UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

TESIS

TOXICIDAD AGUDA DE PRODUCTOS COMERCIALES DERIVADOS DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) Y *Piper aduncum* (MATICO) EN *Artemia salina.*

PRESENTADA POR:

Br. MARIA ANTONIETA CCENTE DE LA CRUZ

PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO

ASESORA:

Dra. JULIA GRISELDA MUÑIZ DURAN

CUSCO - PERÚ

2026

Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el **Asesor** Dra. JULIA GRISELDA MUÑIZ DURAN ..... quien aplica el software de detección de similitud al trabajo de investigación/tesis titulada: TOXICIDAD AGUDA DE PRODUCTOS COMERCIALES DERIVADOS DE Eucalyptus globulus (EUCALIPTO) Y Piper aduncum (MATICO) EN Artemia salina.

Presentado por: Br. MARIA ANTONIETA CCENTE DE LA CRUZ DNI N° 72258621 ;
presentado por: ..... DNI N°: .....
Para optar el título Profesional/Grado Académico de BIÓLOGO

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el Software de Similitud, conforme al Art. 6° del ***Reglamento para Uso del Sistema Detección de Similitud en la UNSAAC*** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 8 **%.**

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 30 de Setiembre de 2026

.....
Firma

Post firma Dra. JULIA GRISELDA MUÑIZ DURAN
Nro. de DNI 23829964
ORCID del Asesor 0000-0001-9988-4827

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: **oid:** 27259:631607014

MARIA ANTONIETA CCENTE DE LA CRUZ

TOXICIDAD AGUDA DE PRODUCTOS COMERCIALES DERIVADOS DE Eucalyptus globulus (EUCALIPTO) Y Piper adu...

Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid:::27259:631607014

Fecha de entrega
29 sep 2026, 8:44 a.m. GMT-5

Fecha de descarga
29 sep 2026, 8:50 a.m. GMT-5

Nombre del archivo
TOXICIDAD AGUDA DE PRODUCTOS COMERCIALES DERIVADOS DE Eucalyptus globulus (EUCALI....docx

Tamaño del archivo
5.8 MB

129 páginas

20.399 palabras

117.408 caracteres

8% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

5% Fuentes de Internet
1% Publicaciones
5% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, expreso mi más profunda gratitud a Dios, por ser mi guía, sostenerme con su infinita bondad y concederme la fortaleza, la sabiduría y la perseverancia necesarias para superar cada desafío y culminar esta importante etapa de mi formación profesional. Su presencia ha sido la luz que iluminó mi camino y la esperanza que me impulsó a no rendirme ante las dificultades.

Asimismo, manifiesto mi más sincero agradecimiento a la Dra. Julia Griselda Muñiz Durán, por su invaluable orientación, paciencia, dedicación y compromiso durante el desarrollo de esta investigación. Sus conocimientos, observaciones, valiosas sugerencias y constante disposición para brindar apoyo fueron fundamentales para enriquecer este trabajo y fortalecer mi formación académica.

De igual manera, expreso mi especial agradecimiento al Blgo. Justo Mantilla Holguín, por la confianza depositada en esta investigación al autorizar el uso de sus productos y de su marca, así como por el apoyo brindado para el desarrollo de este estudio, contribuyendo de manera significativa al logro de los objetivos planteados.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis, en primer lugar, a las personas que más amo en esta vida: mis queridos padres, Emilia De La Cruz y Leonardo Ccente. Que detrás de cada página están sus sacrificios, sus desvelos, sus oraciones y el inmenso amor con el que sostuvieron. Fui la hija que un día tuvo que partir de casa para perseguir sus sueños, dejando con ustedes una parte de mi corazón. La distancia me enseñó cuánto duele extrañar un abrazo, una conversación y la tranquilidad de estar en casa; pero también me enseñó que el amor verdadero no conoce de kilómetros. En cada llamada, en cada palabra de aliento y en cada oración encontré la fuerza para seguir adelante. Si hoy alcanzo esta meta, es porque ustedes sembraron en mí el valor de nunca rendirme. Todo lo que soy y todo lo que llegaré a ser tendrá siempre sus raíces en ustedes.

A mis hermanos y los que están en casa, Cristopher, Maricielo, Doris, Flor, Carmen, Miriam y Press por ser mi refugio en la distancia y por recordarme siempre que, sin importar cuán lejos estuviera, mi hogar me esperaba con los brazos abiertos.

A mi compañero de vida, Fray Edilson, gracias por ser mi refugio emocional, por tu amor, paciencia y por sostenerme con tus palabras y compañía en los momentos en que más necesitaba fuerzas.

A mi amiga Milagros, gracias por tu amistad sincera, por regalarme tu tiempo, tu apoyo y tu disposición para ayudarme en cada trámite y detalle que hizo posible avanzar en este proceso.

Este trabajo lleva mi nombre, pero pertenece a quienes nunca dejaron de creer en mí, Hoy regreso con un sueño cumplido y con el corazón lleno de gratitud, porque comprendí que ningún logro es verdaderamente nuestro cuando nace del amor, el sacrificio y la esperanza de quienes caminaron con nosotros, aun desde la distancia.

ÍNDICE

RESUMEN I

INTRODUCCIÓN III

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA V

PROBLEMA GENERAL

PROBLEMA ESPECÍFICO.

JUSTIFICACIÓN VIII

OBJETIVOS X

OBJETIVO GENERAL

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

HIPÓTESIS XI

VARIABLES XII

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO 1

1.1 ANTECEDENTES 1

1.1.1 ANTECEDENTES INTERNACIONALES 1

1.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES. 2

1.1.3. ANTECEDENTES LOCALES 3

1.2. BASES TEÓRICAS 3

1.2.1. TOXICIDAD AGUDA 3

1.2.1.1. CRITERIOS DE PRUEBA DE TOXICIDAD 3

1.2.1.2. TOXICIDAD SUBAGUDA 5

1.2.1.3. TOXICIDAD CRÓNICA 5
1.2.1.4. BIOENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA 6
1.2.1.5. CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL_{50}) 7
1.2.2. *Artemia salina:* UBICACIÓN TAXONÓMICA 8
1.2.2.1. CARACTERÍSTICAS DE LA ESPECIE *Artemia salina.* 8
1.2.2.2. ECOLOGÍA DE LA ESPECIE *Artemia salina*. 9
1.2.2.3. ESTRUCTURA DE *Artemia salina* 10
1.2.2.4. ESTRUCTURA DE LOS QUISTES DE *Artemia salina* 11
1.2.2.5. CICLO DE REPRODUCCIÓN DE *Artemia salina.* 11
1.2.2.6. NAUPLIOS DE *Artemia salina.* 13
1.2.2.7. CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA DEL CICLO DE VIDA DE *Artemia salina* 14
1.2.3. EUCALIPTO *(Eucalyptus globulus)* 16
1.2.3.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA 16
1.2.3.2. TAXONOMÍA 16
1.2.3.3. DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT 16
1.2.3.4. PROPIEDADES MEDICINALES 17
1.2.3.5. USOS 17
1.2.3.6. PRINCIPIOS ACTIVOS DEL ACEITE DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) 18
1.2.4. *Piper aduncum* (MATICO) 20
1.2.4.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA 20
1.2.4.2. TAXONOMÍA 20

1.2.4.3. DISTRIBUCIÓN 20
1.2.4.4. USOS 20
1.2.4.5. PRINCIPIOS ACTIVOS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Piper aduncum* (MATICO) 21
1.2.5. PREPARADOS NATURALES A PARTIR DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) y *Piper aduncum* (MATICO) 22
1.2.5.1. HIDROLATO 22
1.2.5.2. ACEITE ESENCIAL 22
1.2.5.3. POMADA 23
1.3. BASES CONCEPTUALES 24
CAPÍTULO II 26
MATERIALES Y MÉTODOS 26
2.1 MATERIALES 26
2.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO 26
2.1.2. MATERIALES DE LABORATORIO 26
2.1.3. MATERIAL DE VIDRIO 27
2.1.4. REACTIVOS 27
2.1.5. EQUIPOS DE LABORATORIO 27
2.2. MÉTODOLOGÍA 29
2.2.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN 29
2.2.2. LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Toxicología 29
2.2.3. ÁREA DE PROCESAMIENTO. 29

2.2.4. DISEÑO EXPERIMENTAL 29
2.2.5. CONTROL DE CALIDAD DE QUISTES DE *Artemia salina* 32
2.2.6. ECLOSIÓN DE *Artemia salina* 32
2.2.7. CONTROL DE LA CALIDAD DE NAUPLIOS DE *Artemia salina* 34
2.2.8. BIOENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA CON *Artemia salina* 36
2.2.8.1. Preparación de las concentraciones a evaluar 36
2.2.8.2. Procedimiento e instalación del bioensayo 37
2.2.8.3. Tiempo de prueba y método de conteo 38
2.2.8.4. Análisis de datos para determinar el efecto de la especie vegetal, formulación comercial y concentración de producto sobre la mortalidad de *Artemia salina.* 38
2.2.8.5. Toma de datos para determinar CL_{50}. 39
CAPÍTULO III 41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN 41
3.1. EFECTO TÓXICO DE LOS DIFERENTES PRODUCTOS COMERCIALES A PARTIR DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) Y *Piper aduncum* (MATICO) EN *Artemia salina.* 41
3.2. EFECTO DE LA ESPECIE VEGETAL FORMULACIÓN COMERCIAL Y CONCENTRACIÓN DE PRODUCTO SOBRE LA MORTALIDAD DE *Artemia salina*. 49
3.3. DETERMINACIÓN DE LA CL_{50} EN *Artemia salina* POR EFECTO DE LOS PRODUCTOS COMERCIALES DERIVADOS DE EUCALIPTO Y MATICO 59
3.4 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE TOXICIDAD DE ACUERDO A LOS CRITERIOS DE CYTED, CLARKSON Y MEYER. 66
CONCLUSIONES 70

BIBLIOGRAFÍA..... 72

ANEXO 1..... 87

ANEXO 2..... 89

ANEXO 3..... 91

ANEXO 4..... 97

ANEXO 5..... 103

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura1. *Estructura del género Artemia.* 10

Figura2. *Estructura de la cáscara de los quistes de Artemia salina.* 11

Figura3. *Ciclo de reproducción de Artemia salina.*..... 12

Figura4. *Eclosión del nauplio de Artemia.* 13

Figura5. *Estado nauplios de Artemia salina*..... 14

Figura6. *Ciclo de vida de Artemia salina* 15

Figura 7 Dosis *respuesta de Artemia salina a los productos comerciales de matico y eucalipto.*47

Figura8 *Mortalidad de Artemia según especie vegetal* 49

Figura9 *Mortalidad de Artemia según formulación comercial* 50

Figura10 *Mortalidad de Artemia según especie concentración* 51

Figura11 *Efecto de la interacción de especie, formulación, concentración sobre la mortalidad de Artemia salina*..... 52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 *Criterio de toxicidad de Clarkson* 4

Tabla 2 *Índice de toxicidad de Meyer* 4

Tabla 3 Criter*io de letalidad según clasificación de tóxicos CYTED (programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo)* 5

Tabla 4 *Constituyentes químicos del aceite esencial de hojas de Eucalyptus globulus con tratamientos EMLS y EMAU.* 18

Tabla 5 *Componentes químicos del aceite esencial de Piper aduncum.* 21

Tabla 6 *Diseño experimental del bioensayo con Artemia salina para la evaluación de las formulaciones de Eucalipto y Mati*co. 30

Tabla 7. *Preparación de las concentraciones (pomada, hidrolato y aceite esencial)a evaluar a partir de la solución estándar*..... 37

Tabla 8 *Resultados del bioensayo de letalidad con Artemia salina en aceite esencial de eucalipto* 41

Tabla 9 *Resultados del bioensayo de letalidad con Artemia salina en aceite esencial de matic*o.42

Tabla 10 *Resultados del bioensayo de letalidad con Artemia salina en pomada de eucalipto*... 43

Tabla 11 *Resultados del bioensayo de letalidad con Artemia salina en pomada de matico*..... 44

Tabla 12 *Resultados del bioensayo de letalidad con Artemia salina en hidrolato de eucalipto*. 45

Tabla 13 *Resultados del bioensayo de letalidad con Artemia salina en hidrolato de matico*.... 46

Tabla14 *Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk* 53

Tabla15 *Análisis de varianza (ANOVA) factorial de tres vías para la mortalidad de Artemia salina*..... 54

Tabla 16 *Comparaciones múltiples (prueba de Tukey) por combinación de especie formulación y concentración*..... 56

Tabla 17 *Estimación de la concentración letal CL_{50} y límites de confianza de los 6 productos utilizados en el bioensayo con Artemia salina.*..... 59

Tabla 18 *Evaluación de Dosis-Respuesta de los productos comerciales de eucalipto y matico en A.salina* 61

Tabla 19. *Niveles de toxicidad determinados por CYTED, Clarkson y Meyer*..... 66

RESUMEN

El presente estudio, realizado en la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco durante el período 2024–2025, tuvo como objetivo determinar la toxicidad aguda de productos comerciales (aceite esencial, pomada e hidrolato) derivados de *Eucalyptus globulus* y *Piper aduncum* mediante el bioensayo con *Artemia salina*. Se desarrolló una investigación observacional y experimental, evaluando la mortalidad de nauplios tras 24 horas de exposición a concentraciones de 125, 500, 2000, 8000 y 32000 ppm, además de grupos control, y determinando la concentración letal media de (CL_{50}) cada producto. Los aceites esenciales presentaron mayor toxicidad, alcanzando 100 % de mortalidad desde 2000 ppm para *Piper aduncum* y 8000 ppm para *Eucalyptus globulus*. A 32000 ppm, el hidrolato de *Eucalyptus globulus* produjo 43,3 % de mortalidad, el de *Piper aduncum* 56,6 %, la pomada de *Piper aduncum* 63,3 % y la de *Eucalyptus globulus* 83,3 %. Las CL50 fueron 307,14 ppm para el aceite esencial de *Piper aduncum* y 1624,65 ppm para *Eucalyptus globulus*; para los hidrolatos, 14939,47 ppm y 52510,9 ppm, respectivamente; y para las pomadas, 9708,98 ppm para *Piper aduncum* y 14050,37 ppm para *Eucalyptus globulus*. Se concluyó que el aceite esencial de *Piper aduncum* presentó mayor toxicidad, clasificándose como moderadamente tóxico según CYTED y Clarkson y como tóxico según Meyer, mientras que hidrolatos y pomadas fueron considerados no tóxicos o inocuos según dichas clasificaciones.

Palabras clave: *Artemia salina*, *Eucalyptus globulus, Piper aduncum*, Toxicidad aguda, Concentración letal media.

ABSTRACT

The present study, conducted at the National University of San Antonio Abad of Cusco during the 2024–2025 period, aimed to determine the acute toxicity of commercial products (essential oil, ointment, and hydrolate) derived from *Eucalyptus globulus* and *Piper aduncum* using the *Artemia salina* bioassay. An observational and experimental study was conducted, evaluating nauplius mortality after 24 hours of exposure to concentrations of 125, 500, 2000, 8000, and 32000 ppm, in addition to control groups, and determining the median lethal concentration (LC50) for each product. Essential oils showed the highest toxicity, reaching 100% mortality from 2000 ppm for *Piper aduncum* and 8000 ppm for *Eucalyptus globulus*. At 32000 ppm, the *Eucalyptus globulus* hydrolate produced 43.3% mortality, *Piper aduncum* hydrolate 56.6%, *Piper aduncum* ointment 63.3%, and *Eucalyptus globulus* ointment 83.3%. The LC50 values were 307.14 ppm for *Piper aduncum* essential oil and 1624.65 ppm for *Eucalyptus globulus* essential oil; for hydrolates, 14939.47 ppm and 52510.9 ppm, respectively; and for ointments, 9708.98 ppm for *Piper aduncum* and 14050.37 ppm for *Eucalyptus globulus*. It was concluded that *Piper aduncum* essential oil showed the highest toxicity, being classified as moderately toxic according to CYTED and Clarkson and as toxic according to Meyer, whereas hydrolates and ointments were considered non-toxic or harmless according to these classifications.

Keywords: *Artemia salina*, *Eucalyptus globulus*, *Piper aduncum*, Acute toxicity, Median lethal concentration.

INTRODUCCIÓN

Entre las plantas de mayor importancia se encuentran *Piper aduncum* (matico) y *Eucalyptus globulus* (eucalipto), ambas ampliamente utilizadas en la medicina tradicional peruana. El matico ha sido utilizado de forma ancestral para favorecer la cicatrización y desinfección de heridas, además de aliviar afecciones respiratorias, gastrointestinales y menstruales. Asimismo, se le atribuyen propiedades antimicrobianas, antioxidantes, analgésicas y diuréticas (FarmaciaMapuche, 2023). En cuanto al eucalipto, su uso tradicional se centra en el alivio de las afecciones del sistema respiratorio, actuando como descongestionante y como complemento en el tratamiento de resfriados, bronquitis, asma, faringitis y amigdalitis, debido principalmente a los compuestos presentes en sus hojas y aceite esencial (Ochoa, 2022).

No obstante, pese a su creciente demanda y disponibilidad en el mercado, muchos de estos productos aún no cuentan con evaluaciones toxicológicas que permitan establecer concentraciones seguras para su uso. Esta preocupación es relevante debido a la presencia de metabolitos secundarios que se puede atribuir como potencial tóxico, como el eucaliptol, α-pineno, D-limoneno y α-terpineol en *Eucalyptus globulus*, así como cánfora, canfeno e isoborneol en *Piper aduncum*. Algunos de estos compuestos, particularmente la cánfora y el eucaliptol, pueden producir efectos adversos cuando la exposición es elevada o cuando se emplean de manera inadecuada. Por ello, aunque estos productos sean de origen natural, su seguridad depende de factores como la dosis, la vía de administración y el tiempo de exposición, siendo necesario generar evidencia científica que permita respaldar su uso seguro y racional.

En este contexto, resulta importante realizar evaluaciones toxicológicas preliminares de productos comerciales derivados de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Piper aduncum* (matico), considerando su amplio uso y la presencia de compuestos que podrían representar un

riesgo para la salud cuando se utilizan de manera inadecuada. La generación de evidencia sobre su potencial tóxico puede contribuir a una mejor comprensión de los riesgos asociados con su consumo o aplicación y proporcionar información relevante para promover un uso responsable de estos productos.

Por ello, el presente estudio tuvo como propósito determinar la toxicidad aguda de productos comerciales derivados de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Piper aduncum* (matico), específicamente aceite esencial, hidrolato y pomada, con el fin de generar evidencia científica que contribuya a la evaluación de la seguridad de estos productos y promueva su uso responsable.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años, el uso y comercialización de productos naturales elaborados a base de plantas medicinales como *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Piper aduncum* (matico) se ha incrementado en la Región del Cusco, debido a sus reconocidas propiedades medicinales y a la percepción de que los productos de origen natural son inocuos para la salud. Estas especies son empleadas tradicionalmente para diferentes fines terapéuticos y actualmente se encuentran disponibles en diversas presentaciones comerciales, entre ellas aceites esenciales, hidrolatos, pomadas, extractos, jarabes y otros preparados, cuyo uso forma parte de las prácticas de medicina tradicional y alternativa de la población.

Sin embargo, el origen natural de estos productos no garantiza necesariamente su seguridad. Tanto *Eucalyptus globulus* como *Piper aduncum* contienen metabolitos secundarios con elevada actividad biológica, cuya presencia y concentración pueden variar de acuerdo con factores como la especie, procedencia, condiciones de cultivo, procesamiento y formulación del producto. En *Eucalyptus globulus* destacan componentes como el eucaliptol (1,8-cineol), α-pineno, D-limoneno y α-terpineol; mientras que en *Piper aduncum* se han identificado compuestos como cánfora, canfeno e isoborneol, entre otros. Algunos de estos metabolitos pueden generar efectos adversos cuando se encuentran en concentraciones elevadas o cuando los productos son utilizados de manera inadecuada. Por ello, la percepción de que "todo lo natural es seguro" puede representar un riesgo para la población cuando no existe información suficiente que permita valorar objetivamente la seguridad de estos productos.

Esta situación resulta particularmente relevante en la Región del Cusco, donde los productos derivados de eucalipto y matico son comercializados y utilizados con fines terapéuticos. A pesar de su disponibilidad y amplio uso, existe limitada información científica relacionada con la seguridad toxicológica de las diferentes presentaciones comerciales disponibles para el consumidor. Asimismo, las diferencias en la composición y concentración de

sus metabolitos secundarios pueden generar variaciones en sus efectos biológicos y, consecuentemente, en su potencial tóxico. Esta variabilidad dificulta establecer criterios uniformes sobre la seguridad de los productos comercializados y puede incrementar el riesgo de exposición a concentraciones potencialmente perjudiciales.

La insuficiente información sobre los posibles efectos tóxicos de estos productos constituye una problemática importante, debido a que limita la capacidad de los consumidores y de los responsables de su comercialización y utilización para tomar decisiones fundamentadas sobre su uso. Además, la falta de evidencia científica específica sobre los productos disponibles en el mercado regional dificulta establecer una valoración objetiva de sus riesgos y limita la generación de recomendaciones orientadas a su utilización segura y racional.

Por lo tanto, el problema de investigación se relaciona con la insuficiente información sobre la toxicidad aguda de los productos comerciales derivados de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Piper aduncum* (matico), específicamente aceite esencial, hidrolato y pomada, comercializados en la Región del Cusco, a pesar de su amplio uso con fines terapéuticos y de la presencia de metabolitos secundarios con potencial tóxico. Esta situación evidencia la necesidad de generar información científica que permita conocer el potencial tóxico de estos productos y contribuir a la evaluación de su seguridad para favorecer un uso responsable y racional.

PROBLEMA GENERAL

¿Cuál es la mortalidad *Artemia salina* de productos comerciales derivados de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Piper aduncum (*matico)?

PROBLEMA ESPECÍFICO.

1. ¿Cuál es la mortalidad en nauplios de *Artemia salina* expuesta a diferentes concentraciones de productos comerciales derivados de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Piper aduncum* (matico)?
2. ¿La toxicidad aguda de *Artemia salina* depende del producto comercial y la concentración?
3. ¿Cuál es la CL_{50} y nivel de toxicidad aguda de cada uno de los productos comerciales de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Piper aduncum* (matico) frente a *Artemia salina*?

JUSTIFICACIÓN

Diversos estudios toxicológicos han demostrado que el uso inadecuado de plantas medicinales puede ocasionar efectos adversos e incluso consecuencias graves para la salud. Una misma especie vegetal puede contener compuestos con propiedades terapéuticas y, al mismo tiempo, metabolitos secundarios potencialmente tóxicos que representan un riesgo para la salud humana y animal (Sánchez et al., 2019). Por ello, la evaluación de la toxicidad constituye un aspecto fundamental para generar evidencia sobre la seguridad de las sustancias y productos de origen vegetal, especialmente cuando son utilizados con fines terapéuticos (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2019).

Desde el punto de vista científico, la presente investigación se justifica porque permitirá generar información sobre la toxicidad aguda de productos comerciales elaborados a partir de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Piper aduncum* (matico), especies ampliamente utilizadas en la medicina tradicional y empleadas en la elaboración de diversos productos de uso terapéutico, cosmético y veterinario. A pesar de su amplia utilización, existe limitada información científica sobre los posibles efectos tóxicos asociados a determinadas presentaciones comerciales, particularmente en productos disponibles para los consumidores. En este sentido, los resultados contribuirán a ampliar el conocimiento sobre la seguridad de estos productos y podrán servir como referencia para futuras investigaciones relacionadas con la evaluación toxicológica de especies medicinales.

Desde el punto de vista social, la investigación adquiere relevancia debido al frecuente uso de productos derivados del eucalipto y del matico en el Perú, especialmente en comunidades andinas de la Región del Cusco, donde las plantas medicinales forman parte de las prácticas tradicionales de atención de la salud. La percepción de que los productos naturales son necesariamente seguros puede favorecer su utilización sin considerar factores como la concentración, la frecuencia de uso o las características particulares de cada producto. Por ello,

generar información científica sobre sus posibles efectos tóxicos puede contribuir a una mayor conciencia sobre los riesgos asociados con su uso inadecuado y favorecer prácticas de consumo más responsables.

Desde el punto de vista práctico, los resultados del estudio proporcionarán información que podrá ser de utilidad para consumidores, profesionales de la salud, productores y comercializadores de productos derivados de estas especies. La disponibilidad de evidencia científica permitirá fortalecer el conocimiento sobre los posibles riesgos asociados con su utilización y contribuirá a promover un uso más seguro y racional de los productos naturales, especialmente de aquellos que se comercializan en diferentes presentaciones y concentraciones.

Finalmente, desde el punto de vista sanitario y regulatorio, la investigación resulta relevante debido a la necesidad de fortalecer la información disponible sobre la seguridad de los productos derivados de plantas medicinales. La generación de evidencia toxicológica puede contribuir como antecedente para futuras evaluaciones de calidad y seguridad, así como para el desarrollo de investigaciones orientadas al control y regulación de productos naturales y fitoterapéuticos. De esta manera, el estudio contribuirá al conocimiento científico sobre *Eucalyptus globulus* y *Piper aduncum* y al fortalecimiento de criterios orientados a su uso seguro y responsable.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la toxicidad aguda en *Artemia salina* de productos comerciales derivados de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Piper aduncum (*matico)

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Cuantificar la mortalidad en nauplios de *Artemia salina* expuesta a diferentes concentraciones de productos comerciales derivados de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Piper aduncum* (matico)
2. Evaluar el efecto del producto comercial y concentración de producto sobre la mortalidad de *Artemia salina*.
3. Determinar la CL_{50} y nivel de toxicidad de cada uno de los productos comerciales de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Piper aduncum* (matico) frente a *Artemia salina.*

HIPÓTESIS

Hipótesis general

Los productos comerciales derivados de *Eucalyptus globulus* y *Piper aduncum* presentan diferente toxicidad aguda frente a *Artemia salina*, determinada por la mortalidad y los valores de CL_{50} obtenidos.

Hipótesis específica

1. La mortalidad de *Artemia salina* aumenta significativamente con el incremento de la concentración de los productos comerciales derivados *de Eucalyptus globulus* y *Piper aduncum.*
2. El producto comercial, la concentración y la interacción entre ambos factores influyen significativamente sobre la mortalidad de *Artemia salina.*
3. Los productos comerciales derivados de *Eucalyptus globulus y Piper aduncum* presentan diferentes valores de CL_{50} y, por tanto, diferentes niveles de toxicidad frente a *Artemia salina.*

VARIABLES

➢ Variables Dependientes

- Y1=Mortalidad de nauplios de *Artemia salina.*

➢ Variables Independientes

- X1 = Producto/formulación comercial derivado de *Eucalyptus globulus y Piper aduncum.*

- X2= concentración de los productos comerciales.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 ANTECEDENTES

1.1.1 ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Morales et al. (2017), Nicaragua, desarrollaron la investigación con el objetivo de determinar la actividad citotóxica de extractos alcohólicos de *Eucalyptus spp.* mediante el cálculo de la concentración letal media (CL_{50}). El estudio fue de tipo analítico, no experimental. Se evaluó la citotoxicidad utilizando *Artemia ssp.* La CL_{50} fue calculada mediante regresión lineal. Los resultados mostraron que *Eucalyptus spp.* presentó una CL_{50} de 247,65 ppm, clasificándose como moderadamente tóxico. Los autores concluyeron que las especies vegetales evaluadas presentan distintos niveles de toxicidad dependiendo de su composición química.

Pineda et al., (2015), Colombia, Desarrollaron la investigación que tuvo como objetivo determinar la toxicidad de *Eucalyptus spp.* mediante bioensayos utilizando *Artemia salina* como organismo de prueba. Los investigadores estudiaron el efecto tóxico de los extractos de eucalipto mediante la determinación de la concentración letal media (CL_{50}). Como resultado, determinaron que el extracto presentó una baja toxicidad, registrándose una CL_{50} superior a 1000 μg/mL. Los autores concluyeron que el extracto de *Eucalyptus spp.* presenta un bajo nivel de toxicidad frente a *Artemia salina* bajo las condiciones evaluadas

1.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES.

Vaca Meza (2019), Trujillo, desarrolló la investigación, con el objetivo de determinar la toxicidad del extracto acuoso de hojas de *Piper aduncum*. La investigación fue experimental y utilizó el bioensayo con *Artemia salina* para calcular la concentración letal media. Los resultados mostraron una CL_{50} de 2751,11 µg/mL, clasificando al extracto como de baja toxicidad. Se concluyó que el extracto acuoso de *Piper aduncum* es no toxico para los nauplios de *Artemia salina*.

Lozano Mercado et al. (2017), Lima, realizaron el estudio con el objetivo de determinar la toxicidad aguda de enjuagues bucales elaborados con plantas medicinales. La investigación utilizó *Artemia franciscana* para calcular la CL_{50} y clasificar la toxicidad mediante los criterios de Meyer y Clarkson. Los resultados evidenciaron baja toxicidad para todos los enjuagues, con valores entre 470,68 y 894,87 µg/mL para los preparados acuosos y entre 751,74 y 881,68 µg/mL para los alcohólicos. Los autores concluyeron que los productos elaborados con *Eucalyptus globulus* presentan baja toxicidad bajo las condiciones evaluadas.

Dávila et al., (2016), Lambayeque, En un estudio experimental sobre *Piper tuberculatum Jacq*., se evaluó la toxicidad de los extractos etanólicos de inflorescencias y plantas sobre *Artemia salina*. Las DL50 fueron de 2215,936 µg/mL para el extracto de inflorescencias y 3736,350 µg/mL para el extracto de plantas. Los resultados permitieron concluir que los extractos etanólicos de *Piper tuberculatum Jacq*. no presentaron toxicidad frente a *Artemia salina.*

1.1.3. ANTECEDENTES LOCALES

Vera et al. (2021), Cusco, desarrollaron el estudio con el objetivo de evaluar la actividad antibacteriana y la citotoxicidad de diferentes extractos etanólicos mediante el bioensayo con *Artemia salina*. La investigación fue experimental y determinó la CL_{50} de cada especie. Los resultados mostraron que *Piper elongatum* presentó toxicidad moderada.

1.2. BASES TEÓRICAS

1.2.1. TOXICIDAD AGUDA

Los estudios de toxicidad aguda se realizan con el objetivo de determinar los efectos adversos que puede provocar una sola dosis, generalmente elevada, de una sustancia química. Su finalidad es detectar posibles consecuencias perjudiciales para la salud asociadas con el compuesto en evaluación. Estos estudios buscan identificar desde alteraciones bioquímicas, fisiológicas o morfológicas e inmediatas, hasta efectos retardados que indiquen daños secundarios en órganos o tejidos, e incluso la muerte del animal. Generalmente los efectos observados guardan una relación directa con la cantidad de sustancia administrada. La toxicidad aguda corresponde a la cantidad estimada de sustancia capaz de causar la muerte al 50% de los sujetos expuestos bajo condiciones experimentales controladas (Sahu et al., 2024)

1.2.1.1. CRITERIOS DE PRUEBA DE TOXICIDAD

La toxicidad de los extractos herbales expresada como valores de CL_{50} se valora comúnmente ya sea por comparación con el índice de toxicidad de Meyer, el índice de Clarkson o por el criterio de letalidad de CYTED. (Valderrama Molina, 2024)

El criterio o índice de toxicidad de Clarkson y Meyer

El índice de toxicidad de Clarkson es una herramienta utilizada para medir la toxicidad aguda. Surgió como respuesta a la necesidad de evaluar la concentración de diversos metales

pesados en la sangre, en la actualidad, se emplea para cuantificar y estudiar el potencial tóxico de distintas sustancias químicas al entrar en contacto con organismos vivos. Al igual que el índice de Meyer, el índice de Clarkson permite interpretar los resultados según una clasificación previamente definida para la evaluación de extractos de plantas clasifica los extractos de la siguiente manera. (Clarkson et al., 2004)

Tabla 1

Criterio de toxicidad de Clarkson

LC_{50} (µg/ml)	**Clasificación de toxicidad**
0 – 100	Altamente tóxico
100 – 500	Medianamente tóxico
500 – 1000	Poco tóxico
> 1000	No tóxico

Nota. Adaptado por Clark son et al. (2004)

Tabla 2

Índice de toxicidad de Meyer

Valor de LC_{50} (µg/ml)	**Clasificación de toxicidad**
< 1000 µg/ml	Tóxico
> 1000 µg/ml	No tóxico

Nota. Adaptado por Meyer et al. (1982)

Criterio de letalidad (CYTED)

La toxicidad de las sustancias se clasifica en distintos rangos de toxicidad aguda, los cuales suelen expresarse en µg/mL o ppm según su valor de CL_{50}. En **Tabla 5** se observa los niveles de toxicidad según CYTED.

Tabla 3

Criterio de letalidad según clasificación de tóxicos CYTED (programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo)

Criterio de toxicidad	**LC_{50} (ppm)**
Extremadamente tóxico	1-10 ppm
Altamente tóxico	10-100 ppm
Moderadamente tóxico	100-500 ppm
Ligeramente tóxico	500-1000 ppm
Prácticamente no tóxico	1000-1500 ppm
Relativamente inocuo	>1500 ppm

Nota. Extraido de: CYTED (1995)

1.2.1.2. TOXICIDAD SUBAGUDA

Consiste cuando se puede administrar dosis repetidas una vez se cuente con los datos iniciales obtenidos de las pruebas de toxicidad aguda, las cuales ofrecen información sobre los órganos o tejidos específicos afectados en el animal. Los efectos pueden causar síntomas clínicos o llegar a la muerte (Benrahou et al., 2022)

1.2.1.3. TOXICIDAD CRÓNICA

Hace referencia a los efectos perjudiciales que una sustancia puede provocar en el organismo como resultado de una exposición continua o repetida a dosis bajas. A diferencia de la toxicidad aguda cuyos efectos son inmediatos, la Crónica se desarrolla lentamente y puede generar daños graves a largo plazo puede deberse a la exposición continua a productos químicos, fármacos, metales pesados o contaminantes ambientales que se acumulan en el cuerpo y alteran funciones biológicas las vías de exposición incluyen inhalación, ingestión o contacto con la piel y los efectos de dependen tanto del tipo de sustancia como la de la sensibilidad individual. (Barragán, 2024)

1.2.1.4. BIOENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA

El término bioensayo designa una metodología científica que emplea organismos vivos, células o tejidos para evaluar el impacto biológico de diferentes sustancias químicas, medicamentos, compuestos naturales o factores ambientales. En el ámbito médico, los bioensayos son fundamentales para analizar la seguridad, efectividad y toxicidad de nuevos fármacos y tratamientos antes de que sean aprobados y utilizados en la práctica clínica. (Clínica Universidad de Navarra, 2023)

ELEMENTOS FUNDAMENTALES DE UN BIOENSAYO.

- Organismo modelo: Se trata de organismos completos (como ratones, *Artemia,* peces cebra o *Daphnia*) Cultivos celulares o tejidos específicos.
- Sustancias bajo análisis: compuestos cuya actividad biológica se examina.
- Evaluación de la respuesta: se emplean métodos como microscopía, espectrofotometría o análisis genético para medir los efectos (Clínica Universidad de Navarra, 2023)

TIPOS DE BIOENSAYOS

Los bioensayos se dividen en distintas categorías según su finalidad y complejidad

- **Bioensayos *in vivo***: emplean organismos vivos completos, generalmente animales de laboratorio para evaluar efectos tanto generales como específicos. Algunos ejemplos son pruebas de toxicidad y estudios farmacológicos.
- **Bioensayos *in vitro*:** Emplean cultivos celulares o tejidos aislados, siendo más rápidos y económicos que los ensayos en vivo, incluyen: pruebas de citotoxicidad ensayos de actividad enzimática (Clínica Universidad de Navarra, 2023)

1.2.1.5. CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL_{50})

La CL_{50} se utiliza para evaluar muestras liquidas o gaseosas y corresponde a la concentración disuelto en agua (expresada habitualmente en mg/L o µg/mL) capaz de ocasionar la mortalidad del 50% de organismos. Este indicador es ampliamente reconocido como el estándar para la evaluación ecotoxicológica en bioensayos acuáticos. (UTP, 2007)

1.2.2. *Artemia salina:* UBICACIÓN TAXONÓMICA

Dominio: Animalia

Filo: Artrópoda

Clase: Branchiopoda

Orden: Anostraca

Familia: Artemiidae

Género: *Artemia*

Especie: *Artemia salina*

Fuente: Mex Álvarez et al. (2024)

1.2.2.1.CARACTERÍSTICAS DE LA ESPECIE *Artemia salina.*

Artemia salina es un diminuto crustáceo, su cuerpo es estrecho alargado y cubierto por un caparazón flexible su tamaño varía entre 7 y 18 mm (en etapa adulta), y para quienes no están familiarizados con esta especie, puede resultar difícil de notar, ya que a primera vista se asemeja a diminutos granos de arena. (SalROCHE, 2022)

El primer estado larvario o estado I, presenta estructuras básicas para la percepción y el movimiento, tres pares de apéndices (también conocidas como anténulas), además de reservas nutritivas que sostienen su desarrollo, el estadio I se distingue por su tamaño de entre 0.4 y 0.5 mm de longitud, Tras aproximadamente 24 horas, pasa a una segunda fase, en la que comienza a alimentarse mediante la filtración de pequeñas partículas presentes en el medio. (Gaspar Reyes et al., 2021).

Su alimentación se compone principalmente de algas y bacterias, y a su vez son una fuente de alimento para peces, aves y diversos invertebrados. Las hembras producen huevos que, en condiciones ambientales favorables, se desarrollan en larvas de cerca de un milímetro de longitud.

En otras circunstancias, estos huevos pueden transformarse en quistes, permaneciendo en el estadio latente durante un año o más. (Pino Pérez & Lazo, 2010)

Su desarrollo depende de las condiciones ambientales del medio, ya que la producción de organismos vivos se favorece con aireación constante, buena oxigenación, temperaturas entre 15 y 18 °C y salinidades moderadas (19–45 g/L). En cambio, cuando se presentan condiciones de estrés como la ausencia de aireación, altas concentraciones de salinidad (mayores a 100 g/L) y temperaturas más bajas (13–15 °C), se induce la formación de quistes, los cuales permanecen en estado latente hasta que el ambiente vuelve a ser favorable. Amaru Chambilla et al., (2025)

1.2.2.2. ECOLOGÍA DE LA ESPECIE *Artemia salina*.

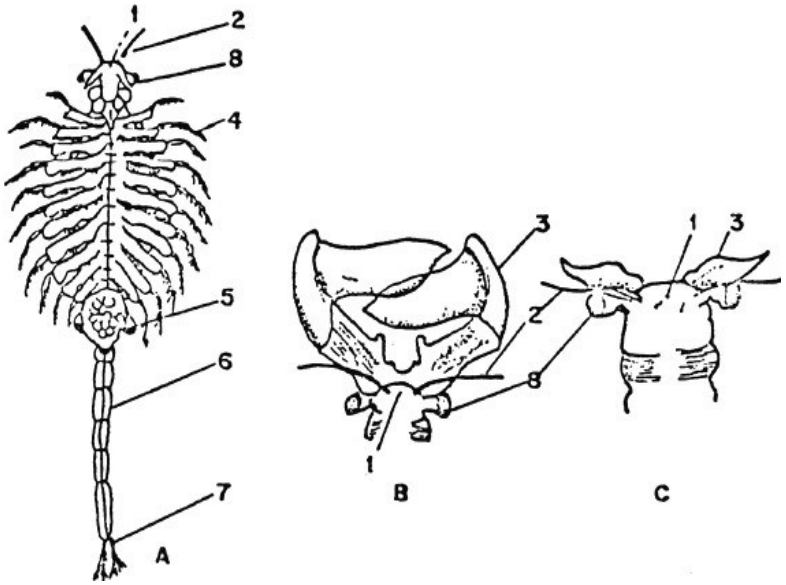
En cuanto a su ecología, las poblaciones de *Artemia* están distribuidas en regiones de clima tropical y subtropical, tanto en zonas costeras como en áreas interiores de los continentes, vive en lagos con alta salinidad, por ejemplo, de ello es el Gran Lago Salado en Estados Unidos, aunque también puedes desarrollarse en agua marina, los hábitats costeros donde habita se conocen como thalassohalinos mientras que los interiores reciben el nombre de athalossohalinos. Aunque *Artemia* cuenta con mecanismos fisiológicos que le permiten sobrevivir en aguas con baja salinidad, en ambientes naturales su límite inferior de tolerancia suele estar marcado por la presencia de depredadores que abundan cuando la salinidad es inferior a 45 partes por mil. Entre sus principales depredadores se encuentran diversas especies de peces y también insectos acuáticos como las larvas de odonatos, hemípteros y coleópteros. Algunos Hemípteros como los de la familia *Corixidae* y *Notonectidae*, pueden soportar alta salinidades y, en lugar de depredarla, compiten con *Artemia* por el hábitat. Sin embargo, los depredadores de los que no puede protegerse mediante la barrera de la salinidad son las aves. Los flamencos, por ejemplo, son considerados depredadores ocasionales, al igual que varias aves migratorias como los parópodos,

como el chorlito playero (Yockteng, 2017).

1.2.2.3.ESTRUCTURA DE *Artemia salina*

Figura1.

Estructura del género Artemia.



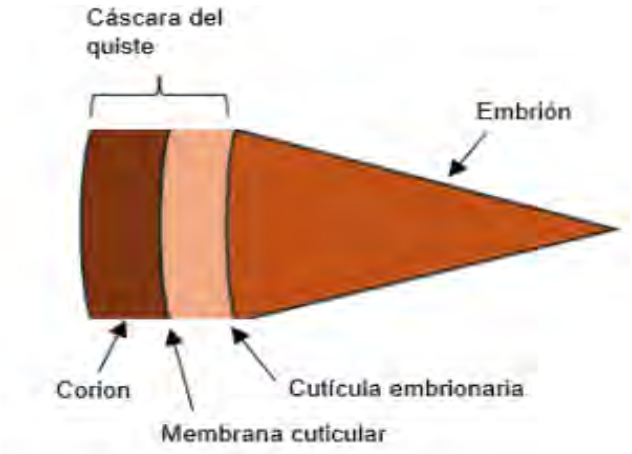
Nota. A. Hembra, B.Cabeza de macho C. Cabeza de hembra 1. Ojo de nauplio 2. Antenuelas 3. Antena 4. Apéndice toráxico5. Saco ovigeo 6. Segmento abdominal 7. Furca 8. Ojo pedunculado. Según (Ivleva etal.,1973 como se cita en en Torrentera Blanco & Tacon, s.f.).

1.2.2.4.ESTRUCTURA DE LOS QUISTES DE *Artemia salina*

Corión: es una capa rígida compuesta por lipoproteínas recubiertas de quitina y hematina, cuya función principal es proteger al embrión frente a daños mecánicos y radiaciones externas. **Membrana cuticular externa:** actúa como barrera contra la entrada de moléculas grandes, permitiendo solo el paso de sustancias pequeñas como el CO_2. **Cutícula embrionaria:** se trata de una capa transparente y muy elástica, que está separada del embrión por la membrana cuticular interna. (Mex Álvarez et al., 2024)

Figura2.

Estructura de la cáscara de los quistes de Artemia salina.



Nota. Extraído de Mex Álvarez et al. (2024)

1.2.2.5.CICLO DE REPRODUCCIÓN DE *Artemia salina.*

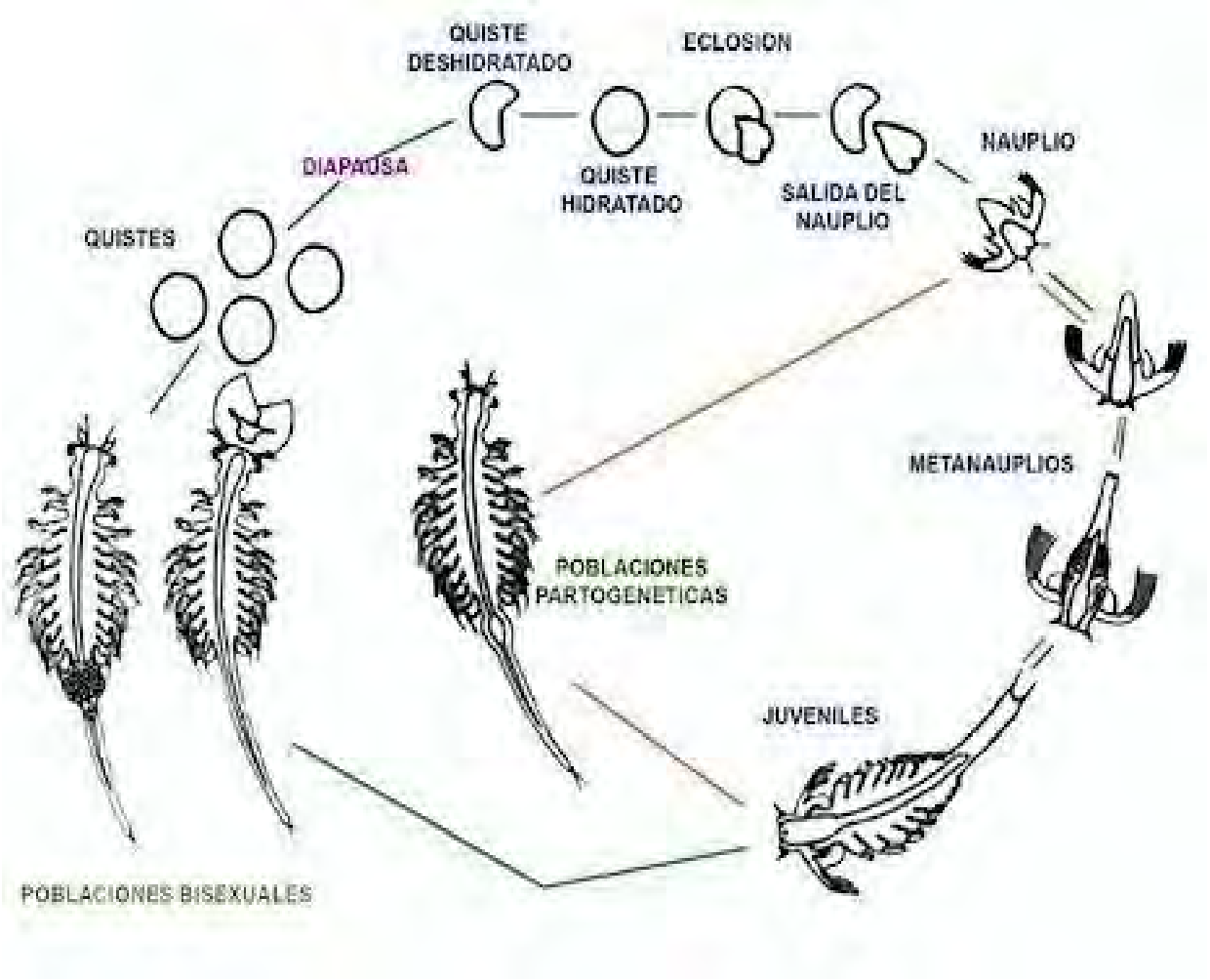
Las hembras de *Artemia salina* pueden reproducirse mediante reproducción sexual o partenogenética. En ambos casos, los huevos inician su desarrollo dentro del organismo materno y pueden seguir dos rutas distintas.

- En el tipo ovovivíparo, el desarrollo del huevo se completa dentro del útero, donde ocurre la eclosión y las larvas son liberadas al exterior.

- En el tipo ovíparo, los huevos también se desarrollan internamente, pero se transforman en estructuras de resistencia o quistes, los cuales son posteriormente expulsados al medio externo. Gutiérrez et al. (2021)

Figura3.

Ciclo de reproducción de Artemia salina.



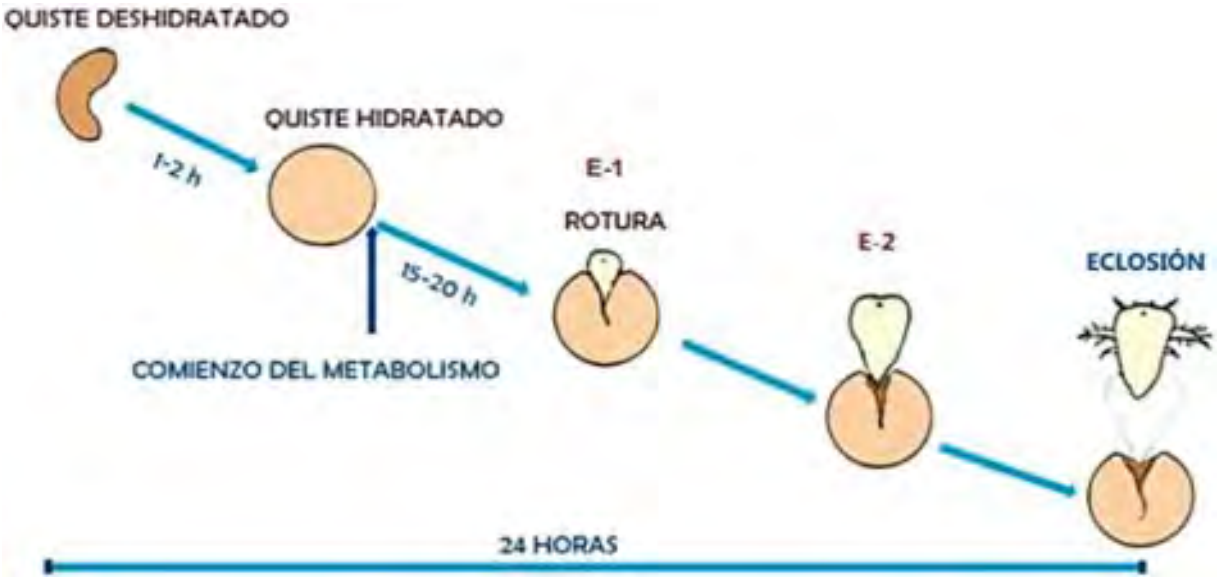
Nota. Extraído de Gutiérrez et al. (2021)

1.2.2.6.ECLOSIÓN DE QUISTES DE *Artemia salina*.

Tras 24 horas de incubación en agua de mar a 28 grados centígrados, el corión se rompe. El embrión aún envuelto por una membrana transparente, es liberado y puede observarse su movimiento dentro de esta **Figura 4.** Unas horas más tarde, el nauplio se separa de la membrana y comienzan a nadar libremente, utilizando sus apendices modificadas para desplazarse. Neli, 2015*)*

Figura4.

Eclosión del nauplio de Artemia.



Nota: extraído Neli (2015*)*

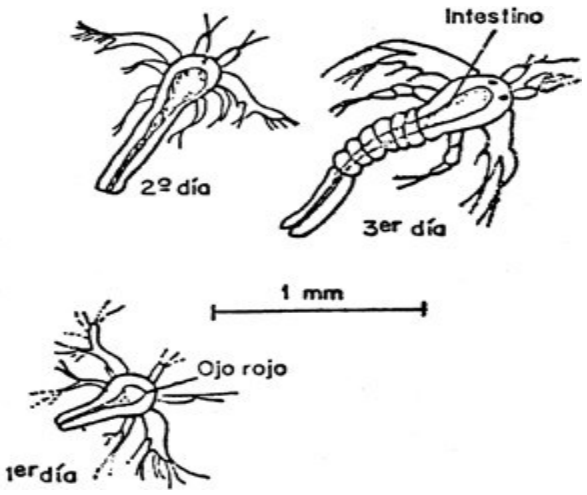
1.2.2.6.NAUPLIOS DE *Artemia salina.*

Nauplio es el primer estadio larvario, mide aproximadamente entre 400 y 500 micras. Presenta una coloración anaranjada y posee un único ojo rojo situado entre las antenas en la cabeza (Quispe Chucos, s.f.). En esta fase inicial, la larva no se alimenta, ya que su sistema digestivo aún no está en funcionamiento. A las 24 horas ocurre una muda que permite el paso al segundo estado larvario. En esta etapa, el sistema digestivo ya está completamente desarrollado y el segundo par

de antenas comienza a funcionar como filtro de partículas de alimento, capaces de retener partículas de entre 1 y 40 micras. **Figura 5** (Ghomari Sidi & Amat Domenech, 2020)

Figura5.

Estado nauplios de Artemia salina



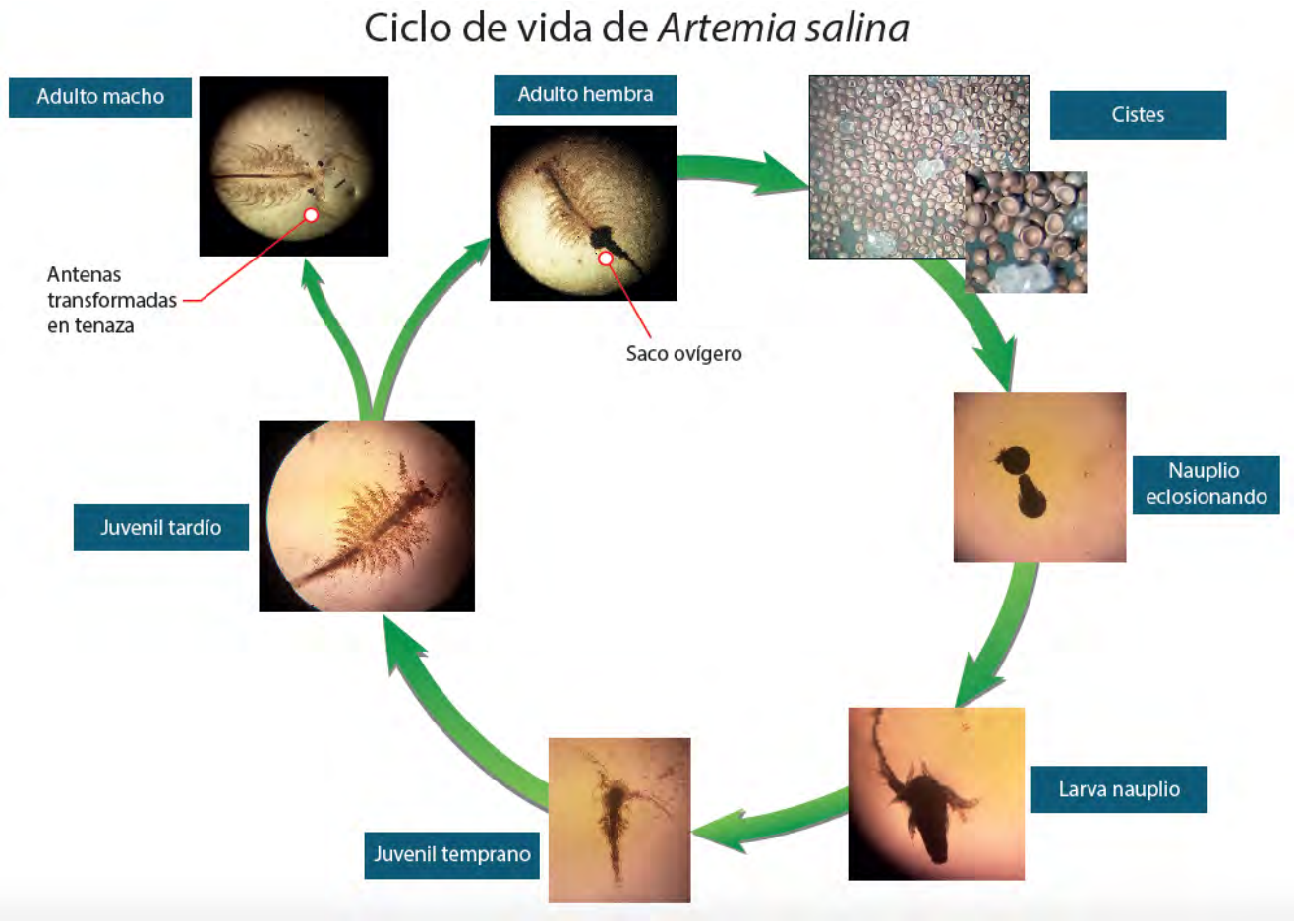
Nota. Extraído de Torrentera Blanco & Tacon (s.f.)

1.2.2.7. CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA DEL CICLO DE VIDA DE *Artemia salina*

Después del proceso de eclosión de los quistes de *Artemia,* estas atraviesan una etapa larval compuesta por tres fases: nauplio, metanauplio y juvenil, antes de alcanzar su desarrollo completo como artemias adultas. El nauplio, corresponde a la primera etapa larval, caracterizada por un cuerpo que funciona casi exclusivamente como una cabeza nadadora, con un único ojo que le permite orientarse hacia la luz, mostrando un comportamiento de fototropismo positivo. En la fase de metanauplio es similar al nauplio, pero con el desarrollo de nuevos segmentos corporales y la aparición de un segundo ojo. La fase juvenil el organismo presenta características similares a las del adulto, y comienza el proceso de diferenciación sexual. (Mex Álvarez et al., 2024)

Figura6.

Ciclo de vida de Artemia salina



Nota. Extraído de losretosdeciencias, (2017)

1.2.3. **EUCALIPTO** ***(****Eucalyptus globulus)***

1.2.3.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Se trata de un árbol capaz de crecer hasta los 45 metros de altura. Sus hojas, de forma alargada y punteada, son aromáticas. Las flores, del tono blanco o amarillento, tienen aspecto de pequeña corona y se sitúan sobre una estructura similar a un dedal. Presenta frutos sésiles agrupados de a tres, que recuerdan a pequeños botones, son secos y contienen numerosas semillas diminutas. (Barros Asenjo, 2014)

1.2.3.2. TAXONOMÍA

Reino: Plantae

Clado: Angiospermas

Clado: Eudicotiledóneas (Eudicots)

Clado: Eudicotiledóneas nucleares (Core eudicots)

Clado: Superrósidas (Superrosids)

Clado: Rósidas (Rosids)

Clado: Malvídas (Malvids / Eurosids II)

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Género: *Eucalyptus*

Especie: *Eucalyptus globulus* Labill.

Fuente: (The Angiosperm Phylogeny Group, 2016)

1.2.3.3. DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT

El *Eucalyptus globulus* especie principalmente originaria de Australia y Nueva Guinea, aunque actualmente se distribuye a nivel mundial debido a su alta capacidad de adaptación a

diferentes climas y suelos, países, como Argentina, Bolivia, China, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Estados Unidos, Guatemala, Honduras, México, Panamá y Perú. (Barros Asenjo, 2014) Esta especie puede desarrollarse en climas cálidos, semicálidos, semisecos y templados, entre los 500 y 2500 m s. n. m. desarrollarse en distintas condiciones ambientales. Sin embargo, su éxito de naturalización no depende principalmente de su origen genético, sino de factores locales como el clima y las perturbaciones del entorno. (M. Yost et al., 2021).

1.2.3.4.PROPIEDADES MEDICINALES

El eucalipto posee múltiples propiedades terapéuticas entre las que se incluyen efectos anti catarrales, antiasmáticos, descongestionantes, balsámicos y expectorantes, acción antiinflamatoria de los sistemas respiratorio y digestivo. También destaca por sus propiedades antisépticas, antibióticas, anti diabéticas, antivirídicas, antiespasmódicas, antirreumáticas, diaforéticas y antipiréticas. Debido a esta amplia gama de beneficios el eucalipto es una de las plantas más utilizadas en el tratamiento de enfermedades respiratorias. (Nina Gutiérrez et al., 2023)

1.2.3.5.USOS

Producción de pulpa para la industria de papel, extracción de aceites esenciales, proyectos de reforestación y para aromaterapia e infusiones. (Barros Asenjo, 2014)

1.2.3.6.PRINCIPIOS ACTIVOS DEL ACEITE DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO)

Tabla 4

Constituyentes químicos del aceite esencial de hojas de Eucalyptus globulus con tratamientos EMLS y EMAU.

Nº	Componentes	Molécula	Área (%) EMLS	Área (%) EMAU
1	α-Pineno	C10H16	11,10	11,19
2	D-Limoneno	C10H16	5,36	5,08
3	Eucaliptol	C10H18O	42,43	37,15
4	α-Terpineol	C10H18O	2,23	0,88
5	α-terpineol acetato	C12H20O2	3,34	6,78
6	α-Gurjuneno	C15H24	3,88	4,03
7	Aromadendreno	C15H24	10,26	10,14
8	L-Alloaromadendreno	C15H24	3,17	3,21
9	Varidifloreno	C15H24	4,03	3,26
10	Globulol	C15H26O	3,27	4,52
11	Viridiflorol	C15H26O	1,18	1,88
12	Epiglobulol	C15H26O	--	1,06
13	β-Pineno	C10H16	0,57	0,56
14	β-Mirceno	C10H16	0,63	0,47
15	α-Felandreno	C10H16	0,13	0,09
16	p-Cimeno	C9H12	0,15	0,48
17	ɤ-Terpineno	C10H16	0,62	0,20
18	L-4-Terpineol	C10H18O	0,37	0,31
19	Acetato de geraniol	C12H20O2	0,42	0,76
20	Isoledeno	C12H24	0,48	0,56
21	α-Copaeno	C15H24	0,17	--
22	α-Cubebeno	C15H24	--	0,13
23	Cadineno	C15H24	0,18	--
24	β-Gurjuneno	C15H24	0,66	0,75
25	β-Cariofileno	C15H24	0,14	--
26	1,1,1,3α-trimetil-7-metilenedecahidro-1H-ciclopropa[a]naftaleno	C10H16	0,21	--
27	2-isopropil-5-metil-9-metilen-biciclo[4.4.0]dec-1-eno	C10H16	--	0,16
28	α-Panasinseno	C15H24	0,15	--
29	Sativeno	C15H24	--	0,35
30	Eremofileno	C15H24	0,63	--
31	α-Cariofileno	C15H24	0,12	--

…///

Nº	Componentes	Molécula	Área (%) EMLS	…/// Área (%) EMAU
32	ɤ-Gurjuneno	C15H24	0,33	0,38
33	Sin nombre (C15H24)	C15H24	--	0,64
34	Feniletil isovalerato	C13H18O2	0,43	--
35	Elixeno	C15H24	0,58	--
36	ɤ-Muuroleno	C15H24	--	0,47
37	α-Amorfeno	C15H24	--	0,23
38	Cadineno (repetido)	C15H24	0,18	--
39	ɤ-Cadineno	C15H24	0,33	0,34
40	δ-Cadineno	C15H24	0,18	0,30
41	Dehidroaromadendreno	C15H26O	0,60	1,03
42	Epiglobulol (repetido)	C15H26O	0,60	0,17
43	α-Farneseno	C15H24	--	0,17
44	Sin nombre (C15H24O)	C15H24O	0,38	0,27
45	Sin nombre (C15H26O)	C15H26O	0,34	0,21
46	β-Eudesmol	C15H26O	0,20	0,56
47	3,3,7,11-tetrametil-triciclo[6.3.0.0(2,4)]undec-8-eno	C15H24O	--	0,15
48	Spatulenol	C15H26O	--	0,26
49	Ledol	C15H26O	0,29	0,50
50	Bis(2-etilhexil) éster del ácido hexanedioico	C15H26O	0,03	--
51	ɤ-Cadinol	C15H26O	--	0,06
52	α-Cadinol	C10H18O	--	0,03
53	Guaniol	C10H18O	--	0,20
54	Decahidro-1,1,3α-trimetil-7-metilen-[1αS-(1α,3α,7β,7α)]-1H-ciclopropa(a)naftaleno	C26H40O10	--	0,02
55	4-metilen-1-metil-2(2-metil-1-propen-1il)-1-vinil-cicloheptano	C15H26	--	0,18
56	α-Terpinoleno	C10H16	--	0,06
	Total	—	**100**	**100**

Nota. EMLS y EMAU (extracción por microondas y maceración asistida por ultrasonidos) Datos obtenidos de Nolazco Cama et al. (2020)

1.2.4. *Piper aduncum* **(MATICO)**

1.2.4.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Es una planta arbustiva perenne que puede alcanzar entre 3 y 4 metros de altura. Se caracteriza por presentar un tallo leñoso, nudoso y ramificado, de color verde o gris claro. La especie se desarrolla principalmente en ambientes tropicales húmedos. (Linnaeus, 1753)

1.2.4.2.TAXONOMÍA

Reino: Plantae

Clado: Angiospermas

Clado: Magnólidas (Magnoliids)

Orden: Piperales

Familia: Piperaceae

Género: *Piper*

Especie: *Piper aduncum* L.

Fuente: The Angiosperm Phylogeny Group. (2016).

1.2.4.3.DISTRIBUCIÓN

La familia *Piperaceae* está formada por 3,600 especies que se encuentran en zonas tropicales y subtropicales tanto en el hemisferio norte como en el sur. (Instituto Tecnológico de Paraná-Tecpar, 2023)

1.2.4.4.USOS

Generalmente medicinal, son muy valorados por su propiedad cicatrizante, antibacteriana y antifúngica, para combatir infecciones del riñón e hígado. Sus metabolitos, los flavonoides en

su aceite, ayuda a mantener la integridad de los tejidos. La inhibición enzimática evita la descomposición del proteoglicano y la estructura proteica, ayudando a potenciar su poder antibacteriano al prevenir infecciones. (Ore Areche et al., 2021)

1.2.4.5.PRINCIPIOS ACTIVOS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Piper aduncum* (MATICO)

Tabla 5

Componentes químicos del aceite esencial de Piper aduncum.

Familia química	Compuesto	Concentración Relativa (%)	Autor(es)
Monoterpenoide bicíclico	Eucaliptol	18,56%	(Saravia Salas & Vargas Arizapana, 2023)
Monoterpenoide oxigenado	Cánfora (alcanfor)	14,36%	
Monoterpenoide hidrocarbonado	Canfeno	14,19%	
Monoterpenoide oxigenado	Cánfora	22,68 %	Ore Areche et al. (2021)
Monoterpenoide hidrocarbonado	Canfeno	21,18 %	
Alcohol terpénico	Isoborneol	11,53 %	
Monoterpenoide oxigenado	Cánfora	25,3 %	Tirillini et al.(1996)
Monoterpenoide hidrocarbonado	Canfeno	22,4 %	

Nota. Adaptada a partir de las fuentes citadas en la tabla. Técnica de análisis químico: cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

1.2.5. PREPARADOS NATURALES A PARTIR DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) y *Piper aduncum* (MATICO)

1.2.5.1. HIDROLATO

Son mezclas coloidales formadas por una fase continua de agua destilada y una fase dispersa constituida por diminutas gotas de aceites esenciales y compuestos hidrosolubles, especialmente aquellos con oxígeno en su estructura. (Tavares et al., 2022). Para su producción, se pueden emplear diferentes partes de la planta, como flores, hojas, tallos y raíces. Por ejemplo, las aguas florales son hidrolatos específicos extraídos de las flores. (Gea, s.f.). A lo largo del proceso de destilación con vapor aplicado a plantas aromáticas se produce su producto líquido conocido como hidrolato el cual contiene moléculas hidrosolubles de la planta aromática, según descrito por Navarro et al. (2024).

Usos del hidrolato

Navarro et al. (2024). Indica que los hidrolatos han demostrado tener propiedades bioherbicidas en estudios realizados in vitro. Se usan en una variedad de productos de cosmética natural, como son aguas micelares, tónicos y emulsiones, entre otros, además posee diversas propiedades biológicas lo que les confiere un potencial uso en sectores como el alimentario, de bebidas, farmacéutico y agroforestal. (Tavares et al., 2022)

1.2.5.2. ACEITE ESENCIAL

Según Navarro (2022) los aceites esenciales tienen compuestos volátiles y aromáticos que se extraen de diferentes partes de la planta, contienen una combinación específica de compuestos químicos, lo que le otorga propiedades terapéuticas únicas y bien definidas, monoterpenos, sesquiterpenos, fenoles, alcoholes, esteres, aldehídos, cetonas, óxidos, cumarinas, lactonas. (Ramón, 2023)

Método de obtención del aceite esencial

Pueden ser extraídos mediante el método de prensado en frío o destilación a vapor, se puede usar diferentes partes de la planta como corteza, flores, hojas, raíces, semillas y tallos, estos aceites son los responsables de los aromas distintos de las plantas y son fundamentales para su supervivencia. (Navarro, 2022)

Uso de los aceites esenciales

Se emplean en una amplia variedad de productos y formulaciones para el ámbito farmacéutico (Sue Clarke, 2008). Se emplean como apoyo para el tratamiento de múltiples afecciones como náuseas y trastornos digestivos, dolores físicos y molestias corporales, estrés, ansiedad, agitación y depresión, cansancio e insomnio, dolores musculares, cefaleas, infecciones, alteraciones en la circulación, trastornos menstruales y síntomas de la menopausia, pérdida de cabello (alopecia), psoriasis y otros problemas cutáneos, dolor dental y lesiones bucales. (Thurrott, 2023)

1.2.5.3.POMADA

Estas están compuestas por una base homogénea en la que pueden encontrarse dispersas sustancias líquidas o sólidas. Son preparados farmacéuticos de consistencia semisólida diseñados para aplicarse de forma tópica. (Monasterio Asteinza & Sanz Olmos, 2018)

Método de elaboración

La preparación de una pomada requiere seleccionar una base adecuada que permita incorporar y distribuir de manera uniforme los componentes activos, considerando sus características y propiedades para obtener un producto con adecuada consistencia y facilidad de aplicación.

Según Juárez Eyzaguirre (2008) indica que, en la elaboración tradicional de estas pomadas,

era habitual el uso de ingredientes como mantequilla, manteca de origen bovino o porcino, grasas y aceites vegetales, incluyendo los de oliva, almendra y maní, entre otros de composición similar. También se empleaban las bases como parafina o vaselina y que otros autores señalan que la grasa de pollo es la más adecuada para preparar pomadas, seguida por la de cerdo y en tercer lugar la de vaca. En cuanto a la composición en gramos se ha registrado el uso de grasa de cerdo en diferentes cantidades según la formulación empleada, incluyendo 500 g, 30 g, 50g, 20 g y el componente activo principal también varía en su concentración, utilizándose comúnmente en 0.5 g, 1g, 10g y 60g dependiendo de la formulación específica.

Usos de la pomada

Generalmente son de uso tópico (Monasterio Asteinza & Sanz Olmos, 2018)

1.3. BASES CONCEPTUALES

Toxicidad aguda: Efecto adverso que produce una sustancia en un organismo en un corto periodo de tiempo, generalmente tras una sola exposición o varias en 24 horas. (Sahu et al., 2024)

Concentración Letal media CL_{50}: Concentración de una sustancia que provoca la muerte del 50% de los organismos expuestos en un tiempo determinado. Es un indicador estándar para medir toxicidad. (Sahu et al., 2024)

Artemia salina: Crustáceo microscópico utilizado como organismo modelo en estudios toxicológicos por su sensibilidad a sustancias químicas. (SalROCHE, 2022

Nauplios: Primera fase larvaria de *Artemia salina*, ampliamente utilizada en ensayos de toxicidad debido a su facilidad de cultivo y respuesta a contaminantes. (Quispe Chucos, s.f.).

*Eucalyptus globulus***:** Árbol conocido como eucalipto, cuyas hojas contienen compuestos bioactivos con propiedades medicinales y antimicrobianas (Barros Asenjo, 2014).

Piper aduncum: Planta conocida como matico, utilizada tradicionalmente por sus propiedades medicinales y con compuestos bioactivos potencialmente tóxicos o terapéuticos (*Piper.2024).*

Aceite esencial: Sustancia concentrada extraída de plantas mediante destilación, rica en compuestos volátiles con actividad biológica (Navarro, 2022).

Pomada: Preparación semisólida de uso tópico que contiene principios activos mezclados con bases grasas o cerosas. (Monasterio Asteinza & Sanz Olmos, 2018).

Hidrolato: Subproducto líquido obtenido durante la destilación de aceites esenciales, contiene compuestos solubles en agua de la planta (Tavares et al., 2022).

CYTED: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, que establece criterios de clasificación de toxicidad de sustancias.

INDICE DE CLARKSON Y MEYER: Son criterios utilizados para clasificar el grado de toxicidad aguda de una sustancia a partir de sus valores de concentración letal media (CL_{50}), permitiendo estimar su potencial tóxico mediante categorías previamente establecidas. (Clarkson et al., 2004)

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1 MATERIALES

2.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Organismo de prueba: Quistes de *Artemia salina (*MACKAY MARINE ARTEMIA TM.)

Productos evaluados:

Los productos comerciales (pomada, aceite e hidrolato) derivados de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Piper aduncum* (matico) fueron obtenidos mediante adquisición comercial de la marca Illa "ecología, plantas medicinales y aromáticas"-Cusco.

2.1.2. MATERIALES DE LABORATORIO

- Guantes de nitrilo
- Mandil blanco de laboratorio
- Mascarillas desechables
- Pipetas de plástico
- Pipeta automática 10-100ul (alemán)
- Tips amarillos y azules
- Pipeteador (Lab medic)
- Papel absorbente
- Papel filtro
- Tijeras

- Alcohol de 70° y 96°
- Agua destilada
- Cartas de Munssels

2.1.3. MATERIAL DE VIDRIO

- 5 unid, de vaso de precipitado de 250 mL y 500 mL (EUROLAB-GERMANY)
- Matraz Erlenmeyer 300mL, 500 mL(PYREX)
- Matraz Erlenmeyer 1000 mL (PYREX)
- Matraz 250 mL (QUIMAX)
- Placas Petri (PYREX)
- Probeta 100 mL(EUROLAB-GERMANY)
- Laminas cubre y porta objetos
- Pipetas de 1 mL,10 mL(EUROLAB-GERMANY)

2.1.4. REACTIVOS

- Tween – 20 (DIFCO LABORATORIES)
- Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$)
- Hidróxido de sodio (NaOH) al 5%
- Hipoclorito de sodio (NaOCL) al 5%
- Ácido clorhídrico (HCL) al 1%
- Lugol

2.1.5. EQUIPOS DE LABORATORIO

- Microscopio Óptico Primo Star (ZEISS)
- Estereoscopio Stemi 305 (ZEISS)
- Destilador (GFL 2004)

- Termómetro digital TP101 WMETER
- Balanza analítica electrónica (JK-200)
- Mechero Bunsen (ISO LAB- 050.01)
- Horno (BINDER)

OTROS

- Eclosionador (JBL Artemio Set)
- Sal marina (Oceanic)
- Luxometro (Kyoritsu)
- Placas Petri de plástico (GREINER Bio-one)
- Caja de vidrio para la instalación del bioensayo
- Pomada, hidrolato y aceite esencial de matico y eucalipto (ILLA-Cusco)
- Tiras para controlar pH (Mission)
- Fluorescentes (OPALUX 50W)

2.2. MÉTODOLOGÍA

2.2.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Este trabajo correspondió a un estudio experimental, debido a que se modificaron variables independientes (las concentraciones del producto en condiciones controladas de laboratorio) para analizar su influencia en una variable dependiente: la mortalidad de los nauplios. Hernández-Sampieri & Mendoza (2018).

2.2.2. LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Toxicología

2.2.3. ÁREA DE PROCESAMIENTO.

Se llevó a cabo en el laboratorio de biología molecular C-235 de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco**.**

2.2.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Bifactorial completamente al azar.

FACTOR A: Especies

- X_1 = Eucalipto
- X_2 = Matico

FACTOR B: Producto comercial

- Y_1 = Aceite
- Y_2 = Hidrolato
- Y_3 = Pomada

Condiciones experimentales:

- Control positivo (+) = $K_2Cr_2O_7$
- Control negativo (−) = Agua de mar
- Concentraciones: 125, 500, 2000, 8000 y 32000 ppm.

Tabla 6

Diseño experimental del bioensayo con Artemia salina para la evaluación de los productos comerciales de Eucalipto y Matico.

TRATAMIENTO	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	RÉPLICAS EXPERIMENTALES	*Artemia salina* POR RÉPLICA	TOTAL DE *Artemia salina* POR GRUPO
EUCALIPTO/ ACEITE	Control negativo (Agua de mar)	3 recipientes	20	60
	125 ppm	3 recipientes	20	60
	500 ppm	3 recipientes	20	60
	2000 ppm	3 recipientes	20	60
	8000 ppm	3 recipientes	20	60
	32000 ppm	3 recipientes	20	60
	Control positivo ($K_2Cr_2O_7$)	3 recipientes	20	60
EUCALIPTO/ HIDROLATO	Control negativo (Agua de mar)	3 recipientes	20	60
	125 ppm	3 recipientes	20	60
	500 ppm	3 recipientes	20	60
	2000 ppm	3 recipientes	20	60
	8000 ppm	3 recipientes	20	60
	32000 ppm	3 recipientes	20	60
	Control positivo ($K_2Cr_2O_7$)	3 recipientes	20	60
EUCALIPTO/ POMADA	Control negativo (Agua de mar)	3 recipientes	20	60
	125 ppm	3 recipientes	20	60
	500 ppm	3 recipientes	20	60
	2000 ppm	3 recipientes	20	60
	8000 ppm	3 recipientes	20	60
	32000 ppm	3 recipientes	20	60
	Control positivo ($K_2Cr_2O_7$)	3 recipientes	20	60
MATICO/ ACEITE	Control negativo (Agua de mar)	3 recipientes	20	60
	125 ppm	3 recipientes	20	60
	500 ppm	3 recipientes	20	60
	2000 ppm	3 recipientes	20	60
	8000 ppm	3 recipientes	20	60
	32000 ppm	3 recipientes	20	60
	Control positivo ($K_2Cr_2O_7$)	3 recipientes	20	60
MATICO/ HIDROLATO	Control negativo (Agua de mar)	3 recipientes	20	60
	125 ppm	3 recipientes	20	60
	500 ppm	3 recipientes	20	60
	2000 ppm	3 recipientes	20	60
	8000 ppm	3 recipientes	20	60
	32000 ppm	3 recipientes	20	60
	Control positivo ($K_2Cr_2O_7$)	3 recipientes	20	60

TRATAMIENTO	**CONDICIÓN EXPERIMENTAL**	**RÉPLICAS EXPERIMENTALES**	*Artemia salina* **POR RÉPLICA**	**TOTAL DE** *Artemia salina* **POR GRUPO**
MATICO/ POMADA	Control negativo (Agua de mar)	3 recipientes	20	60
	125 ppm	3 recipientes	20	60
	500 ppm	3 recipientes	20	60
	2000 ppm	3 recipientes	20	60
	8000 ppm	3 recipientes	20	60
	32000 ppm	3 recipientes	20	60
	Control positivo ($K_2Cr_2O_7$)	3 recipientes	20	60
TOTAL	**----**	**126 unidades experimentales**		**2 520 nauplios de** *A. salina.*

Nota. Elaboración propia.

FACTOR DE RESPUESTA: % Mortalidad

La determinación de la toxicidad aguda es dispuesta por mortalidad a 24 horas de exposición.

- Parámetros toxicológicos
  - Dosis – respuesta
  - CL_{50}

.

2.2.5. CONTROL DE CALIDAD DE QUISTES DE *Artemia salina*

Para asegurar la calidad de los quistes de *Artemia salina*, se ejecutaron las siguientes evaluaciones:

a. Color: Es importante para determinar la calidad de los quistes, se realizó mediante la comparación de los quistes (muestra) y las cartas de Munssell. (Cedeño, 2017)

b. Determinación de % de humedad de los quistes de *Artemia salina***.** referenciado por Sánchez Barrera (2015)

- Se midió el peso de la placa Petri después de haberlo calentado durante una hora en una estufa a 60°C.
- Se colocó medio gramo de quistes en la placa Petri para llevar a la estufa.
- Se dejó la muestra en la estufa, dentro de una placa Petri, a 60 °C por 24 horas.
- Después de 24 horas, se pesó nuevamente la placa Petri con la muestra.
- Se calculó el porcentaje de humedad en los quistes**.**

$$\%\ \boldsymbol{de\ H} = \frac{(\boldsymbol{P1}) - (\boldsymbol{P2})}{(\boldsymbol{P2}) - (\boldsymbol{P3})}\ \boldsymbol{x\ 100}$$

DONDE:

P1: placa Petri más muestra no seca

P2: placa Petri más muestra seca

P3: Peso de la placa Petri

2.2.6. ECLOSIÓN DE *Artemia salina*

- Se preparó agua de mar artificial: Se disolvieron 35 g de sal marina en 1 L de agua destilada, luego la solución fue filtrada y se le inyectó aire (con el equipo de eclosión) por un periodo de 30 minutos.

- Hidratación de los quistes: Se pesó aproximadamente 20 mg de quistes para luego dejar en remojo con 20 ml de agua destilada durante 30 minutos.
- Para el proceso de descapsulación se preparó 3 ml de NaOCl, 3 mL de NaOH y 20 ml de agua de mar, en este caso agua salina previamente preparada. Posteriormente se trasladó los quistes hidratados a la solución descapsuladora y se agitó durante 5-8 minutos. Luego, se realizó la filtración y enjuague con abundante agua destilada. A continuación, se sumergió en una solución de HCl, durante 1 minuto, se filtró de nuevo, se llevó enjuagó con agua de mar y finalmente, se mantuvo en agua de mar suficiente para el trasvase. *(*Sánchez Barrera*,* 2015*)*
- Se montó el equipo de eclosión: de la marca JBL Artemio Set (incluye una bomba de aireación constante) y para proporcionar luz y una temperatura uniforme se dispuso 2 fluorescentes de 50 W cada uno, además se dispuso de un termómetro digital, todo esto dentro de una caja de vidrio **Anexo 4.**
- Se pasaron los quistes descapsulados al equipo de eclosión y se registró la hora.
- Se controló condiciones óptimas: se verificó que la temperatura esté entre 25-30°C, que exista aireación e iluminación constante, un pH de 7.5-8, y una densidad de 5 g/L del agua de mar.
- Después de la eclosión de los quistes, se obtuvieron el estadio de nauplios, listos para su aplicación 24 horas después de la eclosión.

2.2.7. CONTROL DE LA CALIDAD DE NAUPLIOS DE *Artemia salina*

Eficiencia de eclosión (EE)

- Se vertieron 80 ml de agua de mar artificial en una probeta con capacidad 100 ml.
- Se añadieron 0.25 g de quistes a la probeta.
- La probeta se mantuvo bajo condiciones de aireación e iluminación constante.
- Transcurrida una hora, se ajustó el volumen total de la mezcla hasta alcanzar los 100 mL.
- Después de 24 horas, se tomaron cinco muestras de 0.250 mL cada una, las cuales se colocaron en placas Petri.
- A cada una de las placas se incorporaron 5 ml de agua de mar.
- A cada placa Petri se le adicionó una gota de lugol.
- Se realizó el conteo de los nauplios presentes.
- Se calculó la eficiencia de eclosión mediante la siguiente fórmula:

$$EE = \frac{N\ X\ V}{M\ X\ C}$$

Donde:

N= promedio de los nauplios presentes en las placas Petri

V= volumen total de eclosión

M= volumen de la muestra

C= cantidad de los quiste incubados

Porcentaje de eclosión (%E)

Para el cálculo de porcentaje (%) de eclosión se tomó la muestra anteriormente fijada con lugol y se continuó con lo siguiente:

- Se agregó gotas de hipoclorito de sodio (NaOCl) para la disolución de la cáscara

de los quistes que no eclosionaron y quedando así solo los embriones.

- Se observó al microscopio y se contó.
- Se calculó el porcentaje de eclosión mediante la siguiente fórmula.

$$\%E = \frac{N}{N+E} \text{X}100$$

Donde:

N=promedio de los nauplios presentes en las placas Petri

E= promedio de embriones presentes en la placas Petri

Para las pruebas sucesivas como: El procedimiento de descapsulación, el proceso de eclosión y sus parámetros asociados, se procedió al control de la calidad de los quistes de *Artemia salina*.

Posteriormente para documentar el ciclo de vida de la especie, se tomaron fotografías con el fin de identificar las etapas del desarrollo de *Artemia salina,* así como el estadio específico en el que se va a utilizar en el ensayo. Para obtener las fotografías se utilizó un estereoscopio.

La observación de los organismos se realizó de la siguiente forma:

- Se seleccionó un ejemplar correspondiente a cada transformación visual (0horas, 13 horas, 15 horas, 20 horas, 24 horas, 5 días, 11 días y 15 días) observada en el ciclo de vida de *Artemia.*
- Cada muestra fue lavada cuidadosamente con agua destilada para eliminar los residuos de sal.
- Se colocó cada ejemplar sobre una placa.
- Se observaron bajo el estereoscopio donde se tomaron las fotografías necesarias.
- Se ordenaron y organizaron las fotografías obtenidas del ciclo de vida.

2.2.8. **BIOENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA CON *Artemia salina***

2.2.8.1. Preparación de las concentraciones a evaluar

Es importante considerar la baja solubilidad que tienen los aceites esenciales en medio acuoso, es por esto que primero, se realizó una búsqueda de agentes surfactantes o disolventes auxiliares que coadyuven a la solubilidad de los aceites en medio acuoso, la bibliografía sugirió cómo agentes surfactantes al Tween 20, y al Tween 80 y como disolventes auxiliares al dimetilsulfóxido. Sánchez Barrera, (2015).

Se preparó 100 ml de una solución estándar a 32 000 ppm mediante la disolución de 3,2 ml del producto correspondiente (aceite esencial, pomada y hidrolato) en 96.8 ml de agua destilada. En el caso de las pomadas (previa licuefacción con calor) y aceites esenciales, se adicionaron 100 µL de Tween 20 como agente surfactante, con el fin de favorecer la emulsión y homogeneización de la mezcla.

A partir de esta solución estándar se realizaron las diluciones necesarias para obtener las concentraciones evaluadas en el bioensayo. Asimismo, se incluyó la solución estándar sin diluir como una de las concentraciones experimentales.

Se utilizó la fórmula de dilución:

$$\mathbf{C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2}$$

Donde:

C_1 = concentración inicial o concentración de la solución madre/ estándar.

V_1 = volumen que debes tomar de la solución madre/estándar.

C_2 = concentración final que deseas obtener.

V_2 = volumen final de la solución preparada.

Tabla 7

Preparación de las concentraciones (pomada, hidrolato y aceite esencial)a evaluar a partir de la solución estándar.

Solución estándar (ppm)	Concentración a obtener (ppm)	Volumen solución estándar (ml)	Agua mar artificial (ml)	Volumen final (ml)	Volumen / placa (ml)
32000	125	0.25	63.75	64	20
32000	500	1	63	64	20
32000	2000	4	60	64	20
32000	8000	16	48	64	20
32000	32000	64	0	64	20

Nota. Los valores se calcularon mediante la formula de $C_1V_1=C_2V_2$. Elaboración propia.

Controles

Control positivo: Se preparó una solución de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) a una concentración de 500 ppm. Para el caso de este bioensayo se pesó y adicionó 0.05gr de $K_2Cr_2O_7$ en 100ml agua de mar. (Sánchez Barrera, 2015).

Control negativo:

- En caso de los hidrolatos: solo se usó agua de mar, previamente preparada.
- En caso de los aceites esenciales y pomadas: en 100ml de agua de mar artificial, más 100 µL de coadyuvante (tween -20). (Sánchez Barrera, 2015)

2.2.8.2.Procedimiento e instalación del bioensayo

Según lo descrito en el ítem 2.2.6 los nauplios de *Artemia salina,* quedaron disponibles para su aplicación en el bioensayo.

Se usaron placas Petri de plástico de 5 cm de diámetro con tapas, previamente perforadas, con orificios suficientes para tener buena entrada de aire, se agregó a cada placa 20 ml de las concentraciones previamente preparadas (125 ppm, 500 ppm, 2000 ppm, 8000 ppm y 32000 ppm) se llevó a cabo un total de 3 réplicas por cada tratamiento, 20 ml en cada placa Petri y se añadió 20 nauplios por placa.

Se colocaron las placas en una caja de vidrio, donde se buscó mantener las condiciones adecuadas. Para ello, se mantuvo una temperatura entre 25 °C y 30 °C, se proporcionó iluminación mediante dos fluorescentes de 50 W. Finalmente, se registró la hora exacta en que fueron colocados los nauplios, para poder llevar un control del experimento. Según Pino Pérez y Jorge Lazo (2010).

2.2.8.3.Tiempo de prueba y método de conteo

El tiempo de prueba fue de 24 horas, sugerido por Pino Pérez & Jorge Lazo (2010). Pasado este tiempo se determinó el número de organismos muertos en cada placa Petri con ayuda de un estilete, se hizo contacto a los nauplios y se observó el comportamiento de los mismos mediante un estereoscopio. Para determinar la muerte, y realizar el conteo de manera rápida, se consideró mortalidad del nauplio al no observar movimientos de los apéndices durante 10 segundos.

2.2.8.4.Análisis de datos para determinar el efecto de la especie vegetal, formulación comercial y concentración de producto sobre la mortalidad de *Artemia salina.*

Se realizó un análisis estadístico. Inicialmente, se aplicó una prueba de normalidad para verificar la distribución de los datos; posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para identificar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y determinar el efecto de los factores evaluados sobre la mortalidad. Finalmente, cuando se encontraron diferencias significativas, se aplicó la prueba de Tukey para establecer entre qué tratamientos existían diferencias.

2.2.8.5.Toma de datos para determinar CL_{50}.

Para registrar los datos, se realizó una tabla (base de datos en Excel) con el número de organismos muertos por cada concentración y por cada producto.

Para estimar la concentración letal media (CL_{50}) junto con sus intervalos de confianza al 95%, se empleó el análisis estadístico Probit, tal como lo señalan (Pedraza & Delgado, 2012). Este método es uno de los procedimientos más utilizados para el cálculo de valores $CL_{50/}$ $CE_{50,}$ ya sea aplicando ajustes o sin ellos. Según Finney (1971), en un ensayo típico de toxicidad aguda se presenta precisamente este tipo de escenario experimental que permite la aplicación adecuada del análisis Probit.

Donde:

- Concentración de la sustancia o dosis (d).
- Número de individuos (n).
- Número de organismos muertos (r).
- Porcentaje de efecto (p).

$$p = (r/n)x100$$

Además, el análisis Probit facilita la estimación de la CL_{50} al transformar los datos de mortalidad mediante un enfoque probabilístico que asume una distribución logarítmica de tolerancias. El porcentaje de organismos afectados o muertos por un tóxico se convierte a unidades Probit, lo que permite ajustar los valores a un modelo de regresión lineal. Dentro de esta línea, la población evaluada. La determinación de la CL_{50} y de sus intervalos de confianza al 95% se realizó utilizando un software especializado de análisis llamado “Probit Analysis Program”, versión 1.5.

ANÁLISIS DE DATOS.

Para los análisis estadísticos se usó el software R, utilizando RStudio como entorno de desarrollo.

Para determinar la CL_{50} se usó el programa LD_50_calculator. y se clasificó la toxicidad según el criterio de letalidad CYTED (programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo) (CYTED, 1995)

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. EFECTO TÓXICO DE LOS DIFERENTES PRODUCTOS COMERCIALES A PARTIR DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) Y *Piper aduncum* (MATICO) EN *Artemia salina.*

3.1.1. EFECTO TÓXICO DEL ACEITE ESENCIAL DE ***Eucalyptus globulus*** (EUCALIPTO) EN ***Artemia salina***

Tabla 8

Resultados del bioensayo de letalidad con Artemia salina en aceite esencial de eucalipto

Efecto toxico del Aceite esencial de *Eucalyptus globulus* en *Artemia Salina*					
Concentración ppm	Rep.1	Rep. 2	Rep.3	Promedio de muertos	Mortalidad (%)
125	0	2	0	0,67	3.33
500	6	4	8	6,00	30
2000	11	9	10	10,00	50
8000	20	20	20	20,00	100
32000	20	20	20	20,00	100

En la **tabla 8** se observa que la mortalidad de *Artemia salina* aumentó conforme se incrementó la concentración del aceite esencial de *Eucalyptus globulus*. A una concentración de 125 ppm, se registró un promedio de 0,67 individuos muertos, equivalente a una mortalidad de 3,33 %. A 500 ppm, el promedio aumentó a 6 individuos muertos (30 %), mientras que a 2000 ppm se obtuvo un promedio de 10 individuos muertos, correspondiente al 50 % de mortalidad. A concentraciones mayores, de 8000 y 32000 ppm, se observó una mortalidad total, con un promedio de 20 individuos muertos, equivalente al 100 %. Estos resultados muestran una relación directa entre el incremento de la concentración del aceite esencial y el porcentaje de mortalidad de *Artemia salina*, evidenciando un efecto tóxico dependiente de la concentración. Este comportamiento sugiere que una mayor exposición al aceite esencial incrementa el efecto de sus compuestos sobre

los nauplios, produciendo una respuesta tóxica más intensa a concentraciones elevadas.

3.1.2. EFECTO TÓXICO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Piper aduncum* (MATICO) EN *Artemia salina.*

Tabla 9
Resultados del bioensayo de letalidad con Artemia salina en aceite esencial de matico.

Efecto toxico del Aceite esencial de *piper aduncum* en *Artemia Salina*					
Concentración ppm	Rep.1	Rep. 2	Rep.3	Promedio de muertos	Mortalidad (%)
125	4	2	4	3,33	16.6
500	16	14	12	14,00	70
2000	20	20	20	20,00	100
8000	20	20	20	20,00	100
32000	20	20	20	20,00	100

En la **tabla 9** se observa que el aceite esencial de *Piper aduncum* produjo un incremento de la mortalidad de *Artemia salina* conforme aumentó la concentración. A 125 ppm, se obtuvo un promedio de 3,33 individuos muertos, equivalente a una mortalidad de aproximadamente 16,67 %. Al aumentar la concentración a 500 ppm, el promedio se incrementó a 14 individuos muertos, correspondiente al 70 % de mortalidad. A partir de 2000 ppm, se registró un promedio de 20 individuos muertos, equivalente al 100 % de mortalidad. Este mismo comportamiento se mantuvo a 8000 y 32000 ppm, donde también se produjo una mortalidad total. En conjunto, los resultados evidencian una respuesta dependiente de la concentración, debido a que el incremento de la concentración del aceite esencial estuvo acompañado por un aumento de la mortalidad de *Artemia salina*. La mortalidad total alcanzada desde 2000 ppm evidencia un efecto tóxico más marcado que el observado en el aceite esencial de *Eucalyptus globulus,* lo que podría estar relacionado con diferencias en la composición química y en la concentración de los metabolitos bioactivos presentes en ambas especies.

.

3.2.3. EFECTO TÓXICO DE LA POMADA DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) EN *Artemia Salina*

Tabla 10

Resultados del bioensayo de letalidad con Artemia salina en pomada de eucalipto.

Efecto toxico de pomada de *Eucalyptus globulus* en *Artemia Salina*					
Concentración ppm	Rep.1	Rep. 2	Rep.3	Promedio de muertos	Mortalidad (%)
125	2	0	0	0,67	3.3
500	2	1	1	1,33	6.67
2000	3	1	2	2,00	10
8000	4	4	6	4,67	23.3
32000	17	15	16	16,00	80

En la **tabla 10** se observa que la mortalidad de *Artemia salina* aumentó progresivamente conforme se incrementó la concentración de la pomada de *Eucalyptus globulus*. A 125 ppm, se obtuvo un promedio de 0,67 individuos muertos, equivalente a una mortalidad de 3,33 %. A 500 ppm, el promedio fue de 1,33 individuos muertos (6,67 %), mientras que a 2000 ppm se registró un promedio de 2 individuos muertos, correspondiente al 10 % de mortalidad. Al incrementar la concentración a 8000 ppm, el promedio de mortalidad aumentó a 4,67 individuos, equivalente al 23,33 %. Finalmente, a 32000 ppm, se obtuvo un promedio de 16 individuos muertos, correspondiente a una mortalidad del 80 %. En general, los resultados muestran una tendencia creciente de la mortalidad conforme aumenta la concentración, evidenciando una respuesta dependiente de la dosis. Sin embargo, la mortalidad fue relativamente baja hasta 8000 ppm y presentó un incremento considerable a 32000 ppm. En comparación con el aceite esencial de la misma especie, la pomada presentó una menor mortalidad en las concentraciones evaluadas, lo que podría relacionarse con las características de la formulación y una menor disponibilidad de los compuestos bioactivos para los organismos de prueba.

3.2.4. EFECTO TÓXICO DE LA POMADA DE *Piper aduncum* EN *Artemia Salina*

Tabla 11

Resultados del bioensayo de letalidad con Artemia salina en pomada de matico.

Efecto toxico de pomada de *Piper aduncum* en *Artemia Salina*					
Concentración ppm	Rep.1	Rep. 2	Rep.3	Promedio de muertos	Mortalidad (%)
125	2	0	2	1,67	8.33
500	2	2	2	2,00	10
2000	8	4	6	6,00	30
8000	10	14	8	10,67	53.3
32000	14	10	14	12,67	63.3

En la **tabla 11** se observa que la mortalidad de *Artemia salina* aumentó conforme se incrementó la concentración de la pomada de *Piper aduncum.* A 125 ppm, se obtuvo un promedio de 1,67 individuos muertos, equivalente a una mortalidad de 8,33 %. A 500 ppm, el promedio fue de 2 individuos muertos (10 %), mientras que a 2000 ppm aumentó a 6 individuos muertos (30 %). A 8000 ppm, se registró un promedio de 10,67 individuos muertos, correspondiente a una mortalidad de 53,33 %. Finalmente, a 32000 ppm, el promedio fue de 12,67 individuos muertos, equivalente a 63,33 % de mortalidad. En general, se evidencia una tendencia creciente de la mortalidad conforme aumenta la concentración, lo que demuestra una respuesta dependiente de la concentración de la pomada sobre *Artemia salina*. No obstante, el porcentaje máximo de mortalidad fue inferior al observado con el aceite esencial de *Piper aduncum,* lo que indica que la presentación en pomada podría disminuir la intensidad del efecto tóxico del producto bajo las condiciones evaluadas.

3.2.5. EFECTO TÓXICO DEL HDROLATO DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) EN *Artemia salina*

Tabla 12
Resultados del bioensayo de letalidad con Artemia salina en hidrolato de eucalipto.

Efecto toxico del hidrolato de *Eucalyptus globulus* en *Artemia Salina*					
Concentración ppm	Rep.1	Rep. 2	Rep.3	Promedio de muertos	Mortalidad (%)
125	2	0	2	1,33	6.67
500	6	4	4	4,67	23.3
2000	8	4	4	5,33	26.6
8000	6	6	8	6,67	33.3
32000	8	10	8	8,67	43.3

En la **tabla 12** se observa que el hidrolato de *Eucalyptus globulus* produjo un incremento de la mortalidad de *Artemia salina* conforme aumentó la concentración. A 125 ppm, se obtuvo un promedio de 1,33 individuos muertos, equivalente a una mortalidad de 6,67 %. Al aumentar la concentración a 500 ppm, el promedio de mortalidad aumentó a 4,67 individuos (23,33 %). A 2000 ppm, se registró un promedio de 5,33 individuos muertos, correspondiente al 26,67 % de mortalidad. Posteriormente, a 8000 ppm, el promedio aumentó a 6,67 individuos (33,33 %). Finalmente, a la concentración más elevada, 32000 ppm, se obtuvo un promedio de 8,67 individuos muertos, equivalente al 43,33 % de mortalidad. En general, los resultados muestran una tendencia creciente de la mortalidad conforme se incrementó la concentración, aunque ninguna de las concentraciones evaluadas alcanzó el 50 % de mortalidad. Este comportamiento evidencia un efecto tóxico menor en comparación con el aceite esencial y la pomada de *Eucalyptus globulus*, lo que podría estar relacionado con una menor concentración o disponibilidad de los compuestos bioactivos en el hidrolato.

3.2.6. EFECTO TÓXICO DEL HIDROLATO DE *Piper aduncum* (MATICO) EN *Artemia salina.*

Tabla 13
Resultados del bioensayo de letalidad con Artemia salina en hidrolato de matico.

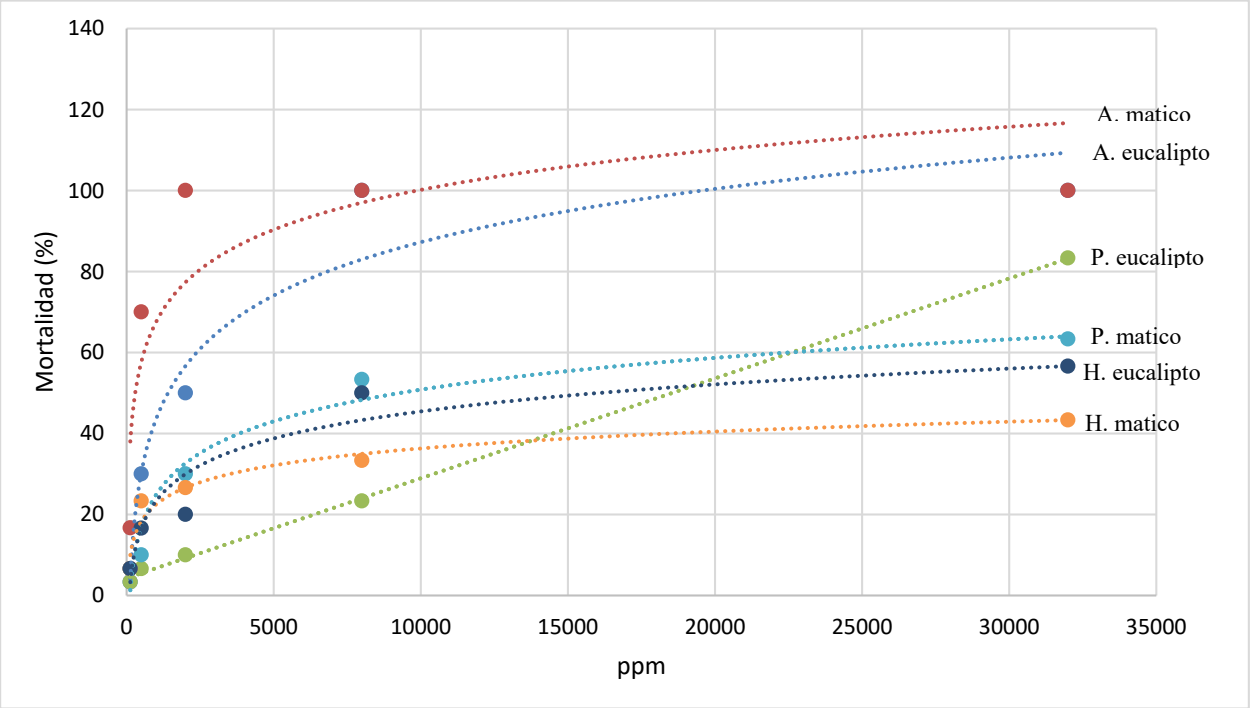
Efecto toxico del hidrolato de *piper aduncum* en *Artemia Salina*					
Concentración ppm	Rep.1	Rep. 2	Rep.3	Promedio de muertos	Mortalidad (%)
125	2	2	0	1,33	6.67
500	4	2	4	3,33	16.6
2000	4	6	2	4,00	20
8000	10	8	12	10,00	50
32000	12	12	10	11,33	56.6

En la **tabla 13** se observa que la mortalidad de *Artemia salina* aumentó conforme se incrementó la concentración del hidrolato de *Piper aduncum.* A 125 ppm, se obtuvo un promedio de 1,33 individuos muertos, equivalente a una mortalidad de 6,67 %. A 500 ppm, el promedio aumentó a 3,33 individuos muertos (16,67 %). A 2000 ppm, se registró un promedio de 4 individuos muertos, correspondiente a 20,00 % de mortalidad. Al incrementar la concentración a 8000 ppm, la mortalidad aumentó considerablemente, alcanzando un promedio de 10 individuos muertos (50,00 %). Finalmente, a 32000 ppm, se obtuvo un promedio de 11,33 individuos muertos, equivalente a 56,67 % de mortalidad. El incremento de la mortalidad evidencia una respuesta dependiente de la concentración. Sin embargo, el efecto fue considerablemente menor que el observado con el aceite esencial de *Piper aduncum*, donde se alcanzó el 100 % de mortalidad desde 2000 ppm. Esto podría indicar que el tipo de formulación influye en la disponibilidad y acción de los compuestos bioactivos sobre *Artemia salina*.

RELACIÓN DOSIS - RESPUESTA DE *Artemia salina* A LOS PRODUCTOS COMERCIALES DE *Eucalyptus globulus* EUCALIPTO Y *Piper aduncum* MATICO.

Figura 7

Dosis - respuesta de Artemia salina a los productos comerciales de matico y eucalipto.



Nota..Elaboración propia a partir de los datos obtenidos en el ensayo de mortalidad de *Artemia salina*. Gráfico de dispersión elaborado en Microsoft Excel.

En la **Figura 7** se presentan de manera conjunta las curvas de mortalidad obtenidas para los seis productos comerciales evaluadas sobre *Artemia salina*, permitiendo comparar el comportamiento de la respuesta tóxica frente al incremento de las concentraciones. De manera general, se observa que la mortalidad aumentó conforme se incrementó la concentración, aunque la intensidad de la respuesta varió entre los productos comerciales.

En términos comparativos, los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Piper aduncum* presentaron las respuestas de mortalidad más elevadas y alcanzaron niveles altos de mortalidad a concentraciones menores que las pomadas e hidrolatos. Este comportamiento podría relacionarse con la mayor concentración y disponibilidad de compuestos bioactivos y volátiles presentes en los

aceites esenciales, favoreciendo una interacción más directa con los organismos expuestos.

Las pomadas presentaron una respuesta intermedia, con un incremento de la mortalidad conforme aumentó la concentración, pero con una intensidad menor respecto a los aceites esenciales. Esto podría estar relacionado con la incorporación de los principios activos en una base semisólida, que puede modificar su liberación y disponibilidad para *Artemia salina.* Por su parte, los hidrolatos mostraron, en general, las menores respuestas de mortalidad, posiblemente debido a su naturaleza predominantemente acuosa y a la menor concentración de compuestos volátiles en comparación con los aceites esenciales. Los hidrolatos contienen principalmente compuestos hidrosolubles y pequeñas cantidades de componentes volátiles provenientes de la planta (Essenciagua, s.f.; Navarro et al., 2024).

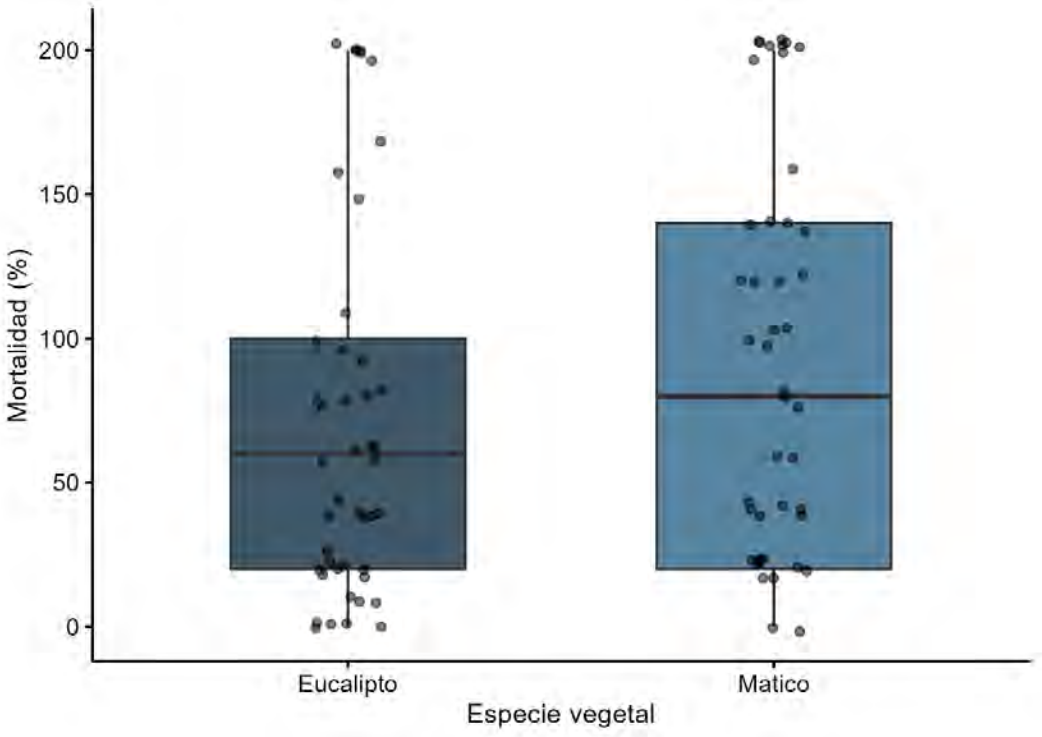
En conjunto, la comparación de las seis curvas sugiere que el tipo de formulación constituye un factor importante en la respuesta de *Artemia salina,* observándose una mayor actividad tóxica en los aceites esenciales, seguida de las pomadas e hidrolatos. Asimismo, las diferencias entre *Eucalyptus globulus* y *Piper aduncum* dentro de una misma formulación indican que la composición química propia de cada especie vegetal también puede contribuir a la variabilidad de la respuesta observada.

3.2. EFECTO DE LA ESPECIE VEGETAL, PRODUCTO COMERCIAL Y CONCENTRACIÓN DE PRODUCTO SOBRE LA MORTALIDAD DE *Artemia salina*.

3.2.1. ANÁLISIS EXPLORATORIO DE DATOS

Figura8

Mortalidad de Artemia según especie vegetal

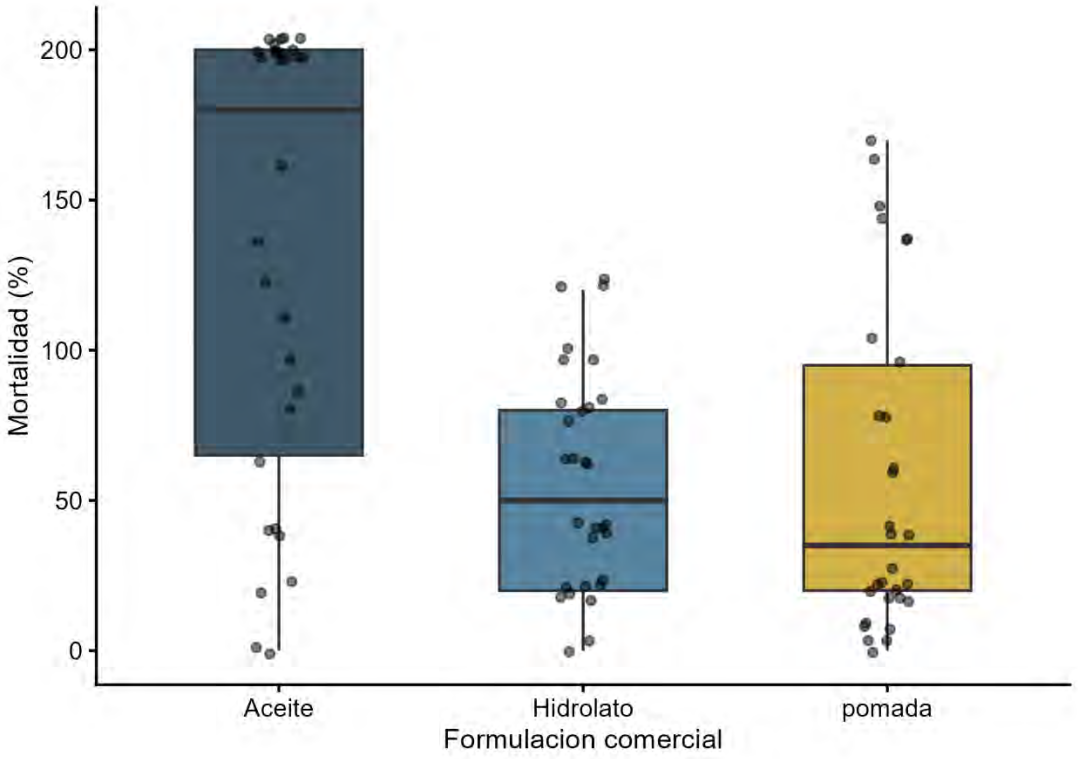


Nota. *Los análisis estadísticos se realizaron mediante el software R, utilizando RStudio como entorno de desarrollo*.

Esta **figura 8** muestra la distribución de la mortalidad de *Artemia salina* para las dos especies evaluadas: *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) y *Piper aduncum* (Matico) y. Se observa que la mortalidad media es más alta en los tratamientos con Matico en comparación con Eucalipto, aunque ambos presentan una variabilidad considerable. Esto sugiere que la especie vegetal podría tener un efecto sobre la efectividad del tratamiento, siendo el Matico aparentemente con más respuesta de mortalidad.

Figura9

Mortalidad de Artemia según formulación comercial

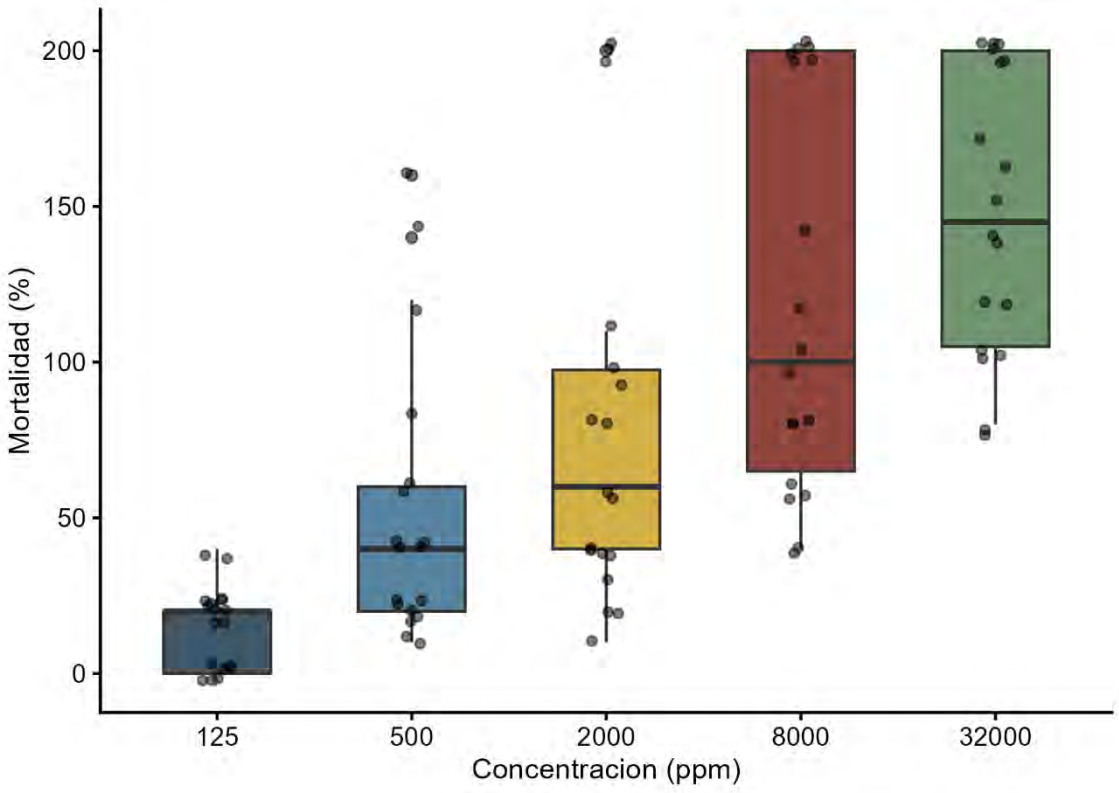


Nota. *Análisis estadístico realizado mediante el software R, utilizando RStudio como entorno de desarrollo***.**

En la **Figura 9** se comparan los tres productos comerciales: aceite, pomada e hidrolato. El aceite muestra las mortalidades más altas y consistentes, seguido de la pomada y, finalmente, el hidrolato, que presenta las mortalidades más bajas. Esta diferencia visual es muy marcada, lo que indica que la formulación es un factor determinante en la actividad biológica.

Figura10

Mortalidad de Artemia según especie concentración

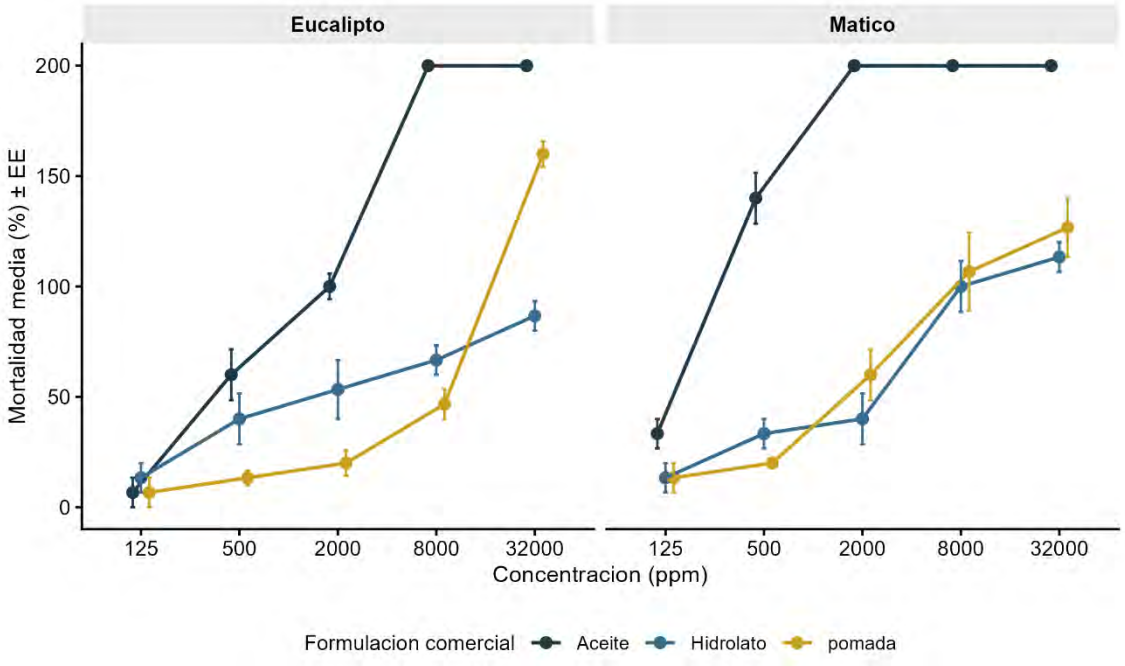


Nota. *Análisis estadístico realizado mediante el software R, utilizando RStudio como entorno de desarrollo***.**

Esta **figura 10** se desglosa el efecto de la concentración dentro de cada especie. Se aprecia que, en general, a mayor concentración, mayor mortalidad, pero esta tendencia es más clara en el caso del Matico que en el Eucalipto. Además, se observa que en concentraciones bajas (125 y 500 ppm), las diferencias entre especies son mínimas, mientras que en concentraciones altas (8000 y 32000 ppm), el Matico supera notablemente al Eucalipto. Esto sugiere una interacción entre especie y concentración.

Figura11

Efecto de la interacción de especie, formulación, concentración sobre la mortalidad de Artemia salina



Nota. *Análisis estadístico realizado mediante el software R, utilizando RStudio como entorno de desarrollo***.**

Esta **figura 11** se observa Interacción triple (especie × formulación × concentración es la más completa, ya que muestra la mortalidad media para cada combinación de los tres factores. Se observa claramente que las combinaciones con aceite (líneas continuas) presentan las mortalidades más altas, especialmente en Matico. En contraste, los productos comerciales en hidrolato (líneas punteadas) tienen un rendimiento muy bajo, independientemente de la especie o concentración. La interacción es evidente porque el efecto de la concentración no es el mismo en todos los productos ni en ambas especies. Por ejemplo, en el aceite de Matico, todas las concentraciones son igualmente efectivas (meseta), mientras que, en el hidrolato de Eucalipto, el efecto de la concentración es más gradual.

3.2.2. PRUEBA DE NORMALIDAD

Ho: los datos siguen una distribución normal.

Ha: los datos no siguen una distribución normal.

Tabla14

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk

Prueba	Estadístico	p-valor
Shapiro-Wilk	0.97	0.063

Nota. *Análisis estadístico realizado mediante el software R, utilizando RStudio como entorno de desarrollo***.**

Antes de evaluar los efectos de los factores experimentales, se verificó el supuesto de normalidad de los datos de mortalidad de *Artemia salina*. Para ello, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, cuyos resultados se muestran en la **Tabla 14**. El estadístico obtenido fue de 0.97, con un valor p-valor de 0.063. Dado que este valor p es mayor al nivel de significancia convencional de 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. Esto sugiere que los datos se ajustan a una distribución normal. Indicando que, a efectos prácticos, el supuesto de normalidad es aceptable para proceder con el análisis de varianza (ANOVA) y las pruebas posteriores, dado que el ANOVA es robusto a desviaciones moderadas de la normalidad

Tabla15

Análisis de varianza (ANOVA) factorial de tres vías para la mortalidad de Artemia salina

Fuente de variación	SC	gl	F	p
(Intercept)	611737.78	1.00	2960.02	< .001
planta	10671.11	1.00	51.63	< .001
producto	119635.56	2.00	289.44	< .001
concentración	203351.11	4.00	245.99	< .001
planta: producto	4542.22	2.00	10.99	< .001
planta: concentración	5484.44	4.00	6.63	< .001
producto: concentración	36942.22	8.00	22.34	< .001
planta: producto: concentración	17635.56	8.00	10.67	< .001
Residuals	12400.00	60.00		

Nota. *Análisis estadístico realizado mediante el software R, utilizando RStudio como entorno de desarrollo***.**

La **tabla 15** se observa los resultados de ANOVA factorial de tres vías, que constituye el núcleo del análisis inferencial. los resultados muestran que todos los efectos principales especie (planta), formulación (producto) y concentración son altamente significativos ($p < 0.001$ en todos los casos), con valores F que reflejan una contribución muy relevante de cada factor a la variabilidad total de la mortalidad. Es especialmente notable el elevado valor F de la formulación (289.44) y de la concentración (245.99), lo que indica que estos dos factores son los que más influyen en la respuesta observada.

Sin embargo, lo más relevante del análisis es que todas las interacciones de dos y tres vías también resultaron significativas ($p < 0.001$). Las interacciones planta: producto, planta: concentración y producto: concentración son significativas, lo que demuestra que el efecto de un factor depende del nivel de los otros dos. Pero es la interacción triple planta: producto: concentración ($F = 10.67$, $p < 0.001$) la que proporciona la evidencia más sólida de que el

comportamiento de la mortalidad no puede entenderse analizando los factores por separado; más bien, es la combinación específica de los tres niveles la que determina el resultado. En términos prácticos, esto significa que una determinada concentración puede ser altamente efectiva en una especie y formulación, pero no en otra, y viceversa

3.2.3. PRUEBA DE TUKEY

Con el fin de identificar específicamente cuales grupos difieren entre si dentro de los efectos que resultaron significativos se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (alfa =0 .05). En las tablas siguientes, las combinaciones que comparten al menos una misma letra minúscula no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sus medias, mientras que las combinaciones que no comparten ninguna letra si difieren de forma significativa

Tabla 16

Comparaciones múltiples (prueba de Tukey) por combinación de especie formulación y concentración

planta	producto	concentración	Media marginal	Error estándar	df	lower.CL	upper.CL	Grupo homogéneo
Matico	Aceite	8000	200.00	8.30	60.00	172.74	227.26	a
Matico	Aceite	2000	200.00	8.30	60.00	172.74	227.26	a
Eucalipto	Aceite	8000	200.00	8.30	60.00	172.74	227.26	a
Matico	Aceite	32000	200.00	8.30	60.00	172.74	227.26	a
Eucalipto	Aceite	32000	200.00	8.30	60.00	172.74	227.26	a
Eucalipto	pomada	32000	160.00	8.30	60.00	132.74	187.26	ab
Matico	Aceite	500	140.00	8.30	60.00	112.74	167.26	bc
Matico	pomada	32000	126.67	8.30	60.00	99.41	153.93	bcd
Matico	Hidrolato	32000	113.33	8.30	60.00	86.07	140.59	cd
Matico	pomada	8000	106.67	8.30	60.00	79.41	133.93	cde
Eucalipto	Aceite	2000	100.00	8.30	60.00	72.74	127.26	cdef
Matico	Hidrolato	8000	100.00	8.30	60.00	72.74	127.26	cdef
Eucalipto	Hidrolato	32000	86.67	8.30	60.00	59.41	113.93	defg
Eucalipto	Hidrolato	8000	66.67	8.30	60.00	39.41	93.93	efgh
Eucalipto	Aceite	500	60.00	8.30	60.00	32.74	87.26	fghi
Matico	pomada	2000	60.00	8.30	60.00	32.74	87.26	fghi
Eucalipto	Hidrolato	2000	53.33	8.30	60.00	26.07	80.59	ghij
Eucalipto	pomada	8000	46.67	8.30	60.00	19.41	73.93	ghijk
Matico	Hidrolato	2000	40.00	8.30	60.00	12.74	67.26	hijk
Eucalipto	Hidrolato	500	40.00	8.30	60.00	12.74	67.26	hijk
Matico	Aceite	125	33.33	8.30	60.00	6.07	60.59	hijk
Matico	Hidrolato	500	33.33	8.30	60.00	6.07	60.59	hijk
Matico	pomada	500	20.00	8.30	60.00	-7.26	47.26	ijk
Eucalipto	pomada	2000	20.00	8.30	60.00	-7.26	47.26	ijk
Eucalipto	pomada	500	13.33	8.30	60.00	-13.93	40.59	jk
Matico	pomada	125	13.33	8.30	60.00	-13.93	40.59	Jk
Matico	Hidrolato	125	13.33	8.30	60.00	-13.93	40.59	Jk
Eucalipto	Hidrolato	125	13.33	8.30	60.00	-13.93	40.59	jk
Eucalipto	Aceite	125	6.67	8.30	60.00	-20.59	33.93	k
Eucalipto	pomada	125	6.67	8.30	60.00	-20.59	33.93	k

Nota. *Las letras minúsculas en la columna Grupo homogéneo representan los resultados de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (alfa =0.05). Las medias que comparten al menos una misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí; las*

*medias que no comparten ninguna letra difieren de forma estadísticamente significativa. La letra 'a' se asignó al grupo con la mayor mortalidad promedio, continuando en orden decreciente para los grupos restantes. Análisis estadístico realizado mediante el software R, utilizando RStudio como entorno de desarrollo***.**

Para identificar qué combinaciones concretas de tratamientos difieren entre sí, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (alfa = 0.05), cuyos resultados se presentan en la **Tabla 16** y se visualizan en la Figura 6. Esta prueba asigna letras minúsculas a los grupos homogéneos, donde las combinaciones que comparten al menos una misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sus medias.

Los resultados son concluyentes y revelan una jerarquía clara. En el extremo superior, el grupo "a" está compuesto exclusivamente por combinaciones que utilizan aceite (tanto de Matico como de Eucalipto) en concentraciones de 2000, 8000 y 32000 ppm, todas con una mortalidad media de 200. Este grupo es estadísticamente superior (mayor mortalidad) al resto, y lo más destacable es que dentro de él no hay diferencias significativas, lo que indica que, cuando se usa aceite, la concentración (en el rango evaluado) no modifica el efecto letal; es decir, se alcanza un techo de eficacia con dosis relativamente bajas.

A medida que se desciende en la tabla, se observan grupos intermedios que combinan principalmente pomada e hidrolato con distintas concentraciones, así como aceite a concentraciones muy bajas (500 ppm). Por ejemplo, la combinación Matico + Aceite a 500 ppm (media = 140) pertenece al grupo "bc", mientras que Eucalipto + Hidrolato a 32000 ppm (media = 86.67) se ubica en el grupo "defg". Estos grupos solapan parcialmente, indicando que algunas combinaciones de diferentes productos comerciales pueden tener efectos similares, aunque en general se aprecia una disminución progresiva de la mortalidad a medida que se pasa de aceite a pomada y de pomada a hidrolato.

Finalmente, en el extremo inferior, el grupo "k" incluye las combinaciones Eucalipto + Aceite a 125 ppm y Eucalipto + Pomada a 125 ppm, con una mortalidad media de solo 6.67, significativamente menor que todas las demás. Este resultado es muy relevante porque demuestra que, incluso dentro de un producto comercial aparentemente potente como el aceite, una concentración suficientemente baja puede resultar ineficaz, y que la especie Eucalipto en formulaciones no oleosas (pomada) a baja concentración tiene un efecto prácticamente nulo

Prueba de hipótesis

De acuerdo con el objetivo específico del estudio evaluar el efecto de la especie vegetal, la formulación comercial y la concentración, así como sus interacciones, sobre la mortalidad de *Artemia salina*, se plantean las siguientes hipótesis:

- **Hipótesis nula (Ho):** La especie vegetal, la formulación comercial, la concentración y sus interacciones no tienen un efecto significativo sobre la mortalidad de *Artemia salina.*
- **Hipótesis alternativa (H1):** Al menos uno de los factores o interacciones tiene un efecto significativo sobre la mortalidad de *Artemia salina.*

Con base en los resultados del ANOVA, donde todos los efectos principales e interacciones resultaron altamente significativos ($p < 0.001$), se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa. Existe evidencia estadística sólida y consistente de que la especie vegetal, la formulación comercial y la concentración, así como sus interacciones (especialmente la interacción triple), afectan de manera significativa la mortalidad de *Artemia salina.*

3.3.DETERMINACIÓN DE LA CL_{50} EN *Artemia salina* POR EFECTO DE LOS PRODUCTOS COMERCIALES DERIVADOS DE EUCALIPTO Y MATICO

Los datos sobre la concentración letal media CL_{50} de los productos naturales utilizados en esta investigación se encuentran en la siguiente tabla

Tabla 17

Estimación de la concentración letal CL_{50} y límites de confianza de los 6 productos utilizados en el bioensayo con Artemia salina.

Producto comercial	CL_{50}	Límite inferior	Límite superior
	EUCALIPTO *Eucalyptus globulus*		
Aceite esencial	*1624.65383 ppm*	824.39037	3201.75991
Pomada	*14050.36943 ppm*	5505.49107	35857.45188
Hidrolato	*52510.91113 ppm*	8561.47345	322070.23753
	MATICO *Piper aduncum*		
Aceite esencial	*307.13959 ppm*	179.75343	524.80072
Pomada	*9708.98061ppm*	3270.53353	28822.30184
Hidrolato	*14939. 46990 ppm*	4221.58761	52868.20539

Nota. *Datos obtenidos usando la aplicación Probit Analysis Program, versión 1.5.*

Tabla 17. Es importante señalar que el pH de las distintas soluciones utilizadas, incluyendo los controles, se mantuvo en 7.5 a 8, rango donde no influye en los resultados del estudio y donde también *Artemia salina* puede desarrollarse adecuadamente.

La CL_{50} es la concentración de la sustancia capaz de provocar la muerte del 50% de una población expuesta en un tiempo determinado. Es un parámetro fundamental en toxicología, ya que permite medir la toxicidad aguda, comparar la sensibilidad entre especies o sustancias y ofrecer un criterio objetivo del nivel de peligro que representa un compuesto. Este valor se determina mediante modelos que relacionan la concentración del tóxico con la mortalidad, ajustando los datos a una curva sigmoidea que refleja la variabilidad en la sensibilidad de los

organismos. La CL_{50} es esencial para la evaluación de riesgos, la regulación de compuestos químicos, el establecimiento de límites de exposición y la interpretación biológica de los efectos tóxicos, proporcionando una medida clara, cuantificable y comparable del potencial letal de una sustancia. (Chávez Ibarra, 2022) Debemos tomar en cuenta que la CL_{50} se relaciona de forma inversa con el potencial de toxicidad, es decir una sustancia se considera más tóxica si exige una menor concentración para ocasionar la letalidad.

Estudios previos realizado por Vera et al. (2021) confirman que el género *Piper* presenta toxicidad, como es el caso de otra variedad de matico (*Piper elongatum*), en un bioensayo con *Artemia salina,* utilizando el extracto etanólico de la planta, reportó una CL_{50} de 158.006 ppm, considerándose moderadamente tóxico. entonces, podemos establecer que el valor menor de todos los productos en cuanto a la estimación de la concentración letal CL_{50} es del aceite esencial de matico en la presente investigación es de 307.13959 ppm.

Tabla 18

Evaluación de Dosis-Respuesta de los productos comerciales de eucalipto y matico en A.salina

		Aceite		Pomada		Hidrolato	
Dosis ppm	**Dosis Log10**	**Mortalidad (%)**	**Unidades Probit**	**Mortalidad (%)**	**Unidades Probit**	**Mortalidad (%)**	**Unidades Probit**
*Eucalipto globulus (*eucalipto)							
0	0	0	0	0	0	0	0
125	2.10	3.33	3.42	3.3	3.12	6.6	3.45
500	2.70	30	4.6	6.6	3.45	23.3	4.29
2000	3.30	50	5	10	3.72	26.6	4.39
8000	3.90	100	7.54	23.3	4.29	33.3	4.56
32000	4.51	100	7.54	83.3	5.61	43.3	4.81
Piper aduncum (matico)							
0	0	0	0	0	0	0	0
125	2.10	16.6	4.21	6.6	3.45	6.6	3.45
500	2.70	70	5.83	10	3.94	16.6	4.01
2000	3.30	100	7.54	30	4.16	20	4.16
8000	3.90	100	7.54	53.3	5.02	50	5
32000	4.51	100	7.54	63.3	5.53	56.6	5.18

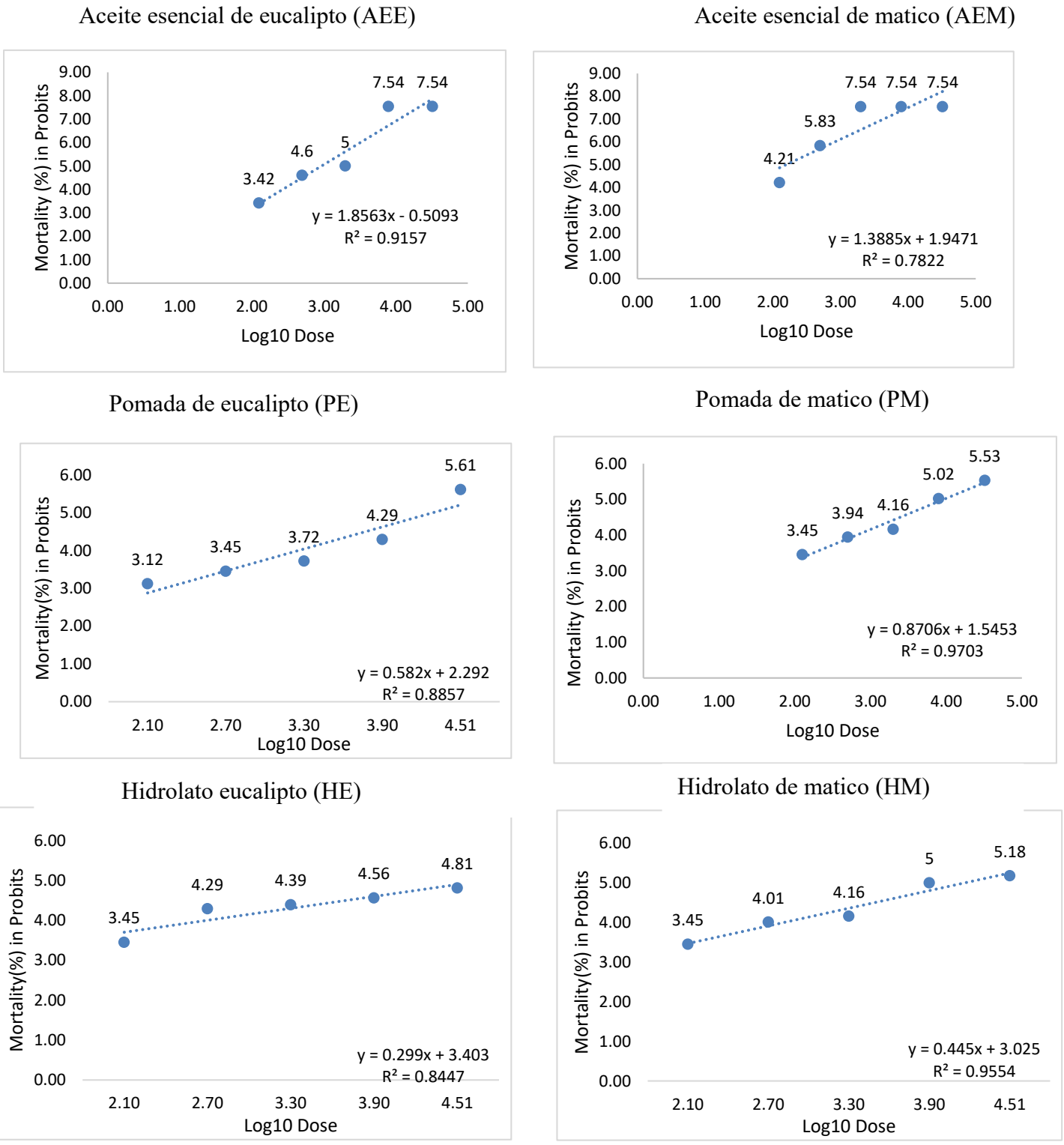
Nota. *Datos obtenidos usando la aplicación Probit Analysis Program, versión* 1.5.

En la **Tabla 18** presentan la evaluación de la relación dosis-respuesta de los productos comerciales de eucalipto y matico. Para transformar los datos de porcentaje de mortalidad a unidades Probit, se utiliza una tabla que relaciona ambos valores. Esta transformación convierte los porcentajes originales en una escala Probit que facilita el análisis estadístico, ya que permite trabajar con datos que se ajustan mejor a los modelos lineales, Simultáneamente, la concentración de la sustancia tóxica se transforma a su logaritmo en base 10 (Log_{10}), lo que normaliza la escala de concentración y ayuda a linealizar la relación concentración-respuesta. Al graficar los valores Probit de mortalidad frente al (Log_{10}) de la concentración, se obtiene una curva ajustable mediante regresión lineal, facilitando la estimación de parámetros toxicológicos importantes, como la CL_{50}.

Este procedimiento es fundamental para interpretar correctamente los datos de toxicidad, permitiendo interpolar y comparar resultados con mayor precisión y objetividad.

Figura 12

Resultados de las curvas dosis respuesta expresadas en unidades Probit.

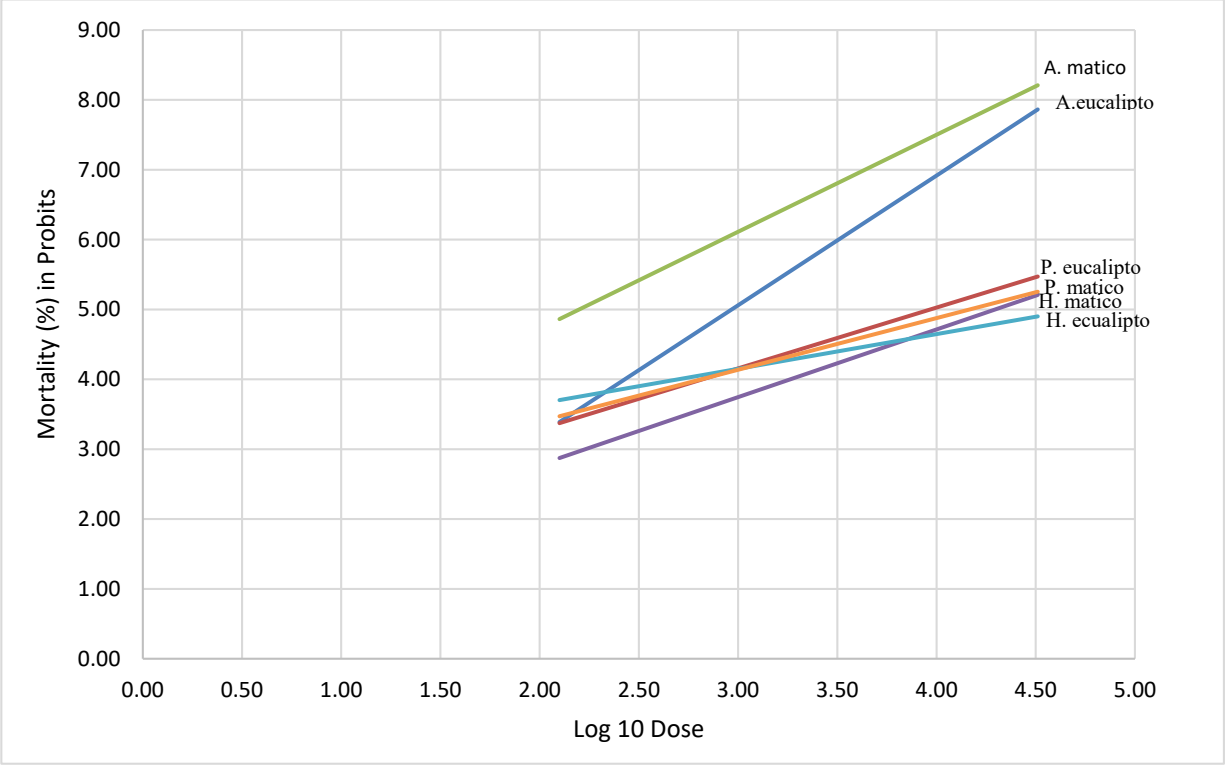


Nota. *Figuras obtenidas usando la aplicación Probit Analysis Program, versión 1.5.*

Las gráficas de toxicidad utilizando el log10 de la concentración y el porcentaje de mortalidad expresada en unidades Probit (**Figura 12**) señala que a medida que aumenta la dosis en el eje "x", también crece el porcentaje de organismos afectados que se muestra en el eje "y" como lo describe Lahiri (2022) conforme la pendiente se acerca a la vertical, se observa un mayor aumento en la respuesta biológica, lo que indica una mayor toxicidad. Esto quiere decir que, a concentraciones más elevadas, se registra una mayor mortalidad en los nauplios y cuando la curva es menos empinada, se requieren dosis mayores para generar un efecto letal, lo cual sugiere una menor capacidad tóxica.

Figura 13

Comparación de las curvas dosis respuesta expresadas en unidades Probit.



Nota. *Figura adaptada a partir de los datos de la aplicación Probit Analysis Program, versión 1.5.*

En **Figura 13** se observa las curvas dosis respuesta expresadas en unidades Probit, para los aceites esenciales, pomadas e hidrolatos elaborados a partir de eucalipto y matico, evaluados en *Artemia salina*. La representación gráfica permite comparar de manera visual la variación de la mortalidad en función del incremento logarítmico de la dosis y, por ende, establecer diferencias en la toxicidad aguda entre los distintos productos comerciales.

Las curvas correspondientes a los aceites esenciales exhiben las pendientes más pronunciadas, lo que evidencia una mayor sensibilidad de la respuesta biológica frente a cambios en la concentración. A igual dosis, ambos aceites registran valores Probit superiores en comparación con los demás productos comerciales, indicando niveles más elevados de mortalidad y, por consiguiente, una mayor toxicidad aguda. Además, aunque se observa una ligera separación entre el aceite de matico y el de eucalipto, ambos mantienen un patrón de respuesta semejante, lo que indica que la diferencia entre especies es menos determinante que la propia naturaleza concentrada del aceite esencial.

Las pomadas de eucalipto y matico muestran pendientes intermedias, situándose entre los aceites esenciales y los hidrolatos. Las líneas se encuentran cercanas entre sí, lo que sugiere que ambos productos comerciales presentan un comportamiento biológico similar, independientemente de las especies vegetales de origen. El desplazamiento de estas curvas hacia valores Probit más bajos confirma que las pomadas poseen toxicidad moderada, atribuible a la presencia de excipientes y a la menor disponibilidad de metabolitos bioactivos en comparación con los aceites esenciales.

Las curvas de los hidrolatos presentan pendientes más reducidas, indicando que los incrementos de dosis generan cambios mínimos en la mortalidad. Este comportamiento confirma que los hidrolatos poseen menor actividad tóxica en comparación a las otras. Consiste en su

composición predominantemente acuosa y su baja concentración de compuestos volátiles.

El análisis conjunto permite establecer un patrón claro en términos de toxicidad: aceite esencial > pomada > hidrolato tanto para eucalipto como para matico.

Este orden refleja la concentración de los compuestos activos presentes en cada tipo de producto. Así, los aceites, al ser mezclas concentradas de metabolitos volátiles, generan respuestas más intensas; las pomadas, al estar diluidas en una base sólida, presentan un efecto intermedio: y los hidrolatos, con una fracción mínima de compuestos bioactivos, producen la respuesta más baja.

3.4 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE TOXICIDAD DE ACUERDO A LOS CRITERIOS DE CYTED, CLARKSON Y MEYER.

Es fundamental consultar múltiples fuentes que proporcionen índices de toxicidad con el fin de confirmar con mayor certeza la validez de la clasificación de los resultados obtenidos. Por esta razón, dicho resultado fue determinado con los índices propuestos por Clarkson **Tabla 1**, Meyer **Tabla 2** y CYTED **Tabla 3.** Con la información de la estimación de concentración letal media CL_{50} a continuación en la T**abla 19** se señala el nivel de toxicidad

Tabla 19.

Niveles de toxicidad determinados por CYTED, Clarkson y Meyer.

Producto evaluado		**(ppm) CL_{50}**	**Nivel de toxicidad**		
			CYTED	**Clarkson**	**Meyer**
EUCALIPTO	Aceite esencial	1624.65383	Relativamente inocuo	No tóxico	No tóxico
	Pomada	14050.36943	Relativamente inocuo	No tóxico	No tóxico
	Hidrolato	52510.91113	Relativamente inocuo	No tóxico	No tóxico
MATICO	Aceite esencial	307.13959	Moderadamente tóxico	Medianamente tóxico	Tóxico
	Pomada	9708.98061	Relativamente inocuo	No tóxico	No tóxico
	Hidrolato	14939. 46990	Relativamente inocuo	No tóxico	No tóxico

Nota*: Elaborado a partir de CYTED (1995), Clarkson (2004) y Meyer et al (1982).*

La concentración letal media (CL50) del aceite esencial de matico fue de 307,13 ± 0,959 ppm, lo que, según las clasificaciones de CYTED y Clarkson, corresponde a un nivel de toxicidad mediana/moderada, mientras que, de acuerdo con la clasificación de Meyer, se considera un nivel tóxico. Este efecto posiblemente se atribuye a la presencia de compuestos mayoritarios en el aceite esencial de matico, entre los cuales se encuentra la cánfora (22,68 %), seguida del canfeno (21,18 %), reportados por Ore Areche et al. (2021), mientras que Saravia Salas y Vargas Arizapana (2023) reportaron al eucaliptol (18,56 %) como uno de los principales componentes. Es importante señalar que estos estudios fueron realizados con muestras de matico procedentes de zonas ubicadas aproximadamente a 2500 y 3400 m s. n. m., respectivamente. Esta diferencia en altitud constituye un factor ambiental que puede estar relacionado con variaciones en la composición y proporción de los metabolitos secundarios de la especie; sin embargo, también pueden intervenir otros factores como las condiciones climáticas, el estado de desarrollo de la planta y las condiciones de extracción. En este sentido, la presencia de estos metabolitos podría contribuir al efecto tóxico observado sobre *Artemia salina*, debido a que han sido asociados con diversas actividades biológicas. La cánfora, por ejemplo, presenta una rápida absorción y, en exposiciones elevadas, puede afectar el sistema nervioso y producir alteraciones fisiológicas. Narayan y Singh (2012) señalan que la exposición a este compuesto puede producir manifestaciones como náuseas, vómitos, letargo, ataxia y convulsiones, las cuales pueden presentarse entre los cinco y 90 minutos posteriores a la exposición. Asimismo, aunque la cánfora y el eucaliptol se encuentren en determinadas proporciones dentro de la composición del aceite, se ha documentado que ambos presentan efectos biológicos potencialmente tóxicos, incluso a concentraciones relativamente bajas, pudiendo generar efectos graves en organismos expuestos (Narayan & Singh, 2012; Suresh et al., 2025). Por tanto, la elevada toxicidad observada para el aceite esencial de matico podría

estar relacionada con la presencia y proporción de estos metabolitos, aunque no puede atribuirse exclusivamente a un compuesto individual, debido a la posible interacción entre los diferentes componentes del aceite esencial.

En cuanto al aceite esencial de eucalipto (AEE), se obtuvo una concentración letal media (CL50) de 1644,65 ± 3,83 ppm, valor que, según los criterios establecidos por el programa CYTED, corresponde a una categoría de relativamente inocuo, evidenciando una menor toxicidad en comparación con el aceite esencial de matico. Esta respuesta podría estar relacionada con su composición química, particularmente con la presencia de 1,8-cineol o eucaliptol, considerado uno de los principales componentes del aceite esencial de eucalipto. De acuerdo con MedlinePlus (2024), el eucaliptol constituye aproximadamente el 58,34 % de su composición. Asimismo, Suresh et al. (2025) han señalado que este compuesto puede presentar efectos tóxicos cuando existe una exposición elevada. El consumo de pequeñas cantidades de aceite de eucalipto puede ocasionar efectos adversos sobre el sistema nervioso central, mientras que dosis mayores pueden producir somnolencia, pérdida de coordinación motora, dificultades respiratorias, convulsiones, coma e incluso neumonía por aspiración (Suresh et al., 2025; Hospital Infantil Real, 2021). Sin embargo, la menor toxicidad observada en *Artemia salina* podría indicar que la respuesta biológica no depende únicamente de la presencia de un metabolito, sino también de su concentración, de la composición global del aceite y de las posibles interacciones entre sus componentes.

Por otro lado, los productos comerciales de pomada e hidrolato presentaron valores de CL50 considerablemente superiores a los obtenidos para los aceites esenciales. La pomada de matico presentó una CL50 de 9708,98 ppm, mientras que la pomada de eucalipto alcanzó 14 050,37 ppm. Asimismo, el hidrolato de matico presentó una CL50 de 14 939,47 ppm y el hidrolato de eucalipto mostró el valor más elevado, con 52 510,91 ppm. De acuerdo con los criterios

establecidos por el programa CYTED, estos valores corresponden a la categoría de relativamente inocuo, lo que indica un bajo nivel de toxicidad bajo las condiciones y concentraciones evaluadas. La diferencia observada respecto a los aceites esenciales podría estar relacionada con la menor concentración o diferente distribución de los compuestos bioactivos en estos productos, además de las características propias del proceso de elaboración de cada producto. En conjunto, los resultados evidencian que el tipo de formulación influye en la toxicidad observada frente a *Artemia salina,* siendo los aceites esenciales los que presentaron mayor actividad tóxica y las pomadas e hidrolatos una menor toxicidad bajo las condiciones experimentales evaluadas.

CONCLUSIONES

1. Los ensayos de toxicidad en *Artemia salina,* evidenciaron una mortalidad del 100 % en los tratamientos con aceites esenciales de matico a partir de los 2000ppm y eucalipto partr de los 8000ppm. A la mayor concentración evaluada (32 000 ppm) los demás productos comerciales, la mortalidad fue menor: la pomada de matico alcanzó un 63,3 %, la pomada de eucalipto un 83,3 %, el hidrolato de matico un 53 % y el hidrolato de eucalipto un 43 % de mortalidad. Estos resultados indican que los aceites esenciales presentaron una mayor toxicidad en comparación con las pomadas y los hidrolatos.

2. Se concluye que la especie vegetal, la formulación comercial y la concentración influyen significativamente en la mortalidad de *Artemia salina*, así como sus interacciones ($p < 0,001$). El aceite presentó la mayor actividad letal, alcanzando las mortalidades más altas, mientras que el Matico mostró una mayor efectividad que el Eucalipto, especialmente a concentraciones elevadas. Asimismo, la interacción triple evidenció que el efecto de la concentración depende de la especie y de la formulación empleada. Por tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, confirmándose que la combinación de estos factores determina la respuesta de mortalidad de *Artemia salina.*

3. Se determinó que los productos derivados de *Piper aduncum* (matico) presentaron menores valores de CL_{50} y, por tanto, mayor toxicidad que los derivados de *Eucalyptus globulus*, en todos los productos comerciales evaluadas frente a *Artemia salina*. El aceite esencial de matico mostró la mayor toxicidad (CL_{50} = 307,14 ppm), siendo clasificado como de toxicidad moderada según los criterios de CYTED, Clarkson y según Meyer como tóxico, mientras que los demás productos comerciales fueron clasificados como relativamente inocuo o no tóxico.

RECOMENDACIONES

1. Investigar la toxicidad aguda de productos naturales comerciales y elaborar propuestas orientadas a la evaluación de toxicidad en estos productos y presentar de manera segura una información adicional a la población que utiliza u opta por estos productos, promoviendo alternativas sostenibles fundamentadas en la investigación científica.
2. La evaluación de la seguridad de Fito productos bajo el contexto del presente estudio puede considerarse como un punto de partida importante para futuras investigaciones orientadas al control de calidad y análisis de riesgo toxicológico en productos naturales utilizados con fines terapéuticos

BIBLIOGRAFÍA

Acostupa, Y., Zamalloa, V., Jarandilla, A., Monterola, I., & Zapata, J. (2019). determinación de la concentración letal media de recubrimientos biodegradables del quitosano y compuestos bioactivos en nauplios de *Artemia Salina* Leach. *CANTUA*, *18*(1), 36-40. https://revistas.unsaac.edu.pe/index.php/cantu/article/download/901/1101/

Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2019). *Módulo I - Introducción a la toxicología | Notas para la instrucción | ATSDR en Español*. ASTDR. Retrieved MAYO 27, 2025, from https://www.atsdr.cdc.gov/es/training/toxicology_curriculum/modules/1/es_lecturenotes.html

Air Liquide. (2024). *¿QUE SON LAS FARMACOPEAS?* AIR LIQUIDE. https://es.airliquide.com/soluciones/produccion-y-preservacion-de-farmacos/que-es-la-farmacopea

Amaru Chambilla, G. R., Yujra Flores, E., & Cahui Suaña, D. (2025). Adaptación de *Artemia sp.* nativa de puno a condiciones controladas para uso como alimento vivo en el cultivo de peces. Inf Inst Mar Perú, 52(4). https://repositorio.imarpe.gob.pe/server/api/core/bitstreams/90fe8a6b-4262-404a-a8ae-ddf75d470a3e/content

Neli. (2015, October 20). *Artemia salina (Parte II)* –Planeta Neli. Retrieved June 14, 2025, from https://www.planeta-neli.es/index.php/2015/10/20/artemia-salina-parte-ii/

Barragán, B. (2024, October 30). *¿Qué es la toxicidad crónica de la que advierte Profeco?* Informador.mx. Retrieved June 27, 2025, from http://informador.mx/estilo/Profeco-Que-es-la-toxicidad-cronica-de-la-que-advierten-20241030-0109.html

Barros Asenjo, S. (2014). El género Eucalyptus. *CIFOR*, *18*(3), 75-100. 20.500.12220/20681

Benrahou, K., Mrabti, H. N., M. Assaggaf, H., Mortada, S., Salhi, N., Rouas, L., El Bacha, R., Dami, A., Masrar, A., Alshahrani, M. M., Al Awadh, A. A., Bouyahya, A., Wen Goh, K., Ming, L. C., Cherrah, Y., & Abbes Faouzi, M. E. (2022, Octubre 27). Estudios de toxicidad aguda y subaguda de extractos de Erodium guttatum por administración oral en roedores. *Toxins*, *14*(11), 735. 10.3390/toxins14110735

Bioensayo de toxicidad de Artemia salina LEACH, 1819 en extractos hidroalcohólicos del helecho Cheilanthes pruinata. (2024). Dspace. Retrieved MAYO 4, 2025, from https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/aadd12cf-ad01-4848-8ce9-e839651d4b6a

Castro, M. J., Malpica, S., Castro, B., De Lara, A., & Catro, M. G. (1997, Mayo-Agosto 2). El uso de nauplios y quistes de la población de Artemia de Oaxaca en el desarrollo de la acuicultura en la región del Istmo. *Ciencia y mar*, *1*(2), 35-38. https://biblat.unam.mx/es/buscar/el-uso-de-nauplios-y-quistes-de-la-poblacion-de-artemia-de-oaxaca-en-el-desarrollo-de-la-acuicultura-en-la-region-del-istmo-

Cedeño, F. (2017, Mayo 19). *Colores Munsell en Español PDF | PDF | Teoría musical | Elementos de la música*. Scribd. Retrieved July 15, 2025, from https://es.scribd.com/document/348872560/Colores-Munsell-en-Espanol-pdf

Chávez Ibarra, X. I. C. (2022, Agosto 22). *Determinación de CL50*. Studocu. Retrieved Noviembre 20, 2025, from https://www.studocu.com/es-mx/document/universidad-del-valle-de-mexico/toxicologia-de-los-alimentos/determinacion-de-cl50/58898714

Chili Laime, V., & Rodriguez, L. (2013, Noviembre). *Producción de Cultivo de Alimento Vivo* [Taller de avances en el cultivo del lenguado]. Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero. https://rnia.produce.gob.pe/wp-content/uploads/2019/11/cultivo_de_alimento_vivo.pdf

CYTED. (1995). *Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación* (Vol. 220). CYTED. https://www.cyted.org/

Clarkson, C., Maharaj, V., Crouch, N. R., Grace, O. M., Pillay, P., Matsabisa, M. G., Bhagwandin, N., Smith, P. J., & Folb, P. I. (2004, Junio). Actividad antiplasmodial in vitro de plantas medicinales nativas o naturalizadas en Sudáfrica. *pubMed*, *92*(2-3), 177-91. 10.1016/j.jep.2004.02.011

Clínica Universidad de Navarra. (2023). *Qué es bioensayo. Diccionario médico. Clínica U. Navarra*. Clínica Universidad de Navarra. Retrieved June 5, 2025, from https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/bioensayo

Dávila, C., Chávez, Á., Vergara, M., Vásquez, A., & Montenegro, W. (2016, septiembre 19). EFECTO BIOCIDA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE INFLORESCENCIAS Y PLANTAS DE Piper tuberculatum jacq. "MATICO" SOBRE LARVAS DEL III ESTADIO DE Aedes aegypti Y TOXICIDAD SOBRE Artemia salina. *Revista Científica Salud & Vida Sipanense*, *3*(1), 48-60. Retrieved septiembre 1, 2026, from https://revistas.uss.edu.pe/index.php/SVS/article/view/363

Essenciagua. (n.d.). *Descúbralo: todo sobre los hidrolatos: origen, producción, calidad y co*. Essenciagua. Retrieved November 10, 2025, from https://www.essenciagua.fr/es/content/363-conozca-sus-hidrosoles

FarmaciaMapuche. (2023, May 9). *El Matico: para qué sirve y principales propiedades medicinales que tienes que conocer*. Farmacia Mapuche. Retrieved May 27, 2025, from https://farmaciamapuche.cl/blog-farmacia-mapuche/el-matico-su-propiedades-medicinales-e-historia/

Gaspar Reyes, W., Alejos Cabrera, R., Niño Velásquez, A., & Ynga Huamán, G. (2021). MANUAL PARA LA PRODUCCIÓN DE Artemia COMO ALIMENTO PARA LARVAS Y JUVENILES DE PECES. manual para a producción de Artemia. https://repositorio.imarpe.gob.pe/server/api/core/bitstreams/c0ae08d4-2e62-4a15-a7b3-d232be85ad2f/content

Ghomari Sidi, M., & Amat Domenech, F. (2020). Estudio de la biometría y los parámetros de eclosión de quistes de Artemia recogidos en diferentes salinas de Argelia. *AquaTIC*, (56), 1-14. https://www.redalyc.org/journal/494/49464995001/html/

Gutiérrez, A., Andreo, I., Del Blanco, P., & Bejarano, R. (2021, Abril 28). *Estudio anatómico y ciclo de vida de Artemia salina*. Aquaroca. https://aquaroca3.blogspot.com/2021/04/estudio-anatomico-y-ciclo-de-vida-de.html

Guzmán Castillo, I. (2023, Noviembre 04). *INS elaborará guía de uso de plantas medicinales, ¿Cuáles serán consideradas?* [El Instituto Nacional de Salud explica qué plantas serían consideradas medicinales a fin de elaborar productos para el consumo de personas que buscan aliviar malestares.]. Perú. Retrieved Junio 2, 2025, from https://gestion.pe/peru/peru-elaborara-fitofarmacopea-que-plantas-serian-consideradas-para-uso-medicinal-plantas-medicinales-ins-victor-suarez-minsa-noticia/

Hernández-Sampieri, R., & Mendoza, C. P. (2018). Metodología de la investigación: Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. McGraw-Hill Education.

Hospital Infantil Real. (2021). *Clinical Practice Guidelines : Eucalyptus Oil Poisoning*. The Royal Children's Hospital. Retrieved September 20, 2025, from https://www.rch.org.au/clinicalguide/guideline_index/Eucalyptus_Oil_Poisoning/

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y pecuarias. (2022, January 27). *Dialoguemos sobre plantas medicinales, sus beneficios, conservación y regulación para su propagación*. Gobierno de México. Retrieved May 27, 2025, from https://www.gob.mx/inifap/articulos/dialoguemos-sobre-plantas-medicinales-sus-beneficios-conservacion-y-regulacion-para-su-propagacion

Instituto Nacional de Perú. (2024, Enero 14). *Fitofarmacopea peruana*. Instituto Nacional de Perú. Retrieved Junio 06, 2025, from https://www.gob.pe/44924-instituto-nacional-de-salud-fitofarmacopea-peruana

Instituto Tecnológico de Paraná-Tecpar. (2023, Abril 3). Breve reseña sobre Piper aduncum L., sus metabolitos bioactivos y su potencial para desarrollar bioproductos. *Reseña-Ciencias biológicas y aplicadas*, 66. https://doi.org/10.1590/1678-4324-2023220314

Juárez Eyzaguirre, J. R. (2008). *Obtención y purificación de la manteca de cerdo: diseño y formulación de bases dermocosméticas para la incorporación de extractos vegetales*. Cybertesis unmsm. Retrieved Septiembre 21, 2025, from https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/85099928-39bd-4fe1-a725-8fe35c16890e/content

Lahiri, S. (2022, Enero 14). Cenizas volantes: cuestiones de seguridad y salud. *ScienceDirect*, 77-224. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817686-3.00001-3

Losretosdeciencias. (2017, Abril 20). *Mi crustáceo favorito, la Artemia salina*. LOSRETOSDECIENCIAS. Retrieved 06 30, 2026, from https://losretosdeciencias.wordpress.com/2017/04/20/mi-crustaceo-favorito-la-artemia-salina/

Lozano Mercado, L., García Rupaya, C., Alvariño, L., & Lannacone, J. (2017, Enero 12). TOXICIDAD AGUDA DE TRES ENJUAGUES BUCALES A BASE DE PLANTAGO MAJOR, UNCARIA TOMENTOSA Y EUCALYPTUS GLOBULUS SOBRE CAMARONES DE ARTEMIA FRANCISCANA. *EL BIOLOGO(Lima)*, *15*(2), 437-448. https://www.researchgate.net/publication/322235630_ACUTE_TOXICITY_OF_THREE_MOUTHWASHES_BASED_ON_PLANTAGO_MAJOR_UNCARIA_TOMENTOSA_AND_EUCALYPTUS_GLOBULUS_ON_BRINE_SHRIMP_ARTEMIA_FRANCISCANA

Magaña, M. (n.d.). *Eucalyptus*. Wikipedia. Retrieved May 29, 2025, from https://es.wikipedia.org/wiki/Eucalyptus

Marinoff, M., Martinez, J., & Urbina, M. (2009). Precauciones en el empleo de plantas medicinales. In *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* (Vol. 8, pp. 184-187). Blacpma@usach.cl. https://www.redalyc.org/pdf/856/85611774014.pdf

MedlinePlus. (2024, Julio 6). *Eucalipto*. MedlinePlus. Retrieved July 14, 2025, from https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/natural/700.html

Mex Álvarez, R. M., Chan Martínez, R. E., Guillen, M. M., Garma, P. M., & Yanez Nava, D. (2024, Agosto 22). *BIOENSAYOS CON Artemia salina EN LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA*. Perspectivas em saúde, bem-estar e qualidade de vida. Retrieved Septiembre 12, 2025, from file:///C:/Users/1USUARIO/Downloads/bioensayos-con-artemia-salina-en-la-investigacion-biomedica%20(1).pdf

Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D., & McLaughlin, J. L. (1982, Mayo). Camarón de salmuera: un bioensayo general conveniente para los componentes activos de las plantas. *45*(5), 31-4. 10.1055/s-2007-971236

Monasterio Asteinza, A., & Sanz Olmos, S. (2018). POMADAS. *Panorama Actual Del Medicamento*, *42*(412), 365-369. https://www.farmaceuticos.com/wp-content/uploads/2020/11/PAM_412_14_365-369_FORMULACION.pdf

Morales, A., Ulloa Jiménez, J., & Mairena, R. (2017, Octubre). *Determinación de DL50 aplicando bioensayo con Artemia Franciscana, en las especies vegetales Citrus aurantium, Ruta Chalepensis, Eucalyptus camaldulensis laboratorio de química, UNAN MANAGUA EneroOctubre 2017*. Repositorio UNAN. https://repositorio.unan.edu.ni/id/eprint/8335/1/98125.pdf

. Yost, J., L. Wise, S., LR. Love, N., A. Steane, D., C. Jones, R., Ritter, M., & M. Potts, B. (2021). Orígenes, diversidad y naturalización de Eucalyptus globulus (Myrtaceae) en California. forest, 12(8), 1129. https://doi.org/10.3390/f12081129

Narayan, S., & Singh, N. (2012, Mayo 31). Intoxicación por alcanfor: una causa inusual de convulsiones. *ELSEVIER*, *68*(3), 252-253. 10.1016/j.mjafi.2011.11.008

Navarro, J., Gimeno, D., Pueyo, J., Villar, P., Pardo, G., & Cirujeda, A. (2024). Uso de hidrolatos de plantas aromáticas para el control de cuatro especies de malas hierbas. *SCAP*, *47*(1). https://doi.org/10.19084/rca.34966

Navarro, R. (2022, Abril 20). *Qué son los aceites esenciales: beneficios y propiedades*. Atída. Retrieved mayo 29, 2025, from https://www.atida.com/es-es/blog/diccionario-farmacia/aceites-esenciales/

Navarro, R. (2024, June 26). *¿Qué son los aceites esenciales y para qué sirven? | Blog Atida*. Atida. Retrieved May 28, 2025, from https://www.atida.com/es-es/blog/diccionario-farmacia/aceites-esenciales/

Nina Gutiérrez, D., Daza Ramos, R., & Campos Huaylla, J. P. (2023, Agosto 08). ANALISIS DE MERCADO POTENCIAL PARA LA COMERCIALIZACION DE PRODUCTOS ELABORADOS A BASE DE EUCALIPTO EN LA CIUDAD DE SUCRE. *Busines insights*, *3*(3), 51-55. https://doi.org/10.56469/rcbi.v3i3.895

Nolazco Cama, D., Villanueva Quejia, E., Hatta Sakoda, B., & Tellez Monzon, L. Lima (2020, Septiembre). Extracción y caracterización química del aceite esencial de Eucalipto obtenido por microondas y ultrasonido. *SciElo*, *22*(3). http://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.661

Ochoa, A. (2022, Enero 31). *Eucalipto: propiedades y cuidados de la planta | Architectural Digest*. Architectural Digest México. Retrieved mayo 27, 2025, from https://www.admagazine.com/articulos/eucalipto-propiedades-y-cuidados

Ore Areche, F., Ruíz Rodriguez, A., Ticsihua Huaman, J., & Corilla Flores, D. D. (2021, Diciembre). Piper aduncum L. (matico) utilizado como tratamiento para el daño pulmonar y Covid-19. *SciELO*, *4*(12). https://doi.org/10.33996/revistavive.v4i12.111

Organización mundial de la salud. (2023, August 9). Medicina tradicional. Retrieved May 27, 2025, from https://www.who.int/es/news-room/questions-and-answers/item/traditional-medicine

Pedraza, R. G., & Delgado, V. H. (2012, Mayo). Determinación de la concentración letal media (CL50) de cuatro detergentes domésticos biodegradables en Laeonereis culveri (Webster 1879) (Polychaeta: Annelida). *Rev. Int. Contam. Ambient*, *28*(2), 52-55. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992012000200004

Pedraza, R. G., & Delgado Blas, V. H. (2012). Revista internacional de contaminación ambiental. *SciElo*, *28*(2), 137-144. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-49992012000200004&script=sci_abstract

Pineda, L. F., Ortiz, S. A., & Castro, D. A. (2015, mayo 18). *Análisi, extracción y evaluación de los metabolitos secundarios de el follaje de eucalipto (Eucalyptus ssp.)*. SCRIBD. Retrieved

septiembre 1, 2026, from https://es.scribd.com/document/267077628/Laboratorio-de-Bioquimica-Eucaliptus

Pino, J. A., & Aragüez, Y. (2021). Conocimientos actuales acerca de la encapsulación de aceites esenciales. *CENIC Ciencias Química*, *52*(1), 10-25. https://www.redalyc.org/journal/1816/181669387003/html/?utm_source=chatgpt.com

Pino Pérez, O., & Lazo, F. J. (2010). Ensayo de Artemia : util herramienta de trabajo para ecooxicólogos y químicos de productos naturales. *Protección veg.*, *22*(1), 34-43. https://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article/view/281/259

Piper aduncum. (2024, MAYO 24). Wikipedia. Retrieved May 28, 2025, from https://es.wikipedia.org/wiki/Piper_aduncum

Quispe Chucos, M. (n.d.). *Ciclo de Vida y Manejo de Artemia Salina*. scrib. https://es.scribd.com/document/359190636/ARTEMIA-SALINA-docx

Ramón, A. (2023, diciembre 22). *Composición química de los aceites esenciales*. Smellme. Retrieved Junio 04, 2025, from https://smellme.es/es/aromaterapia/composicion-quimica-aceites-esenciales

Sahu, S., Navarro, L., & Hayes, W. (2024). Toxicidad aguda. In *Enciclopeda de toxicología (cuarta edición)* (Vol. 9, pp. 409-419). ELSEVIER. 10.1016/B978-0-12-824315-2.00607-2

SalROCHE. (2022, Julio 26). *La Artemia salina*. SalROCHE. https://salroche.com/blogs/news/la-artemia-salina?srsltid=AfmBOorHoKaPILCgRwIz3Day3GrVtfGxTryqVgeqzSeFKajCOgsURJUq

Sánchez, J., Villalba, A., Acuña, A., Penner, L., Penner, D., Gimenez, M., Villagra, R., Vega, N., & Sanabria, M. (2019, Septiembre 01). Intoxicaciones por plantas en el Centro Nacional de Toxicología durante el periodo 2011 - 2017. Asunción, Paraguay. *SciELO*, *6*(2), 11-20. https://doi.org/10.18004/rvspmi/2312-3893/2019.06.02.11-020

SÁNCHEZ BARRERA, A. (2015). "Toxicidad aguda en *Artemia* f. Kellogg de aceites esenciales aislados de cinco especias". In *Universidad Nacional Autónoma De México Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán* [libro]. CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO, México.

Saravia Salas, K. G., & Vargas Arizapana, A. A. (2023). *Extracción de aceite esencial de Matico (Piper aduncum) por arrastre de vapor y evaluación in vitro de su efecto fungicida en Colletotrichum gloeosporioides*. repositorio Unsa. Retrieved 11 10, 2015, from https://repositorio.unsa.edu.pe/items/bb242917-3957-4927-a5d5-15b91b4c0b90

Sue Clarke. (2008). Capítulo 7 - Composición de aceites esenciales y otros materiales. In *Química esencial para la aromaterapia (segunda edición)* (pp. 123-229). https://doi.org/10.1016/B978-0-443-10403-9.00007-8

Suresh, D., VijayaKumar, S., Pradhan, P., & subramanian, S. B. (2025). *Intoxicación mortal por aceite de eucalipto en un hombre adulto: Informe de un caso con autopsia completa y hallazgos histopatológicos* (Vol. 4). Alexander Muacevic , John R Adler. 10.7759/cureus.83053

Tácuna Calderón, A., Moncada, E., Lens Sardón, L., Huaccho, J., Gamarra, F., & Salazar, A. (2020, Marzo 31). SciELO. *Revista del cuerpo médico hospital nacional Almanzor Aguinaga Asenjo*, *13*(1). 10.35434

Tavares, C., Gameiro, J., Figueiredo, C., & Roseiro, L. (2022). Hidrolatos: una revisión sobre su composición de volátiles, propiedades biológicas y usos potenciales. In (Vol. 5, pp. 1-77). 10.1007/s11101-022-09803-6

The Angiosperm Phylogeny Group. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. Botanical Journal of the Linnean Society, 181(1), 1–20. https://doi.org/10.1111/boj.12385

Thurrott, S. (2023, April 14). *Una guía detallada de aceites esenciales y aromaterapia | Bandera*. Banner Health. Retrieved June 4, 2025, from https://www.bannerhealth.com/es/healthcareblog/teach-me/essential-oils-and-their-benefits

Tirillini, B., Rojas, E., & Pellegrino, R. (1996). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Piper angustifolium*. *Planta Medica*, 62(4), 372-373.

Torrentera Blanco, L., & Tacon, A. (n.d.). *LA PRODUCCION DE ALIMENTO VIVO Y SU IMPORTANCIA EN ACUACULTURA*. FAO. Retrieved 5 1, 2025, from https://www.fao.org/4/ab473s/AB473S04.htm#:~:text=La%20Artemia%20salina%20es%20un,furca%20(rameada%20o%20bifurcada).

UTP. (2007). *EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA (CL50) FRENTE A Artemia franciscana Y LA ACTIVIDAD HEMOLITICA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS, EN DICLOROMETANO Y METANÓLICO PARCIAL DE Justicia secunda (Vahl.)*. Scientia et Technica Año XII.

Vaca Meza, E. (2019). *Evaluación de la toxicidad en Artemia salina del extracto acuoso de las hojas de Piper aduncum L.* Repositorio UNT. https://dspace.unitru.edu.pe/items/9c01c3d9-be10-4f98-945b-74e92a98c0a4

Valderrama Molina, M. A. (2024, Abril 30). *Evaluación toxicológica del extracto etanólico de la especie Thunbergia alata mediante el bioensayo general de letalidad en Artemia salina*. Repositorio universidad del bosque. Retrieved Junio 05, 2025, from https://repositorio.unbosque.edu.co/items/a5a34965-53bf-4100-8bf4-a16cb1199b18

Vera, K., Villena Tejada, M., Vera, I., & Cardona, A. (2021, Diciembre 30). Actividad antibacteriana y citotoxicidad de cinco especies vegetales de la zona altoandina y amazónica de la región del cusco. *Ambiente comportamiento y sociedad*, *4*(2), 135-154. 10.51343/, v4i2.837

Vitanea Arana, L., Universidad Autónoma Metropolitana, & Unidad Xochimilco División de Ciencias Biológicas y de la Salud. (1999). *9706545360, 9789706545367* (1a edición ed.). Universidad Autonoma Metropolitana.

Vivanco, G. (2012, Junio 12). Prom Perú. https://repositorio.promperu.gob.pe/server/api/core/bitstreams/d354602c-62c1-4b24-aee1-82586af639bc/content

Yockteng, J. (2017, March 3). *Biología de la Artemia sp. – Bioartemia*. Bioartemia. Retrieved May 1, 2025, from https://www.bioartemia.com/2017/03/03/biologia-de-la-artemia-sp/

ANEXO 1

Efecto tóxico de productos comerciales es a partir de eucalipto frente a *Artemia salina*

Planta	Formulación	Concentración(ppm)	Replica	N° muerto
Eucalipto	Aceite	125	1	0
			2	2
			3	0
		500	1	6
			2	4
			3	8
		2000	1	11
			2	9
			3	10
		8000	1	20
			2	20
			3	20
		32000	1	20
			2	20
			3	20
	pomada	125	1	2
			2	0
			3	0
		500	1	2
			2	1
			3	1
		2000	1	3
			2	1
			3	2
		8000	1	4
			2	4
			3	6
		32000	1	17
			2	15
			3	16
	Hidrolato	125	1	2
			2	0
			3	2
		500	1	6
			2	4
			3	2
		2000	1	8
			2	4
			3	4
		8000	1	6
			2	6
			3	8
		32000	1	8
			2	10
			3	8

Efecto tóxico de las productos comerciales a partir de *Piper aduncum* (matico) frente a *Artemia salina*

Planta	Formulación	Concentración(ppm)	Replica	N° muerto
Matico	Aceite	125	1	4
			2	2
			3	4
		500	1	16
			2	14
			3	12
		2000	1	20
			2	20
			3	20
		8000	1	20
			2	20
			3	20
		32000	1	20
			2	20
			3	20
	pomada	125	1	2
			2	0
			3	2
		500	1	2
			2	2
			3	2
		2000	1	8
			2	4
			3	6
		8000	1	10
			2	14
			3	8
		32000	1	14
			2	10
			3	14
	Hidrolato	125	1	2
			2	2
			3	0
		500	1	4
			2	2
			3	4
		2000	1	4
			2	6
			3	2
		8000	1	10
			2	8
			3	12
		32000	1	12
			2	12
			3	10

ANEXO 2

Resultados del bioensayo de letalidad con *Artemia salina* en AEE (aceite esencial de eucalipto)

Concentración ppm	N° total, de individuos	N° de individuos muertos ensayo 1	N° de individuos muertos ensayo 2	N° de individuos muertos ensayo 3	total, de muertos
control-	60	0	0	0	0
control+	60	20	20	20	60
125 ppm	60	0	2	0	2
500 ppm	60	6	4	8	18
2000 ppm	60	11	9	10	30
8000 ppm	60	20	20	20	60
32000 ppm	60	20	20	20	60

Resultados del bioensayo de letalidad con *Artemia salina* en AEM (aceite esencial de matico)

Concentración ppm	N° total, de individuos	N° de individuos muertos ensayo 1	N° de individuos muertos ensayo 2	N° de individuos muertos ensayo 3	total, de muertos
control-	60	0	0	0	0
control+	60	20	20	20	60
125 ppm	60	4	2	4	10
500 ppm	60	16	14	12	42
2000 ppm	60	20	20	20	60
8000 ppm	60	20	20	20	60
32000 ppm	60	20	20	20	60

Resultados del bioensayo de letalidad con *Artemia salina* en PE (pomada de eucalipto)

Concentración ppm	N° total, de individuos	N° de individuos muertos ensayo 1	N° de individuos muertos ensayo 2	N° de individuos muertos ensayo 3	total, de muertos
control-	60	0	0	0	0
control+	60	20	20	20	60
125 ppm	60	2	0	0	2
500 ppm	60	2	1	1	4
2000 ppm	60	3	1	2	6
8000 ppm	60	4	4	6	14
32000 ppm	60	17	15	16	50

Resultados del bioensayo de letalidad con *Artemia salina* en PM (pomada de matico)

Concentración ppm	N° total, de individuos	N° de individuos muertos ensayo 1	N° de individuos muertos ensayo 2	N° de individuos muertos ensayo 3	Total, de muertos
control-	60	0	0	0	0
control+	60	20	20	20	60
125 ppm	60	2	0	2	4
500 ppm	60	2	2	2	6
2000 ppm	60	8	4	6	18
8000 ppm	60	10	14	8	32
32000 ppm	60	14	10	14	38

Resultados del bioensayo de letalidad con *Artemia salina* en HE (hidrolato de eucalipto)

Concentración ppm	N° Total, de individuos	N° de individuos muertos ensayo 1	N° de individuos muertos ensayo 2	N° de individuos muertos ensayo 3	Total. de muertos
control-	60	0	0	0	0
control+	60	20	20	20	60
125 ppm	60	2	0	2	4
500 ppm	60	6	4	4	14
2000 ppm	60	8	4	4	16
8000 ppm	60	6	6	8	20
32000 ppm	60	8	10	8	26

Resultados del bioensayo de letalidad con *Artemia salina* en HM (hidrolato de matico)

Concentración ppm	N° Total, de individuos	N° de individuos muertos ensayo 1	N° de individuos muertos ensayo 2	N° de individuos muertos ensayo 3	Total, de muertos
control-	60	0	0	0	0
control+	60	20	20	20	60
125 ppm	60	2	2	0	4
500 ppm	60	4	2	4	10
2000 ppm	60	4	6	2	12
8000 ppm	60	10	8	12	30
32000 ppm	60	12	12	10	34

ANEXO 3

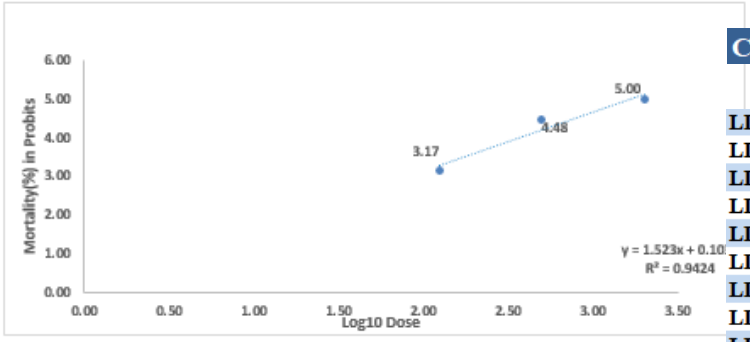
Resultado del análisis de la CL_{50} por efecto del aceite de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) en *Artemia Salina*

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

Dr.Alpha Raj MEKAPOGU, BVSc&AH, MVSc, PhD (Pharma &Toxicology), PhD (Medicine); alpharajm@gmail.com

Dose Units= ppm

Don't change		Dose/Conc.	Total	Dead	xi Log Dose
Control	Control	0.00	60	0	
Conc.	2	125	60	2	2.097
	3	500	60	18	2.699
	4	2000	60	30	3.301
	5	8000	60	60	3.903
	6	32000	60	60	4.505



Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

	Gro	Log10 Dose	Empirical Probi
2	2	2.10	3.17
3	3	2.70	4.48
4	4	3.30	5.00

CURVE_FITTING	
Slope	1.5
Intercept	0.1
SD (σ)	0.6
SE	0.1
R^2	0.9
Chi-test (χ2) Sig	0.1
df	
Chi-Test	NON-SI
Fitting	GOOD F

WORK. PROBIT_CURVE	
Slope	1.5
Intercept	0.1
R^2	0.9

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

LD30	730.60173	370.72577	1439.82140
LD31	763.09206	387.21218	1503.85117
LD32	796.54321	404.18614	1569.77448
LD33	830.99720	421.66896	1637.67412
LD34	866.49820	439.68306	1707.63713
LD35	903.09269	458.25204	1779.75513
LD36	940.82970	477.40074	1854.12471
LD37	979.76093	497.15544	1930.84781
LD38	1019.94107	517.54385	2010.03216
LD39	1061.42795	538.59534	2091.79175
LD40	1104.28284	560.34100	2176.24732
LD41	1148.57071	582.81378	2263.52692
LD42	1194.36058	606.04871	2353.76654
LD43	1241.72577	630.08301	2447.11071
LD44	1290.74435	654.95628	2543.71329
LD45	1341.49951	680.71073	2643.73819
LD46	1394.08000	707.39139	2747.36032
LD47	1448.58061	735.04638	2854.76650
LD48	1505.10274	763.72714	2966.15658
LD49	1563.75500	793.48877	3081.74454
LD50	1624.65383	824.39037	3201.75991
LD51	1687.92430	856.49541	3326.44916
LD52	1753.70091	889.87212	3456.07735
LD53	1822.12853	924.59403	3590.92995

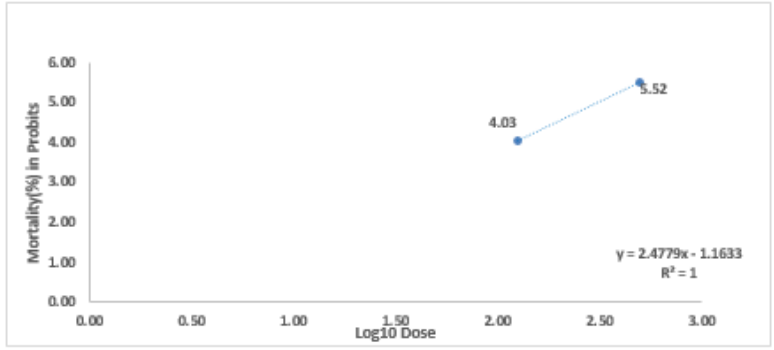
Resultado del análisis de la CL_{50} por efecto del aceite de *Piper aduncum* (matico) en *Artemia Salina*

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

Dr.Alpha Raj MEKAPOGU, BVSc&AH, MVSc, PhD (Pharma &Toxicology), PhD (Medicine); alpharajm@gmail.com

Dose Units= ppm

		Dose/Conc	Total	Dead	xi Log Dose
Don't change Control Conc.	Control	0.00	60	0	
	2	125	60	10	2.097
	3	500	60	42	2.699
	4	2000	60	60	3.301
	5	8000	60	60	3.903
	6	32000	60	60	4.505



Calculating LD50/LC50 using Probit Analysi			
	Gro	Log10 Dos	Empirical Probi
2	2	2.10	4.03
3	3	2.70	5.52

CURVE_FITTING	
Slope	2.478
Intercept	-1.163
SD (σ)	0.404
SE	0.119
R^2	1.000
Chi-test (χ2) Sig	
df	0
Chi-Test	
Fitting	

WORK. PROBIT CURVE	
Slope	2.478
Intercept	-1.163
R^2	0.996

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

LD30	188.66946	110.41879	322.37416
LD31	193.74197	113.38748	331.04141
LD32	198.87717	116.39285	339.81578
LD33	204.07907	119.43727	348.70413
LD34	209.35174	122.52310	357.71339
LD35	214.69931	125.65276	366.85062
LD36	220.12598	128.82872	376.12303
LD37	225.63609	132.05351	385.53799
LD38	231.23407	135.32973	395.10311
LD39	236.92453	138.66007	404.82623
LD40	242.71220	142.04730	414.71546
LD41	248.60203	145.49432	424.77924
LD42	254.59914	149.00413	435.02634
LD43	260.70890	152.57987	445.46591
LD44	266.93690	156.22481	456.10752
LD45	273.28903	159.94239	466.96123
LD46	279.77146	163.73623	478.03757
LD47	286.39068	167.61013	489.34764
LD48	293.15354	171.56809	500.90315
LD49	300.06729	175.61437	512.71648
LD50	307.13959	179.75343	524.80072
LD51	314.37859	183.99005	537.16978
LD52	321.79291	188.32928	549.83842
LD53	329.39176	192.77651	562.82237
LD54	337.18497	197.33748	576.13840
LD55	345.18301	202.01834	589.80442

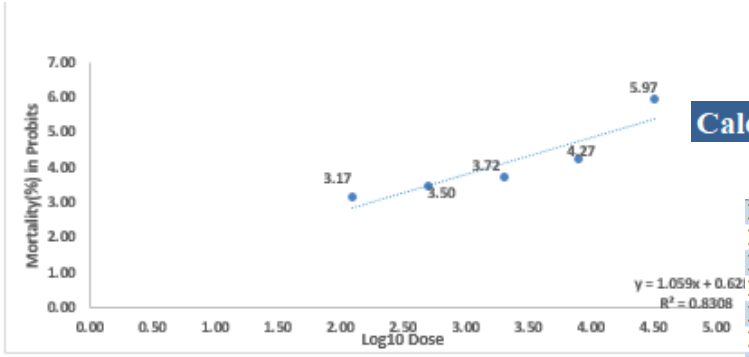
Resultado del análisis de la CL_{50} por efecto de la pomada de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) en *Artemia Salina*

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

Dr.Alpha Raj MEKAPOGU, BVSc&AH, MVSc, PhD (Pharma &Toxicology), PhD (Medicine); alpharajm@gmail.com

Dose Units= ppm

Don't change		Dose/Conc	Total	Dead	xi Log Dose
Control	Control	0.00	60	0	
Conc.	2	125	60	2	2.097
	3	500	60	4	2.699
	4	2000	60	6	3.301
	5	8000	60	14	3.903
	6	32000	60	50	4.505



Calculating LD50/LC50 using Probit Analysi

	Gro	Log10 Dose	Empirical Probi
2	2	2.10	3.17
3	3	2.70	3.50
4	4	3.30	3.72
5	5	3.90	4.27
6	6	4.51	5.97

CURVE_FITTING	
Slope	1
Intercept	0
SD (σ)	0
SE	0
R^2	0
Chi-test (χ2) Sig	0
df	
Chi-Test	NON-
Fitting	OOD

WORK. PROBIT_CUR	
Slope	0
Intercept	0
R^2	0

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

LD30	4178.88103	1637.45105	10664.77478
LD31	4464.07447	1749.20113	11392.60688
LD32	4764.33777	1866.85618	12158.89826
LD33	5080.49686	1990.73983	12965.75672
LD34	5413.43353	2121.19760	13815.43265
LD35	5764.08998	2258.59868	14710.33058
LD36	6133.47375	2403.33787	15653.02188
LD37	6522.66323	2555.83772	16646.25860
LD38	6932.81360	2716.55087	17692.98887
LD39	7365.16348	2885.96267	18796.37374
LD40	7821.04221	3064.59401	19959.80576
LD41	8301.87791	3253.00448	21186.92959
LD42	8809.20641	3451.79587	22481.66475
LD43	9344.68112	3661.61607	23848.23084
LD44	9910.08397	3883.16329	25291.17551
LD45	10507.33769	4117.19095	26815.40565
LD46	11138.51933	4364.51290	28426.22202
LD47	11805.87544	4626.00945	30129.35799
LD48	12511.83904	4902.63394	31931.02278
LD49	13259.04861	5195.42024	33837.94996
LD50	14050.36943	5505.49107	35857.45188
LD51	14888.91751	5834.06741	37997.48084
LD52	15778.08670	6182.47910	40266.69814
LD53	16721.57920	6552.17682	42674.55205
LD54	17723.44019	6944.74563	45231.36612
LD55	18788.09712	7361.92037	47948.43950

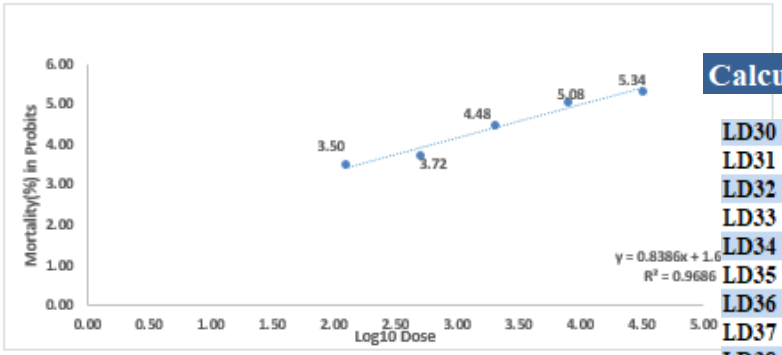
Resultado del análisis de la CL_{50} por efecto de la pomada de *Piper aduncum* (matico) en *Artemia Salina*

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

Dr.Alpha Raj MEKAPOGU, BVSc&AH, MVSc, PhD (Pharma &Toxicology), PhD (Medicine); alpharajm@gmail.com

Dose Units= ppm

Don't change		Dose/Conc	Total	Dead	xi Log Dose
Control	Control	0.00	60	0	
Conc.	2	125	60	4	2.097
	3	500	60	6	2.699
	4	2000	60	18	3.301
	5	8000	60	32	3.903
	6	32000	60	38	4.505
	7				
	8				
	9				
	10				
	11				
	12				
	13				
	14				
	15				
	16				
	17				
	18				
	19				
	20				
	21				
	22				
	23				
	24				
	25				
	26				



2	Gro	Log10 Dose	Empirical Probi
3	2	2.10	3.50
4	3	2.70	3.72
5	4	3.30	4.48
6	5	3.90	5.08
7	6	4.51	5.34
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

CURVE_FITTING	
Slope	
Intercept	
SD (σ)	
SE	
R^2	
Chi-test (χ2) Sig	
df	
Chi-Test	NON
Fitting	OOD

WORK. PROBIT_CU	
Slope	
Intercept	
R^2	

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

LD30	2276.63234	766.89847	6758.46282
LD31	2463.68836	829.90951	7313.76160
LD32	2663.17586	897.10818	7905.96475
LD33	2875.90412	968.76709	8537.47474
LD34	3102.74340	1045.17938	9210.87500
LD35	3344.63028	1126.66055	9928.94594
LD36	3602.57363	1213.55045	10694.68245
LD37	3877.66109	1306.21546	11511.31338
LD38	4171.06636	1405.05094	12382.32297
LD39	4484.05719	1510.48395	13311.47470
LD40	4818.00429	1622.97621	14302.83770
LD41	5174.39123	1743.02748	15360.81611
LD42	5554.82542	1871.17922	16490.18175
LD43	5961.05042	2008.01877	17696.11059
LD44	6394.95964	2154.18392	18984.22340
LD45	6858.61164	2310.36812	20360.63134
LD46	7354.24737	2477.32626	21831.98690
LD47	7884.30944	2655.88113	23405.54130
LD48	8451.46385	2846.93079	25089.20884
LD49	9058.62445	3051.45681	26891.63968
LD50	9708.98061	3270.53353	28822.30184
LD51	10406.02853	3505.33867	30891.57423
LD52	11153.60677	3757.16528	33110.85209
LD53	11955.93667	4027.43535	35492.66700
LD54	12817.66844	4317.71533	38050.82363
LD55	13743.93382	4629.73387	40800.55621

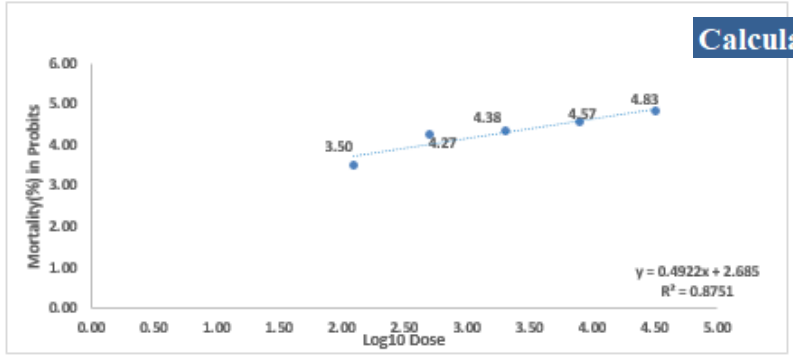
Resultado del análisis de la CL_{50} por efecto del hidrolato de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) en *Artemia Salina*

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

Dr.Alpha Raj MEKAPOGU, BVSc&AH, MVSc, PhD (Pharma &Toxicology), PhD (Medicine); alpharajm@gmail.com

Dose Units= ppm

Don't change		Dose/Conc	Total	Dead	xi Log Dose
Control	Control	0.00	60	0	
Conc.	2	125	60	4	2.097
	3	500	60	14	2.699
	4	2000	60	16	3.301
	5	8000	60	20	3.903
	6	32000	60	26	4.505



Calculating LD50/LC50 using Probit Analysi

	Gro	Log10 Dos	Empirical Probi
2	2	2.10	3.50
3	3	2.70	4.27
4	4	3.30	4.38
5	5	3.90	4.57
6	6	4.51	4.83

CURVE_FITTING	
Slope	0.492
Intercept	2.685
SD (σ)	2.032
SE	0.402
R^2	0.875
Chi-test (χ2) Sig	0.505
df	3
Chi-Test	NON-SIG
Fitting	OOD FIT

WORK. PROBIT CURVE	
Slope	0.477
Intercept	2.747
R^2	0.864

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

LD30	4182.76385	681.96535	25654.54908
LD31	4800.48417	782.67958	29443.27271
LD32	5498.84537	896.54165	33726.59887
LD33	6287.69208	1025.15663	38564.90848
LD34	7178.07249	1170.32586	44025.96456
LD35	8182.39366	1334.07219	50185.86447
LD36	9314.59843	1518.66889	57130.12521
LD37	10590.36740	1726.67256	64954.92214
LD38	12027.34980	1960.96076	73768.50490
LD39	13645.42774	2224.77510	83692.81846
LD40	15467.01931	2521.77066	94865.36177
LD41	17517.42659	2856.07276	107441.32258
LD42	19825.23614	3232.34218	121596.03354
LD43	22422.78051	3655.85049	137527.80308
LD44	25346.67122	4132.56689	155461.18404
LD45	28638.41527	4669.25876	175650.75542
LD46	32345.12991	5273.60819	198385.50598
LD47	36520.37289	5954.34732	223993.92657
LD48	41225.10894	6721.41595	252849.93805
LD49	46528.83742	7586.14539	285379.80769
LD50	52510.91113	8561.47345	322070.23753
LD51	59262.08220	9662.19653	363477.84639
LD52	66886.31902	10905.26582	410240.31368
LD53	75502.94725	12310.13640	463089.51091
LD54	85249.17956	13899.17965	522867.01788
LD55	96283.11351	15698.17210	590542.50952

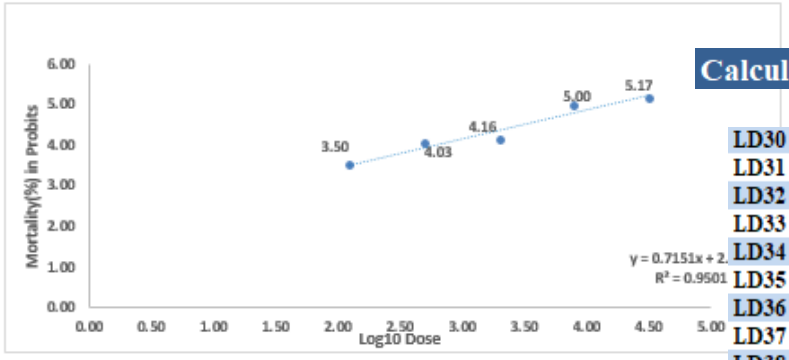
Resultado del análisis de la CL_{50} por efecto del hidrolato de *Piper aduncum* (matico) en *Artemia Salina*

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

Dr.Alpha Raj MEKAPOGU, BVSc&AH, MVSc, PhD (Pharma &Toxicology), PhD (Medicine); alpharajm@gmail.com

Dose Units= ppm

		Dose/Conc	Total	Dead	Log Dose (xi)
Don't change					
Control	Control	0.00	60	0	
Conc.	2	125	60	4	2.097
	3	500	60	10	2.699
	4	2000	60	12	3.301
	5	8000	60	30	3.903
	6	32000	60	34	4.505



Calculating LD50/LC50 using Probit Analysi

	Gro	Log10 Dose	Empirical Probi
2	2	2.10	3.50
3	3	2.70	4.03
4	4	3.30	4.16
5	5	3.90	5.00
6	6	4.51	5.17

CURVE_FITTING	
Slope	
Intercept	
SD (σ)	
SE	
R^2	
Chi-test (χ2) Sig	
df	
Chi-Test	NON
Fitting	OOD

WORK. PROBIT_CU	
Slope	
Intercept	
R^2	

Calculating LD50/LC50 using Probit Analysis

LD30	2757.52474	779.21990	9758.40409
LD31	3023.22777	854.30213	10698.68127
LD32	3310.27838	935.41674	11714.50384
LD33	3620.31307	1023.02618	12811.66307
LD34	3955.10595	1117.63178	13996.43730
LD35	4316.58201	1219.77749	15275.63867
LD36	4706.83169	1330.05404	16656.66495
LD37	5128.12725	1449.10352	18147.55723
LD38	5582.94086	1577.62452	19757.06408
LD39	6073.96484	1716.37782	21494.71319
LD40	6604.13425	1866.19281	23370.89124
LD41	7176.65217	2027.97463	25396.93333
LD42	7795.01797	2202.71211	27585.22318
LD43	8463.05912	2391.48683	29949.30548
LD44	9184.96683	2595.48314	32504.01228
LD45	9965.33634	2815.99954	35265.60527
LD46	10809.21222	3054.46155	38251.93635
LD47	11722.13969	3312.43612	41482.62912
LD48	12710.22274	3591.64811	44979.28447
LD49	13780.19001	3893.99891	48765.71398
LD50	14939.46990	4221.58761	52868.20539
LD51	16196.27600	4576.73522	57315.82525
LD52	17559.70492	4962.01226	62140.76489
LD53	19039.84824	5380.27038	67378.73660
LD54	20647.92108	5834.67877	73069.42883
LD55	22396.41023	6328.76592	79257.03016

ANEXO 4

Fotografías de DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA EN ARTEMIA SALINA DE PRODUCTOS COMERCIALES DERIVADOS DE eucalyptus globulus (EUCALIPTO) Y piper aduncum (MATICO).

Fotografías previa eclosión de Artemia salina.





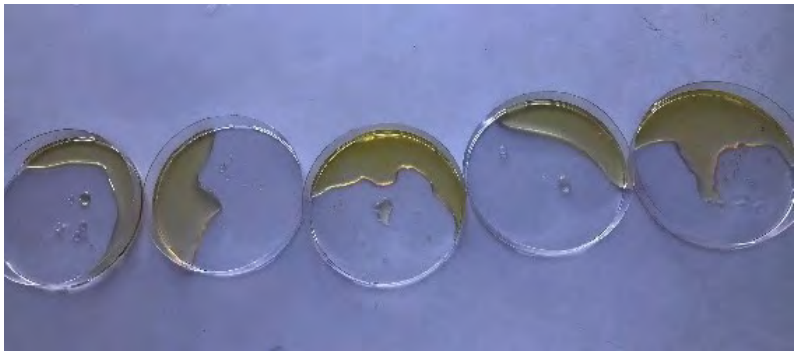




Fotografías del control de la calidad de quistes y nauplios de Artemia salina.





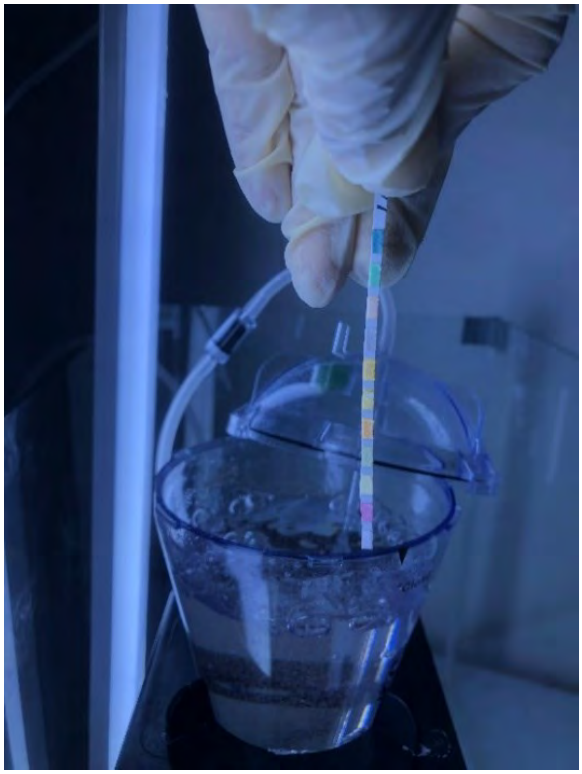




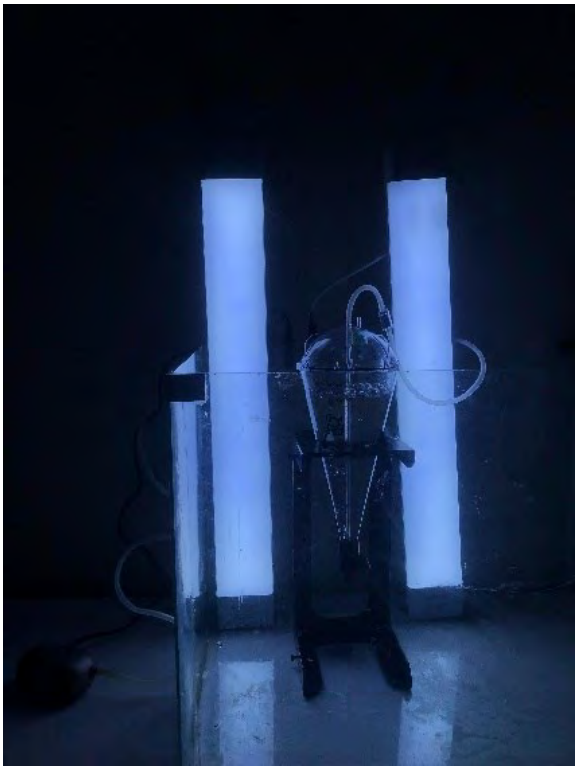


Fotografías del control de los parámetros para la eclosión de Artemia salina.









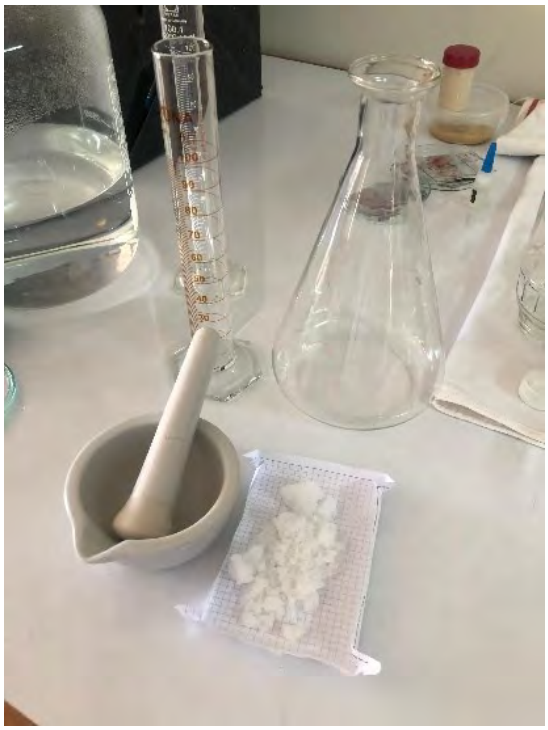
Realización del bioensayo




















200
150

ANEXO 5

PARÁMETROS CONTROL DE LA CALIDAD DE QUISTES Y NAUPLIOS DE *Artemia salina*

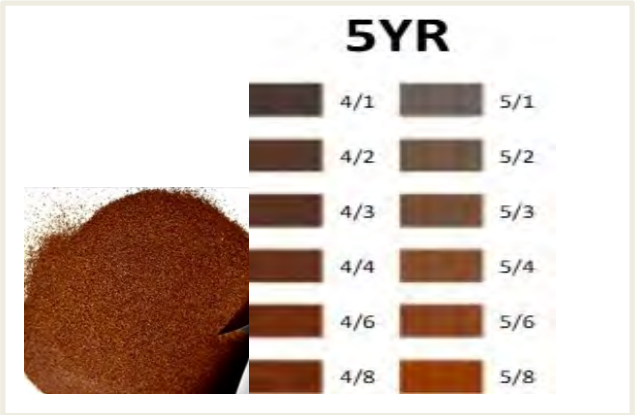
Control de la calidad de quistes de Artemia salina.

Color visual y usando cartas Munsell.	Porcentaje de humedad (% H)
(5YR, 4/8) Marrón	6.22%

Nota: Elaboración propia (% H) usando la fórmula del ítem "2.2.4"

Con el fin de evaluar la calidad de los quistes, se establecieron parámetros para su análisis donde se consideró el color y el porcentaje de humedad. Vitanea Arana et al., 1999 indica que, para no comprometer la viabilidad de los quistes, el porcentaje de humedad debe mantenerse por debajo del 10% si se supera este límite, los quistes comienzan su actividad metabólica, lo que reduce su probabilidad de eclosionar y sobrevivir por lo tanto en este ensayo como resultado se obtuvo 6.22% el porcentaje de la humedad de los quistes, considerando así viables y de buena calidad.

Identificación del color de los quistes de Artemia salina frente a las cartas Munsell



Nota. Quistes junto a las Cartas Munsell. (Cedeño, 2017). Fotografía tomada en el laboratorio C-235 de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSAAC.

Los resultados de la Según Sánchez Barrera, (2015), menciona que los colores de los quistes varían desde un marrón hasta un marrón oscuro ya que cuentan con una dura capa externa resistente llamada corión compuesta por lipoproteínas impregnadas con quitina y hematina, cuya concentración determina su color. Se determinó el color empleando las tablas Munsell, Obteniendo como resultado un tono marrón (5 YR, 4/8).

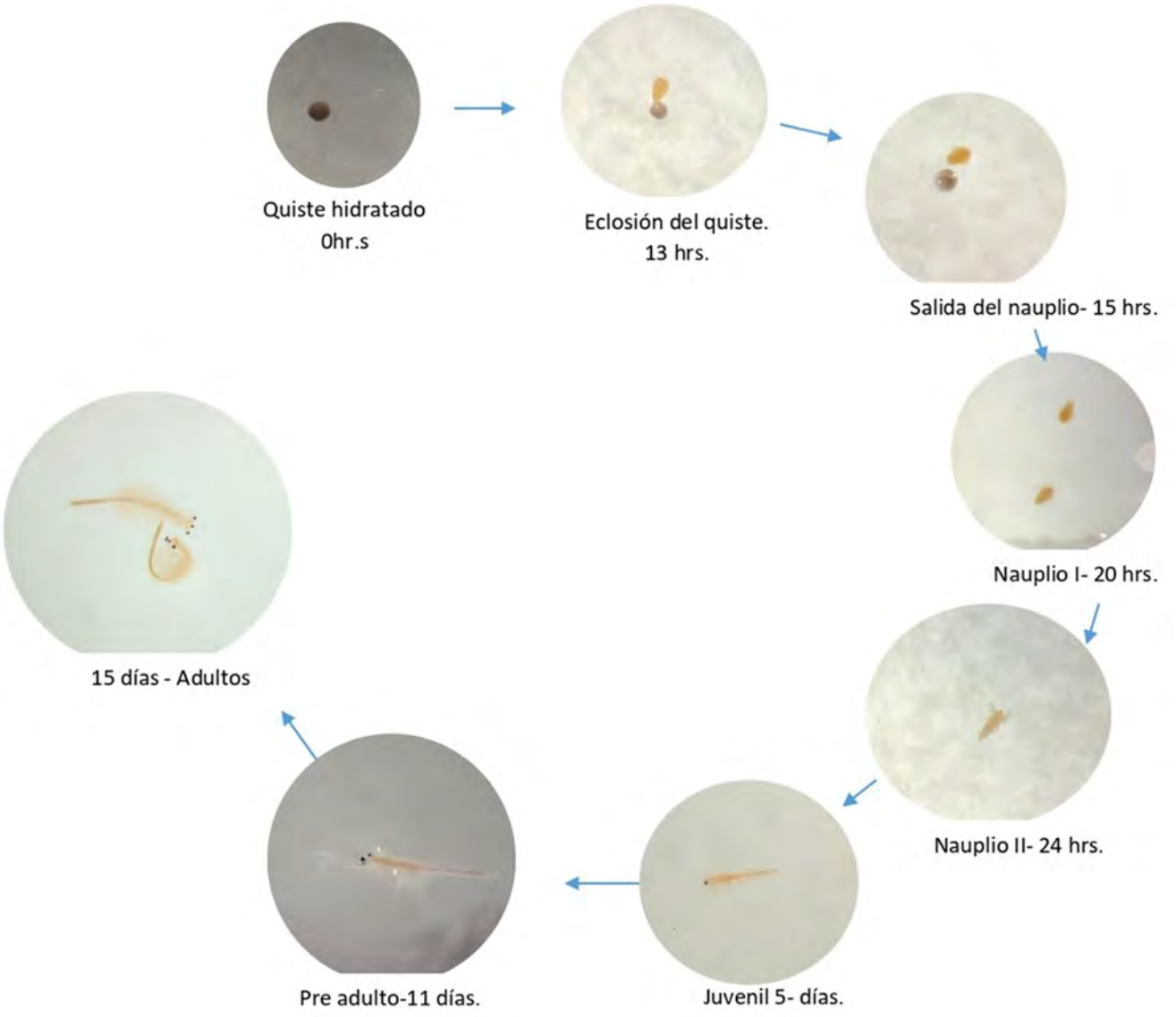
Control de la calidad de nauplios de Artemia salina

Eficiencia de eclosión (EE)	Porcentaje de eclosión (% E)
156.8 Nauplios/g	77.78%

Nota. Elaboración propia usando las fórmulas del ítem "2.2.6"

Así como es importante hacer el control de calidad de quistes es importante realizar el control de la calidad de los nauplios y estas se presentan en la En un estudio hecho por Castro et al. (1997) reportan que la eficiencia de eclosión oscila entre 67.879 org/g y 235.500 org/g para considerar buena calidad, el valor que se obtuvo en el estudio fue de 156.8 org/g, considerado dentro del rango, por lo que se determinó que los quistes utilizados en el ensayo tienen una alta calidad. Los mismos autores clasifican un porcentaje de eclosión de 25.75% como bajo y 89.3% como bueno. En este caso, el valor experimental que se obtuvo en laboratorio fue de 77.78% lo que confirma que los quistes reflejan la buena calidad y viabilidad.

CICLO DE VIDA DE *Artemia salina.*



Nota. Fotografías tomadas en el laboratorio C-235 de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSAAC.

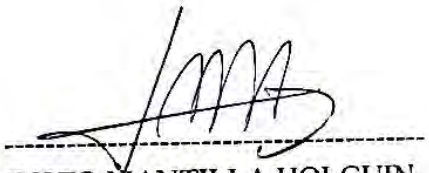
Los parámetros de viabilidad evaluados en quistes y nauplios de *Artemia salina* se encontraron dentro de los rangos óptimos reportados en la literatura, evidenciando una adecuada calidad biológica y un buen potencial de eclosión. Asimismo, se documentó el ciclo de vida de *Artemia salina* hasta la fase adulta en aproximadamente 15 días.

PERMISO DE UTILIZACIÓN DE PRODUCTOS COMERCIALES

Sr. Dr Luciano Julian Cruz Miranda

ASUNTO: autorización para uso de producto comerciales illa de matico y eucalipto.

De mi consideración, yo Blgo. JUSTO MANTILLA HOLGUIN, identificado con DNI N°..23806875..... En mi calidad de representante legal de la empresa ILLA. Autorizo a la bachiller María Antonieta Ccente De La Cruz en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Antonio Abad Del Cusco, a utilizar los productos Comerciales de la empresa para la tesis titulada "DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA EN *ARTEMIA SALINA* DE PRODUCTOS COMERCIALES DERIVADOS DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) y *Piper aduncum* (MATICO)" resultados que serán de utilidad para Nuestra Empresa.



JUSTO MANTILLA HOLGUIN
DNI N°: 23806875
RUC N°
CELULAR: 931147548