

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería en Ciencias Naturales y Matemáticas

“Cuantificación de Azadiractina presente en extractos acuosos de Neem”

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniero Químico

Presentado por:

Allan Daniel Macías Alvarado

Henry Alexander Pérez Alvarado

Tutor(a):

Lorena Quinchuela Carrera, M.Sc.

Cotutor(a):

Patricia Manzano Santana, PhD.

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2021

DEDICATORIA

El presente proyecto se lo dedico principalmente:

A mi padre Roque Neyl Macias Mendoza por demostrarme que es la responsabilidad, el respeto y dedicación a los que te gusta. Desde lo más profundo de mi ser te agradezco tu apoyo incondicional, cariño consejos y sabiduría ante toda situación. Eres una persona ejemplar digna de imitar dedicándote a mas no poder a tu familia. Te dedico este trabajo y todos mis logros y algún día espero devolverte todo lo que le has podido dar a tu familia.

A mi madre Mercedes Elizabeth Alvarado Noriega que siempre hace todo lo posible para poder apoyarme en mi vida. De ti no he recibido mas que amor y dedicación hacia la familia, eres una mujer increíble que siempre estaré agradecido con Dios por tenerte a mi lado.

Allan Daniel Macias Alvarado

DEDICATORIA

El presente proyecto es dedicado a mi familia, a mis padres, Jaime y Teresa, mi hermana Techy y mi abuelita Pepa, por estar siempre conmigo en todos los buenos y malos momentos, por cuidarme y siempre velar por mí, estar en cada decisión que tomaba cuando me proponía hacer algo. A mis amigos, Azael, Daniel y Luis, que son grandes personas, que durante estos años me dieron aliento, me apoyaban y daban ánimos cuando algo iba mal. A mis amigas, Nury, Verónica, Ximena, Ma. Paula, Karen, Marcela, y las gemelas Marny y Maylin, que siempre cuidaron de mí, que hicieron que fuera divertida esta etapa universitaria. Finalmente, Una dedicación especial a Loki, porque llego en el momento que más lo necesitaba y por acompañarme siempre.

Henry Alexander Pérez Alvarado

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, doy gracias a dios por haberme permitido llegar hasta donde estoy.

A mis profesores y profesoras, a mi tutora que supo cómo guiarme hasta poder culminar mi tesis, a mi compañero de tesis Henry Perez, les agradezco su apoyo en todo este proceso.

A la institución ESPOL le agradezco por haberme permitido tener esta la increíble experiencia de formar parte de ella.

A mis padres por todo el apoyo que me han brindado y consejos que han podido darme en los momentos indicados.

Allan Daniel Macias Alvarado

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a Dios, por estar siempre conmigo, por cuidar y guiarme en todo momento, no dejarme caer ni darme por vencido.

A mis padres, por darme todo, por creer en todo lo que he podido hacer, darme confianza y luchar hasta el final, porque si no arriesgas no ganas.

A mis profesores, profesoras y tutora por confiar en mí, aconsejarme y su dedicación, que gracias a ellos estoy culminando esta etapa.

A mis amigos, por ser parte de esta gran aventura, nunca olvidare las risas y el apoyo de cada uno.

A mi compañero de tesis Allan, por dejarlo todo y por confiar en cada momento.

Henry Alexander Pérez Alvarado

DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Allan Daniel Macías Alvarado* y *Henry Alexander Pérez Alvarado* y damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Allan Macías Alvarado', written over a horizontal line.

Allan Macías Alvarado

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Henry Pérez Alvarado', written over a horizontal line.

Henry Pérez Alvarado

EVALUADORES

Nadia Flores Manrique, M.Sc.

PROFESOR DE LA MATERIA

Lorena Quinchuela Carrera, M.Sc.

PROFESOR TUTOR

Patricia Manzano Santana, PhD.

PROFESOR COTUTOR

RESUMEN

Este proyecto busca el aprovechamiento de las propiedades insecticidas de la azadiractina presente en extractos acuosos conseguidos desde el fruto de la especie *Azadirachta indica* A. Juss más conocida como Neem. Los objetivos fueron cuantificar la azadiractina presente en el fruto de Neem mediante espectrofotometría UV-Vis y analizar las curvas de secado utilizando un prototipo de secador solar para la definición del tiempo de secado. El proyecto se desarrolló en distintas etapas experimentales tales como: 1) Tratamiento de la materia prima, 2) Extracción Sólido – Líquido y 3) Caracterización UV-Vis. La primera etapa consistió en la recolección, limpieza, secado, molienda, y trituración. Durante el secado se implementó un prototipo de secador solar casero a temperatura ambiente para los frutos de Neem, con el fin de evitar la degradación del componente activo y observar cómo disminuye su masa. El agua fue el solvente seleccionado para la extracción por maceración de azadiractina y se utilizaron relaciones masa de neem/solvente de 10g/200mL, 20g/200mL, 30g/200mL y 40g/200mL. Se determinaron los espectros de cada muestra para longitudes de onda entre 190 y 600 nm, además se determinó el espectro del estándar de azadiractina al 95 % (Sigma®). Se usó el estándar para cuantificar la azadiractina de las muestras a partir de las curvas de calibración a través de un espectrofotómetro UV-Vis. Mediante un análisis de varianza ANOVA se obtuvo la diferencia significativa entre las concentraciones obtenidas de los diferentes niveles (relaciones masa/solvente) con un intervalo de confianza del 95% y además se realizaron comparaciones múltiples de pares TUKEY, con el fin de comparar las medias individuales que provenían del ANOVA, lo que nos dió como resultado que las siguientes relaciones 10g/200mL – 30g/200mL, 10g/200mL – 40g/200mL, 20g/200mL – 30g/200mL y 20g/200mL – 40g/200mL eran distintas. Finalmente, la relación masa/solvente de 30g/200 mL presentó una concentración promedio de azadiractina de 9523.8 mg/L, la cual es la más alta en comparación a las otras relaciones.

Palabras claves: Neem, azadiractina, maceración, secador solar casero.

ABSTRACT

This project aims to take advantage of the insecticidal properties of azadirachtin present in aqueous extracts obtained from the fruit of the species Neem. The objectives of the project were to quantify the azadirachtin present in Neem fruit by UV-Vis spectrophotometry and to analyze the drying curves using a solar dryer prototype to define the drying time. The project was developed in different experimental stages such as: 1) Raw material treatment, 2) Solid-liquid extraction and 3) UV-Vis characterization. The first stage considered the collection, cleaning, drying, grinding, and crushing. A solar dryer prototype was implemented at ambient temperature, to avoid degradation of the active component and to observe how the mass decreases. The solvent selected for the extraction of azadirachtin by maceration was water, and neem mass/solvent ratios of 10g/200mL, 20g/200mL, 30g/200mL and 40g/200mL were used. Spectra of each sample were determined for wavelengths between 190 and 600 nm, as well as the 95% azadirachtin standard (Sigma®) spectra were also determined. Azadirachtin standard was used to quantify the azadirachtin in the samples and using calibration curves by UV-Vis spectroscopy. An analysis of variance ANOVA was performed to determine the significant difference between the concentrations obtained from the different levels (mass/solvent ratios) with a confidence interval of 95% and multiple comparisons of TUKEY pairs were performed, with the purpose of comparing the individual means that came from the ANOVA, which gave us as a result that the following ratios 10g/200mL – 30g/200mL, 10g/200mL – 40g/200mL, 20g/200mL – 30g/200mL y 20g/200mL – 40g/200mL were different. Finally, the mass/solvent ratio of 30g/200 mL presented an average azadirachtin concentration of 9523.8 mg/L, which is the highest compared to the other ratios.

Keywords: Neem, azadirachtin, maceration, solar dryer.

ÍNDICE GENERAL

EVALUADORES.....	7
RESUMEN.....	I
<i>ABSTRACT</i>	II
ÍNDICE GENERAL.....	III
ABREVIATURAS	VI
SIMBOLOGÍA	VII
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	VIII
ÍNDICE DE APÉNDICE B.....	IX
ÍNDICE DE APÉNDICE C.....	IX
ÍNDICE DE TABLAS	X
ÍNDICE DE DIAGRAMAS	X
CAPÍTULO 1.....	1
1. Introducción	1
1.1 Descripción del problema	1
1.2 Justificación del problema.....	2
1.3 Objetivos.....	4
1.3.1 Objetivo General	4
1.3.2 Objetivos Específicos	4
1.4 Marco teórico	4
1.4.1 Taxonomía del Neem	5
1.4.2 Estructura química de la azadiractina	5
1.4.3 Propiedades de la azadiractina	6
1.4.4 Aislamiento de azadiractina	7
1.4.5 Caracterización de los componentes del Neem	9

CAPÍTULO 2	10
2. Metodología	10
2.1 Materiales y equipos	10
2.1.1 Materiales.....	10
2.1.2 Reactivos	10
2.1.3 Equipos	11
2.2 Diagrama de flujo de etapas experimentales.....	11
2.3 Diseño experimental de la investigación.....	12
2.4 Descripción de etapas experimentales	12
2.4.1 Tratamiento de la materia prima	12
2.4.2 Extracción de azadiractina de los frutos de Neem	17
2.4.3 Caracterización de la azadiractina	18
2.4.4 Tratamiento estadístico	20
CAPÍTULO 3.....	21
3. Resultados y Análisis	21
3.1 Secado.....	21
3.2 Análisis granulométrico.....	23
3.3 Análisis de resultados de la filtración	24
3.4 Caracterización de azadiractina.....	25
3.5 Análisis de resultados de la cuantificación.....	27
3.6 Tratamiento estadístico de la cuantificación	28
3.7 Análisis económico	29
CAPÍTULO 4.....	31
4. Conclusiones y Recomendaciones	31
4.1 Conclusiones	31
4.2 Recomendaciones	32

BIBLIOGRAFÍA.....	33
APÉNDICES	39
APÉNDICE A	40
Ecuaciones para granulometría	40
Ecuación para calcular el porcentaje de humedad de la muestra.....	40
APÉNDICE B	41
Humedad de las muestras	41
Ensayos granulométricos para el Neem	42
Filtración del extracto de Neem	42
Barrido de longitudes de onda (210 y 245 nm) para los 12 experimentos.....	43
Concentración de las muestras experimentales	45
APÉNDICE C.....	46
Tratamiento estadístico de datos.....	46

ABREVIATURAS

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
FCNM	Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas
LOPU	Laboratorio de Operaciones Unitarias
LAQUINS	Laboratorio de Análisis Químico Instrumental
UV-Vis	Ultravioleta Visible
AZA	Azadiractina
INEC	Instituto Nacional de Estadística y Censos
AFC	Agricultura Familiar Campesina
MIP	Manejo Integral de Plagas
MIV	Manejo Integrado de Vectores
BPA	Buenas Prácticas Agrícolas
ONU	Organización de las Naciones Unidas
MAGAP	Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca
ANOVA	Analysis of Variance
SINAGAP	Sistemas de información nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca
VAN	Valor Actual Neto
TIR	Tasa Interna de Retorno

SIMBOLOGÍA

m	Metro
cm	Centímetro
mm	Milímetro
nm	Nanómetro
g	Gramo
mg	Miligramo
Kg	Kilogramo
min	Minutos
s	Segundos
h	Hora
pH	Potencial de Hidrógeno
L	Litro
mL	Mililitro
µL	Microlitro
ppm	Partes por millón
°C	Grados Celsius
D ₈₀	Diámetro característico con el tamaño de partícula pasante al 80%

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1.1 Estructura química de azadiractina.....	6
Ilustración 2.1 Proceso de recolección de Neem	13
Ilustración 2.2 Limpieza y distribución de Neem	13
Ilustración 2.3 Pesado y corte transversal del Neem	13
Ilustración 2.4 Prototipo con Neem y control diario del Neem	14
Ilustración 2.5 Molienda y trituración del fruto seco de Neem.....	15
Ilustración 2.6 Reducción de partícula completa y almacenamiento del Neem	16
Ilustración 2.7 Equipo de tamizado para el cálculo del D_{80}	17
Ilustración 3.1 Curvas de secado.....	21
Ilustración 3.2 %Humedad de la muestra	22
Ilustración 3.3 Curva granulométrica de la muestra.....	24
Ilustración 3.4 Espectros UV-Vis de las 12 unidades experimentales	25
Ilustración 3.5 Curva de calibración de estándares de azadiractina	27

ÍNDICE DE APÉNDICE B

Apéndice B.1 Datos de humedad de las muestras	41
Apéndice B.2 Ensayo granulométrico por tamizado	42
Apéndice B.3 Resultados de la filtración.....	42
Apéndice B.4 Valores de absorbancia entre 210 y 245 nm para las 12 unidades experimentales.....	43
Apéndice B.5 Resultados de las muestras experimentales	45
Apéndice B.6 Absorbancia vs Concentración	45

ÍNDICE DE APÉNDICE C

Apéndice C.1 Datos de concentraciones reales de las 12 unidades experimentales	46
Apéndice C.2 Tabla ANOVA de los experimentos	46
Apéndice C.3 Resultados de la tabla ANOVA	46
Apéndice C.4 Método Tukey.....	46
Apéndice C.5 Q Test del método Tukey	47
Apéndice C.6 Detalle de la inversión inicial	48
Apéndice C.7 Flujo de caja	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Taxonomía del árbol de Neem [(Hernández Gutierréz & Torrentes Herrera, 2020)].....	5
Tabla 1.2 Tamaño de partículas de los polvos [(Sharapin, et al., 2000)]	8
Tabla 2.1 Diseño factorial 2^k	12
Tabla 2.2 Especificaciones del secador solar	14
Tabla 3.1 Rendimiento promedio de la Filtración.....	25
Tabla 3.2 Datos de curva de calibración.....	26
Tabla 3.3 Concentración promedio	27
Tabla 3.4 Tabla ANOVA	28
Tabla 3.5 Tabla de Tukey	29
Tabla 3.6 Inversión inicial	29
Tabla 3.7 Precios promedios de los agroquímicos durante los últimos 3 años.....	30

ÍNDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama 2.1 Etapas experimentales para obtención y caracterización de extractos acuosos	11
Diagrama 2.2 Procedimiento para caracterización UV-Vis de extractos acuosos.....	19

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Descripción del problema

En Ecuador en el año 2012 se sembraron 421.820 hectáreas de cultivos de arroz (*Oryza sativa L.*) pero este cultivo fue víctima de ataque de microorganismos patógenos por lo que los agricultores no reconocen los síntomas de estos patógenos y las enfermedades que presentaban, esto los obligaba a recurrir al uso indiscriminado de productos agroquímicos. Teniendo en cuenta las enfermedades que conllevan mayor costo económico hasta el año 2012 era la “quemazón” que es causada por el hongo *Pyricularia grisea*, el manchado del grano, hongos e insectos y la “cinta blanca” que es un virus.

A lo largo de los años se ha observado un aumento de todo tipo de patógenos que provocan otras enfermedades como el tizón de la vaina y la pudrición de la panícula. Esto es causado por las especies de hongos de *Rhizctonia* y *Sarocladium oryzae*, mismas que han sido provocadas por el uso excesivo de los plaguicidas para poder controlar el caracol manzana haciendo que este afecta a los organismos benéficos y provoca que aparezca el *Togasods orizicolus* (sogata) vector de la enfermedad (Vivas & Intriago Mendoza, 2012).

De acuerdo con los censos a nivel nacional realizados por el (INEC, 2014) indica que en el 2014 existen dos millones y medio de hectáreas para cultivo que están destinadas para que se usen agroquímicos en los cuales están incluidos los fertilizantes, pesticidas e insecticidas. De acuerdo con la información proporcionada se tienen que tomar medidas preventivas para poder mitigar las plagas en los sectores agrícolas y la falta de conocimiento de las Prácticas de Agricultura Sostenibles.

Existe un grupo de personas que pertenecen a la Agricultura Familiar Campesina (AFC) al igual que algunos residentes de la región litoral que a consecuencia de que sus cultivos tienden a dañarse por algunas enfermedades u hongos. A este grupo de personas se les dificulta permanecer en el mercado y han tenido la necesidad de aumentar el uso de productos químicos agresivos como los pesticidas para prevenir estas situaciones. Esto tiene como consecuencia un daño muy grave al ecosistema, la salud de los

consumidores y la de los operarios agrícolas que suelen habitar dentro de las comunidades, mismas que no tienen el conocimiento claro de los efectos negativos que se generan por el uso de los productos químicos (Jiménez Quintero, Pantoja Estrada, & Ferney Leonel, 2016).

Chirinos, et al., 2020, reportan que 539 agricultores pertenecientes a las provincias de Guayas, Chimborazo, Loja, El Oro y Santa Elena; en la que se evidenció el uso excesivo de insecticidas debido a que, no acogen las recomendaciones que los proveedores proporcionan ni la información detallada en la etiqueta del producto. Por otro lado, los agricultores afirman que usan dos o más pesticidas en cada aspersion que realizan, esto altera más los efectos que producen esos químicos.

Reconociendo que solo una pequeña parte de las agroindustrias dentro del Ecuador suelen poner en marcha el sistema de Manejo Integral de Plagas (MIP) que es un control a una estrategia. Este control se usa en varios métodos para control de plagas y el Manejo Integrado de Vectores (MIV) que es un proceso para poder manejar poblaciones con el fin de reducir o interrumpir transmisiones vectoriales de alguna enfermedad (Chirinos, et al., 2020).

1.2 Justificación del problema

Cuando se comercializan o consumen los productos hay que presentarlos de tal manera que el consumidor se informe de que esta por recibir un producto saludable con el medio ambiente y para su salud. Se busca tratar de reemplazar a los agroquímicos que son peligrosos para tener un menor riesgo al momento de consumir o comercializar algún producto (Cabezas, 2021).

Según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) “A nivel nacional 81.248,36 hectáreas usan plaguicidas orgánicos, las cuales corresponden al 4.23% de la superficie de cultivos permanentes, y al 1.26% del total de la superficie de cultivos transitorios” (INEC, 2014), esto demuestra que el 20% o menos tiene conciencia de los Objetivos de Desarrollo Sostenible que se plantean en la agenda de la ONU que son: 11) Alcanzar que los asentamientos humanos y las ciudades puedan ser inclusivos, resilientes,

seguros y sostenibles, 12) Que se garantice las indicaciones de producción sostenibles y de consumo, 13) Poder adoptar las medidas con urgencia para poder combatir los efectos del cambio climático (ONU, 2017).

Uno de los cultivos de más interés y que se usan bastantes agroquímicos es el arroz, ya que el arroz es considerado un cultivo transitorio lo cual quiere decir que su periodo vegetativo es inferior a un año. Según datos del INEC, esta gramínea es el mayor cultivo transitorio con un 36,87% (INEC, 2014). Por esta razón se busca encontrar un producto que tenga el mismo efecto que los agroquímicos sin hacer tanto daño. En la actualidad, las especies vegetales junto con sus componentes fitoquímicos tienen una mayor importancia ya que conduce a la posible formulación de nuevos productos para el mercado, por lo que un paso crucial para esto es la extracción, que consiste en separar eficientemente el principio activo que se requiere de la especie vegetal, para lo cual existen muchos métodos de extracción, ya sean métodos tradicionales o modernos que sirven para mejorar el rendimiento (León Méndez, Osorio Fortich, & Martínez Useche, 2015).

Una de las especies vegetales que han sobresalido por sus componentes fitoquímicos es el Neem, ya que posee un principio activo llamado azadiractina. Debido a esto, en este proyecto se eligió obtener por maceración la azadiractina que es un método de extracción más sencilla y viable para el agricultor ya que requieren equipos sofisticados para realizarla (Aguilera Peña, et al., 2016).

Por otro lado, se reportó que la azadiractina en los EE. UU está entrando en el mercado como medio alternativo efectivo para el control de patógenos y plagas, esto se debe a que las prácticas agrícolas sostenibles y la misma necesidad de los productos llevan a concientizar a los consumidores sobre los problemas que se tienen en los cultivos (Immaraju, 1998). Sabiendo que hay evidencias de que aun presentan falta de conocimiento sobre el uso indiscriminado de los productos agroquímicos dentro de las comunidades agrícolas del Ecuador, algunas comunidades han tomado conciencia y se han decidido a mejorar su modelo de seguridad ocupacional y ambiental. Esta situación puede beneficiar este proyecto, ya que se está integrando las propiedades fisicoquímicas

que contiene la azadiractina que proviene del árbol de Neem, para mejorar las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y también el Manejo Integral de Plagas.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Extraer azadiractina del fruto de Neem mediante maceración para su cuantificación por espectrofotometría UV-Vis.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Analizar las curvas de secado del fruto de Neem utilizando un prototipo de secador casero para la definición del tiempo de secado.
2. Cuantificar la azadiractina del fruto de Neem utilizando el estándar de azadiractina al 95% de pureza para la determinación de la concentración del extracto mediante espectrofotometría UV-Vis.
3. Evaluar la viabilidad económica del proceso de extracción de azadiractina mediante la aplicación del VAN y TIR.

1.4 Marco teórico

Azadirachta indica A. Juss, también conocida como neem o margosa, es originario de Asia suroriental, se lo cultiva en áreas tropicales y subtropicales de la India, Sri Lanka y Myanmar. En Latinoamérica se encuentra en países como Perú, Chile y Argentina. En Ecuador, el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP) la introdujo como parte del programa de incentivos forestales, la cual se aprovecha en la industria maderera para la elaboración de muebles (Aguilera Peña, et al., 2016).

El árbol comienza a producir frutos pasado de unos cuantos años haciéndose totalmente productivos dentro de unos 10 años y más. El tamaño del árbol es de pequeño a mediano (Esparza Díaz, et al., 2010). Las flores tienen su aparición en panículas ramificadas de 5 a 15 centímetros de largo y son estrechas, las flores individuales se componen de 5 lóbulos de cáliz de forma redonda junto con un color un poco pálido, tienden a florecer entre los meses de marzo y mayo. La forma de los frutos se asemeja a las de unas

aceitunas (drupas) teniendo de 1 a 2 centímetros de largo, con un relieve liso y un color verdoso normalmente pero cuando están maduras pasan a un color amarillo. Por lo general los frutos maduran alrededor de los meses de junio a agosto (Gámez, 2021).

1.4.1 Taxonomía del Neem

Tabla 1.1 Taxonomía del árbol de Neem [(Hernández Gutiérrez & Torrentes Herrera, 2020)]

Taxonomía del árbol de neem.	
Clase	Angiosperma
Subdivisión	Geraniales
Familia	Meliácea
Género	Azadirachta

La azadiractina (compuesto activo del neem) tiene la característica de interrumpir la etapa de crecimiento que tienen los insectos y les quita el deseo de alimentarse de plantas, también tiene la propiedad que es biodegradable y no representa toxicidad para ningún mamífero ya que es considerado una sustancia química que tiene orígenes naturales con una estructura que se asemeja mucho a la hormona de los insectos “ecdismas” y está dentro de la categoría de molécula orgánica que tiene como nombre tetranortriterpeno (Hernández Gutiérrez & Torrentes Herrera, 2020).

Las ecdismas tienen la capacidad de controlar la metamorfosis que se produce en los insectos y esto es interrumpido cuando se expone a la Azadiractina (Costa, Ide, & Simonka, 2006). Cuando sucede esto, se altera el equilibrio hormonal de los insectos, produciendo que se disminuya la tasa de reproducción y reprime las conductas de alimentación que tienen los insectos con normalidad (Velázquez Montes, 2001).

1.4.2 Estructura química de la azadiractina

La fórmula de la molécula de azadiractina es $C_{35}H_{44}O_{16}$ y está compuesto de un acetato, dos esteres metílicos, un alcohol terciario y secundario, un éster de tiglato, un éter vinílico y un epóxido (Baque Cambridge & Baidal Veloz, 2021).

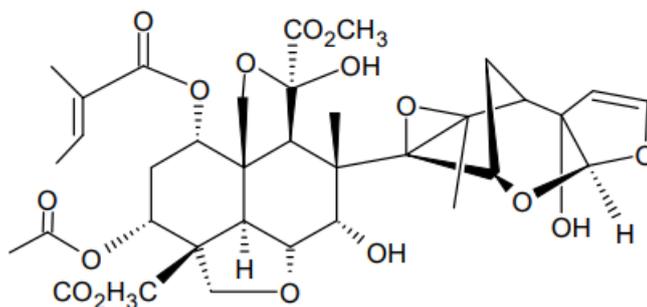


Ilustración 1.1 Estructura química de azadiractina

Fuente: Elaboración propia

1.4.3 Propiedades de la azadiractina

Es considerada como el principal limonoide responsable de la actividad que tiene como insecticida del neem, también es el más abundante, ambientalmente seguro, biodegradable y solamente se puede encontrar en este tipo de árbol. En general existen 9 tipos de isómeros de la molécula pero la azadiractina A y B son las más abundantes de ella. Se sabe que la concentración de azadiractina A dentro de las semillas puede llegar a unos valores de 0.56 a 3.03 g/Kg y de la B 0.04 a 0.59 g/Kg (Hernández Gutiérrez & Torrentes Herrera, 2020).

La azadiractina (AZA), es un compuesto importante que contribuye a las actividades biológicas del neem, su aplicación va desde su utilización como agente de biocontrol de insectos, hasta aplicaciones medicinales y farmacológicas (Ashokhan, Othman, Abd Rahim, Karsani, & Yaacob, 2020). Como propiedades de la azadiractina se tiene que es un compuesto cristalino, incoloro, polar y no volátil; soluble en disolventes orgánicos polares y con ligera solubilidad. La semilla presenta la mayor concentración de AZA con un 83% en comparación con otras partes del fruto como el endospermo, cubierta seminal o cuerpo del fruto, y otras regiones del árbol como corteza, hoja, raíz y tallo (Aguilar Acosta, et al., 2020). La eficacia de azadiractina se ha puesto a prueba en más de 600 especies, por ejemplo, lepidóptera, coleóptera, etc., las cuales son catalogadas como sensibles a los extractos de semillas de Neem (Morgan, 2009).

1.4.4 Aislamiento de azadiractina

1.4.4.1 Secado

Según Alemán Alvarado, Gurdíán Rosales, & Ortiz Machado, 2016, es el método en que el agua se elimina del material vegetal ya sea por evaporización o bien por vaporización con ayuda de calor. Para Banchemo, Carballo, & Telesca, 2007, las técnicas de secado natural usando secadores solares o bandejas al aire libre expuestas al sol, son las más comunes debido a su simplicidad, durabilidad y bajo costo, pero demandan un mayor tiempo de ejecución.

Según Guerra & Grados, 2004, debe evitarse el contacto directo de la semilla con la superficie de cemento o plástico, puesto que se han realizado estudios en donde se determinó que el plástico y el cemento reducen considerablemente el contenido de las sustancias activas contenidas en la semilla de Neem.

El secado se debe realizar a una temperatura entre 25 °C a 30 °C durante un tiempo aproximado de 5 días, protegido de la incidencia directa de los rayos del sol, con el fin de preservar el principio activo del extracto (Jiménez Vargas, 2017). Si se excede este rango de días pueden producirse problemas con el proceso si no se tiene debido cuidado, presentándose posibles hongos o microorganismos y esto provocara que se tengan que eliminar cuanto antes, caso contrario se propagara en todos los frutos. El Neem se degrada en procesos de secado y extracción a temperaturas mayores a 50°C, encontrándose oleosos mayores reacciones oxidativas y de acidez que son indicadores de degradación (Liau, et al., 2008).

1.4.4.2 Molienda

Esta etapa se aplica sobre el material vegetal seco para reducir su tamaño de partículas convirtiéndolo en polvo, esto para adecuarlo a la etapa de extracción para que al entrar en contacto el solvente con las membranas divididas facilite la disolución de los constituyentes celulares (Sharapin, et al., 2000).

Según Sharapin, et al., 2000 se debe conocer el tamaño de partícula en dependencia del tipo de extracción que se utiliza ya que la fragmentación excesiva o muy pobre puede causar problemas en el transcurso de la extracción.

Tabla 1.2 Tamaño de partículas de los polvos [(Sharapin, et al., 2000)]

Clasificación de polvos	
Tipo de polvo	Tamaño de partícula
Polvo grueso	1700 µm
Polvo moderadamente grueso	710 µm
Polvo semi-fino	355 µm
Polvo fino	180 µm
Polvo finísimo	125 µm

1.4.4.3 Curva de humedad

Una de las operaciones principales que se debe realizar luego de cosechar el producto para poder mantener la calidad es el proceso de secado, esto debido al aumento de la actividad enzimática, también lleva a que el principio activo se degrade. El proceso de secado consiste en eliminar parcialmente el agua libre contenida en los productos, ya que tanto las enzimas como los microorganismos dependen del agua para poder aparecer (Saravia et al., 2007). Con el fin de que lleguen a un contenido de agua que pueda dar paso al almacenamiento durante mucho tiempo, todo esto sin que se produzca un deterioro de los productos. En caso de que no se siga el método de secado rigurosamente, puede reducir la calidad del producto aun antes de almacenarlo o incluso puede apresurar el proceso de deterioro del producto (Torres Sandoval et al., 2005).

El secado tiene que realizarse hasta que el producto llegue a tener un contenido de agua que este entre los valores de 16% a -18%, esto varía dependiendo de la especie y que parte de la planta se le esté realizando este proceso. El proceso de secado no requiere que sea muy rápido, pero tampoco lento, teniendo que controlar las variables de operación como es la temperatura que se debe de mantener a temperatura ambiente y tener el producto sin que los rayos del sol golpeen directamente, la velocidad y la humedad relativa del aire del secado, debido a que, si ocurre muy rápido hay una alta volatilización de los compuestos químicos que están presentes o se degradan más

rápido. Por otro lado, si se realiza lento pueden aparecer microorganismos y esto puede provocar que se pudra o se dañen ciertas cantidades de la planta (Aspurz Tabar, 2011).

1.4.4.4 Extracción

Según (Handa, Khanuja, Longo, & Rakesh, 2008), la extracción es la separación de las partes activas de la planta utilizando disolventes selectivos mediante procedimiento estándar. El propósito de toda extracción es separar los metabolitos solubles de la planta, dejando atrás el residuo celular insoluble.

Los métodos de extracción más utilizados para separar azadiractina incluyen maceración, extrusión en frío con prensa mecánica y percolación, con el uso de agua y distintos solventes. El método Soxhlet requiere solventes orgánicos de alta pureza y la selección de estos va en función de sus costos, su impacto ambiental y su recuperación (Azwanida, 2015).

1.4.5 Caracterización de los componentes del Neem

La espectrofotometría UV-Vis es una técnica analítica que se basa en el análisis de compuestos en las que se cuantifica la luz absorbida por las moléculas al promocionar el electrón de un estado basal a un estado excitado. Las técnicas espectroscópicas son empleadas para el análisis cualitativo cuando se refiere a la caracterización de la materia, mientras que el análisis cuantitativo se tiene en cuenta la relación existente entre la señal producida y la concentración de una sustancia (Arias Garzón, 2020). La azadiractina presenta una máxima absorción a valores bajos de longitud de onda (215nm o 217nm) debido a su cromóforo de carbonilo α , β insaturado (Morgan, 2009).

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

2.1 Materiales y equipos

2.1.1 Materiales

- Matraces Erlenmeyer
- Matraz volumétrico (5 mL, 25 mL, 100 mL, 200 mL, 250 mL)
- Micropipeta Thermo Scientific (100 – 1000 μ L)
- Gradilla
- Papel filtro grueso (tamaño de poro de 20 μ m)
- Vidrio reloj
- Kitasato
- Embudo Buchner
- Embudos de vidrio
- Pissetas
- Vasos de precipitación
- Botellas color ámbar
- Probetas (100 mL, 200 mL)
- Tubos de ensayo
- Celdas de cuarzo de 4cm
- Pinzas
- Tijeras
- Tamizador N° 18, abertura 1000 μ m, Marca Fisher Scientific Company
- Tamizador N° 20, abertura 850 μ m, Marca Fisher Scientific Company
- Tamizador N° 30, abertura 600 μ m, Marca Fisher Scientific Company
- Tamizador N° 45, abertura 355 μ m, Marca Fisher Scientific Company
- Tamizador N° 50, abertura 300 μ m, Marca Fisher Scientific Company
- Tamizador N° 100, abertura 150 μ m, Marca Fisher Scientific Company

2.1.2 Reactivos

- Agua destilada
- Estándar de Azadiractina al 95 % (Sigma®)

2.1.3 Equipos

- Nutri Bullet 900 Series
- Molino de grano tradicional
- Bomba de vacío
- Balanza analítica, precisión de 0.1 mg, capacidad de 150 g Marca Sartorius
- Equipo Tamizador, Marca Portable Sheve Shaker, Modelo RX
- Espectrofotómetro UV-Vis, Marca Thermo Fisher Scientific, Modelo Genesys 10S

2.2 Diagrama de flujo de etapas experimentales

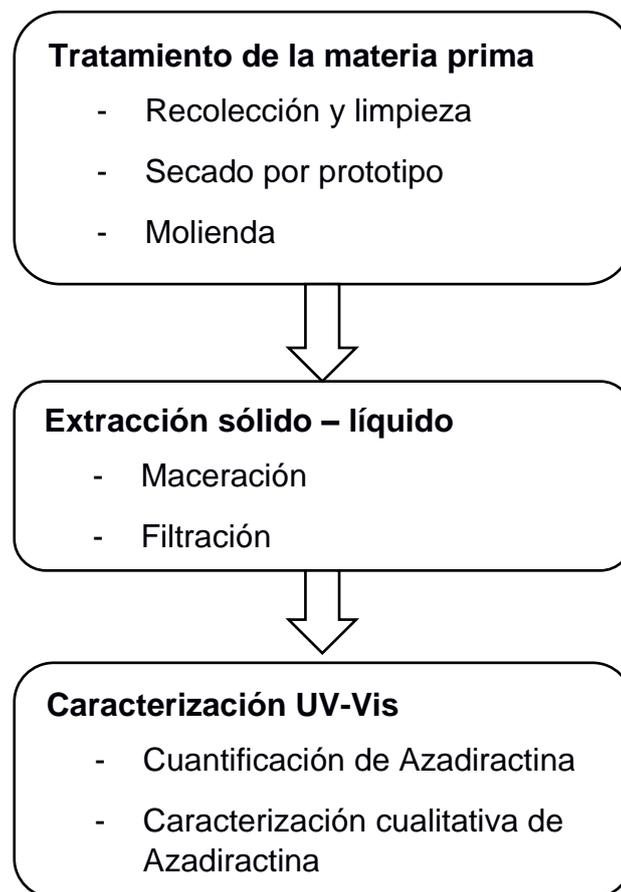


Diagrama 2.1 Etapas experimentales para obtención y caracterización de extractos acuosos

2.3 Diseño experimental de la investigación

Para detectar la presencia de azadiractina en los frutos de Neem se planteó un diseño factorial 2^k (ver Tabla 2.1), el cual se realizó por triplicado y obteniendo un total de 12 unidades experimentales.

Tabla 2.1 Diseño factorial 2^k

	Descripción	
Variable Independiente	1) Masa/solvente (g/mL)	
Niveles	Variable Independiente	1) 10g/200mL
		2) 20g/200mL
		3) 30g/200mL
		4) 40g/200mL
Variable dependiente	Detección cualitativa de azadiractina	
	Concentración de azadiractina	

2.4 Descripción de etapas experimentales

2.4.1 Tratamiento de la materia prima

2.4.1.1 Recolección y limpieza

El fruto de Neem se recolectó en el mes de noviembre en el sector de la Autopista Terminal Terrestre Pascuales, de la provincia del Guayas, cantón Guayaquil, coordenadas UTM: -2.096857, -79892211.

El material que se recolectó se depositó en una bolsa plástica (ver Ilustración 2.1) a continuación, se comenzó a desprender uno por uno cuidadosamente para que el fruto conserve su mejor estado. Los frutos se lavaron de manera continua para eliminar la mayor cantidad de suciedad posible, para luego eliminar el exceso de agua (ver Ilustración 2.2), se pesaron y finalmente se cortaron transversalmente de manera manual (ver Ilustración 2.3) (Ramírez Suárez & Ramírez Calderón, 2018).



Ilustración 2.1 Proceso de recolección de Neem



Ilustración 2.2 Limpieza y distribución de Neem

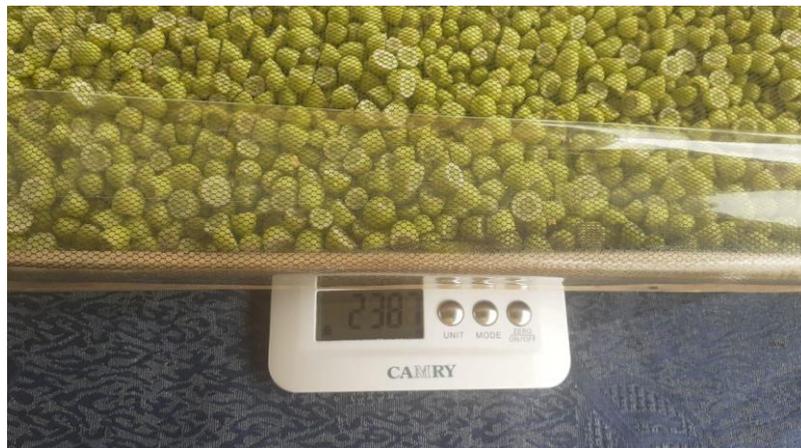


Ilustración 2.3 Pesado y corte transversal del Neem

2.4.1.2 Secado

Se secó el fruto en un secador solar, desde el día 26 de noviembre hasta el día 15 de diciembre de año 2021, con el clima de la ciudad de Guayaquil con una humedad relativa anual mínima de 65% hasta una máxima de 91%, temperatura promedio anual mínima de 21 °C y máxima de 31 °C (Guachamín Paladines , 2021).

Tabla 2.2 Especificaciones del secador solar

Especificaciones	Material	Dimensiones
Cobertura	Polietileno transparente	84 cm x 64cm
Estructura	Madera	1.47 cm x 64 cm
Bandejas	Madera, lienzo, malla de tela	57x31x4 cm – espacio entre bandejas 25 cm

La Ilustración 2.4 muestra el secador solar que se usó para poder realizar el secado, con una capacidad aproximadamente 1.5 Kg de fruto en cada una de las tablas o lotes (A y B) que se podía depositar dentro del secador solar. El secador solar se ubicó en un lugar abierto y dentro se ubicaron los frutos separados de forma uniforme a lo largo de las bandejas. Con el fin de que no se sobrepongan unos sobre los otros ya que esto podría provocar que se pudran a lo largo de los días. Se ubicó en una localidad donde los rayos del sol no le golpeen al prototipo directamente en todo momento. Uno de los laterales se tuvo que dejar al descubierto con el fin de apilar las bandejas de formas de estante para poder dar paso la entrada de aire al secador solar (Ramírez Suárez & Ramírez Calderón, 2018).



Ilustración 2.4 Prototipo con Neem y control diario del Neem

2.4.1.2.1 Medición de humedad del fruto

De cada tabla (lote) A y B se depositaron los frutos de Neem con pesos diferentes. Los pesos de los lotes A y B fueron de 1613 g y 1371 g respectivamente. El proceso se realizó en un transcurso de 17 días, el primer día se compilaban los datos de la masa que perdía cada 30 minutos durante 6 horas seguidas, con el fin de poder contener un mayor número posible de niveles de humedad en el proceso de secado desde el comienzo del proceso

hasta cuando alcanza niveles de humedad que se requieren (12% - 14%), después se verificaban diariamente el estado de los frutos (Jurado C et al, 2009). La eliminación de frutos con hongos o bacterias y medición del peso diariamente todo esto con el fin de poder acumular los datos para graficar la curva de humedad. La curva de humedad se usa principalmente para poder fijar un determinado índice de humedad que se encuentra disponible en el suelo (Subramanian et al, 2019).

2.4.1.3 Molienda

Para la molienda se siguió el procedimiento recomendado por Loyola & Gloria , 2018. En la Ilustración 2.5 se puede observar parte del proceso de la trituración y la reducción de tamaño del Neem. Para este proceso se tuvo que usar un molino de grano manual y un Nutri Bullet.



Ilustración 2.5 Molienda y trituración del fruto seco de Neem

En la Ilustración 2.6 se puede observar el fruto de Neem para su futuro almacenamiento en frascos de vidrio tapados con papel aluminio para protegerlo de la luz (Falasa, S. & Bernabé, M. A., 2009).



Ilustración 2.6 Reducción de partícula completa y almacenamiento del Neem

2.4.1.3.1 Determinación del diámetro característico D_{80}

Se hizo un análisis granulométrico del fruto de Neem, teniendo en cuenta las especificaciones de la norma U.S.A estándar para los tamices y la metodología que recomienda Morante Silva, 2019.

Se usó un equipo tamizador por 10 minutos para poder agitar una cantidad de 253 g de la muestra, con el fin de conocer la masa de las partículas que son retenidas en cada uno de los tamices, los tamices que se usaron fueron los N°18, N°20, N°30, N°45, N°50 y N°100) con aberturas de 1 mm, 850 μm , 600 μm , 355 μm , 300 μm y 150 μm respectivamente. A continuación se determinó el diámetro característico con el tamaño de partícula que pasa al 80% más conocido como D_{80} , los datos que se obtuvieron se presentan en la curva granulométrica como un porcentaje acumulado pasante vs el diámetro de partículas de la muestra (Fernandez Peres, 2012).



**Ilustración 2.7 Equipo de tamizado
para el cálculo del D_{80}**

2.4.2 Extracción de azadiractina de los frutos de Neem

2.4.2.1 Maceración

Este proceso se pudo realizar siguiendo la metodología que sugiere Hernández Gutiérrez & Torrentes Herrera, 2020. El agua es el solvente seleccionado para este proceso. Después de tratar y preparar la materia prima, se pesó considerando las siguientes relaciones masa/solvente de agua (10g/200 mL, 20g/200mL, 30g/200mL y 40g/200mL), a temperatura ambiente. Se deposita el fruto triturado en los envases color ámbar debido a la fotosensibilidad de la azadiractina, esto durante 24 horas. Se realizaron las muestras por triplicado, ya que en caso de que una de las réplicas es incompatible con los resultados que se presenten de las otras muestras.

2.4.2.2 Filtración

Las muestras obtenidas después de la maceración se depositaron en un embudo buchner grande, debido a que se obtuvo una torta de azadiractina en la extracción luego se filtraron a una temperatura ambiente usando un papel filtro grueso con tamaño de poro de 1 μmm junto con una bomba del vacío.



Ilustración 2.8 Filtración de azadiractina

2.4.3 Caracterización de la azadiractina

En el Diagrama 2.2 se detalla que todos los experimentos que se realizaron fueron a temperatura ambiente usando un espectrofotómetro Modelo Genesys 10S UV-Vis. Para el rango espectral se eligió una longitud de onda de 190-600 nm. Las longitudes de onda para poder identificar los picos que representan la presencia de azadiractina se eligieron de acuerdo con el desplazamiento batocrómico o hipsocrómico que los espectros presentaron debido a la naturaleza del disolvente (Sharma, et al., 2017).

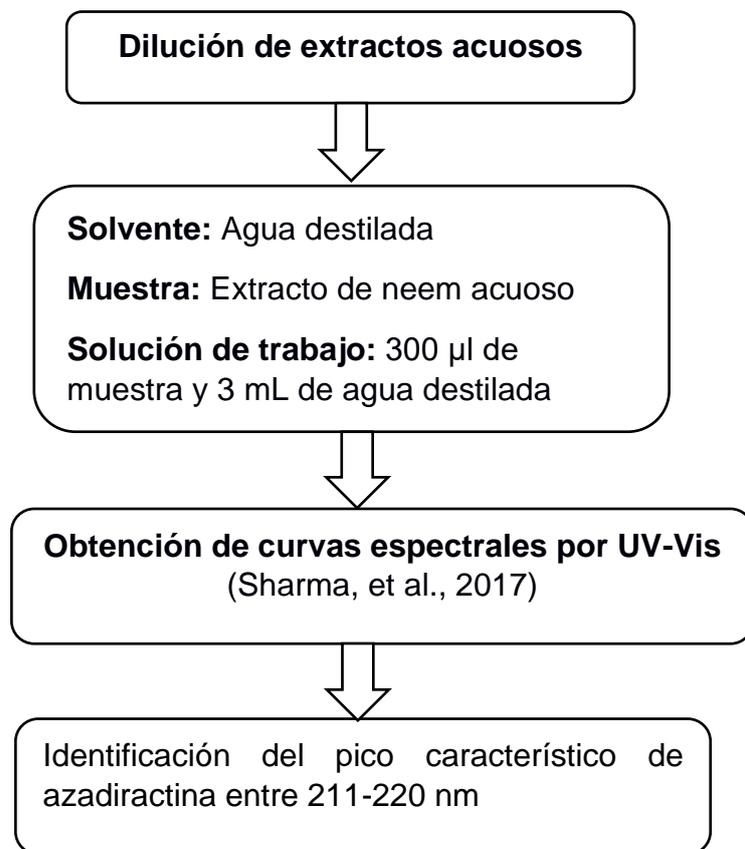


Diagrama 2.2 Procedimiento para caracterización UV-Vis de extractos acuosos

2.4.3.1 Cuantificación de azadiractina

Para la cuantificación se siguió la metodología de Hernández Alarcón & Hernández Ayala, 2021 y se usó un estándar de azadiractina al 95 % (Sigma®) (C₃₅, H₄₄, O₁₆; w.m. 720.72), una longitud de onda de 215 nm. A partir de la solución madre de 5 ppm, se prepararon 4 diluciones de 0.25 ppm, 0.50 ppm, 0.75 ppm y 1 ppm, con el fin de poder realizar la curva de calibración.

Los extractos obtenidos se diluyeron con el fin de que su absorbancia entre en el rango de la curva, se usó diluciones de 100 µL de muestra en 200 mL de agua destilada para los 6 primeros extractos de azadiractina, con una relación de 10g/200mL y de 20g/200mL y en la celda de cuarzo se colocó 4 mL de la solución diluida. Para los otros 6 extractos finales que consistían en una relación de 30g/200mL y 40g/200mL, se diluyó una

cantidad de 100 μ L de muestra en 250 mL de agua destilada y depositando en la celda 0.5 mL de solución en 3 mL de agua destilada (Arias, 2009).

2.4.4 Tratamiento estadístico

Con los resultados obtenidos de concentración, se les aplicó un análisis estadístico utilizando Excel mediante ANOVA y comparativa múltiples de pares de TUKEY. Estos métodos determinaron si es necesario rechazar la hipótesis nula o aceptar la hipótesis alternativa, además de conocer que experimentos son distintos. Tanto para el análisis ANOVA y la comparativa TUKEY se utilizó una significancia del 95%, estos ofrecen estimaciones menos precisas del parámetro de población, pero limitan a un máximo de 5% la probabilidad de que uno o más intervalos de confianza no contengan la verdadera diferencia (Cajal, 2020).

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Secado

La Ilustración 3.1 permite apreciar el cambio de la masa con respecto a los días que transcurren, inicialmente la tabla 1 comienza con una masa de 1570 g y la tabla 2 con 1355 g y finalizan con 214 g y 201 g respectivamente, como era de esperarse la tabla 1 termino con una masa mayor a la de la tabla 2. En el Apéndice B.1 se muestran los datos de humedad que se han recopilado en un periodo de 17 días. Las tablas (1 y 2) reposaron al aire libre y dentro del secador solar. Cuando finalizó el secado, el porcentaje de humedad de ambas tablas dieron 0% al final, ya que se está considerando en base húmeda, esto quiere decir que el contenido de humedad que se tiene indica el porcentaje de la masa de agua que está contenida en la muestra con respecto a la masa total que se tiene (ver el Apéndice A). También permite identificar de una manera intuitiva cual es el punto en el que el material solo está constituido por agua (100%) y el punto en el que está constituido únicamente por materia seca (0%) (Estrella Rivadeneira, 2017).

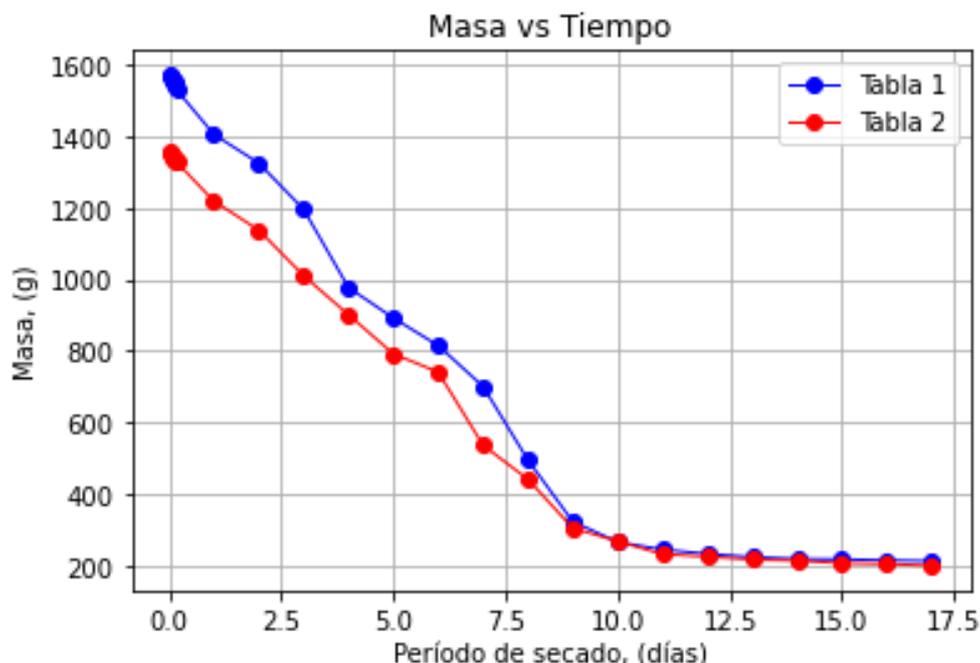


Ilustración 3.1 Curvas de secado

Se observa en la Ilustración 3.2 la curva de secado que está describiendo el comportamiento que tiene la humedad en función del tiempo. La primera fase es donde comienza el calentamiento del sólido, se realizaron mediciones inicialmente cada 30 minutos durante 6 horas. La Ilustración 3.2 tienen diferente masa inicial, sin embargo, ambas tablas tienen un comportamiento similar con respecto a la disminución del porcentaje de humedad que presentan. Una de las razones por la que sucede esto es que se mantiene una distribución de calor homogénea donde se ubican los frutos, debido al prototipo de secador solar que se usa. (Peña et al, 2017).

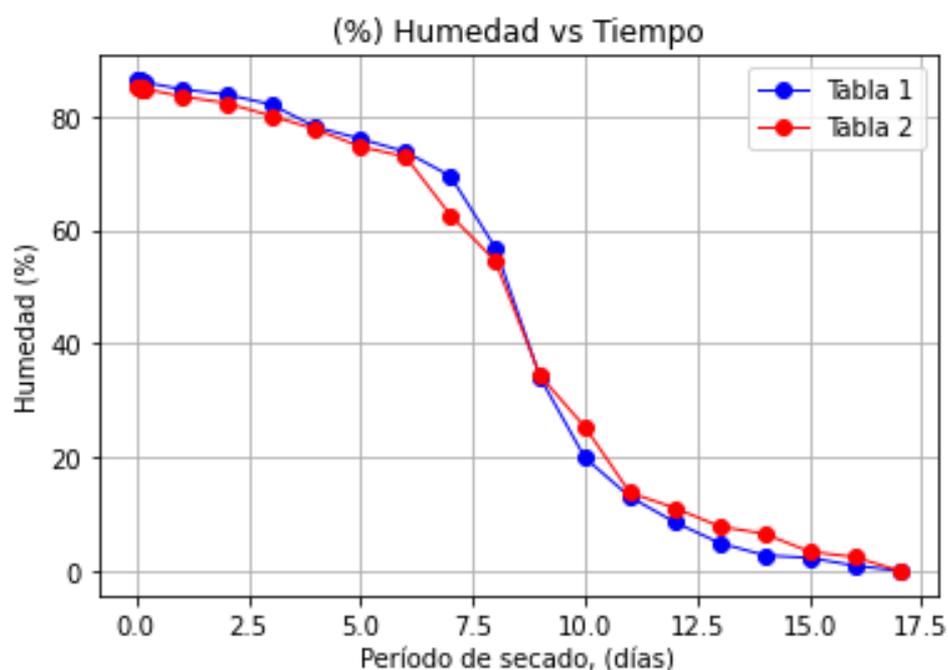


Ilustración 3.2 %Humedad de la muestra

En la segunda etapa comienza a producirse el secado a velocidad constante, se logra eliminar la humedad libre y se comienza a movilizar la humedad interna o ligada en dirección a la superficie de los frutos. Esto comienza desde el día 1 hasta el día 6 para ambas tablas, en la Ilustración 3.2 para la tabla 1 se puede observar unas variaciones en estos días. Esto se debe a la presencia de los hongos que se formaban por la sobrecarga de masa en la tabla, lo cual no permitía que se realice correctamente el secado y había que desechar los hongos que aparecían. Al final de la segunda etapa para la tabla 1 terminó con un valor de 73.74% (0.7374 Kg H₂O / Kg de sólido húmedo) de humedad y la tabla 2 con un valor de 72.87% (0.7287 Kg H₂O / Kg de sólido húmedo) de

humedad (humedad en base húmeda), a pesar de que no existe mucha diferencia de humedad, es recomendable realizar constante seguimiento en el proceso de secado aproximadamente cada 4 horas, revisar o mover el centro del envase para evitar posibles riesgos de hongos o crecimiento de microorganismos.

La última etapa es la de velocidad decreciente comienza a partir del día 6 en ambas tablas, finalizando el día 12 en ambas. La tabla 1 termina con una humedad del 8.54% mientras que la tabla 2 termina con un 11.06% de humedad. Los últimos 5 días se elimina la humedad ligada de la etapa previa y finalizan el proceso de secado a los 17 días ambas tablas con un valor de 0% de humedad en base húmeda. De acuerdo con Gómez Hernández, 2012 el rango del porcentaje de humedad que se necesita para un buen proceso de secado es de 8% al 14% (base húmeda) y como se puede apreciar el día 12 en ambas tablas están por debajo del rango requerido. Tener la humedad requerida beneficia al procedimiento en general, ya que si se tiene menor cantidad de humedad será más sencillo realizar la molienda y evitar así interferencias en las etapas siguientes. Sin embargo, hay formas de reducir más el porcentaje de humedad, para lo cual se requiere equipos más sofisticados como puede ser una estufa para determinar la humedad en base seca. (Carrera Romero, 2019).

Según Otazu Larrasoaña, 2010 para determinar el tiempo de secado, se tiene que llegar a un % de humedad de 14%, esto nos indica que es el valor mínimo con lo cual se puede avanzar para las siguientes etapas, como podemos observar en el Apéndice B.1 muestra que a partir del día 11 se tiene una humedad de 11%. Esto nos indica que el proceso de secado puede concluir en el día número 11 de la experimentación para poder avanzar a la siguiente etapa y así poder evitar posibles apariciones de hongos o microorganismos en los días que restan.

3.2 Análisis granulométrico

En el Apéndice B.2 se tiene los resultados con respecto a los tamices utilizados para determinar el diámetro de partícula de la muestra. En la Ilustración 3.3 se presenta la curva granulométrica, que muestra un diámetro de 0.7654 al pasar el 80% de toda la muestra. Teniendo el resultado se puede observar que el diámetro de partícula de la

muestra está por debajo del rango que se especifica (0.741mm a 1.090mm) en la literatura según Chaucca Rivera, 2019. Este resultado puede ser algo representativo en las etapas a realizar, ya que afectan directamente en el proceso de la maceración o en alguna otra etapa. Sin embargo, si el tamaño de partícula es muy pequeño que llegue hasta la formación de polvos finos, puede afectar negativamente la filtración e impedirá que tenga una buena separación y esto evitará que tenga una buena solubilidad.

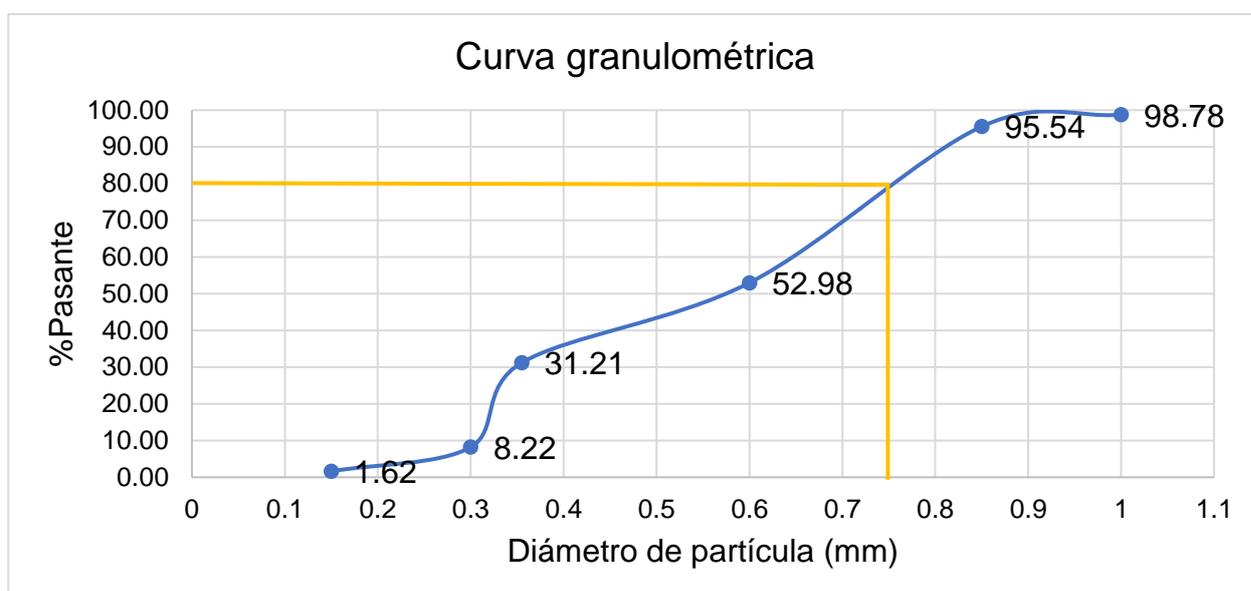


Ilustración 3.3 Curva granulométrica de la muestra

3.3 Análisis de resultados de la filtración

Se filtraron los extractos con las diferentes relaciones que se establecieron anteriormente (10g, 20g, 30g y 40g) / 200mL de agua para lo cual se necesitó una bomba de vacío junto con un papel filtro grueso con poros de μm debido a que, si se usa el papel filtro estándar se satura y provoca dificultades en la filtración. Los resultados de filtración de los extractos se pueden apreciar en el Apéndice B.3 dando como mejor resultado promedio de extracción la relación de 20/200 mL. Una de las razones puede ser que las otras muestras podrían haber tenido interferencias en el proceso como la acumulación de sólidos o algún daño en la hoja filtrante. En la Tabla 3.1 se muestran los resultados de los rendimientos que se obtuvieron del filtrado, teniendo como mejor rendimiento la relación de 20g/ 200mL con un valor de 65,83% y como rendimiento más bajo la relación

de 30g /200mL con un valor de 41.67%. Esta etapa del filtrado nos permite tener un extracto con menos contaminantes e impurezas y sin solidos precipitados.

Tabla 3.1 Rendimiento promedio

Extractos de Neem	
Muestras	Rendimiento
10g/200mL	62.50%
20g/200mL	65.83%
30g/200mL	41.67%
40g/200mL	49.17%

3.4 Caracterización de azadiractina

En el Apéndice B.4 se muestran los resultados del barrido de longitudes de onda de las 12 muestras experimentales para la detección de azadiractina (ver Ilustración 3.4). Se analizó los espectros UV-Vis en los cuales se esperaba que cumplieran las características espectrales para el componente activo de azadiractina.

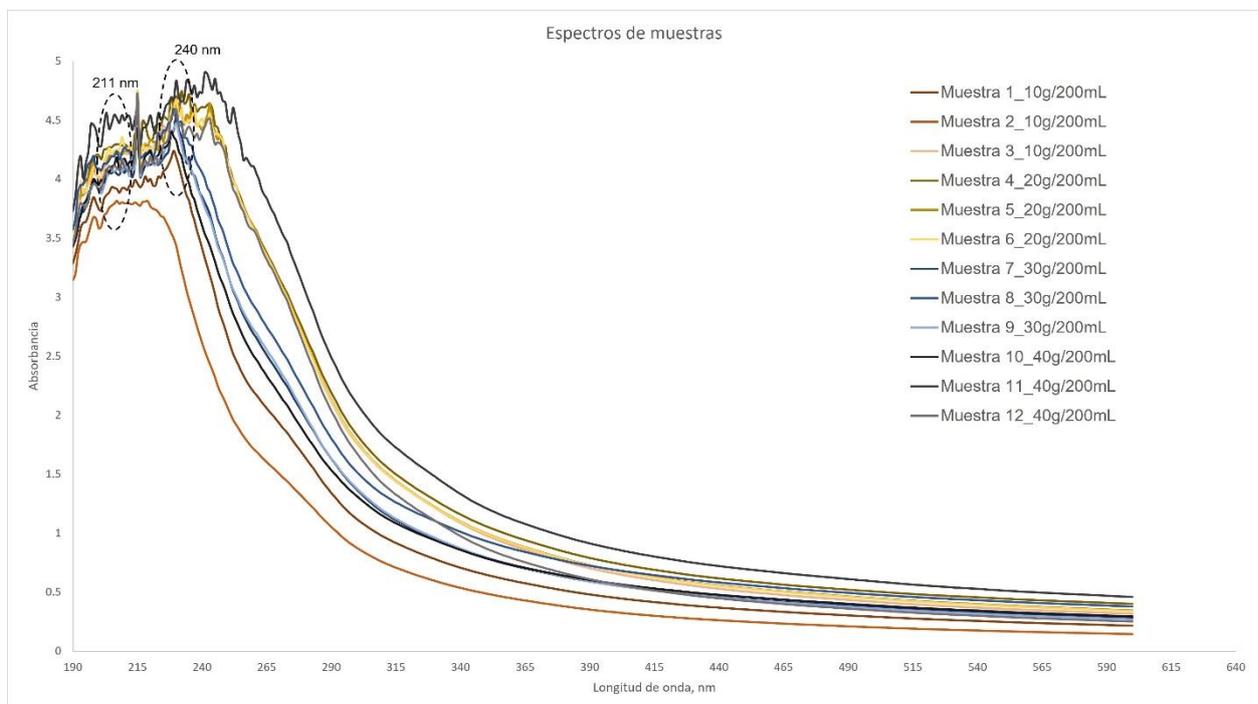


Ilustración 3.4 Espectros UV-Vis de las 12 unidades experimentales

En la Ilustración 3.4 se observan los espectros UV-Vis de las muestras a diferentes relaciones masa/solvente. La muestra 11 presenta un máximo de absorbancia a una longitud de onda de 240 nm. Para la muestra 1, 4, 5, 8 y 9, se encuentra un máximo de absorbancia entre 225 y 230nm. Mientras la muestra 3, 6, 7, 10 y 12, tienen una máxima absorbancia dentro del rango de longitud de onda (211 – 220 nm) según Sharma, et al., 2017. Por otro lado, la muestra 2, tiene una máxima absorbancia en 207 nm, que está fuera del rango de interés. Existen espectros que presentan máximos de absorbancia entre 230 y 240 nm aproximadamente (fuera del rango de interés), esto pudo suceder porque son muestras impuras, que tiene más de un componente, también se debe a los tipos de enlace que presenta la molécula de azadiractina y las longitudes de onda ayudan a determinar los grupos funcionales. Sin embargo, hay que tener en cuenta la naturaleza del disolvente y la presencia de sustancias que interfieren en los espectros de absorción de los compuestos (Pérez G. , 2022).

A partir del estándar de azadiractina al 95%, se construyó la curva de calibración con 4 concentraciones (ver Tabla 3.2), se graficó el valor de absorbancia medido con el espectrofotómetro en función de las concentraciones crecientes de la sustancia y se obtuvo una recta.

Tabla 3.2 Datos de curva de calibración

Estándares de azadiractina	
Concentración (ppm)	Absorbancia (215 nm)
0.2375	0.022
0.475	0.046
0.7125	0.091
0.95	0.112

En la Ilustración 3.5 se tiene la gráfica de los estándares preparados y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 215 nm como indica Hernández Gutierréz & Torrentes Herrera, 2020. Se tiene un coeficiente de correlación de 0.9796, por lo que existe una relación lineal entre las variables y van cambiando conjuntamente, lo cual cumple con la ley de Lambert y Beer.

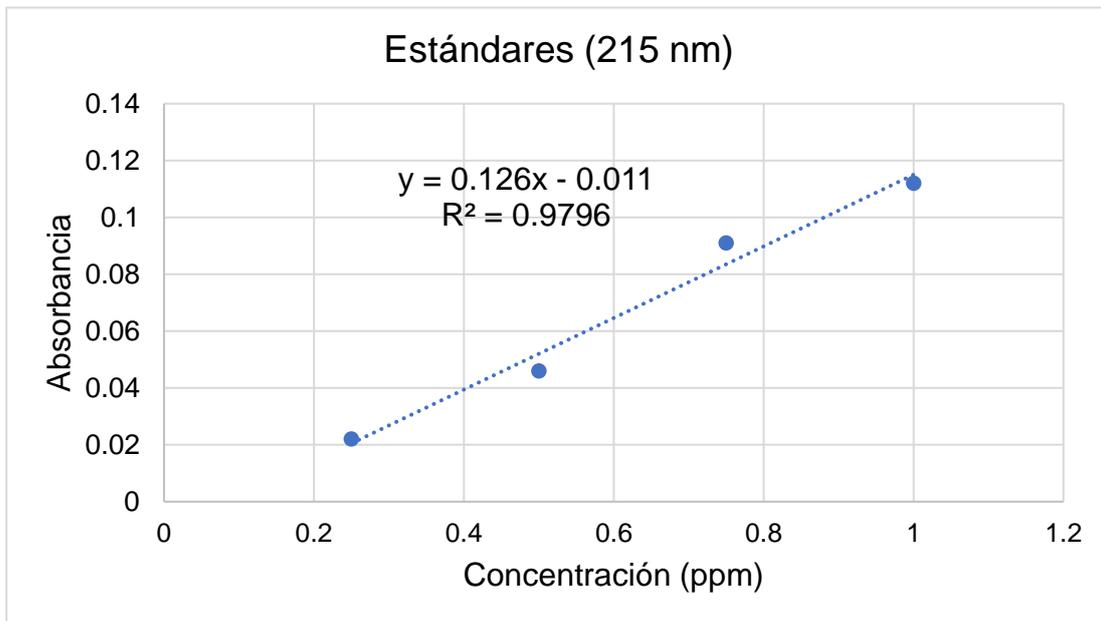


Ilustración 3.5 Curva de calibración de estándares de azadiractina

3.5 Análisis de resultados de la cuantificación

En la Tabla 3.3 se muestran los resultados de concentración promedio obtenidos de las 12 unidades experimentales a 215 nm, las cuales fueron obtenidos a partir de la curva de calibración. En el Apéndice B.6 se tiene la gráfica de la absorbancia vs concentración de las muestras experimentales, donde el coeficiente de correlación es de 0.99, por lo que se cumple la ley de Lambert y Beer. La concentración de azadiractina más alta fue la relación 30g/200mL con un promedio de 9523.8 mg/L, mientras que la más baja fue la relación 10g/200mL con un promedio de 523.8 mg/L.

Tabla 3.3 Concentración promedio

Muestras	Concentración (mg/L)
10g/200mL	523.8
20g/200mL	920.6
30g/200mL	9523.8
40g/200mL	7738.1

El mayor valor obtenido es relativamente cercano al que esta reportado por Escalante, 2004 que es de 8685 ppm para frutos de Neem que son originarios de Filipinas, mientras los que son originarios de Haití solo presentaron 5982 ppm. Esto presenta dudas sobre la variabilidad que puede existir para el contenido de la azadiractina A. En la literatura de

Sidhu, 2003 se evaluó la variabilidad en el contenido de la especie de azadiractina A en los frutos de Neem de los árboles originados en diferentes lugares de la India, los resultados que se obtuvieron si existe una variación entre los árboles de una misma región, esto quiere decir que los factores climáticos no son completamente determinantes para que un ecotipo de Neem pueda mostrar un contenido alto de azadiractina. Ambos estudios sugieren que la variabilidad genética si afecta de manera directa el nivel de productividad de la azadiractina.

Con respecto a la primera muestra de 523.8 ppm (de promedio) es de esperarse una concentración más baja debido a la relación que se llevó a cabo. Esparza Díaz, et al., 2010 menciona un valor de 151 ± 52.0 ppm con respecto a los extractos acuosos, este valor está un poco cercano al que se presentó.

3.6 Tratamiento estadístico de la cuantificación

A partir del uso de la prueba ANOVA, se analizaron los datos de las concentraciones, donde se compararon las medias de los grupos independientes (relaciones masa/solvente) utilizando la distribución de Fisher. Se estableció como hipótesis nula que las medias de los grupos eran diferentes. Sin embargo, se rechazó esta hipótesis porque el valor p fue de 0.00048, lo cual permite concluir que existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 relaciones masa/solvente.

Tabla 3.4 Tabla ANOVA

ANOVA: Factor único					
<i>Fuentes</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>F</i>	<i>P value</i>	<i>RMSSE</i>
Entre grupos	192663407	3	19.6061699	0.00048082	2.55644088
Dentro de los grupos	26204459.56	8			
Total	218867866.6	11			

El método Tukey ayuda al ANOVA para crear intervalos de confianza para las diferencias en parejas entre las medias de concentraciones de los niveles (10g/200mL, 20g/200mL, 30g/200mL, 40g/200mL) mientras controla la tasa de error por nivel especificado (relación masa/solvente). En la Tabla 3.5 se muestra los niveles que tienen diferencias, debido a que su valor p es mayor a 0.05, las únicas comparaciones significativas son

10g/200mL – 30g/200mL, 10g/200mL – 40g/200mL, 20g/200mL – 30g/200mL y 20g/200mL – 40g/200mL. Como los valores $p \leq 0.05$, basta que uno no cumpla con este supuesto, por lo que se concluye que se trata de medias diferentes, así que se rechaza la hipótesis nula, lo que quiere decir que si hay efecto entre niveles.

Tabla 3.5 Tabla de Tukey

Grupo 1	Grupo 2	media	p-value
10g/200mL	20g/200mL	396.825397	0.99269013
10g/200mL	30g/200mL	9000	0.00131772
10g/200mL	40g/200mL	7214.28571	0.00534476
20g/200mL	30g/200mL	8603.1746	0.00177123
20g/200mL	40g/200mL	6817.46032	0.00747847
30g/200mL	40g/200mL	1785.71429	0.63891963

3.7 Análisis económico

Para realizar el proceso de extracción se necesita de una inversión inicial de \$260.31, esto se detalla en la Tabla 3.6, estos precios son un estimado de lo que costaría comprar la materia prima, materiales y equipos para poder realizar la maceración. En el caso de los materiales y equipos serán reutilizables, por lo que lo único que se compraría es la materia prima, esto se encuentra más detallado en el Apéndice C.6, lo que hace que sea muy beneficioso y bajo costo.

Tabla 3.6 Inversión inicial

CONCEPTO	TOTAL
Materia prima	\$ 4.35
Materiales	\$ 54.47
Equipos	\$ 201.49
Total	\$ 260.31

A partir de esto se construyó un flujo de caja en un tiempo de 5 años, tomando en cuenta los ingresos, egresos y capital de trabajo. En el año 0, se tiene un flujo acumulado de \$139.69, pero a partir de esto se estableció un precio de venta del extracto de Neem de \$8.00 y un precio de compra de la materia prima de \$5.35, los costos fijos se los mantuvo constante durante 5 años como se detalla en la Apéndice C.7.

Con el flujo acumulado y la inversión inicial, se tiene un VAN de \$69,727.30 y un TIR del 73% a una tasa de descuento del 12%. Como la tasa de descuento es menor que el TIR, se acepta el proyecto, lo que quiere decir que es viable económicamente. Además, el periodo de recuperación sería de 5 años con una ganancia de \$161,979.10.

En el mercado se encuentra el aceite de Neem, que puede ser obtenido de las hojas, semillas o frutos de Neem. El precio de mercado del aceite es de \$8.18, en un frasco de 29.6 mL (1 fl oz). Mientras el precio del extracto de hoja es de \$20.99 en un frasco de 475 mg y contiene 100 cápsulas (Swanson Health Products, 2022).

Entre los beneficios que alcanza a hacer el extracto de Neem está en mejorar la calidad de las cosechas, se obtienen productos orgánicos, no es tóxico para seres humanos y animales, y evita la contaminación de los suelos y fuentes de agua. Según (SINAGAP, 2022), el precio promedio de los agroquímicos ha ido bajando durante estos 3 últimos años (ver Tabla 3.7), esto puede ser debido al daño que causa en la tierra lo que lo hace insostenible, además de ser tóxico. Una de las desventajas de hacer un pesticida natural es que no actúa como repelente para todos los insectos, pero cada vez existen estudios con productos naturales que hacen que sea beneficioso utilizarlos, además que ayudan al medio ambiente.

Tabla 3.7 Precios promedios de los agroquímicos durante los últimos 3 años

Agroquímicos	2019	2020	2021
Herbicidas			
Propanil	\$7.05	\$7.22	\$6.99
Pendimetalina	\$8.48	\$7.94	\$8.33
Fungicidas			
Clorotalonil	\$14.13	\$13.39	\$12.95
Propiconazol	\$25.97	\$24.84	\$23.92
Insecticidas			
Cipermetrina	\$11.45	\$9.95	\$10.25
Clorpirifos	\$13.43	\$13.40	\$12.69

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

Con el fin de poder reducir el impacto ambiental que causa el uso de los agroquímicos principalmente en el sector agrícola, se ejecutó el proceso de tratamiento de los frutos de Neem (azadiractina). Luego de poder culminar todas las etapas que requería el proyecto podemos concluir que:

- A partir del tratamiento previo realizado al fruto de Neem, se pudo extraer el componente activo de azadiractina por la técnica de maceración, la relación de 20g/200mL tuvo un rendimiento promedio del 65.83%, siendo el más alto en comparación a las otras relaciones. Se puede concluir que existe una gran presencia de azadiractina, la cual se vio reflejada al momento de hacer la espectrofotometría y cuantificación de las muestras.
- Se implementó el uso de un prototipo de secador solar casero, con esta estrategia se pudo determinar que al final de los 17 días que se realizó de secado se obtuvo un valor de 0% de humedad en base húmeda en ambos resultados. Teniendo en cuenta la literatura (Estrella Rivadeneira, 2017) que menciona el mínimo % de humedad que se requiere para determinar el tiempo de secado, se puede concluir que el tiempo de secado para los frutos sería de 11 días.
- Se cuantificó la azadiractina utilizando el estándar al 95% (Sigma®), a partir de esto se construyó la curva de calibración, con los cuales se determinó la concentración de los extractos mediante espectrofotometría, siendo la relación de 30g/200mL la de mayor concentración promedio de 9523.8 mg/L y la relación 10g/200mL la de menor concentración promedio con 523.8 mg/L.
- El proceso de extracción de la azadiractina tendría una inversión de \$260.31, con un VAN de \$69,727.30 y un TIR del 73%, además que el periodo de recuperación será de 5 años. Por lo que se concluye que el proceso es viable económicamente y beneficioso para las comunidades agrícolas, ya que utilizar productos naturales cuida de su salud y ayuda a evitar la contaminación de suelos y agua.

4.2 Recomendaciones

- Realizar estudios para evaluar la actividad antimicrobiana que pueden tener los extractos acuosos de Neem por medio de la actividad in vitro en diferentes ecosistemas para determinar en qué ambiente será más efectivo. También realizar pruebas como el IC50, la tasa de mortalidad, repelencia, etc que permitan tener un mayor campo de aplicación para los extractos (Pérez, 2017).
- Realizar estudios para la estabilidad de los extractos acuosos de Neem con el fin de determinar alguna forma eficiente para que sean conservadores. También investigar acerca del encapsulamiento y microencapsulación de la molécula de Azadiractina para reducir la degradación y las posibles pérdidas de las propiedades del principio activo (Andrade Almache, 2018).
- Cada parte de esta investigación permite ser mejorada, por lo que, para el tratamiento que se le da a la materia prima es aconsejable que se escojan los frutos de Neem maduros (de color rojizos), debido a que estos poseen una concentración más alta del principio activo (azadiractina) (Cristancho Vanegas, 2020), por otro lado, para poder mejorar la etapa de extracción se recomienda incluir una etapa para la purificación de los extractos acuosos de Neem, con el fin de poder eliminar alguna interferencia que pueda tener consecuencias cuando se realicen la cuantificación, encapsulamiento, etc.
- Teniendo los resultados del actual proyecto junto con las sugerencias que se mencionan anteriormente permiten un amplio campo para el desarrollo de la especie Azadiractina indica A. junto con sus propiedades como biopesticidas, debido a esto se recomienda seguir desarrollando un producto natural que tengan las mismas o mejores características de un pesticida normal y a la vez que sea seguro con el medio ambiente.
- Después de completar las diferentes etapas del proceso, se recomienda estandarizar el tiempo de secado que requiere el Neem con precisión para reducir el tiempo de la experimentación. De igual manera se recomienda manipular instrumentos de mejor calidad para poder pulverizar lo que más se pueda el tamaño de partícula.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar Acosta, A., Flores Primo, A., Martínez Herrera, D. I., Pardío Sedas, V. T., López Hernández, K. M., Rodríguez Dehaibes, S. R., & Chávez Hernández, E. (2020). Extracción y estabilidad de la azadiractina a en extractos de neem (*Azadirachta indica*) obtenidos con enzimas y disolventes. *Agrociencia*, 54(1), 89-100.
- Aguilera Peña, R. G., Pérez Zulueta, M. A., Hidalgo León, J. A., Párraga Mendoza, G., Solís Argandoña, E., León Vega, L., . . . Mesías Zambrano, M. G. (2016). *Desarrollo Local De Las Comunidades Agrícolas Rurales*. Samborondón: Universidad ECOTEC.
- Alemán Alvarado, N. L., Gurdíán Rosales, X. K., & Ortiz Machado, H. R. (2016). *Evaluación in vivo de la actividad repelente de semillas azadirachta indica A. Juss (NEEM) contra aedes aegypti vector de importancia en Salud Pública laboratorio de entomología Médica-MINSA Julio-Diciembre 2015*. Tesis doctoral, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua.
- Andrade Almache, K. E. (2018). *Preparación y caracterización de micropartículas cargadas de sulfato ferroso heptahidratado mediante el método combinado de emulsificación/ gelificación iónica externa*. Quito: UCE.
- Arias Garzón, K. J. (2020). *La espectrofotometría UV-Vis como una herramienta para el desarrollo de las habilidades metacognitivas, un estudio enfocado en la actividad antioxidante*. Universidad Pedagógica Nacional, Departamento de Química, Bogotá D.C.
- Arias, D. V. (2009). Determinación del Azadiractina de los aceites esenciales del árbol de Neem (*Azadirachta Indica*). *Revista Ingeniería UC*, 22-26.
- Ashokhan, S., Othman, R., Abd Rahim, M. H., Karsani, S. A., & Yaacob, J. S. (2020). Effect of Plant Growth Regulators on Coloured Callus Formation and Accumulation of Azadirachtin, an Essential Biopesticide in *Azadirachta indica*. *Plants*, 9(3), 352.
- Aspurz Tabar. (2011). *OBTENCIÓN DE CURVAS DE SECADO DE TOMILLO (Thymus vulgaris)*. . MINAS GERAIS : VICOSA.
- Awolu, O. O. (2013). Optimization of solvent extraction of oil from neem (*Azadirachta indica*) and its characterizations. *Journal of Scientific Research and Reports*, 304-314.

- Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med Aromat Plants*, 4(196), 2167-0412.
- Banchero, L., Carballo, S., & Telesca, J. (2007). *Manual de secado solar de especies medicinales y aromáticas para predios familiares*. Montevideo: INIA.
- Baque Cambridge, A. D., & Baidal Veloz, A. G. (2021). "ANÁLISIS DE LAS DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN DE AZADIRACTINA Y SU ENFOQUE COMO COMPONENTE ACTIVO EN BIOPESTICIDAS AGRÍCOLAS. Tesis, ESPOL, Guayaquil.
- Cabezas, C. (2021). Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 80-377.
- Cajal, A. (2020). *Prueba de Tukey: en qué consiste, caso de ejemplo, ejercicio resuelto*. Obtenido de <https://www.lifeder.com/prueba-de-tukey/>
- Carrera Romero, L. G. (2019). *Evaluación del efecto de las hojas secas de Neem (Azadirachta indica) administradas por vía oral en caprinos para el control de nemátodos gastrointestinales*. Guatemala: USCG.
- Chaucca Rivera, K. (2019). *Extracción y caracterización del aceite esencial de nim (Azadirachta indica A. JUSS) por lixiviación a partir de las semillas para su uso en repelentes de la zona Kurt Beer*. Piura: UNP.
- Chirinos, D. T., Castro, R., Cun, J., Castro, J., Peñarrieta Bravo, S., Solis, L., & Geraud-Pouey, F. (2020). *Insecticides and agricultural pest control: the magnitude of its use in crops in some provinces of Ecuador* (Vol. 21). Ciencia y Tecnología Agropecuaria.
- Costa, C., Ide, S., & Simonka, C. E. (2006). *Insectos inmaduros: metamorfosis e identificación*. Sociedad Entomológica Aragonesa.
- Cristancho Vanegas, F. A. (2020). *Propiedades y cualidades del árbol de neem (azdiractha indica a. juss) como especie promisorio en arreglos agroforestales*. Ibague: UNAD.
- Escalante, M. e. (2004). *Contenido de azadiractina A en semillas de NIM (Azadirachta indica A. Juss) colectadas en Sinaloa, México*. Sinaloa: Revista Fitotecnia Mexicana.
- Esparza Díaz, G., López Collado, J., Villanueva Jiménez, J. A., Osorio Acosta, F., Otero Colina, G., & Camacho Díaz, E. (2010). *Concentración de azadiractina, efectividad*

insecticida y fitotoxicidad de cuatro extractos de Azadirachta indica A. Juss.
Veracruz: Agrociencia. Obtenido de
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952010000700008&lng=es&tlng=es

- Estrella Rivadeneira, C. R. (2017). *mpregnación de aceite de Neem (Azadirachta indica) en soporte textil para combatir la mosca de la fruta Anastrepha striata*. Quito: Bachelor's thesis.
- Falasa, S., & Bernabé, M. A. (2009). I árbol del Neem (Azadirachta indica) para controlar enfermedades endémicas en Argentina. *Geográfica* , 146, 111-124.
- Fernandez Peres, M. (2012). *Metodología para la determinación indirecta del índice de Bond en tamaños de partícula ultrafinos*. OVIEDO: UDO.
- Gámez, M. A. (2021). *Eficacia de extractos botánicos de neem (Azadirachta indica), eucalipto (Eucalyptus spp) y chile (Capsicum annum) para el manejo de Spodoptera frugiperda, en condición de laboratorio del Campus Agropecuario, UNAN, León, en el periodo de julio a noviembre*. Tesis doctoral, UNAN, Departamento de Agroecología, León.
- Gómez Hernández, E. F. (2012). *Caracterización del proceso de secado de almidón de sagú en un secador solar tipo túnel Hohenheim* . Bogota: Uniandes.
- Guachamín Paladines , G. (2021). *Influencia de la vegetación, temperatura, humedad relativa y ruido sobre la comunidad de aves en dos parques urbanos: Metropolitano Las Cuadras y Lineal Machángara–tramo 8, Distrito Metropolitano de Quito-Ecuador* . Quito: UCE.
- Guerra, H., & Grados, N. (2004). *Extracción de biocida de Neem a partir de plantaciones de Neem ubicadas en Piura*. Informe de investigación, Universidad de Piura, Facultad de Ingeniería, Piura.
- Handa, S. S., Khanuja, S. P., Longo, G., & Rakesh, D. D. (2008). Extraction Technologies for MEDicinal and Aromatic Plants. *International Centre for Science and High Technology*, 200-66.
- Hernández Alarcón, E., & Hernández Ayala, L. (2021). *ESPECTROFOTOMETRÍA UV COMO MÉTODO CONFIABLE PARA LA CUANTIFICACIÓN DE VITAMINA C*. Bogota: UNAD.

- Hernández Gutierréz, J. E., & Torrentes Herrera, M. J. (2020). *Elaboración de un extracto con función bioinsecticida a partir de las semillas del árbol de neem (Azadirachta indica A. Juss) para combatir la plaga de la mosca blanca (B. Tabaci) en cultivo de tomate. Departamentode Química UNAN, Managua, Agosto -Noviemb.* Tesis doctoral, UNAN, Departamento de Química, Managua.
- Immaraju, J. A. (1998). The commercial use of azadirachtin and its integration into viable pest control programmes. *Pesticide Science*, 54(3), 285-289.
- INEC. (2014). *Uso y Manejo de Agroquímicos en la Agricultura.* Ecuador.
- Jiménez Quintero, C. A., Pantoja Estrada, A. H., & Ferney Leonel, H. (2016). Riesgos en la salud de agricultores por uso y manejo de plaguicidas, microcuenca “La Pila”. *Universidad y Salud*, 18(3), 417-431.
- Jiménez Vargas, C. F. (2017). *Propuesta de mejoramiento en el área de secado para minimizar los riesgos de exposición a material particulado de polvo orgánico (arroz) en la Empresa Agrigloma SA.* Guayaquil: Bachelor's thesis.
- Jurado C et al. (2009). *Metodo para medir el contenido de humedad del cafe pergamino en el secado solar del cafe .* Caldas: Cenicafe.
- León Méndez, G., Osorio Fortich, M. d., & Martínez Useche, S. R. (2015). Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de Citrus sinensis L. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(4).
- Liau, M. Y., Natan, F. A., Widiyanti, P., Iksari, D., Indraswati, N., & Soetedjo, F. E. (2008). Extraction of neem oil (Azadirachta indica A. Juss) using n-hexane and ethanol: studies of oil quality, kinetic and thermodynamic. *ARNP Journal of Engineering and Applied Sciences*, 3(3), 49-54.
- Loyola, A., & Gloria, L. (2018). *Comportamiento Poblacional de La Broca Del Café (Hypothenemus Hampei) ante efectos del Biocida Neem (Azadirachta Indica) e Higuierilla (Ricinus Communis) en Condiciones Edafoclimaticas del distrito Monzon – 2018.* Huanuco: UNHEVAL.
- McCabe, W. L., Smith, J. C., & Harriott, P. (2007). *Operaciones unitarias de Ingeniería Química (7ma ed.).* McGraw Hill.
- Morante Silva, P. M. (2019). *Efecto del extracto etanólico de Azadirachta indica A. Juss. 1830 “neem” sobre la viabilidad del huevo y larva de Aedes aegypti L. 1762 en laboratorio.* Piura: UNP.

- Morgan, E. D. (2009). Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17(12), 4096-4105.
- ONU. (25 de 09 de 2017). *Metas de los Objetivos de Desarrollo Sostenible*. Obtenido de Metas de los Objetivos de Desarrollo Sostenible: <https://www.onu.org.mx/publicaciones/metas-de-los-ods/>
- Otazu Larrasoaña, I. &. (2010). *Influencia de la temperatura y tiempo de secado en la calidad de las hojas de Cymbopogon Citratus*. MINAS GERAIS: DC staf.
- Peña et al. (2017). Evaluación de un secador solar durante el proceso del secado de limón por simulación numérica y sus curvas de secado. *Revista de Prototipos Tecnológicos*, 34-41.
- Pérez, A. e. (2017). ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE ACEITES ESENCIALES DE NARANJA DULCE (*Citrus sinensis*) Y LIMÓN CRIOLLO (*Citrus aurantifolia*) COMO CONTROL EN EL AÑUBLO BACTERIAL DE LA PANÍCULA DEL ARROZ. *LIMETECH*, 28-44.
- Ramírez Suárez, & Ramírez Calderón. (2018). *OBTENCIÓN Y PROPUESTA DE PRODUCCIÓN POR LOTES DE UN REPELENTE NATURAL A BASE DE ACEITE DE NEEM*". Piura: USP.
- Rutberg, S, & Bouikidis, C.D. (2018). Focusing on the fundamentals: A simplistic differentiation between qualitative and quantitative research. *Nephrology Nursing Journal*, 209-213.
- Saravia et al. (2007). *EL DISEÑO DE SECADORES SOLARES USANDO LAS CURVAS DE SECADO DEL PRODUCTO*. Argentina: INENCO.
- Sharapin, N., Machado Rocha, L., Souza Carvalho, E., Rocha de Albuquerque Lúcio, E. M., Macedo dos Santos, E. V., & Lopes de Almeida, J. M. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos* (Vol. 78). Bogotá D.C.
- Sharma, D., Kaur, P., Singh, G., Singh, D., Verma, S., & Singh, J. (2017). Development and Validation of Stability Indicating UV-Visible Spectrophotometric Method for Simultaneous Estimation of Neem (Azadirachtin) and Curcumin in Pharmaceutical Tablet Dosage Form. *Analytical Chemistry Letters*, 564-591.
- Sidhu, O. P. (2003). Variability in neem (*Azadirachta indica*) with respect to azadirachtin content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 910-915.

- SINAGAP. (2022). *Sistema de Información Pública Agropecuaria*. Obtenido de http://sinagap.mag.gob.ec/Sina/paginasCGSIN/Rep_Precios_Insumos_Agropecuarios.aspx
- Subramanian et al. (2019). *Comparison of post-operative pain after root canal instrumentation with hand K-files, H-files and rotary Kedo-S files in primary teeth: a randomised clinical trial*. Europa: Springer.
- Torres Sandoval et al. (2005). *RAPIDEZ DE SECADO REDUCIDA: UNA APLICACIÓN AL SECADO CONVECTIVO DE PLATANO Roatán*. Itztapalapa: AMIDIQ.
- Velázquez Montes, E. (2001). Pteridium, un género de helechos muy particular. *Ciencias*, 064.
- Vivas Vivas, L., & Intriago Mendoza, D. (2012). *Guía para el reconocimiento y manejo de las principales enfermedades en el cultivo de arroz en Ecuador*. Guayaquil, EC: INIAP, Estación Experimental Litoral Sur, Departamento Nacional de Protección Vegetal, Sección Fitopatología.

APÉNDICES

APÉNDICE A

Ecuaciones para granulometría

P_T = Peso inicial de la muestra para ser tamizado.

i = Numero de tamiz

P_i = Peso de la muestra retenida en el tamiz i

$\%R_i$ = Porcentaje total retenido en el tamiz i

$\%Ra_i$ = Porcentaje retenido acumulado en el tamiz i

$\%Pasante_i$ = Porcentaje pasante acumulado en el tamiz i

$$P_i \text{ corregido} = \frac{P_T}{\sum P_i} \times P_i$$

$$\%R_i = \frac{P_i \text{ corregido}}{\sum P_i \text{ corregido}} \times 100$$

$$\%Ra_i = \%R_i + \%Ra_{i-1}$$

$$\%Pasante_i = 100 - \%Ra_i$$

Ecuación para calcular el porcentaje de humedad de la muestra

$$\%Hum = \left(\frac{W_{H_2O}}{W_{fruto}} \right) * 100$$

Donde:

W_{fruto} = Peso de la muestra – Peso de la tabla; W_{fruto} es en base húmeda

W_{H_2O} = Peso inicial – Peso final; tomando como referencia Peso final del secado

APÉNDICE B

Humedad de las muestras

Apéndice B.1 Datos de humedad de las muestras

Tiempo (días)	Tabla 1			Tabla 2		
	Masa de muestra (g)	Masa agua (g)	%Humedad	Masa de muestra (g)	Masa agua (g)	%Humedad
0.0208	1570	1356	86.3694268	1355	1154	85.1660517
0.0417	1562	1348	86.2996159	1347	1146	85.077951
0.0625	1559	1345	86.2732521	1346	1145	85.0668648
0.0833	1557	1343	86.2556198	1342	1141	85.0223547
0.1042	1552	1338	86.2113402	1338	1137	84.9775785
0.125	1550	1336	86.1935484	1334	1133	84.9325337
0.1458	1539	1325	86.0948668	1329	1128	84.8758465
0.1667	1529	1315	86.0039241	1327	1126	84.853052
1	1404	1190	84.7578348	1218	1017	83.4975369
2	1324	1110	83.836858	1137	936	82.3218997
3	1195	981	82.0920502	1010	809	80.0990099
4	977	763	78.0962129	901	700	77.6914539
5	892	678	76.0089686	792	591	74.6212121
6	815	601	73.7423313	741	540	72.8744939
7	701	487	69.4721826	537	336	62.5698324
8	496	282	56.8548387	442	241	54.5248869
9	324	110	33.9506173	306	105	34.3137255
10	267	53	19.8501873	269	68	25.2788104
11	246	32	13.0081301	233	32	13.7339056
12	234	20	8.54700855	226	25	11.0619469
13	225	11	4.88888889	218	17	7.79816514
14	220	6	2.72727273	215	14	6.51162791
15	219	5	2.28310502	208	7	3.36538462
16	216	2	0.92592593	206	5	2.42718447
17	214	0	0	201	0	0

Ensayos granulométricos para el Neem

Apéndice B.2 Ensayo granulométrico por tamizado

ENSAYO DE LABORATORIO: GRANULOMETRÍA POR TAMIZADO U.S.A. STANDAR TEST SIEVE ASTM E-11						
Fuente		Fruto de Neem		Muestra	A	
Fecha de ensayo		16/12/2021		Localización	Instrumental-Espol	
Equipo tamizador Modelo:		RX		Peso Inicial (g)	253	
Tamiz		Peso retenido parcial (g)	Peso retenido corregido (g)	%Retenido		%pasante
No.	Abertura(mm)			Parcial	Acumulado	
18	1	3,10	3,098775188	1,22	1,22	98,78
20	0,85	8,20	8,196760174	3,24	4,46	95,54
30	0,6	107,70	107,6574476	42,55	47,02	52,98
45	0,355	55,10	55,07822995	21,77	68,79	31,21
50	0,3	58,20	58,17700514	22,99	91,78	8,22
100	0,15	16,70	16,69340182	6,60	98,38	1,62
Tapa		4,10	4,098380087	1,62	100	0
Total		253,10	253	100,00		
D ₈₀ (mm)		0,765387768				

Filtración del extracto de Neem

Apéndice B.3 Resultados de la filtración

Muestras	10g/200mL	20g/200mL	30g/200mL	40g/200mL
1	150 mL	140 mL	100 mL	90 mL
2	125 mL	120 mL	40 mL	110 mL
3	100 mL	135 mL	110 mL	95 mL
Media	125 mL	131.67 mL	83.33 mL	98.33 mL

Barrido de longitudes de onda (210 y 245 nm) para los 12 experimentos

Apéndice B.4 Valores de absorbancia entre 210 y 245 nm para las 12 unidades experimentales

Longitud de onda, nm	Estándar	Muestras											
		R1: 10 g/200 mL			R2: 20 g/200 mL			R3: 30 g/200 mL			R4: 40 g/200 mL		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
210	0.11	3.924	3.795	4.22	4.296	4.24	4.275	4.055	4.27	4.119	4.174	4.499	4.097
211	0.105	3.909	3.797	4.211	4.279	4.234	4.243	4.129	4.242	4.086	4.124	4.54	4.072
212	0.101	3.947	3.793	4.243	4.274	4.253	4.284	4.08	4.237	4.025	4.149	4.528	4.068
213	0.097	3.937	3.788	4.153	4.218	4.184	4.219	4.018	4.115	4.17	4.139	4.417	4.097
214	0.093	3.994	3.804	4.271	4.383	4.323	4.217	4.114	4.282	4.09	4.22	4.51	4.195
215	0.089	3.963	3.79	4.718	4.312	4.2655	4.753	4.558	4.505	4.452	4.428	4.578	4.728
216	0.086	3.932	3.776	4.159	4.241	4.208	4.121	4.02	4.183	4.036	4.063	4.293	4.057
217	0.083	3.959	3.807	4.272	4.494	4.245	4.28	4.064	4.19	4.125	4.126	4.429	4.114
218	0.081	4.023	3.811	4.303	4.465	4.289	4.242	4.115	4.221	4.13	4.195	4.438	4.158
219	0.078	3.979	3.814	4.274	4.368	4.277	4.268	4.119	4.227	4.111	4.215	4.474	4.123
220	0.076	4.001	3.769	4.274	4.33	4.334	4.219	4.123	4.247	4.164	4.236	4.539	4.196
221	0.074	3.946	3.75	4.255	4.348	4.313	4.279	4.133	4.192	4.127	4.167	4.441	4.133
222	0.071	3.948	3.742	4.313	4.45	4.314	4.238	4.135	4.253	4.121	4.192	4.393	4.194
223	0.069	4.021	3.722	4.321	4.469	4.243	4.45	4.122	4.392	4.172	4.204	4.558	4.13
224	0.067	4.012	3.689	4.402	4.456	4.387	4.349	4.143	4.345	4.157	4.254	4.503	4.184
225	0.064	4.066	3.679	4.454	4.527	4.315	4.415	4.178	4.411	4.21	4.265	4.544	4.29
226	0.062	4.086	3.639	4.412	4.518	4.417	4.41	4.208	4.413	4.267	4.276	4.622	4.309
227	0.06	4.124	3.596	4.41	4.504	4.44	4.467	4.237	4.476	4.291	4.304	4.643	4.354
228	0.057	4.176	3.545	4.55	4.696	4.534	4.577	4.379	4.497	4.383	4.404	4.689	4.534
229	0.055	4.241	3.498	4.628	4.613	4.64	4.595	4.415	4.596	4.429	4.359	4.673	4.545
230	0.053	4.185	3.434	4.627	4.702	4.595	4.677	4.541	4.509	4.47	4.324	4.835	4.59
231	0.05	4.112	3.333	4.627	4.561	4.613	4.532	4.416	4.48	4.379	4.235	4.692	4.463
232	0.048	4.027	3.235	4.593	4.745	4.581	4.592	4.367	4.485	4.288	4.191	4.658	4.453
233	0.045	3.938	3.149	4.5	4.644	4.461	4.481	4.273	4.354	4.195	4.094	4.679	4.362

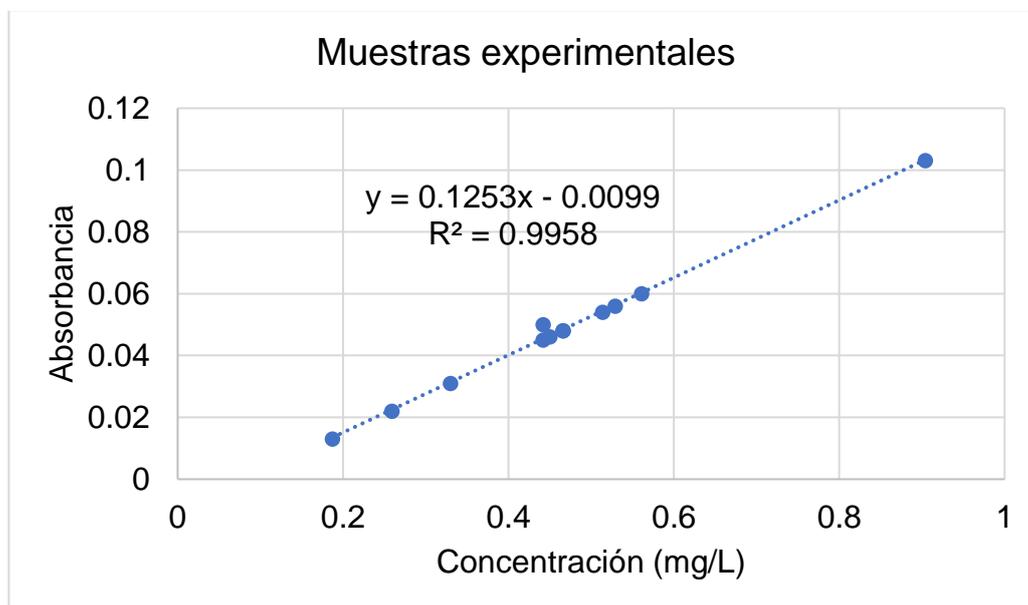
234	0.042	3.861	3.054	4.54	4.658	4.544	4.485	4.135	4.349	4.165	4.016	4.836	4.419
235	0.04	3.814	2.976	4.475	4.719	4.513	4.501	4.187	4.296	4.117	3.959	4.81	4.445
236	0.037	3.719	2.902	4.539	4.56	4.593	4.505	4.049	4.279	4.071	3.869	4.72	4.401
237	0.035	3.651	2.828	4.484	4.636	4.507	4.612	4.033	4.187	4.015	3.827	4.793	4.352
238	0.033	3.564	2.752	4.449	4.574	4.47	4.452	3.971	4.131	3.937	3.745	4.694	4.387
239	0.031	3.492	2.681	4.45	4.599	4.452	4.483	3.889	4.094	3.88	3.677	4.739	4.333
240	0.029	3.413	2.612	4.419	4.612	4.416	4.513	3.851	4.054	3.823	3.606	4.733	4.389
241	0.028	3.333	2.548	4.489	4.608	4.463	4.447	3.804	4.005	3.762	3.538	4.904	4.444
242	0.026	3.26	2.488	4.538	4.629	4.536	4.484	3.758	3.928	3.707	3.489	4.893	4.501
243	0.025	3.184	2.434	4.569	4.64	4.636	4.558	3.7	3.891	3.665	3.435	4.821	4.512
244	0.024	3.107	2.38	4.478	4.591	4.475	4.438	3.622	3.821	3.594	3.368	4.758	4.387
245	0.023	3.022	2.321	4.406	4.459	4.388	4.382	3.533	3.755	3.514	3.301	4.851	4.296

Concentración de las muestras experimentales

Apéndice B.5 Resultados de las muestras experimentales

Muestras	Absorbancia	Resultado mg/L	Concentración real diluida (mg/L)
1	0.031	0.33	0.333333333
2	0.013	0.187	0.19047619
3	0.022	0.259	0.261904762
4	0.048	0.466	0.468253968
5	0.045	0.442	0.444444444
6	0.048	0.466	0.468253968
7	0.05	0.442	0.484126984
8	0.054	0.514	0.515873016
9	0.103	0.904	0.904761905
10	0.06	0.561	0.563492063
11	0.056	0.529	0.531746032
12	0.046	0.45	0.452380952

Apéndice B.6 Absorbancia vs Concentración



APÉNDICE C

Tratamiento estadístico de datos

Apéndice C.1 Datos de concentraciones reales de las 12 unidades experimentales

Concentración real de las muestras (mg/L)				
Muestras	Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración 4
1	666.7	936.5	7261.9	8452.4
2	381.0	888.9	7738.1	7976.2
3	523.8	936.5	13571.4	6785.7
Media	523.8	920.6	9523.8	7738.1

Apéndice C.2 Tabla ANOVA de los experimentos

ANOVA: Single Factor						
DESCRIPTION					Alpha	0.05
<i>Group</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Mean</i>	<i>Variance</i>	<i>SS</i>	<i>Std Err</i>
Concentración 1	3	1571.4	523.8	20408.1633	40816.3265	1044.91745
Concentración 2	3	2761.9	920.6	755.857899	1511.7158	1044.91745
Concentración 3	3	28571.4	9523.8	12344104.3	24688208.6	1044.91745
Concentración 4	3	23214.3	7738.1	736961.451	1473922.9	1044.91745

Apéndice C.3 Resultados de la tabla ANOVA

ANOVA							
<i>Sources</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P value</i>	<i>Eta-sq</i>	<i>RMSSE</i>
Between Groups	192663407	3	64221135.68	19.606	0.0004808	0.8802727	2.556440
Within Groups	26204459.56	8	3275557.445				
Total	218867866.6	11	19897078.78				

Apéndice C.4 Método Tukey

TUKEY HSD/KRAMER			alpha	0.05	
<i>group</i>	<i>mean</i>	<i>n</i>	<i>ss</i>	<i>df</i>	<i>q-crit</i>
Concentración 1	523.8	3	40816.3265		
Concentración 2	920.6	3	1511.7158		
Concentración 3	9523.8	3	24688208.6		
Concentración 4	7738.1	3	1473922.9		
		12	26204459.6	8	4.529

Apéndice C.5 Q Test del método Tukey

Q TEST							
<i>group 1</i>	<i>group 2</i>	<i>mean</i>	<i>std err</i>	<i>q-stat</i>	<i>p-value</i>	<i>mean-crit</i>	<i>Cohen d</i>
Concentración 1	Concentración 2	396.825397	1044.91745	0.37976722	0.99269013	4732.43114	0.21925871
Concentración 1	Concentración 3	9000	1044.91745	8.61312057	0.00131772	4732.43114	4.97278748
Concentración 1	Concentración 4	7214.28571	1044.91745	6.90416808	0.00534476	4732.43114	3.9861233
Concentración 2	Concentración 3	8603.1746	1044.91745	8.23335335	0.00177123	4732.43114	4.75352877
Concentración 2	Concentración 4	6817.46032	1044.91745	6.52440085	0.00747847	4732.43114	3.76686459
Concentración 3	Concentración 4	1785.71429	1044.91745	1.70895249	0.63891963	4732.43114	0.98666418

Apéndice C.6 Detalle de la inversión inicial

CONCEPTO	UNIDADES	PRECIO	TOTAL
Materia prima			
Fruto de Neem	1	\$ 2.00	\$ 2.00
Agua destilada	1	\$ 2.35	\$ 2.35
Materiales			\$ -
Balanza	1	\$ 5.48	\$ 5.48
Molino	1	\$ 29.99	\$ 29.99
Recipientes	1	\$ 18.00	\$ 18.00
Papel filtro	1	\$ 1.00	\$ 1.00
Equipos			\$ -
Secador solar			\$ -
Madera	1	\$ 10.88	\$ 10.88
Clavos	1	\$ 1.24	\$ 1.24
Plástico	1	\$ 16.17	\$ 16.17
Malla de tela	1	\$ 48.20	\$ 48.20
Bomba de vacío	1	\$ 125.00	\$ 125.00
Total			\$ 260.31

Apéndice C.7 Flujo de caja

Flujo de Caja	AÑO 0	AÑO 1	AÑO 2	AÑO 3	AÑO 4	AÑO 5
INGRESOS	\$ 400.00	\$ 3,166.44	\$ 244,783.8	\$ 382,474.6	\$ 597,616.6	\$ 933,776.0
Inversión	\$ 400.00	\$ -	\$ -	\$ -	\$ -	\$ -
Ventas	\$ -	\$ 3,166.44	\$ 244,783.77	\$ 382,474.6	\$ 597,616.6	\$ 933,776.0
Cantidad			495	618	773	966
Precio			\$ 8.00	\$ 8.00	\$ 8.00	\$ 8.00
EGRESOS	\$ -	\$ 3,940.88	\$ 266,965.00	\$ 383,664.00	\$ 551,710.56	\$ 793,697.61
Compras	\$ -	\$ 2,200.88	\$ 265,225.00	\$ 381,924.0	\$ 549,970.6	\$ 791,957.6
Cantidad			515	618	742	890
Precio			\$ 5.35	\$ 5.35	\$ 5.35	\$ 5.35
Costos fijos	\$ -	\$ 1,740.00	\$ 1,740.00	\$ 1,740.00	\$ 1,740.00	\$ 1,740.00
Arriendo	\$ -	\$ 1,200.00	\$ 1,200.00	\$ 1,200.00	\$ 1,200.00	\$ 1,200.00
Luz	\$ -	\$ 180.00	\$ 180.00	\$ 180.00	\$ 180.00	\$ 180.00
Agua	\$ -	\$ 120.00	\$ 120.00	\$ 120.00	\$ 120.00	\$ 120.00
Internet	\$ -	\$ 240.00	\$ 240.00	\$ 240.00	\$ 240.00	\$ 240.00
Aporte capital	\$ 260.31					
Flujo	\$ 139.69	\$ -774.44	\$ -22,181.20	\$ -1,189.40	\$ 45,906.10	\$ 140,078.40
Flujo acumulado	\$ 139.69	\$ -634.75	\$ -22,816.00	\$ -24,005.30	\$ 21,900.70	\$ 161,979.10

