



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE
LA AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO
DOMINGO**

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: EVALUACIÓN DE PARÁMETROS PARA EL PROCESO
DE DESHIDRATACIÓN DE PIN'KU (*Piper carpunya Ruiz
& Pav.*), EN LA COMUNA TSÁCHILA CHIGUILPE., PROVINCIA
SANTO DOMINGO DE LOS TSACHILAS.**

AUTOR: CARRERA LLERENA JOSE LUIS

DIRECTOR: ING. REINA FIERRO JORGE MSc.

SANTO DOMINGO

DICIEMBRE DEL 2015



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, ***“EVALUACIÓN DE PARÁMETROS PARA EL PROCESO DE DESHIDRATACIÓN DE PIN’KU (Piper carpunya Ruiz & Pav.), EN LA COMUNA TSÁCHILA CHIGUILPE., PROVINCIA SANTO DOMINGO DE LOS TSACHILAS”***, realizado por el ***Sr. JOSÉ LUIS CARRERA LLERENA***, ha sido revisado en su totalidad y analizado por el software anti-plagio, el mismo cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, por lo tanto me permito acreditarlo y autorizar al ***Sr. JOSÉ LUIS CARRERA LLERENA*** para que lo sustente públicamente.

Santo Domingo, 01 de Diciembre de 2015

Ing. Jorge Reina Fierro MSc.

DIRECTOR



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, **JOSE LUIS CARRERA LLERENA**, con cédula de identidad N° 171433429-7, declaro que este trabajo de titulación **“EVALUACIÓN DE PARÁMETROS PARA EL PROCESO DE DESHIDRATACIÓN DE PIN’KU (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*), EN LA COMUNA TSÁCHILA CHIGUILPE., PROVINCIA SANTO DOMINGO DE LOS TSACHILAS”**, ha sido desarrollado considerando los métodos de investigación existentes, así como también se ha respetado los derechos intelectuales de terceros considerándose en las citas bibliográficas. Consecuentemente declaro que este trabajo es de mi autoría, en virtud de ello me declaro responsable del contenido, veracidad y alcance de la investigación mencionada.

Santo Domingo, 01 de Diciembre de 2015

José Luis Carrera Llerena

C.C. 171433429-7



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN

Yo, **JOSE LUIS CARRERA LLERENA**, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar en la biblioteca Virtual de la institución el presente trabajo de titulación **“EVALUACIÓN DE PARÁMETROS PARA EL PROCESO DE DESHIDRATACIÓN DE PIN’KU (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*), EN LA COMUNA TSÁCHILA CHIGUILPE., PROVINCIA SANTO DOMINGO DE LOS TSACHILAS”** cuyo contenido, ideas y criterios son de mi autoría y responsabilidad.

Santo Domingo, 01 de Diciembre de 2015

José Luis Carrera Llerena

C.C. 171433429-7

DEDICATORIA

La presente investigación científica la dedico al pueblo Tsáchila, conocedores ancestrales de los secretos que guardan las plantas medicinales se pretende aportar con el futuro en el desarrollo agroindustrial de esta comunidad en especial de la comuna Tsáchila Chiguilpe en concordancia del Centro Ancestral UNISHU.

A mis Padres, Sr. Hugo Elías Carrera Ríos y Sra. Flor María Llerena Reinoso, que gracias a su esfuerzo e incondicional apoyo supieron impartir sus consejos para poder culminar esta investigación, a mi hermano, Ing. Hugo Aníbal Carrera Llerena, que gracias a su complicidad y apoyo hizo posible la continuación de este proyecto.

A mí amada Esposa la Sra. María H. Romero, gracias a su afecto, apoyo y apego de lucha supo compartir y sobrellevar el esfuerzo y dedicación que generó la realización de este proyecto.

Además con especial cariño, se la dedico a mis hijos: Moisés, Anthony y Cristian; gracias a ellos e realizado y realizare todo esfuerzo; espero esto les sirva de ejemplo ya que con dedicación, esfuerzo y constancia puedes realizar cualquier meta que se te proponga en la vida.

José Luis.

AGRADECIMIENTO

Agradezco de manera especial al Sr. Dr. Carlos Cárdenas MSc, catedrático de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, IASA I, por su incondicional apoyo técnico y científico en la elaboración de esta investigación, sus conocimientos relacionados a estudios agro-botánicos en plantas medicinales hicieron posible la dirección correcta de este estudio, además por su amistad y camaradería en todo este tiempo, gracias por permitirme aprovechar sus enseñanzas.

A mi Director: Ing. Jorge Reina MSc. por su aporte técnico en este proyecto y a mi codirector: Ing. Stalin Granda por su ayuda técnica en el proceso.

Con gran gratitud a mi amigo Sr. Agustín Calazacón, Shaman (Pone) de la comuna Tsáchila Chiguilpe, directivo del Centro Ancestral UNISHU , por aportar con su ayuda incondicional en el desarrollo de esta investigación y ser el nexo de unión con la comunidad, además por tener siempre ese ímpetu de servir y ayudar a su gente aportando sus conocimientos del uso de plantas medicinales en especial de Pin'ku.

A mi amiga Sra. Albertina Calazacón, Asambleísta (alterna) de la República del Ecuador, Directora del Proyecto TOLON-PELE, por el apoyo administrativo dentro de la comunidad Tsáchila Chiguilpe.

A mi amigo Sr. Carlos Jaramillo, Directivo del Proyecto Z4, Artista plástico y Diseñador Gráfico, por su gran colaboración en la elaboración del diseño de imagen y toma de imágenes importantes para el desarrollo de esta investigación.

José Luis.

INDICE DE CONTENIDOS

PORTADA	i
CERTIFICADO DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	ii
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD	iii
AUTORIZACIÓN	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
INDICE DE CUADROS	xi
INDICE DE FIGURAS	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1. Marco Referencial	2
2.1.1. Plantas medicinales en el Ecuador.....	3
2.1.2. PIN`KU (Piper carpunya Ruíz & Pav.)	4
2.1.2.1. Descripción	4
2.1.2.2. Información etnobotánica y etnomédica	4
2.1.2.3. Composición química y propiedades farmacológicas.....	4
2.1.3. Taxonomía de PIN`KU.....	5
2.1.4. Diversidad genética	6
2.1.5. Descripción botánica de PIN`KU	6
2.1.6. Procesos de limpieza y selección.....	7
2.1.7. Procesos de secado o deshidratado	7
2.1.8. Procesos de almacenamiento	8
2.1.9. Empaque de plantas aromáticas medicinales.....	9
2.1.10. Elaboración de tisanas aromáticas	10
2.1.11. Almacenamiento	10
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11

3.1.	Ubicación del lugar de Investigación.....	11
3.1.1.	Ubicación política.....	11
3.1.2.	Ubicación Geográfica.....	11
3.1.3.	Ubicación Ecológica.....	12
3.2.	Métodos.....	12
3.2.1.	Diseño experimental.....	12
3.2.2.	Esquema de análisis de varianza.....	14
3.3.	Materiales y Equipos de laboratorio.....	14
3.4.	Fase de Prospección.....	14
3.5.	Fase de Recolección.....	15
3.6.	Fase de Identificación o Autenticación Botánica.....	15
3.7.	Fase de Procesamiento.....	16
3.7.1.	Recolección.-.....	16
3.7.2.	Transporte.-.....	16
3.7.3.	Recepción.-.....	17
3.7.4.	Selección y clasificación.-.....	17
3.7.5.	Pesado.-.....	17
3.7.6.	Lavado y Desinfección.....	17
3.7.7.	Oreo.-.....	17
3.7.8.	Picado.-.....	17
3.7.9.	Deshidratado.....	17
3.7.10.	Molido.....	18
3.7.11.	Envasado.....	18
3.7.12.	Almacenado.....	18
3.8.	Fase de Extracción.....	18
3.8.1.	Obtención del Macerado de Pin`ku (<i>Piper carpunya</i>).....	18
3.8.2.	Obtención de los hidrodestilados de Pin`ku.....	19
3.9.	Análisis fitoquímico de pin`ku (<i>Piper carpunya</i>).....	20
3.9.1.	Preparación y ejecución de las muestras maceradas de pin`ku.....	20
3.9.2.	Reporte de resultados del tamizaje fitoquímico preliminar.....	21
3.9.3.	Protocolo para reconocimiento de alcaloides.....	21

3.9.4.	Protocolo para reconocimiento de taninos y fenoles (Ensayo con cloruro férrico)	22
3.9.5.	Protocolo para reconocimiento de saponinas (Ensayo de espuma)	22
3.9.6.	Protocolo para reconocimiento de cumarinas.....	23
3.9.7.	Protocolo para reconocimiento de flavonoides (Ensayo de shinoda).....	23
3.9.8.	Ensayo de antocianinas.....	24
3.9.9.	Protocolo para reconocimiento de quinonas (Ensayo de börntrager).....	24
3.10.	Variables a Ser Evaluadas	25
3.10.1.	Variables paramétricas	25
3.10.2.	Variables no paramétricas	25
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
4.1.	Contenido y volatilidad de terpenos	26
4.1.1.	Tamizaje fitoquímico del extracto de Pin'ku en Hex	26
4.1.2.	Tamizaje fitoquímico del extracto de Pin'ku en MeOH.....	27
4.1.3.	Tamizaje fitoquímico del extracto de Pin'ku en EtOH	28
4.1.4.	Tamizaje fitoquímico del extracto de Pin'ku en H ₂ O.....	28
4.1.5.	Tamizaje fitoquímico en el hidroddestilado de Pin'ku.....	29
4.1.6.	Resultados de identificación de metabolitos secundarios en Pin'ku.	29
4.2.	Método de desinfección.....	30
4.2.1.	Desinfección con cloro (Cl).....	30
4.2.2.	Desinfección con Kilol	31
4.3.	Rendimiento de producto deshidratado	31
4.4.	Contenido de Materia Seca %	33
4.5.	Contenido de minerales	33
4.6.	Prueba organoléptica	34
4.6.1.	Encuesta de Color.-.....	34
4.6.2.	Encuesta de Olor.-	35
4.6.3.	Encuesta de Sabor.-	35
4.6.4.	Encuesta de aceptabilidad.-	36

V.	CONCLUSIONES	37
VI.	RECOMENDACIONES	38
VII.	BIBLIOGRAFÍA	39

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Tratamientos con las diferentes combinaciones y repeticiones.	13
Cuadro 2.	Sorteo de los tratamientos en la evaluación de parámetros para el proceso de deshidratación de pin'ku (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>)	13
Cuadro 3.	ADEVA	14
Cuadro 4.	Estimación visual y organoléptica del hidrodestilado de pin'ku.	19
Cuadro 5.	Diluciones preparadas del extracto de pin'ku, previo al tamizaje fitoquímico.....	21
Cuadro 6.	Significación considerada para reportar los resultados de las pruebas del tamizaje fitoquímico.	21
Cuadro 7.	Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto de pin'ku en Hex. .	27
Cuadro 8.	Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto de pin'ku en MeOH.	27
Cuadro 9.	Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto de pin'ku en EtOH.	28
Cuadro 10.	Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto de pin'ku en H ₂ Od.	29
Cuadro 11.	Resultados del tamizaje Fito químico del hidrodestilado de pin'ku. .	29
Cuadro 12.	Método de extracción, desviación estándar y medianas correspondientes al análisis de metabolitos secundarios en el extracto de Pin'ku.	30
Cuadro 13.	Resultados del tratamiento desinfectado con cloro.....	30
Cuadro 14.	Resultados del tratamiento desinfectado con Kilol.....	31
Cuadro 15.	Análisis de Varianza para Rendimiento porcentual del producto deshidratado.	32
Cuadro 16.	Análisis de Varianza de la Variable Materia Seca en porcentaje.	33
Cuadro 17.	Resultado de minerales, Pin'ku desinfectado con Cloro y Kilol en porcentaje de materia seca.	34
Cuadro 18.	Prueba de color.	35
Cuadro 19.	Prueba de olor.	35
Cuadro 20.	Prueba de Sabor.	36
Cuadro 21.	Prueba de Aceptabilidad.	36

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Planta de Pin'ku (<i>Piper carpunya</i>), comunidad Tsáchila.....	6
Figura 2.	Carta topográfica zona de Santo Domingo de los Tsáchilas – Quevedo. Instituto Geográfico Militar.....	11
Figura 3.	Prospección de Pin'ku (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>), en la comunidad.....	15
Figura 4.	Flujograma del proceso de deshidratación a partir de (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>).....	16
Figura 5.	Proceso de obtención del macerado de Pin`ku (<i>Piper carpunya</i>).....	18
Figura 6.	Proceso de obtención del hidrodestilado de Pin`ku (<i>Piper carpunya</i>).	20
Figura 7.	Filtrado y rota evaporado de pin'ku (<i>Piper carpunya</i>).	20

RESUMEN

En la Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, en la comuna Tsáchila Chiguilpe, se procedió a realizar este proyecto de investigación para obtener tisanas medicinales a partir de PIN'KU (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*), una planta endémica muy utilizada en el área medicinal nativa, se evaluara varios parámetros para el proceso de deshidratación de Pin'ku, proponiendo la utilización de secado por aire caliente y estufa, interrumpiendo los procesos de degradación causados por enzimas o fermentos, que impide el desarrollo de microorganismos y las reacciones de oxidación y de hidrólisis. El material vegetativo que se utilizo es hojas de Pin'ku, se evaluaron tres temperaturas de secado 40 °C, 45 °C y 50 °C. En la desinfección se utilizó cloro al 10 % y kilol (Producto orgánico). Se realizó un análisis fotoquímico y microbiológico para evidenciar los metabolitos secundarios mayoritarios con actividad biológica medicinal contenidos en las hojas de Pin'ku. Finalmente se determinó que muestra de materia prima obtenida es la que presenta mejor calidad organoléptica.

PALABRAS CLAVE:

- **PIN'KU.**
- **TEMPERATURA.**
- **SECADO.**
- **CALIDAD ORGANOLÉPTICA.**
- **TISANAS MEDICINALES.**
- **METABOLITOS SECUNDARIOS.**

ABSTRACT

In the province of Santo Domingo of the Tsáchilas, in the commune Tsáchila Chigüilpe, proceeded to carry out a research project to obtain Medicinal teas from PIN'KU (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.), an endemic plant used in native medicinal area, evaluating various parameters for the process of dehydration of Pin'ku, proposing the use of drying by hot air and heater disrupting the processes of degradation caused by enzymes or ferments, which prevents the development of microorganisms and oxidation and hydrolysis reactions. The vegetative material used were Pin leaves ' ku, evaluated three dried 40 ° C temperature, 45 ° C and 50 ° C. Disinfection chlorine was used at 10% and kilol (organic). An photochemical analysis and microbiological to reveal major secondary metabolites with biological medicinal activity contained in the leaves of Pin'ku. Finally it was determined that obtained raw sample is presenting best organoleptic quality.

KEY WORDS:

- **PIN'KU**
- **TEMPERATURE**
- **DRYING**
- **ORGANOLEPTIC QUALITY**
- **MEDICINAL TISANE**
- **SECONDARY METABOLITES**

**“EVALUACIÓN DE PARÁMETROS PARA EL PROCESO DE
DESHIDRATACIÓN DE PIN’KU (*Piper carpunya Ruíz & Pav.*), EN LA
COMUNA TSÁCHILA CHIGUILPE., PROVINCIA SANTO DOMINGO DE
LOS TSACHILAS”.**

I. Introducción

Para la curación de las enfermedades los Tsáchilas poseen un elevado conocimiento de plantas medicinales, antaño patrimonio de todo el grupo. La popularización de la medicina Tsáchila ha facilitado la proliferación de curanderos también conocidos como “vegetalistas”, aunque sólo aquellos que han realizado un largo proceso de aprendizaje alcanzan al conocimiento y el poder curativo por la vía espiritual asociado con los pone (shamanes o curanderos), los cuales siguen curando en el interior de las comunas (Rivet, 1905).

Entre estas especies se encuentra PIN’KU (*Piper carpunya Ruíz & Pav.*), que ha sido utilizada principalmente en casos de desorden digestivo como cólicos y gases; además mezclado con otras plantas sirve para aliviar resfriados y golpes, que se aplican en implanto (Calazacón, 2012).

El problema de la comunidad Tsáchila radica en la falta de conocimientos sobre el proceso industrial de plantas medicinales, ya que poseen conocimientos empíricos sobre su uso etnobiológico. La utilización de PIN’KU se a limitado a la realización de macerados machacados con piedras de río y agua que obtienen de pozos (vertientes de agua) o agua de río, también se realizan aplicaciones de hojas frescas tiernas (jóvenes) amarrados con bufandas o trapos alrededor del estómago de los nativos enfermos y también lo consumen en infusiones.

Al no poseer información científica actualizada de los usos industriales y medicinales de PIN’KU se plantea la presente investigación por su importancia en la alimentación y la utilización de medicina natural dentro de la etnia Tsáchila, siendo necesario crear alternativas de producción entre las cuales se podría realizar

deshidrataciones de las partes de la planta para su posterior transformación industrial en té.

Los resultados de esta investigación se constituyen como un aporte técnico a futuras investigaciones en el campo agroindustrial de las hierbas aromáticas, que servirá para plantear propuestas productivas encaminadas a impulsar procesos industriales de plantas nativas como es PIN'KU, fortaleciendo el proceso de vinculación con la comunidad Tsáchila mediante el desarrollo de una metodología que incluye la elaboración de tisanas medicinales para el futuro productivo de esta comunidad.

La presente investigación tiene como objetivo evaluar los parámetros de deshidratación de *Piper carpunya Ruiz & Pav.* para la elaboración de tisanas medicinales, en la comunidad Tsáchila Chiguilpe.

Se plantearon los siguientes objetivos específicos, evaluar la deshidratación mediante aire caliente y estufa a 40° C, 45° C y 50° C, para establecer el método más idóneo para la deshidratación de las hojas como materia prima previo a la elaboración de tisanas (o te) medicinales de PIN'KU. Además comprobar dos métodos de desinfección, cloro al 10% y kilol a dosis comercial. También efectuar un análisis fitoquímico para evidenciar los metabolitos secundarios mayoritarios con actividad biológica medicinal contenidos en las hojas de Pin'ku y determinar de las muestras de materia prima obtenidas cual es la que mejor calidad organoléptica presenta.

II. Revisión de literatura

2.1. Marco Referencial

Desde el comienzo de su existencia el hombre se ha visto en la necesidad de utilizar alimentos y medicamentos, lo cual se inicia probablemente, observando el hábito de los animales salvajes cuando discriminaban las plantas y probando una y otra vez hasta escoger las adecuadas para su alimentación y cura (Miranda, 2001).

Ecuador es uno de los países tropicales con mayor diversidad vegetal tanto a nivel de especies como en su variedad de formaciones vegetales (Acosta, 1962).

Los bosques naturales constituyen el hábitat para la gran diversidad biológica y proveen múltiples servicios ecológicos, entre otros, la protección de cuencas hidrográficas, protección de suelos contra la erosión, y regulación climática. Los bosques naturales también son la base del sustento directo para buena parte de la población ecuatoriana que los utiliza para obtener recursos forestales maderables, combustibles (ej. carbón, leña) y productos alternativos como colorantes, jabones, abonos, medicinas, además de beneficiarse de la vida animal silvestre que constituye una importante fuente de proteínas (Cesa, 1991).

La singular importancia ecológica y socioeconómica que derivan de la conservación (uso sustentable y preservación) de los bosques naturales, solo ha empezado a ser reconocida recientemente. Por esta razón, en Ecuador la explotación de los bosques naturales aún se lleva a cabo sin tomar en cuenta criterios de sustentabilidad a tal punto que esta actividad constituye uno de los problemas ambientales más agobiantes del país (Palacios, 1993).

2.1.1. Plantas medicinales en el Ecuador

En el Ecuador no se conoce mucho sobre la industrialización de plantas medicinales o producción de fitofármacos. En realidad pocas plantas han entrado en un proceso de revalidación y han sido sometidas a investigaciones fitoquímicas para determinar si tienen aceites esenciales, alcaloides u otros compuestos. Muchas plantas son llamadas “medicinales” cuando no se conocen en realidad si tienen o no principios activos (Buitrón, 1999).

En Ecuador como en otros países, las plantas medicinales y aromáticas se utilizan como materia prima en forma de extractos, en forma semipurificada o como sustancias químicas puras o semisintéticas. Su utilización en diferentes niveles de industrialización es cada vez mayor (Varea, 1997).

2.1.2. PIN`KU (*Piper carpunya* Ruíz & Pav.)

Las especies del género *Piper* (Piperaceae) se encuentran ampliamente distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, muchas de las cuales se consideran plantas medicinales en Latinoamérica y la región de las Indias Occidentales (Bezerra, *et al*, 2008).

2.1.2.1. Descripción

Arbusto que crece en los lugares húmedos.

2.1.2.2. Información etnobotánica y etnomédica

Los indios Sionas y Kofanes de la Alta Amazonia, machacan las hojas y preparan una decocción que consideran muy útil para combatir las fiebres y como purgante (Lescure, 1987).

Los Huitotos de Colombia reconocen en algunas especies de *Piper* cualidades anestésicas y analgésicas, y las aprovechan en diferentes trastornos especialmente en los dolores de muelas (Pavón, 1982).

Los Jíbaros de la Alta Amazonía tienen varias especies de *Piper* entre sus medicinas para los trastornos dentales, dolor o caries; así reconocen buenos efectos en las hojas de *P. hispidum* , en la planta entera de *P. marginatum* y en la planta entera del "cordoncillo" , *P. tingens* (Lewis, 1984).

2.1.2.3. Composición química y propiedades farmacológicas

El género *Piper* se caracteriza por la presencia de alcaloides. Los extractos de algunas especies han demostrado poseer efectos antifertilidad y actividad insecticida (Schultes, 1990).

Los indígenas amazónicos usan varias especies de plantas para la pintura de sus dientes, elemento cosmético e higiénico muy importante; entre estas plantas se encuentran varias pertenecientes al género *Piper*. Algunas especies de *Piper* tienen compuestos fenólicos, como eugenol y sus isómeros, y además, taninos en las hojas.

En los taninos del té o del cacao se han reconocido efectos cariogénicos por inhibición de las enzimas asociadas con las adherencias bacterianas. No se conoce la forma en que las sustancias usadas para ennegrecer los dientes actúan similarmente ya que como ellas (té o cacao), sirven como sellantes para la coagulación de la placa proteica y la estabilización del hydroxyapatithe del diente (esmalte dental).

En Colombia las especies del género *Piper* se conocen popularmente como cordoncillos o anises y son empleadas en el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas diarrea, disentería, dolores de estómago, caries dentales, y como cicatrizante (De la Rúa, 1999).

También se ha registrado efectos digestivos, contra la fiebre, trastornos gastrointestinales, y por lo general se preparan en decocción, baños depurativos, tanto con las hojas secas y frescas (Lewis, 1984).

2.1.3. Taxonomía de PIN`KU

Según La De la Torre, 2008, Pin`ku (*Piper carpunya*) se la ha clasificado

Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
Superdivisión:	Spermatophyta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Magnoliidae
Orden:	Piperales
Familia:	Piperaceae
Género:	<i>Piper</i>
Especie:	<i>Piper carpunya</i>

2.1.4. Diversidad genética

La diversidad genética de *Piperes*: *Piper amalago*, *Piper gaudichaudianum*, *Piper betle*, *Piper nigrum*, *Piper aduncum*, *Piper dilatatum* Reichb, *Piper amalago* L., *Piper tuberculatum*, *Piper consanguineum*, *Pipermarginatu*, *Pipertingens*, *Piper dactylostigmum*, *Piper hispidum*, *Piper callosum*.

2.1.5. Descripción botánica de PIN`KU

Es un arbusto, herbáceos, cuyos tallos crecen erguidos o trepadoras anuales o perennes, de hasta 5 m de alto, sus hojas son simples, alternas u opuestas, pecioladas, penninervadas o con nervaduras longitudinales, enteras, elípticas o cordiformes, a veces peltadas, glabras o pubescentes, de 11 - 19 cm de largo, por 4 a 11 cm de ancho, sus flores se describen perfectas o diclino-dioicas, bracteoladas, aperiartadas; en espiga, cuyos estambres están presentes de 2-10, uni o biseriados, filamentos libres o unidos, anteras bitecas, raramente uniloculares de dehiscencia longitudinal. El gineceo presenta un ovario sésil, súpero, comúnmente de 3 carpelos, unilocular, uniovulado, estigma generalmente sésil, entero o lobulado y su fruto es una drupa o baya pequeña, con semillas que ocupan el mayor volumen del fruto.



Figura 1. Planta de Pin`ku (*Piper carpunya*), comunidad Tsáchila.

Conocido también como matico tropical, matico de montaña, guabiduca por la comuna de los Tsáchilas, generalmente es colectada en la época en la cual las plantas poseen el contenido máximo de sus principios activos. En algunas farmacopeas homeopáticas, la monografía de la droga indica cual es la mejor época para la recolección en la ausencia de informaciones farmacopéicas es necesario seguir las siguientes reglas generales (Sharapin, 2001).

2.1.6. Procesos de limpieza y selección

Una vez recolectadas las partes de la planta, deben ser sometidas a un proceso de lavado y selección para eliminar las materias extrañas que pueden haberse obtenido durante la recolección (Miranda, 2001).

Realizada la cosecha se hace una selección cuidadosa de las plantas, desechando las partes decoloradas, manchadas, enfermas o deterioradas por insectos, parásitos o microbios. El lavado se hace con agua potable sobre una superficie colada de modo que el agua penetre, lave y escurra para eliminar el exceso. Esta práctica debe hacerse por lo menos una vez y una desinfección con 10 ppm de hipoclorito de calcio o sodio, que son fácilmente degradables (Martínez, 2000).

2.1.7. Procesos de secado o deshidratado

El secado de una planta no es más que el proceso de extraer la humedad que contiene, para evitar que se pudra, enferme o pierda las sustancias activas, además de permitir su almacenamiento por un tiempo determinado antes de su utilización.

Éste se puede realizar con calor natural o artificial; sea cual sea el sistema, el propósito es eliminar progresivamente la humedad contenida en las partes útiles, mediante técnicas adecuadas a cada especie de forma que no se pierdan o devalúen las sustancias que se pretender retener.

Sin excepciones las partes recolectadas deben ponerse a secar inmediatamente; se evitará de esta forma que se marchiten o requemen. Por esta misma razón, salvo en

algunos casos, es necesario evitar el secado a pleno sol, dado que las sustancias activas se reducen o alteran por efecto de los rayos solares; así, las plantas ricas en aceites esenciales pueden llegar a perder entre un quinto y una tercera parte de esas materias.

Solamente en casos excepcionales se sitúan las plantas a pleno sol, pero siempre por períodos muy cortos y previos a situarlas en un lugar adecuadamente ventilado. Si el tiempo de secado es excesivo, se corre el riesgo de que la planta se reduzca a polvo, perdiendo las sustancias activas; un tiempo escaso, por su parte, puede provocar que la humedad que aún contienen las haga enmohecer o pudrirse.

Las partes más duras de la planta deben partirse con facilidad si se las curva, y las más endebles deben conservar cierta rigidez sin romperse al manipularlas ligeramente.

El secado interrumpe los procesos de degradación causados por enzimas o fermentos, impide el desarrollo de microorganismos y las reacciones de oxidación y de hidrólisis. Sin embargo, como este proceso involucra calor, pueden presentarse pérdida de aceites esenciales y de sustancias volátiles, así como el riesgo de degradación de algunas sustancias termolábiles. La mayoría de las plantas medicinales pueden ser secadas a temperaturas que varían entre 30° C y 60° C. Las plantas que poseen aceites esenciales o sustancias volátiles deben ser secadas a temperaturas inferiores a 40° C (Sharapin, 2001).

El secado es el paso más importante para lograr un producto de óptima calidad, ya que de éste depende que el producto esté en condiciones de comercializarse, consumirse y conservarse por períodos prolongados, lo óptimo es secar el material, hasta obtener un 10% de humedad (Martínez, 2000).

2.1.8. Procesos de almacenamiento

En la producción artesanal suelen almacenarse las plantas deshidratadas, en la misma estancia de secado o en una habitación contigua que esté en penumbra fresca

y seca. En la producción industrial se dispone de naves más o menos acondicionadas, limpias, frescas y ventiladas. Lo ideal sería que la temperatura ambiente no fuese superior a 24° C y la humedad del aire oscila alrededor del 45% (Muñoz, 2002).

Las plantas pierden principios activos por degradación durante el almacenamiento. Aunque el período recomendado para almacenar las hojas y las sumidades floridas es de 12 a 18 meses y para las cortezas y raíces de 12 a 36 meses.

El material puede ser guardado en sacos de fique o en fardos prensados. El uso de sacos de plástico debe evitarse porque no permiten una ventilación apropiada. Los sacos deben etiquetarse y debe constar en la etiqueta el nombre científico de la planta y la parte usada, la fecha de ingreso, el nombre del proveedor, el origen y la aprobación dada por el control de calidad (Sharapin, 2001).

El almacenamiento es un factor primordial para mantener la calidad del fármaco, los almacenes se construyen preferiblemente de material incombustible como: acero, ladrillos, entre otros. Deben ser ventilados, con temperatura y humedad controladas (Miranda, 2001).

2.1.9. Empaque de plantas aromáticas medicinales

Las hojas secas y molidas deben colocarse de preferencia en recipientes secos (fundas plásticas, en cajas o sacos), el material de empaque debe guardarse en lugares limpios y secos, libre de plagas y de animales domésticos. El material de empaque reutilizable debe estar limpio y debe secarse antes de su uso (Sharapin, 2001).

El envasado de la planta seca entera o molida: normalmente se envasa en sacos de arpillera, de malla fina o de lona, pero si la planta es muy higroscópica se introduce en envases de plástico, hojalata y de cartón plastificado o encerado. Se buscará la máxima protección y mínimo volumen, actualmente los envases normalmente

empleados son de plástico, aluminio o vidrio. Todo material para envase de especias, deben cumplir estos tres requisitos:

1. Máxima impermeabilidad posible a gases, luz y vapor de agua.
2. Ser resistente frente a las posibles acciones de las especias molidas, que podrían poner en libertad algún componente del material de envase.
3. No formar combinación con ningún componente del producto.

Un material deja de ser apropiado para envase si entre él y su contenido se establece acciones recíprocas, por eso se usa el aluminio, ya que lo protege de la luz, pero por su elevado costo es limitante. En los últimos años los plásticos han conseguido desplazar a otros materiales clásicos de envasado. Las plantas que fijan fácilmente olores, deben embalarse en cajas de metal, para las otras se utiliza sacos o cajas con etiqueta visible (Muñoz, 2002).

2.1.10. Elaboración de tisanas aromáticas

Para su elaboración se requiere papel filtro, este debe ser termo sellable, además de hilo que será de color blanco y en lo posible sin nudos, se dispondrá de etiquetas, y empaques o cajitas adecuadas para cada tamaño.

2.1.11. Almacenamiento

El almacenamiento del material debe hacerse en lugares limpios, frescos, sombreados y bien ventilados, por aire seco, preservándolas de la luz solar y del polvo, y separadas de otras plantas con las que puede intercambiarse olores.

Las plantas aromáticas enteras, no molidas, en contacto directo con el aire, pierden poco a poco su aceite etéreo. Al molerlas, sus componentes volátiles quedan en libertad, pues desciende su intensidad de fijación a los espacios intercelulares, donde normalmente se encuentran; esta volatilización, o cesión al medio ambiente, de ciertos componentes, es más acusada cuando la temperatura es más alta.

III. Materiales y métodos

3.1. Ubicación del lugar de Investigación.

3.1.1. Ubicación política

La presente investigación se realizó en la comuna Tsáchila Chiguilpe ubicada en el kilómetro 7 de la vía Santo Domingo – Quevedo, más 3 kilómetros margen izquierdo. El estudio agroindustrial se realizó en las instalaciones de la Universidad de las FF.AA. ESPE, Santo Domingo de los Tsáchilas, Carrera de Ingeniería Agropecuaria Santo Domingo.

La investigación consta de dos fases una de laboratorio y otra de procesamiento agroindustrial cuyo producto final son las tisanas de pin'ku (*Piper carpunya* Ruíz & Pav.).

3.1.2. Ubicación Geográfica

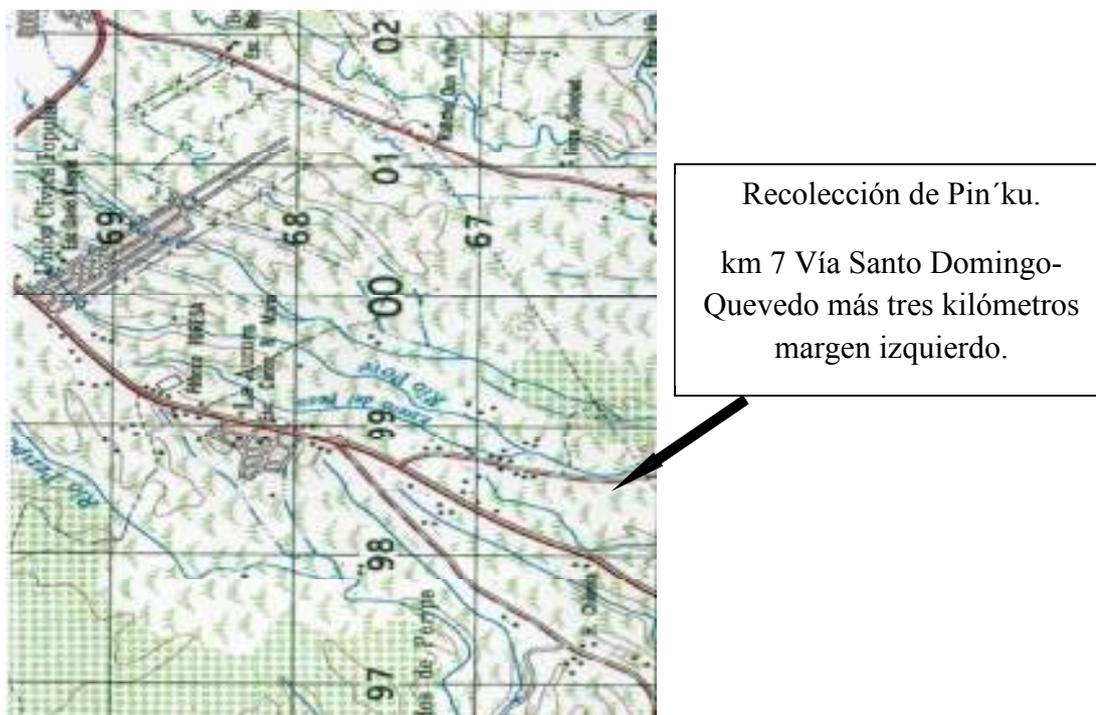


Figura 2. Carta topográfica zona de Santo Domingo de los Tsáchilas – Quevedo.
Instituto Geográfico Militar.

3.1.3. Ubicación Ecológica

Zona de vida:	Bosque húmedo tropical (bh-T)
Altitud:	270 m.s.n.m.
Coordenadas UTM:	Norte: 0698450
Este:	9965550
Temperatura:	24,6°C
Precipitación:	3135 mm/año.
Humedad relativa:	85%
Heliofania:	680 h luz/año
Suelos:	Franco limo arcillosos (FoLoAc)
Vegetación:	Predominantemente bosque secundario, especies forestales, cultivos anuales.
Fuente:	Cañadas Luis (1978-1983), zonas de vida de Holdridge.

3.2. Métodos.

3.2.1. Diseño experimental.

Los parámetros en estudio están constituidos por: Solución desinfectante (a1=cloro; a2=Kilol), forma de deshidratación (b1= aire caliente; b2= estufa) y temperatura de deshidratación (c1=40° C, c2= 45° C y c3= 50° C).

El tipo de diseño experimental empleado para este estudio es un modelo de Parcela Subdividida, conducido en un Diseño Completamente al Azar (DCA). Donde se realizaron tres repeticiones de los 12 tratamientos, producto de la combinación del tipo de desinfectante, forma de deshidratación y temperatura de deshidratación.

En el cuadro 1 se puede observar los tratamientos con las diferentes combinaciones.

Cuadro 1. Tratamientos con las diferentes combinaciones y repeticiones.

Tratamientos	Factor A	Factor B	Factor C
1	a1	b1	c1
2	a1	b1	c2
3	a1	b1	c3
4	a2	b1	c1
5	a2	b1	c2
6	a2	b1	c3
7	a1	b2	c1
8	a1	b2	c2
9	a1	b2	c3
10	a2	b2	c1
11	a2	b2	c2
12	a2	b2	c3

A: Tipo de desinfectante.

B: Forma de deshidratación.

C: Temperatura de deshidratación.

Cuadro 2. Sorteó de los tratamientos en la evaluación de parámetros para el proceso de deshidratación de pin'ku (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*)

		Cl(a1)		Orgánico (a2)	
R I	estufa (b2)	aire caliente (b1)		aire caliente (b1)	estufa (b2)
	c2	c1		c1	c3
	c1	c3		c3	c2
	c3	c2		c2	c1

		Cl(a1)		Orgánico (a2)	
R II	estufa (b2)	aire caliente (b1)		aire caliente (b1)	estufa (b2)
	c2	c3		c1	c2
	c3	c1		c3	c1
	c1	c2		c2	c3

		Cl(a1)		Orgánico (a2)	
R III	estufa (b2)	aire caliente (b1)		aire caliente (b1)	estufa (b2)
	c1	c3		c2	c3
	c2	c2		c3	c1
	c3	c1		c1	c2

3.2.2. Esquema de análisis de varianza

Cuadro 3. ADEVA

Fuente de variación	Grados de libertad	
Total	35	(T-1)
PG	1	(PG-1)
Error(a)	2	(PG-1)(Rep-1)
PP	1	(PP-1)
PG*PP	1	(PG-1) (PP-1)
Error (b)	4	PG(PP-1) (Rep-1)
SP	2	(SP-1)
PG*SP	2	(PG-1) (SP-1)
PP*SP	2	(PP-1) (SP-1)
PG*PP*SP	2	(PG-1) (PP-1) (SP-1)
Error(c)	18	Diferencia

Se aplicó la prueba de Duncan al 5% para las variables que presentaron significancia.

3.3. Materiales y Equipos de laboratorio

Para este estudio se emplearon los siguientes equipos y materiales: Una estufa que permitió deshidratar a las muestras, un secador de bandejas de aire caliente, un termómetro con el cual se controló la temperatura, una balanza analítica que permitió pesar las hojas de Pin'ku, una selladora de sólidos para elaborar y sellar las funditas de tisana de Pin'ku, una cámara fotográfica que permitió registrar las evidencias del trabajo de investigación, gavetas plásticas para el transporte del producto, tijeras de podar para la cosecha, guantes, fundas de papel, mandil, mascarilla, libreta de campo, cajas, papel filtro, recipientes plásticos, cernideras y demás menaje utilizado en laboratorio .

3.4. Fase de Prospección

Se viajó a la comunidad de Tsáchila Chiguilpe donde se tuvo contacto con los directivos de la comuna, se realizaron charlas para verificar los conocimientos ancestrales de los principales dirigentes y shamanes de la comunidad, en esta prospección se analizó el estudio de varias plantas medicinales utilizadas por los

nativos Tsáchilas, y se determinó que el Pin'ku (*Piper carpunya Ruíz & Pav.*) es una planta considerada de importancia social y medicinal para los comuneros, (Agustín Calazacón en *com pers.*, 2013) manifiesta que el Pin'ku lo utilizan para curar cólicos estomacales, dolencias dentales, hinchazón de estómago y otras enfermedades descritas. En base a estas consideraciones se planteó que el estudio etnobotánico y sus propiedades se realice en *Piper carpunya Ruíz & Pav.*



Figura 3. Prospección de Pin'ku (*Piper carpunya Ruíz & Pav.*), en la comunidad.

3.5. Fase de Recolección

Se realizó en la comuna Chiguilpe, en el kilómetro 7 de la vía Santo Domingo – Quevedo, más 3 kilómetros margen izquierdo, en la comunidad Tsáchila Chiguilpe, las hojas colectadas se colocaron en fundas plásticas perforadas, con dimensiones de 20 cm de ancho por 30 cm de largo, de medio kilogramo de capacidad.

3.6. Fase de Identificación o Autenticación Botánica

Se tomó una muestra representativa de Pin'ku, en la que deben aparecer las hojas completas, tallo, flor y si es posible fruto, se procedió a realizar el proceso de herborizado, posteriormente la muestra fué enviada al laboratorio de botánica de la Escuela Politécnica del Chimborazo ESPOCH, donde fue identificada en el herbario de la ESPOCH. Ver ANEXO 1.

3.7. Fase de Procesamiento

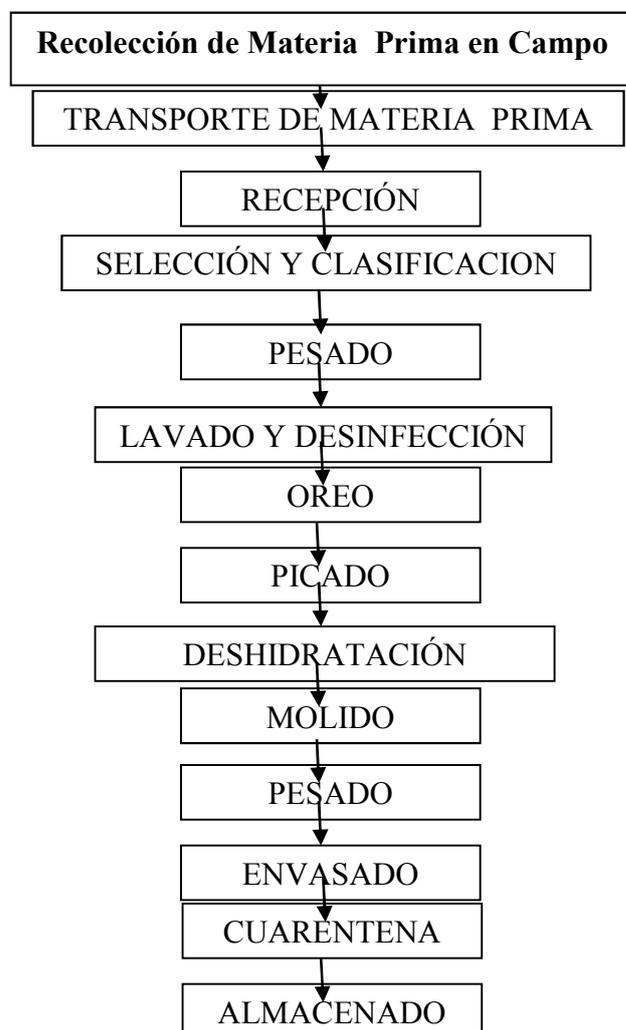


Figura 4. Flujograma del proceso de deshidratación a partir de (*Piper carpunya* Ruíz & Pav.)

3.7.1. Recolección.- Se realizó en la comuna Chiguilpe, con la ayuda de los comuneros, se recolectaron hojas ni muy jóvenes ni muy maduras, las hojas recolectadas se colocaron en fundas plásticas perforadas, con dimensiones de 20 cm de ancho por 30 cm de largo, de medio kilogramo de capacidad, luego en gavetas de plástico para su transporte.

3.7.2. Transporte.- Se transportaron las hojas recolectadas en gavetas plásticas, este material se llevó hasta el lugar de recepción ubicado en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE, Carrera de

Ingeniería Agropecuaria, ubicada en el kilómetro 24 de la vía Santo Domingo – Quevedo.

3.7.3. Recepción.- En este lugar se procedió a receptor la materia prima, se pesó, eliminando los materiales extraños e impurezas que afecten la calidad del producto fresco.

3.7.4. Selección y clasificación.- Se seleccionó las hojas enteras de buena calidad, homogéneas y en lo posible del mismo estado fenológico, tomando en cuenta que no presenten defectos físicos como: daños causados por insectos y animales, pudrición, ataque de hongos, entre otros, que afecten el producto final.

3.7.5. Pesado.- Luego de la selección, se procedió a registrar su peso, utilizando una balanza analítica, además se registraron otros, al ingreso del material, luego del proceso de secado para su posterior análisis en el laboratorio.

3.7.6. Lavado y Desinfección.- A las hojas de Pin'ku se las llevó a un recipiente y gavetas para el respectivo lavado con agua corriente en varios enjuagues, hasta que las mismas queden sin tierra adherida, polvo, restos de insectos y otras impurezas que suelen afectar a la muestra; además se le sometió a lavado mediante la inmersión de éste material en una solución de agua clorada (15 ppm), y solución de desinfectante orgánico (Kilol a base de jugo de toronja) con el fin de eliminar residuos de tierra y microorganismos.

3.7.7. Oreo.- La materia prima lavada y limpia se colocó en cernideras por un lapso de 45 minutos, con el fin de eliminar el agua de la operación, este proceso se lo realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad.

3.7.8. Picado.- La materia prima fue fraccionada en trozos de 5 cm de largo aproximadamente, con la ayuda de cuchillas, con el fin de homogenizar el material.

3.7.9. Deshidratado.- El material se pesó en cantidades de 500 gramos por bandeja, para ser deshidratado con la ayuda de un secador, para posteriormente ser pesado.

3.7.10. Molido.- El material deshidratado se trituró en un molino de martillos, previamente limpiado y desinfectado, hasta llevarlo a partículas minúsculas tipo aserrín, los que se utilizaron para el posterior envasado.

3.7.11. Envasado.- El producto molido se colocó en bandejas para posteriormente empacarlas en fundas elaboradas con papel filtro plegable (bolsitas de tisana), luego se las depositó en cajitas de cartón con capacidad para 20 unidades de 2,36 g cada una.

3.7.12. Almacenado.- El producto empacado en estas cajitas se almacenó en un ambiente fresco y seco para conservar su calidad. Se medirá la vida útil de un año de envasado, luego el producto permanecerá en cuarentena hasta realizar las pruebas de calidad, para su posterior comercialización. Este parámetro deberá ser medido y evaluado en el futuro, luego de realizar este estudio de deshidratación.

3.8. Fase de Extracción

3.8.1. Obtención del Macerado de Pin`ku (*Piper carpunya*)

Para este proceso se empleó cuatro tipos de solventes orgánicos químicamente puros: Hexano (Hex), metanol (MeOH), etanol (EtOH) y agua destilada (H₂O_d). Después de haber molido las muestras de Pin`ku se pesó 10 g y se colocó en un frasco de color ámbar de 300 ml, para evitar incidencia de la luz, añadiendo a esta muestra 120 ml del solvente orgánico, haciendo cada repetición para cada uno de los solventes, luego los frascos se colocaron en el agitador orbital por el tiempo de una hora a 180 rpm, y se procedió a dejarlos en refrigeración por 8 días a 4 °C.



Figura 5. Proceso de obtención del macerado de Pin`ku (*Piper carpunya*).

3.8.2. Obtención de los hidrodestilados de Pin`ku.

Para éste proceso se armó el aparato de destilación por arrastre de vapor, utilizando un tanque de 12 L de capacidad, al cual se le añadieron 2000 ml de agua corriente, se montó el equipo, se ajustaron los acoples, se insertó la rejilla, se añadió los 100 g de las hojas troceadas de pin`ku, se ajustaron las tapas herméticas y demás ensambles dirigidos al refrigerante vertical, enseguida de ello se procedió a encender la fuente de calor y se inició el proceso.

El agua al hervir se evapora y éste vapor atraviesa la rejilla donde se encuentran depositadas las hojas de pin`ku, se inspeccionó el agua fría del refrigerante y al cabo de 30 min se registraron las primeras gotas del hidrodestilado. El vapor emitido permite arrastrar los metabolitos secundarios contenidos en los 100 g de *P. carpunya*, éste vapor arrastrado se condensa por enfriamiento en el refrigerante, llevando consigo el hidrodestilado que es depositado en un Erlenmeyer. El proceso dura cerca de 55 min y el producto obtenido fue de aproximadamente 250 ml de hidrodestilado. Durante el tiempo transcurrido el hidrodestilado mostró las características descritas en el cuadro 1, éste fue trasvasado a una botella color ámbar y se lo almacenó a 4 °C en la parte baja del refrigerador, hasta sus posteriores pruebas de tamizaje fitoquímico preliminares.

Cuadro 4. Estimación visual y organoléptica del hidrodestilado de pin`ku.

Hidrodestilado	Tiempo transcurrido	Color	Olor	Sabor
Pin`ku	30 min	Líquido verde claro	Penetrante adormecedor +++	Suigéneris a condimento +++
Pin`ku	60 min	Líquido límpido	Penetrante ligeramente adormecedor ++	A condimento +

El hidrodestilado colectado con las características descritas fue recogido en botellas de cristal con capacidad para 250 ml, previamente autoclavadas; se

etiquetaron y almacenaron en refrigeración a 4° C, hasta llevar a efecto las pruebas fitoquímicas.



Figura 6. Proceso de obtención del hidrodestilado de Pin'ku (*Piper carpunya*).

3.9. Análisis fitoquímico de pin'ku (*Piper carpunya*)

3.9.1. Preparación y ejecución de las muestras maceradas de pin'ku

Al extracto macerado de pin'ku, se le realizó los siguientes protocolos de identificación. Primeramente se procedió con las muestras inmersas en hexano, luego con las muestras maceradas en MeOH, EtOH y H₂O.

A la muestra de pin'ku se la filtró por dos capas de algodón a presión reducida y por papel filtro #45. Se recuperó 100 ml de cada extracto y enseguida se los rota evaporó entre 40° C a 45° C, a una rotación de 45 ppm. Se recuperó el solvente orgánico y se obtuvo la tintura de los extractos madre; terminado el proceso, estos estuvieron listos para las respectivas diluciones y su tamizaje fitoquímico.



Figura 7. Filtrado y rota evaporado de pin'ku (*Piper carpunya*).

Diluciones realizadas para el extracto de pin'ku, en cuatro solventes orgánicos.
Cuadro 5.

Cuadro 5. Diluciones preparadas del extracto de pin'ku, previo al tamizaje fitoquímico.

Extracto	Dilución
Pin'ku en hexano	1:100
Pin'ku en metanol	1:100
Pin'ku en etanol	1:10
Pin'ku en agua	1:10

3.9.2. Reporte de resultados del tamizaje fitoquímico preliminar

Para reportar los resultados analizados en pin'ku, mediante pruebas del tamizaje fitoquímico, se consideró las siguientes especificaciones como se indica en el cuadro 2.

Cuadro 6. Significación considerada para reportar los resultados de las pruebas del tamizaje fitoquímico.

Significación	Especificación	Comentario
(-)	No registrado	No hay cambio de coloración de la alícuota
(+/-)	Escasa presencia	Escaso cambio de coloración de la alícuota
(+)	Ligera presencia	Ligero cambio de coloración de la alícuota
(++)	Presencia moderada	Notable cambio de coloración de la alícuota
(+++)	Presencia estable	Prolongado cambio de coloración de la alícuota
(++++)	Presencia abundante	Pronunciado y eminente cambio de coloración de la alícuota

3.9.3. Protocolo para reconocimiento de alcaloides

De las muestras maceradas e hidrodestiladas de pin'ku, se tomó una alícuota de 1 ml por cada tubo de ensayo y se disolvió en 2 ml de ácido clorhídrico al 10%. Se agitó vigorosamente por 5 min hasta obtener una cierta transparencia del extracto. Se

recuperó 1 ml y se procedió a ensayar el reactivo de Mayer, Dragendorff y Wagner.

Mediante reactivo de Mayer: al 1 ml recuperado del extracto macerado e hidrodestilado de pin'ku se adicionó 5 gotas del reactivo. Éste formó un precipitado de color crema, lo cual indicó la presencia de alcaloides.

Mediante reactivo de Dragendorff: al 1 ml recuperado del extracto macerado e hidrodestilado de pin'ku se adicionó tres gotas del reactivo. Éste formó un precipitado de color anaranjado, lo cual indicó la presencia de alcaloides.

Mediante el reactivo de Wagner: al 1 ml recuperado del extracto macerado e hidrodestilado de pin'ku se adicionó tres gotas del reactivo. Éste formó un precipitado de color que va del amarillo al anaranjado, lo cual indicó una prueba positiva.

3.9.4. Protocolo para reconocimiento de taninos y fenoles (Ensayo con cloruro férrico)

Mediante éste procedimiento se permitió reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en las muestras maceradas e hidrodestiladas de *P. carpunya*, descrito en el siguiente proceso: se tomó una alícuota de 1 ml por cada tubo de ensayo, se añadió tres gotas de acetato de sodio para neutralizar las muestras y 0,5 ml de una solución de Cloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica.

El ensayo dio negativo para las alícuotas de los macerados e hidrodestilado de Pin'ku, dando negativo al no registrarse reacción colorimétrica esperada para este tipo de compuesto activo.

3.9.5. Protocolo para reconocimiento de saponinas (Ensayo de espuma)

Con éste procedimiento se reconoció la presencia de saponinas, en las muestras maceradas e hidrodestiladas de pin'ku, que se describe a continuación: se tomó una

alícuota de 1 ml por cada tubo de ensayo y se las diluyó con cinco veces su volumen en agua. Se agitó la mezcla fuertemente de manera manual y vertical entre cinco a diez minutos.

El ensayo dio positivo al aparecer espuma con burbujas de forma hexagonal en la superficie del fitofluido, con alturas entre 4 mm hasta 20 mm, por más de dos minutos, lo cual se considera prueba viable. Lo contrario ocurrió cuando en los ensayos, la presencia de espuma después de la agitación no permanecía en los rangos para considerarse una prueba positiva.

3.9.6. Protocolo para reconocimiento de cumarinas

De las muestra macerada e hidrodestilada de pin'ku, se tomó una alícuota de 1 ml por cada tubo de ensayo, y se les añadió tres gotas de una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10%, dando una coloración amarillenta. Luego se adicionó 0.5 ml de HCl 1N.

El ensayo dio positivo en la prueba de coloración, cuando se desvaneció el color amarillento de las muestra maceradas e hidrodestiladas de pin'ku, al acidularlos con el HCl 1N. El ensayo dio negativo al no registrarse la reacción colorimétrica esperada para este tipo de compuestos activos.

3.9.7. Protocolo para reconocimiento de flavonoides (Ensayo de shinoda)

De las muestras maceradas e hidrodestiladas de pin'ku, se tomó una alícuota de 1 ml para cada tubo de ensayo, y se las diluyó con 1 ml de HCl concentrado, enseguida se añadió un segmento de aproximadamente 0,5 cm de cinta de magnesio metálico como indicador. En éste procedimiento se produjo una reacción exotérmica con efectos efervescentes y ascendentes registrados en el tubo de ensayo, para lo cual se esperó 5 minutos para que se establezca la reacción y enseguida se añadió 1 ml de alcohol amílico, se mezclaron las fases y se dejó reposar hasta que éstas vuelvan a separarse.

El ensayo dio positivo de acuerdo al protocolo establecido, cuando el alcohol amílico agregado se coloreó con gamas que fueron del amarillo al naranja, carmelita o rojo intenso, para varias pruebas realizadas. El ensayo dio negativo, cuando el alcohol amílico no reaccionó dando las colorimetrías esperadas.

3.9.8. Ensayo de antocianinas

Este protocolo permitió conocer antocianinas generales en los extractos vegetales macerados e hidrodestilados de pin'ku, la presencia se determinó, cuando a 1 ml de la muestra se calentó por dos minutos, luego se añadió 1 ml de HCl concentrado y se siguió calentando hasta aproximadamente 10 minutos, se dejó enfriar y luego se añadió 1 ml de agua y 2 ml de alcohol amílico. Por último se agitó el tubo de ensayo y se dejó separar las dos fases.

El ensayo dio positivo, cuando el alcohol amílico agregado a las muestras maceradas e hidrodestiladas en diferentes tubos de ensayo, se coloreó de rojo a marrón en varios de ellos. El ensayo dio negativo, cuando el alcohol amílico agregado, no registró la reacción colorimétrica esperada para este tipo de compuestos activos.

3.9.9. Protocolo para reconocimiento de quinonas (Ensayo de börntrager)

De las muestras maceradas en Hex, MeOH y EtOH de pin'ku, se tomó como alícuota 1 ml para cada tubo de ensayo y se sometieron a baño maría para acelerar su evaporación. Luego el residuo se redisolvió en 1 ml de cloroformo. Posteriormente se adicionó 1 ml de hidróxido de potasio al 10 %, se agitó el tubo de ensayo mezclando las fases y se lo dejó en reposo hasta su separación. Para las muestras maceradas en agua y para los hidrodestilados de pin'ku, se añadió directamente el cloroformo y se siguió con el mismo procedimiento.

El ensayo dio positivo cuando al agregar el cloroformo a cada tubo de ensayo, las fases se separaron y aquella que migró a la superficie, se coloreó de rosado a rojo. El ensayo se consideró negativo, cuando la fase superior formada no registró la reacción colorimétrica esperada para este tipo de compuestos activos.

3.10. Variables a Ser Evaluadas

3.10.1. Variables paramétricas

Contenido y volatilidad de terpenos: Se procedió a recolectar una muestra de 50 g utilizando una balanza analítica luego del proceso final de deshidratación realizado en el laboratorio, esta muestra se analizó en el laboratorio de Bioquímica y toxicología de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria, de la Universidad de las Fuerzas Armadas IASA I, para determinar en nivel de volatilidad de los terpenos presentes después de la deshidratación.

Método de desinfección: Se procedió a evaluar los dos tipos de desinfección, la una realizada con un componente químico que es cloro al 10% y el otro un componente orgánico que es Kilol a la dosis comercial recomendada, este proceso se realizó en el laboratorio de Bioquímica y toxicología de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria, de la Universidad de las Fuerzas Armadas IASA I, para determinar coliformes fecales, coliformes totales y e. coli, presentes en dos muestras escogidas al azar.

Rendimiento de producto deshidratado: Para este parámetro se procedió a realizar un pesado final con la ayuda de una balanza analítica a cada muestra que ingreso al tratamiento de secado, obteniendo valores por diferencia de pesos.

Contenido de minerales: Se procedió a recolectar una muestra de 20 g utilizando una balanza analítica luego del proceso final de deshidratación realizado en el laboratorio, muestra que fue enviada al laboratorio de Agrolab de Santo Domingo (Calle Río Chambira N.- 602 y Zamora), para determinar contenidos de minerales (análisis cualitativo) obtenidos al final del proceso

3.10.2. Variables no paramétricas

Calidad organoléptica: Se realizó una encuesta para saber el grado de aceptabilidad de la tisana de pin'ku, luego de preparar una infusión aromática con

funditas de tisanas de pin'ku, en el que los encuestados evaluaron el sabor, color, olor y el grado de aceptabilidad. El universo encuestado fue de 36 personas entre las edades de 12 a 55 años.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Contenido y volatilidad de terpenos

4.1.1. Tamizaje fitoquímico del extracto de Pin'ku en Hex

Al ser esta planta en estudio autóctona de la comuna Tsáchila no se a podido encontrar estudios relacionados que ayuden a identificar algún protocolo de extracción por lo tanto este estudio es inédito, en esta investigación se creó los protocolos para la obtención de metabolitos secundarios para *Piper carpunya Ruiz & Pav*, se utilizó solventes como: Hex, MeOH, EtOH y H₂O_d, a 8° C, por 7 días, protegidos de la luz y en agitación constante para mejorar el registro de obtención de los metabolitos secundarios, siendo el extracto de pin'ku extraído con Hex, el que presento mejor obtención. En el hidrodestilado de pin'ku (ver Cuadro 4) se observó notablemente la obtención de estos metabolitos previo al tamizaje fitoquímico, extraído mediante destilación por arrastre de vapor. Se utilizó distintas pruebas para determinar alcaloides, taninos, fenoles, cumarinas, flavonoides, saponinas, existiendo la presencia de estos en los macerados practicados.

Buitrón (1999), en el Ecuador no se conoce mucho sobre la industrialización de plantas medicinales o producción de fitofármacos. En realidad pocas plantas han entrado en un proceso de revalidación y han sido sometidas a investigaciones fitoquímicas para determinar si tienen aceites esenciales, alcaloides u otros compuestos. Muchas plantas son llamadas “medicinales” cuando no se conocen en realidad si tienen o no principios activos.

El cuadro 7 muestra la apreciación cualitativa de los metabolitos en el extracto de pin'ku utilizando como solvente Hex. Las pruebas de *Mayer*, *Dragendorff* y *Wagner* evidenciaron la presencia de alcaloides, también se registró una leve presencia de cumarinas, el ensayo de *Borntrager* indico escasa presencia de quinonas.

Cuadro 7. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto de pin'ku en Hex.

Prueba	Color	Presencia	Característica de la prueba
Alcaloides			
<i>Mayer</i>	Crema	+++	Presencia estable
<i>Dragendorff</i>	Crema	+++	Presencia estable
<i>Wagner</i>	Anaranjado-amarillento	+++	Presencia estable
Taninos y fenoles	Amarillo	-	No registrado
Saponinas	Incoloro	-	No registrado
Cumarinas	Amarillo	+	Ligera presencia
Flavonoides	Verde	-	No registrado
Antocianinas	-	-	No se realizó la prueba por la no presencia de flavonoides
Quinonas	Carmelita	+/-	Escasa presencia

4.1.2. Tamizaje fitoquímico del extracto de Pin'ku en MeOH

El cuadro 8 muestra la apreciación cualitativa de los metabolitos en el extracto de pin'ku utilizando como solvente MeOH. Las pruebas de *Mayer*, *Dragendorff* y *Wagner* evidenciaron la presencia de alcaloides, la prueba de la espuma indico la presencia estable de saponinas, también se registró una leve presencia de cumarinas, las pruebas para reconocimiento de flavonoides y antocianinas fueron positivas indicando una presencia escasa, al igual que el ensayo de *Borntrager* en el reconocimiento de quinonas.

Cuadro 8. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto de pin'ku en MeOH.

Prueba	Color	Presencia	Característica de la prueba
Alcaloides			
<i>Mayer</i>	Crema	+++	Presencia estable
<i>Dragendorff</i>	Crema	+++	Presencia estable
<i>Wagner</i>	Anaranjado-amarillento	+++	Presencia estable
Taninos y fenoles	Anaranjado-amarillento	-	No registrado
Saponinas	Incoloro	++	Presencia moderada
Cumarinas	Amarillo	+	Ligera presencia
Flavonoides	Verde amarillento	+/-	Escasa presencia
Antocianinas	Verde amarillento	+/-	Escasa presencia
Quinonas	Carmelita	+/-	Escasa presencia

4.1.3. Tamizaje fitoquímico del extracto de Pin'ku en EtOH

El cuadro 9 muestra la apreciación cualitativa de los metabolitos en el extracto de pin'ku utilizando como solvente EtOH. Las pruebas de *Dragendorff* y *Wagner* evidenciaron la presencia de alcaloides, la prueba de la espuma indico la presencia escasa de saponinas, también se registró una presencia estable de cumarinas, las pruebas para reconocimiento de flavonoides y antocianinas fueron positivas, moderada para flavonoides y escasa para antocianinas.

Cuadro 9. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto de pin'ku en EtOH.

Prueba	Color	Presencia	Característica de la prueba
Alcaloides			
<i>Mayer</i>	Incoloro	-	No registrado
<i>Dragendorff</i>	Crema	+++	Presencia estable
<i>Wagner</i>	Anaranjado- amarillento	+++	Presencia estable
Taninos y fenoles	Anaranjado- amarillento	-	No registrado
Saponinas	Incoloro	+/-	Escasa presencia
Cumarinas	Crema	+++	Presencia estable
Flavonoides	Amarillo pálido	++	Presencia moderada
Antocianinas	Amarillo pálido	+/-	Escasa presencia
Quinonas	Verde	-	No registrado

4.1.4. Tamizaje fitoquímico del extracto de Pin'ku en H2O_d

El cuadro 10 muestra la apreciación cualitativa de los metabolitos en el extracto de pin'ku utilizando como solvente H₂O_d. Las pruebas de *Mayer* y *Wagner* evidenciaron la presencia de alcaloides, la prueba de la espuma indicó ligera presencia de saponinas, también se registró una presencia abundante de cumarinas, las pruebas para reconocimiento de flavonoides y antocianinas fueron positivas, moderada para flavonoides y escasa para antocianinas.

Cuadro 10. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto de pin'ku en H₂O_d.

Prueba	Color	Presencia	Característica de la prueba
Alcaloides			
<i>Mayer</i>	Crema	+/-	Escasa presencia
<i>Dragendorff</i>	Incoloro	-	No registrado
<i>Wagner</i>	Anaranjado-amarillento	+++	Presencia estable
Taninos y fenoles	Amarillo verdoso	-	No registrado
Saponinas	Incoloro	+	Ligera presencia
Cumarinas	Anaranjado	++++	Presencia abundante
Flavonoides	Amarillo pálido	++	Presencia moderada
Antocianinas	Amarillo pálido	+/-	Escasa presencia
Quinonas	Blanquecino	-	No registrado

4.1.5. Tamizaje fitoquímico en el hidrodestilado de Pin'ku

El cuadro 11 muestra la apreciación cualitativa de los metabolitos en el hidrodestilado de pin'ku. La prueba de *Wagner* evidencio la presencia de alcaloides, mientras que la prueba de la espuma indico ligera presencia de saponinas.

Cuadro 11. Resultados del tamizaje Fito químico del hidrodestilado de pin'ku.

Prueba	Color	Presencia	Característica de la prueba
Alcaloides			
<i>Mayer</i>	Incoloro	-	No registrado
<i>Dragendorff</i>	Incoloro	-	No registrado
<i>Wagner</i>	Anaranjado-amarillento	+++	Presencia estable
Taninos y fenoles	Anaranjado	++++	Presencia abundante
Saponinas	Incoloro	+	Ligera presencia
Cumarinas	Incoloro	+	Ligera presencia
Flavonoides	Incoloro	+	Ligera presencia
Antocianinas	-	-	No se realizó la prueba por la no presencia de flavonoides
Quinonas	Blanquecino	-	No registrado

4.1.6. Resultados de identificación de metabolitos secundarios en Pin'ku.

Se registraron mayor cantidad de metabolitos secundarios en el extracto de Pin'ku. Macerado en MeOH. Los metabolitos secundarios identificados en la

muestra de Pin'ku registrados en el cuadro 12, que refleja el tamizaje fitoquímico efectuado. Estos datos no cumplieron con el supuesto de normalidad, por lo tanto se realizó la prueba de Kruskal-Wallis como alternativa no paramétrica del método ANOVA, esta se aplicó a la presencia o ausencia de metabolitos secundarios mayoritarios evaluados cualitativamente.

Cuadro 12. Método de extracción, desviación estándar y medianas correspondientes al análisis de metabolitos secundarios en el extracto de Pin'ku.

Método de extracción	d.e.	Medianas
EtOH	1,83	1,00
H2Od	1,86	1,00
Hidrodestilado	1,76	0,00
Hex	1,87	1,00
MtOH	1,56	2,00

El extracto de Pin'ku macerado en MtOH, presenta mayor cantidad de metabolitos secundarios (medianas=2,00), mientras que las muestras maceradas en EtOh, H2Od, Hex demuestran una presencia moderada de metabolitos secundarios (medianas=1,00), por otro lado no se registró metabolitos secundarios en el hidrodestilado (medianas=0,00).

4.2. Método de desinfección

4.2.1. Desinfección con cloro (Cl)

En el cuadro 13 se observa la presencia de organismos como coliformes fecales, coliformes totales y E.coli, vistas en uno de los tratamientos de desinfección a base de cloro al 10%, este tratamiento se lo escogió al azar.

Cuadro 13. Resultados del tratamiento desinfectado con cloro.

Determinación	Valor normal	Unidad	Resultado
Coliformes fecales	<3	UFC/100 ml	<3
Coliformes totales	93	UFC/100 ml	25
E. coli		UFC/100 ml	0

4.2.2. Desinfección con Kilol

En el cuadro 14 se observa la presencia de organismos como coliformes fecales, coliformes totales y E.coli, vistas en uno de los tratamientos de desinfección a base de Kilol, este tratamiento se lo escogió al azar.

Cuadro 14. Resultados del tratamiento desinfectado con Kilol.

Determinación	Valor	unidad	resultado
	normal		
Coliformes fecales	<3	UFC/100 ml	<3
Coliformes totales	93	UFC/100 ml	35
E. coli		UFC/100 ml	0

En lo referente al tipo de desinfección Miranda (2001), una vez recolectada la materia prima, deben ser sometidas a un proceso de lavado y selección para eliminar los materiales extraños que puedan estar presentes en la recolección, además de Martínez (2000), que indica que una vez realizada la cosecha se hace una selección cuidadosa de las plantas, desechando las partes decoloradas, manchadas, enfermas o deterioradas por insectos, parásitos o microbios. El lavado se hace con agua potable sobre una superficie colada de modo que el agua penetre, lave y escurra para eliminar el exceso. Esta práctica debe hacerse por lo menos una vez y una desinfección con 10 ppm de hipoclorito de calcio o sodio, que son fácilmente degradables, en esta investigación se realizó la recolección y selección in situ junto a la comunidad Tsáchila, realizando la limpieza y desinfección en el laboratorio de la facultad, utilizando dos tipos de desinfectantes, utilizamos cloro al 10% de concentración y un desinfectante orgánico a base de jugo de toronja (Kilol), estos dos tipos de desinfección se pudo determinar que para la presencia de coliformes fecales y E. coli no presenta significancia, para nuestra investigación se encuentran por debajo de los niveles permisibles. (ver Cuadro 13 y Cuadro 14).

4.3. Rendimiento de producto deshidratado

En el cuadro 15 se observa el análisis de varianza para la variable Rendimiento porcentual del producto deshidratado, se desprende que no existen diferencias estadísticas para todas las fuentes de variación. EL CV de 3,13% es bueno.

Cuadro 15. Análisis de Varianza para Rendimiento porcentual del producto deshidratado.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
A	16,67	1	16,67	0,61	0,5176	Ns
Error (a)	54,98	2	27,49			
B	52,37	1	52,37	2,08	0,2229	Ns
A*B	0,18	1	0,18	0,01	0,9369	Ns
Error (b)	100,83	4	25,21			
C	11,96	2	5,98	0,69	0,5141	Ns
A*C	27,4	2	13,7	1,58	0,2329	Ns
B*C	5,55	2	2,77	0,32	0,7300	Ns
A*B*C	37,92	2	18,96	2,19	0,1410	Ns
Error (c)	155,91	18	8,66			
Total	463,77	35				
CV	3,13%					

De acuerdo a Sharapin (2001), el secado interrumpe los procesos de degradación causados por enzimas o fermentos, impide el desarrollo de microorganismos y las reacciones de oxidación y de hidrólisis. Sin embargo, como este proceso involucra calor, pueden presentarse pérdida de aceites esenciales y de sustancias volátiles, así como el riesgo de degradación de algunas sustancias termolábiles. La mayoría de las plantas medicinales pueden ser secadas a temperaturas que varían entre 30 y 60° C. Las plantas que poseen aceites esenciales o sustancias volátiles deben ser secadas a temperaturas inferiores a 40° C.

En la presente investigación se aplicó ese principio, secando nuestro material vegetativo (hojas) a una temperatura de 40°, 45° y 50° C hasta llegar al punto de crocancia (quebraje de la hoja) que es el punto óptimo de secado siendo este no mayor al 10% de humedad, utilizando una estufa y un secador, siendo estos dos generadores de calor. En el análisis de varianza para la variable Rendimiento porcentual del producto deshidratado, (ver Cuadro 15) se desprende que no existen diferencias estadísticas para todas las fuentes de variación.

EL CV de 3,13% es aceptable; lo cual ratifica lo dicho por Martínez (2000), el secado es el paso más importante para lograr un producto de óptima calidad, ya que de éste depende que el producto esté en condiciones de comercializarse, consumirse

y conservarse por períodos prolongados, lo óptimo es secar el material a un 10% de humedad.

4.4. Contenido de Materia Seca %

En el cuadro 16 se observa que no existen diferencias estadísticas para todas las fuentes de variación. Los factores en estudio no influyen en el contenido de materia seca. El CV de 6,81% es bueno.

Cuadro 16. Análisis de Varianza de la Variable Materia Seca en porcentaje.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
A	67,54	1	67,54	4,86	0,1583	ns
Error (a)	27,80	2	13,90			
B	0,06	1	0,06	0,01	0,9251	ns
A*B	3,98	1	3,98	0,70	0,4491	ns
Error (b)	22,66	4	5,67			
C	25,98	2	12,99	0,60	0,5576	ns
A*C	60,71	2	30,35	1,41	0,2698	ns
B*C	36,12	2	18,06	0,84	0,4483	ns
A*B*C	43,72	2	21,86	1,02	0,3820	ns
Error (c)	387,43	18	21,52			
Total	675,99	35				
CV%	6,81					

Además el contenido de materia seca (ver Cuadro 16) se observa que no existen diferencias estadísticas para todas las fuentes de variación. Los factores en estudio no influyen en el contenido de materia seca. El CV de 6,81% es bueno.

4.5. Contenido de minerales

En el cuadro 17 se observa valores de dos muestras de Pin'ku, escogida al azar, desinfectadas la una con Cloro (Cl), y la otra desinfectada con Kilol, se obtuvieron valores porcentuales de materia seca para minerales como N, P, K, Ca, Mg, S, valores en ppm de Cu, B, Fe, Zn, Mn, además de relaciones entre ellos.

Cuadro 17. Resultado de minerales, Pin'ku desinfectado con Cloro y Kilol en porcentaje de materia seca.

Materia seca (%)		
Mineral	Cantidad (%) cloro	Cantidad (%) kilol
n	1,68	1,56
p	0,23	0,39
k	3,40	4,72
ca	1,53	1,64
mg	0,27	0,40
s	0,19	0,38
ppm		
cu	9,00	21,00
b	39,54	26,89
fe	185,00	255,00
zn	40,00	54,00
mn	28,10	45,10
Relaciones (%)		
Mineral	Cantidad (%)	Cantidad (%)
n/k	0,49	0,33
n/p	7,30	4,00
mg/k	0,08	0,08
ca/b	386,95	609,89

Al no contar con material bibliográfico que nos ayude a determinar el contenido de minerales en *Piper carpunya Ruiz y Páv.* Podemos determinar la presencia de los minerales descritos en el cuadro 17 para los dos tipos de desinfección.

4.6. Prueba organoléptica

En la fase de la evaluación organoléptica, en esta investigación nos ayudamos de una encuesta (ver Anexo F1), realizándola para saber el grado de aceptabilidad de la tisana de pin'ku, se evaluó el color, olor, sabor y el grado de aceptabilidad. El universo encuetado fue de 36 personas entre las edades de 12 a 55 años.

4.6.1. Encuesta de Color.- En el cuadro 18 se observa estos parámetros medidos por percepción visual (ojos), se estableció la siguiente escala para valorar el color, donde (1=muy intenso); (2= ligeramente intenso); (3= moderadamente intenso); (4= extremadamente intenso), se escogió un tratamiento al azar.

Cuadro 18. Prueba de color.

Color (Prueba visual)	% Muestra	
Extremadamente intenso	0	0,00
Moderadamente intenso	20	55,56
Ligeramente intenso	14	38,89
Muy intenso	2	5,56
Muestreo	36	100

Para la variable color se pudo determinar que: un 55,56 % dijeron que es moderadamente intenso, además de un 38,89% que dijeron que es ligeramente intenso, siendo estos dos parámetros los que mostraron una mayor votación.

4.6.2. Encuesta de Olor.- Se lo realizó con la ayuda de un grupo de personas pertenecientes a la comunidad Tsáchila Chiguilpe, los que degustaron el producto, en el cuadro 19 se observa estos parámetros medidos por percepción nasal (nariz), utilizando una escala de olores como: 1.- muy fuerte; 2.- fuerte; 3.- moderado; 4.- suave, se escogió un tratamiento al azar.

Cuadro 19. Prueba de olor.

Olor (Prueba nasal)	% Muestra	
Muy fuerte	0	0,00
Fuerte	0	0,00
Moderado	22	61,11
Suave	14	38,89
Muestreo	36	100

Para la variable olor se pudo determinar que: un 61,11 % dijeron que es moderado, además de un 38,89% que dijeron que es ligeramente intenso, siendo estos dos parámetros los que mostraron una mayor votación.

4.6.3. Encuesta de Sabor.- Se lo realizó con la ayuda de un grupo de personas pertenecientes a la comunidad Tsáchila Chiguilpe, los que degustaron el producto, en el cuadro 20 se observa estos parámetros medidos por percepción gustativa (boca), ayudándonos de encuestas, utilizando una escala de sabores como: 1.- agrio; 2.- amargo; 3.- picante; 4.- dulce, se escogió un tratamiento al azar.

Cuadro 20. Prueba de Sabor.

Sabor (Prueba bucal)	% Muestra	
Agrio	0	0,00
Amargo	0	0,00
Picante	3	8,33
Dulce	33	91,67
Muestreo	36	100

Para la variable sabor se pudo determinar que: un 91,67 % dijeron que es dulce, además de un 8,33% que dijeron que es picante, siendo estos dos parámetros los que mostraron una mayor votación.

4.6.4. Encuesta de aceptabilidad.- Se lo realizó con la ayuda de un grupo de personas pertenecientes a la comunidad Tsáchila Chiguilpe, los que degustaron el producto, en el cuadro 21 se observa estos parámetros medidos por percepción nasal, ayudándonos de encuestas, utilizando una escala sensorial como: 1.- le gusta mucho; 2.- le gusta poco; 3.- le gusta nada, se escogió un tratamiento al azar.

Cuadro 21. Prueba de Aceptabilidad.

Aceptabilidad (Prueba gustativa)	% Muestra	
Le gusta mucho	29	80,56
Le gusta poco	5	13,89
No le gusto	2	5,56
Muestreo	36	100

Para la variable aceptabilidad se pudo determinar que: un 80,56 % dijeron que les gusta mucho, además de un 13,89% que les gusta poco, siendo estos dos parámetros los que mostraron una mayor votación.

V. CONCLUSIONES

- Se acepta la Ho ya que el método de procesamiento no mejora la calidad del producto a obtener (tisana de Pin'ku, *Piper carpunya Ruíz & Pav.*), se observa que el producto tiene su propia calidad innata por sus cualidades únicas al ser autóctona de la etnia Tsáchila.
- Tanto la temperatura de secado (40°, 45° y 50° C), como el método de secado (aire caliente o estufa) no presentan diferencias estadísticas para todas las fuentes de variación, es decir no influye en la calidad del producto final obtenido (tisanas de pin'ku).
- Por medio del tamizaje fitoquímico realizado en el extracto de *Piper carpunya Ruíz & Pav.* macerado en MeOH, se logró identificar una presencia estable de alcaloides.
- En los hidrodestilados de *Piper carpunya*, se registró una escasa presencia de metabolitos secundarios, esto se debe a que por el proceso de hidrodestilación se arrastra la mayoría de compuestos aromáticos integrados por isoprenos y terpenos que constituyen los aceites esenciales.
- La desinfección de Cloro y kilol no demuestra diferencia significativa para la presencia de coliformes totales ya que se encuentran por debajo de los niveles permisibles.
- Las encuestas realizadas a comuneros y visitantes de la comuna Tsáchila indican que las tisanas de *Piper carpunya*, les gusto mucho.

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar diferentes concentraciones de hidrodestilados de *Piper carpunya Ruíz & Pav.* en donde se pueda registrar un mayor número de metabolitos secundarios.
- Realizar un estudio farmacológico de *Piper carpunya Ruíz & Pav.* Para poder determinar su posible utilización en el campo de la medicinal humana.
- Realizar estudios que determinen la factibilidad de crear una empresa agro-industria en la que exista una participación directa del pueblo Tsáchila junto a organismos de comercialización para generar plazas de empleo en la Comuna.
- Evaluar mecanismos de propagación de *Piper carpunya Ruíz & Pav.* ya que por su constante utilización es muy difícil encontrarla en el paisaje silvestre del territorio Tsáchila.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ACOSTA-SOLÍS, M. (1962). Fitogeografía y vegetación de la Provincia de Pichincha, Instituto Panamericano de Geografía e Historia. México. Pp.135.
- BEZERRA, D. D. MOURAB, R, ROSA, M, DE VASCONCELLOS, A, ROMANO, M, DE MORAES, E, SILVEIRA, M, SOUSA, J, PEGAS, L, COSTA-LOTUFO & J. SAFFIB.(2008). Evaluation of the genotoxicity of piplartine., an alkamide of *Pipertuberculatum*, in yeast and mammalian V79 cells. *Mutat. Res.* 652. Pp. 164-174.
- BUITRÓN, X. (1999). Ecuador uso y comercio de plantas medicinales, situación actual y aspectos importantes para su conservación, Informe de investigación TRAFFIC Internacional. Quito. Ecuador. Pp. 101.
- CAÑADAS, LUIS. (1983). Mapa Biológico y Ecológico del Ecuador, Zonas de vida de Holdridge. Quito-Ecuador.
- CALAZACÓN, A. (2012). Herbolario y Guía Nativo, Estudio Botánico de las comunidades Tsáchilas Santo Domingo de los Tsáchilas Ecuador. Proyecto TOLON-PELE.
- CATIE. (2004). Manejo de recursos de bosque húmedos tropicales, Turrialba Costa Rica.
- CESA. (1991). Usos tradicionales de las especies forestales nativas en el Ecuador (Tomo 1, 2), Central Ecuatoriana de Servicios Agrícolas. Quito.
- DE LA RÚA, A. (1999). El poder curativo de las hierbas, Bogotá. Círculo de lectores. Pp. 145.

- INSTITUTO GEOGRÁFICO MILITAR. (2009). Carta topográfica - Santo Domingo de los Tsáchilas consultado en línea disponible en: http://www.igm.gov.ec/cms/index.php?option=com_content&task=view&id=25&Itemid=48.
- LESCURE, J. P.; LASLSEV, H Y ALARCÓN, R. (1987). Plantas Utilies de la Amazonia Ecuatoriana Quito. Pp. 15-17.
- LEWIS, WALTER AND ELVIN-LEWIS, (1984). Memory. "Plants and dental care among the Jivaro of the Upper Amazonas Basin", The New York Botanical Garden I., Advances in Economy Botany. Pp. 53-126.
- MARTÍNEZ, *et al.* (2000). Fundamentos de agro tecnología de cultivos de plantas medicinales ibero americanas, Publicación del convenio Andrés Bello (CAB) y el programa de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. Eds.CYTED. Santa Fe de Bogotá. Colombia. Pp. 650.
- MIRANDA, M, y CUELLAR, A. (2001). Farmacognosia y productos naturales, Ed. Félix Várela. La Habana. Cuba.
- MUÑOZ, F. (2002). Plantas medicinales y aromáticas, Ed. Mundi-Prensa. Madrid. España. Pp.365. (MarcadorDePosición1) (Rivet., 1905)
- PALACIOS, W. A. (1993). La Investigación y el manejo forestal en el Ecuador.
- PAVÓN, M. (1982). Botánica Económica, Programa Flora Amazónica. Colombia Amazónica. Bogotá. Pp. 10-52.
- RED NACIONAL DE JARDINES BOTÁNICOS. (2008). hispidumSw. <http://www.siac.net.co/sib/catalogoespecies/especie.do?idBuscar=1165&method=displayAAT>.

- RIVET, P. (1905). Les indiens Colorados, Récit de voyage et étude ethnologique. Journal de la Société des Américanistes. n.s.vol.II. Pp.177-208.
- SCHULTES, R. (1987). Algunos apuntes etnofarmacológicos de la Amazonia Colombiana, Boletín de Antropología. Universidad de Antioquia. Pp. 89-98.
- SHARAPIN, N. (2001). Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos, Ed. CYTED, CAB. Río de la Plata. Argentina. Pp.247p.
- VAREA, M. (1922). Botánica médica nacional, Ed. San Pablo. Latacunga. Ecuador. Pp. 99.
- VENTURA, O. (1997), Una visión de la cultura Tsáchila en la actualidad, in J.J.Juncosa. Etnografías mínimas del Ecuador. Abya-Yala. Quito. Pp.1-32.
- USDA United States Department of Agriculture; Natural Resources Conservation Services.USA (2012).