

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO

**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS
NATURALES**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: INGENIERA E
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

TEMA:

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD SUBAGUDA DE LOS ACEITES
ESENCIALES DE HIERBA LUISA (*Cymbopogon citratus*) Y CÚRCUMA
(*Curcuma longa*) EN BARBUS ROSADO (*Puntius conchonius*).

AUTORES:

VIVIANA DEL CARMEN NIETO SUÁREZ
JOSÉ ANDRÉS VITERI RUIZ

DIRECTOR:

CHRISTIAN FABRICIO LARENAS URIA

Quito, mayo del 2015

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD Y AUTORIZACIÓN DE USO DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotros autorizamos a la Universidad Politécnica Salesiana la publicación total o parcial de este trabajo de titulación y su reproducción sin fines de lucro.

Además declaramos que los conceptos, análisis desarrollados y las conclusiones del presente trabajo son de exclusiva responsabilidad de los autores.

Quito, mayo del 2015

Viviana del Carmen Nieto Suárez

1724192354

José Andrés Viteri Ruiz

1716423502

DEDICATORIA

A nuestros padres, amigos y personas quienes han confiado en nosotros y nos han brindado su apoyo incondicional para la culminación de nuestros estudios y consecuentemente en la finalización de este trabajo de grado.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Politécnica Salesiana, por todos los conocimientos, valores adquiridos durante toda nuestra formación profesional.

A nuestro director, Quim. Christian Fabricio Larenas Uría, por todo su conocimiento, colaboración, y tiempo que dedicó a la culminación de este trabajo de tesis.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1	5
MARCO TEÓRICO	5
1.1. Barbus rosado.....	5
1.1.1. Barbus rosado en Ecuador.....	6
1.1.2. Descripción	6
1.1.3. Hábitat	7
1.1.4. Condiciones ambientales del acuario	7
1.1.5. Alimentación.....	8
1.2. Hierba luisa (<i>Cymbopogon citratus</i>)	8
1.2.1. Generalidades	8
1.2.2. Taxonomía.....	9
1.2.3. Descripción botánica.....	10
1.2.4. Usos.....	10
1.2.5. Aceite esencial de hierba luisa	10
1.2.6. Principales componentes del aceite esencial de hierba luisa	11
1.2.7. Propiedades físicas y químicas del aceite esencial de hierba luisa	11
1.3. Cúrcuma (<i>Curcuma longa</i>)	12
1.3.1. Generalidades	12
1.3.2. Taxonomía.....	12
1.3.3. Descripción botánica.....	13
1.3.4. Usos.....	14
1.3.5. Composición química de la planta	14
1.3.6. Otras investigaciones	16

1.3.7.	Aceite esencial de cúrcuma (<i>Curcuma longa</i>).....	16
1.3.8.	Principales compuestos del aceite esencial de cúrcuma	17
1.3.9.	Propiedades físicas y químicas.....	17
1.4.	Extracción de aceite esencial	18
1.4.1.	Destilación por arrastre de vapor	18
1.4.2.	Prensado extrusado y expresión	19
1.4.3.	Extracción con solventes orgánicos	19
1.4.4.	Uso de aceites esenciales	19
1.4.5.	Producción de aceites esenciales en el Ecuador.....	20
1.5.	Emulsiones	20
1.5.1.	Formulación de emulsiones.....	22
1.5.2.	Uso de las emulsiones	22
1.5.3.	BHL en emulsiones	23
1.5.4.	Agentes tensoactivos.....	24
1.5.5.	Polisorbato 20 (Tween 20).....	24
1.6.	Toxicidad.....	25
1.6.1.	Toxicología	25
1.6.2.	Ecotoxicología.....	26
1.6.3.	Efectos toxicológicos	28
1.6.4.	Pruebas de toxicidad	29
1.6.5.	Tipos de prueba de toxicidad	31
1.6.5.1.	<i>Toxicidad aguda</i>	31
1.6.5.2.	<i>Toxicidad subaguda</i>	31
1.6.5.3.	<i>Toxicidad subcrónica</i>	31
1.6.5.4.	<i>Toxicidad crónica</i>	32

1.6.6.	Factores que afectan la toxicidad	32
CAPÍTULO 2		33
MARCO METODOLÓGICO		33
2.1.	Ubicación geográfica	33
2.1.	Adecuación de las peceras	33
2.1.1.	Procedimiento	33
2.2.	Obtención de la población de estudio.	34
2.3.	Evaluación de las condiciones físico-químicas del agua	35
2.3.1.	pH del agua de las unidades experimentales (peceras)	35
2.3.2.	Temperatura del agua de las unidades experimentales (peceras).....	35
2.3.3.	Conductividad del agua de las unidades experimentales (peceras)	35
2.3.4.	Dureza del agua de las unidades experimentales (peceras)	36
2.3.5.	Oxígeno disuelto del agua de las unidades experimentales (peceras).....	36
2.4.	Preparación de las emulsiones	36
2.4.1.	Procedimiento	36
2.5.	Determinación de las dosis experimentales	37
2.5.1.	Procedimiento	37
2.6.	Pruebas de toxicidad	40
2.6.1.	Materiales y equipos	40
2.6.2.	Procedimiento	40
2.7.	Análisis de parámetros de comportamiento	41
2.7.1.	Procedimiento	41
2.8.	Análisis estadístico.....	42
2.8.1.	Análisis de varianza de un factor (ANOVA)	42
2.8.2.	Análisis de varianza de dos factores (ANOVA)	42

2.8.3. Test de comparación de Tukey	43
CAPÍTULO 3	44
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
3.1. Evaluación de las condiciones físico-químicas del agua en las unidades experimentales	44
3.1.1. pH en el agua de las unidades experimentales (peceras)	44
3.1.2. Conductividad	50
3.1.3. Temperatura	57
3.1.4. Dureza	58
3.1.5. Oxígeno disuelto	65
3.2. Preparación de emulsiones.....	72
3.3. Evaluación de los parámetros de comportamiento.....	73
3.4. Mortalidad	81
.....	85
CONCLUSIONES.....	87
RECOMENDACIONES	90
LISTA DE REFERENCIAS	91

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales componentes del aceite esencial de hierba luisa	11
Tabla 2. Propiedades físico-químicas del aceite esencial de hierba luisa	11
Tabla 3. Principales compuestos de la Cúrcuma.....	15
Tabla 4.Principales compuestos del aceite esencial de Cúrcuma	17
Tabla 5. Propiedades físico-químicas del aceite esencial de cúrcuma.....	18
Tabla 6. Índices de BHL referencial de emulgentes	23
Tabla 7. Concentración de las dosis experimentales.....	37
Tabla 8. Parámetros de comportamiento a evaluar	41
Tabla 9. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis baja de cúrcuma.....	44
Tabla 10. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis baja de hierba luisa	45
Tabla 11. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis baja Control	45
Tabla 12. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis media de cúrcuma.....	45
Tabla 13. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis media de hierba luisa...	46
Tabla 14. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis media del control	46
Tabla 15. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis media alta de cúrcuma..	47
Tabla 16. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis media alta de hierba luisa	47
Tabla 17. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis media alta del control ...	47
Tabla 18. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis alta de cúrcuma.....	48
Tabla 19. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis alta de hierba luisa	48
Tabla 20. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis alta del control	48
Tabla 21. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis baja de cúrcuma.	51
Tabla 22. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis baja de hierba luisa.	51
Tabla 23. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis baja del control	52
Tabla 24. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis media de cúrcuma.	52

Tabla 25. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis media de hierba luisa.	53
Tabla 26. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis media del control.	53
Tabla 27. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis media alta de cúrcuma.	54
Tabla 28. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis media alta de hierba luisa.	54
Tabla 29. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis media alta del control.	55
Tabla 30. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis alta de cúrcuma.	55
Tabla 31. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis alta de hierba luisa.	55
Tabla 32. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis alta del control.	56
Tabla 33. Temperaturas promedio.	58
Tabla 34. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis baja de cúrcuma.	58
Tabla 35. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis baja de hierba luisa.	59
Tabla 36. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis baja del control.	59
Tabla 37. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis media de cúrcuma.	60
Tabla 38. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis media de hierba luisa.	60
Tabla 39. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis media del control.	61
Tabla 40. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis media alta de cúrcuma.	61

Tabla 41. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis media alta de hierba luisa.	61
Tabla 42. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis media alta del control.	62
Tabla 43. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis alta de cúrcuma.	62
Tabla 44. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis alta de hierba luisa.	63
Tabla 45. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis alta del control	63
Tabla 46. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis baja de cúrcuma.	65
Tabla 47. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis baja de hierba luisa.	66
Tabla 48. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis baja del control.....	66
Tabla 49. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis media de cúrcuma.	67
Tabla 50. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis media de hierba luisa.	67
Tabla 51. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis media del control.....	68
Tabla 52. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis media alta de cúrcuma	68
Tabla 53. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis media alta de hierba luisa.....	68
Tabla 54. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis media alta del control.....	69
Tabla 55. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis alta de cúrcuma	69

Tabla 56. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis alta de hierba luisa	70
Tabla 57. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis alta del control.....	70
Tabla 58. Características organolépticas y físico-químicas de emulsiones.	72
Tabla 59. Parámetros de comportamiento en dosis baja de cúrcuma	73
Tabla 60. Parámetros de comportamiento en dosis baja de Hierba luisa.....	74
Tabla 61. Parámetros de comportamiento en dosis baja del Control	74
Tabla 62. Parámetros de comportamiento en dosis media de Cúrcuma	75
Tabla 63. Parámetros de comportamiento en dosis media de Hierba luisa.....	76
Tabla 64. Parámetros de comportamiento en dosis media del control.....	76
Tabla 65. Parámetros de comportamiento en dosis media alta de cúrcuma.....	77
Tabla 66. Parámetros de comportamiento en dosis media alta de hierba luisa.....	78
Tabla 67. Parámetros de comportamiento en dosis media alta del control	78
Tabla 68. Parámetros de comportamiento en dosis alta de cúrcuma	79
Tabla 69. Parámetros de comportamiento en dosis alta de hierba luisa.....	80
Tabla 70. Parámetros de comportamiento en dosis alta del control.....	80
Tabla 71. Porcentaje de mortalidad en dosis baja	81
Tabla 72. Porcentaje de mortalidad en dosis media	82
Tabla 73. Porcentaje de mortalidad en dosis media alta	83
Tabla 74. Porcentaje de mortalidad en dosis alta	83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Puntius conchoni</i>	5
Figura 2. Planta de Hierba luisa (<i>Cymbopogon citratus</i>).....	9
Figura 3. Planta de Cúrcuma (<i>Curcuma longa</i>)	13
Figura 4. Curva de relación dosis – respuesta en test de toxicidad.....	30
Figura 5. Diseño de prueba de toxicidad por cada dosis experimental.....	40
Figura 6. Variación existente entre el pH y el tiempo con relación a la dosis de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma.....	49
Figura 7. Variación existente entre el pH y el tiempo con relación a la dosis de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa.....	50
Figura 8. Variación existente entre la conductividad y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma.	56
Figura 9. Variación existente entre la conductividad y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa.	57
Figura 10. Variación existente entre la dureza y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma.	64
Figura 11. Variación existente entre la dureza y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa.....	64
Figura 12. Variación del oxígeno disuelto entre el tiempo y la dosis de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma.....	71
Figura 13. Variación existente entre el oxígeno disuelto y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa.	71
Figura 14. Variación existente entre la dosis y la mortalidad del tratamiento de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma en función del tiempo.	84
Figura 15. Variación existente entre la dosis y la mortalidad del tratamiento de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa en función del tiempo.....	85
Figura 16. Variación existente entre la dosis y la mortalidad del tratamiento de la emulsión con aceite esencial del control en función del tiempo.....	86
Figura 17. Pecera con pez <i>Barbus rosado</i>	92
Figura 18. Pecera con pez <i>Barbus rosado</i>	92

Figura 19. Pecera con pez Barbus rosado y emulsión de hierba luisa	92
Figura 20. Pecera con pez Barbus rosado y emulsión de cúrcuma.	92
Figura 21. Medición de pH.	92
Figura 22. Medición de Conductividad.....	92
Figura 23. Barbus rosado con problemas de vejiga natatoria.	92
Figura 24. Barbus rosado muerto.	92

RESUMEN

El presente trabajo está enfocado en la evaluación de la toxicidad de dos emulsiones con aceites esenciales de hierba luisa y cúrcuma en pez Barbus rosado. Se establecieron dos tratamientos con dos aceites esenciales diferentes, Cúrcuma y Hierba luisa, con una inclusión de dosis baja, media, media alta y alta en diferentes tiempos de 24, 48 y 96 horas comparados con un control el cual solo contenía emulsificante (Tween 20).

Mediante la prueba estadística ANOVA de un factor con una significancia $p < 0,05$, se llegó a determinar que los cambios en las condiciones físico químicas del agua no son significativos y no contribuyen a la toxicidad. El ANOVA de dos factores respecto a dosis x tratamiento; tiempo x tratamiento y dosis x tiempo nos permitió determinar que si existieron cambios en el comportamiento y en la mortalidad de los peces, siendo la dosis media alta (300ppm) y alta(600 pm) la que produjo mayor toxicidad en el pez Barbus rosado.

Concluyendo que la emulsión con aceite esencial de cúrcuma produjo datos de toxicidad subaguda mayores que la emulsión con aceite esencial de hierba luisa, pues con las pruebas de Tukey aplicadas se evidencia la muerte de los peces en relación directamente proporcional al aumento de las dosificaciones y de los tiempos de exposición, las dosis medias altas y altas en los tres tratamientos fueron severas en la intoxicación subaguda de los especímenes, causando la muerte del 100% de los especímenes tratados.

Palabras clave: Barbus rosado, emulsión, aceite esencial, cúrcuma, hierba luisa, toxicidad subaguda

ABSTRACT

This paper focuses on evaluating the toxicity of two emulsions with essential oils of lemongrass and turmeric pink fish Barbus. Two treatments with two different essential oils, turmeric and lemongrass, with inclusion of low-dose, medium, upper middle and high dose at different times of 24, 48 and 96 hours compared with a control which contained only emulsifier (Tween 20 were established).

Using the statistical test one-way ANOVA with a significance of $p < 0.05$ was reached to determine the changes in the physicochemical conditions of water are not significant and do not contribute to toxicity. The two-factor ANOVA regarding dose x treatment; time x treatment and dose x time allowed us to determine if there were changes in behavior and mortality of fish, with high upper middle dose (300ppm) and (600 pm) which produced greater toxicity in fish Pink Barbus.

Concluding that the emulsion with turmeric essential oil produced subacute toxicity data older than the emulsion with essential oil of verbena, because with Tukey tests applied the death of fish in direct relationship is evidenced by increased dosages and exposure times, the upper middle and high doses in the three treatments were severe in the subacute toxicity of specimens, killing 100% of the treated specimens.

Keywords: Pink Barbus, emulsion, essential oil, turmeric, lemon grass, sub-acute toxicity.

INTRODUCCIÓN

El acuarismo es considerado como uno de los hobbies más populares en el mundo por los amantes de los peces ornamentales y data desde los inmemorables tiempos de la Dinastía China Tang aproximadamente por los años 620 DC, donde se mantenían peces en vasijas de cerámica, llegando a su auge en el siglo XIX aproximadamente por el año 1868 desde entonces el desarrollo y la difusión del acuarismo ha alcanzado una enorme popularidad, no solamente en el Viejo continente, sino en todo el mundo. (Dirección de Acuicultura, 2008, pág. 2)

El Barbus rosado (*Puntius conchoni*) es considerado uno de los peces con mayor demanda en los acuarios del país, por su coloración intensa que varía en tonos de naranja a rojo, y su mancha negra característica en la terminación de la aleta anal, sin embargo estos peces son susceptibles a contraer diferentes enfermedades que se pueden originar por diversos cambios en las condiciones ambientales en los que se desarrollan.

En la actualidad la aplicación de aceites esenciales en los distintos ámbitos de acuicultura ha tenido un gran impacto ya que estos buscan reemplazar el uso de productos de origen químico. Entre las principales aplicaciones de dichos aceites se destacan: tratamiento, prevención de enfermedades, y también como promotores de crecimiento, sin embargo todos estos estudios carecen de pruebas de toxicidad que permitan asegurar la inocuidad para los peces. (Singh, Chandra, & Bose, 2002, pág. 739)

Numerosas investigaciones en las cuales se utilizan aceites esenciales de Hierba luisa y Cúrcuma han demostrado tener varias propiedades entre las que se destacan: bactericidas, fungicidas, antiparasitarias entre otras. La obtención de éstos aceites esenciales es de fácil acceso, ya que su obtención es sencilla y de bajo costo, por tal motivo existen varias empresas que los comercializan potencializando así su uso. (Singh, Chandra, & Bose, 2002, pág. 739)

Esta investigación está enfocada en el estudio de la toxicidad que presentan dos emulsiones de origen natural elaboradas a partir del aceite esencial de Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y Cúrcuma (*Curcuma longa*) en Barbus rosado (*Puntius conchoni*) con la finalidad de establecer los límites máximos permisibles a usar en actividades acuícolas.

Justificación

El acuarismo es una tendencia que tiene millones de seguidores en todo el mundo. Si bien no existe información exacta respecto a cifras y valores del comercio, se estima que ha crecido notoriamente en los últimos años. (Dirección de Acuicultura, 2008, pág. 2)

Los diversos cambios de hábitat que sufren los peces de acuario producen diversas enfermedades debido al estrés, para evitar la pérdida de los peces se acuden a tratamientos convencionales con sustancias químicas que en muchos de los casos producen efectos adversos, es por ello que la búsqueda de tratamientos naturales resulta una alternativa innovadora y menos agresiva que los tratamientos de origen sintético.

Los aceites esenciales son metabolitos secundarios de las plantas, y se los extrae principalmente por arrastre de vapor, por tal motivo son sustancias de origen natural. La inclusión de los aceites esenciales de Hierba luisa y Cúrcuma en las últimas décadas ha tenido un crecimiento importante en diferentes industrias, debido a sus acciones comprobadas en tratamientos antifúngicos, antisépticos, bactericidas, antiparasitarios y posibles promotores de crecimiento. Una de las industrias en las que más ha tenido éxito es en la industria farmacéutica, reemplazando a los productos sintéticos que suelen ser más agresivos. (Singh, Chandra, & Bose, 2002, pág. 739)

Aunque las bondades de los aceites esenciales son numerosas, la utilización de estos debe ser cuidadosa, ya que muchos de ellos pueden contener sustancias que resultan perjudiciales, como son aquellos que tienen en su composición fenoles, cetonas y

lactonas, por tal motivo es necesario determinar la dosis adecuada de aceite esencial a utilizar sin que lleguen a niveles tóxicos. (Serra, 2010, pág. 33)

La presente investigación pretende comprobar la toxicidad de una emulsión a base de los aceites esenciales de Hierba luisa y Cúrcuma, que permiten establecer las dosis adecuadas a utilizarse en formulaciones para el control de enfermedades, y demás investigaciones relacionadas a la incorporación de aceites en organismos vivos.

Objetivos

General

Evaluar la toxicidad subaguda de los aceites esenciales de Hierba luisa (*Cymbopogon cytratus*) y Cúrcuma (*Curcuma longa*) en Barbus rosado (*Puntius conchonius*).

Específicos

- Determinar las principales condiciones ambientales (físico- químicas) del agua en cada una de las unidades experimentales que contienen al pez Barbus Rosado.
- Determinar las concentraciones de toxicidad baja, media, media alta y alta de los aceites esenciales emulsionados de Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y Cúrcuma (*Curcuma longa*), en el pez Barbus rosado (*Puntius conchonius*).
- Analizar los parámetros (aspecto, comportamiento y supervivencia) en el pez Barbus Rosado (*Puntius conchonius*) que causa el efecto de los aceites esenciales emulsionados de hierba luisa y cúrcuma, en las diferentes concentraciones.

Hipótesis

Alternativa

Al menos una de las concentraciones aplicadas con aceite esencial emulsionado de hierba luisa y cúrcuma tiene la capacidad de causar toxicidad subaguda en *Barbus rosado* mantenido en acuario.

Nula

Ninguna de las concentraciones aplicadas con aceite esencial emulsionado de hierba luisa y cúrcuma tiene la capacidad de causar toxicidad subaguda en *Barbus rosado* mantenido en acuario.

Variables e indicadores

VARIABLES INDEPENDIENTES	VARIABLES DEPENDIENTES
Temperatura % de aceite esencial en la emulsión	Parámetros de comportamiento en los peces % de mortalidad

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1. Barbus rosado

El Barbus rosado (*Puntius conchoni*), (figura 1) perteneciente a la familia de los Ciprínidos (Ciprinidae); son originarios de Asia pero se conocen introducciones de estos peces en aguas de Estados Unidos, Puerto Rico, México, Colombia, Ecuador, Australia, Singapur y Filipinas. Generalmente este pez vive en lagos y ríos que atraviesan zonas boscosas, incluso en zonas altas de las montañas. (Riehl, 1994, pág. 390)

Barbus rosado



Figura 1. *Puntius conchoni*

Fuente:http://www.fishesofaustralia.net.au/images/image/1_Puntius%20conchoni%20Oliver%20Lucanus%20alt.jpg

El Barbus rosado presenta una sensibilidad a enfermedades de tipo parasitario, debido a que en cautiverio las malas condiciones del agua promueven la manifestación de infecciones causando la muerte de la especie en pocos días.

1.1.1. Barbus rosado en Ecuador

La importancia comercial de la especie radica en su utilización como pez de acuario debido a sus colores, forma y vivacidad llamativa que mejoran la estética de un acuario, por ende su producción se enfoca a cubrir la demanda generada desde este sector. La especie no se utiliza para otros fines comerciales debido a su pequeño tamaño, no siendo apetecibles para el consumo humano. (Riehl, 1994, pág. 394)

1.1.2.Descripción

Su cuerpo es estilizado en la parte delantera y trasera, mientras la parte central es ancha. No posee barbillas en la boca como en la mayoría de especies de la familia Ciprinidae. Su tamaño oscila entre los 8 a 10 cm de longitud y su promedio de vida es de 3 años. Presenta una coloración de base plateado con irisaciones rojas metálicas en la parte inferior; con una mancha oscura característica situada en posición central sobre la terminación de la aleta anal. (Sharma & Agarwal, 2010, pág. 235)

El macho tiene el ápice de las aletas anal y dorsal negro. La coloración se intensifica en la época de reproducción, en la que los machos muestran su coloración rojiza sobre el fondo usualmente plateado. Las hembras toman una coloración más brillante. (Sharma & Agarwal, 2010, pág. 235)

Es un pez muy pacífico, aunque de nadar inquieto, muy vivaz y definitivamente gregario. Habitualmente reposan en un mismo lugar, nadan frecuentemente en la parte media a baja del acuario y a todo lo largo de éste. Sus actividades se centran en el comportamiento general del grupo (no menos seis individuos), debiendo asociarse con peces de similares características puesto que son bulliciosos y veloces nadadores y no se adaptarían bien con peces tímidos, frágiles o muy tranquilos. (Riehl, 1994, pág. 403)

La formación de la pareja reproductora se realiza de forma natural a partir de un grupo; la hembra es la que inicia el cortejo y adquiere un color rosado. La puesta en acuarios se realiza entre plantas de abundantes hojas ubicadas en el acuario a las que se adhieren los huevos que son ligeramente pegajosos. Posteriormente es aconsejable retirar a los huevos a un acuario de cría debido a que los padres suelen comerse los huevos o las crías si llegan a nacer, lo cual suele ocurrir al cabo de 36 horas, creciendo muy deprisa y debiendo ser alimentadas abundantemente. (Talwar & Jhingran, 1991, pág. 54)

1.1.3. Hábitat

Acuario: Se mantienen bien en un acuario de tipo rectangular y lo más ancho posible. Abundante vegetación en la parte posterior, con plantas de media altura en las zonas medias y periféricas. Deben disponer de un buen espacio frontal para nadar libremente con abundantes pasadizos y túneles por los cuales les gusta transitar. Acostumbran a buscar alimento entre la grava de fondo. (Riehl, 1994, pág. 425)

1.1.4. Condiciones ambientales del acuario

- a) Agua: requiere un pH de 6.5 a 7.5, aunque es una especie no exigente con los parámetros del agua. (Riehl, 1994, pág. 427)

- b) Dureza: la dureza general va de baja a media (3 a 7°dGH). Con un buen filtrado. En cuanto a sustancias nitrogenadas, es mejor mantenerlas controladas. (Talwar & Jhingran, 1991, pág. 55)

- c) Temperatura: El acuario debe contar con una temperatura de 18°C a 22°C aproximadamente para que los peces logren un desarrollo adecuado. (Riehl, 1994, pág. 427)

1.1.5. Alimentación

“Es omnívoro. Se alimenta de todo tipo de alimentos, pequeños crustáceos, larvas y otros invertebrados, en su dieta también se incluye materia vegetal”. (Talwar & Jhingran, 1991, pág. 55)

En el acuario comerá sin problemas alimento en escamas, gránulos, congelado, liofilizado y papillas caseras, en las que es interesante añadir aporte vegetal como la spirulina, espinacas. También agradecerán el ofrecimiento de alimento vivo, como daphnias o artemia salina. (Talwar & Jhingran, 1991, pág. 55)

1.2. Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)

1.2.1. Generalidades

También conocida como limoncillo, lemongrass, hierba de limón (Figura 2). La hierba luisa es una planta herbácea, aromática con tallos muy ramificados de 1 a 2 m de alto. La altura máxima a la cual la planta llega es de 1.50m. Se la cultiva como planta medicinal en zonas tropicales, subtropicales y templadas (Acosta, 1995, pág. 70).

1.2.2. Taxonomía

“Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Cymbopogon*

Especie: *Cymbopogon citratus*” (Acosta, 1995, pág. 69)

Cymbopogon citratus



Figura 2. Planta de Hierba luisa
(*Cymbopogon citratus*)

Fuente: http://gernot-katzers-spice-pages.com/pictures/cymb_03.jpg

1.2.3. Descripción botánica

La hierba luisa es una planta herbácea perenne que pertenece a la familia de las Poaceae, género *Cymbopogon* y especie *citratatus*. La planta produce espesas hojas, éstas son lineares, erguidas cuando jóvenes y pendientes cuando son viejas, cada una es larga hasta 0.70 m y tiene 2.5 cm de ancho. El color de la planta puede variar mucho en función de las condiciones ambientales. La planta florece raramente durante el verano y las flores son espigas muy pequeñas, entonces la propagación se actúa por división de las raíces. (Soto, Vega, & Tamajon, 2002, pág. 20)

1.2.4. Usos

Posee grandes cualidades para expulsar los gases del aparato digestivo, evitando las flatulencias y la aerofagia, mediante una infusión digestiva y refrescante, ejerce una función tónico-estomacal, digestiva y tranquilizante, evitando los espasmos y la dispepsia, ayuda a combatir el mal aliento, es muy útil contra las afecciones del aparato respiratorio, especialmente para expulsar las mucosidades, y para la tos, en infusión, ayudan a relajar y tonificar los nervios. (Kuklinsk, 2000, pág. 23)

“En uso externo su uso fundamental es como relajante y tonificante de los nervios, añadiendo al agua del baño una infusión de dicha planta”. (Kuklinsk, 2000, pág. 23)

1.2.5. Aceite esencial de hierba luisa

Los aceites esenciales son extractos vegetales altamente concentrados que transmiten las propiedades químicas de cada planta. El aceite esencial en *Cymbopogon cytratus* está presente en proporción de 0.25 a 0.35 % en sus hojas, y su componente principal es el α citral y β citral, además también posee del 30 al 45% de citronelal y un 26 al 45% de geraniol. (Nikolai, 2000, pág. 78)

1.2.6. Principales componentes del aceite esencial de hierba luisa

Tabla 1. Principales componentes del aceite esencial de hierba luisa

Componente	Porcentaje
Z- Citral (Neral)	31.15 %
E- Ciral (Geranial)	43.37 %
Limonal	15.59 %
Geraniol	4.74 %
Linalool	1.10 %
Acetato de geranilo	0,64 %

Nota: Principales compuestos del aceite esencial de hierba luisa.

Fuente: (Castro & Bedoya, 2011) (Linares, Gonzalez, Gómez, & Usubillaga, 2005)

1.2.7. Propiedades físicas y químicas del aceite esencial de hierba luisa

Entre las características físicas de este aceite destaca: índice de refracción a 20°C 1.48, densidad a 20°C de 0.97 g/mL y presenta solubilidad en etanol a 96°C. El aceite esencial de hierba luisa se presenta en forma de líquido aceitoso transparente, de color amarillo pálido, que tiene el olor intenso a limón. (Guerra, 2004, pág. 42)

Tabla 2. Propiedades físico-químicas del aceite esencial de hierba luisa

Datos de análisis	Método	Rango
Apariencia visual	Líquido aceitoso transparente	Visual
Color	Ligeramente amarilla	Visual
Olor	Típica cítrica leve	Olor
Densidad (g/mL)	0.9750 – 0.9850	<841>USP
Índice de refracción	1.4800 – 1.5000	< 831>USP
Índice de acidez %	1.2 – 1.4	Método interno
Solubilidad en alcohol	Completamente soluble en alcohol 96°C	Método interno

Nota: descripción de las propiedades físicas y químicas del aceite esencial de hierba luisa

Fuente: (Chankuap, 2009, pág. 1)

1.3. Cúrcuma (*Curcuma longa*)

1.3.1. Generalidades

Es una planta perenne que pertenece al orden de las Zingiberales, originaria de India, donde su uso se remonta a la antigüedad como medicinal, especia y tintórea. En sus rizomas se encuentra una sustancia colorante la curcumina, que forma cristales anaranjados y aceites esenciales de olor picante. Su principal uso es como especia, para condimentar y dar color, reemplazando así el uso del achiote. (León, 2000, pág. 65)

La parte útil de la planta es el rizoma, donde se concentra la mayor cantidad de compuestos de interés biológico a partir del cual se han desarrollado numerosas investigaciones (Ravindran, Nirmal Babu, & Sivaram, 2007, pág. 18).

1.3.2. Taxonomía

“Reino: Plantae

Subclase: Zingiberidae

División: Magnoliophyta

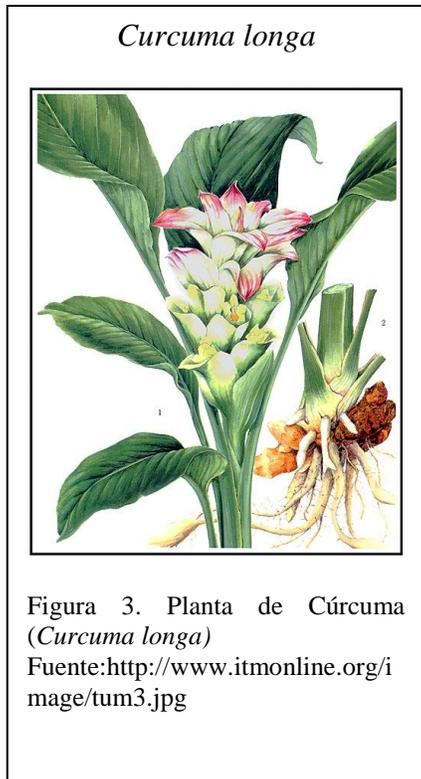
Clase: Liliopsida

Orden: Zingiberales

Familia: Zingiberaceae

Género: *Curcuma*

Especie: *Curcuma longa* L.” (figura 3) (Govindarajan, 1980, pág. 102)



1.3.3. Descripción botánica

Es una planta que alcanza una altura aproximada de hasta un metro, el tallo es subterráneo y su rizoma muy ramificado del que salen numerosas raicillas, las hojas son grandes y suaves de un color verde claro típico, con una nervadura central del que parten oblicuamente las nervaduras laterales, característico de la familia. Sus rizomas son oblongos, ovals, piriformes, a menudo ramificados y comúnmente utilizados como remedio casero en Nepal. (Eigner & Scholz, 1999, pág. 35)

El color del rizoma es dado por los pigmentos que aparecen como esferitas o cuerpos elipsoidales que rellenan las células por completo, otras veces aparecen como pequeños

granos largos agudos adheridos a las paredes. Es posible que su primera utilización fuera como tinte de la piel o de telas de algodón, dando un tono amarillo aunque no permanente. (León, 2000, pág. 65)

1.3.4. Usos

La cúrcuma se utiliza tradicionalmente por la gente nativa de las costas del pacífico oriental, fue considerada como una planta mágica dadas sus características organolépticas y sus indudables propiedades terapéuticas y protectoras, sobre todo a nivel hepático y cutáneo. Antiguamente, los farmacéuticos de Asia y Europa la usaban por su apariencia amarilla para curar la ictericia y las fiebres biliares, esta teoría se ha podido comprobar mediante estudios de la fitoterapia moderna. (Mesa, Aguilera, Ramirez, & Gil, 2000, pág. 89)

En la actualidad las investigaciones se orientan al estudio del colorante curcumina, que es un colorante purificado con una denominación E-100i, de coloración amarillo-naranja, además su extracto crudo llamado curcumina E-100ii, que se aplican en la industria alimenticia. (León, 2000, pág. 66)

1.3.5. Composición química de la planta

Entre los principales compuestos del extracto del rizoma de la cúrcuma se encuentran: carbohidratos (4.7-8.2%), aceites esenciales (2.44%), ácidos grasos (1.7-3.3%), curcuminoides (curcumina, demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina), cuyo contenido aproximado es de un 2%, aunque puede estar entre 2.5-5.0% del peso seco, y otros polipéptidos como la turmerina (0.1 % del extracto seco) (Ravindran, Nirmal Babu, & Sivaram, 2007, pág. 4).

Los compuestos que caracterizan a la cúrcuma son los pigmentos amarillentos y sus aceites volátiles siendo el principal pigmento la curcumina [1,7- bis - (4' - hidroxí-3' metoxi-fenil) hepta-1,6-dieno-3,5-diona]; otros curcuminoides son; desmetoxicurcumina y bisdesmetoxicurcumina.. Además posee un aceite esencial rico en carburos terpénicos (zingibereno, β -curcumeno y δ -curcumeno), cetonas sesquiterpénicas (tumeronas) y arabinogalactanas (ukonanas). La composición química puede variar por diferentes factores como la edad de la planta, el porcentaje de humedad, el sitio de cultivo, el método de extracción de los compuestos entre otros factores (Govindarajan, 1980, pág. 25).

En la tabla 3 se mencionan a los principales compuestos que contiene la planta de cúrcuma.

Tabla 3. Principales compuestos de la Cúrcuma

No	Compuestos	Índice de refracción	%
1	Turmerona	819	36,9
2	α - turmerona	862	18,9
3	β - turmerona	825	13,6
4	Isomero del cilopentanilo	1100	6,1
5	Curcumeno	609	1,8
6	Bornano	960	0,9
7	Citral	660	0,3
8	Zingibereno	623	0,5
9	<i>cis</i> -farnesol	639	0,3
10	Zingiberenol	761	0,2
11	Oxido de cariofileno	692	0,01
12	Cariofileno	563	0,08

Nota: Fuente: (Rios, Germán, Giraldo, León, & Moreno, 2008, pág. 35)

1.3.6. Otras investigaciones

“Entre las principales investigaciones relacionadas con la cúrcuma resalta su actividad antioxidante relacionada con la concentración de ácido gálico semejante al potencial que presenta el hidrotolueno butilado” (BHT). (Alvis, 2012, pág. 12)

“También se destaca la actividad antiinflamatoria. El uso de aceite esencial de cúrcuma produce un aumento en la secreción de bilis.” (Hussain & Chandrasekhara, 1992, pág. 290)

Estudios sobre la cúrcuma buscan potenciales efectos en el tratamiento de enfermedades tales como cáncer, artritis, diabetes y otros desórdenes químicos. Como resultados de estas investigaciones, “la cúrcuma redujo en ratones la severidad de los daños en los pulmones como consecuencia de enfermedades pancreáticas”. (Seo, Bae, Kim, & Youn, 2011, pág. 58)

“En pruebas in vitro se ha observado que los aceites volátiles de cúrcuma a bajas concentraciones inhiben bacterias gram positivas como el *Staphylococcus aureus* con resultados similares a los obtenidos con la ampicilina, la doxiciclina y la gentamicina.” (Singh, Chandra, & Bose, 2002, pág. 738).

1.3.7. Aceite esencial de cúrcuma (*Curcuma longa*)

La obtención del aceite esencial de cúrcuma se realiza principalmente por destilación con arrastre de vapor, aunque también se la puede realizar con destilación por arrastre de vapor asistida por microonda siendo, la destilación por arrastre de vapor la que ha

logrado producir mayor rendimiento (Rios, Germán, Giraldo, León, & Moreno, 2008, pág. 35).

1.3.8. Principales compuestos del aceite esencial de cúrcuma

Tabla 4. Principales compuestos del aceite esencial de Cúrcuma

TR (min)	% Abundancia	Nombre
8.196	36,942	Turmerona
8.629	18,961	Curlona (β -Turmerona)
8.250	13,657	Atlantona (α -Turmerona)
10.989	6,106	Isómeros C15 Tipo Ciclopentasil
6.094	1,788	Curcumeno
9.603	0,870	Bornano 2-Ácido Carboxílico
6.594	0,635	Citral
6.234	0,544	Zingibereno
6.391	0,258	Cis-Farnesol
7.617	0,200	Zingiberenol
6.927	0,098	Óxido de Cariofileno
5.632	0,085	Cariofileno

Nota: Fuente: (Rios, Germán, Giraldo, León, & Moreno, 2008)

1.3.9. Propiedades físicas y químicas

Entre las características físicas de este aceite destaca: índice de refracción a 20°C 1.48, densidad a 20°C de 0.92 g/ L y presenta solubilidad en etanol a 96°C. El aceite esencial de cúrcuma se presenta en forma de líquido aceitoso transparente, de color ligeramente amarillo, que tiene el olor característico de la cúrcuma. En las pruebas de sensibilidad biológica indica que es activo ante bacterias Gram-positivas, hongos y puede actuar como agente antiparasitario. (Mesa *et al*, 2000; pág. 308)

Tabla 5. Propiedades físico-químicas del aceite esencial de cúrcuma

Dato de análisis	Rango	Método
Apariencia Visual	Líquido aceitoso transparente	Visual
Color	Ligeramente amarillo	Visual
Olor	Típica nota a especia	Olor
Densidad (g/mL)	0.9100 – 0.9200	<841>USP
Índice de Refracción	1.4800 – 1.500	<831>USP
Índice de Acidez (%)	1.3 – 1.5	Método Interno
Solubilidad en alcohol	Completamente soluble en alcohol 96°	Método Interno

Nota: principales propiedades del aceite esencial de cúrcuma
 Fuente: (Chankuap, 2009, pág. 1)

1.4. Extracción de aceite esencial

Los aceites esenciales son una mezcla de compuestos, son volátiles, insolubles en agua, únicos y poseen propiedades terapéuticas. La eficiencia del aceite esencial dependerá de la planta en relación de cómo se obtenga, si es cultivada y recolectada con esmero. (Olaya, 2003, pág. 17)

Existen métodos de extracción de estos aceites esenciales, siendo el de arrastre de vapor el de más alta calidad pues se usa terapéutica y medicinalmente sin la presencia de residuos. (Olaya, 2003, pág. 17)

1.4.1. Destilación por arrastre de vapor

La destilación por arrastre con vapor es una técnica usada para separar sustancias orgánicas insolubles en agua y ligeramente volátiles, de otras no volátiles que se encuentran en la mezcla, como resinas, sales inorgánicas, u otros compuestos orgánicos no arrastrables. (Olaya, 2003, pág. 17)

1.4.2. Prensado extrusado y expresión

Este método es más usado para extraer el aceite esencial de las cáscaras. Consiste en tomar los fragmentos y exprimirlos entre los dedos sobre una esponja, la esponja se satura del aceite y se realiza un filtrado, exprimiendo la misma en un frasco. Industrialmente se usa una prensa hidráulica, se filtra y se destila, sin embargo la calidad del aceite es inferior. (Olaya, 2003, pág. 18)

1.4.3. Extracción con solventes orgánicos

La muestra se pone en contacto con disolventes tales como alcohol, hexano, benceno, éter de petróleo, cloroformo, etc. Estos disolventes solubilizan la esencia para posteriormente eliminar el solvente a presión reducida obteniendo la fracción deseada. (Olaya, 2003, pág. 18)

1.4.4. Uso de aceites esenciales

Los aceites esenciales se pueden emplear en:

- Industria alimenticia.- Utilizados para la preparación de carnes, embutidos, bebidas alcohólicas y refrescos además en la elaboración de confites y chocolates.
- Industria farmacéutica.- Se emplean en pastas dentales, analgésicos, inhalantes, enjuagues bucales, etc.
- Industria cosmética.- En la producción de colonias, perfumes, jabones y maquillajes.
- Biocidas e insecticidas. (Bruneton, 2001, pág. 65)

1.4.5. Producción de aceites esenciales en el Ecuador

La producción de aceites esenciales en el Ecuador ha crecido notoriamente en los últimos años debido a las diversas utilidades que estos pueden brindar, sin embargo centraremos la producción de aceite esencial en la Fundación Chankuap debido a que en esta fundación se obtuvo los aceites esenciales necesarios para la investigación.

La Fundación Chankuap surge en respuesta a la necesidad de dar más sostenibilidad al trabajo de la misión, ampliar y estructurar las actividades de manera más especializada con un enfoque de desarrollo comunitario. Los miembros de la Fundación Chankuap son sacerdotes salesianos que trabajan con los Grupos Achuar y Shuar desde hace más de 25 años. (Chankuap, 2012)

A través de su laboratorio está autorizada a producir alimentos, productos naturales, fitofármacos y cosméticos, con todo el respaldo técnico de personal calificado e infraestructura adecuada, garantizando que todas las actividades implementadas estén dentro de la lógica del desarrollo sustentable.

1.5. Emulsiones

Una emulsión es una dispersión termodinámicamente inestable de dos o más líquidos inmiscibles o parcialmente miscibles. Los diámetros de las gotas líquidas que se encuentran dispersas tienen un rango de 0.1 y 20 μm . Aunque se traten de dispersiones termodinámicamente inestables, las emulsiones pueden convertirse en cinéticamente estables gracias a la presencia del agente tenso activo que presentan la capacidad de absorción en las superficies de las gotas. (Riera, 2004, pág. 29)

En la mayoría de las emulsiones una de las fases es acuosa y la otra un aceite no polar. Las emulsiones con el aceite como fase dispersa se conocen como emulsiones de aceite en agua (oil-in-water, o/w) y las emulsiones con agua como fase dispersa se conocen

como emulsiones de agua en aceite (water-in-oil, w/o) (Aranberri, Binks, P, & Fletcher, 2006, pág. 221).

El tipo de emulsión que se tiende a formar depende del balance entre las propiedades hidrófilas e hidrófobas del agente emulsificante. Generalmente se suele cumplir la regla de Bancroft: la fase continua es aquella la cual solubiliza al agente emulsificante. La naturaleza anfótera de los agente tensioactivos puede ser expresado en términos de una escala empírica que comúnmente se denomina el balance HLB (balance hidrófilo-lipófilo). Se han establecido varias ecuaciones para calcular los valores de HLB y a los agentes tensioactivos menos hidrófilos le les ha asignado los valores de HLB más bajos. Sin embargo, el número de HLB es asignado al agente tensioactivo puro y suele diferir del comportamiento del mismo en disolución. El valor HLB puede variar en función del tipo de electrolito, temperatura y tipo de aceite debido a que modifican la geometría de la capa de agentes tensioactivos en la interfase y por lo tanto varían su curvatura preferida. (Bello, 2000, pág. 76)

El proceso de ruptura de las emulsiones puede ocurrir mediante cuatro mecanismos de inestabilidad diferentes:

- “Creaming”/sedimentación. Se trata de un proceso causado por la acción de la gravedad y produce un gradiente vertical de concentración de las gotas sin variar la distribución del tamaño de las mismas.
- La floculación es la adhesión de las gotas sin fusionarse y una vez más no existe una variación en la distribución de tamaño de gotas.
- Coalescencia es la fusión de gotas para crear unas gotas más grandes con la eliminación de parte de la interfase líquido/líquido.
- Engrosamiento de gotas (Ostwald ripening). Se debe al crecimiento de las gotas más grandes a costa de las más pequeñas hasta que éstas últimas prácticamente desaparecen. (Mosquera, 2005, pág. 29)

1.5.1. Formulación de emulsiones

Para que una emulsión sea estable y tenga una cierta razón de coalescencia se debe considerar:

- Parámetros físicos
- Parámetros químicos

Los parámetros físicos más importantes a considerar en la formación de una emulsión son:

- “Calor
- Temperatura de inversión de fases
- Variación de la temperatura
- Emulsificación de baja energía” (Osorio, 2012, pág. 36)

Los siguientes pasos son útiles en la formulación de una emulsión:

- Escoger el agente emulsificante de acuerdo a la emulsión requerida, O/W o W/O.

El porcentaje en volumen de la fase interna afecta al tipo de emulsión formada. La fase en mayor proporción tiende a volverse la fase externa. Emulsiones con fases internas mayores del 50% son difíciles de producir y manipular. La temperatura de emulsificación debe establecerse. La tensión interfacial y la viscosidad disminuyen con incrementos de temperatura. (Aulton, 2004, pág. 342)

- “Preparar las dos fases por separado.
- Solubilizar los agentes emulsificantes en la fase a la que sean más afines.
- Agregar gradualmente la fase interna a la externa.” (Ramos, 1999, pág. 11)

1.5.2. Uso de las emulsiones

En la actualidad las emulsiones han tenido una gran acogida en las diferentes industrias como son la industria alimenticia en la que se le es utiliza para mejorar su sabor, en la industria farmacéutica sirve para la elaboración de jarabes y nanoemulsiones.

“También se las utiliza para la fabricación de barnices, suavizantes textiles, brillantadores automotrices, adhesivos y aditivos alimentarios.” (Osorio, 2012, pág. 38)

1.5.3. BHL en emulsiones

El Balance Hidrófilo Lipófilo o BHL es una escala que toma valores entre 0 y 20 y que describe características del surfactante. Si el valor de BHL es muy bajo existen pocos grupos hidrofílicos, ej. Span 80 tiene un BHL de 4,3 y es soluble en aceite. Un BHL alto indica un gran número de grupos hidrofílicos y es soluble en agua, ej. Tween 80, BHL 16,7, soluble en agua. Los tensioactivos presentan diferentes aplicaciones de acuerdo a su valor de BHL como se indica en la tabla 6. (Bello, 2000, pág. 119)

Tabla 6. Índices de BHL referencial de emulgentes

BHL	Aplicación
1-3	Antiespumante
3-6	Emulsificante (w/o)
7-9	Humectantes
8-18	Emulsificante (o/w)
13-16	Detergentes
16-18	Solubilizantes

Nota: cantidad referencial de BHL en emulgentes
Fuente: (Osorio, 2012, pág. 16)

1.5.4. Agentes tensoactivos

La clasificación se fundamenta en el poder de disociación del tensoactivo en presencia de un electrolito y de sus propiedades fisicoquímicas. (Moore, 1990, pág. 702)

- a) “Tensoactivos aniónicos: son aquellas moléculas en las cuales el ion tensoactivo está cargado negativamente en solución.” (Aulton, 2004, pág. 344)

- b) “Tensoactivos catiónicos: se caracterizan por el hecho de que el ion tensoactivo está cargado positivamente en solución acuosa.” (Moore, 1990, pág. 702)

- c) “Tensoactivos no iónicos: se caracterizan por el hecho de que la parte hidrófila de la molécula generalmente está constituida por una multiplicidad de pequeños grupos polares no cargados.” (Aulton, 2004, pág. 344)

- d) “Tensoactivos anfóteros: se caracterizan por su capacidad para formar un ion tensoactivo con cargas tanto positivas como negativas.” (Moore, 1990, pág. 703)

1.5.5. Polisorbato 20 (Tween 20)

- Sinónimos: Polisorbato 20. Polioxietilen20 sorbitan monolaurato. Sorbimacrogol laurato 300. E-432. INCI: Polysorbate -20.

- Descripción: Líquido oleoso, amarillo o amarillo pardusco, límpido o ligeramente opalescente. Soluble en agua etanol anhidro, acetato de etilo y metanol. Prácticamente insoluble en aceites grasos y en parafina líquida.
- Densidad: aprox. 1,10g/mL.
- HLB: 16,7.
- Fórmula Molecular: C₅₈H₁₁₄O₂₆
- Peso Molecular: 1227,5 (Dissan, 2015, pág. 1)

1.6. Toxicidad

1.6.1. Toxicología

La toxicología según la OMS (Organización Mundial de la Salud) ha sido definida como:

Disciplina que estudia los efectos nocivos de los agentes químicos y de los agentes físicos (agentes tóxicos) en los sistemas biológicos y que establece además, la magnitud del daño en función de la exposición de los organismos vivos a dichos agentes. Se ocupa de la naturaleza y de los mecanismos de las lesiones y de la evaluación de los diversos cambios biológicos producidos por los agentes nocivos. (Lucio, 2011, pág. 5)

La toxicología ambiental hace referencia a los efectos dañinos de las sustancias químicas o agentes tóxicos que están presentes en el aire, agua, suelo, alimentos u otros factores

ambientales y a los cuales están expuestos el hombre, animales domésticos, peces, vida silvestre y otros elementos de la naturaleza. Estudia los efectos adversos de los agentes ambientales sobre los organismos vivos. (Lucio, 2011, pág. 8)

En la toxicología es de gran importancia conocer el potencial tóxico de la sustancia que esté generando el efecto adverso, para poder evaluar el peligro que representa. El efecto tóxico es producido por uno o varios agentes tóxicos sobre un organismo, población o comunidad que se manifiesta por cambios biológicos. Su grado se evalúa por una escala de intensidad o severidad y su magnitud está relacionada con la dosis (cantidad de sustancia administrada, expresada generalmente por unidad de peso corporal) o la concentración (sustancia aplicada en el medio) del agente tóxico, la descripción de esos procesos tiene por objetivo principal entender las causas de la gran variabilidad que existe en la respuesta de los diferentes individuos y especies a la agresión química. (Campo Marti, 2002, pág. 33)

1.6.2. Ecotoxicología

Se refiere a la ciencia que estudia los efectos de las sustancias tóxicas sobre los organismos individuales, enfocado a dos efectos ecológicos importantes de los contaminantes: La toxicidad directa sobre los organismos y las alteraciones del medio ambiente en el cual viven los organismos. (INECC, 2005, pág. 54)

Desde una perspectiva ecotoxicológica, el hecho de que un contaminante pueda matar al 50% de los individuos de una población puede significar poco o nada, pero si ese contaminante retarda el desarrollo o madurez de un número importante de individuos pueden presentarse importantes alteraciones ecológicas. Se puede decir que la ecotoxicología se encarga del estudio de los efectos adversos de las sustancias en los

ecosistemas, mediante el análisis de las rutas de exposición, la entrada al organismo y efectos nocivos en individuos, poblaciones y comunidades. (INECC, 2005, pág. 25)

Los estudios ecotoxicológicos, se componen de tres secuencias:

1) La liberación del contaminante que abarca su formación, los medios y vías de transporte (suelo, aire, agua, alimentos y otros.), los factores que influyen en su difusión, sus absorciones geológicas y las posibles alteraciones de sus propiedades fisicoquímicas debidas a los diversos componentes abióticos del ecosistema. (Martí, 2003, pág. 102)

2) El ingreso de los contaminantes en el medio biológico, es decir, su entrada en las cadenas biológicas, alimentarias, de comunidad y otros.

3) Calificación y cuantificación de los efectos patológicos sobre los seres vivos y sus ecosistemas, con sus respectivas implicaciones epidemiológicas (Martí, 2003, pág. 102).

La ecotoxicología también se caracteriza por llevar a cabo un diagnóstico evaluativo, que tiende a la predicción, y que se fundamenta en tres parámetros:

- La determinación de la dosis del ambiente,
- La evaluación de la carga y
- La predicción del riesgo. (Zambrano & Beltrán, 2008, pág. 30)

De forma habitual, en los estudios ecotoxicológicos se utilizan bioindicadores que alertan de posibles perturbaciones e indican la situación de un ecosistema. Su empleo, proporciona información rápidamente, cuando se utilizan, especies muy sensibles, denominados animales centinela. (Martí, 2003, pág. 103)

1.6.3. Efectos toxicológicos

La ecotoxicología se vale de dos herramientas básicas para realizar sus investigaciones: el monitoreo ambiental y el monitoreo biológico.

El monitoreo ambiental establece las formas mediante las cuales se liberan los compuestos y determinan cuál es su destino en el ambiente. Es un procedimiento para detectar la presencia y cuantificar las concentraciones de los contaminantes en los diferentes medios ya sean aire, agua, suelo y sedimentos. Un buen monitoreo ambiental debe considerar un muestreo representativo, técnicas adecuadas para la colecta y preservación de las muestras, así como métodos apropiados de extracción y análisis. (INECC, 2005, pág. 26)

El monitoreo biológico, consiste en evaluar los efectos adversos de los contaminantes sobre los individuos, poblaciones, comunidades y ecosistemas que han estado expuestos. Por tal motivo, se pueden realizar pruebas en el laboratorio o estudios en campo. (INECC, 2005)

En los estudios de campo se evalúan los impactos de los contaminantes sobre los organismos que representan varios niveles tróficos en el ecosistema, bajo las condiciones reales que se presentan en el ambiente. Se considera por lo tanto el efecto de todas las sustancias presentes y sus interacciones a, así como los efectos de los factores climáticos y abióticos, tales como la temperatura, contenido de oxígeno, pH, dureza, aireación, salinidad, radiación solar, etc. En estos estudios se miden los cambios en las poblaciones que se desvían de la normalidad; sin embargo, en muchos casos es difícil conocer con exactitud cuál es la variación natural que se presenta en estas poblaciones, tanto en el tiempo como en el espacio. Entre las respuestas que pueden evaluarse en los

estudios de campo se encuentran: la reducción en la productividad o generación de biomasa, la disminución de la abundancia y distribución de especies, los cambios en la estructura trófica, etc. (INECC, 2005)

1.6.4. Pruebas de toxicidad

Una prueba de toxicidad involucra un agente o estímulo (por ejemplo, un pesticida, un metal pesado o una muestra ambiental con contaminantes químicos), el cual es aplicado a un organismo o grupo de organismos (por ejemplo, un cultivo bacteriano o de un alga, animales, o plantas) al que se denominará sujeto, sobre el que se evalúa una cierta respuesta preseleccionada. La magnitud de la dosis puede medirse como un peso, un volumen o una concentración. (Zambrano & Beltrán, 2008, pág. 31)

La respuesta del sujeto se valora mediante la cuantificación final de alguna característica (comportamiento errático, consumo de oxígeno, operculamiento, estrés etcétera), el cambio de ella o por la ocurrencia o no de un determinado fenómeno (muerte, inhibición del crecimiento, etcétera).

La respuesta dependerá de la dosis aplicada, las pruebas de toxicidad suelen diseñarse utilizando diferentes dosis. La información obtenida de este tipo de ensayos permite la cuantificación de la relación entre las dos variables (dosis y respuesta) como muestra la figura 4. (Zambrano & Beltrán, 2008, pág. 32)

Relación Dosis - Respuesta

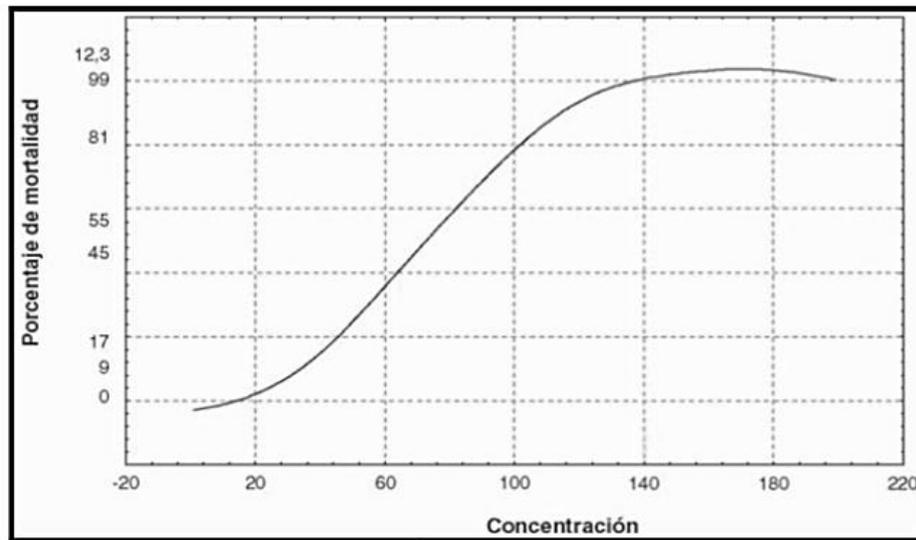


Figura 4. Curva de relación dosis – respuesta en test de toxicidad.

Fuente: ULUS ROSSINI, Gustavo Daniel; Díaz Baez, María Consuelo; PICA GRANADOS, Yolanda, Capítulo 5. Métodos Estadísticos para el Análisis de Resultados de Toxicidad.

Habitualmente, las pruebas de toxicidad se diseñan para comparar o estimar la potencia de un agente con relación a una preparación estándar o control . Es importante destacar que la respuesta a una dosis en particular se verá afectada en mayor o menor medida por factores no controlados durante el experimento. (Zambrano & Beltrán, 2008, pág. 33)

Para la detección de efectos tóxicos se utilizan los bioensayos; que desde el punto de vista toxicológico, son pruebas para medir la potencia de una sustancia fisiológicamente activa, de actividad desconocida. (Zambrano & Beltrán, 2008, pág. 33)

1.6.5. Tipos de prueba de toxicidad

“Las pruebas de toxicidad se definen de acuerdo a la duración del experimento y a la forma de adicionar el tóxico.” (Reyes, 1996, pág. 4)

1.6.5.1. Toxicidad aguda

Se realizan durante períodos de tiempo breves, que generalmente están entre 48 y 96 horas. Se seleccionan individuos de edad muy concreta, la corta duración de esta prueba hace que sólo se analice el efecto sobre una parte muy pequeña del ciclo de vida del organismo. (Donal J. Ecobichon, 1997, pág. 38)

1.6.5.2. Toxicidad subaguda

Los organismos son expuestos al agente tóxico diariamente durante períodos que oscilan entre 1 a 4 semanas, pudiendo o no provocar la muerte del sujeto. (Donal J. Ecobichon, 1997, pág. 39)

1.6.5.3. Toxicidad subcrónica

Los estudios de toxicidad suelen durar 3 meses. (Donal J. Ecobichon, 1997, pág. 39)

1.6.5.4. Toxicidad crónica

Se realizan por períodos de tiempo que oscilan entre los 6 meses, dependiendo de las especies usadas y el tipo de dato deseado. Este tipo de bioensayos también se utiliza para evaluar la toxicidad subletal o crónica, utilizando como parámetro de control la tasa de crecimiento, la reproducción u otro parámetro. (Donal J. Ecobichon, 1997, págs. 38-40)

1.6.6. Factores que afectan la toxicidad

Las características del agua como las de los microorganismos pueden modificar la toxicidad de los contaminantes presentes en el agua. Por consiguiente se deben eliminar los factores extraños que pueden afectar las pruebas de toxicidad, teniendo un control en las mismas de oxígeno disuelto, pH, dureza y temperatura, con este registro se mantiene un valor constante de estos parámetros, eliminando así todas las variables excepto la concentración del tóxico. (Cruz, Díaz, & Reyes, 1996, pág. 15)

Las características bióticas como las abióticas actúan, como factores modificantes de la toxicidad. Las bióticas incluyen todos los factores que son inherentes a los microorganismos; entre ellas:

- Especies, toda vez que una especie puede responder en forma diferente a otra especie frente a un tóxico dado.
- Estado de la vida (larva, joven, adulto)
- Tamaño del individuo
- Estado nutricional y salud del individuo. (Cruz, Díaz, & Reyes, 1996, pág. 19)

CAPÍTULO 2

MARCO METODOLÓGICO

2.1. Ubicación geográfica

La presente investigación se llevó a cabo en el sector de La Pulida al norte de la ciudad de Quito con coordenadas $0^{\circ}0,8'25.85''$ S $78^{\circ}30'06.47''$ W donde existieron las facilidades y condiciones adecuadas para llevar a cabo la experimentación y monitoreo del estudio.

2.2. Adecuación de las peceras

Materiales y Equipos

- Láminas de vidrio simple de 3 líneas.
- Silicona para peceras
- Lija de agua
- Frascos de polietileno
- Mangueras de distinto diámetro
- Plumón
- Carbón activo
- Bomba de aire de 4 salidas
- Llaves difusoras de aire

2.2.1. Procedimiento

Para la elaboración de las peceras se procedió al armado de las mismas para llegar a tener una capacidad aproximada de 8 galones, pegando las láminas de vidrio

previamente cortadas y lijadas con Silicona antifúngica, lo que evita la proliferación de hongos. Para el armado de los filtros de aire se procedió a realizar cortes al frasco, donde se incorpora el plumón envuelto con el carbón activado, y las conexiones con mangueras que permitan el adecuado paso del aire por el filtro.

Para el cálculo del volumen de las peceras, se procedió de la siguiente manera:

Volumen de la pecera = largo (cm)x ancho (cm)x alto(cm)

Volumen de la pecera = 50 cm x 25 cm x 25 cm

Volumen de la pecera = 31,250 cm³

Para darle funcionalidad a la pecera fue necesario considerar un volumen total de 30,000 cm³ equivalentes a 30 litros de agua.

2.3. Obtención de la población de estudio.

La población de la especie Barbus rosado (*Puntius conchoni*) se obtuvo del criadero TamboQuinde –Tandayapa ubicado en el noroccidente de la provincia de Pichincha con coordenadas 0°0'42.24" N 78°40'22.025" W.

2.4. Evaluación de las condiciones físico-químicas del agua

Materiales y Equipos

- Potenciómetro WTW 90
- Conductivímetro LF 96
- Termómetro de mercurio
- Oxímetro
- Titulador digital HACH.

2.4.1. pH del agua de las unidades experimentales (peceras)

La lectura del pH se tomó cuatro veces a las 0, 24, 48 y 96 horas por cada dosis y en cada uno de los tratamientos con la ayuda del potenciómetro WTW 90.

2.4.2. Temperatura del agua de las unidades experimentales (peceras)

Los control es de temperatura se realizaron diariamente mediante un termómetro de mercurio graduado en 0.2 grados.

2.4.3. Conductividad del agua de las unidades experimentales (peceras)

La lectura de la conductividad se realizó con el conductivímetro LF 96 a las 0, 24, 48 y 96 horas por cada dosis y cada uno de los tratamientos.

2.4.4. Dureza del agua de las unidades experimentales (peceras)

La dureza fue determinada mediante el método de titulación con EDTA para lo cual se utilizó un titulador digital HACH a las 0, 24, 48 y 96 horas

2.4.5. Oxígeno disuelto del agua de las unidades experimentales (peceras)

El oxígeno disuelto será determinado mediante el oxímetro Mettler Toledo SG6-FK2 a las 0, 24, 48 y 96 horas

2.5. Preparación de las emulsiones

Materiales y Equipos

- Aceite esencial de hierba luisa y cúrcuma
- Tween 20
- Agua destilada
- Vasos de precipitación
- Probetas
- Pipetas

2.5.1. Procedimiento

Para la formulación de la emulsión se procedió a realizar una emulsión madre con una concentración al 1% V/V del aceite esencial y 1% V/V del emulsificante en la totalidad de 4 litros de la emulsión madre.

2.6. Determinación de las dosis experimentales

Materiales y Equipos

- Matraces
- Pipetas
- Balanza
- Peras

2.6.1. Procedimiento

Se llegaron a determinar cuatro dosis experimentales consideradas como: baja, media, media alta y alta. Estas dosis fueron establecidas considerando un rango dado por el nivel de toxicidad reportado para el agente emulsionante Tween 20 y a partir de la dosis recomendada de formulaciones comerciales preparadas con otros aceites esenciales.

Las dosis se encuentran en una relación de mL/L en la tabla 7.

Tabla 7. Concentración de las dosis experimentales

Dosis	Concentración (mL/L)
Baja	0,2
Media	1,0
Media alta	10,0
Alta	20,0

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Para determinar las cantidades volumétricas de las diferentes dosis de la emulsión madre que se van a aplicar por cada tratamiento se procedió de la siguiente manera:

Dosis baja

Concentración: $0,2 \frac{mL}{L}$

$$X = \frac{0,2 \text{ mL de Emulsión Madre} * 30 \text{ L del volumen de la pecera}}{1 \text{ L del volumen de la pecera}}$$

X = 6 mL de la Emulsión Madre

Dosis Media

Concentración: $1 \frac{mL}{L}$

$$X = \frac{1 \text{ mL de Emulsión Madre} * 30 \text{ L del volumen de la pecera}}{1 \text{ L del volumen de la pecera}}$$

X = 30 mL de la Emulsión Madre

Dosis Media Alta

Concentración: $10 \frac{mL}{L}$

$$X = \frac{10 \text{ mL de Emulsión Madre} * 30 \text{ L del volumen de la pecera}}{1 \text{ L del volumen de la pecera}}$$

X = 300 mL de la Emulsión Madre

Dosis Alta

Concentración: $20 \frac{mL}{L}$

$$X = \frac{20 \text{ mL de Emulsión Madre} * 30 \text{ L del volumen de la pecera}}{1 \text{ L del volumen de la pecera}}$$

X = 600 mL de la Emulsión Madre

Es decir, se requiere un total de 1248 mL por cada emulsión madre y cada repetición; al ser 3 repeticiones se requiere un total de 3744 mL de cada emulsión madre.

Se consideró una cantidad total de 4000 mL de las emulsiones madre para realizar las tres repeticiones establecidas en la metodología.

$$\begin{array}{rcl} 1 \text{ mL de aceite esencial} & \longrightarrow & 100\text{mL de solución} \\ X & \longleftarrow & 4000 \text{ mL de solución} \\ X= 40 \text{ mL de aceite esencial} \end{array}$$

Fórmula 1

- Volumen total de la emulsión 4000mL
- Aceite esencial de Hierba luisa 40 mL
- Polisorbato 20 (Tween 20) 40 mL
- Agua c.s.p (cantidad suficiente para)

Fórmula 2

- Volumen total de la emulsión 4000mL
- Aceite esencial de Cúrcuma 40 mL
- Polisorbato 20 (Tween 20) 40 mL
- Agua c.s.p

Fórmula 3

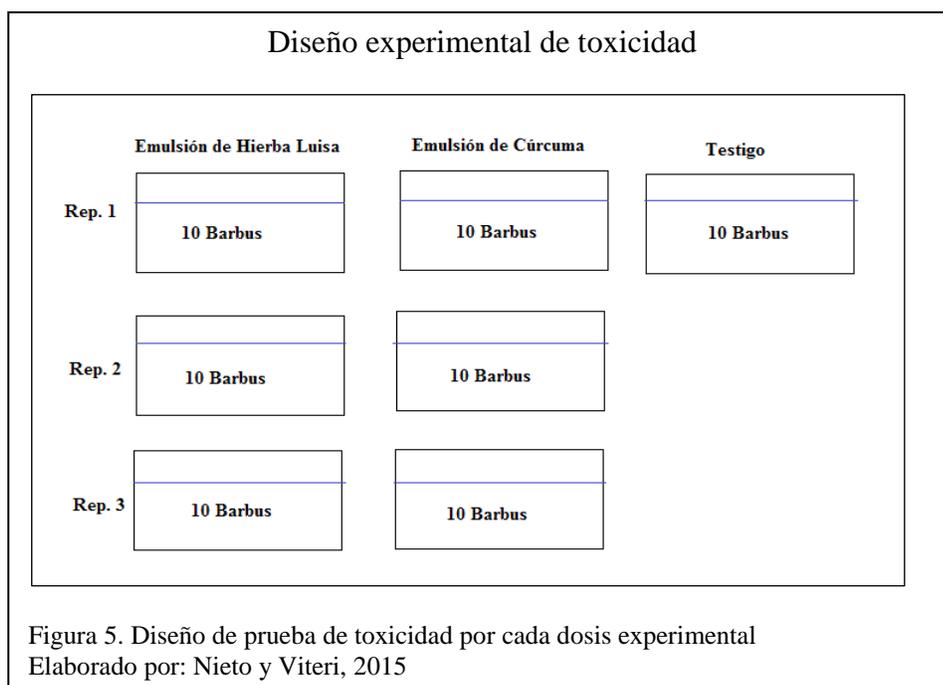
- Volumen total de la emulsión 4000mL
- Polisorbato 20 (Tween 20) 40 mL
- Agua c.s.p

2.7. Pruebas de toxicidad

2.7.1. Materiales y equipos

- Peceras
- Emulsiones madre de hierba luisa y cúrcuma
- Barbus rosado

2.7.2. Procedimiento



Se realizó tres repeticiones por cada dosis (baja, media, media alta y alta), en cada repetición se utilizaron 10 Barbus rosado, esto se realizó por cada emulsión con aceite esencial de hierba luisa y cúrcuma. En el caso del testigo se utilizó una sola pecera con 10 Barbus rosado como se muestra en la figura 5.

2.8. Análisis de parámetros de comportamiento

2.8.1. Procedimiento

Una vez dosificada la cantidad de aceite esencial por cada una de las dosis (baja, media, media alta y alta), se procedió a observar los efectos producidos destacando en la tabla 8 los parámetros de importancia en pruebas de toxicidad en peces:

Tabla 8. Parámetros de comportamiento a evaluar

Parámetro	Presente	Ausente
Operculamiento		
Respiración disminuida		
Agitación		
Estrés		
Problemas de vejiga natatoria		
Mucosidad		

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Los control es de todos estos parámetros se realizaron a las 24, 48 y 96 horas después de la dosificación de las emulsiones de hierba luisa y cúrcuma. Se observó y reportó los cambios producidos.

Al ser un estudio de toxicidad subaguda, se obtuvo una mortalidad de los peces en relación al efecto de las dosis más altas, y se tomó como una variable cuantitativa de análisis estadístico.

2.9. Análisis estadístico

2.9.1. Análisis de varianza de un factor (ANOVA)

Este análisis estadístico nos permitió comparar varios grupos de una variable cuantitativa con lo que se puede concluir si los sujetos sometidos a distintos programas fueron diferentes a la medida de rendimiento utilizada. Aplicando éste estadístico con una significancia de ($p < 0,05$), permitió diferenciar que dosis de emulsión con aceites esenciales causa efectos tóxicos.

2.9.2. Análisis de varianza de dos factores (ANOVA)

Este análisis estadístico nos permitió estudiar simultáneamente los efectos de dos fuentes de variación con lo que se puede concluir si los sujetos sometidos a diferentes programas fueron diferentes a la medida de rendimiento utilizada.

2.9.3. Test de comparación de Tukey

Es un test *post hoc*, que se realizó luego de un análisis de varianza; al demostrar que existe una diferencia significativa entre los tratamientos, permitió identificar cuáles son los pares de medias diferentes, calculando un valor mínimo necesario para considerar diferentes dos o más tratamientos.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Evaluación de las condiciones físico-químicas del agua en las unidades experimentales

3.1.1. pH en el agua de las unidades experimentales (peceras)

Los resultados de la cuantificación de pH se obtuvieron antes de la dosificación y a las 24, 48 y 96 horas después de la dosificación. Los datos obtenidos se reportan a partir de la tabla 9 hasta la tabla 20 como se muestran a continuación:

Tabla 9. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis baja de cúrcuma

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	7.45	7.38	7.41
24 horas	7.63	7.66	7.64
48 horas	7.22	7.20	7,20
96 horas	7.50	7.40	7,45

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según los resultados arrojados por el ANOVA de un factor obtenido a partir de la tabla 9, se demostró que si existe diferencia significativa entre tratamientos ($p= 0.001$).

Tabla 10. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis baja de hierba luisa

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	7.51	7.49	7.54
24 horas	7.62	7.63	7.62
48 horas	7.40	7.30	7.35
96 horas	7.60	7.66	7.64

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a partir de la tabla 10, arrojo un resultado de $p=0.780$ lo que nos indica que no hubo diferencia significativa.

Tabla 11. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis baja Control

	Repetición 1
0 horas	7.55
24 horas	7.66
48 horas	7.29
96 horas	7.50

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 12. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis media de cúrcuma

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	7.56	7.52	7.50
24 horas	7.56	7.49	7.48
48 horas	7.54	7.47	7.46
96 horas	7.53	7.47	7.45

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según los resultados arrojados por el ANOVA de un factor obtenidos a partir de la tabla 12, se evidencio que no existe diferencia significativa entre tratamientos ($p=0.567$).

Tabla 13. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis media de hierba luisa

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	7.50	7.50	7.51
24 horas	7.43	7.54	7.50
48 horas	7.46	7.52	7.50
96 horas	7.43	7.51	7.48

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a la tabla 13 arrojó un resultado de $p=0.010$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 14. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis media del control

	Repetición 1
0 horas	7.55
24 horas	7.52
48 horas	7.51
96 horas	7.50

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 15. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis media alta de cúrcuma

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	7.45	7.53	7.48
24 horas	7.48	7.55	7.51
48 horas	7.50	7.56	7.53

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según los resultados arrojados por el ANOVA de un factor obtenido a partir de la tabla 15, no existe diferencia significativa entre tratamientos ($p= 0.380$)

Tabla 16. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis media alta de hierba luisa

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	7.22	7.36	7.31
24 horas	7.25	7.39	7,35
48 horas	7.28	7.41	7.38

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a la tabla 16 arrojó un resultado de $p=0.003$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 17. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis media alta del control

	Repetición 1
0 horas	7.15
24 horas	7.31
48 horas	7.36
96 horas	7.40

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 18. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis alta de cúrcuma

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	7.42	7.36	7.39
24 horas	7.46	7.36	7.41

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según los resultados arrojados por el ANOVA de un factor obtenido a partir de la tabla 18, no existe diferencia significativa entre tratamientos ($p= 0.584$).

Tabla 19. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis alta de hierba luisa

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	7.25	7.10	7.22
24 horas	7.33	7.29	7.30

Nota: Nieto y Viteri, 2015

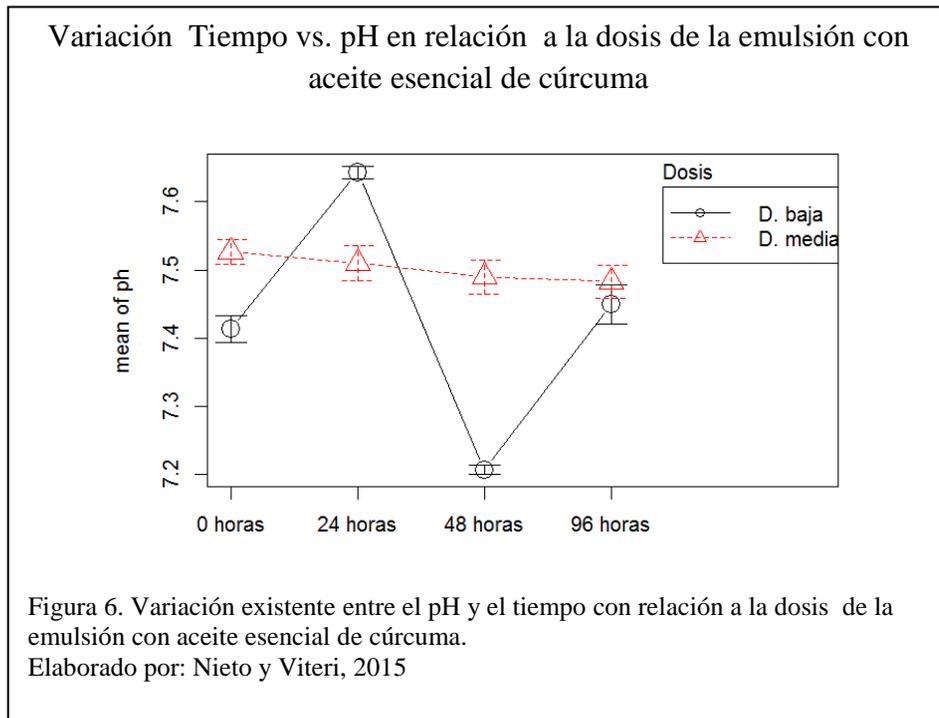
Según los resultados arrojados por el ANOVA de un factor obtenido a partir de la tabla 19, no existe diferencia significativa entre tratamientos ($p= 0.613$).

Tabla 20. Resultados de pH en el agua de las peceras en dosis alta del control

	Repetición 1
0 horas	7.05
24 horas	7.33

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Analizando los datos obtenidos de la tabla 9 hasta la tabla 20 se obtiene un promedio general de pH en todas las dosis con emulsión de aceite esencial de cúrcuma de 7,46; emulsión de aceite esencial de hierba luisa de 7,40; y en el control de 7,38.



La figura 6 muestra el ANOVA de una vía entre el pH y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma, evidenciando diferencias entre las dosis baja y media, obteniendo un $p < 0,05$.

Variación Tiempo vs. pH en relación a la dosis de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa

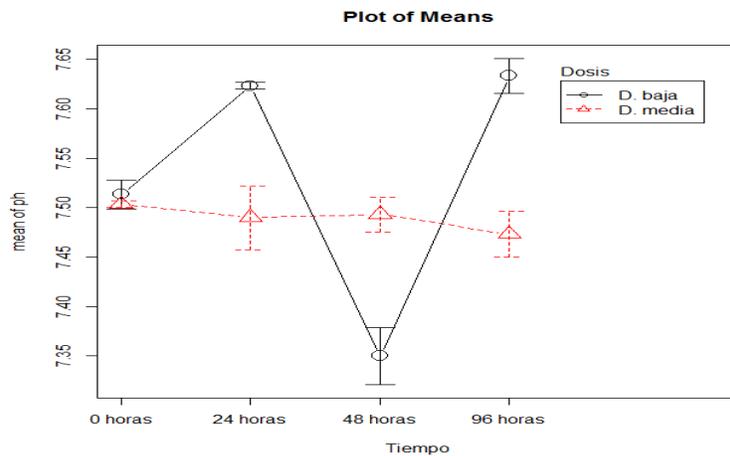


Figura 7. Variación existente entre el pH y el tiempo con relación a la dosis de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa. Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

La figura 7 muestra el ANOVA de dos vías entre el pH y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa, evidenciando las diferencias entre las dosis baja y media, dando un $p=0,000$.

3.1.2. Conductividad

Los resultados de la medición de conductividad cuyas unidades son $\mu S\ cm^2$ se obtuvieron antes de la dosificación y a las 24, 48 y 96 horas después de la dosificación. Los datos obtenidos se reportan a partir de la tabla 21 hasta la tabla 32.

Tabla 21. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis baja de cúrcuma.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	99.9	100.0	101.1
24 horas	100.0	100.1	100.0
48 horas	102.2	101.9	102.5
96 horas	103.7	104.5	104.1

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a la tabla 21 arroja un resultado de $p=0.007$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 22. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis baja de hierba luisa.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	103.0	99.2	100.0
24 horas	103.8	99.2	101.1
48 horas	105.4	99.2	102.3
96 horas	106.9	99.6	103.2

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según los resultados arrojados por el ANOVA de un factor obtenido a partir de la tabla 22, no existe diferencia significativa entre tratamientos ($p= 0.728$).

Tabla 23. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis baja del control

	Repetición 1
0 horas	99.2
24 horas	99.4
48 horas	99.3
96 horas	100.0

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 24. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis media de cúrcuma.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	92.4	91.9	92.1
24 horas	94.0	92.5	93.0
48 horas	95.1	92.9	93.1
96 horas	95.2	93.0	93.2

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según los resultados arrojados por el ANOVA de un factor obtenido a partir de la tabla 24, no existe diferencia significativa entre tratamientos ($p= 0.201$).

Tabla 25. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis media de hierba luisa.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	92.0	92.3	92.1
24 horas	93.0	93.0	92.8
48 horas	93.3	93.2	93.1
96 horas	93.6	93.5	93.3

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a la tabla 25 arrojó un resultado de $p=0.009$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 26. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis media del control.

	Repetición 1
0 horas	91.9
24 horas	93.4
48 horas	93.7
96 horas	94.0

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 27. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis media alta de cúrcuma.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	96.0	93.2	94.3
24 horas	98.8	96.9	97.5
48 horas	99.7	98.1	98.8

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a la tabla 27 arrojó un resultado de $p= 0.006$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 28. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis media alta de hierba luisa.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	94.9	93.7	93.1
24 horas	98.3	96.9	97.0
48 horas	99.1	97.5	97.3

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a la tabla 28 arrojó un resultado de $p= 0.002$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 29. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis media alta del control

	Repetición 1
0 horas	94.9
24 horas	95.6
48 horas	96.1
96 horas	96.3

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 30. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis alta de cúrcuma.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	92.3	95.5	95.8
24 horas	98.0	100.7	100.3

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a la tabla 30 arrojó un resultado de $p= 0.021$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 31. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis alta de hierba luisa.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	91.1	94.6	95.1
24 horas	97.4	101.7	100.9

Nota: Nieto y Viteri, 2015

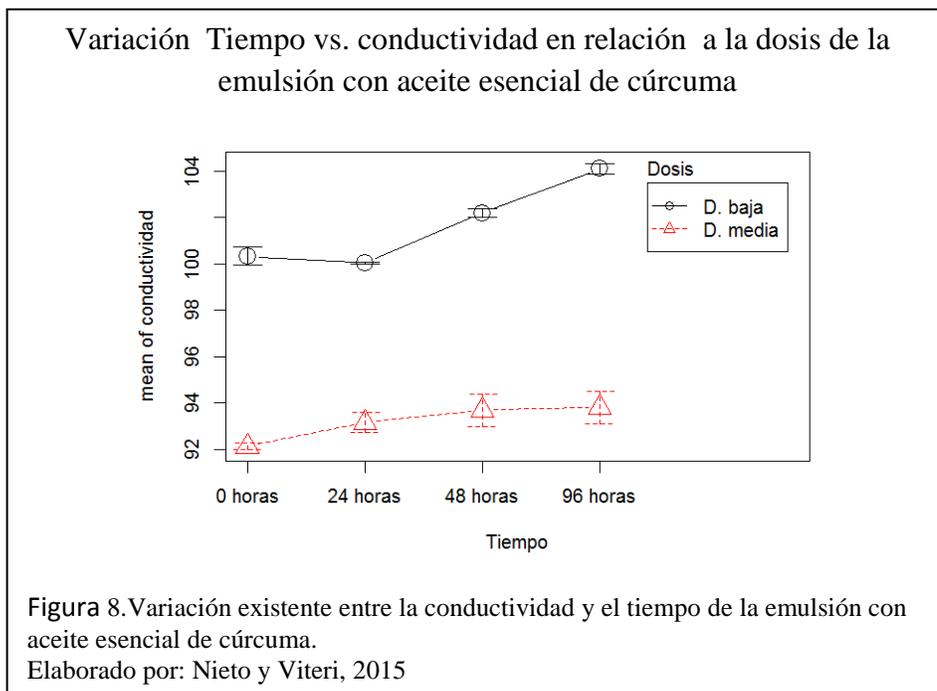
El ANOVA de una vía realizado a la tabla 31 arrojó un resultado de $p= 0.024$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 32. Resultados de conductividad en el agua de las peceras en dosis alta del control

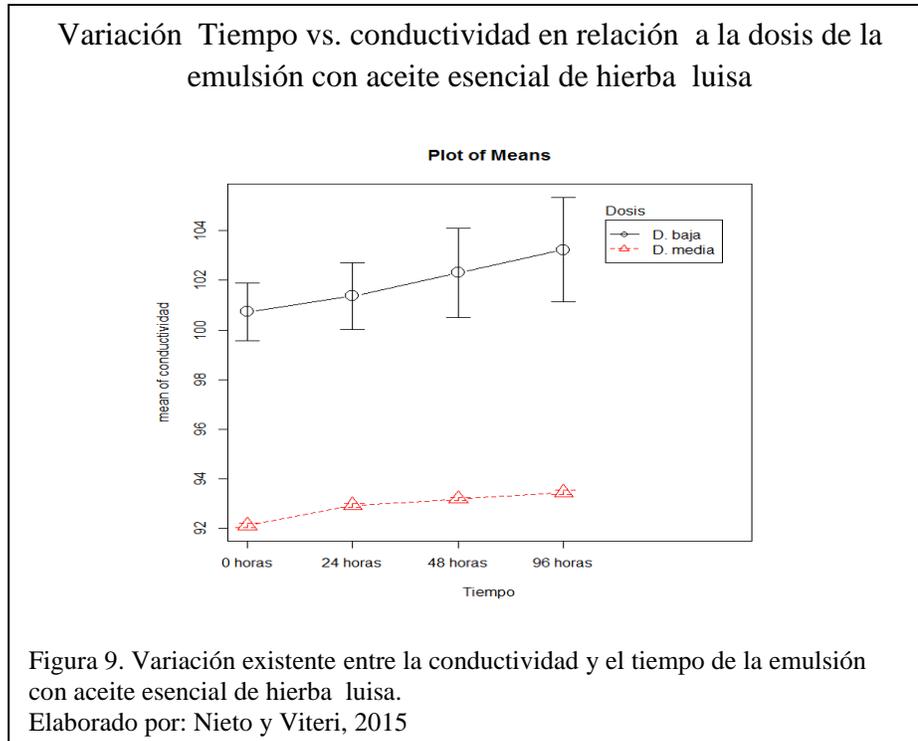
	Repetición 1
0 horas	94.4
24 horas	95.7

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Analizando los datos de las diferentes tablas mencionadas de conductividad se obtiene un promedio general en todas las dosis con emulsión de aceite esencial de cúrcuma de $101,1 \mu S \text{ cm}^2$; Emulsión de aceite esencial de Hierba luisa de $92,93 \mu S \text{ cm}^2$; y en el control de $96,42 \mu S \text{ cm}^2$. Este parámetro es importante para determinar la cantidad de sales disueltas en el agua. Una agua blanda tendrá una conductividad entre 0 y $200 \mu S \text{ cm}^2$, mientras que una agua dura podrá pasar los $600 \mu S \text{ cm}^2$. (Riehl, 1994, pág. 427)



La figura 8 muestra el ANOVA de dos vías entre la conductividad y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma, evidenciando las diferencias entre las dosis baja y media, dando un $p=0,008$.



La figura 9 muestra el ANOVA de dos vías entre la conductividad y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa, permitiendo ver las diferencias entre la dosis baja y media, dando un $p=0,939$.

3.1.3. Temperatura

Los resultados de la medición de temperatura se obtuvieron antes de la dosificación y a las 24, 48 y 96 horas después de la dosificación. El promedio de los datos obtenidos se reportan en la tabla 33.

Tabla 33. Temperaturas promedio

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
Dosis baja	16.5	16.5	16.5
Dosis media	16.4	16.4	16.4
Dosis media alta	16.4	16.4	16.4
Dosis alta	16.6	16.6	16.6

Nota: Nieto y Viteri, 2015

La tabla 33 muestra los resultados del promedio de temperatura en cada pecera dando como media 16.5 °C lo cual indica que es apta para la supervivencia del pez debido a que esta especie no es exigente en cuanto a la temperatura.

3.1.4. Dureza

Los resultados de la medición de dureza se obtuvieron antes de la dosificación y a las 24, 48 y 96 horas después de la dosificación. Los datos obtenidos se reportan a partir de la tabla 34 hasta la tabla 45.

Tabla 34. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis baja de cúrcuma.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	68.3	68.1	68.4
24 horas	68.0	67.8	68.2
48 horas	67.8	67.7	67.9
96 horas	67.5	67.6	67.8

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a partir de la tabla 34 arroja un resultado de $p= 0.005$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 35. Resultados de dureza ($^{\circ}$ dGH) en el agua de las peceras en dosis baja de hierba luisa.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	67.9	67.7	67.8
24 horas	67.6	67.5	67.7
48 horas	67.4	67.3	67.4
96 horas	67.3	67.2	67.3

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a partir de la tabla 35 arroja un resultado de $p<0,05$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 36. Resultados de dureza ($^{\circ}$ dGH) en el agua de las peceras en dosis baja del control.

	Repetición 1
0 horas	63.3
24 horas	63.1
48 horas	63.0
96 horas	63.0

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 37. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis media de cúrcuma.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	70.0	70.2	70.1
24 horas	69.5	69.7	69.6
48 horas	68.9	68.8	68.7
96 horas	68.3	68.4	68.3

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según los resultados arrojados por el ANOVA de un factor realizado de la tabla 37, si existe diferencia significativa entre tratamientos ($p < 0,05$).

Tabla 38. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis media de hierba luisa.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	70.2	70.0	70.2
24 horas	69.5	69.6	69.7
48 horas	68.7	68.8	68.9
96 horas	68.4	68.3	68.6

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según los resultados arrojados por el ANOVA de un factor realizado a la tabla 38, si existe diferencia significativa entre tratamientos ($p < 0,05$).

Tabla 39. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis media del control.

	Repetición 1
0 horas	70.3
24 horas	69.5
48 horas	68.7
96 horas	68.3

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 40. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis media alta de cúrcuma.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	75.6	75.4	75.5
24 horas	74.0	74.8	74.8
48 horas	73.6	74.0	74.0

Nota: Nieto y Viteri, 2015

De la tabla 40 se realizó un ANOVA de una vía el cual arrojó un resultado de $p= 0.001$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 41. Resultados de dureza (°dGH) en el agua de las peceras en dosis media alta de hierba luisa.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	75.3	75.2	75.5
24 horas	74.6	74.5	74.8
48 horas	73.7	73.9	74.0
96 horas	73.0	73.5	73.6

Nota: Nieto y Viteri, 2015

De la tabla 41 se realizó el ANOVA de una vía el cual arrojó un resultado de $p= 0.071$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 42. Resultados de dureza ($^{\circ}$ dGH) en el agua de las peceras en dosis media alta del control.

	Repetición 1
0 horas	75.1
24 horas	74.8
48 horas	74.3
96 horas	73.2

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 43. Resultados de dureza ($^{\circ}$ dGH) en el agua de las peceras en dosis alta de cúrcuma.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	81.5	81.3	81.6
24 horas	81	81.1	81.3

Nota: Nieto y Viteri, 2015

De la tabla 43 se realizó un ANOVA de una vía el cual arrojó un resultado de $p= 0.055$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 44. Resultados de dureza ($^{\circ}$ dGH) en el agua de las peceras en dosis alta de hierba luisa.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	81.3	81.4	81.2
24 horas	81.1	81.1	81.1

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 45. Resultados de dureza ($^{\circ}$ dGH) en el agua de las peceras en dosis alta del control

	Repetición 1
0 horas	81.5
24 horas	81.2

Nota: Nieto y Viteri, 2015

En el análisis de los datos de dureza se obtuvo un promedio general en todas las dosis con emulsión de aceite esencial de cúrcuma de 67,51 ppm; emulsión de aceite esencial de hierba luisa de 69,24 ppm; y en el control de 73,95ppm, las cuales al ser transformadas a $^{\circ}$ dGH dio un valor de 4 para la primera emulsión; 4,2 para la segunda y 4,4 para la tercera emulsión, siendo de 4 a 7 $^{\circ}$ dGH los valores aptos para la supervivencia del Barbus rosado según bibliografía. (Talwar & Jhingran, 1991)

Estos datos nos permitieron concluir que la dureza en la que se desarrollaron los individuos durante todos los tratamientos fue adecuada.

Variación Tiempo vs. dureza en relación a la dosis de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma.

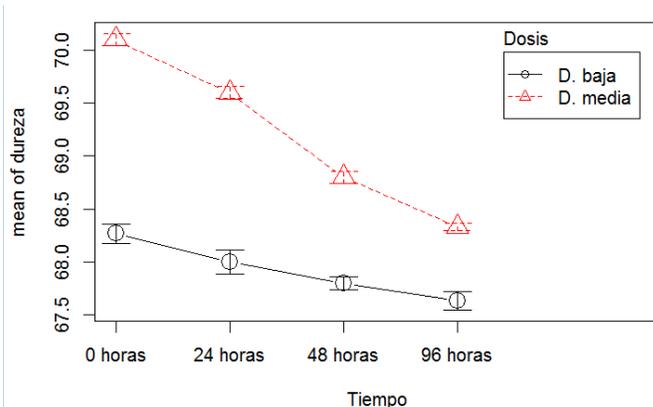


Figura 10. Variación existente entre la dureza y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma.

Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

La figura 10 muestra el ANOVA de dos vías entre la dureza y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma en las dosis baja y media, obteniendo un $p < 0,05$ evidenciando que no existe una diferencia significativa entre la comportamiento de dichas dosis.

Variación Tiempo vs. dureza en relación a la dosis de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa

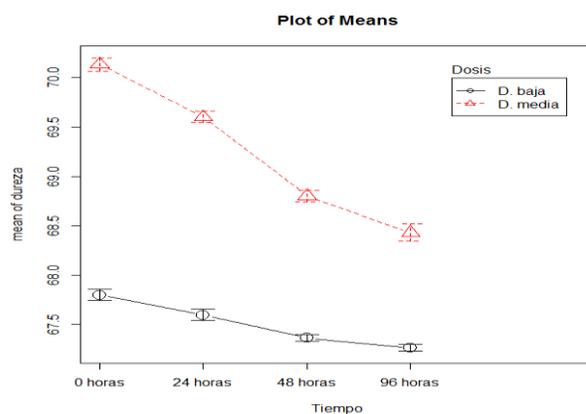


Figura 11. Variación existente entre la dureza y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa.

Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

La figura 11 muestra el ANOVA de dos vías entre la dureza y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa, en las dosis baja y media, dando un $p < 0,05$ indicando que no existe una diferencia significativa en el comportamiento de dureza según la dosis.

3.1.5. Oxígeno disuelto

Los resultados de la medición del oxígeno disuelto se obtuvieron antes de la dosificación y a las 24, 48 y 96 horas después de la dosificación. Los datos obtenidos se reportan a partir de la tabla 46 hasta la tabla 57.

Tabla 46. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis baja de cúrcuma.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	6.11	6.23	6.23
24 horas	6.23	6.35	6.38
48 horas	6.31	6.45	6.47
96 horas	6.42	6.58	6.54

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según los resultados ($p = 0.006$) arrojados por el ANOVA de un factor realizado a la tabla 46, se evidencio que si existe diferencia significativa entre los tratamientos.

Tabla 47. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis baja de hierba luisa.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	6.23	6.25	6.29
24 horas	6.25	6.32	6.30
48 horas	6.31	6.45	6.41
96 horas	6.42	6.50	6.52

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a la tabla 47 arroja un resultado de $p= 0.002$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 48. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis baja del control.

	Repetición 1
0 horas	6.23
24 horas	6.32
48 horas	6.35
96 horas	6.45

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 49. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis media de cúrcuma.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	6.25	6.38	6.42
24 horas	6.11	6.27	6.20
48 horas	6.02	6.15	6.11
96 horas	5.98	6.12	6.11

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según los resultados arrojados por el ANOVA de un factor realizado a la tabla 49, si existe diferencia significativa entre tratamientos ($p= 0.009$).

Tabla 50. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis media de hierba luisa.

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	6.71	6.67	6.69
24 horas	6.25	6.25	6.23
48 horas	6.17	6.20	6.16
96 horas	6.09	6.12	6.07

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a la tabla 50 arroja un resultado de $p= 0.000$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 51. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis media del control

	Repetición 1
0 horas	6.74
24 horas	6.52
48 horas	6.33
96 horas	6.19

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 52. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis media alta de cúrcuma

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	6.79	6.73	6.66
24 horas	6.50	6.48	6.37
48 horas	6.37	6.36	6.26

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según los resultados ($p= 0.001$) arrojados por el ANOVA de un factor realizado a la tabla 52, si existe diferencia significativa entre tratamientos.

Tabla 53. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis media alta de hierba luisa

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	6.68	6.71	6.86
24 horas	6.39	6.42	6.59
48 horas	6.21	6.25	6.30

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a la tabla 53 arroja un resultado de $p= 0.001$ lo que indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 54. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis media alta del control

	Repetición 1
0 horas	6.77
24 horas	6.20
48 horas	6.05
96 horas	5.89

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Tabla 55. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis alta de cúrcuma

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	6.99	6.89	6.92
24 horas	6.71	6.52	6.45

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según los resultados ($p= 0.010$) arrojados por el ANOVA de un factor realizado a la tabla 55 si existe diferencia significativa entre tratamientos.

Tabla 56. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis alta de hierba luisa

	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
0 horas	6.91	6.96	6.99
24 horas	6.84	6.81	6.82

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El ANOVA de una vía realizado a la tabla 56 arroja un resultado de $p= 0.006$ lo que nos indica que si hubo diferencia significativa.

Tabla 57. Resultados de oxígeno disuelto (ppm) en el agua de las peceras en dosis alta del control

	Repetición 1
0 horas	6.85
24 horas	5.78

Nota: Nieto y Viteri, 2015

El oxígeno disuelto en el agua es de vital importancia para la supervivencia del pez y se puede ver afectado por cambios en la temperatura, de esta manera se reporta 5 ppm como el nivel óptimo para el pez *Barbus rosado*. (Talwar & Jhingran, 1991, pág. 56) esta investigación muestra un promedio general de todas las dosis con emulsión de aceite esencial de cúrcuma de 6,35 ppm; emulsión de aceite esencial de hierba luisa de 6,30ppm; y en el control de 6,49 ppm.

Variación de oxígeno disuelto en relación al Tiempo y la dosis de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma.

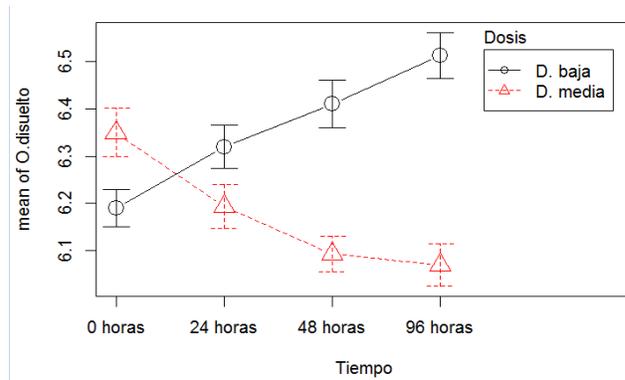


Figura 12. Variación del oxígeno disuelto entre el tiempo y la dosis de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma.

Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

La figura 12 muestra el ANOVA de dos vías del oxígeno disuelto en relación al tiempo con la dosis baja y media de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma, dando un $p < 0,05$.

Variación Tiempo vs. oxígeno disuelto en relación a la dosis de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa

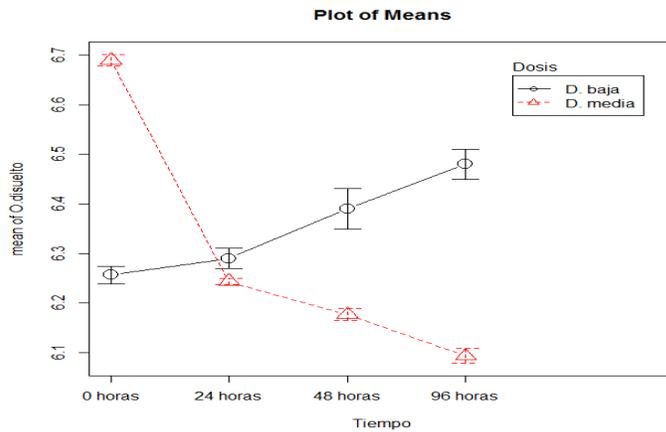


Figura 13. Variación existente entre el oxígeno disuelto y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa.

Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

La figura 13 muestra el ANOVA de dos vías entre el oxígeno disuelto y el tiempo de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa, nos presenta las diferencias de las dosis baja y media, dando un $p < 0,05$.

3.2. Preparación de emulsiones.

Se obtuvo dos emulsiones con las características organolépticas y físico químicas que se detallan en la Tabla 58.

Tabla 58. Características organolépticas y físico-químicas de emulsiones.

	Emulsión de Hierba luisa	Emulsión de Cúrcuma	Emulsión Testigo
Organolépticas			
Apariencia	Emulsión viscosa	Emulsión viscosa	Emulsión viscosa
Color	Amarillo claro	Amarillo claro	Blanco
Olor	De acuerdo al aceite esencial de Hierba luisa	De acuerdo al aceite esencial de Cúrcuma	Sin olor
Físico-químicas			
Ph	3.73	4.82	4.50
Turbidez	>1000	>1000	10,94
Conductividad	128.8	21.5	30.7

Nota: Nieto y Viteri, 2015

3.3. Evaluación de los parámetros de comportamiento.

Los parámetros evaluados para determinar la toxicidad de las emulsiones son cualitativos, de tal manera que Ausente (-), Presente (+) y muerte total de los individuos en las unidades experimentales (X) se detallan a partir de la tabla 59 hasta la tabla 70.

Tabla 59. Parámetros de comportamiento en dosis baja de cúrcuma

Parámetro	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3			
	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h
Operculamiento acelerado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Respiración disminuida	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
Estrés	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Problemas de vejiga natatoria	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucosidad	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Según la Tabla 59 se evidencia que la emulsión de cúrcuma a dosis baja a partir de las 48 horas y 96 horas se produjeron cambios en la respiración que se vio disminuida y hubo presencia de una ligera mucosidad en el dorso del pez. Mientras que en los demás parámetros de comportamiento no hubo cambios.

Tabla 60. Parámetros de comportamiento en dosis baja de Hierba luisa

Parámetro	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3			
	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h
Operculamiento	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Respiración disminuida	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Agitación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Estrés	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Problemas de vejiga natatoria	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucosidad	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Como se observa en la Tabla 60 para la dosis baja de emulsión de Hierba luisa, no existen cambios en los parámetros de comportamiento durante todo el tratamiento.

Tabla 61. Parámetros de comportamiento en dosis baja del Control

Parámetro	Repetición 1			
	0h	24h	48h	96h
Operculamiento	-	-	-	-
Respiración disminuida	-	-	-	-
Agitación	-	-	-	-
Estrés	-	-	-	-
Problemas de vejiga natatoria	-	-	-	-
Mucosidad	-	-	-	-

Nota: Nieto y Viteri, 2015

En la Tabla 61 se observa, que para la dosis baja de la emulsión control, no existen cambios en los parámetros de comportamiento durante todo el tratamiento.

Tabla 62. Parámetros de comportamiento en dosis media de Cúrcuma

Parámetro	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3			
	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h
Operculamiento acelerado	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
Respiración disminuida	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
Estrés	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Problemas de vejiga natatoria	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
Mucosidad	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+

Nota: Nieto y Viteri, 2015

En la tabla 62 se detallan los cambios en los parámetros de comportamiento para la dosis media de emulsión con aceite esencial de cúrcuma que al momento de su dosificación se evidenció cambios en el estrés, mostrando un acelerado operculamiento durante las primeras 48 horas, y a las 96 horas se redujo la respiración, , además existió problemas de vejiga natatoria a las 96 horas, y presencia de mucosidad a partir de las 48 horas.

Tabla 63. Parámetros de comportamiento en dosis media de Hierba luisa

Parámetro	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3			
	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h
Operculamiento acelerado	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Respiración disminuida	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Estrés	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Problemas de vejiga natatoria	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
Mucosidad	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+

Nota: Nieto y Viteri, 2015

La tabla 63 muestra el cambio de los parámetros de comportamiento en la dosis media del aceite esencial de hierba luisa en la cual podemos verificar la existencia de operculamiento acelerado, presencia de estrés a las 0 horas, problemas de vejiga natatoria y mucosidad a las 96 horas en las tres repeticiones.

Tabla 64. Parámetros de comportamiento en dosis media del control

Parámetro	Repetición 1			
	0h	24h	48h	96h
Operculamiento acelerado	-	-	-	-
Respiración disminuida	-	-	-	-
Estrés	-	-	-	-
Problemas de vejiga natatoria	-	-	-	-
Mucosidad	-	-	-	-

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Como se observa en la tabla 64 los parámetros de comportamiento en dosis media del control no presentan ningún cambio durante todo el tratamiento.

Tabla 65. Parámetros de comportamiento en dosis media alta de cúrcuma

Parámetro	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3			
	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h
Operculamiento acelerado	+	+	-	X	+	+	-	X	+	+	-	X
Respiración disminuida	-	-	+	X	-	-	+	X	-	-	+	X
Estrés	+	+	-	X	+	+	-	X	+	+	-	X
Problemas de vejiga natatoria	-	-	+	X	-	-	+	X	-	-	+	X
Mucosidad	-	-	+	X	-	-	+	X	-	-	+	X

Nota: Nieto y Viteri, 2015

En la tabla 65 se detallan los cambios en los parámetros de comportamiento en la dosis media alta de cúrcuma, existiendo operculamiento acelerado y estrés a las 0 y 24 horas, respiración disminuida, problemas de vejiga natatoria y mucosidad a las 48 horas, concluyendo a las 96 horas con la muerte total de los individuos.

Tabla 66. Parámetros de comportamiento en dosis media alta de hierba luisa

Parámetro	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3			
	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h
Operculamiento acelerado	+	+	-	X	+	+	-	X	+	+	-	X
Respiración disminuida	-	-	+	X	-	-	+	X	-	-	+	X
Estrés	+	+	-	X	+	+	-	X	+	+	-	X
Problemas de vejiga natatoria	-	-	+	X	-	-	+	X	-	-	+	X
Mucosidad	-	-	+	X	-	-	+	X	-	-	+	X

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Como se evidencia en la tabla 66 los cambios de los parámetros de comportamiento en la dosis media alta de hierba luisa comprenden operculamiento acelerado y estrés a las 0 y 24 horas, respiración disminuida, problemas de vejiga natatoria y mucosidad a las 48 horas, y a las 96 horas se produce una muerte parcial de los individuos en las tres repeticiones.

Tabla 67. Parámetros de comportamiento en dosis media alta del control

Parámetro	Repetición 1			
	0h	24h	48h	96h
Operculamiento acelerado	+	-	-	-
Respiración disminuida	-	+	+	+
Estrés	+	-	-	-
Problemas de vejiga natatoria	-	-	+	+
Mucosidad	-	-	+	+

Nota: Nieto y Viteri, 2015

La tabla 67 muestra los cambios en los parámetros de comportamiento en la dosis media del control, presentando operculamiento acelerado y estrés al instante de la dosificación, respiración disminuida a partir de las 24 horas y problemas de vejiga natatoria y mucosidad a las 96 horas.

Tabla 68. Parámetros de comportamiento en dosis alta de cúrcuma

Parámetro	Repetición 1		Repetición 2		Repetición 3	
	0h	24h	0h	24h	0h	24h
Operculamiento acelerado	+	X	+	X	+	X
Respiración disminuida	-	X	-	X	-	X
Estrés	+	X	+	X	+	X
Problemas de vejiga natatoria	+	X	+	X	+	X
Mucosidad	+	X	+	X	+	X

Nota: Nieto y Viteri, 2015

En la tabla 68 se puede evidenciar que al momento de la dosificación de la dosis alta de la emulsión de cúrcuma los parámetros de comportamiento se ven afectados de inmediato, de tal manera que los peces no son capaces de sobrevivir al tratamiento completo produciendo la muerte a las 24 horas.

Tabla 69. Parámetros de comportamiento en dosis alta de hierba luisa

Parámetro	Repetición 1		Repetición 2		Repetición 3	
	0h	24h	0h	24h	0h	24h
Operculamiento acelerado	+	X	+	X	+	X
Respiración disminuida	-	X	-	X	-	X
Estrés	+	X	+	X	+	X
Problemas de vejiga natatoria	+	X	+	X	+	X
Mucosidad	+	X	+	X	+	X

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Como se evidencia en la tabla 69 al momento de la dosificación de la dosis alta de la emulsión de hierba luisa los parámetros de comportamiento se ven afectados de inmediato, de tal manera que los peces no son capaces de sobrevivir al tratamiento completo produciendo la muerte a las 24 horas.

Tabla 70. Parámetros de comportamiento en dosis alta del control

Parámetro	Repetición 1		
	0h	24h	48 h
Operculamiento acelerado	-	-	X
Respiración disminuida	+	+	X
Estrés	-	-	X
Problemas de vejiga natatoria	-	+	X
Mucosidad	-	-	X

Nota: Nieto y Viteri, 2015

La tabla 70 muestra que los parámetros de comportamiento al ser dosificada la dosis alta del control sufren cambios desde el momento de su adición produciendo una respiración disminuida y a las 24 horas presentan problemas de vejiga natatoria culminando en muerte de todos los individuos a las 48 horas.

3.4. Mortalidad

Se observó un diferente porcentaje de mortalidad en las distintas dosis experimentales las cuales se detallan en la tabla 71, tabla 72, tabla 73 y tabla 74.

Tabla 71. Porcentaje de mortalidad en dosis baja

Parámetro	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3			
	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h
Emulsión con aceite esencial de Cúrcuma	0	0	20%	0	0	0	40%	0	0	0	10%	0
Emulsión con aceite esencial de Hierba luisa	0	0	10%	0	0	0	10%	0	0	0	0	0
Emulsión testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Nota: Nieto y Viteri, 2015

Analizando los datos de la tabla 71 de las mortalidades a la dosis baja de las emulsiones de cúrcuma, hierba luisa y control se obtuvieron los siguientes promedios de mortalidad por tratamiento:

- Emulsión de aceite esencial de cúrcuma: 23,3% del total de individuos
- Emulsión de aceite esencial de hierba luisa: 6,7% de la totalidad de individuos
- Emulsión control no reporta mortalidad.

Tabla 72. Porcentaje de mortalidad en dosis media

Parámetro	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3			
	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h
Emulsión con aceite esencial de Cúrcuma	0	70%	10%	20%	0	30%	20%	40%	0	20%	20%	50%
Emulsión con aceite esencial de Hierba luisa	0	0	0	0	0	0	0	10%	0	0	0	10%
Emulsión testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10%

Nota: Nieto y Viteri, 2015

En la tabla 72 se analiza los promedios de mortalidad en la dosis media de las emulsiones de cúrcuma, hierba luisa y control, concluyendo una mortalidad de 76,6% para la emulsión de cúrcuma, 6,7% para la emulsión de hierba luisa y 3.3% para el control de la totalidad de los peces Barbus rosado.

Tabla 73. Porcentaje de mortalidad en dosis media alta

Parámetro	Repetición 1				Repetición 2				Repetición 3			
	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h	0h	24h	48h	96h
Emulsión con aceite esencial de Cúrcuma	0	60%	40%	0	0	70%	30%	0	0	90%	10%	0
Emulsión con aceite esencial de Hierba luisa	0	30%	20%	10%	0	20%	20%	10%	0	20%	30%	20%
Emulsión testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20%	10%	20%

Nota: Nieto y Viteri, 2015

En el análisis de la tabla 73 se muestra el porcentaje de mortalidad en la dosis media alta de las emulsiones, obteniendo un promedio de 100% de los individuos en la emulsión de cúrcuma, 60% en la emulsión de hierba luisa y 50% en el control de la totalidad de los individuos.

Tabla 74. Porcentaje de mortalidad en dosis alta

Parámetro	Repetición 1			Repetición 2			Repetición 3		
	0h	24h	48h	0h	24h	48h	0h	24h	48h
Emulsión con aceite esencial de Cúrcuma	0	100%	0	0	100%	0	0	100%	0
Emulsión con aceite esencial de Hierba luisa	0	100%	0	0	100%	0	0	100%	0
Emulsión testigo	0	0	100%	0	0	100%	0	0	100%

Nota: Nieto y Viteri, 2015

En la tabla 74 se observa que todos los individuos murieron a las 24 horas después de la adición de las emulsiones con los aceites esenciales de cúrcuma y hierba luisa, mientras que en el control la muerte se produjo a las 48 horas.

Variación de la dosis x mortalidad del tratamiento de cúrcuma en función del tiempo.

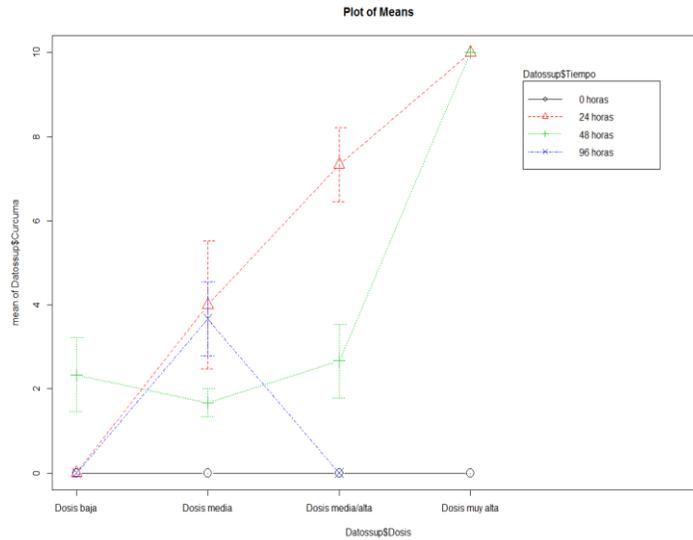


Figura 14. Variación existente entre la dosis y la mortalidad el tratamiento de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma en función del tiempo.

Elaborado por: Nieto y Viteri 2015

La figura 14 nos indica la variación de la mortalidad en las diferentes dosis de la emulsión con aceite esencial de cúrcuma en función de los tiempos arrojando un valor de $p < 0,05$.

Variación de la dosis x mortalidad del tratamiento de hierba luisa en función del tiempo.

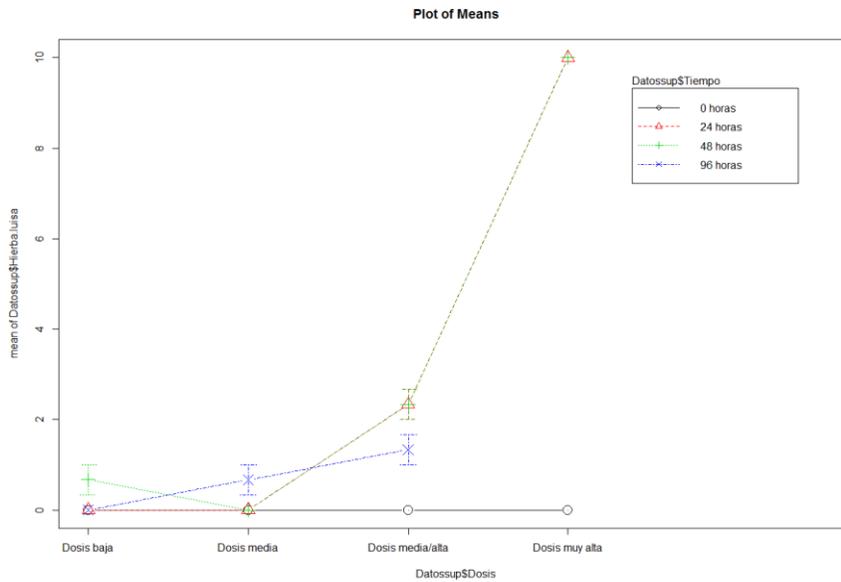


Figura 15. Variación existente entre la dosis y la mortalidad del tratamiento de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa en función del tiempo.

Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

En la figura 15 se observa la variación de la mortalidad en las diferentes dosis de la emulsión con aceite esencial de hierba luisa en función de los tiempos arrojando un valor de $p < 0,05$.

Variación de la dosis x mortalidad del tratamiento del control en función del tiempo.

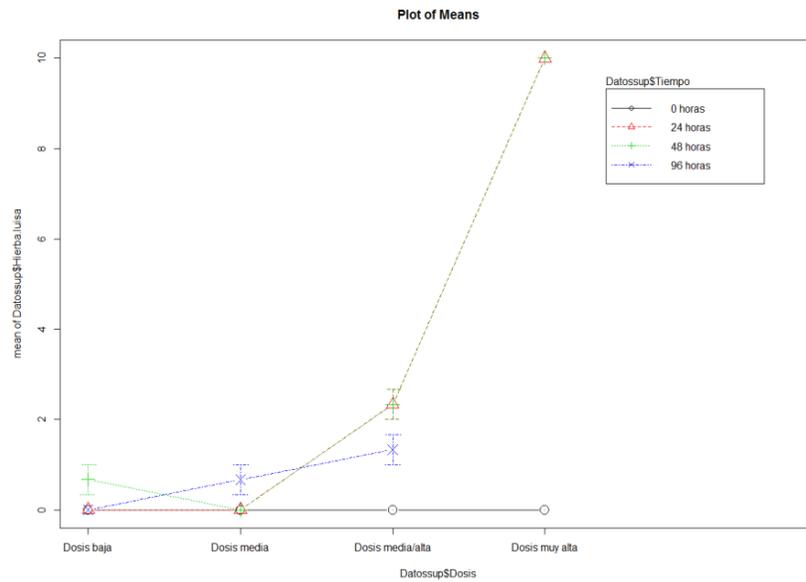


Figura 16. Variación existente entre la dosis y la mortalidad del tratamiento de la emulsión con aceite esencial del control en función del tiempo.

Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

La figura 16 nos indica la variación de la mortalidad en las diferentes dosis del control en función de los tiempos arrojando un valor de $p < 0,05$.

CONCLUSIONES

Al evaluar los parámetros físicos químicos de agua se pudo determinar lo siguiente:

Mediante el análisis de varianza entre el tiempo y el pH de las emulsiones con aceite esencial de cúrcuma y hierba luisa, se observó las diferencias significativas de las dosis baja y media, evidenciando un $p=0.145$ para cúrcuma y un $p=1.000$ para hierba luisa, con lo cual se pudo concluir que ninguna de las dosificaciones aplicadas con aceite esencial emulsionado de cúrcuma y hierba luisa pudieron provocar alteraciones del pH que afecten al estudio de la toxicidad subaguda en el pez *Barbus rosado* mantenido en el acuario.

Los resultados obtenidos de los promedios generales de las diferentes dosis de los dos tratamientos y el control se encuentran dentro del valor de pH ideal para la supervivencia del *Barbus rosado*, que es de (6,5 a 7,5) (Riehl, 1994, pág. 427), por lo tanto las condiciones de pH son adecuadas.

Al observar el análisis de varianza entre el tiempo y la conductividad de las emulsiones con aceite esencial de cúrcuma y hierba luisa, se obtuvo las diferencias significativas de las dosis baja y media, evidenciando un $p=0.392$ para cúrcuma y un $p=0.397$ para hierba luisa, con lo cual se pudo concluir que ninguna de las dosificaciones aplicadas con aceite esencial emulsionado de cúrcuma y hierba luisa afectan el agua de las unidades experimentales para provocar toxicidad subaguda en el pez *Barbus rosado*.

Se registró las diferencias significativas de las dosis baja y media, evidenciando un $p=0.000$ para cúrcuma y un $p=0.000$ para hierba, al realizar el análisis de varianza entre el tiempo y la dureza de las emulsiones con aceite esencial de cúrcuma y hierba luisa,

luisa, con lo cual se pudo concluir que las dosificaciones aplicadas con aceite esencial emulsionado de cúrcuma y hierba luisa modificaron la dureza del agua de las peceras en gran medida lo que pudo haber provocado la muerte del pez *Barbus rosado* mantenido en el acuario, sin embargo hace falta estudios más especializados para poder concluir que la dureza afecta al pez y lo lleva a su muerte.

Se observó diferencias significativas de las dosis baja y media, evidenciando un $p=0.0151$ para cúrcuma y un $p=0.2037$ para hierba luisa al revisar el análisis de varianza entre el tiempo y el oxígeno disuelto de las emulsiones con aceite esencial de cúrcuma y hierba luisa, con lo cual se concluyó que en el caso de la dosificación con aceite esencial emulsionado de hierba luisa la variación de oxígeno disuelto no afecta la supervivencia del pez *Barbus rosado* mantenido en el acuario, y en el caso de la dosificación con aceite esencial emulsionado de cúrcuma la variación del oxígeno disuelto pudo haber modificado la supervivencia del pez *Barbus rosado*, con lo que harían falta estudios más profundos del oxígeno disuelto en función de la dosis del tratamiento de cúrcuma.

Con el análisis entre el tratamiento de cúrcuma x dosis y mortalidad se determinó que a partir de las 48 horas empezó a existir una diferencia significativa ($p=0.587$ y $p=0.786$) en la dosis media y media alta con lo cual se iniciaron los cambios de comportamiento en los especímenes llevándolos hasta su muerte.

El estudio entre tratamiento de hierba luisa x dosis y mortalidad nos evidencio que hay diferencias significativas ($p=0.09$), a las 48 horas en la dosis media donde se empezaron a producir cambios en el comportamiento de los peces, finalizando con un 10 % de mortalidad a las 96 horas.

Cabe recalcar que las dosis media alta y alta son tóxicas y provocaron la muerte de los peces en 48 horas y 24 horas respectivamente.

En cuanto al control los datos que nos arrojo el Anova indicó que no tienen diferencias significativas las dosis baja y media a excepción de las 96 horas de la dosis media donde si hubo diferencias significativas evidenciando un $p=0.181$, concluyendo que a esta hora se experimentó la mortalidad de los peces.

Para complementar el anova se realizó la prueba de Tukey en los diferentes tratamientos, en el tratamiento de cúrcuma relacionando la dosis media y dosis media alta en el tiempo de 24 horas se obtuvo un valor de $p=0.98$ lo cual nos indica que existieron diferencias significativas produciéndose la muerte del 73% de los peces en la dosis media alta y 40% en la dosis media.

En el tratamiento con hierba luisa en la comparación de dosis baja y dosis media se obtuvo $p=1$ en tiempo 24 horas y un $p=0.62$ en tiempo 48 horas, estos valores mostraron diferencias significativas, en el comportamiento de las muestras tratadas de Barbus rosado sin embargo no se obtuvo mortalidad de las mismas.

Finalmente el tratamiento control arrojó una $p=0.77$ entre la comparación de dosis media alta y la dosis alta en tiempo 0 horas; y un $p=1$ en tiempo 24 horas, evidenciando las diferencias significativas al manifestarse el cambio de comportamiento de los peces Barbus rosado.

RECOMENDACIONES

Probar estudios de toxicidad con otras especies de acuario, que resultan más sensibles y más resistentes a los cambios producidos por el cambio de las condiciones físico-químicas producidas por el tratamiento con emulsiones formuladas con productos de origen natural.

Evaluar más formulaciones de emulsiones con otros aceites esenciales que tienen un potencial uso en tratamientos para peces de acuario, de tal manera que permitan determinar las dosis máximas de aceites esenciales para que sean seguras para el normal desarrollo de los peces de acuario.

Realizar estudios toxicológicos posteriores con escalas de valoración de los signos y síntomas que pueden presentar durante el tratamiento, para estandarizar los índices de severidad toxicológica de aceites esenciales en formulaciones para peces de acuario.

Investigar la toxicidad en otras especies que no son de acuario, comparando así el efecto toxicológico entre sistemas de acuario, sin recambio de agua, y sistemas de agua corriente, donde el agua tiene recambio, con la finalidad de establecer índices toxicológicos en los dos sistemas de crianza de peces.

LISTA DE REFERENCIAS

- Acosta, M. (1995). *Vademécum de Plantas Medicinales del Ecuador*. Quito: Ediciones Abya –Yala.
- Acuicultura, D. d. (2008). *Estadísticas de exportación importación e importación de organismos acuáticos ornamentales*. Buenos Aires: SAGPyA - SSPyA.
- Alvis, A. A. (2012). Evaluacion de la Actividad y el Potencial Antioxidante de Extractos Hidro-Alcohólicos de Cúrcuma. *Informacion tecnologica*, 11-18.
- Aranberri, B., Binks, J., P, D., & Fletcher. (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones. *Revista Iberoamericana dePolímeros*, 7(3), 211-231.
- Aulton, M. (2004). *Ciencia y diseño de formas farmacéuticas*. España: Elsevier.
- Bello, J. (. (2000). *Ciencia Bromatológica: Principios Generales de Los Alimentos. Índice del Balance hidrofílico BHL* (3a. ed ed.). Madrid, España.: Díaz de Santos S.A.
- Bruneton, J. (2001). Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales. En *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales*. Zaragoza: Acribia S.A.
- Campo Marti, M. (2002). *Principios de ecotoxicología. Diagnostico tratamiento y gestión del medio ambiente*. Barcelona: Mc graw Hill. Interamericana España.
- Castro, J., & Bedoya, I. (2011). Aislamiento y epoxidación con dimetildioxiranode los constituyentes mayoritarios de los aceites esenciales Tagetes lucida, Cymbopogon citratus, Lippia alba y Eucalyptus citriodora. *Trabajo de grado como requisito parcial para optar al titulo de tecnólogo químico. Universidad Tecnológica de Pereira*. Pereira, Colombia.
- Chankuap. (2009). *Ficha técnica de aceite esencial de hierba luisa*. Macas.
- Chankuap. (2009). *Ficha técnica del aceite esencial de cúrcuma* . Macas.

- Cruz, L., Díaz, M., & Reyes, C. (1996). *Ensayos de toxicidad y su aplicación al control de la contaminación industrial*.
- Dissan. (2015). polisorbato 20.
- Donal J. Ecobichon. (1997). *The Basis of Toxicity Testing* (2ª Edición ed.). Florida, EEUU: CRC Press.
- Eigner, D., & Scholz, D. (1999). Ferula asa-foetida and Curcuma longa in traditional medical treatment and diet in Nepal. *Journal Ethnopharmacol*(67), 1-6.
- Govindarajan, V. (1980). Tumeric Chemistry. *Food science and nutrition*, 5(12), 199 - 301.
- Guerra, M. R. (2004). Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de Cymbopogon citratus. *Cubana Plant Med*, 38-42.
- Hussain, M., & Chandrasekhara, N. (1992). Effects of curcumin of cholesterol gall-stone induction in mice. *Indian J Med Res*(96), 288-291.
- Iannacone, J. (2007). *Ecotoxicidad acuática de dos colorantes y de tres antiparasitarios de importancia en acuicultura en daphia magna, Verde de Malaquita, situación legal*. España .
- INECC. (2005). *ecotoxicología delagacion coyoacán*. México.
- INEN. (2006). NTE ISO/IEC 17025:2006. *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración*. Quito, Ecuador: INEN.
- Kuklinsk, C. (2000). *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. España: Omega S.A.
- León, J. (2000). *Botánica de los cultivos tropicales*. San José: IICA.
- Linares, S., Gonzalez, N., Gómez, E., & Usubillaga, A. (2005). Efecto de la fertilización, densidad de la siembra y tiempo de corte sobre el rendimiento y

calidad del aceite esencial extraído de *Cymbopogon citratus* Stapf. *Revista de la facultad de agronomía*, 3(22), 250-263.

Lucio, L. I. (2011). *Toxicología*. TECNOLÓGICO DE ESTUDIOS SUPERIORES DEL ORIENTE DELESTADO DE MÉXICO, La Paz, Estado de México.

Martí, M. A. (2003). La ecotoxicología, una ciencia de hoy. *Medicina Balear*, Vol.18(núm. 3).

Mesa, M., Ramirez, M., Aguilera, C., Ramirez, A., & Gil, A. (2000). Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides. *Ars Pharmaceutica*, 3(41), 307-321.

Moore, J. B.-R. (1990). *Cosmetología de Harry*. Londres: Diaz de Santos.

Mosquera, T. (2005). *Tecnología Farmacéutica, Emulsiones*. Quito, Ecuador.

Nikolai, S. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos, Cymbopogon cytratus Stapf D.C.* (Primera ed.). Santa Fe de Bogotá.

Noja, E. (2010). *Fish Disease, Diagnose and treatment*.

Olaya, J. e. (2003). *uía de plantas y productos medicinales, Aceites esenciales, métodos de extracción*. Santa Fe de Bogotá, Colombia: CAB.

Osorio, M. d. (2012). *Emulsiones Farmacéuticas*. Cartagena .

Ramos, N. D. (1999). *Información Tecnológica, Estudio del efecto de la incorporación de emulsificantes en emulsiones* (2a. ed. ed.). Buenos Aires, Argentina: CIT.

Ravindran, P., Nirmal Babu, K., & Sivaram, K. (2007). *Tumeric, The genus Curcuma*. Florida: Taylor & Francis.

Reyes, C. (1996). *Fundamentación y metodología de los ensayos de toxicidad con microcrustáceo*.

Riehl, R. B. (1994). *Atlas de Acuario, Barbus conchoniuis* (1a. ed ed.). Alemania: Melle.

- Riera, J. (2004). *Química y Bioquímica de los alimentos II, Emulsiones* (1a. ed.) ed.). Barcelona, España: Universitat de Barcelona.
- Rios, V., Germán, A., Giraldo, G., León, D., & Moreno, A. (2008). Estudio del perfil de compuestos volátiles de los rizomas de *Curcuma longa*, cultivada en el departamento de Quindío-Colombia. *Investigación de la Universidad de Quindío*, 18, 32-37.
- Seo, S.-W., Bae, G.-S., Kim, S., & Youn, S.-W. (2011). Protective effects of *Curcuma longa* against cerulein-induced acute pancreatitis and pancreatitis-associated lung injury. *Mol Med* 27, 53-61.
- Sharma, O., & Agarwal, A. (s.f.).(2010) The somatic and meiotic chromosomes of *Puntius conchonus* (Cyprinidae) from the Jammu and Kashmir state. *Genetica*, 3(56), 235-237.
- Singh, R., Chandra, R., & Bose, M. (2002). Antibacterial activity of *Curcuma longa* rhizome extract on pathogenic bacteria. *Current Science* 2002, 6(83), 737-740.
- Soto, R., Vega, L., & Tamajon, A. (2002). Instructivo técnico del cultivo de *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf (caña santa). *Rev Cubana Plant Med*, 17-22.
- SW, S. (2011). Protective effects of *Curcuma longa* against cerulein-induced acute pancreatitis and pancreatitis-associated lung injury. *Mol Med* 27, 53-61.
- Talwar, P., & Jhingran, A. (1991). Inland Fishes of India and adjacent countries. . 55-60.
- Zambrano, B., & Beltrán, J. (2008). DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50-48) DEL FENOL EN LOS VERTIMIENTOS DE LA CLINICA VETERINARIO POR MEDIO DE BIOENSAYOS ACUATICOS. *TESIS DE GRADO*. Bogotá, Colombia.

ANEXOS

Diseños Experimentales



Figura 17. Pecera con pez Barbus rosado
Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

Diseños Experimentales



Figura 18. Pecera con pez Barbus rosado
Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

Diseños Experimentales



Figura 19. Pecera con pez Barbus rosado y emulsión de hierba luisa
Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

Diseños Experimentales

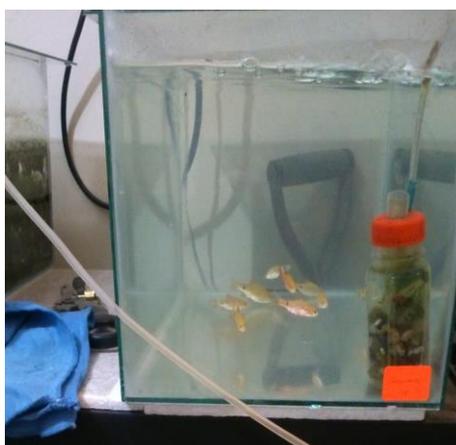


Figura 20. Pecera con pez Barbus rosado y emulsión de cúrcuma.
Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

Diseños Experimentales

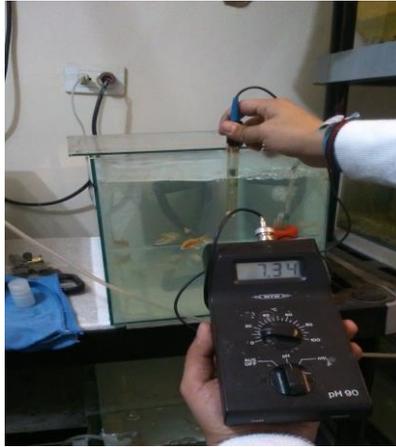


Figura 21. Medición de pH.
Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

Diseños Experimentales



Figura 22. Medición de Conductividad.
Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

Diseños Experimentales



Figura 23. Barbus rosado con problemas de vejiga natatoria.
Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015

Diseños Experimentales



Figura 24. Barbus rosado muerto.
Elaborado por: Nieto y Viteri, 2015