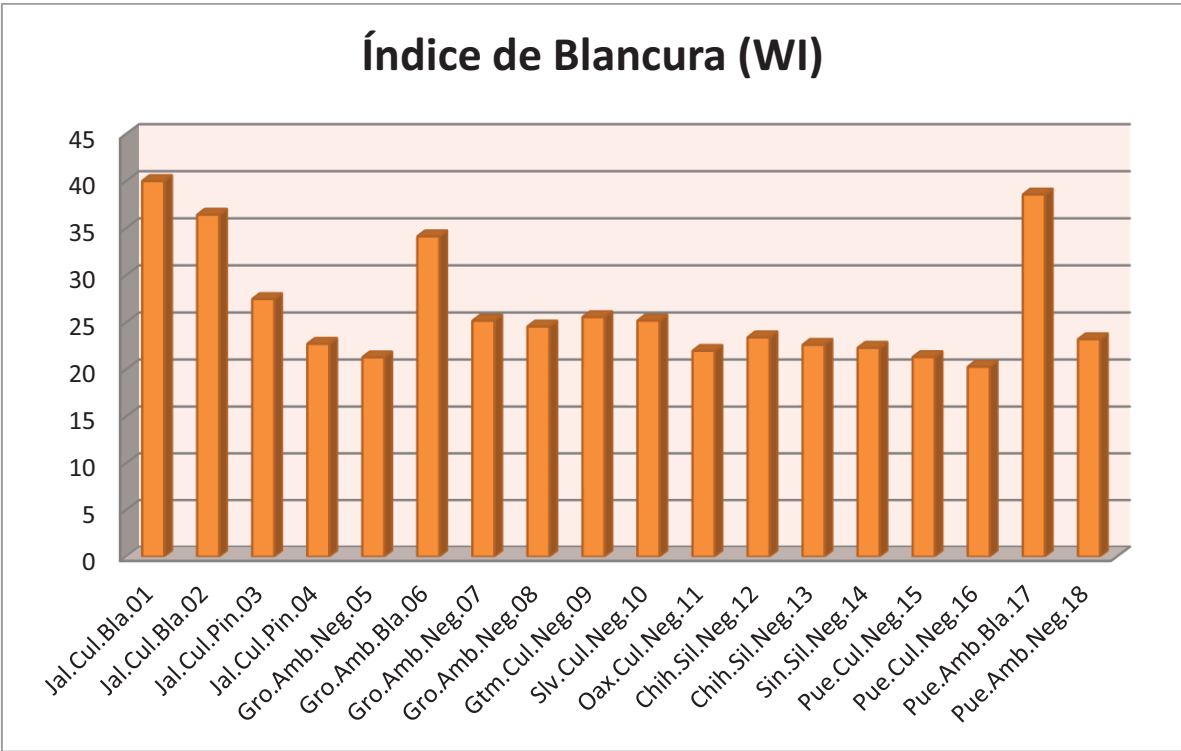
Gráfica Anexo 1. Luminosidad de las diferentes muestras.



Gráfica Anexo 2. Cromaticidad.



Gráfica Anexo 3. Tono.



Gráfica Anexo 4. Índice de blancura.

4. Índice de blancura.

4.1. Para todas las muestras.

4.1.1. Propagación.

Tabla Anexo 11. ANOVA para índice de blancura por tipo de propagación, para todas las muestras.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	316.936	2	158.468	4.20	0.0176
Intra grupos	3960.17	105	37.7159		
Total (Corr.)	4277.1	107			

$H_0: \bar{X}_{Silvestre} = \bar{X}_{Cultivada} = \bar{X}_{Ambas}$, No existe influencia del factor propagación en el índice de blancura.

$H_1: \bar{X}_{Silvestre} \neq \bar{X}_{Cultivada} \neq \bar{X}_{Ambas}$, Existe influencia del factor propagación en el índice de blancura de por lo menos un tipo de semilla.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existe influencia significativa del índice de blancura de la semilla debido al tipo de propagación de la semilla.

Tabla Anexo 12. Prueba de Múltiples Rangos para índice de blancura por tipo de propagación, para todas las muestras. Método: 95.0 porcentaje LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Ambos – Cultivada		1.05102	2.6201
Ambos – Silvestre	*	5.05083	3.51524
Cultivada – Silvestre	*	3.99981	3.3142

* indica una diferencia significativa.

Se observan una mayor diferencia de las semillas respecto a las demás, esto puede ser debido a que la coloración de las semillas silvestres es prioritariamente Negra y las que son cultivada o ambas, no son solo semillas negras (hay más variedad de color).

Cabe hacer mención que se observó que los datos NO cumplen con la condición de homocedasticidad (igualdad de varianzas, prueba de Levene con $P=0.004$), por lo que se invalida la prueba paramétrica de ANOVA. Por tal motivo, se aplicó la prueba equivalente "no paramétrica" (prueba de Kruskal-Wallis) donde no hay que cumplir con la condición de homocedasticidad. Los resultados obtenidos (tabla anexo 13) confirman la NO aceptación de H_0 , por lo que existen diferencias significativas entre las medias del Índice de Blancura de las semillas por el factor del tipo de propagación.

Tabla Anexo 13. Prueba de Kruskal-Wallis para el índice de blancura por el tipo de propagación.

Propagación	Tamaño de la muestra	Rango promedio
Ambos	36	61.9722
Cultivada	54	55.6019
Silvestre	18	36.25

Prueba estadística = 8.22714 Valor-P=0.0163493

4.1.2. Color.

Tabla Anexo 14. ANOVA para índice de blancura por color de la semilla, para todas las muestras.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3663.85	2	1831.93	313.66	0.0000
Intra grupos	613.247	105	5.84045		
Total (Corr.)	4277.1	107			

$H_0: \bar{X}_{Negra} = \bar{X}_{Blanca} = \bar{X}_{Pinta}$ No existe influencia del color en el índice de blancura de las semillas de chí.

$H_1: \bar{X}_{Negra} \neq \bar{X}_{Blanca} \neq \bar{X}_{Pinta}$ Existe influencia del color en el índice de blancura de las semillas de chí.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existe influencia significativa del índice de blancura debido a la coloración de la semilla.

Tabla Anexo 15. Prueba de Múltiples Rangos para índice de blancura por color de la semilla, para todas las muestras. Método: 95.0 porcentaje LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Blanca – Negra	*	14.2186	1.12946
Blanca – Pinta	*	12.1892	1.69419
Negra – Pinta	*	-2.02944	1.49413

* indica una diferencia significativa.

Existe una diferencia al comparar varios tipos de semillas de tres coloraciones distintas con un mismo análisis.

Cabe hacer mención que se observó que los datos NO cumplen con la condición de homocedasticidad (igualdad de varianzas, prueba de Levene con $P=0.0002$), por lo que se invalida la prueba paramétrica de ANOVA. Por tal motivo, se aplicó la prueba equivalente “no paramétrica” (prueba de Kruskal-Wallis) donde no hay que cumplir con la condición de homocedasticidad. Los resultados obtenidos (tabla anexo 16) confirman la NO aceptación de H_0 , por lo que existen diferencias significativas entre las medias del Índice de Blancura de las semillas por el factor del color de la semilla.

Tabla Anexo 16. Prueba de Kruskal-Walls para el índice de blancura por color de la semilla.

Color	Tamaño de la muestra	Rango promedio
Blanca	24	96.5
Negra	72	39.7083
Pinta	12	59.25

Prueba estadística = 59.491 Valor-P = 0.0

4.1.3. Localidad.

Tabla Anexo 17. ANOVA para Índice de blancura por localidad de procedencia, para todas las muestras.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1041.41	7	148.772	4.60	0.0002
Intra grupos	3235.69	100	32.3569		
Total (Corr.)	4277.1	107			

$H_0: \bar{X}_{Chihuahua} = \bar{X}_{Guatemala} = \bar{X}_{Guerrero} = \bar{X}_{Jalisco} = \bar{X}_{Oaxaca} = \bar{X}_{Sinaloa} = \bar{X}_{El\ Salvador} = \bar{X}_{Puebla}$, No existe influencia del factor localidad de procedencia en el índice de blancura de las semillas.

$H_1: \bar{X}_{Chihuahua} \neq \bar{X}_{Guatemala} \neq \bar{X}_{Guerrero} \neq \bar{X}_{Jalisco} \neq \bar{X}_{Oaxaca} \neq \bar{X}_{Sinaloa} \neq \bar{X}_{El\ Salvador} \neq \bar{X}_{Puebla}$, Existe influencia del factor localidad de procedencia en el índice de blancura de por lo menos un tipo de semilla.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existe influencia significativa del índice de blancura debido a la localidad de procedencia de la semilla.

Tabla Anexo 18. Prueba de Múltiples Rangos para Índice de blancura por localidad de procedencia, para todas las muestras. Método: 95.0 porcentaje LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Chihuahua - El Salvador		-2.175	5.64274
Chihuahua - Guatemala		-2.54333	5.64274
Chihuahua - Guerrero		-3.27792	3.99002
Chihuahua - Jalisco	*	-8.65167	3.99002
Chihuahua - Oaxaca		1.035	5.64274
Chihuahua - Puebla		-2.83375	3.99002
Chihuahua - Sinaloa		0.713333	5.64274
El Salvador - Guatemala		-0.368333	6.51567
El Salvador - Guerrero		-1.10292	5.15109
El Salvador - Jalisco	*	-6.47667	5.15109
El Salvador - Oaxaca		3.21	6.51567
El Salvador - Puebla		-0.65875	5.15109
El Salvador - Sinaloa		2.88833	6.51567
Guatemala - Guerrero		-0.734583	5.15109
Guatemala - Jalisco	*	-6.10833	5.15109
Guatemala - Oaxaca		3.57833	6.51567
Guatemala - Puebla		-0.290417	5.15109
Guatemala - Sinaloa		3.25667	6.51567
Guerrero - Jalisco	*	-5.37375	3.25784
Guerrero - Oaxaca		4.31292	5.15109
Guerrero - Puebla		0.444167	3.25784
Guerrero - Sinaloa		3.99125	5.15109
Jalisco - Oaxaca	*	9.68667	5.15109
Jalisco - Puebla	*	5.81792	3.25784
Jalisco - Sinaloa	*	9.365	5.15109
Oaxaca - Puebla		-3.86875	5.15109
Oaxaca - Sinaloa		-0.321667	6.51567
Puebla - Sinaloa		3.54708	5.15109

* indica una diferencia significativa.

Se observa que las semillas de Jalisco tiene una diferencia muy marcada con las demás semillas, esto es debido a que en su mayoría son semillas pintas, por lo que no tiene una coloración completamente definida

Cabe hacer mención que se observó que los datos NO cumplen con la condición de homocedasticidad (igualdad de varianzas, prueba de Levene con $P=0.00005$), por lo que se invalida la prueba paramétrica de ANOVA. Por tal motivo, se aplicó la prueba equivalente “no paramétrica” (prueba de Kruskal-Wallis) donde no hay que cumplir con la condición de homocedasticidad. Los resultados obtenidos (tabla anexo 19) confirman la NO aceptación de H_0 , por lo que existen diferencias significativas entre las medias del Índice de Blancura de las semillas por el factor localidad de procedencia.

Tabla Anexo 19. Prueba de Krukal-Wallis para el índice de blancura por localidad de procedencia.

Localidad	Tamaño de la muestra	Rango promedio
Chihuahua	12	38.625
El Salvador	6	66.0833
Guatemala	6	68.3333
Guerrero	24	57.7708
Jalisco	24	78.7917
Oaxaca	6	24.1667
Puebla	24	41.8542
Sinaloa	6	31.5

Prueba estadística = 32.5477 Valor-P = 0.000032138

4.2. Para las muestras blancas y pintas.

4.2.1. Propagación.

Tabla Anexo 20. ANOVA para índice de blancura por tipo de propagación, para semillas blancas y pintas.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	176.219	1	176.219	4.42	0.0429
Intra grupos	1354.47	34	39.8373		
Total (Corr.)	1530.69	35			

$H_0: \bar{X}_{Silvestre} = \bar{X}_{Cultivada} = \bar{X}_{Ambas}$, No existe influencia del factor propagación en el índice de blancura de las semillas blancas y/o pintas.

$H_1: \bar{X}_{Silvestre} \neq \bar{X}_{Cultivada} \neq \bar{X}_{Ambas}$, Existe influencia del factor propagación en el índice de blancura de por lo menos un tipo de semilla blancas y/o pinta.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existe influencia significativa del porcentaje de aceite de la semilla debido al tipo de propagación de la semilla.

Cabe hacer mención que se observó que los datos NO cumplen con la condición de homocedasticidad (igualdad de varianzas, prueba de Levene con $P=0.0002$), por lo que se invalida la prueba paramétrica de ANOVA. Por tal motivo, se aplicó la prueba equivalente “no paramétrica” (prueba de Kruskal-Wallis) donde no hay que cumplir con la condición de homocedasticidad. Los resultados obtenidos (tabla anexo 21) aceptan H_0 , por lo que las medias del índice de blancura de las semillas blancas y pintas con respecto al tipo de propagación se pueden considerar iguales.

Tabla Anexo 21. Prueba de Kruskal-Wallis para el índice de blancura por propagación.

Propagación	Tamaño de la muestra	Rango promedio
Ambos	12	22.6667
Cultivada	24	16.4167

Prueba estadística = 2.81568 Valor-P = 0.0933438

4.2.2. Color.

Tabla Anexo 22. ANOVA para índice de blancura por color de la semilla, para semillas blancas y pintas.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1188.61	1	1188.61	118.14	0.0000
Intra grupos	342.08	34	10.0612		
Total (Corr.)	1530.69	35			

$H_0: \bar{X}_{Blanca} = \bar{X}_{Pinta}$ No existe influencia del color en el índice de blancura de las semillas blancas y pintas.

$H_1: \bar{X}_{Blanca} \neq \bar{X}_{Pinta}$ Existe influencia del color en el índice de blancura de las semillas blancas y pintas.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existe influencia significativa del índice de blancura debido a la coloración de la semilla.

Tabla Anexo 23. Prueba de Múltiples Rangos para índice de blancura color de la semilla, para semillas blancas y pintas. Método: 95.0 porcentaje LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Blanca - Pinta	*	12.1892	2.27906

* indica una diferencia significativa.

Se muestra que se puede diferenciar adecuadamente una semilla blanca de una pinta

4.2.3. Localidad.

Tabla Anexo 24. ANOVA para índice de blancura por localidad de procedencia para semillas blancas y/o pintas.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	235.449	2	117.724	3.00	0.0636
Intra grupos	1295.24	33	39.2496		
Total (Corr.)	1530.69	35			

$H_0: \bar{X}_{Guerrero} = \bar{X}_{Jalisco} = \bar{X}_{Puebla}$, No existe influencia del factor localidad de procedencia en el índice de blancura de las semillas blancas y/o pintas.

$H_1: \bar{X}_{Guerrero} \neq \bar{X}_{Jalisco} \neq \bar{X}_{Puebla}$, Existe influencia del factor localidad de procedencia en el índice de blancura de por lo menos un tipo de semilla blanca y/o pinta.

El Valor P de probabilidad es mayor a 0.05 por lo que se acepta H_0 , por lo tanto no existe influencia significativa del índice de blancura debido la localidad de procedencia para las semillas blancas y pintas.

Cabe hacer mención que se observó que los datos NO cumplen con la condición de homocedasticidad (igualdad de varianzas, prueba de Levene con $P=0.00005$), por lo que se invalida la prueba paramétrica de ANOVA. Por tal motivo, se aplicó la prueba equivalente “no paramétrica” (prueba de Kruskal-Wallis) donde no hay que cumplir con la condición de homocedasticidad. Los resultados obtenidos (tabla anexo 25) aceptan H_0 , por lo que las medias del índice de blancura de las semillas blancas y pintas con respecto a la localidad de procedencia se pueden considerar iguales.

Tabla Anexo 25. Prueba de Kruskal-Wallis para índice de blancura por localidad de procedencia.

Localidad	Tamaño de la muestra	Rango promedio
Guerrero	6	17.6667
Jalisco	24	16.4167
Puebla	6	27.6667

Prueba estadística = 5.51873 Valor-P = **0.063332**

4.3. Para las muestras negras.

4.3.1. Propagación.

Tabla Anexo 26. ANOVA para índice de blancura por tipo de propagación, para semillas negras.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8.60887	2	4.30444	1.13	0.3286
Intra grupos	262.559	69	3.8052		
Total (Corr.)	271.167	71			

$H_0: \bar{X}_{Silvestre} = \bar{X}_{Cultivada} = \bar{X}_{Ambas}$, No existe influencia del factor propagación para el índice de blancura en semillas negras.

$H_1: \bar{X}_{Silvestre} \neq \bar{X}_{Cultivada} \neq \bar{X}_{Ambas}$, Existe influencia del factor propagación para el índice de blancura de por lo menos un tipo de semilla negra.

El Valor P de probabilidad es mayor a 0.05 por lo que se acepta H_0 , por lo tanto no existe influencia significativa en el índice de blancura de la semilla debido al tipo de propagación.

Cabe hacer mención que se observó que los datos NO cumplen con la condición de homocedasticidad (igualdad de varianzas, prueba de Levene con $P=0.005$), por lo que se invalida la prueba paramétrica de ANOVA. Por tal motivo, se aplicó la prueba equivalente “no paramétrica” (prueba de Kruskal-Wallis) donde no hay que cumplir con la condición de homocedasticidad. Los resultados obtenidos (tabla anexo 27) aceptan H_0 , por lo que las medias del índice de blancura de las semillas negras con respecto al tipo de propagación se pueden considerar iguales.

Tabla Anexo 27. Prueba de Kruskal-Wallis para el índice de blancura por propagación.

Propagación	Tamaño de la muestra	Rango promedio
Ambos	24	41.7917
Cultivada	30	34.1167
Silvestre	18	33.4167

Prueba estadística = 2.31417 Valor-P = **0.314401**

4.3.2. Localidad.

Tabla Anexo 28. ANOVA para índice de blancura por localidad de procedencia, para semillas negras.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	120.132	6	20.0221	8.62	0.0000
Intra grupos	151.035	65	2.32362		
Total (Corr.)	271.167	71			

$H_0: \bar{X}_{Chihuahua} = \bar{X}_{Guatemala} = \bar{X}_{Guerrero} = \bar{X}_{Oaxaca} = \bar{X}_{Sinaloa} = \bar{X}_{El\ Salvador} = \bar{X}_{Puebla}$, No existe influencia del factor localidad de procedencia en el índice de blancura de las semillas negras.

$H_1: \bar{X}_{Chihuahua} \neq \bar{X}_{Guatemala} \neq \bar{X}_{Guerrero} \neq \bar{X}_{Oaxaca} \neq \bar{X}_{Sinaloa} \neq \bar{X}_{El\ Salvador} \neq \bar{X}_{Puebla}$, Existe influencia del factor localidad de procedencia en el índice de blancura de por lo menos un tipo de semilla negra.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existen diferencias significativas en el índice de blancura de la semilla debido a la localidad de procedencia.

Tabla Anexo 29. Prueba de Múltiples Rangos para índice de blancura por localidad de procedencia, para semillas negras. Método: 95.0 porcentaje LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Chihuahua - El Salvador	*	-2.175	1.52216
Chihuahua - Guatemala	*	-2.54333	1.52216
Chihuahua - Guerrero		-0.662778	1.13455
Chihuahua - Oaxaca		1.035	1.52216
Chihuahua - Puebla	*	1.41056	1.13455
Chihuahua - Sinaloa		0.713333	1.52216
El Salvador - Guatemala		-0.368333	1.75764
El Salvador - Guerrero	*	1.51222	1.43511
El Salvador - Oaxaca	*	3.21	1.75764
El Salvador - Puebla	*	3.58556	1.43511
El Salvador - Sinaloa	*	2.88833	1.75764
Guatemala - Guerrero	*	1.88056	1.43511
Guatemala - Oaxaca	*	3.57833	1.75764
Guatemala - Puebla	*	3.95389	1.43511
Guatemala - Sinaloa	*	3.25667	1.75764
Guerrero - Oaxaca	*	1.69778	1.43511
Guerrero - Puebla	*	2.07333	1.01478
Guerrero - Sinaloa		1.37611	1.43511
Oaxaca - Puebla		0.375556	1.43511
Oaxaca - Sinaloa		-0.321667	1.75764
Puebla - Sinaloa		-0.697222	1.43511

* indica una diferencia significativa.

Se observan claras diferencias entre las semillas provenientes de Guerrero y Centro-América (Guatemala y el Salvador), respecto a las demás semillas, presentando una decoloración más pronunciada, en un término medio se encuentra el estado de Chihuahua y Sinaloa, que representa

la fracción Silvestre y con una coloración más uniformemente negra se encuentran los estados de Oaxaca y Puebla.

4.4. Índice de blancura para semillas blancas.

4.4.1. Por tipo de propagación.

Tabla Anexo 30. ANOVA para índice de blancura por tipo de propagación, para semillas blancas.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	20.944	1	20.944	2.06	0.1650
Intra grupos	223.382	22	10.1537		
Total (Corr.)	244.326	23			

$H_0: \bar{X}_{Cultivada} = \bar{X}_{Ambas}$, No existe influencia del factor propagación para el índice de blancura en semillas blancas.

$H_1: \bar{X}_{Cultivada} \neq \bar{X}_{Ambas}$, Existe influencia del factor propagación para el Índice de blancura de por lo menos un tipo de semilla blanca.

El Valor P de probabilidad es mayor a 0.05 por lo que se acepta H_0 , por lo tanto no existe influencia significativa en el índice de blancura de la semilla debido al tipo de propagación.

4.4.2. Localidad

Tabla Anexo 31. ANOVA para índice de blancura por localidad de procedencia para semillas blancas.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	80.1737	2	40.0868	5.13	0.0154
Intra grupos	164.152	21	7.81678		
Total (Corr.)	244.326	23			

$H_0: \bar{X}_{Jalisco} = \bar{X}_{Guerrero} = \bar{X}_{Puebla}$, No existe influencia del factor localidad de procedencia en el índice de blancura de las semillas negras.

$H_1: \bar{X}_{Jalisco} \neq \bar{X}_{Guerrero} \neq \bar{X}_{Puebla}$, Existe influencia del factor localidad de procedencia en el índice de blancura de por lo menos un tipo de semilla negra.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existe influencia significativa en el índice de blancura de la semilla debido a la localidad de procedencia.

Tabla Anexo 32. Prueba de Múltiples Rangos para índice de blancura por localidad de procedencia, para semillas blancas. Método: 95.0 porcentaje LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Guerrero – Jalisco	*	-4.09	2.90715
Guerrero – Puebla	*	-4.44333	3.35689
Jalisco – Puebla		-0.353333	2.90715

* indica una diferencia significativa.

Se observa diferencia significativa entre las semillas con origen en el estado de guerrero con las de Jalisco y Puebla.

5. Por Dimensiones de la semilla.

5.1. Ancho de las semillas.

5.1.1. Tipo de Propagación.

Tabla Anexo 33. ANOVA para ancho de la semilla por tipos de propagación.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2101.09	2	1050.54	5.90	0.0040
Intra grupos	15487.8	87	178.021		
Total (Corr.)	17588.9	89			

$H_0: \bar{X}_{Silvestre} = \bar{X}_{Cultivada} = \bar{X}_{Ambas}$, No existe influencia del factor propagación en el Ancho de la semilla.

$H_1: \bar{X}_{Silvestre} \neq \bar{X}_{Cultivada} \neq \bar{X}_{Ambas}$, Existe influencia del factor propagación en el Ancho en por lo menos un tipo de semilla.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existe influencia significativa de las dimensiones de ancho de la semilla debido al tipo de Propagación de la semilla.

Tabla Anexo 34. Prueba de Múltiples Rangos para ancho de la semilla por tipo de propagación.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Ambas – Cultivada	*	-10.3024	6.25073
Ambas – Silvestre	*	-10.0861	8.38624
Cultivada – Silvestre		0.21626	7.90662

* indica una diferencia significativa.

Los resultados de la tabla 11 demuestran que las semillas que comienzan a ser domesticadas por el hombre presentan diferencias significativas en las dimensiones del ancho de la semilla.

5.1.2. Color de la semilla.

Tabla Anexo 35. ANOVA para ancho por color de la semilla.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1988.57	2	994.287	5.54	0.0054
Intra grupos	15600.3	87	179.314		
Total (Corr.)	17588.9	89			

$H_0: \bar{X}_{Negra} = \bar{X}_{Blanca} = \bar{X}_{Pinta}$ No existe influencia del color en el Ancho de las semillas.

$H_1: \bar{X}_{Negra} \neq \bar{X}_{Blanca} \neq \bar{X}_{Pinta}$ Existe influencia del color en el Ancho de la semilla.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existe influencia significativa de las dimensiones de Ancho de la semilla debido a la coloración de la semilla.

Tabla Anexo 36. Prueba de múltiples rangos para ancho de la semilla por coloración.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Blanca - Negra	*	-9.5231	6.87216
Blanca - Pinta	*	-15.5492	10.3082
Negra - Pinta		-6.02614	9.09101

* indica una diferencia significativa.

Las semillas de coloración blanca muestran diferencias en las dimensiones, comparadas con las Negras y Pintas.

5.1.3. Localidad.

Tabla Anexo 37. ANOVA para ancho por localidad de procedencia.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4480.57	7	640.081	4.00	0.0008
Intra grupos	13108.3	82	159.858		
Total (Corr.)	17588.9	89			

$H_0: \bar{X}_{Chihuahua} = \bar{X}_{Guatemala} = \bar{X}_{Guerrero} = \bar{X}_{Jalisco} = \bar{X}_{Oaxaca} = \bar{X}_{Sinaloa} = \bar{X}_{El\ Salvador} = \bar{X}_{Puebla}$, No existe influencia del factor localidad de procedencia en el Ancho de las semillas.

$H_1: \bar{X}_{Chihuahua} \neq \bar{X}_{Guatemala} \neq \bar{X}_{Guerrero} \neq \bar{X}_{Jalisco} \neq \bar{X}_{Oaxaca} \neq \bar{X}_{Sinaloa} \neq \bar{X}_{El\ Salvador} \neq \bar{X}_{Puebla}$, Existe influencia del factor localidad de procedencia en el Ancho de por lo menos un tipo de semilla.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existe influencia significativa de las dimensiones de ancho de la semilla debido a la localidad de procedencia.

Tabla Anexo 38. Prueba de Múltiples Rangos para ancho de la semilla por localidad de procedencia. Método: 95.0 porcentaje de LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Chihuahua - El Salvador		-3.27756	13.7763
Chihuahua - Guatemala		11.0825	13.7763
Chihuahua - Guerrero	*	17.7238	9.74132
Chihuahua - Oaxaca		-4.72178	13.7763
Chihuahua - Puebla		2.99674	9.74132
Chihuahua - Sinaloa		9.72328	13.7763
Chihuahua - Jalisco		5.30535	9.74132
El Salvador - Guatemala		14.3601	15.9075
El Salvador - Guerrero	*	21.0014	12.576
El Salvador - Oaxaca		-1.44422	15.9075
El Salvador - Puebla		6.2743	12.576
El Salvador - Sinaloa		13.0008	15.9075
El Salvador - Jalisco		8.58291	12.576
Guatemala - Guerrero		6.64132	12.576
Guatemala - Oaxaca		-15.8043	15.9075
Guatemala - Puebla		-8.08576	12.576
Guatemala - Sinaloa		-1.35922	15.9075
Guatemala - Jalisco		-5.77715	12.576
Guerrero - Oaxaca	*	-22.4456	12.576

Continúa...

Continúa...

Guerrero – Puebla	*	-14.7271	7.95375
Guerrero – Sinaloa		-8.00054	12.576
Guerrero – Jalisco	*	-12.4185	7.95375
Oaxaca – Puebla		7.71852	12.576
Oaxaca – Sinaloa		14.4451	15.9075
Oaxaca – Jalisco		10.0271	12.576
Puebla – Sinaloa		6.72654	12.576
Puebla – Jalisco		2.30861	7.95375
Sinaloa – Jalisco		-4.41793	12.576

* indica una diferencia significativa.

Se observa que el estado que presentan un menor tamaño en el ancho de la semilla se ubican en Guerrero, teniendo claras diferencias con las semillas originarias del salvador, también se muestra que las semillas originarias del estado de Oaxaca presentan un mayor tamaño respecto al resto de las muestras.

5.2. Longitud de las semillas.

5.2.1. Tipo de propagación.

Tabla Anexo 39. ANOVA para longitud de la semilla por tipo de propagación.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1885.15	2	942.577	2.45	0.0920
Intra grupos	33437.6	87	384.34		
Total (Corr.)	35322.8	89			

$H_0: \bar{X}_{Silvestre} = \bar{X}_{Cultivada} = \bar{X}_{Ambas}$, No existe influencia del factor propagación en la longitud de la semilla.

$H_1: \bar{X}_{Silvestre} \neq \bar{X}_{Cultivada} \neq \bar{X}_{Ambas}$, Existe influencia del factor propagación en la longitud en por lo menos un tipo de semilla.

El Valor P de probabilidad es mayor a 0.05 por lo que se acepta H_0 , por lo tanto no existen influencias significativas de las dimensiones de longitud en las semillas debido al tipo de propagación de la semilla.

Tabla Anexo 40. Prueba de Múltiples rangos para longitud de la semilla por tipo de propagación.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Ambas – Cultivada		-7.96981	9.18446
Ambas – Silvestre	*	-12.4856	12.3222
Cultivada – Silvestre		-4.51574	11.6175

* indica una diferencia significativa.

Adicionalmente se observa que las semillas silvestres son un poco más alargadas que las que comienzan a ser manipuladas por el hombre.

5.2.2. Color.

Tabla Anexo 41. ANOVA para longitud por color de la semilla.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2026.7	2	1013.35	2.65	0.0765
Intra grupos	33296.1	87	382.713		
Total (Corr.)	35322.8	89			

$H_0: \bar{X}_{Negra} = \bar{X}_{Blanca} = \bar{X}_{Pinta}$ No existe influencia del color en la longitud de las semillas.

$H_1: \bar{X}_{Negra} \neq \bar{X}_{Blanca} \neq \bar{X}_{Pinta}$ Existe influencia del color en la longitud de la semilla.

El Valor P de probabilidad es mayor a 0.05 por lo que se acepta H_0 , por lo tanto no existe influencia significativa de la longitud de la semilla debido su coloración.

Tabla Anexo 42. Prueba de Múltiples Rangos para longitud de la semilla por coloración.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Blanca - Negra		-8.90253	10.0397
Blanca - Pinta	*	-16.3857	15.0596
Negra - Pinta		-7.48318	13.2813

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de similitud de varianzas, Si $F_{Exp} < F_{Tablas}$ se acepta H_0 , si $F_{Exp} > F_{Tablas}$ se acepta H_1

Tabla Anexo 43. Datos usados en el análisis.

	Blancas	Pintas
Promedio	270.495	286.88
Desviación estándar (S)	23.8444	8.3327
Grados de libertad	19	9
Varianza (S^2)	568.5554	69.4342

$$F = \frac{S^2_{blancas}}{S^2_{pintas}} = 8.18840 = F_{Exp} \quad F_{Tab} = 3.0026$$

$$F_{Exp} > F_{Tab} \text{ por lo que se acepta } H_1$$

Prueba de la influencia de la matriz

$$S^2_{promedio) = \frac{[(n_1 - 2) \times S_1^2] + [(n_2 - 2) \times S_2^2]}{n_1 + n_2 - 4}$$

$$t_{exp} = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{S^2_{Exp} \left(\frac{1}{\sum(x_{i1} - \bar{x}_1)^2} + \frac{1}{\sum(x_{i2} - \bar{x}_2)^2} \right)}}$$

$$t_{exp} = 18.0155 \quad t_{tab} = 2.0555$$

Debido a que $t_{exp} > t_{tab}$ se acepta H_1 por lo que existen diferencias significativas entre la longitud de semillas blancas y pintas.

5.2.3. Localidad.

Tabla Anexo 44. ANOVA para longitud de la semilla por localidad de procedencia.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	9905.16	7	1415.02	4.57	0.0002
Intra grupos	25417.6	82	309.971		
Total (Corr.)	35322.8	89			

$H_0: \bar{X}_{Chihuahua} = \bar{X}_{Guatemala} = \bar{X}_{Guerrero} = \bar{X}_{Jalisco} = \bar{X}_{Oaxaca} = \bar{X}_{Sinaloa} = \bar{X}_{El\ Salvador} = \bar{X}_{Puebla}$, No existe influencia del factor localidad de procedencia en la longitud de las semillas.

$H_1: \bar{X}_{Chihuahua} \neq \bar{X}_{Guatemala} \neq \bar{X}_{Guerrero} \neq \bar{X}_{Jalisco} \neq \bar{X}_{Oaxaca} \neq \bar{X}_{Sinaloa} \neq \bar{X}_{El\ Salvador} \neq \bar{X}_{Puebla}$, Existe influencia del factor localidad de procedencia en la longitud de por lo menos un tipo de semilla.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existe influencia significativa de la longitud de la semilla debido a la localidad de procedencia.

Tabla Anexo 45. Prueba de múltiples rangos para longitud de la semilla por localidad de procedencia, Metodo: 95.0 porcentaje de LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Chihuahua - El Salvador		7.45029	19.1834
Chihuahua - Guatemala	*	20.7899	19.1834
Chihuahua - Guerrero	*	30.7371	13.5647
Chihuahua - Oaxaca		4.68389	19.1834
Chihuahua - Puebla		7.0941	13.5647
Chihuahua - Sinaloa	*	23.8362	19.1834
Chihuahua - Jalisco		12.6218	13.5647
El Salvador - Guatemala		13.3396	22.1511
El Salvador - Guerrero	*	23.2868	17.512
El Salvador - Oaxaca		-2.7664	22.1511
El Salvador - Puebla		-0.356185	17.512
El Salvador - Sinaloa		16.3859	22.1511
El Salvador - Jalisco		5.17149	17.512
Guatemala - Guerrero		9.94721	17.512
Guatemala - Oaxaca		-16.106	22.1511
Guatemala - Puebla		-13.6958	17.512
Guatemala - Sinaloa		3.04632	22.1511
Guatemala - Jalisco		-8.16813	17.512
Guerrero - Oaxaca	*	-26.0532	17.512
Guerrero - Puebla	*	-23.643	11.0756
Guerrero - Sinaloa		-6.90089	17.512
Guerrero - Jalisco	*	-18.1153	11.0756
Oaxaca - Puebla		2.41021	17.512
Oaxaca - Sinaloa		19.1523	22.1511
Oaxaca - Jalisco		7.93789	17.512
Puebla - Sinaloa		16.7421	17.512
Puebla - Jalisco		5.52768	11.0756
Sinaloa - Jalisco		-11.2144	17.512

* indica una diferencia significativa.

El análisis muestra que las semillas de los estado de Chihuahua y Guerrero presentan una mayor diferencia con el resto de las muestras siendo las más grandes y las más pequeñas respectivamente, adicionalmente, se observa que las muestras silvestres también difieren de las misma forma.

6. Influencia de los factores en el contenido de aceite.

6.1. Influencia del tipo de propagación en el contenido de aceite de la semilla de chíá.

Tabla Anexo 46. ANOVA para porcentaje de aceite por propagación.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	144.429	2	72.2147	18.95	0.0000
Intra grupos	201.996	53	3.81124		
Total (Corr.)	346.425	55			

$H_0: \bar{X}_{Silvestre} = \bar{X}_{Cultivada} = \bar{X}_{Ambas}$, No existe influencia del factor propagación en el porcentaje de aceite de la semilla.

$H_1: \bar{X}_{Silvestre} \neq \bar{X}_{Cultivada} \neq \bar{X}_{Ambas}$, Existe influencia del factor propagación en el porcentaje de aceite en por lo menos un tipo de semilla.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existe influencia significativa del porcentaje de aceite de la semilla debido al tipo de propagación de la semilla.

Tabla Anexo 47. Prueba de múltiples rangos para peso de la semilla por tipo de propagación. Método : 95.0 porcentaje de LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Ambos - Cultivada		-0.614674	1.14885
Ambos - Silvestre	*	3.96573	1.56005
Cultivada - Silvestre	*	4.5804	1.51438

Las semillas silvestres presentan diferencias significativas con las que han sido manipuladas por el hombre.

6.2. Localidad.

Tabla Anexo 48. ANOVA para porcentaje de aceite por localidad de procedencia.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	209.88	7	29.9829	10.54	0.0000
Intra grupos	136.545	48	2.84468		
Total (Corr.)	346.425	55			

$H_0: \bar{X}_{Chihuahua} = \bar{X}_{Guatemala} = \bar{X}_{Guerrero} = \bar{X}_{Jalisco} = \bar{X}_{Oaxaca} = \bar{X}_{Sinaloa} = \bar{X}_{El Salvador} = \bar{X}_{Puebla}$, No existe influencia del factor localidad de procedencia en el porcentaje de aceite de la semilla.

$H_1: \bar{X}_{Chihuahua} \neq \bar{X}_{Guatemala} \neq \bar{X}_{Guerrero} \neq \bar{X}_{Jalisco} \neq \bar{X}_{Oaxaca} \neq \bar{X}_{Sinaloa} \neq \bar{X}_{El Salvador} \neq \bar{X}_{Puebla}$, Existe influencia del factor localidad de procedencia en el porcentaje de aceite de por lo menos un tipo de semilla.

El Valor P de probabilidad es menor a 0.05 por lo que se acepta H_1 , por lo tanto existe influencia significativa del porcentaje de aceite de la semilla debido a la localidad de procedencia.

Tabla Anexo 49. Prueba de múltiples rangos para porcentaje de aceite por localidad de procedencia. Método: 95.0 porcentaje de LSD.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Chihuahua - El salvador	*	-6.06321	2.39793
Chihuahua - Guatemala	*	-5.48354	2.39793
Chihuahua - Guerrero	*	-2.78385	1.67371
Chihuahua - Jalisco	*	-3.99478	1.72109
Chihuahua - Oaxaca	*	-5.76033	2.39793
Chihuahua - Puebla	*	-5.48411	1.65473
Chihuahua - Sinaloa		-0.412385	2.39793
El salvador - Guatemala		0.579663	2.76889
El salvador - Guerrero	*	3.27935	2.17209
El salvador - Jalisco		2.06842	2.20881
El salvador - Oaxaca		0.302877	2.76889
El salvador - Puebla		0.579095	2.1575
El salvador - Sinaloa	*	5.65082	2.76889
Guatemala - Guerrero	*	2.69969	2.17209
Guatemala - Jalisco		1.48876	2.20881
Guatemala - Oaxaca		-0.276786	2.76889
Guatemala - Puebla		-0.000567314	2.1575
Guatemala - Sinaloa	*	5.07116	2.76889
Guerrero - Jalisco		-1.21093	1.38928
Guerrero - Oaxaca	*	-2.97648	2.17209
Guerrero - Puebla	*	-2.70026	1.30616
Guerrero - Sinaloa	*	2.37147	2.17209
Jalisco - Oaxaca		-1.76555	2.20881
Jalisco - Puebla	*	-1.48933	1.36635
Jalisco - Sinaloa	*	3.5824	2.20881
Oaxaca - Puebla		0.276219	2.1575
Oaxaca - Sinaloa	*	5.34795	2.76889
Puebla - Sinaloa	*	5.07173	2.1575

* indica una diferencia significativa.

Existen diferencias significativas del porcentaje de aceite de las semillas de Chihuahua y Sinaloa comparadas con el resto de las localidades, adicionalmente de las originarias del estado de Guerrero con todas las semillas excepto las del estado de Jalisco, y las de Jalisco con las de Puebla.

6.3. Color.

Tabla Anexo 50. ANOVA para porcentaje de aceite por coloración de la semilla.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4.60314	2	2.30157	0.36	0.7015
Intra grupos	341.822	53	6.44947		
Total (Corr.)	346.425	55			

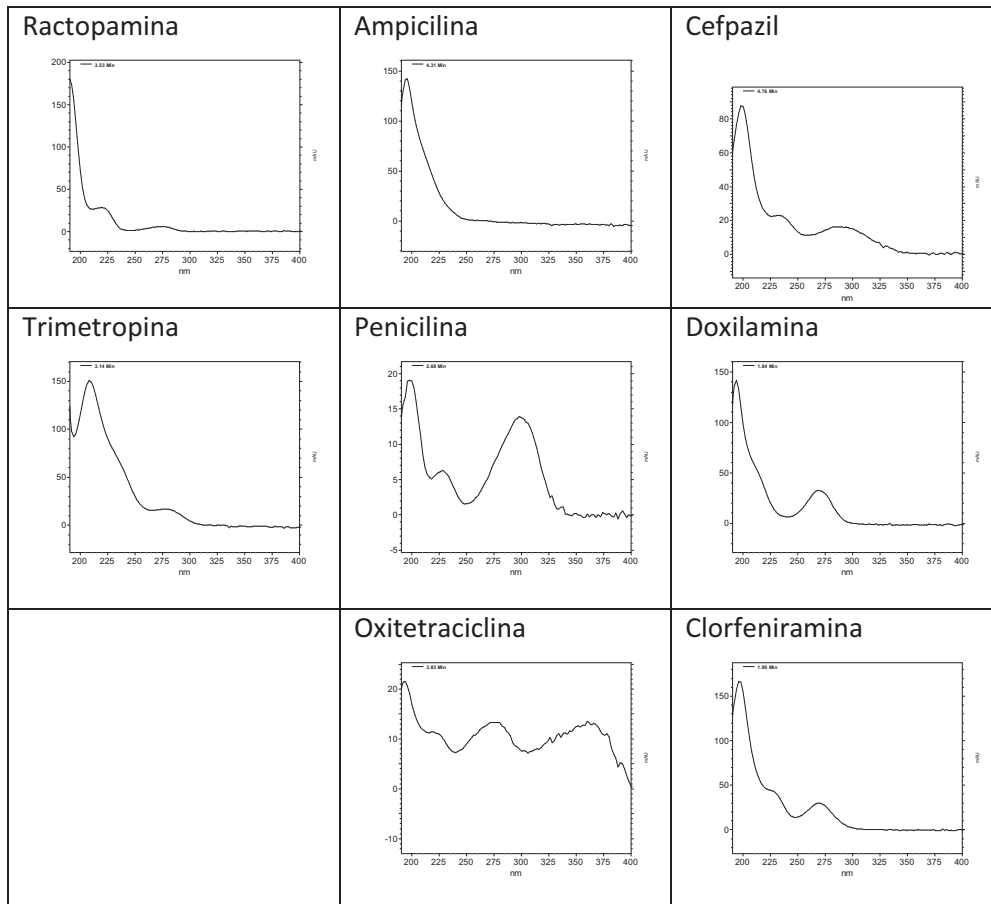
$H_0: \bar{X}_{Negra} = \bar{X}_{Blanca} = \bar{X}_{Pinta}$ No existe influencia del color en el porcentaje de aceite de las semillas.

$H_1: \bar{X}_{Negra} \neq \bar{X}_{Blanca} \neq \bar{X}_{Pinta}$ Existe influencia del color en el porcentaje de aceite de la semilla.

El Valor P de probabilidad es mayor a 0.05 por lo que se acepta H_0 , por lo tanto no existe influencia significativa del porcentaje de aceite de la semilla debido a la coloración de la semilla.

7. Espectros de absorción de los diferentes estándares utilizados.

Tabla Anexo 51. Espectros de absorción de los diferentes estándares utilizados.



8. Prueba de ajuste de pH*.

Tabla Anexo 52. Precisión intermedia, repeticiones el mismo día sin ajuste de pH*.

Pico	Muestra sin ajuste de pH*				
	Rep 1	Rep 2	promedio	Desvesta	%RSD
estándar	1.771	1.783	1.777	0.008	0.478
1	2.304	2.317	2.311	0.009	0.398
2	2.358	2.362	2.360	0.003	0.120
3	2.481	2.509	2.495	0.020	0.794
4	2.558	2.583	2.571	0.018	0.688
5	2.807	2.82	2.814	0.009	0.327
6	3.061	3.082	3.072	0.015	0.483
7	4.706	4.729	4.718	0.016	0.345
8	5.284	5.3	5.292	0.011	0.214
9	5.646	5.662	5.654	0.011	0.200
10	5.867	5.9	5.884	0.023	0.397
11	5.958	5.975	5.967	0.012	0.201
12	7.483	7.537	7.510	0.038	0.508
13	7.758	7.817	7.788	0.042	0.536
14	8.1	8.167	8.134	0.047	0.582
15	14.008	14.05	14.029	0.030	0.212

Tabla Anexo 53. Precisión intermedia, repeticiones por día, con ajuste de pH*.

Pico	Muestra con ajuste de pH				
	Rep 1	Rep 2	promedio	Desvesta	%RSD
Estándar	1.788	1.788	1.788	0.000	0.000
1	2.317	2.333	2.325	0.011	0.487
2	2.354	2.354	2.354	0.000	0.000
3	2.629	2.633	2.631	0.003	0.108
4	2.708	2.71	2.709	0.001	0.052
5	2.921	2.912	2.917	0.006	0.218
6	3.188	3.183	3.186	0.004	0.111
7	4.854	4.862	4.858	0.006	0.116
8	5.088	5.1	5.094	0.008	0.167
9	5.392	5.4	5.396	0.006	0.105
10	6.375	6.1	6.238	0.194	3.118
11	7.979	7.992	7.986	0.009	0.115
12	8.292	8.338	8.315	0.033	0.391
13	11.796	11.838	11.817	0.030	0.251
14	14.267	14.125	14.196	0.100	0.707

9. Repetibilidad de la muestra con estándar interno.

Tabla Anexo 54. Precisión intermedia por día con estándar interno.

Traza	Azul	Negra	Roja	Azul	Negra	Roja	Promedio de la relación	Desviación estándar	%RSD
Pico	Tiempo de migración			Relacion vs STD	Relación vs STD	Relación vs STD			
STD	1.746	1.758	1.738	----	----	---	1.745	0.01	0.58
A	2.229	2.246	2.217	1.28	1.28	1.28	1.28	0.00	0.08
B	2.271	2.296	2.242	1.30	1.31	1.29	1.30	0.01	0.63
C	2.317	2.346	2.279	1.33	1.33	1.31	1.32	0.01	0.89
D	2.404	2.425	2.354	1.38	1.38	1.35	1.37	0.01	1.00
E	2.508	2.529	2.492	1.44	1.44	1.43	1.44	0.00	0.17
F	2.583	2.596	2.567	1.48	1.48	1.48	1.48	0.00	0.10
G	3.021	3.038	3.017	1.73	1.73	1.74	1.73	0.00	0.23
H	3.133	3.179	3.15	1.79	1.81	1.81	1.81	0.01	0.52
I	3.817	3.854	3.763	2.19	2.19	2.17	2.18	0.01	0.65
J	3.938	3.962	3.875	2.26	2.25	2.23	2.25	0.01	0.64
K	4.662	4.595	4.683	2.67	2.61	2.69	2.66	0.04	1.56
L	5.308	5.35	5.379	3.04	3.04	3.09	3.06	0.03	1.01
M	5.688	5.733	5.763	3.26	3.26	3.32	3.28	0.03	1.00
N	5.971	6.021	6.05	3.42	3.42	3.48	3.44	0.03	0.99
O	7.533	7.617	7.513	4.31	4.33	4.32	4.32	0.01	0.21
P	7.833	7.921	7.808	4.49	4.51	4.49	4.49	0.01	0.22
Q	13.517	13.696	13.629	7.74	7.79	7.84	7.79	0.05	0.64