



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES
CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

Proyecto de investigación previo
a la obtención del título de
Ingeniero Forestal

Título del Proyecto de Investigación:

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA RESINA DE *Croton lechleri* Müll Arg.
(SANGRE DE DRAGO) PARA EL CONSUMO MEDICINAL HUMANO EXTRAÍDA
DE LOS CANTONES SANTO DOMINGO, PROVINCIA DE SANTO DOMINGO DE
LOS TSÁCHILAS, Y PANGUA, PROVINCIA DE COTOPAXI

Autora:

Silvia Darling Palma Alvarado

Director del Proyecto de Investigación:

Dr.Ing.For. Nicolás Javier Cruz Rosero

Mocache-Los Ríos-Ecuador

2022.

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Silvia Darling Palma Alvarado**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Silvia Darling Palma Alvarado

C.I. 1206868224

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, **Ing. For. Nicolas Javier Cruz Rosero PhD.**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la estudiante **Silvia Darling Palma Alvarado**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**Análisis microbiológico de la resina de *Croton lechleri* Müll Arg. (sangre de drago) para el consumo medicinal humano extraída de los cantones Santo Domingo, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, y Pangua, provincia de Cotopaxi**” previo a la obtención del título de Ingeniera Forestal, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Ing. For. Nicolas Javier Cruz Rosero

Director del Proyecto de Investigación

CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE PLAGIO ACADÉMICO

CERTIFICACIÓN

El suscrito, **Ing. Nicolas Javier Cruz Rosero**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, en calidad de Director del Proyecto de Investigación titulado “**Análisis microbiológico de la resina de *Croton lechleri* Müll Arg. (sangre de drago) para el consumo medicinal humano extraída de los cantones Santo Domingo, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, y Pangua, provincia de Cotopaxi**”, CERTIFICA: el cumplimiento de los parámetros establecidos por SENESCYT, y se evidencia el reporte de la herramienta de prevención de coincidencia y/o plagio académico (URKUND) con un porcentaje de coincidencia de 2%.



Document Information

Analyzed document	TESIS ANALISIS MICROBIOLOGICO DE SANGRE DE DRAGO (3) (1).docx (D150763221)
Submitted	2022-11-24 03:24:00
Submitted by	Edwin Jiménez
Submitter email	ejimenez@uteq.edu.ec
Similarity	2%
Analysis address	ejimenez.uteq@analysis.urkund.com

Ing. For. Nicolas Javier Cruz Rosero

Director del Proyecto de Investigación



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES
CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA RESINA DE *Croton lechleri* Müll Arg.
(SANGRE DE DRAGO) PARA EL CONSUMO MEDICINAL HUMANO EXTRAÍDA
DE LOS CANTONES SANTO DOMINGO, PROVINCIA DE SANTO DOMINGO DE
LOS TSÁCHILAS, Y PANGUA, PROVINCIA DE COTOPAXI.

Presentado a la comisión académica como requisito a la obtención del título de ingeniera forestal.

Aprobado por:

CARLOS BELEZACA PhD.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

CLARA RUIZ M. Sc.
INTEGRANTE DEL TRIBUNAL

WISTON MORALES M. Sc.
INTEGRANTE DEL TRIBUNAL

Mocache- Los Ríos- Ecuador

2022

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi profundo agradecimiento principalmente a Dios por haberme guiado y permitido llegar a cumplir mi más anhelado sueño, por darme salud y sabiduría en cada paso que doy para lograr mis metas.

A mis Padres quienes han sido mi pilar fundamental para la culminación de mis estudios profesionales, quienes me han brindado su apoyo incondicional por ser mi inspiración en cada paso que doy.

A mis docentes quienes me formaron profesionalmente brindándome el tesoro de conocimientos para adquirir un buen aprendizaje, especialmente a mi tutor el PhD. Nicolás Cruz por haberme guiado durante esta etapa de aprendizaje y ayudándome a crecer profesionalmente.

Al Sr. Antonio Arcos por su apoyo durante la realización de la presente investigación, gracias por su tiempo y sus conocimientos que me transmitió, fueron de gran ayuda. A mi pareja Kevin Cobeña que estuvo presente en esta etapa maravillosa siendo mi apoyo incondicional y a mis amigas Mariby y Shirley que me brindaron su amistad sincera en esta travesía de mi vida universitaria.

Palma Alvarado Silvia

DEDICATORIA

La presente investigación quiero dedicarla en primer lugar a mis queridos padres Pablo Palma y Sonia Alvarado por ser el pilar fundamental en toda mi carrera universitaria y por su apoyo incondicional.

Y a todas las personas que buscan mejorar su salud a través de la medicina tradicional, brindando tributo a nuestros aborígenes por seguir manteniendo los conocimientos visibles, abriendo nuevos caminos en el campo de la salud.

Palma Alvarado Silvia Darling

ÍNDICE DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	iii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE PLAGIO ACADÉMICO	iv
CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
CÓDIGO DUBLÍN.....	xiii

INTRODUCCIÓN.....	15
CAPÍTULO I CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	15
1.1. Planteamiento del Problema	17
<i>Diagnóstico.....</i>	<i>18</i>
<i>Formulación del Problema.....</i>	<i>18</i>
<i>Sistematización</i>	<i>18</i>
1.2. Justificación.....	19
1.3. Objetivos.....	20
1.3.1. <i>Objetivo General</i>	<i>20</i>
1.3.2. <i>Objetivos Específicos.....</i>	<i>20</i>
CAPÍTULO II FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	21
2.1. Marco Conceptual.....	22
2.1.2. <i>Distribución Geográfica.....</i>	<i>23</i>
2.1.4. <i>Cultivo</i>	<i>23</i>
2.1.5. <i>Descripción Botánica.....</i>	<i>24</i>
2.1.6. <i>Resina Sangre de Drago</i>	<i>24</i>
2.1.7. <i>Propiedades Físicas de la Resina</i>	<i>25</i>
2.1.8. <i>Usos Medicinales de la Resina</i>	<i>25</i>
2.1.9. <i>Extracción de la Resina</i>	<i>25</i>
2.1.10. <i>Técnicas de Extracción de Resina en Arboles de C. lechleri</i>	<i>26</i>
2.1.11. <i>Canales Resiníferos</i>	<i>33</i>
2.1.12. <i>Épocas de Resinación</i>	<i>33</i>

2.1.13. Labores Básicas Durante la Campaña de Resinación.....	33
2.1.14 <i>Composición Química</i>	35
2.1.15. <i>Microorganismos</i>	35
2.1.16. <i>Escherichia coli</i>	36
2.1.17. <i>Aspergillus niger</i>	37
2.1.18. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	37
2.1.19. <i>Control de Calidad</i>	37
2.1.20. <i>Norma Sanitaria que Establece los Criterios Microbiológicos de Calidad</i>	38
2.2. Marco Referencial.....	38
CAPÍTULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	40
3.1. Localización	41
3.2. Tipo de Investigación.....	42
3.3. Métodos de Investigación	42
3.4. Fuente de Recopilación de Información	43
3.5. Diseño de la Investigación	43
3.6. Recursos Humanos.....	43
3.8. Materiales e Instrumentos de Laboratorio.....	44
3.9. Equipos de Laboratorio	44
3.10. Reactivos	45
3.11. Manejo del Experimento	45
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
4.1. Resultados	50
4.1.1. <i>Cuantificación e Identificación de Microorganismos en el Cantón Santo Domingo de los Tsáchilas</i>	50
4.1.2. <i>Cuantificación e Identificación de Microorganismos en el Cantón Pangua</i>	55
4.2. Discusión.....	61
CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	63
5.1. Conclusiones	64
5.2. Recomendaciones.....	65
CAPÍTULO VI BIBLIOGRAFÍA.....	66
CAPÍTULO VII ANEXOS	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Fotografía de árbol de C. lechleri</i>	22
Figura 2. <i>Fase de resinación a vida a la altura del pecho de un árbol de pino</i>	27
Figura 3. <i>Labor de desroñe en primer año, correspondiendo a la primera entalladura</i> ...	28
Figura 4. <i>Labor de desroñe con la herramienta hacha plana en su tercera entalladura</i> .	29
Figura 5. <i>Labor de perforación de entalladuras circulares</i>	30
Figura 6. <i>Método Borehole, aplicación de las bolsas plásticas con resina</i>	30
Figura 7. <i>Sistema de Resinación Chino</i>	31
Figura 8. <i>Sistema americano de pica de corteza utilizando fundas de polietileno</i>	32
Figura 9. <i>Estriado de colonias en placa Petri M1</i>	51
Figura 10. <i>Estriado de colonias en placa Petri M2</i>	51
Figura 11. <i>Recuento de bacterias M1 para determinar el número de microorganismos</i> ...	52
Figura 12. <i>Recuento de bacterias en la placa Petri M2.</i>	52
Figura 13. <i>Identificación de E. coli mediante tinción Gram, M1.</i>	54
Figura 14. <i>Identificación de bacterias mediante tinción Gram, M2.</i>	54
Figura 15. <i>Recuento bacteriano en placa Petri M1.</i>	56
Figura 16. <i>Tinción Gram para identificar colonias de bacterias en M1</i>	58
Figura 17. <i>Relación de los beneficios de la resina C.lechleri</i>	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características agroclimáticas del cantón Santo Domingo de los Tsáchilas.	41
Tabla 2. Características agroclimáticas del cantón Pangua.	42
Tabla 3. Cuantificación de microorganismos en resina del cantón Santo Domingo	50
Tabla 4. Identificación de microorganismos en resina del cantón Santo Domingo.	53
Tabla 5. Cuantificación de microorganismos en resina del cantón Pangua	55
Tabla 6. Identificación de microorganismos en resina del cantón Pangua.....	56

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Identificación y selección de los árboles de sangre de drago.	73
Anexo 2. Extracción de la resina mediante la utilización de recipientes estériles (orina). .	73
Anexo 3. Herramienta barrasco y cuchillas metálicas.	73
Anexo 4. Extracción de resina en la localidad San José de Alluriquín.	73
Anexo 5. Extracción de resina en la localidad Pangua, mediante el método corte en V. ...	74
Anexo 6. Fotografía con el equipo de trabajo.	74

RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo para determinar si en la resina de sangre de drago existe crecimiento de patógenos, que supone un riesgo para la salud del consumidor, mediante un análisis microbiológico. Las muestras se obtuvieron en dos localidades diferentes Santo Domingo y Pangua con el fin de realizar un análisis comparativo de los resultados obtenidos y determinar cuál de las dos muestras presenta un mayor índice de calidad para el consumo, basándonos en la Norma Técnica Ecuatoriana y a los límites microbiológicos recomendados por la Organización Mundial de la Salud referente a los límites máximos permisibles para considerar el nivel aceptable o de buena calidad. Para ello se utilizó una metodología descriptiva, además se resaltó el crecimiento de las colonias de bacterias, hongos y levaduras y se identificó los microorganismos. Los resultados presentados demuestran que existe una significativa contaminación fecal por *E. coli* en las muestras de resina procedentes del cantón Santo Domingo debido a las prácticas ganaderas y que afecta a la calidad del producto, mientras que las muestras de Pangua redujeron su carga microbiana debido a que se encontraban en una zona que no realizaban estas prácticas. Con base en los resultados de los análisis microbiológicos se pudo identificar la presencia de microorganismos patógenos altamente resistentes y que son potencialmente perjudiciales para la salud pública.

Palabras clave: microorganismos patógenos, resina, riesgos, medicina tradicional, beneficios.

ABSTRACT

The present investigation was carried out to determine if there is growth of pathogens in the dragon's blood resin, which poses a risk to the health of the consumer, through a microbiological analysis. The samples were obtained in two different localities Santo Domingo and Pangua in order to carry out a comparative analysis of the results obtained and determine which of the two samples presents a higher quality index for consumption, based on the Ecuadorian Technical Standard and the limits microbiological recommended by the World Health Organization regarding the maximum permissible limits to consider the level acceptable or of good quality. For this, a descriptive methodology was used, in addition, the growth of the colonies of bacteria, fungi and yeasts was highlighted and the microorganisms were identified. The results presented show that there is significant fecal contamination by *E. coli* in the resin samples from the Santo Domingo canton due to livestock practices and that it affects the quality of the product, while the samples from Pangua reduced their microbial load due to who were in an area that did not carry out these practices. Based on the results of the microbiological analysis, it was possible to identify the presence of highly resistant pathogenic microorganisms that are potentially harmful to public health.

Key Words: pathogenic microorganisms, resin, risks, traditional medicine, benefits.

CÓDIGO DE DUBLÍN

Título:	Análisis microbiológico de la resina de <i>Croton lechleri</i> Müll Arg. (sangre de drago) para el consumo medicinal humano extraída de los cantones santo domingo, provincia de Santo Domingo De Los Tsáchilas, Y Pangua, provincia de Cotopaxi.				
Autora:	Palma Alvarado Silvia Darling				
Palabras claves:	microorganismos patógenos	resina	medicina tradicional	medicina tradicional	riesgos
Fecha de publicación:					
Editorial:					
Resumen:	Resumen. - La presente investigación se llevó a cabo para determinar si en la resina de sangre de drago existe crecimiento de patógenos, que supone un riesgo para la salud del consumidor, mediante un análisis microbiológico. Las muestras se obtuvieron en dos localidades diferentes Alluriquín y Pangua con el fin de realizar un análisis comparativo de los resultados obtenidos y determinar cuál de las dos muestras presenta un mayor índice de calidad para el consumo, basándonos en la Norma Técnica Ecuatoriana referente a los límites máximos permisibles para considerar el nivel aceptable o de buena calidad. Para ello se utilizó una metodología descriptiva, además se resaltó el crecimiento de las colonias de bacterias, hongos y levaduras y se identificó los microorganismos. Los resultados presentados demuestran que existe una significativa contaminación fecal por <i>E. coli</i> en las muestras de resina procedentes de Alluriquín debido a las prácticas ganaderas y que afecta a la calidad del producto, mientras que las muestras de Pangua redujeron su carga microbiana debido a que se encontraban en una zona que no realizaban estas prácticas. Con base en los resultados de los análisis microbiológicos se pudo identificar la presencia de microorganismos patógenos altamente resistentes y que son potencialmente perjudiciales para la salud pública.				
Descripción	74 hojas: dimensiones, 29 x 21 cm + CD				
URI:					

INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional es considerada parte del legado cultural ancestral del Ecuador, que integra los conocimientos transmitidos sobre las cualidades curativas de la herbolaria. Desde épocas ancestrales el hombre creció en medio de las ceremonias y rituales que sus familiares efectuaban, la cual se ha logrado que los conocimientos se sigan manteniendo latentes de generación en generación. La especie forestal *C. lechleri* conocida como sangre de drago ha alcanzado reconocimiento en la farmacéutica moderna siendo un producto forestal no maderable y ha sido empleada en diversas comunidades debido a que su corteza produce una resina rojiza que mantiene propiedades medicinales (1).

La resina sangre de drago es una sustancia líquida de color rojo, ligeramente densa y de consistencia viscosa, al contacto con el aire se endurece rápidamente y al ser frotada sobre la piel deja abundante espuma, tiene un gran poder de adhesión, su olor es agradable y su sabor astringente, mantiene las mismas propiedades curativas propias de aplicaciones farmacológicas gracias a que está compuesta por sustancias diversas como heterósidos, tanino, celulosa, ácido benzoico y taspina. La resina se extrae en cortes diagonales en la superficie del tronco del árbol, estimulando la secreción natural de resina procedente de los canales resiníferos por lo que son productos que necesitan mayor control patológico, considerado de gran interés medicinal para el tratamiento de diversas enfermedades para el consumo del ser humano (2).

El aprovechamiento de resina de *C. lechleri* puede estar influenciado por la presencia de microorganismos representando un problema perjudicial en la salud de los seres humanos, ya que pueden cambiar las propiedades físico-químicas y organolépticas de los productos de materia prima o cambiar el contenido de los ingredientes activos, además de causar infecciones inducidas por microorganismos responsables de enfermedades o deterioro del producto, llegando a ser un grave problema de salud. Es de gran importancia efectuar los análisis microbiológicos que permitan comprobar que los microorganismos presentes en la resina no sean considerados patógenos desde el punto de vista infeccioso, que permitan mantener la eficacia de un tratamiento alternativo de bajo costo, de fácil aplicación, seguro y que no produzca efectos negativos que influyan en la salud del ser humano (3).

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema

En las últimas décadas la presencia del ser humano sobre el planeta tierra es considerada una de las situaciones más preocupantes debido a que tienden a cuidar su salud y a mantener la sustentabilidad económica para toda la familia, buscando nuevas alternativas encaminadas a la medicina tradicional mediante la utilización de productos que la naturaleza nos proporciona. El Ecuador posee una riqueza florística reconocida y estudiada a nivel mundial, en este sentido la especie forestal *C. lechleri* es demandada en diversos países porque produce una resina rojiza que mantiene múltiples beneficios para la salud y su estudio día tras día se torna más relevante en las que podrían abrir nuevas posibilidades en el campo de la salud. La obtención de la resina ha ganado valor en las industrias nacionales e internacionales, lo que ha generado la sobreexplotación provocando que esta especie sea considerada en peligro de extinción.

Los estilos de vida negativos de la población ocasionan la desaparición de los bosques y el deterioro de la flora nativa, sin embargo, existen muy pocas especies nativas de *C. lechleri*, para el aprovechamiento de la resina se debe considerar las medidas sanitarias y la técnica adecuada en la extracción inicial de la materia prima para su mayor rendimiento, las malas prácticas de resinación causan enfermedades al árbol por bacterias o hongos y el rendimiento de la producción de resina disminuirá y posiblemente se verá afectada la calidad.

La resina sangre de drago sirve como alternativa al tratamiento convencional para tratar diversas enfermedades puntuales de la salud, de tal manera es importante realizar un análisis microbiológico para detectar la presencia de microorganismos, muchos de ellos pueden ser benéficos o patógenos encontrándose en el extracto de la resina, pudiendo representar un riesgo potencial para la salud del consumidor provocando enfermedades, más aún si en las condiciones que están los microorganismos logran sobrevivir. La idea de obtener resina de calidad como medicamento natural para tratar enfermedades satisfaciendo las necesidades de los consumidores.

Diagnóstico

Es importante desarrollar estudios de análisis microbiológicos de la resina sangre de drago para determinar la presencia o ausencia de microorganismos patógenos que puedan influenciar de manera positiva o negativa en la salud de los consumidores, realizando las técnicas o procedimientos idóneos para su extracción de tal manera garantizando que la resina al ser extraída y posteriormente consumida sea apta, segura y confiable para el ser humano valorando la importancia de resolver problemáticas puntuales de la salud.

Mediante el análisis microbiológico de la resina sangre de drago se pretende identificar microorganismos que conlleven beneficios a la salud de los consumidores, considerando optar por la medicina tradicional natural y tratamientos a largo plazo de la medicina alternativa sin llegar a tener efectos secundarios en el ser humano.

Formulación del Problema

¿Los riesgos de detectar e identificar la presencia de colonias de microorganismos patógenos derivados de la extracción de la resina de sangre de drago pueden implicar riesgos en la salud al ser consumida e incluso disminuir la efectividad de la calidad de la resina?

Sistematización

¿Cuál es el análisis microbiológico de la resina de *C. lechleri* que garantice que sea eficaz, seguro y de calidad para el consumo del ser humano?

¿Existirá diferencia de presencia de microorganismos en la resina *C. lechleri* proveniente de las localidades Santo Domingo y Pangua?

¿Cuál es el beneficio del consumo de resinas naturales de *C. lechleri* para reducir riesgos de enfermedades a futuro?

1.2. Justificación

C.lechleri es una especie forestal que expele una resina coloreada rojiza que se obtiene de la exudación del tronco siendo utilizada para tratar diversas enfermedades gracias a sus propiedades astringentes, antisépticas y anti cancerígena considerándose de interés creciente por parte de la comunidad científica. La especie sangre de drago se encuentra en peligro de extinción por lo cual existen bosques protectores para la conservación de esta especie nativa. En la actualidad se han establecido políticas de manejo sostenible de productos forestales no maderables con la finalidad de preservar las especies forestales, para el aprovechamiento de la resina existen varios métodos de resinación considerándose las medidas sanitarias adecuadas para la extracción de la resina evitando contaminación por microorganismos que puedan ser agentes causales de enfermedades (4).

La contaminación microbiana ha incentivado a realizar un análisis microbiológico y a tomar medidas adecuadas que exijan la eficacia y seguridad al momento de extraer la resina natural de sangre de drago garantizando la calidad del producto, debido a que una contaminación de microorganismos patógenos puede generar diversas enfermedades al consumidor. En base a esto se ha promovido el análisis para la identificación de presencia de microorganismos que no involucren la salud de los consumidores, contribuyendo puntualmente como una solución alternativa de optar por la medicina tradicional. Son muy pocas las investigaciones sobre la comparación de análisis microbiológico para detectar la presencia de microorganismos de la resina provenientes de localidades diferentes, considerándose que son oportunidades para el campo de la salud. Los procedimientos de las buenas prácticas de manufactura sanitaria son de gran importancia con la finalidad de evitar la contaminación de microorganismos que aseguran un estricto control de la calidad de la resina natural de *C. lechleri*.

1.3.Objetivos

1.3.1. *Objetivo General*

Realizar análisis microbiológico para determinar la presencia de microorganismos en la resina *C. lechleri* extraída en las localidades de Santo Domingo, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, y de Pangua, provincia de Cotopaxi.

1.3.2. *Objetivos Específicos*

- Reconocer y seleccionar árboles de *C. lechleri* para la extracción de la resina natural mediante el método de sistema chino.
- Cuantificar e identificar los microorganismos presentes en la resina *C. lechleri* para el consumo humano.
- Establecer los beneficios de la resina *C. lechleri* en función al uso medicinal.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.Marco Conceptual

2.1.1. Taxonomía de *C. lechleri*

C. lechleri presenta la siguiente descripción taxonómica (5).

Nombre científico: *Croton lechleri* Müll. Arg.

Nombres comunes: Sangre de drago, palo de drago, sangre de dragón, sangregado, balsa macho, dragon's blood (inglés), irare, racurana, uksavakiro, pacure, masikamboya, widnku, kosamáti, jimi, palo de dragón, huampo o topa roja.

Orden: Malpighiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Croton*

Figura 1.

Fotografía de árbol de *C. lechleri* (35).



2.1.2. Distribución Geográfica

C. lechleri se distribuye principalmente en las zonas tropicales y subtropicales desde el sur de México hasta América del sur. La especie es nativa de Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Brasil, creciendo en estado silvestre en las cumbres montañosas y regiones selváticas. En Ecuador se encuentra en la cordillera Oriental y en la Amazonía especialmente en bosques húmedos (5).

2.1.3. Hábitat

La especie forestal *C. lechleri* se adapta a los climas tropicales y a las regiones amazónicas de América del sur, en el Ecuador se encuentra en los subtrópicos y trópicos de la cordillera oriental y también en las provincias de la región amazónica. A una altitud entre los 200 y los 1.200 m.s.n.m en el interior de los bosques lluviosos de montaña, tiene su hábitat natural la sangre de drago siendo la especie más estudiada y utilizada por sus facultades curativas, perteneciente a la familia de las euforbiáceas que puede llegar a medir entre los 10 y 25 metros de altura (6).

2.1.4. Cultivo

La especie *C. lechleri* se desarrolla adecuadamente en climas cálidos con alta humedad relativa, la temperatura media anual es entre 17,7 a 30 °C, precipitación pluvial entre 2000 a 3300 mm/año con una mínima de 1000 mm, a niveles entre 300 a 2080 m.s.n.m, en suelos aluviales, en las cercanías de las quebradas y ríos, de textura franco arenoso, franco limoso y franco arcillo-arenoso, con alto contenido de materia orgánica, de buen drenaje y buena aireación, no soporta largos periodos de inundación, pH que puede ir moderadamente ácidos (5,6 a 6) ligeramente alcalino (7,4 a 7,8) (7).

El Ecuador se encuentra distribuido en la región amazónica en un amplio rango climático y altitudinal, que fluctúa entre los 250-1800 m.s.n.m. en las provincias de Sucumbíos, Napo, Pastaza y Morona Santiago, soporta suelos arcillosos, aluviales (cercaños a los ríos), en colinas y quebradas, en suelos de humedad permanente, pero con buen drenaje

y buena cantidad de luz, señala asimismo que a los 7 a 9 años alcanza 30 cm de DAP. Su propagación es por semillas, las mismas que deben ser sembradas al inicio de la época de lluvias (8).

La propagación es mediante semilla sexual, el poder germinativo de la semilla fresca puede alcanzar un 80% de efectividad en 14 días. Utilizando nebulizador se ha conseguido su propagación mediante estacas de tallo. El trasplante se efectúa a raíz desnuda, en hoyos de 30 cm de diámetro y 30 cm de profundidad, cuando las plántulas tienen una altura de 20 cm. En plántulas de regeneración natural con una altura mayor de 20 cm, se obtiene un prendimiento del 80% (7).

2.1.5. Descripción Botánica

Árbol de copa amplia, redonda que alcanza los 10 a 20 m de altura, la raíz presenta forma cilíndrica cónica, axomorfa, con la raíz principal más desarrollada que las secundarias. La corteza externa del tallo es de color grisáceo blanquecino y tiene abundantes lenticelas y el látex que exhibe es de color rojo oscuro de distintas tonalidades. Presenta hojas simples con dos glándulas en la base, alternas, a veces opuestas de 12 a 20 cm de largo por 5 a 14 cm de ancho, las hojas más tiernas de color blanco-rojizo y con abundante indumento, tomentosa en ambos lados que a menudo los pelos son de color plata o grisáceos. La flor presenta un tono de coloración ámbar y estambres numerosos. El fruto es capsular globoso, elásticamente dehiscente para que salga la semilla de 3mm de largo y de 4,5 mm de ancho, sus semillas son lisas con carúncula y endospermo oleaginoso (9).

2.1.6. Resina Sangre de Drago

El árbol *C. lechleri* segrega una savia de color rojo y sabor amargo conocida frecuentemente como sangre de drago por su gran similitud a la sangre humana, se extrae de la planta o de la corteza de forma líquida haciendo cortes en forma de “V” o en espiral con un desroñador o cuchilla y se almacena en recipientes, la resina o miera es utilizada por etnias nativas como un producto natural por mantener propiedades medicinales como cicatrizante y antiviral. Presenta propiedades físicas que al interactuar con el aire tienden a

solidificarse con rapidez creando una leve mancha visible en el lugar que se aplicó, al ser agitada o frotada sobre la piel dando leves masajes se forma abundante espuma (9).

2.1.7. *Propiedades Físicas de la Resina*

La variedad de vegetación nativa en el Ecuador, ha considerado que la especie *C. lechleri* es uno de los árboles que se ha mantenido en una aureola mítica, es una sustancia levemente densa y presenta gran viscosidad, contiene proantocianinas, se trata del metabolito que le da el color rojizo al látex, tiene un gran poder de adhesión, si aroma es agradable (suave) y ha sido usado por sus supuestas virtudes como protector de enfermedades, de sabor astringente, no es miscible en agua, pero si en alcohol a temperatura ambiente, siendo su punto de ebullición 91°C y el de congelación 0°C y no se considera inflamable, siendo idóneo para el consumo humano para el tratamiento de diversas enfermedades puntuales de la salud (10).

2.1.8. *Usos Medicinales de la Resina*

La corteza sirve para uso medicinal ya que la savia extraída de la corteza (resina) se usa para el tratamiento de diarreas crónicas, leucorrea, gastritis, úlceras, como cicatrizante, estimulante para aumentar las defensas del organismo, bacteriostático, bactericida, fungicida, antiviral, antioxidante, anticancerígeno (hígado, estómago, útero), antirreumático, antiinflamatorio, antiofídico, además es usado para el tratamiento de enfermedades de influenza como el herpes, anemias, tuberculosis, quemaduras, acné, resfriados, afecciones de amígdalas, gingivitis, cervicitis, control de hemorragias, para mejorar el estado anímico, bajar de peso y ayuda a la fertilidad (5).

2.1.9. *Extracción de la Resina*

C. lechleri es un árbol amazónico de pequeña envergadura, actualmente su savia es utilizada para curar heridas y detener hemorragias, también acelera el proceso de cicatrización evitando dejar huellas visibles o queloides, idóneo para sellar y proteger las lesiones de algún tipo de infección, secándose rápidamente generando una barrera de tono

rojizo, formando una segunda piel. Para obtener resina en mayor volumen, se debe considerar algunos factores como la edad del árbol, la ubicación de las incisiones, las horas de extracción, época de cosecha, influencia lunar, cabe destacar que para el proceso de extracción es preferible y recomendable realizarlo en épocas lluviosas y a las primeras horas de la mañana, de lo contrario su volumen disminuirá (9).

Existen diferentes técnicas de extracción de la resina, una de ellas es la que se realiza mediante una incisión en forma o corte en “V” en la corteza del árbol, que inmediatamente la miera circula por los canes resiníferos. Otro tipo de extracción del látex es el de los machetazos utilizado por los agricultores llegando a derribar los árboles, para ello toman en cuenta el diámetro del árbol. Se considera que los árboles deben tener un diámetro mayor a 30 cm, para que produzca una óptima cantidad de látex (9).

2.1.10. Técnicas de Extracción de Resina en Arboles de C. lechleri

La extracción de la resina reside fundamentalmente en el aspecto técnico, económico, al describir cada uno de los sistemas que se vienen practicando desde épocas antiguas por diversos comuneros, basándose principalmente en sus conocimientos realizando incisiones sobre la corteza del árbol, provocando la secreción natural de resina o miera procedente de los canales resiníferos. Las técnicas utilizadas tradicionalmente son compatibles con la vida del árbol y permiten su extracción durante varios años. Se describen las técnicas más utilizadas para el aprovechamiento de la resina natural (11).

2.1.10.1. Sistema Hugues

Es un método desarrollado en Francia en el año 1845 y puesto en práctica a principios del año 1860, se basa en realizar incisiones desprendiendo finas láminas de madera de forma longitudinal, sin profundizar demasiado en el tronco. Las lonjas de 8 a 10 cm de ancho son cortadas en el tronco de la planta con una frecuencia de un periodo de 10 a 15 días, consiguiendo el xilema secundario. En el proceso de resinación la cara de las estrías puede llegar a 1,80 m del suelo después de dos años, este sistema se considera complejo debido a la necesidad de mano de obra especializada y profesional (12).

Fase de resinación a vida a la altura del pecho de un árbol de pino (12).



2.1.10.2. Método de Pica de Corteza

27

esenciales que se realizan en este método son previamente la eliminación del estrato arbustivo, limpiando el área de matorrales denso que impida los trabajos para el aprovechamiento de la resina. Mediante la labor de desroñe que es el descortezamiento de la cara del árbol a pica se realiza para facilitar y favorecer la salida de la miera o resina estimulando la producción, las herramientas para llevar a cabo esta labor es un hacha plana para el descortezado y un raspador para dejar la superficie lisa (13).

La anchura de la entalladura no debe excederse de los 12 cm en entalladuras bajas, ni a los 11 cm en entalladuras altas, con una longitud entre 55 y 60 cm. Posteriormente se coloca la grapa y el recipiente con la finalidad de conducir la resina hacia el recipiente, colocando una hojalata de hierro que es la “grapa” y el recipiente sujetado al tronco. Mediante la labor de pica se efectúan pequeñas incisiones que cortando los canales resiníferos permitan a la miera o resina salir al exterior, donde las caras van a presentar varias entalladuras. Después de realizar la pica se aplica una pasta estimulante ácida que contiene ácido sulfúrico que prolonga la producción de la resina. Al cabo de diferentes picas los recipientes se llenan y es preciso retirar la resina (13).

Figura 3.

Labor de desroñe en el primer año de resinación, correspondiendo a la primera entalladura (14).



Figura 4.

Labor de desroñe empleando la herramienta de hacha plana en su tercera entalladura (14).



2.1.10.3. Resinación en Cara Ancha

Considerado por los ancestrales como el método más antiguo, efectuándose por los resineros en España hasta finales del siglo XIX, es un método que consiste en la apertura de caras de 20 a 30 cm de anchura. Las picas se efectuaban con un hacha convencional, alcanzando alturas de hasta 3,5 m lo que ocasionaba que no se pudieran abrir más de dos caras en cada árbol debido a su gran anchura interrumpiendo el crecimiento diametral. La resina se recoge en una cavidad realizada en el suelo reforzada con tierra o musgo, en este método la resina contiene numerosas impurezas y pérdidas por la evaporación y la permeabilidad. Es un sistema poco utilizado y con el pasar de los años fue sustituido con el método francés Hugues (14).

2.1.10.4. Sistema Eurogem o Borehole

Considerado como un sistema experimental que reside en efectuar entalladuras circulares mediante una herramienta especial maniobrada con una herramienta eléctrica con batería y la aplicación de un estimulante químico para la producción de la resina. Para recoger el extracto de la resina se coloca una pieza de plástico en forma de embudo que aísla

a albura descubierta quedando fija a ella y sobre la que se colocan las bolsas de plásticos flexibles antisépticas, este sistema no ha sido empleado a gran escala dada a las diferentes características en las complejas operaciones de extracción y el necesario control de los tiempos más preciso para la extracción (15).

Figura 5.

Labor de perforación de entalladuras circulares (15).



Figura 6.

Método Borehole, aplicación de las bolsas plásticas con resina (15).



2.1.10.5. Sistema Chino

Es un método en el que realiza una estría en forma de V en el árbol la cual es cortada diariamente sin aplicación de estimulantes químicos. Las estrías son cortadas en sentido descendente y en su profundidad alcanzan el xilema secundario, en la primera estría se realiza un corte a una altura aproximadamente de 1,20 m desde el suelo y las posteriores en forma descendente, la estría abarca un 50% de la circunferencia de la planta. Es un sistema muy utilizado en China y al presente ocupa el 70% de la producción de resina mundial (16).

Figura 7.

Sistema de Resinación Chino (16).



2.1.10.6. Sistema Americano de Pica de Corteza

Es un método de resinación frecuentemente utilizado la cual es aplicado a árboles mayores a 30 cm de diámetro mediante lo establecido según la normativa 0-26-SEMARNAT. El proceso para extraer la resina consiste en una estría horizontal es cortada cada 15 a 18 días la cual se emplea una pasta estimulante con el 18 al 24% de ácido sulfúrico para aumentar el volumen de la producción. Las estrías son cortadas en forma ascendente, cortando la primera cara a 20 cm del suelo y removiendo solo corteza y floema, la cara resinada debe cubrir 1/3 de la circunferencia del árbol, se realiza una instalación de un recipiente recolector (funda de polietileno) que es sujeta a la corteza con alambre para no

afectar al árbol físicamente donde se ira depositando la resina que fluye. Se considera que es un método empleado en las industrias de resinación en principales países como Brasil y Argentina (16).

Figura 8.

Sistema americano de pica de corteza utilizando fundas de polietileno (36).



2.1.10.7. Sistema Mazek O Rill

Es un método donde las picas se dan en forma de V con una anchura de 2 a 3 mm y una periodicidad de 3 a 7 días, realizándose en sentido ascendente con ayuda de un estimulante químico pulverizado aplicando 50% de ácido sulfúrico y 50% de ácido clorhídrico. Es un sistema poco reconocido a nivel mundial, sin embargo es aplicado actualmente por los resineros en países de Indonesia e India (16).

2.1.10.8. Método de Resinación a Muerte

La resinación a muerte es cuando los árboles alcanzan 20 años de edad se procede una exhaustiva selección individual, marcando todos los árboles que no mantengan las óptimas condiciones generales de desarrollo y producción de resina, para el aprovechamiento se procede a tumbarlos y posteriormente se abre sobre la superficie de sus troncos una, dos o tres caras de tal modo, se deberá obtener de ellos la máxima producción

de resina. Se debe tomar en cuenta que una resinación a muerte la longitud y anchura de las caras van a variar de acuerdo a 8, 10 y 15 cm de altura con anchuras variables según los diámetros y número de caras de cada árbol. La resina es recogida en un depósito de barro o recipiente adecuados para evitar la evaporación de la miera (12).

2.1.11. Canales Resiníferos

El canal de la resina es un espacio tubular intercelular rodeado por una cubierta de pequeñas células de parénquima (células epiteliales). Estos canales están encaminados longitudinalmente y radialmente en la madera, los canales longitudinales son de mayor diámetro que los horizontales. Los canales horizontales están presentes únicamente en los radios leñosos y en una proporción comparativamente pequeña de ellos. Considerando que el canal no es una célula ya que desaparece durante los procesos químicos para obtener pulpa de papel, sin embargo, las células epiteliales logran quedarse en la misma. En cuanto al tamaño de los canales resiníferos depende de cada especie (17).

2.1.12. Épocas de Resinación

Para el aprovechamiento de la resina generalmente es recomendable en el mes de marzo hasta octubre, los resineros están pendientes desde el mes de febrero para ir levantando la corteza exterior de la parte baja de tronco con la finalidad de que el tronco vaya recibiendo calor, esto hará que la extracción de resina sea aprovechada en mayor volumen cuando se vayan abrir posteriormente las caras. La experiencia del aprovechamiento en cuanto a la cantidad de resina dependerá en gran medida de la climatología durante los meses de campaña de resinación (11).

2.1.13. Labores Básicas Durante la Campaña de Resinación

Existen diversas labores básicas que el resinero debe de tener en consideración para el proceso de extracción de la materia prima de la resina sangre de drago recomendando los meses de marzo hasta finales de octubre, considerando la fase lunar. A continuación, se describirán las labores más importantes (18):

2.1.13.1. Desroñe

Es una actividad para preparar la superficie del árbol descortezando hasta que queden las últimas capas corticales evitando producir calvas, es necesario que las picas o incisiones que realicen en perfectas condiciones para que la fluidez de la resina sea adecuada. Posteriormente el fuste se prepara para la resinación, las herramientas deben estar totalmente desinfectadas para el descortezado siendo un hacha plana y un raspador o alisador para que la superficie esté lisa. Con la herramienta del trazador se indican los límites de la anchura de la entalladura sobre la corteza mediante dos líneas verticales. Se considera que la longitud de la entalladura oscila entre 55 a 60 cm facilitando la salida de la resina (19).

2.1.13.2. Clavadura

Después de realizar la labor de desroñe viene el proceso de instalación de una grapa de perfil elíptico o V abierta, que debe adaptarse o encajar perfectamente con la concavidad de la cara, el tronco del árbol desroñado canaliza la resina hacia el pote con la ayuda de una incisión realizada con una media luna de hierro asegurando la fijeza debe ser golpeada con un mazo de madera, el árbol estará listo para que proceda con la primera pica (14).

2.1.13.3. Pica

Con la ayuda de una escoba de filo muy fino y un bisel muy agudo en forma de chapa doblada en U, recordando que cada material debe ser desinfectado se procede hacer una incisión para hacer un corte limpio. En el proceso de la pica se va clavando ligeramente la escoba en la corteza del lado derecho de la entalladura, levemente con un pequeño movimiento hacia la izquierda, levantando la faja de corteza sin extraer fragmentos de madera (18).

En esta técnica la cara es convexa ya que la pica no afecta la albura, diversos resineros aplican estimulantes químicos a base de solución acuosa de ácido sulfúrico al 30% y una pasta caolín y cloruro cálcico que se adhiere a los tejidos vasculares para promover el volumen de materia prima. Es importante destacar que existen dos maneras de realizar las picas, en sentido ascendente o descendente, teniendo ventajas significativas en realizar picas en sentido descendente debido a que la persistencia del cordón de pasta estimulante es mayor alargando el tiempo de las picas (18).

2.1.13.4. Remasa

En esta labor se debe recoger la resina en los potes, los resineros deben de ir verificando árbol por árbol para comprobar el estado de llenado de los potes y luego verter cada pote en otro recipiente, normalmente debe transcurrir un periodo de 15 a 25 días (20).

2.1.14. Composición Química

La resina de sangre de drago presenta una composición química identificándose esteroides, cumarinas, alcaloides, flavonoides, taninos (54%), saponinas (baja concentración), antocianinas, proantocianidina -4, antracenos, compuestos reductores al (4%) como lactosa, galactosa y ramnosa, triterpenoides, compuestos fenólicos (ácido gálico); además contiene vitamina A, E Y C contiene ácidos orgánicos de carácter débil, almidón, celulosa, grasas, lignanos (dihidrobenzofurano 3,4-O-dimetilcedrusina y dihiccatequinas 4-O metilcedrusina), mucilagos, proteínas, catequinas (epicatequina, gallocatequina, epigallocatequina) (5).

2.1.15. Microorganismos

Los microorganismos son considerados como los seres más primitivos y numerosos del planeta tierra colonizando los primeros años de vida, están presentes de forma esencial en todos los ecosistemas interactuando de forma continua con las plantas, animales y el hombre. Son parte funcional de los ecosistemas biológicos y la subsistencia de la vida en el planeta y participan en procesos metabólicos, ecológicos y biotecnológicos siendo

dependientemente para sobrevivir. Se reconoce que los microorganismos son diversos y versátiles que los macroorganismos los cuales pueden adaptarse rápidamente a cambios ambientales y poder sobrevivir. Desde entonces y hasta la actualidad se manifiesta que las bacterias y otros microorganismos pueden crecer en ambientes diversos (21).

2.1.15.1. Microorganismos Patógenos

Los microorganismos patógenos son aquellos que causan daños en la salud del ser humano, identificándose principalmente bacterias, hongos, protozoos y virus. Siguen siendo causa de enfermedades mortales debido a la interacción de un patógeno con un hospedador. Las bacterias se encuentran entre los microorganismos más habituales que pueden ser benéficos o patógenos, pero en menor número que los hongos y los virus, que pueden contaminar productos disminuyendo la calidad del mismo (22).

2.1.16. *Escherichia coli*

Es una bacteria Gram-negativa presentando forma de bastoncillo, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Es una bacteria que se localiza principalmente en el tracto intestinal inferior de los animales de sangre caliente, incluyendo a los humanos, también se encuentra en el medio ambiente a través de la proliferación de heces o aguas residuales. La *E. coli* es considerada como una bacteria que causa enfermedades, sin embargo, existen estudios recientes que algunas cepas de *E. coli* pueden sobrevivir durante prolongados periodos de tiempo y tienen la capacidad de reproducirse en ambientes convencionales e incluso pueden integrarse en las comunidades microbianas autóctonas del medio ambiente. Puede crecer rápidamente en circunstancias idóneas de crecimiento, replicándose en menos de 20 min (23).

Existen estudios que argumentan que la bacteria puede sobrevivir por largos periodos de tiempo fuera del extracto intestinal y reproducirse en la arena, suelo, sedimentos de climas tropicales y templados. El crecimiento y supervivencia se presentan en ambientes naturales influido por factores bióticos incluyendo la presencia de otros microorganismos, la capacidad de la bacteria para obtener nutrientes y competir con otros microorganismos para

su propia supervivencia. Mientras que los factores abióticos se consideran para su crecimiento la temperatura, radiación solar, disponibilidad de agua y de nutrientes, PH dependerá según las cepas y el genotipo (23).

2.1.17. *Aspergillus niger*

Son colonias de hongos de rápido crecimiento, son resistentes y comúnmente presentan aspecto blanco grisáceo que consigue en un periodo corto de tiempo pigmentos amarillosos que posteriormente presenta puntos de color oscuro presentes en las cabezas conidiales biseradas y radiales. La colonia es densa, compacta y granular. Este hongo no causa muchas enfermedades como otros microorganismos patógenos, ya que habitualmente las esporas se encuentran en el medio ambiente y la mayoría de las personas la inhalan y el organismo genera una respuesta inmunitaria como defensa para no perjudicar la salud de los seres humanos. Sin embargo, si existe la contaminación excesiva por estas esporas hace que el sistema inmunitario se debilite y pueda causar una infección en pulmonar y corre el riesgo de que se pueda propagar a otras partes del cuerpo (24).

2.1.18. *Saccharomyces cerevisiae*

Es una levadura heterótrofa que proviene de la glucosa y presenta capacidad fermentativa, se encuentra fácilmente en el suelo, hojas, flores, frutos, corteza y también en el tracto intestinal de los animales. Se denomina como una levadura Gras la cual está asociada al bienestar de la humanidad y se lo encuentra comúnmente en el medio ambiente, esta levadura se propaga fácilmente debido a su sistema genético de transformación de ADN. Sus colonias tienen forma esférica u redondeada de color amarilloso oscuro o también pueden ser de coloración cremosas, en medios de cultivos son visibles a partir de los 2 a 3 días estas características dependerán del medio de cultivo de siembra (25).

2.1.19. *Control de Calidad*

Diversos estudios en Latinoamérica han definido numerosas propiedades medicinales del extracto de *C. lechleri*, por lo tanto, se considera un reto ya que la

composición química, los principales activos, las propiedades físicas y medicinales se les atribuye suma relevancia, así mismo de tener un control de calidad de la resina para su uso como terapia alternativa. En la actualidad la contaminación microbiológica es uno de los problemas más graves y supone riesgos al consumidor, es por ende que se requiere resaltar más el control de parámetros que certifiquen la calidad de un producto en todos los procedimientos de buenas prácticas de manufactura (26).

2.1.20. Norma Sanitaria que Establece los Criterios Microbiológicos de Calidad

La resina de sangre de drago puede presentar contaminación por diversos tipos de microorganismos, que pueden reducir la actividad terapéutica sin embargo, en el listado de las Normas Técnicas Ecuatorianas INEN no se encuentra una norma específica para este tipo de análisis de productos de resina, por lo que se considera tomar de referencia normas parecidas de control microbiológico de formas farmacéuticas de acuerdo a los métodos de ensayo de la norma INEN 1529-10 para el recuento total de mohos y levaduras, el criterio de aceptación es de no más de 10^2 UPM/g. Para recuento de mesófilos, la norma INEN 1529-5, indicando que el índice máximo permisible para determinar criterio de aceptación de calidad microbiológica no más de 10^3 UFC/g (27).

2.2. Marco Referencial

En 1877 Pasteur y Joubert concluyeron que existen organismos que destruyen otros organismos, establecieron entonces que “la vida destruye la vida”. El uso de la resina natural de *C. lechleri* con fines medicinales ha sido usado por las comunidades nativas hace más de 100 años por vía oral para el tratamiento de diferentes enfermedades. En la actualidad se ha demostrado que la resina pura tiene una efectividad del 90% considerando las medidas sanitarias idóneas de recolección, extracción y manipulación del producto que impidan la contaminación microbiológica de agentes patógenos que pueden llegar a disminuir su efectividad y ser perjudicial para la salud de los consumidores (28).

Existe un estudio referencial donde investigadores evaluaron microbiológicamente el extracto crudo de *C. lechleri* expendido en la vía pública, así como también determinaron

su actividad antibacteriana in vitro. Tomaron 47 muestras procedentes de diferentes mercados de los distritos de Lima Metropolitana (Lima Cercado, Lince, Magdalena y Comas) perteneciente al territorio peruano. Además, se analizaron 3 muestras de látex de sangre de drago de las regiones de Huánuco (Tingo y María), Ucayali (Pucallpa) y San Martín (Moyobamba). En este estudio se empleó el método de excavación en placas de cultivo, en diluciones al 10%, 25%, 50% y 100% y como control positivo (Ciprofloxacino 5mg/ml), negativos (suero fisiológico). Los resultados concluyeron que las muestras de sangre de drago expendidas en la vía pública muestran la presencia de coliformes totales y fecales. Mientras que las traídas del lugar donde se producen y extrae presentaron muy baja contaminación de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales, así como levaduras, pudiendo deberse a que no estuvieron expuestos a una alta tasa de contaminación por defecto de extracción y manipulación (29).

En un estudio reconocido como “Actividad fúngica de los extractos de plantas de *C. lechleri* y *Maytenus laevis*, en cepas de *Candida albicans*” evaluó la actividad anti fúngica por medio de prueba de sensibilidad por difusión en agar y consecutivamente mediante la prueba de sensibilidad en caldo haciendo cada experimento por triplicado en concentración 1/10. Las muestras se recolectaron en la provincia de Pastaza, siguiendo los protocolos de recolección y medidas de bioseguridad constituidos en la metodología. Evidenciándose la reducción en el crecimiento de la levadura por medio de la prueba en caldo, por lo que se considera que este extracto presenta algún principio activo que le da capacidad anti fúngica (30).

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio Seidlaboratory S.A. ubicado en la ciudad de Quito Melchor Toaza N 61-63 entre Av. del Maestro y Nazareth, la toma de muestra para el respectivo análisis se recolectó en dos localidades:

- Cantón Santo Domingo de los Tsáchilas, parroquia San José de Alluriquín, su ubicación geográfica en las coordenadas 0° 19' 22", latitud: Sur y 78° 59' 45" de longitud Oeste.

En la tabla 1, se detallan las características agroclimáticas del cantón Santo Domingo de los Tsáchilas.

Tabla 1.

Características agroclimáticas del cantón Santo Domingo de los Tsáchilas.

Características	Promedios
Altitud, m.s.n.m	739
Temperatura, °C	12 a 24
Humedad relativa, %	65 al 90
Precipitación, mm/año	>2.000
Pendiente, %	25 a > 100
Topografía	Irregular

Fuente: (31).

- Cantón Pangua, parroquia el Corazón, ubicado al sur occidente de la provincia de Cotopaxi, en las estribaciones de la cordillera andina occidental. Su ubicación geográfica en las coordenadas 11° 12' 00", latitud Sur y 79° 06' 00" de longitud Oeste. Las características agroclimáticas del cantón Pangua se detallan en la tabla 2.

Tabla 2

Características agroclimáticas del cantón Pangua.

Características	Promedios
Altitud, m.s.n.m	100 a 3.600
Temperatura, °C	15 a 20
Humedad relativa, %	68
Precipitación, mm/año	1.000 a 3.500
Pendiente, %	> 70
Topografía	Irregular

Fuente: Tomada de (32).

3.2. Tipo de Investigación

Se realizó una investigación de tipo descriptiva donde se recopiló información cuantificable para el recuento de microorganismos aeróbicos mediante la UFC (unidades formadoras de colonias), para hongos la UFC (unidades propagadoras de mohos), para levaduras por medio de la UPL (unidades propagadoras de levaduras) para detectar la presencia de microorganismos en cada muestra de resina sangre de drago, posteriormente se procedió a la identificación del microorganismo detectado para determinar si es protagonista de enfermedades infecciosas e incluso estar implicados en el deterioro de la calidad del producto, con la finalidad de realizar una comparación de las muestras de resina de sangre de drago en las localidades de Santo Domingo y Pangua para consumo medicinal humano.

3.3. Métodos de Investigación

3.3.1. Inductivo

Este método se utilizó durante el proceso de análisis microbiológico para identificar microorganismos presentes en las muestras de resina de *C. lechleri* permitiendo deducir las conclusiones del presente estudio.

3.3.2. Deductivo

Este método permitió determinar el número de colonias de crecimiento de microorganismos bacterias, hongos y levaduras presente en las muestras de resina de *C. lechleri*. El alcance del presente estudio tendrá utilidad en la solución de problemas relacionados a la salud.

3.4. Fuente de Recopilación de Información

En la presente investigación se realizó una estrategia de trabajo que se inició con la revisión y recolección de la información secundaria importante para el estudio. Posteriormente se procedió a la recolección de la información primaria en una etapa de trabajo de campo y al procesamiento de datos para definir las variables y finalmente se procedió al análisis de laboratorio e interpretación de los resultados. La revisión y recolección de información secundaria incluyó documentaciones disponibles de artículos científicos, revistas científicas, libros y proyectos de investigaciones disponibles a través del internet y otras fuentes confiables.

3.5. Diseño de la Investigación

El presente estudio se llevó a cabo utilizando un diseño de investigación no experimental, utilizando el método descriptivo el cual servirá para cuantificar el crecimiento de las colonias e identificar los microorganismos presentes en las muestras de resina de sangre de drago, que posteriormente serán analizados para su respectiva comparación siguiendo la orientación de una línea de investigación en el área de productos naturales abierta en el campo de la salud.

3.6. Recursos Humanos

- Docente director del proyecto de investigación
- Estudiante responsable del proyecto de investigación

3.7. Materiales de Oficina y Campo

- Machete
- Hacha plana
- Barrasco
- Cuchillas metálicas
- Envases estériles para muestra de orina de 150 ml
- Gel Pack 400 gr
- Nevera de Icopor
- Libreta
- Computadora
- Muestra de resina 200ml

3.8. Materiales e Instrumentos de Laboratorio

- Pipetas serológicas de punta ancha de 1,5 cm³ y 10 cm³ graduadas en 1/10 de unidad.
- Cajas Petri de 90mm x 15mm
- Erlenmeyer y frasco de boca ancha de 100 cm³, 250 cm³, 500 cm³, y 1000 cm³ con tapa de rosca autoclavable
- Tubos de 150 mm x 16 mm
- Gradillas GR3029
- Esparcidores
- Etiquetas y marcadores

3.9. Equipos de Laboratorio

- Contador de colonias CVP- CM3
- Balanza Gram EH- 2000 (capacidad no superior a 2500 g y de 0,1 g de sensibilidad)
- Baño de María UTGE- 4000 (regulado a 45°C ± 1°C)
- Incubadora BJPX-H30III regulable a (25°C - 60°C)
- Autoclave Phoenix luferco (modelo AB)
- Refrigeradora para mantener las muestras y medios de cultivo
- Congelador para mantener las muestras a temperatura de -15°C a -20°C

3.10. Reactivos

- Agar para recuento en placa (Plate Count Agar) para bacterias
- Agua peptonada al 0.1% (diluyente)
- Agar sal-levaduras minimal de Davis para mohos y levaduras

3.11. Manejo del Experimento

El presente estudio el manejo del experimento se efectuó de acuerdo a la norma técnica ecuatoriana del NTE INEN 1529-5: 2006 basándose en la determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. Asimismo, para la determinación de mohos y levaduras viables se basó en la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1529-10:2013.

Medidas de Seguridad

1. Lavado de manos y materiales totalmente esterilizados para extraer la resina.
2. Envases estériles como recipiente de recolecta en refrigeración con gel pack.
3. La muestra no debe ser procesada más de 24 horas siguientes a su recolección.
4. Previo a la llegada de las muestras al laboratorio se debe desinfectar toda el área de trabajo libre de polvo, así como materiales, equipos e instrumentos.
5. El personal de laboratorio debe poseer vestimenta adecuada, mascarilla y gorro.

Toma y Preparación de las Muestras

Las muestras se colectaron en recipientes esterilizados de orina con capacidad no menor de (150 ml) etiquetando con el numero respectivo cada muestra, para abrir los envases se limpió la zona con agua tibia y jabón y frotar con alcohol no inflamable al 70%. Se debe evitar la contaminación cruzada de las muestras, mezclando el producto con un cucharón estéril hasta homogenizarlo para posteriormente transferirlo a un envase estéril una cantidad no inferior a los 100 cm³. Para realizar la suspensión inicial o dilución primaria al 10⁻¹ se

homogeniza la mezcla, con una pipeta estéril se transfiere 10 cm³ a un frasco y se añade 90 cm³ de diluyente, utilizando un homogeneizador vortex en un lapso de 5 a 10 segundos, el tiempo no debe exceder más de 45 minutos entre el final de la preparación de la suspensión inicial y la mezcla de las diluciones con el medio de cultivo.

Determinación de la Cantidad de Microorganismos Bacterias Aerobias

Se procede hacer un duplicado por cada dilución en cada caja Petri se coloca 1 cm³ de cada dilución, se vierte en cada una de las placas inoculadas 20 cm³ de agar para recuento en placa (PCA) a 45° C ± 2°C. Se mezcla el inóculo de siembra con el medio de cultivo, con ligeros movimientos a la placa 5 veces en el mismo sentido de las agujas del reloj y 5 veces en sentido contrario. Se realiza la prueba de esterilidad vertiendo agar en una caja Petri que contenga el diluyente Agua peptonada al 0,1% sin inocular y esperar a que reposen las placas para que se solidifique. Se incuba a 30°C ± 1°C por 48 a 75 horas, se elige las placas de dos diluciones consecutivas que muestren entre 15 y 300 colonias, se debe tener cuidado al momento de contar las colonias (grandes y pequeñas) con la ayuda de una lupa de aumento. Llevar un registro del número de colonias presentes en cada placa para su respectiva dilución.

Cálculo de Colonias

Para el cálculo del número de microorganismos (N) por gramo de producto de dos diluciones sucesivas se debe emplear la fórmula:

$$N = \frac{\sum c}{V (n_1 + 0,1n_2) d}$$

Donde expresa:

Σc = Suma de todas las colonias contadas en todas las placas seleccionadas

V = Volumen inoculado en cada placa Petri

n₁ = Número de placas de la primera dilución elegida

n_2 = Número de placas de la segunda dilución elegida

d = Factor de dilución de la primera dilución elegida.

Para la respectiva identificación bacteriana se procede a realizar una tinción Gram, recogiendo la muestra con un hisopo extendiendo la muestra sobre un portaobjetos, aplicando el tinte de violeta de genciana y esperamos un minuto. La muestra se enjuaga con agua tibia aplicando un fijador (lugol). Para distinguir se puede añadir una tinción de safranina para las gram negativas con un tono rosado o rojo, y las colonias que tornan a violeta son las gram positivas.

Determinación de Mohos y Levaduras

Se utiliza la pipeta en una posición horizontal para llenar con el volumen conveniente la suspensión inicial y diluciones. Para proceder con la inoculación e incubación sobre una placa se emplea una pipeta estéril y se transfiere 0.1 ml de la muestra. En la segunda placa de agar se transfiere 0.1 ml de la dilución decimal de la primera (10^{-1}) con la pipeta estéril, para favorecer el recuento de colonias de levaduras y mohos puede ser extendido en tres placas de Petri, se repite estos procedimientos con diluciones posteriores. Se incuban las placas verticalmente a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ en un periodo de 5 días. Posteriormente para el recuento de colonias se leen las placas entre 2 a 5 días de incubación y se seleccionan las placas que presentan menos de 150 colonias para contarlas por separado. Con la ayuda de un microscopio se inoculan en el medio de cultivo Davis para su aislamiento.

Cálculos

Se establece la fórmula para el cálculo de número de unidades propagadas (UP) de mohos y levaduras por gramo de muestra:

$$N = \frac{\sum c}{V (n_1 + 0,1m_2) d}$$

Donde expresa:

Σc = Suma de todas las colonias contadas en todas las placas seleccionadas

n_1 = Número de placas de la primera dilución elegida

n_2 = Número de placas de la segunda dilución elegida

V = Volumen inoculado en cada placa Petri

d = Factor de dilución de la primera dilución elegida.

Si no existe desarrollo de colonias en las placas se suspensión 10^{-1} , se representa como un número estimado empleando la fórmula:

$$N_{E \frac{\text{de UP de mohos o levaduras}}{g \text{ o } cm^3}} = < 1,0 \times 10$$

Si todas las placas sembradas tienen más de 150 colonias, se calcula a partir de las placas sembradas con la dilución más alta empleándose la siguiente fórmula:

$$N_{E \frac{\text{de UP de mohos o levaduras}}{g \text{ o } cm^3}} = > \text{valor obtenido} \times f$$

F: Factor de dilución (valor opuesto de dilución de muestra)

Para interpretar resultados de recuento de colonias en las placas Petri se consideran los siguientes criterios:

Colonias típicas de hongos filamentosos: colonias de aspecto algodonoso de diversos tamaños y color.

Colonias típicas de levaduras: colonias convexas, pueden parecer brillantes y de color crema o rosa pálido.

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

Se trabajó con 2 muestras de resina de sangre de drago del cantón Santo Domingo de los Tsáchilas y 2 muestras de resina de sangre de drago del cantón Pangua para el análisis correspondiente. Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos están organizados en tablas y gráficos con el propósito de analizar e interpretar los resultados obtenidos.

4.1.1. Cuantificación e Identificación de Microorganismos en el Cantón Santo Domingo de los Tsáchilas

Tabla 3.

Cuantificación de microorganismos en resina sangre de drago en el cantón Santo Domingo de los Tsáchilas.

Muestra 1		
Ensayos microbiológicos	Unidad	Resultado
Aerobios	UFC/g	96×10^7
Levaduras	UPL/g	<10
Hongos	UPM/g	<10
Muestra 2		
Ensayos microbiológicos	Unidad	Resultado
Aerobios	UFC/g	11×10^6
Levaduras	UPL/g	<10
Hongos	UPM/g	<10

Elaboración: Autor.

Se comprobó que existe presencia de microorganismos aerobios mesófilos en la muestra 1, con un alto grado de contaminación 96×10^7 . Mientras que la muestra 2, la carga microbiana es de 11×10^6 por gr de resina, considerando que sobrepasa los límites de los criterios de calidad microbiológica considerado como no aceptable para el consumo humano. Se debe a que puede estar asociado con el ambiente faunístico y por la probabilidad

de contaminación de las reses que indican un riesgo potencial para la salud, como se ilustra en la figura 9 y 10 el crecimiento y aislamiento de las colonias mediante la técnica estriado en las M1 Y M2. El crecimiento de las colonias de hongos y levaduras < a 10 no pudieron ser identificados, debido a la sensibilidad de los compuestos fenólicos que presenta la resina de forma natural, específicamente el ácido gálico que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de hongos.

Figura 9.

Estriado de colonias en placa Petri M1

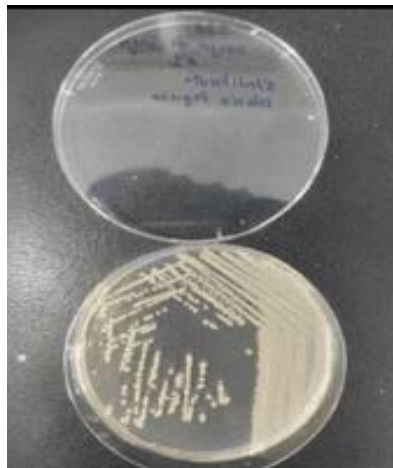


Figura 10.

Estriado de colonias en placa Petri M2.

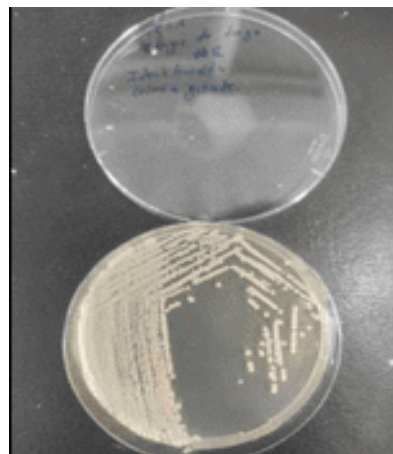


Figura 11.

Recuento de bacterias en la placa Petri M1, para determinar el número viable de microorganismos

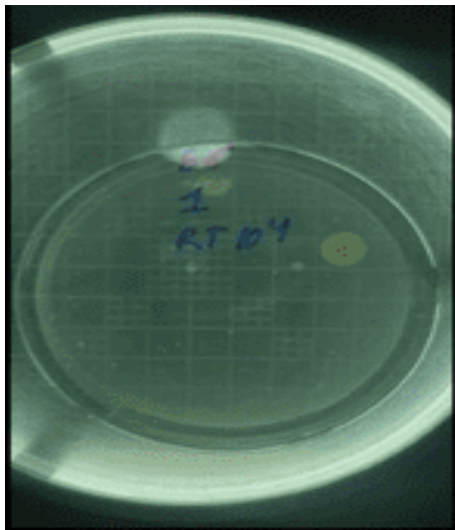


Figura 12.

Recuento de bacterias en la placa Petri M2.

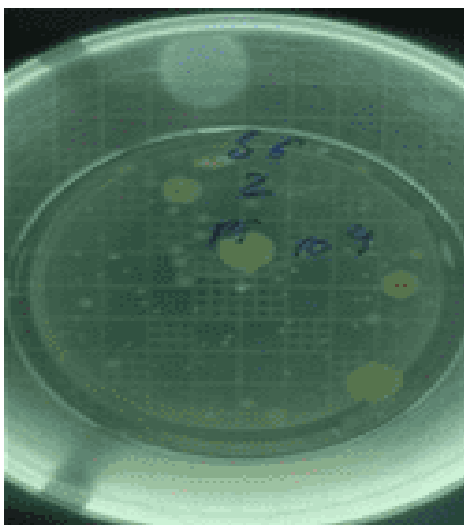


Tabla 4.

Identificación de colonias de microorganismos en resina sangre de drago en el cantón Santo Domingo de los Tsáchilas.

Muestra 1	
Identificación de Bacterias	Porcentaje de probabilidad
<i>Escherichia coli</i>	97,2%
Muestra 2	
Identificación de Bacterias	Porcentaje de probabilidad
<i>Escherichia coli</i>	97, 5%
Características de las colonias	Tinción Gram: Bacilo gram (-) Calatasa (+) Oxidasa (-) Agar PCA: Colonias pequeñas de bordes regulares, convexas, color crema

Elaboración: Autor

Mediante un análisis cualitativo se identificó la presencia de bacterias de *E. coli* en ambas muestras de resina de sangre de drago con una probabilidad del 97,2%, considerando el aspecto de las colonias, la forma, el color mediante la técnica de tinción Gram ilustrándose en la figura 13, demostrando el crecimiento de microorganismos indicadores de contaminación fecal debido a que el lugar de procedencia de colecta del material practicaba actividades ganaderas como medio de subsistencia. La carga microbiana y la contaminación ambiental hace idóneo su crecimiento a la temperatura entre los 20°C o posiblemente a la contaminación microbiológica cruzada. Si no es controlado estos microorganismos patógenos pueden proliferar apresuradamente y permanecer de forma latente a bajas temperaturas provocando brotes de enfermedades por consumo de resina contaminada.

Figura 13.

Identificación de E. coli mediante tinción Gram, M1.

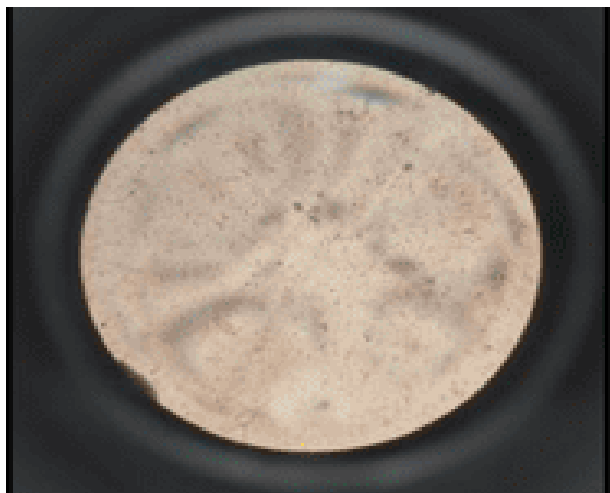
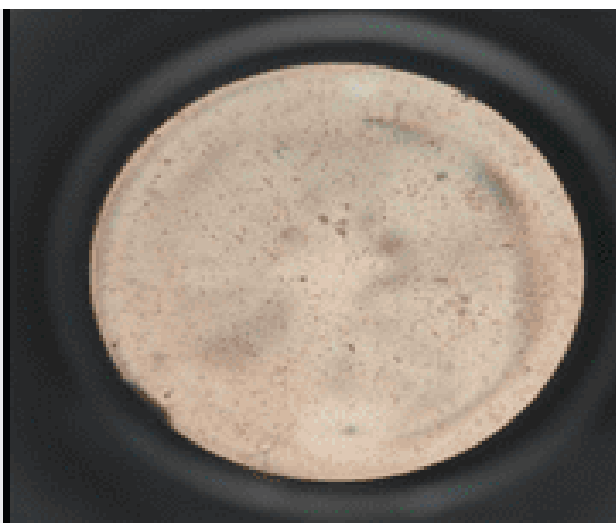


Figura 14.

Identificación de bacterias mediante tinción Gram, M2.



4.1.2. Cuantificación e Identificación de Microorganismos en el Cantón Pangua

Tabla 5.

Cuantificación de microorganismos en resina sangre de drago en el cantón Pangua.

Muestra 1		
Ensayos microbiológicos	Unidad	Resultado
Aerobios	UFC/g	45x 10 ¹
Levaduras	UPL/g	<10
Hongos	UPM/g	10 x 10 ¹
Muestra 2		
Ensayos microbiológicos	Unidad	Resultado
Aerobios	UFC/g	80x 10 ⁰
Levaduras	UPL/g	15 x 10 ¹
Hongos	UPM/g	<10

Elaboración: Autor

La carga de microorganismos en la muestra 1 de resina de sangre de drago extraída del cantón Pangua presentó aerobios mesófilos expresado en 45x 10¹ UFC/g y para hongos 10 x 10¹ UPM/g considerándose autorizada de acuerdo al valor recomendado por la norma INEN como nivel aceptable de calidad para consumo humano, indicando que cumple los parámetros analizados, debido a la composición química de la resina redujo la carga microbiana. Estos resultados corroboran sobre el lugar idóneo para la extracción de resina de sangre de drago que puede ser consumida por el ser humano para tratar enfermedades de manera segura y eficiente. En la muestra 2, se reportó una incertidumbre típica expandida en aerobios 80x 10⁰ UFC/g representando un valor mayor o menor al 2% obtenido de la muestra, la cual se considera de acuerdo a los criterios microbiológicos como nivel aceptable para consumo humano, no excedió los límites de sobrepoblación bacteriana.

Figura 15.

Recuento bacteriano en placa Petri M1.

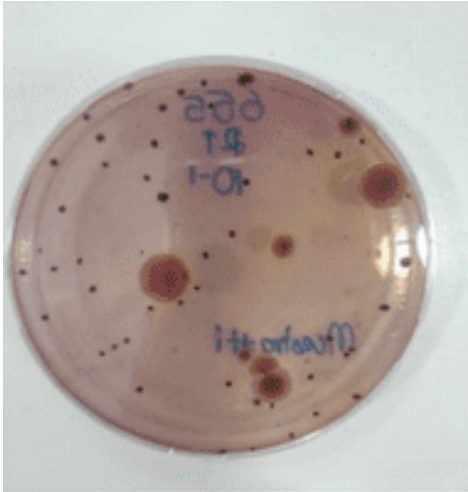


Tabla 6.

Identificación de colonias de microorganismos en resina sangre de drago cantón Pangua.

Muestra 1		
Identificación de Bacterias	Características de la colonia	Porcentaje de probabilidad
<i>Escherichia coli</i>	Tinción Gram: Bacilo gram (-) Calatasa (+) Oxidasa (-) Agar PCA: Colonias pequeñas de bordes regulares, convexas, color amarillentas Agar mackoney: colonias regulares redondas fucsias	99,5%

Identificación de Hongos	Características de la colonia	Porcentaje de probabilidad
<i>Aspergillus niger</i>	Colonias de color marrón, densa con pigmentos amarillentos, textura aterciopelada.	97,5%
Muestra 2		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Colonias de color amarillento también tornan a ser cremosas u opacas, de forma redondeada u ovalada	97,5%

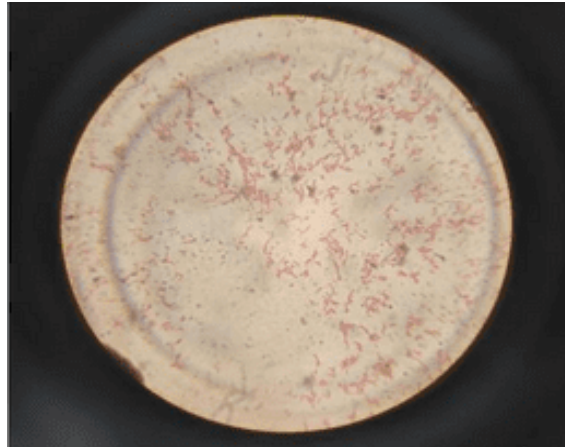
Elaboración: Autor

Tras el recuento de aerobios se determinó el crecimiento de colonias bacterianas mediante las pruebas bioquímicas a *E. coli* con el 99,5% de probabilidad como un indicador de contaminación microbiológica ilustrándose en la figura 16 mediante la Tinción Gram, sin embargo, no se logró identificar otras especies bacterianas debido a que el látex tiene un pH ácido que produce una barrera antimicrobiana que inhibe el crecimiento de algunas bacterias y hongos. También se determinó una colonia de acuerdo a las características macroscópicas la presencia de un hongo conocido como *Aspergillus niger*, la cual se encuentra en el rango de nivel aceptable que no representa riesgos en la salud, debido a que es muy común en el medio ambiente deduciendo que existe una mala calidad del aire o a su vez la carga ambiental es alta.

Asimismo, se identificó una colonia de levaduras de acuerdo a sus características conocida como *Saccharomyces cerevisiae* la cual son muy abundantes en la naturaleza principalmente en el suelo, hojas, corteza y se considera aceptable dentro de los parámetros de calidad microbiológica. La aplicación de técnicas para la identificación de levaduras presenta una probabilidad del 97,5%, considerando varios factores de transmisión principalmente por contacto de animales del bosque ya que sus heces puede ser un indicador de contaminación o la carga microbiana del ambiente, se garantizó la inocuidad y calidad en el proceso para una adecuada extracción de la materia prima.

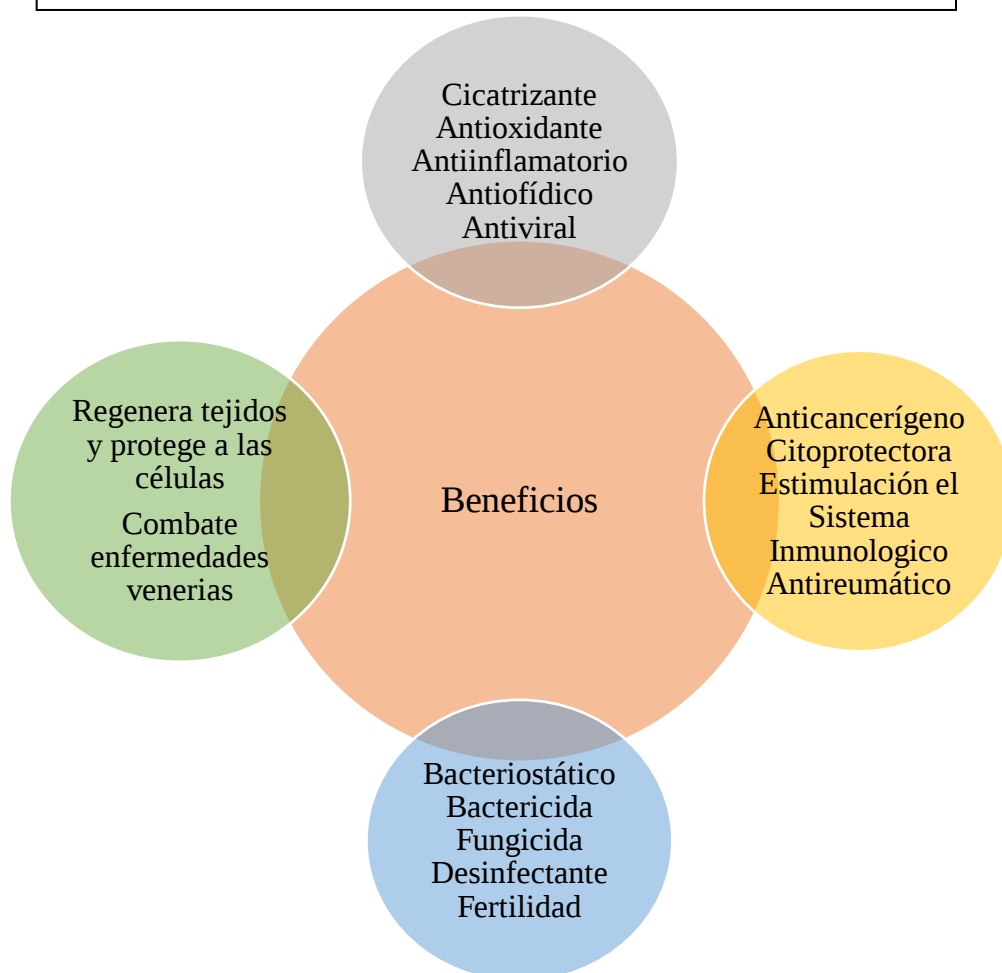
Figura 16.

Tinción Gram para identificar colonias de bacterias en M1



4.1.3. Beneficios de la Resina de *C. lechleri* en Función al Uso Medicinal

Figura 17. Relación de los beneficios de la resina *C.lechleri*



Elaboración: Autor.

4.2. Discusión

El Ecuador posee una diversidad de plantas medicinales para tratar diferentes enfermedades, la relevancia y eficacia de los productos al ser consumidos abre nuevas oportunidades en el ámbito de la salud. Existen muy pocas investigaciones referentes a los análisis microbiológicos derivado de productos forestales no maderables que mantienen propiedades terapéuticas medicinales. La contaminación de productos naturales se debe a la presencia de microorganismos patógenos que puedan sobrevivir a estas condiciones y que figura un riesgo grave a la salud. Los resultados demuestran que las dos muestras de sangre de drago provenientes del cantón Santo Domingo de los Tsáchilas presentan recuentos totales que sobrepasan los límites de aerobios mesófilos de acuerdo a las normas técnicas ecuatoriana, considerándose que los límites son inaceptables para el consumo humano. Sin embargo, en las muestras analizadas provenientes del cantón Pangua presentó recuentos de colonias bajos, siendo el límite permitido por INEN (33).

La cantidad de colonias de *E. coli* que sobrepasan LMP de las muestras provenientes del cantón Santo Domingo se debe a las prácticas de ganadería cerca de los árboles de sangre de drago. De acuerdo a Bayona (38), manifiesta que habitualmente se encuentra en el tracto intestinal de los animales de sangre caliente causantes de muchas enfermedades, debido a la presencia de heces fecales de animales que constituye la principal fuente de contaminación directa, tanto al arrastre de lluvias en la zona, como el traslado indirecto de partículas fecales considerándose como contaminación cruzada al momento del proceso de extracción. También Gálvez (40), menciona que en la parroquia Alluriquín perteneciente al cantón Santo Domingo específicamente en las zonas altas prevalece los árboles sangre de drago expuesta a la contaminación por las actividades de ganadería bovina y no existe un control apropiado de los mismos, la carga microbiana es más elevada a comparación de la otra localidad. Concientizando a las personas de consumir resina natural sangre de drago conociendo la carga patógena sin presentar riesgos a la Salud.

Asimismo, en cuanto al recuento de colonias en las muestras de sangre de drago proveniente de Pangua se redujo la carga microbiana de *E. coli*. Es importante recalcar que la primera muestra tuvo una carga microbiana aceptable por las NTE, el acceso de estas plantaciones presenta notables concentraciones de fauna silvestre que se refugian en estos

árboles y puede llegar a caer residuos de partículas fecales de muchas aves, sin embargo, se considera que no existe alta contaminación en la zona de acuerdo a Puig (39). La segunda muestra tomada de un árbol sano presento incertidumbre típica en las colonias ($\pm$) que representa el 2% del valor real considerándose como una estimación adecuada de la zona de valores entre los que se encuentra el verdadero valor. Los resultados del estudio presentan carencias en la calidad microbiológica en productos a consumir de resina de sangre de drago, es relevante desarrollar normativas con respecto a los análisis que deben efectuarse ya que muchas personas consumen la resina sin conocer ningún tipo de análisis previo al consumo del producto.

Se considera que no hubo crecimiento de otras colonias de bacterias y hongos que puedan ser identificadas debido a que la resina inhibe el crecimiento por sus componentes químicos, esta aseveración concuerda con Tamariz, Capcha, Palomino y Aguilar (42) que menciona las propiedades de la resina sangre de drago tiene efecto bactericida en concentraciones altas, por su componente activo que es la taspina considerado como un excelente antibacteriano y antiséptico. En 1994 se logró encontrar otros fitoquímicos en la resina, los cuales destacan los compuestos fenólicos, proantocianinas y diterpenos que mostraron actividad antibacteriana potente en bacterias aerobias gram positivas y a su vez beneficios medicinales para el tratamiento de diferentes enfermedades. Por otro lado, Vázquez y Carruitero (41). Indican que el látex de sangre de drago presenta un efecto antifúngico que impide el crecimiento de mohos y levaduras que son los principales alteradores de la calidad de la resina.

C. lechleri presenta la capacidad de disminuir la sobrepoblación bacteriana y fúngica patógena, el desarrollo de colonias de bacterias de *E. coli* tiene la capacidad de ser resistente y crecer en un medio de cultivo proliferándose fácilmente en un pH óptimo. Afirmándolo Rojas y Sánchez (43), que la resina sangre de drago por sus compuestos funcionan como antibacterianos frente a Gram positivos y a Gram negativos, cuando se presentan sobrepoblación de colonias elevadas, podría esperarse la acción de principios activos de la resina para inhibir el crecimiento total de las colonias de microorganismos patógenos obteniendo una eficiencia del 95% al 99% para el consumo del ser humano. De tal manera que puede considerar una alternativa más saludable y beneficiosa como medio de control o

análisis microbiológico de la resina sangre de drago como producto natural para ser consumido por toda la población.

De acuerdo a la revisión bibliográfica de diferentes estudios se afirma por personal de la salud y laboratoristas, que el látex de sangre de drago esta enriquecido de catequinas y proantocianidinas oligoméricas y también contiene 3, 4-O-dimetilcedrusina (lignando) y taspina, además de sus propiedades organolépticas, afirmando con veracidad que la resina presenta eficacia de control de microorganismos patógenos y que puede inhibir el crecimiento de algunas colonias, generalmente ayuda a la recuperación de cambios en el organismo y su uso está muy extendido en los países sudamericanos por sus efectos cicatrizantes aludiendo Risco, Vila, Henriques, Cañigüeral (34).

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Se determinó mediante un análisis microbiológico de las muestras de resina de sangre de drago procedentes de localidades diferentes pudiéndose comprobar que las muestras aptas para el consumo idóneo de acuerdo a los criterios de calidad microbiológica, son las muestras 1 y 2 procedentes del cantón Pangua considerada como aceptable para el consumo humano, ambas muestras inhibieron el crecimiento de sobrepoblación bacteriana de *E. coli*. Las muestras de resina procedentes del cantón Santo Domingo sobrepasaron los límites de calidad microbiológica, determinándose el factor principal las actividades de ganadería en las zonas de recolección. Se considera que estos microorganismos son comunes y presentan resistencia a factores ambientales y la poca necesidad nutricional.
- La selección de árboles de *C.lechleri* para la obtención de resina se consideró el diámetro, los cortes anteriores en la corteza de los árboles, la edad, la época de resinación en la creciente de luna y la hora en relación a la extracción mediante el método de sistema chino considerando una estría en forma de V como una técnica rentable y viable para el aprovechamiento de productos forestales no maderables. Además de considerar las NTE 1529-2 sobre la toma, envío y preparación de muestras para el respectivo análisis microbiológico en el control de alimentos.
- Los beneficios de la resina sangre de drago en el campo de la salud son varios, se utiliza para tratar diversas enfermedades, se aplica como antiinflamatorio, anticancerígeno, bactericida, fungicida, antioxidante, cicatrizante, enfermedades venéreas y estimulante de defensas, demostrando tener efectividad para neutralizar este tipo de patologías, cabe recalcar que es evidente la necesidad de realizar análisis microbiológicos de las resinas para el consumo del ser humano implementando mejoras en la extracción, procesamiento y almacenamiento de los productos para asegurar la inocuidad y que no representen un riesgo potencial en la salud de los consumidores, esto podrá cambiar la medicina convencional y sustituirla por la medicina tradicional.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda seguir realizando los análisis microbiológicos en la resina sangre de drago con la finalidad de tener un control eficiente para que el producto pueda ser consumido sin representar riesgos a la salud.
- Se considera seguir con estudios posteriores para la identificación fúngica e identificación bacteriana gram positivas y gram negativas para establecer una norma específica de control microbiológico para este tipo de producto.
- Se recomienda primordialmente considerar la NTE INEN 1529-2 para el proceso de toma y recolección de muestras, la NTE INEN 1529-5 para la determinación de microorganismos aerobios mesófilos y la NTE INEN 1529-10 para control microbiológico de mohos y levaduras.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA

1. Aguirre Z. Especies forestales de los bosques secos del Ecuador. Guía dendrológica para su identificación y caracterización. Proyecto Manejo Forestal Sostenible ante el Cambio Climático Quito: MAE; FAO; 2012.
2. Guzmán K, Bohórquez V, Guzmán V, Rosero J. Estudio de sangre de drago como factor coadyudante en el tratamiento de la gingivitis. Especialidades odontológicas UG. 2021 Marzo 5; 4(1): p. 7.
3. Martínez JV. Control microbiológico de productos naturales de uso tópico con fines cicatrizantes, comercializados en centros naturistas y mercados de la ciudad de Quito. 2018 Octubre..
4. Buitrón X. Ecuador uso y comercio de plantas medicinales, situación actual y aspectos importantes para su conservación Quito: RED TRAFFIC Internacional; Cambridge; 1999.
5. Ramírez G. Sangre de drago (*Croton lechleri* Muell. Arg). Natura Medicatrix. 2003; 21(4): p. 213-217.
6. Altamirano I. Evaluación de la actividad antioxidante de cuatro especies del género *Croton*. 2015 Junio..
7. Pinedo M, Rengifo E, Cerrutti T. Plantas medicinales de la Amazonía peruana, estudio de su uso y cultivo Iquitos: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP); 1997.
8. Hurtado F. Posibilidad de manejo de sangre de drago (*Croton sp.*) en la amazonía Ecuatoriana. 1998..
9. INDECOPI. Sangre de drago. Biopat Perú. 2019 Marzo; 5(3): p. 60.
10. Allaica N. Comparación del efecto cicatrizante de tinturas elaboradas a base de guarancho (*Caesalpinia spinosa*) y sangre de drago (*Croton lechleri*) aplicados en ratones (*Mus musculus*). 2015..

11. Pinillos F, Picardo Á, Allué M. La resina: herramienta de conservación de nuestros pinares Castilla León : Centro de Servicios y Promoción Forestal y de su Industria de Castilla León; 2004.
12. Gómez F. Sistemas y métodos de resinación en el pino. Ceiba. 1976 Agosto; 20(1): p. 55.
13. García A, Martínez E, Fernández E, Gómez E. Análisis de producciones y rendimientos del sistema de resinación de pica de corteza con estimulación química de doble cara ancha en masas de *Pinus pinaster* Ait. cuyo objetivo principal es la producción de madera. IBADER. 2020 Diciembre 16;(16): p. 5-10.
14. Blanco S. La resinación por el método de pica de corteza ascendente, estudio de tiempos, rendimientos y costes en distintos montes de la provincia de Segovia. 2011 Marzo..
15. Gómez G, Rozados L, Fernández B, Quinteiros F, Martínez C. Instalación de ensayos para determinar las posibilidades del aprovechamiento resinero en Galicia. 2017 Junio 30..
16. Cunningham A. Estado actual de la resinación en el mundo. 18-23. Buenos Aires;; 2009.
17. Cornejo JL. Evaluación de dos métodos de extracción de resina en *Pinus oocarpa schiede*. 1996 Octubre 30..
18. Hernández L. El antiguo oficio de resinero. Hojas divulgadoras. 2006;(2116): p. 31.
19. Ortega M, Garrido B, Suárez Á, Camacho P, Martínez S, PROFOR. Guía básica de trabajos de resinación en pinares: Asociación promoción y desarrollo serrano; PRODESE; ADEMA; 2013.
20. Ambrosio Y, Sanz A, Maroto E, Pinillos F, Laina R, Tolosana E, et al. Tiempos y rendimientos del método de resinación mediante pica tradicional ascendente. Tesis. CESEFOR, Departamento de economía y gestión forestal; 2013 Junio 14. Report No.: ISBN 9788493796495.

21. Montaña N, Sandoval A, Camargo S, Sánchez J. Los microorganismos: pequeños gigantes. Elementos: Ciencia y cultura. 2010 abril; 17(77): p. 15-23.
22. Moya A. Biodiversidad fúngica endófito y epífita de *Citrus sinensis*, naranjo dulce de dos localidades de la región litoral del Ecuador. 2016..
23. Jang J, Hur H, Sadowsky M, Byappanahalli M, Yan T, Ishii S. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications a review. Applied Microbiology. 2017 Marzo 31; 1(123): p. 570-581.
24. Abarca L. Taxonomía e identificación de especies implicadas en la *Aspergilosis nosocomial*. Revista Iberoamericana Micología. 2000; 17(1): p. 79-80.
25. Arias A, Barrios A, Simonsen E, Tejeda S. Identificación morfológica, fisiológica y molecular de levaduras del género *Saccharomyces* para la elaboración de cerveza. Revistas Mente Joven. 2019 Diciembre 2; 8u: p. 55-64.
26. Delgadillo D. Evaluación de la actividad antioxidante y antibacteriana de extractos etanólicos de propóleos de abejas sin aguijón del estado de Veracruz, México. 2016 Marzo 17..
27. MINSA. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. normativa. ; 2003.
28. Price E. Efecto antibacteriano del extracto puro de *Croton lechleri* Mull Arg. (sangre de drago) sobre la cepa bacteriana de *Staphylococcus aureus*. 2019..
29. Huapaya J, Flórez M, Larrea H. Control microbiológico y evaluación de la actividad antibacteriana in Vitro de *Croton lechleri* "sangre de drago". 2003..
30. Borja E. Actividad antifúngica de los extractos de plantas *Croton lechleri* y *Maytenus laevis* en cepas de *Candida albicans*. 2019 Septiembre..
31. GAD. Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de la parroquia rural Alluriquín 2015-2019. Santo Domingo de los Tsáchilas;; 2015.
32. GAD. Plan de desarrollo y ordenamiento territorial del cantón Pangua. Pangua;; 2020.

33. INEN. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos rep. 2006..
34. Risco E, Vila R, Henriques S, Cañigual S. Bases química y farmacológicas de la utilización de la sangre de drago. Revista Fitoterapia. 2005; 5(2): p. 101-116.
35. Morley R. Fotografía de árbol sangre de drago. 2011, obtenido de <https://www.alamy.es/arbol-de-sangre-del-dragon-viejos-recortes-en-el-tronco-de-un-sangre-de-drago-sangre-del-dragon-tree-croton-lechleri-este-arbol-exuda-un-latex-rojo-que-parece-li-image334784900.html?imageid=E19C91E8-FE76-45A7-A758-4C42CF52313F&p=17748>.
36. Cetrangolo. Innovación en la resinación de pino. Pasado, presente y futuro en el país. 2020 Diciembre 19..
37. INEN. Control microbiológico de los alimentos mohos y levaduras viables. Recuentos en placa por siembra en profundidad. 2013..
38. Bayona M. Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública en un sector del norte de Bogotá. Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica. 2009 Diciembre; 12(2): p. 9-17.
39. Puig Y, Leyva V, Rodríguez A, Carrera J, Molejón P, Pérez Y, et al. Calidad microbiológica de los vegetales y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en la Habana. Revista Habanera de Ciencias Médicas. 2014 Febrero; 13(1): p. 111-119.
40. Gálvez F. Distribución potencial de plantas utilizadas para el tratamiento de enfermedades antitumorales y antiinflamatorias en Ecuador continental. 2017..
41. Vásquez E, Carruitero M. Efecto antifúngico in vitro del látex de *Croton lechleri* (sangre de drago) frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Pueblo Continente. 2016 Junio 30; 27(1): p. 89-94.
42. Tamariz J, Capcha R, Palomino E, Aguilar O. Actividad antibacteriana de la sangre de drago (*Croton lechleri*) frente al *Helicobacter pylori*. Revista Médica Herediana. 2003 abril; 14(2): p. 81-88.

43. Rojas E, Sánchez S. Diseño de un sistema de desinfección para Coliformes totales y *Escherichia coli* utilizando la resina de sangre de drago (*Croton lechleri*) in vitro en el agua de consumo humano. 2019 Julio.

CAPITULO VII

ANEXOS

7.1. Anexos de campo



Anexo 1. Identificación y selección de los árboles de sangre de drago.



Anexo 2. Extracción de la resina mediante la utilización de recipientes estériles (orina).



Anexo 3. Herramienta barrasco y cuchillas metálicas.



Anexo 4. Extracción de resina en la localidad San José de Alluriquín.



Anexo 5. Extracción de resina en la localidad Pangua, mediante el método corte en V.



Anexo 6. Fotografía con el equipo de trabajo.